Deneyisel Spinal Kord Yaralanmasında Vitamin D₃'ün Motor Fonksiyonlar Üzerine Olan İyileştirici Etkisi

Therapeutic Effects of Vitamin D₃ on Motor Functions Following Experimental Spinal Cord Injury

Hasan Çelik¹, Senem Mut², Ferhat Harman³, Gökhan Yılmaz⁴, Mehmet Zafer Berkman⁵

¹Gebze Medikal Park Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, Kocaeli, Türkiye

²Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

³Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

⁴Beykoz Devlet Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁵Maslak Acıbadem Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, İstanbul, Türkiye

Özet

Amaç: Akut spinal kord yaralanması (SKY) sonrası nörolojik hasar, primer mekanik yaralanma ile olduğu kadar sekonder olarak doku hasarına yol açan hücre ölümü aktivasyon kaskatlarından da kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada vitamin D₃'ün sıçanlarda oluşturulan deneyel SKY sonrasında motor fonksiyonlar üzerindeki iyileştirici etkinliği araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yapıldı. Çalışmada 3 grupta, 7'şer adet olmak üzere toplam 21 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. İlk gruba sadece laminektomi yapıldı (kontrol grubu). İkinci gruba laminektomi yapıp omurilik yaralanması oluşturuldu (travma grubu). Üçüncü gruba laminektomi yapıp omurilik yaralanması oluşturuldu ve 1., 3., 5., 7. günlerde intraperitoneal olarak 1 mcg/kg/gün dozunda vitamin D₃ enjeksiyonu yapıldı (vitamin D₃ grup). Deneklerin fonksiyonel iyileşmeleri cerrahi işlem sonrası 1., 7., 14. ve 21. günlerde eğik düzlem testi, Drummond ve Moore motor fonksiyon skoru ile değerlendirildi. Kontrol, travma ve vitamin D₃ uygulanan gruplardaki doku parçaları hematoxilen-eozin (HE) boyası ile boyanıp ışık mikroskopunda incelendi.

Bulgular: Vitamin D₃ grubunda eğik düzlem testi sonuçları ve motor fonksiyon skorları travma grubu ile karşılaştırıldığında 1., 2. ve 3. haftalarda anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

Sonuç: Bu çalışmamızda, sıçanlarda oluşturulan deneyel SKY'de vitamin D₃'ün tedavi edici etkisi araştırılmış olup klinik olarak iyileşme sürecine anlamlı etkinliği olduğu saptanmıştır. (Türk Nöroloji Dergisi 2015; 21:55-61)

Anahtar Kelimeler: Deneyel spinal kord yaralanması, antioksidan tedavi, vitamin D₃

Summary

Objective: Spinal cord injuries are frequently encountered and is a major health problem due to the severe disability they cause. The neurological damage of acute spinal cord trauma triggers primary mechanisms of injury and cell death activation cascades leading to tissue damage. The aim of this study was to investigate the therapeutic effects of vitamin D₃ in a rat model of spinal cord injury.

Materials and Methods: The study was performed at Haydarpaşa Numune Training Hospital, İstanbul, Turkey. Twenty-one Sprague-Dawley rats were randomly assigned to the following study groups: the control group, undergoing laminectomy procedure; trauma group, undergoing spinal cord injury after laminectomy; and trauma plus vitamin D₃ group, undergoing spinal cord injury after laminectomy and subsequent administration of vitamin D₃ on days 1, 3, 5, 7 intraperitoneally with a dosage of 1 mcg/kg/day. The functional outcome was evaluated by using inclined plane test and Drummond and Moore motor function

score on days 1, 7, 14, 21. Spinal cord samples of the control, trauma and trauma plus vitamin D₃ groups were obtained for histopathologic evaluations after clinical examinations and were examined under light microscope.

Results: Inclined plane test scores and motor function scores of vitamin D₃ group were significantly higher than the trauma group at 1st, 2nd and 3rd weeks.

Conclusion: In our study we have investigated the therapeutic effects of vitamin D₃ and found out that it has a positive impact to the recovery process of the spinal cord injury. (Turkish Journal of Neurology 2015; 21:55-61)

Key Words: Experimental spinal cord injury, antioxidant treatment, vitamin D₃

Giriş

Spinal kord yaralanmasının (SKY) toplumda görülme sıklığının yüksekliği, fiziksel, psikosozal ve ekonomik açıdan oluşturduğu hasarın büyüklüğü ve evrensel kabul edilmiş bir tedavi protokolünün düzenlenememiş olması nedeniyle günümüzde halen önemini sürdürmektedir. Geliştirilmeye çalışılan etkin farmakolojik tedavi yöntemleri travma sonrası gelişen süreçlerin patofizyolojisinin iyi anlaşılması gerekliliğini ortaya koymaktadır (1). Spinal kord yaralanması olan hastalarda primer ya da mekanik travmada fonksiyonel kayıp tam olmasına rağmen nadiren total transeksiyon nedenidir. Ek olarak korddaki biyokimyasal ve patolojik değişikliklerle oluşan hasarlanmanın ilerleyebileceği bilinmektedir (2). Akut primer yaralanmadan sonra kordda, erken dönemde hipoksi meydana gelmektedir. Dokuda primer yaralanmadan sonra hipoksinin tetiklediği elektrolit dengesizliği, nöronal eksitasyon, glutamat salınımı, serbest radikallerin oluşumu ve enflamasyonun izlendiği sekonder hasar dönemi gelişmektedir (3-5). Sekonder yaralanmada, tetiklenen olaylar kaskadı, endojen hücre ölümü yollarının aktivasyonunun eserdir. Denenen bir çok ajanın tedavide ümit verici etkilerine rağmen, yalnızca metilprednizolon tedavisinin geniş klinik çalışmalar sonucunda etkin olduğu gösterilmiştir (6).

Vitamin D gerçekte vitamin değil, bir sekosteroid hormondur ve kaynakları bakımından farklı, fakat yapı ve oluşumları yönünden birbirine benzeyen iki türü vardır. Ergokalsiferol (vitamin D₂) ve kolekalsiferol (vitamin D₃) besinlerle emilebilir fakat vitamin D₃'ün ana kaynağı öncelikle UVB ışınları ile deride sentezlenmesi ile oluşur ve aktif formuna karaciğer ve böbrekteki hidroksillenme basamaklarından sonra ulaşır. Vitamin D₃ karaciğerde aktif formu olan kalsidiol, vitamin D₂ de aktif formu 25(OH)D₂ formuna dönüşmektedir (7-9). Vitamin D₃'ün biyolojik fonksiyonları, kalsiyum dengesinin düzenlenmesi, sinir sisteminde hücre diferansiasyonu, nötrofillerin salınımı ve nörotransmitter sentezinde anahtar rol alan enzim ve genlerin aktivasyonu ile ilişkilidir (10). Beyin de vitamin D₃ etkileri açısından hedef bir dokudur. Nükleer hormon reseptör süper ailesinden olan vitamin D reseptörünün (VDR) beyin, omurilik nöron ve glial hücrelerinde lokalize olduğu gösterilmiştir (11,12). Ayrıca vitamin D₃ metabolizmasıyla ilişkili enzimleri kodlayan genlerde merkezi sinir sistemi (MSS) hücreleri tarafından eksprese edilmektedir. Duyusal, motor ve limbik sistemlerinin farklı bölümlerinde VDR'nin yaygın dağılımı, santral sinir sisteminde vitamin D₃'ün çok sayıda fonksiyonel özelliklere sahip olabileceğini düşündürmektedir (13).

Yapılan deneysel nörodejenerasyon modellerinde vitamin D₃'ün nöroprotektif olduğu gösterilmiştir (14-17). Yapılan çalışmalarda vitamin D₃'ün immün sistem ve beyin fonksiyonlarını

da düzenlediğine yönelik bilimsel kanıtlar elde edilmiştir (18). Vitamin D₃'ün VDR aracılığı ile indüklenabilir nitrik oksit sentazı (iNOS) regule ederek sitotoksiteyi kortikal nöronlarda engellediği ve yine farklı bir çalışmada iNOS ekspresyonunu makrofaj, aktive mikrogliyalarda ve astrositlerde inhibe ettiği saptanmıştır (19,20). Yapılan farklı bir çalışmada iNOS'un selektif inhibitörlerle blokajı ile omurilik yaralanmasının indüklediği kan-spinal kord bariyer hasarı, ödem formasyonu, hücre reaksiyonlarının azaldığı ve sonuç olarak motor fonksiyonları üzerine iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiştir (21,22). Bu çalışmanın amacı vitamin D₃'ün farmakolojik analoglarının nörodejeneratif ve nöroimmün hastalıklarda nöroprotektif etkinliğinden yola çıkarak bu çalışmada deneysel spinal kord yaralanmasında vitamin D₃'ün nörolojik fonksiyonlara olan iyileştirici etkisi incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ve Hayvan hakları etik kurul onayı alınarak yapıldı. Çalışmada toplam 3 grupta, 7'şer adet olmak üzere toplam 21 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Her grupta kullanılan sıçanların ağırlıkları 180-220 gram arasında değişmekteydi. Grup 1 (n=7 sıçan): Sadece laminektomi yapılan (kontrol grubu), grup 2 (n=7 sıçan): Laminektomi yapıp omurilik yaralanması oluşturulan (travma grubu), grup 3 (n=7 sıçan): Laminektomi yapıp, omurilik yaralanması oluşturulan ve 1, 3, 5 ve 7. günlerde intraperitoneal olarak 1 kez 1 mcg/kg/gün dozunda vitamin D₃ (Calcijex amp. 1 mcg/1 mL, Abbott) enjeksiyonu yapılan (vitamin D₃ grubu) grubu oluşturdu (23).

Cerrahi işlem yapılacak olan tüm gruplardaki sıçanlara genel anestezi amaçlı 2 mgr/kg ketamin HCl (Ketalar, Parke-Davis Eczacıbaşı-İstanbul) intraperitoneal verilerek sedasyon sağlandı. Sıçanlar rahat cerrahi girişim sağlamak amacı ile özel tespit tahtalarında prone pozisyonunda yerleştirildi. Torakal bölgesi önce PVD iyodin ile sterilize edildikten sonra traşlandı. Deri traşından sonra tekrar PVD iyodin ile sterilizasyon sağlandı. Operasyon boyunca ve anestezik etki sonlanana kadar ısıtıcı pedle vücut ısı 37 °C'de tutuldu. İnterskapular mesafe referans alınarak T5-T12 seviyesinde 2 cm'lik insizyonla deri, deri altı geçilip paravertebral adeleler sıyrılıp, laminektomi ortaya kondu. T7-8-9 laminektomi yapıldıktan sonra, modifiye Allen ağırlık düşürme modeli (24) kullanılarak standart omurilik travması oluşturuldu. Hemostazı takiben paravertebral adeleler ve deri anatomik katlarına uygun olarak 3/0 vicryl ile primer sütüre edildi. Sıçanlar normal oda ısısında, normal olarak uyandırıldı. Çalışmamızda, T7-8-9 total laminektomi yapılan hayvanların dura materleri sağlam olarak ortaya kondu. Modifiye Allen ağırlık düşürme modeli ile 0,5 cm çaplı, 10 cm uzunluğundaki cam boru kullanılarak, 10 cm

yükseklikten 10 gram ağırlığında ağırlık düşürülerek standard SKY oluşturuldu. SKY oluşturulan sıçanlar normal oda sıcaklığında uyandırıldı ve motor muayeneleri yapıldı. Travma oluşturulan 14 sıçanın (travma ve vitamin D₃ grupları) paraplejik olduğu görüldü. Sadece laminektomi yapılan 7 sıçanın (kontrol grubu) motor kuvvetlerinin tam olduğu tespit edildi. Sıçanlar uygun ortam ısısının sağlandığı her biri ayrı ayrı kafeslere yerleştirildi ve standart fare yemi ile beslendi. Paraplejik olan 14 sıçanın, cerrahi işlem sonrası erken post-op dönemde orogastrik beslenme sondası ile sıvı ihtiyaçları giderildi. Mesane fonksiyonları, takılan üriner kateterden idrar çıkışı ile takip edildi. Laminektomi yapıp ağırlık düşürme modeli ile omurilik yaralanması oluşturulan grup 3'teki 7 sıçana post-op 1, 3, 5 ve 7. günlerde intraperitoneal olarak 1 kez 1 mcg/kg/gün dozunda vitamin D₃ verildi.

Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi

a) Eğik düzlem testi (Inclined plane) (25): Sıçanların fonksiyonel iyileşmeleri, Rivliv ve Tator tarafından tanımlanan ve deneysel akut omurilik yaralanmalarında sıkça kullanılan eğimli alan (eğik düzlem) yöntemi ile değerlendirildi. Bütün gruplardaki sıçanlara cerrahi işlem sonrası 1, 7, 14 ve 21. günlerde eğik düzlem testi uygulandı.

b) Klinik motor muayene: Çalışmamızda sıçanların fonksiyonel iyileşmelerini değerlendirmek için düzenli olarak motor muayeneleri yapıldı. Sıçanların motor fonksiyonları cerrahi işlem sonrası eğik düzlem testi ile birlikte 1., 7., 14. ve 21. günlerde Drummond ve Moore kriterleri ile değerlendirildi (26). Eğik düzlem testi ve klinik motor muayene sonuçları gruplar arasında ve 1, 7, 14 ve 21. günlerde aynı grup içerisinde karşılaştırıldı.

Histopatolojik İnceleme

Çalışmamızın ışık mikroskopisi incelemeleri Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji laboratuvarında yapıldı. Sıçanlar 3. haftanın sonunda perkutan intraperitoneal 2 mgr/kg ketamin HCI anestezi ile uyutularak supin pozisyonunda yerleştirildi. Anestezi tamamlandıktan sonra eski insizyonlar açılarak T 7-8-9 seviyesinde 30 mm'lik omurilik

segmenti ışık mikroskopisi incelemesi için alındı. Kontrol, travma ve vitamin D₃ uygulanan gruplardaki doku parçalarının hemen tamamı takibe alındı. Rutin doku takip prosedüründen sonra hazırlanan parafin bloklar 5 mikron kalınlığındaki kesitler yapılarak hematoxilen-eozin (HE) boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken, niceliksel verilerin karşılaştırılmasında parametreler normal dağılıma uygunluk göstermediğinden parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık p<0,05 düzeyinde değerlendirildi.

Bulgular

Eğik Düzlem (Inclined Plane) Testinin Değerlendirilmesi

Gruplardaki 1. gün, 1. hafta, 2. hafta ve 3. haftadaki Inclined Plane (eğik-düzlem) dereceleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Motor Fonksiyon Skorlaması (Drummond ve Moore Kriterlerine Göre)

Gruplardaki 1. gün, 1. hafta, 2. hafta ve 3. haftadaki Motor Fonksiyon Skorları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Işık Mikroskopisi

Laminektomi sonrası travma yapılmamış olan kontrol grubunda normal yapıda omurilik kesiti görülmektedir (Resim 1 ve Resim 2). Travma grubuna ait kesitlerde yer yer kavitasyon oluşturan likefaktif nekroz, yoğun histiosit ve polimorf lökosit infiltrasyonu ile birlikte çevre dokuda enfarkt ile uyumlu görünüm, aksonal şişme ve seyrek aksonal sferoidler izlendi (Resim 3 ve

Tablo 1. Gruplardaki 1. gün, 1., 2. ve 3. haftalardaki eğik düzlem (inclined plane) derecelerinin değerlendirilmesi

Eğik Düzlem (Inclined Plane)	Grup 1 (Kontrol) Ort ± SD (Medyan)	Grup 2 (Travma) Ort ± SD (Medyan)	Grup 3 (Vitamin D ₃) Ort ± SD (Medyan)	P
1. gün	60,00±0,00 (60)	10,00±0,00 (10)	10,00±0,00 (10)	0,001**
1. hafta	60,00±0,00 (60)	11,43±2,44 (10)	13,57±2,44 (15)	0,001**
2. hafta	60,00±0,00 (60)	14,28±3,45 (15)	22,86±2,67 (25)	0,001**
3. hafta	60,00±0,00 (60)	25,71±3,45 (25)	42,86±14,54 (45)	0,001**

Kruskal Wallis Testi, **p<0,01

Tablo 2. Gruplardaki 1. gün, 1., 2. ve 3. haftalardaki motor fonksiyon skorları değerlendirilmesi

Motor Fonksiyon Skorları	Grup 1 (Kontrol) Ort ± SD (Medyan)	Grup 2 (Travma) Ort ± SD (Medyan)	Grup 3 (Vitamin D ₃) Ort ± SD (Medyan)	P
1. gün	4,00±0,00 (4)	0,00±0,00 (0)	0,00±0,00 (0)	0,001**
1. hafta	4,00±0,00 (4)	0,28±0,49 (0)	0,57±0,53 (1)	0,001**
2. hafta	4,00±0,00 (4)	1,00±0,76 (1)	1,50±0,41 (1,5)	0,001**
3. hafta	4,00±0,00 (4)	1,50±0,50 (1,5)	2,43±0,45 (2,5)	0,001**

Kruskal Wallis Testi, **p<0,01

Resim 4). Vitamin D₃ uygulanan gruba ait kesitlerde hasar bölgesi ilaç verilmeyen travma grubuna göre daha geniş bir segmenti kaplamakta olup, hasar bölgesindeki morfolojik değişiklikler ya travma grubuna benzer yoğunlukta ya da daha şiddetli olarak izlendi (Resim 5 ve Resim 6).

Tartışma

Son 20 yılda birçok araştırmacı tarafından nörolojik fonksiyonları düzeltmek amacıyla akut omurilik yaralanmasında patofizyolojik mekanizmalar üzerinden çalışmalar yapılmaktadır (27-31). SKY sonrası nörolojik hasar 'primer mekanik yaralanma' ile olduğu kadar doku hasarına yol açan hücre ölümü aktivasyon kaskatlarından da (sekonder yaralanma) kaynaklanmaktadır (32). Sekonder omurilik yaralanması; oluşan primer yaralanmanın başlattığı ve yaralanmadan sonraki saatler ve günler içerisinde gelişen bir dizi patofizyolojik sürece bağlı olarak ortaya çıkan hasardır (33-35). Birçok deneysel çalışma, doza bağlı olarak yaralanmanın ciddiyetiyle değişmekle birlikte omurilik kan

akımında azalma ve yaralanmadan sonra zamanla kötüleşen bir omurilik kan akımı azalması olduğunu göstermiştir (36). İlk birkaç saatte posttravmatik iskemide progresif kötüleşme eğer erken tedavi edilirse iskeminin önlenebilirliğini göstermesi açısından en ilginç bulgulardan biridir (37,38). Sekonder hasarın ilerlemesindeki önemli mekanizmalardan biri de travma sonrası NO (Nitrik oksit) sentezindeki artıştır (39,40). Bu artış sonucunda NO nörotoksik hale gelir ve bir serbest radikal olarak sekonder hasarın ilerlemesine katkıda bulunur. Nitrik oksit sentezinde rol alan üç enzimden biri olan iNOS, sağlıklı dokularda bulunmazken patolojik süreçlerde inflamatuvar mediatörler ve sitokinler tarafından uyarılarak artmış NO sentezine neden olurlar (41-43). Omurilik yaralanmasının erken dönemlerinde NOS inhibisyonunun nörolojik fonksiyonları iyileştirmesi ve kronik dönemde histopatolojik değişimleri düzeltmesi gibi yararlı etkileri vardır (44).

Vitamin D'nin aktif formu olan kalsitriol oluşumdan ilk başlarda sadece karaciğer ve böbreğin sorumlu olduğu düşünülse de beyin de dahil birçok organda vitamin D 1 hidroksilazın eksprese edildiği saptanmıştır (45). Ek olarak VDR'leri de hem

Resim 1. Kontrol grubu. Laminektomi sonrası travma yapılmamış omuriliğin görünüşü (HE, x40 büyütme)

Resim 3. Travma grubu. Laminektomi ve travma sonrası omuriliğin görünümü (HE, x40)

Resim 2. Kontrol grubu (HE, x100)

Resim 4. Travma grubu (HE, x100)

sıçan hem insan beyinde çok geniş alanlarda dağılmış olarak bulunmaktadır (46,47). Yapılan çalışmalarda gösterilmiş ki vitamin D VDR üzerinden beyin kaynaklı nörotrofik faktör, sinir büyüme faktörü ve nörotrofin 3'ü kodlayan genlerin ekspresyonunu regule etmektedir (48). Hipokampal hücre kültürlerinde vitamin D₃'ün eklenmesi ile nörotrofinlerin ekspresyonunun uyarıldığı ve nöronların büyümesinin arttığı gözlenmiştir (49). Başka bir çalışmada sıçan beyinlerinde vitamin D₃ ortamdan uzaklaştırıldığında nöronal büyüme faktörlerinin ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır (50). Chabas ve ark.'nın çalışmasında vitamin D'nin (özellikle vitamin D₃'ün) kalsitriol ilişkili genler üzerinden aksogenez ve myelinizasyonda önemli rol oynadığı saptanmıştır (51,52). Yapılan birçok deneysel nörodejenerasyon modelinde vitamin D₃'ün ayrıca nöroprotektif olduğu da gösterilmiştir (53-55). Çalışmalarda vitamin D₃'ün nitrit oluşumunu azalttığı ve gama glutamil transpeptidaz ekspresyonunu arttırarak oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (56). Ayrıca in vivo çalışmalarda orta serebral arter tıkanıklığı sonrası kortikal enfarktı azalttığı gözlenmiştir (57). Bu bulgulardan yola çıkarak yapmış olduğumuz

Resim 5. Travma uygulanan ve cerrahi işlem sonrası 1., 3., 5. ve 7. günlerde 1 mcg/ml dozunda vitamin D₃ verilen grup (HE, x40)

Resim 6. Travma uygulanan ve cerrahi işlem sonrası 1., 3., 5. ve 7. günlerde 1 mcg/ml dozunda vitamin D₃ verilen grup (HE, x100)

çalışmamızda fonksiyonel iyileşmeyi değerlendirdiğimiz eğik düzlem testi sonucunda, vitamin D₃ uygulanan ilaç grubunda verilen ilacın etkisiyle birinci haftadan itibaren artış gözlemlendi. Vitamin D₃ verilen sıçanlarla, sadece travma uygulanan sıçanlar arasında eğik düzlem dereceleri açısından ikinci haftadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar geliştiği görüldü. Drummond and Moore kriterleri kullanılarak yapılan motor fonksiyon skorları incelendiğinde vitamin D₃ uygulanan ilaç grubunda, motor fonksiyonlarında ikinci haftadan itibaren artış gözlemlendi. Vitamin D₃ uygulanan sıçanlarla, sadece travma uygulanan sıçanlar arasında motor fonksiyon skorları açısından üçüncü haftadan itibaren anlamlı fark gelişti. Bu bulgular vitamin D₃'ün nöronal büyüme faktörlerini indükleyerek aksogenez katkıda bulunması ve ayrıca antioksidan etki ile iyileşme sürecini hızlandırması ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca yapılan bir çalışmada vitamin D tedavisi ile hemiplejik hastalarda kas kitlesinde ve kas gücünde artış gözlenmiş ve sonuç olarak vitamin D tedavisinin fiziksel performansı arttırdığı sonucuna varılmış. Bu sonuçlar çalışmamızda gözlenen klinik iyileşmeyi de açıklamaktadır (58,59).

Işık mikroskopi çalışmamızda travma grubuna ait kesitlerde yer yer kavitasyon oluşturan likefaktif nekroz, yoğun histiosit ve polimorf lökosit infiltrasyonu ile birlikte çevre dokuda enfarkt ile uyumlu görünüm, aksonal şişme ve seyrek aksonal sferoidler izlenmiştir. Vitamin D₃ uygulanan gruba ait kesitlerde morfolojik olarak hasar bölgesinde benzer görünüm izlenmekteydi. Çalışmamızda klinik olarak iyileşme saptanmış olsada histolojik olarak bulguların desteklenmemesinin sebebi olarak yaralanma sonrası ortaya çıkan sekonder hasarlanmanın yıkıcı etkisinin net süresinin bilinmemesine bağlandı. Hasar sonrası etki 3-6 haftaya kadar uzayabilmektedir ve çalışmamızda histolojik inceleme için örnek alınan dönemde bu etkilerin devam ettiği varsayılmıştır (60,61).

Sonuç

Bu çalışmamızda vitamin D₃'ün Modifiye Allen ağırlık düşürme modeli kullanılarak yapılan omurilik hasarlanması sonrası uygulananın nöroprotektif etkilerini araştırdık. Klinik olarak nörolojik fonksiyonlarda iyileşme görülse de mikroskopik incelemelerde anlamlı değişiklikler elde edilememiştir. Böylelikle vitamin D₃'ün klinik kullanımı için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onayı: Yazı uzmanlık tezinden türetilmiştir. 2006 yılında Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde etik kurul onayı alınmıştır.

Konsept: Hasan Çelik

Dizayn: Hasan Çelik, Mehmet Zafer Berkman

Veri Toplama veya İşleme: Hasan Çelik, Gökhan Yılmaz

Analiz veya Yorumlama: Hasan Çelik, Senem Mut, Ferhat Harman

Literatür Arama: Hasan Çelik, Gökhan Yılmaz, Senem Mut, Ferhat Harman

Yazarlar: Hasan Çelik, Senem Mut, Ferhat Harman

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında hiçbir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Çalışmamız için hiçbir kurum ya da kişiden finansal destek alınmamıştır.

Kaynaklar

1. Sontag VKH. History of degenerative and traumatic diseases of the spine. In a history of neurosurgery. Greenblat SH. American Association of neurological Surgeons, Washington; 1997:355-357.
2. Faden AI, Simon RP. A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. *Ann Neurol* 1988;23:623-626.
3. Croft TJ, Brodkey JS, Nulsen FE. Reversible spinal cord trauma: a model for electrical monitoring of spinal cord function. *J Neurosurg* 1972;36:402-406.
4. Delamarter RB, Sherman J, Carr JB. Pathophysiology of spinal cord injury. Recovery after immediate and delayed decompression. *J Bone Joint surg am* 1995;77:1042-1049.
5. Dumont AS, Dumont RJ, Oskoui RJ. Will improved understanding of the pathophysiological mechanisms involved in acute spinal cord injury improve the potential for therapeutic intervention? *Curr opin Neurol* 2002;15:713-720.
6. Boyaci MG, Eser O, Kocogullari CU, Karavelioglu E, Tokyol C, Can Y. Neuroprotective effect of alpha-lipoic acid and methylprednisolone on the spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Br J Neurosurg* 2014;1-6.
7. Heaney RP, Weaver CM. Calcium and vitamin D. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003;32:181-194.
8. Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol* 1999;277:157-175.
9. Segal S, Bouillon R. Vitamin D and regulation of gene expression. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1998;1:347-354.
10. Wang Y, Chiang YH, Su TP, Hayashi T, Morales M, Hoffer BJ, Lin SZ. Vitamin D(3) attenuates cortical infarction induced by middle cerebral arterial ligation in rats. *Neuropharmacology* 2000;39:873-80.
11. Stumpf WE, Sar M, Clark SA, DeLuca HF. Brain target sites for 1,25 dihydroxyvitamin D₃. *Science* 1982;215:1403-1405.
12. Stumpf WE, Clark SA, O'Brien LP, Reid FA. 1,25(OH)₂ vit D₃ sites of action in spinal cord and sensory ganglion. *Anat Embryol (Berl)* 1987;177:307-310.
13. Prüfer K, Veenstra TD, Jirikowski GF, Kumar R. Distribution of 1,25 dihydroxyvitamin D₃ receptor immunoreactivity in the rat brain and spinal cord. *J Chem Neuroanat* 1999;16:135-145.
14. Orme RP, Bhargava MS, Fricker RA. Calcitriol imparts neuroprotection in vitro to midbrain dopaminergic neurons by upregulating GDNF expression. *PLoS One* 2013;8:62040.
15. Lin AM, Chen KB, Chao PL. Antioxidative effect of vitamin D₃ on zinc-induced oxidative stress in CNS. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1053:319-329.
16. Jang W, Kim HJ, Li H, Jo KD, Lee MK, Song SH, Yang HO. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ attenuates rotenone-induced neurotoxicity in SH-SY5Y cells through induction of autophagy. *Biochem Biophys Res Commun* 2014;451:142-147.
17. Wang JY, Wu JN, Chong TL, Hoffer BJ, Chen HH, Borlongan CV, Wang Y. Vitamin D₃ attenuates 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in rats. *Brain Res* 2001;904:67-75.
18. Deluca HF, Cantorna MT. Vitamin D: its role and uses in immunology. *FASEB J* 2001;15:2579-2585.
19. Dursun E, Gezen-Ak D, Yilmazer S. A new mechanism for amyloid- β induction of iNOS: vitamin D-VDR pathway disruption. *J Alzheimers Dis* 2013;36:459-474.
20. Tardivo V, Crobeddu E, Pilloni G, Fontanella M, Spina G, Panciani PP, Berjano P, Ajello M, Bozzaro M, Agnoletti A, Altieri R, Fiumefreddo A, Zenga F, Ducati A, Garbossa D. Say "no" to spinal cord injury: is nitric oxide an option for therapeutic strategies? *Int J Neurosci* 2015;125:81-90.
21. Genovese T, Mazzon E, Mariotto S, Menegazzi M, Cardali S, Conti A, Suzuki H, Bramanti P, Cuzzocrea S. Modulation of nitric oxide homeostasis in a mouse model of spinal cord injury. *J Neurosurg Spine* 2006;4:145-153.
22. Garcion E, Nataf S, Berod A, Darcy F, Brachet P. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase in rat central nervous system during experimental allergic encephalomyelitis. *Brain Res Mol Brain Res* 1997;45:255-267.
23. Fu J, Xue R, Gu J, Xiao Y, Zhong H, Pan X, Ran R. Neuroprotective effect of calcitriol on ischemic/reperfusion injury through the NR3A/CREB pathways in the rat hippocampus. *Mol Med Rep* 2013;8:1708-1714.
24. Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. A preliminary report. *JAMA* 1911;57:878-880.
25. Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat. *J Neurosurg* 1977;47:577-581.
26. Drummond JC, Moore SS. The influence of dextrose administration on neurologic outcome after temporary spinal cord ischemia in the rabbit. *Anesthesiology* 1989;70:64-67.
27. Zhou X, He X, Ren Y. Function of microglia and macrophages in secondary damage after spinal cord injury. *Neural Regen Res* 2014;9:1787-1795.
28. Ramer LM, Ramer MS, Bradbury EJ. Restoring function after spinal cord injury: towards clinical translation of experimental strategies. *Lancet Neurol* 2014;13:1241-1256.
29. Zhang J, Wei H, Lin M, Chen C, Wang C, Liu M. Curcumin protects against ischemic spinal cord injury: The pathway effect. *Neural Regen Res* 2013;8:3391-3400.
30. Naseem M, Parvez S. Role of melatonin in traumatic brain injury and spinal cord injury. *Scientific World Journal* 2014;2014:586270.
31. Tator CH. Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol* 1995;5:407-413.
32. Emery E, Aldana P, Bunge MB, Puckett W, Srinivasan A, Keane RW, Bethea J, Levi AD. Apoptosis after traumatic human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1998;89:911-920.
33. Tator CH, Koyanagi I. Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1997;86:483-492.
34. Kasinathan N, Vanathi MB, Subrahmanyam VM, Rao JV. A Review on response of immune system in spinal cord injury and therapeutic agents useful in treatment. *Curr Pharm Biotechnol* 2015;16:26-34.
35. Hall ED, Wang JA, Bosken JM, Singh IN. Lipid peroxidation in brain or spinal cord mitochondria after injury. *J Bioenerg Biomembr* 2015.
36. Dohrman GJ, Wagner FC Jr, Bucy PC. The microvasculature in transitory traumatic paraplegia. An electron microscopic study in the monkey. *J Neurosurg* 1971;35:263-271.
37. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulous PT, Ellegala DB, Dumont AS. Acute spinal cord injury, Part 1: pathophysiologic mechanisms. *Clin Neuropharmacol* 2001;24:254-264.
38. Amar PA, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999;44:1027-1039.
39. Koozekanani SH, Vise WM, Hashemi RM, McGhee RB. Possible mechanisms for observed pathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen. *J Neurosurg* 1976;44:429-434.
40. Isaksson J, Farooque M, Olsson Y. Improved functional outcome after spinal cord injury in iNOS-deficient mice. *Spinal cord* 2005;43:167-170.
41. Díaz-Ruiz A, Ibarra A, Pérez-Severiano F, Guízar-Sahagún G, Grijalva I, Ríos C. Constitutive and inducible nitric oxide synthase activities after spinal cord contusion in rats. *Neurosci Lett* 2002;319:129-132.
42. Liu C, Jin A, Zhou C, Chen B. Nitric oxide synthase gene expression in injured spinal cord tissue. *Chin Med J* 2002;115:740-742.
43. Sharma HS, Badgaiyan RD, Alm P, Mohanty S, Wiklund L. Neuroprotective effects of nitric oxide synthase inhibitors in spinal cord injury-inducible pathophysiology and motor functions: an experimental study in the rat. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1053:422-434.
44. Jiang Y, Gong FL, Zhao GB, Li J. Chrysin suppressed inflammatory responses and the inducible nitric oxide synthase pathway after spinal cord injury in rats. *Int J Mol Sci* 2014;15:12270-12279.
45. Eyles DW, Smith S, Kinobe R, Hewison M, McGrath JJ. Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat* 2005;29:21-30.
46. Langub MC, Herman JP, Malluche HH, Koszewski NJ. Evidence of functional vitamin D receptors in rat hippocampus. *Neuroscience* 2001;104:49-56.
47. Veenstra TD, Prüfer K, Koenigsberger C, Brimijoin SW, Grande JP, Kumar R. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ receptors in the central nervous system of the rat embryo. *Brain Res* 1998;804:193-205.
48. Wang TT, Tavera-Mendoza LE, Laperriere D, Libby E, MacLeod NB, Nagai Y, Bourdeau V, Konstantin A, Lallemand B, Zhang R, Mader S, White JH. Large-scale in silico and microarray-based identification of direct 1,25-dihydroxyvitamin D₃ target genes. *Mol Endocrinol* 2005;19:2685-2695.
49. Marini F, Bartocchini E, Cascianelli G, Voccoli V, Bavaglia MG, Magni MV, Garcia-Gil M, Albi E. Effect of 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ in embryonic hippocampal cells. *Hippocampus* 2010;20:696-705.

50. Féron F, Burne TH, Brown J, Smith E, McGrath JJ, Mackay-Sim A, Eyles DW. Developmental Vitamin D₃ deficiency alters the adult rat brain. *Brain Res Bull* 2005;65:141-148.
51. Chabas JF, Stephan D, Marqueste T, Garcia S, Lavaut MN, Nguyen C, Legre R, Khrestchatisky M, Decherchi P, Féron F. Cholecalciferol (vitamin D₃) improves myelination and recovery after nerve injury. *PLoS One* 2013;8:65034.
52. Chabas JF, Alluin O, Rao G, Garcia S, Lavaut MN, Risso JJ, Legre R, Magalon G, Khrestchatisky M, Marqueste T, Decherchi P, Féron F. Vitamin D₂ potentiates axon regeneration. *J Neurotrauma* 2008;25:1247-1256.
53. Malcok UA, Sengul G, Kadioglu HH, Aydin IH. Therapeutic effects of vitamin D₃ in a rat diffuse axonal injury model. *J Int Med Res* 2005;33:90-95.
54. Javidan AN, Sabour H, Latifi S, Vafa M, Shidfar F, Khazaeipour Z, Shahbazi F, Rahimi A, Razavi SH. Calcium and vitamin D plasma concentration and nutritional intake status in patients with chronic spinal cord injury: A referral center report. *J Res Med Sci* 2014;19:881-884.
55. Féron F, Marqueste T, Bianco J, Gueye Y, Chabas JF, Decherchi P. Repairing the spinal cord with vitamin D: a promising strategy. *Biol Aujourd'hui* 2014;208:69-75.
56. Ibi M, Sawada H, Nakanishi M, Kume T, Katsuki H, Kaneko S, Shimohama S, Akaike A. Protective effects of 1 alpha,25-(OH)₂D₃ against the neurotoxicity of glutamate and reactive oxygen species in mesencephalic culture. *Neuropharmacology* 2001;40:761-771.
57. Wang Y, Chiang YH, Su TP, Hayashi T, Morales M, Hoffer BJ, Lin SZ. Vitamin D₃ attenuates cortical infarction induced by middle cerebral arterial ligation in rats. *Neuropharmacology* 2000;39:873-880.
58. Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T, Satoh K. Low-dose vitamin D prevents muscular atrophy and reduces falls and hip fractures in women after stroke: a randomized controlled trial. *Cerebrovasc Dis* 2005;20:187-192.
59. Cannell JJ, Hollis BW, Sorenson MB, Taft TN, Anderson JJ. Athletic performance and vitamin D. *Med Sci Sports Exerc* 2009;41:1102-1110.
60. Christie SD, Comeau B, Myers T, Sadi D, Purdy M, Mendez I. Duration of lipid peroxidation after acute spinal cord injury in rats and the effect of methylprednisolone. *Neurosurg Focus* 2008;25:5.
61. Kamencic H, Griebel RW, Lyon AW, Paterson PG, Juurlink BH. Promoting glutathione synthesis after spinal cord trauma decreases secondary damage and promotes retention of function. *FASEB J* 2001;15:243-250.