

Atilla KAZANCI, Ahmet Gürhan GÜRÇAY, Oktay GÜRCAN
Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroşirürji Kliniği, Ankara

AĞIRLIK DÜŞÜRME YÖNTEMİ İLE DENEYSEL OMURİLİK TRAVMA MODELİ

Gelişen cerrahi tekniklere karşın omurilik yaralanmaları, ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Hastaların önemli bedensel işlevlerini yitirmelerinin yanı sıra, ömür boyu süren tedavi ve bakım masrafları, işgücü ve gelir kayıpları ile yaşadıkları sosyal ve psikolojik sorunlar hastaları, ailelerini ve ülke ekonomisini ciddi düzeyde etkileyen bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır (1-5). Ülkemizdeki akut omurilik yaralanmalarının insidansı yılda 500-600 yeni vaka olarak bildirilmekte ve prevalansı her yıl 12.7/1 000 000 olduğu tahmin edilmektedir (1). Amerika Birleşik Devletleri'ndeki insidansı ise yılda 12000 yeni vaka, prevalansı her yıl 30-50/1 000 000 olarak bildirilmektedir (2). İstatiksel veriler ülkemizde toplam 54.000 kişinin omurilik yaralanması sonucu sakat olarak yaşamlarını sürdürdüğünü göstermektedir. Omurilik travmasına maruz kalan hastalar lezyon seviyesine bağlı olarak çeşitli derecelerde duysal ve motor kusurlara sahiptirler. Olguların yaklaşık yarısı nörolojik açıdan komplet hasara sahiptir ve bunların da %54'ü kuadripleji, % 46'sı parapleji şeklindedir. Travmatik medulla spinalis yaralanmalarının en yaygın nedenleri sıklık sırasına göre; motorlu araç kazaları (yaklaşık %50), düşmeler, ateşli silah yaralanmaları veya kesici-delici aletlerle oluşmuş penetran yaralanmalar ve spor kazalarıdır (1, 2).

Spinal kord yaralanması ile ilgili ilk yazılı belge M.Ö 3000-2500 yılları arasında İmhotep tarafınca

yazıldığı düşünülen Edwin Smith'in cerrahi papi-rüsüdür. Bu belgede vertebra dislokasyonu olan muhtelif olgular değerlendirilmekte ve hastalar; tedavi edilebilecek olgular, tedavi edilmeye çaba gösterilmesi gereken olgular ve tedavi edilmesi umutsuz olgular olarak üç gruba ayrılmışlardır. Servikal omurilik travmaları tedavi edilemez bir hastalık olarak tanımlanmış, yine bu yazılarda komplet yaralanması olan hastalar tedavi edilemeyecek grubu oluşturmuşlardır (6,7).

Hipokrat (M.Ö. 460-377), paraplejiyi tarif etmiş ve Hipokratik merdiven ve düzlem olarak tanımlanan 'Hipokrat Tahtası'nı geliştirmiştir; bu araç ile omurga deformiteleri düzeltmek ve desteklemeyi amaçlamıştır. Ayrıca omurga deformitesinin düzeltilmesi amacıyla traksiyon uygulamasını geliştirmiştir. Bu ilkel metodlar günümüzün spinal cerrahisinde kullanılan sofistikte tekniklerin öncüleridir. Ayrıca Hipokrat bu hastaların dizürü, konstipasyon, cilt sorunlarından da bahsetmektedir (7, 8, 9). Sonraki yıllarda ise Aulus Cornelius tedavi amacıyla bir traksiyon cihazı geliştirmiştir. Yine eski Yunanda Celsus servikal bölge yaralanmalarının torakolomber bölge yaralanmalarına göre daha hızla kaybedildiğini belirtirken, Aretus spinal yaralanma ile paralizinin aynı tarafta ortaya çıktığını tespit etmiştir. Cerrah Paulus (MS 625-690) omuriliği dekomprese etmek amacıyla ilk kez dekompresif laminektomi fikrini ortaya atmıştır. 16. yüzyılda Fransız cerrah Pare, tahtadan bir düzenek kurarak omurga dislokasyonla-

rını redükte etmeye çalışmıştır. 1646'da Fabricius Hildanus, yumuşak dokular ve spinöz çıkıntılara bir çivi takıp çekerek servikal kırık ve dislokasyonlarda redüksiyon ve traksiyon uygulamıştır. Louis 1762 'de lomber bölgede paraplejiye yol açan metal bir parçayı komplikasyonsuz çıkarmış, tam iyileşme bildirmiştir (7-9).

Bu klinik çalışmalar bir taraftan süre gelirken bu tedavilere temel oluşturacak deneysel çalışmalar da bilim adamlarının birçoğunun ilgisi çekmiştir. Galen (M.S. 2.yy) maymun ve diğer hayvanların spinal kordlarını kestikten sonra ortaya çıkan nörolojik defisitleri inceleyerek, hemiplejiyi tanımlamıştır ve omuriliğe boylamasına yapılan kesinin hasar oluşturmadığını ancak enine yapılan kesinin motor ve duyuşal bozukluğuna neden olduğunu söylemiştir. Bu bilgiler ışığında paralizasyon adaleleri, duyuşal kayıp alanlarını ve lezyon bölgesini inceleyerek yaralanma seviyesini tespit eder duruma gelmiştir (7-11). Tarih boyunca yapılan bu ilginç çalışmaların sonrasında, ilk fizyopatolojik çalışma 1890 yılında Schamus tarafından yapılmıştır. Schamus tahtalardan yaptığı bir düzeneği kullanarak tavşanların sırtına travma uygulamış; travmadan sonra spinal kord içinde dejenerasyon ve kavitasyonların oluştuğunu gözlemiştir. 1890 ve 1897 yılları arasında omurilik yaralanmalarıyla ilgili ilk deneysel çalışmalar Lundberg tarafından yapılmıştır. Deneysel spinal kord çalışmalarının standardizasyonu ve tekrar edilebilirliği ise 1911 yılında Allen tarafından gerçekleştirilmiştir ve gramsantimetre birimi ile ifade edilen şiddette ağırlık düşürme modelini tanımlamıştır. Allen tarafından ortaya konulan yöntemde; bilinen bir ağırlık, bilinen bir yükseklikten açığa çıkarılan spinal kord üzerine düşürülür (12).

Yıllar içinde birçok araştırmacı değişik yöntemlerle deneysel omurilik hasarı oluşturmuştur. Başlıca örnekler; Watson 1891 yılında köpekleri yüksekten düşürme, Allen 1911'de omurilik üzerine ağırlık düşürme, McVeigh 1923 yılında omurilik üzerine parmakla basma, Tarlov 1953'de epidural aralıkta balon, Fontaine 1954 yılında klemp ile omuriliği sıkıştırma, Rivlin 1978'de omuriliğe anevrizma klibi, Watson 1986 yılında omuriliğe lazer ile insizyon, Benzel 1990'da omurgayı klemp ile sıkıştırma ve Stokes 1990'da

elektromekanik kontüzyon yöntemleri olarak sıralanabilir (13, 14).

Spinal kord yaralanması sonrası gelişen nörolojik hasardan primer hasar ve sonrasında hücre ölümü kaskadlarının aktivasyonu ile oluşan sekonder hasar sorumludur. Yapılan çalışmaların tamamı ikincil hasarı önlemeye yöneliktir. Amaç lezyon bölgesinde canlılığını koruyan sinir hücrelerini korumak ve ilerleyici hasarlanmayı arttıracak patolojik süreçleri engellemektir. Günümüze kadar bilim adamları tarafından birçok farmakolojik ajan bu ikincil hasarı en aza indirmek için kullanılmış, ancak bir dönem metilprednizolon klinikte kullanılmış; bunun haricinde hiçbir ilaç henüz klinik kabul görmemiştir (3, 4, 5, 15, 16). Klinik kullanıma girebilmesi için bir farmakolojik ajanın öncelikli hayvan deneylerinde kullanılması gerekmektedir. Bu amaçla spinal kord hasarı oluşturulması ile ilgili birçok deneysel model geliştirilmiştir.

Deneysel modeller ile insanda spinal kord yaralanması sonrası gelişen patofizyolojik süreçler açıklanmaya çalışılmakta ve nöron koruyucu tedavi seçenekleri geliştirilmektedir. Deneysel çalışmalarda amaç modelin tekrarlanabilir, kuvvet ve süre olarak ölçülebilir, ayarlanabilir insan modeline yakın ve kolay uygulanabilir olmasıdır. İnsan travma modeline en yakın olan ve araştırmacılar tarafından en çok kullanılan modeller ağırlık düşürme ve anevrizma klibi ile ekstradural kompresyondur. Ağırlık düşürme modelinin avantajları ayarlanabilirlik ve ölçülebilirlik, dezavantajları ise travmanın komşu segmentlere yayılımı ve travma yerinin solunum ile değişebilmesi nedeniyle standardizasyon zorluğudur. Anevrizma klibi modelinde ise standardizasyon ve tekrarlama kolaylığı, basit uygulanabilirliği gibi avantajlara karşılık iskemik süreçlerin travmaya eklenmesi gibi dezavantajlar söz konusudur.

Biz bu yazıda deneysel çalışmalara yol gösterici olması adına ağırlık düşürme yöntemi ile spinal kord travma modelini özetlemeye çalışacağız.

Etik kurulu onayı alındıktan sonra istatistiksel anlamlılığı sağlayacak şekilde türüne göre değişimle birlikte 200-350 gr ağırlıklardaki erkek (dişi ratlardaki hormonal epizodların deneyde dezavantaj yaratmaması için) ratlardan uygun

gruplar oluşturulur. Klinik muayenede sağlıklı oldukları belirlenen ratların motor fonksiyonları Drummond ve Moore kriterleri, eğimli yüzey testi, modifiye tarlov skalası ve parmak açma testi ve BBB Skalası (Basso, Beattie, Bresnahan) gibi değerlendirme yöntemlerinde biri kullanılarak işlem öncesi ve çalışmanın öngördüğü spinal kord yaralanması sonrası 1.ve/veya 2 ve/veya. 3. ve/veya 5. Gün ve/veya daha uzun sürelerde değerlendirilir.

Uygulanan başlıca prognoz testleri; Eğimli yüzey testinde rat kauçuk altlıkla kaplı ayarlanabilir eğimli yüzey üzerine başı aşağı gelecek şekilde yerleştirilir. Yüzeyin eğimi 0°den, ratın pozisyonunu 5 saniye koruyabildiği en yüksek dereceye kadar artırılır. Ratın pozisyonunu 5 saniye koruyabildiği en yüksek derece kaydedilir. Modifiye Tarlov Skalası kullanılırken hayvanın açık alandaki spontan aktivitesi gözlenir ve derecelendirilir. Rat gövdesinden kaldırılarak arka ekstremiteler asılı kaldığında gözlenen "parmak açma" refleksi 0-Parmakların açılmaması; 1- Parmakların hafif açılması; 2- Parmakların tam açılması olarak derecelendirilir (15).

Travma oluşturmak için uygulanacak cerrahi işlem sırasında mutlaka sterilizasyon kurallarına uyulmalıdır. Deneklere acı çektilmemesi için işlemlerin genel anestezi altında olması bir gerekliliktir. Bu amaçla, sıçanlarda sıklıkla intramusküler veya intraperitoneal yol tercih edilirken inhalasyon veya intravenöz yol da kullanılabilir. Pentobarbital, tiopental ve ketamin/ksilazin genel anestezik amaçlı kullanılabilir (17). Cerrahi işlem yapılacak olan tüm gruplardaki sıçanlara genel anestezi amaçlı 2mgr/kg ketamin HCl intramusküler yapılır ve anesteziden sonra sırt bölgesi traş edilen hayvanlar tespit tahtalarına prone pozisyonunda yerleştirilir (Şekil 1).

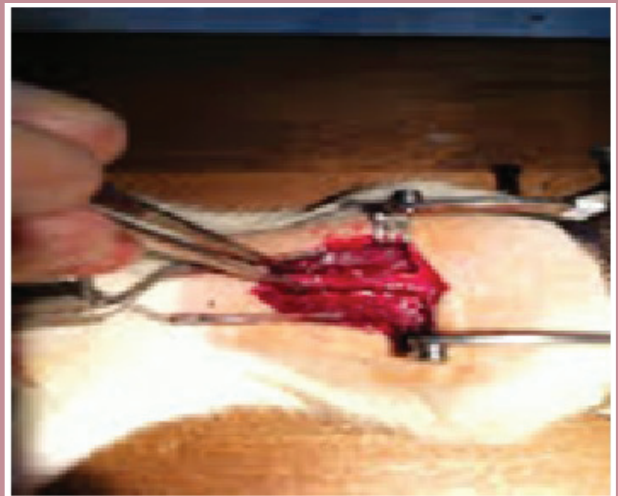
Operasyon boyunca ve anestezik etki sonlanana kadar rectal vücut ısısı takibi yapılır ve ısıtıcı pedle veya ışıqla vücut ısısı 37°C'de tutulur. Polividon iyot ile yapılan lokal antisepsiden sonra, interskapular mesafe referans alınarak cilt insizyonu yapılır. Cilt altı dokusu ve paravertebral kas fasyası geçilir. Paravertebral kaslar künt diseksiyonla sıyrılır (Şekil 2). Torakal 8. 9 ve 10. vertebra laminaları ortaya konulur ve tek seviye total

laminektomi mümkünse mikroskopla ve elmas motor ucu kullanılarak yapılır. Bu işlem sırasında duramater intakt olmasına özen gösterilmelidir (Şekil 3).

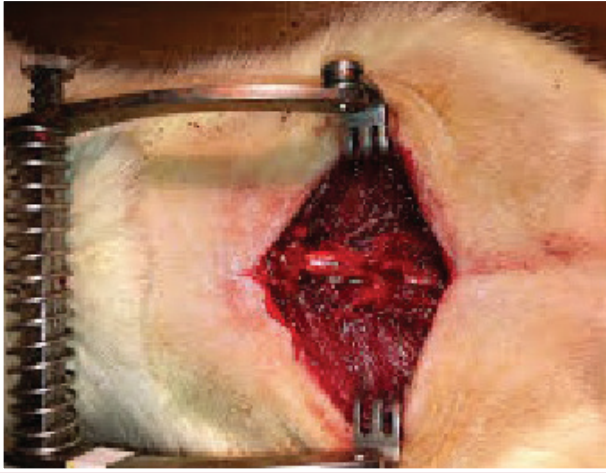
Bundan sonraki aşamalarda gruplara göre farklı işlemler uygulanır. Travma uygulanacak gruplara durasına dik açıyla 10 cm. uzunluğundaki cam veya plastik 0,3mm kalınlığındaki bir pin ölçülü tüpün içinden 4 gram (çeşitli çalışmalarda 4 ile 6 gram arası ağırlıklar kullanılmıştır) ağırlığında kurşun bir cisim serbest düşüşe bırakılır ve 40 gr/cm şiddetinde kuvvet uygulanmış olur (Şekil 4).



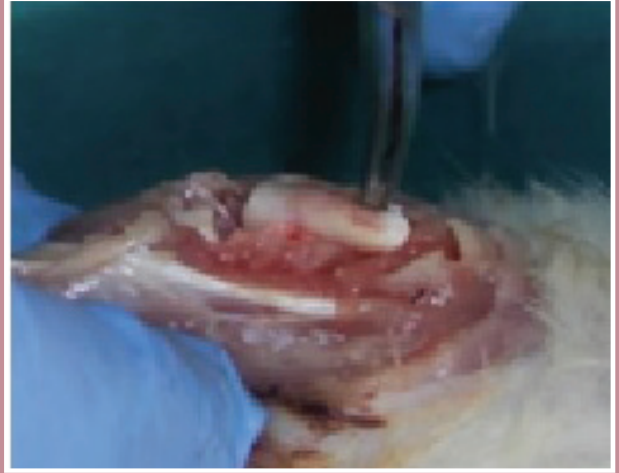
Şekil 1: Tespit tahtasında denegin sabitlenmesi.



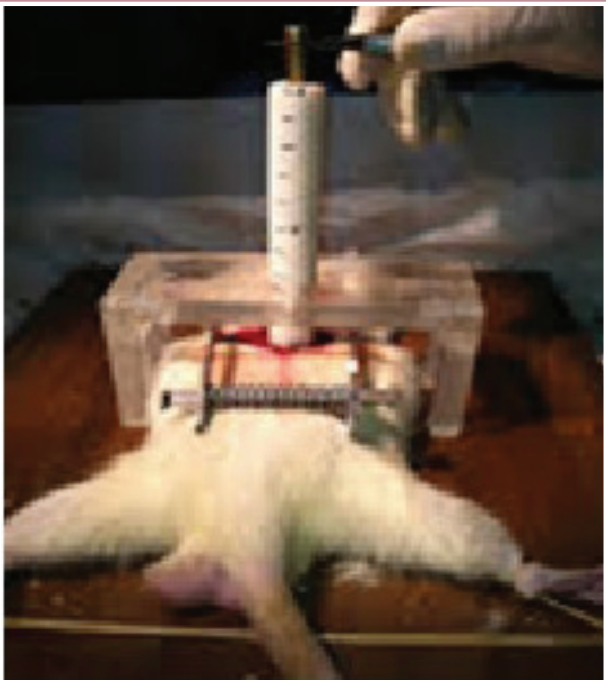
Şekil 2: Paravertebral adele diseksiyonu yapılmış denek.



Şekil 3: Durası intakt olarak laminektomi tamamlanmış denek.



Şekil 5: Spinal kordu çıkarılan denek.



Şekil 4: Ağırlığın spinal kord üzerine düşürülmesi.

Hemostazı takiben insizyon sahası anatomik katlarına uygun olarak kapatılır. Aynı kafeste takip edilecek ratların birbirlerinin dikişini açma ihtimaline karşı prolen veya metal (cilt stapleri gibi) dikiş ile kapatılma tercih edilebilir. Denekler mümkünse ayrı ayrı kafeslerine yerleştirilir. Serbestçe beslenmelerine izin verilerek günde iki kez manuel kompresyon ile mesaneleri boşaltı-

lır. Çalışmada planlandığı günlerde gruplardaki deneklerin önce motor skorlamaları yapılır ve tekrar anestezi eşliğinde transkardiyak SF ve bunu izleyen % 10'luk formol ile perfüze edilerek sakrifiye edilir. Spinal yaralanma bölgesi merkezde olacak şekilde 1-1.5 cm'lik bir spinal kord parçası çıkarılır (Şekil 5). Deney hipotezine uygun olarak, planlama aşamasında öngörülen histopatolojik, elektron-mikroskopik, immün-histokimya, immün-florasan veya biyokimyasal inceleme yapmak üzere laboratuara teslim edilir.

KAYNAKLAR

1. Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kirnap M, Dursun H, Kalkan A, Cengiz A, Yalılıkçı A, Ünalın HI, Nas K, Orkun S, Tekeoğlu I. Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nationwide epidemiologic study. *Spinal Cord* 38: 697-701,2000.
2. Lasfargues JE,et al. A model for estimating spinal cord injury prevalence in United States. *Paraplegia* 33:62-68,1995.
3. Yaman O, Yaman B, Aydın F, Var A, Temiz C. Hyperbaric oxygen treatment in the experimental spinal cord injury model. *Spine J* 14: 2184-94, 2014.
4. Kazancı A, Seckin H, Karadeniz U, Kazancı D, Turan S, Kazancı B, Yigitkanlı K, Bavbek M. Comparison of the effect of mexiletine and methylprednisolone on neural function and histopathological damage after transient spinal cord ischemia in rabbits. *Turk Neurosurg* 20: 43-9, 2010.

5. Menekse G, Daglioglu E, Nacar OA, Polat E, Ozdol C, Dalgic A, Take G, Okten AI, Belen AD. The neuroprotective effects of rituximab in rat spinal cord injury model: an immunohistochemical study. *Turk Neurosurg* 23: 783-90; 2013.
6. Hughes JT: The Edwin Smith Surgical Papirus: An analysis of the first case reports of spinal cord injuries. *Paraplegia* 26: 71-82, 1988.
7. Lifshutz J, Colohan A. A brief history of therapy for traumatic spinal cord injury. *Neurosurg Focus* 16: E5, 2004.
8. Sonntag VKH: History of degenerative and traumatic disease of the spine. In a history of neurosurgery. Greenblat SH. American Association of neurological Surgeons, Washington; pp: 355–357.1997.
9. Naderi S, M.Zileli, A. Fahir Özer: Omurga Cerrahisinin Tarihçesi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi Ed. M. Zileli, Fahir Özer, 2. baskı, cilt 1, Meta Basım, Bornova, İzmir , s:1-13,2002.
10. Ohry A, Ohry KK: Spinal cord injuries in the 19th century. Churchill Livingstone, Edinbrough, pp 9-35, 1989.
11. Xarchas K, Bourandas J: Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* 28: 1481–1484, 2003.
12. Pringle, R. G.: Effects of Injury on the Spinal Cord. *Surgery of the Spine. Vol.2.* (eds) Findlay, G., Owen, R. Oxford.Blackwell Scientific Publications.1992, 999-1008.
13. Allen AR: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report. *JAMA* 57:877–880, 1911.
14. Rivlin AS, Tator CH. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg Neurol* 10: 38-43, 1978.
15. Yusuf Sinan Şirin, Hikmet Keleş, Ömer Beşaltı, Sevil Atalay Vural. Deneysel Spinal Kord Travmalarında ATP-MgCl₂ ve Metilprednizolonun Karşılaştırılması *J Clin Anal Med* 3: 442-7, 2012.
16. Kaptanoglu E, Solaroglu I, Surucu HS, Akbiyik F, Beskonakli E. Blockade of sodium channels by phenytoin protects ultrastructure and attenuates lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Acta Neurochir (Wien)* 147: 405-12, 2005.
17. Önal M.B, Özgen T, Ziyal M.İ. Mikronöroşirürjide Laboratuvaradan Pratiğe. Hacettepe yayınları 2011 sayfa 28.