



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**LİTYUM'UN UZUN DÖNEM SPİNAL KORD HASARI
SONRASI ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ZEYNEP BALÇIKANLI

SİNİRBİLİM ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. ERTUĞRUL KILIÇ

İSTANBUL-2022

TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans () Doktora (X)
Anabilim Dalı : Sinirbilim
Tez Sahibi : Zeynep BALÇIKANLI
Tez Başlığı : Lityum'un Uzun Dönem Spinal Kord Hasarı Sonrası
Etkilerinin Araştırılması
Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversitesi Güney Yerleşkesi
Sınav Tarihi : 27.07.2022

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

<u>Danışman</u>	<u>Kurumu</u>	<u>İmza</u>
Prof.Dr. Ertuğrul KILIÇ	İstanbul Medipol Üniversitesi	

Sınav Jüri Üyeleri

Dr.Öğr.Üyesi Berrak ÇAĞLAYAN	İstanbul Medipol Üniversitesi
Dr.Öğr.Üyesi Mustafa Çağlar BEKER	İstanbul Medipol Üniversitesi
Doç.Dr. Birsen ELİBOL	Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi
Dr.Öğr.Üyesi Duygu SARI AK	Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Yukarıdaki jüri kararıyla kabul edilen bu Doktora Tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun
...../...../ tarih ve/..... - sayılı kararı ile şekil
yönünden Tez Yazım Kılavuzuna uygun olduğu onaylanmıştır.

Prof.Dr. Neslin EMEKLİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür Vekili

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Zeynep BALÇIKANLI

İTHAF



*“Bu tez aileme
ithaf edilmiştir.”*

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın başından sonuna kadar destek olan, her konuda yardımını esirgemeyen, rehberlik eden danışmanım sayın Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ'a en derin minnettarlığımı sunuyorum.

Ayrıca REMER Araştırma Merkezimizin yöneticisi Prof. Dr. Gürkan ÖZTÜRK'e doktora sürecimde desteklerinden ve merkeze sağladığı imkanlardan dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen, M. Çağlar BEKER, A. Burak ÇAĞLAYAN ve Taha KELEŞTEMUR, Berrak ÇAĞLAYAN'a birlikte çalışmaya başladığım günden itibaren her konuda yardımcı olan ekip arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Her zaman her konuda en büyük destekçim olan annem Esen BALÇIKANLI'ya, attığım her adımda yanımda olan babam M.Yavuz BALÇIKANLI'ya teşekkürlerimi sunuyorum

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ ONAY FORMU	i
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI	ii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
RESİMLER LİSTESİ.....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
1- ÖZET	1
2- ABSTRACT.....	2
3-GİRİŞ VE AMAÇ	3
4-GENEL BİLGİLER.....	5
4.1. Omuriliğin Yapısı.....	5
4.2. İnen-Çıkan Yolaklar	7
4.3. Omurilik Hasarı	10
4.3.1. Birincil-ikincil hasar	10
4.3.2. Omurilik hasarı patofizyolojisi.....	11
4.4. Lityum	14
5-MATERYAL VE METOT.....	16
5.1. Deney Grupları ve Dizaynı	16
5.1.1. Deney dizaynı.....	17
5.2. Omurilik Hasar Modeli	18
5.3. Lityum Uygulanması	19
5.4. Lokomotor Aktivite Testleri.....	19
5.4.1. Basso fare skalası	20
5.4.2. Horizontal merdivende yürüme testi	21

5.4.3. Açık alan testi	22
5.5. Hasar Sonrası Aksonal Projeksiyonların Değerlendirilmesi	23
5.6. Elektrofizyolojik Ölçüm Elektromiyografi	24
5.7. Zamana Bağlı serum Lityum Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi	25
5.8. Transkardiyal Perfüzyon ve Doku İzolasyonu	25
5.9. Kryostat Cihazı ile Omurilik Kesitlerinin Eldesi	26
5.10. Atrofi Değerlendirilmesi	26
5.11. Nöronal Sağkalım ve Glial Hücrelerin Değerlendirilmesi	27
5.12. BDA Boyaması.....	28
5.13. Değerlendirme ve İstatistik	29
6-BULGULAR.....	30
6.1. Zamana Bağlı Serum Lityum Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi	30
6.2. Davranış Testleri ile Omurilik Hasarı Sonrası Lokomotor Aktivitenin Değerlendirilmesi	31
6.2.1. BMS testi ile fonksiyonel geri kazanımın değerlendirilmesi	31
6.2.2. Horizontal merdivende yürüme testi ile motor aktivite ve koordinasyonun değerlendirilmesi	32
6.2.3. Açık alan testi ile motor kabiliyetin değerlendirilmesi	33
6.3. Elektrofizyolojik Olarak Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi	41
6.4. Omurilik Hasarı Sonrası Atrofinin Değerlendirilmesi	44
6.5. Lityum Tedavisinin Omurilik hHasarı Sonrası Nöronal Sağkalım, Motor Nöron ve Glial Hücreye Yönelik Etkisinin Değerlendirilmesi	51
6.6. Omurilik Hasarı Sonrası Aksonal Rejenerasyonun Değerlendirilmesi.....	63
7-TARTIŞMA.....	68
8-SONUÇ	72
9-KAYNAKLAR	73
10-ETİK KURUL ONAYI.....	86
11-ÖZGEÇMİŞ	89

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

BDA	Biyotinlenmiş dekstran amin
BMS	Basso fare skalası
CST	<i>Kortikospinal</i> yolak
DC	<i>Dorsal</i> kolon
EMG	Elektromiyografi
GFAP	Glial Fibriler Asidik Protein
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometre
L	<i>Lumbal</i>
LiCl	Lityum klorür
NeuN	Nöronal Nükleus
NGS	Keçi Serumı
NMDA	N-metil-D-aspartat
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
PFA	Paraformaldehit
ReST	<i>Retikülospinal</i> yolak
RST	<i>Rubro spinal</i> yolak
S	<i>Sakral</i>
SF	Serum fizyolojik
SLC	Sodyum-Lityum karşı taşıma sistemi
STT	<i>Spinotalamik</i> yolak
VST	<i>Vestibulospinal</i> yolak

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1.1. Omuriliğin anatomik yapısı	5
Şekil 4.1.2. Omuriliğin <i>transvers</i> kesiti	6
Şekil 4.1.3. <i>Torakal</i> Omuriliğin aksiyal görüntüsü	6
Şekil 4.2.1. Kortikosipinal yol	7
Şekil 4.2.2. <i>Dorsal</i> kolon yolu	8
Şekil 4.2.3. <i>Spinotalamik</i> yol	9
Şekil 4.3.1.1 Birincil-İkincil hasar	11
Şekil 4.3.1.2. Birincil-İkincil hasarın mekanizması.....	11
Şekil 4.3.2.1. Omurilik hasarı patofizyolojisi	12
Şekil 5.1.1.1. Omurilik Hasarı, Davranış testleri (Basso, Ladder, Open Field), BDA enjeksiyonu, EMG kaydı deney dizaynı.	17
Şekil 5.2.1. Omurilik yarı kesi görüntüsü.	19
Şekil 5.4.2.1. Horizontal merdivende yürüme testi	22
Şekil 5.5.1. BDA enjeksiyonu.	24
Şekil 5.10.1. Omurilik kesitleri atrofi değerlendirme	27
Şekil 5.11.1. Nöronal sağkalım ve glial hücrelerin değerlendirilmesi.....	28
Şekil 5.11.2. Kryostat cihazı, omurilik kesitleri.	28
Şekil 5.12.1. Aksonal projeksiyon görüntüsü.	29
Şekil 6.2.1.1. Omurilik hasarı sonrası motor aktivitenin, <i>plantar-dorsal</i> adımlamanın, gövde stabilizasyonu ve koordinasyonun BMS testi ile değerlendirilmesi	31
Şekil 6.2.2.1. Omurilik hasarı sonrası doğru, yanlış adımlamanın, koordinasyonun, motor yeteneğin merdivende yürüme test ile değerlendirilmesi	32
Şekil 6.2.3.1. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile hareketlilik süresinin değerlendirilmesi.....	33
Şekil 6.2.3.2. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile hareketsizlik süresinin değerlendirilmesi.....	34
Şekil 6.2.3.3. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile alınan mesafenin değerlendirilmesi.....	35
Şekil 6.2.3.4. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile ortalama hızın değerlendirilmesi.....	36

Şekil 6.2.3.5. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile mutlak dönüş açısının değerlendirilmesi.....	37
Şekil 6.2.3.6. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile rotasyonun değerlendirilmesi.....	38
Şekil 6.2.3.7. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile saat yönü rotasyonun değerlendirilmesi.....	39
Şekil 6.2.3.8. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile saat yönü tersi rotasyonun değerlendirilmesi.....	40
Şekil 6.3.1. Omurilik hasarı sonrası fonksiyonel iyileşmenin elektrofizyolojik olarak değerlendirilmesi.....	41
Şekil 6.3.2. Uyarıcı, algılayıcı ve referans elektrotların yerleşim yerleri.....	42
Şekil 6.3.3. Hasar sonrası lityum tedavisinin EMG kaydı ile kas kasılmasındaki gecikme, kas kasılma süreleri ve amplitüd ölçümündeki etkisinin değerlendirilmesi.....	43
Şekil 6.4.1. <i>Rostral</i> omurilik kesitlerinin Cresyl violet boyaması ile atrofi görüntüsü.....	44
Şekil 6.4.2. <i>Rostral</i> omurilik gri cevherdeki atrofi miktarının hesaplanması.....	45
Şekil 6.4.3. <i>Rostral</i> omurilik beyaz cevherdeki atrofi miktarının hesaplanması.....	45
Şekil 6.4.4. <i>Rostral</i> omurilik <i>dorsal fönikülüs</i> atrofi miktarının hesaplanması.....	46
Şekil 6.4.5. <i>Rostral</i> omurilik <i>lateral fönikülüs</i> atrofi miktarının hesaplanması.....	46
Şekil 6.4.6. <i>Rostral</i> omurilik <i>ventral fönikülüs</i> atrofi miktarının hesaplanması.....	47
Şekil 6.4.7. <i>Kaudal</i> omurilik kesitlerinin Cresyl violet boyaması ile atrofi görüntüsü.....	48
Şekil 6.4.8. <i>Kaudal</i> omurilik gri cevher atrofi miktarının hesaplanması.....	48
Şekil 6.4.9. <i>Kaudal</i> omurilik beyaz cevher atrofi miktarının hesaplanması.....	49
Şekil 6.4.10. <i>Kaudal</i> omurilik <i>dorsal fönikülüs</i> atrofi miktarının hesaplanması.....	49
Şekil 6.4.11. <i>Kaudal</i> omurilik <i>lateral fönikülüs</i> atrofi miktarının hesaplanması.....	50
Şekil 6.4.12. <i>Kaudal</i> omurilik <i>ventral fönikülüs</i> atrofi miktarının hesaplanması.....	50
Şekil 6.5.1. NeuN boyaması <i>rostral</i> seviye nöronal sağkalım değerlendirilmesi.....	51
Şekil 6.5.2. <i>Rostral</i> omurilik (gri cevher) <i>dorsal</i> NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	52

Şekil 6.5.3. <i>Rostral</i> omurilik (gri cevher) <i>dorsomedial</i> NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	52
Şekil 6.5.4. <i>Rostral</i> omurilik (gri cevher) <i>ventral</i> NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	53
Şekil 6.5.5. NeuN boyaması <i>kaudal</i> seviye nöronal sağkalım değerlendirilmesi.....	53
Şekil 6.5.6. <i>Kaudal</i> omurilik (gri cevher) <i>dorsal</i> NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	54
Şekil 6.5.7. <i>Kaudal</i> omurilik (gri cevher) <i>dorsomedial</i> NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	54
Şekil 6.5.8. <i>Kaudal</i> omurilik (gri cevher) <i>ventral</i> NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	55
Şekil 6.5.9. NeuN boyaması <i>rostral</i> seviye motor nöron değerlendirilmesi... ..	55
Şekil 6.5.10. <i>Rostral</i> omurilik (gri cevher) motor nöronların değerlendirilmesi.....	56
Şekil 6.5.11. NeuN boyaması <i>kaudal</i> seviye motor nöron değerlendirilmesi... ..	56
Şekil 6.5.12. <i>Kaudal</i> omurilik (gri cevher) motor nöronların değerlendirilmesi.....	57
Şekil 6.5.13. GFAP immün boyaması ile GFAP (+) hücre değerlendirilmesi... ..	58
Şekil 6.5.14. <i>Rostral</i> omurilik <i>fünikülüsler</i> GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	58
Şekil 6.5.15. <i>Kaudal</i> omurilik <i>fünikülüsler</i> GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	60
Şekil 6.5.16. <i>Rostral</i> omurilik gri cevher GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	61
Şekil 6.5.17. <i>Kaudal</i> omurilik gri cevher GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi.....	62
Şekil 6.6.1. BDA (+) hücrelerin, aksonların koronal <i>rostral</i> omurilik kesiti üstünde <i>kontralateral</i> ve <i>ipsilateral</i> görüntüsü.... ..	64
Şekil 6.6.2. <i>Rostral</i> omurilik <i>kontralateral</i> bölgede BDA (+) hücrelerin, aksonal plastisitenin değerlendirilmesi..... ..	65
Şekil 6.6.3. <i>Rostral</i> omurilik <i>ipsilateral</i> bölgede BDA (+) hücrelerin, aksonal plastisitenin değerlendirilmesi..... ..	65
Şekil 6.6.4. BDA (+) hücrelerin, aksonların koronal <i>kaudal</i> omurilik kesiti üstünde <i>kontralateral</i> ve <i>ipsilateral</i> görüntüsü.... ..	66

Şekil 6.6.5. <i>Kaudal omurilik kontralateral</i> bölgede BDA (+) hücrelerin, aksonal plastisitenin değerlendirilmesi.....	67
Şekil 6.6.6. <i>Kaudal omurilik ipsilateral</i> bölgede BDA (+) hücrelerin, aksonal plastisitenin değerlendirilmesi.....	67



RESİMLER LİSTESİ

Resim 5.4.1.1. BMS testi değerlendirmesi	21
Resim 5.4.3.1. Açık alan testi	23
Resim 5.6.1. EMG kayıt düzeneği	25



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 5.4.1.1. Basso Fare Skalası.....	20
Tablo 6.1.1. ICP-MS ile ölçülen ve mmol/L olarak gösterilen serum lityum konsantrasyonları.....	30



1. ÖZET

LİTYUM'UN UZUN DÖNEM SPİNAL KORD HASARI SONRASI ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Omurilik hasarı, sinir ağlarında meydana gelen nörolojik hasara ve fonksiyonel kayıpların oluşmasına neden olmaktadır. Hasara yönelik tedavi yöntemleri hasarın neden olduğu dejeneratif etkileri azaltmada yetersizdir. Omurilik hasarı sonrası rejenerasyon ve nöroproteksiyon hedefli etkili çalışmalar günümüzde yeterli derecede değildir. Bu nedenle etkili ve yeni terapötik odaklı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bipolar bozukluk için terapötik etki gösteren lityumun nörodejeneratif rahatsızlıkların tedavisinde protektif etki gösterdiği bilinmesine rağmen lityumun omurilik hasarı sonrası uzun dönemdeki iyileşmeye yönelik etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu bilinmezlikten yola çıkılarak bu tezde omurilik yarı kesi hasar modeli oluşturulan farelerde hasar sonrası farklı dozlarda uygulanan lityumun doza bağlı fonksiyonel geri kazanım açısından etkisi incelenmiştir. Terapötik lityum konsantrasyonunun hasar sonrası doku atrofisine, nöronal sağkalıma, glial hücreler üzerindeki etkisine ve aksonal plastisiteye yönelik etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre fonksiyonel gezi kazanım açısından 0.2 mmol/kg lityum uygulanmasının, hasardan 28 gün sonra sağ taraflı hemiplejik farelerin az olan lokomotor aktivitelerinde iyileşme sağladığı gözlenmiştir. Elektromiyografi yöntemi sonuçlarında, hasar sonrası uygulanan lityumun hemiplejik taraftaki *gastrokinemius* kası üzerinde uyarım sonrası sinyal iletimine ve kontraksiyona yönelik terapötik etki gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca lityum hasar alanındaki lezyon hacmini azaltıcı etki göstermiştir. 0.2 mmol/kg dozundaki lityum omuriliğin *rostral segmentindeki* atrofiyi azaltmış ve nöronlar üzerinde protektif etki göstermiştir. Lityum uygulaması glial hücre sayısını azaltıcı etki göstermekle birlikte, hasar sonrası dejenere olan aksonal yolların rejenerasyonunu destekleyici etki göstermiştir. Sonuçlara göre, lityum tedavisinin omurilik hasarının dejeneratif etkilerine karşılık yeni ve etkili terapötik bir katkı sağlaması beklenilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fonksiyonel iyileşme, lityum, omurilik hasarı, plastisite rejenerasyon.

2. ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF LITHIUM AFTER LONG-TERM SPINAL CORD DAMAGE

Spinal cord injury causes neurological damage and functional loss in neural networks. Damage-oriented treatment methods are insufficient to reduce the degenerative effects. Effective studies targeting regeneration and neuroprotection after spinal cord injury are not sufficient today. Therefore, it is necessary to carry out effective and new therapeutic-oriented studies. Although it is known that lithium, is used for treatment of disorder, and has a protective effect in the treatment of neurodegenerative disorders, the effect of lithium on long-term recovery after spinal cord injury is not fully known. Based on this uncertainty, in this thesis, the effect of lithium administered at different doses in mice with a spinal cord half-incision injury model in terms of dose-dependent functional recovery was investigated. The effects of therapeutic lithium concentration on tissue atrophy, neuronal survival, effect on glial cells, and axonal plasticity after injury were investigated. It was observed that 0.2 mmol/kg lithium administration after injury improved the locomotor activities, which were less in right-sided hemiplegic mice 28 days after injury, in terms of functional excursion gain. According to the electromyography, lithium administration after injury, has a therapeutic effect on post-stimulation signal transmission and contraction on the gastrocnemius muscle on the hemiplegic side. As a result of the studies, lithium shows the effect of reducing the lesion volume in the damaged area. Lithium at a dose of 0.2 mmol/kg showed a reducing effect on atrophy due to damage in the *rostral segment* of the spinal cord and showed a protective effect on neurons. Lithium administration showed a decreasing effect on the number of glial cells, but it also showed a supportive effect on the regeneration of degenerated axonal pathways after damage. According to the results, it is expected that lithium treatment in the chronic period will provide a new and effective therapeutic contribution to the degenerative effects of spinal cord injury.

Keywords: Functional recovery, lithium, spinal cord injury, plasticity regeneration.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Omurilik hasarı sonrasında, nöronal ağlarda hasara bağlı olarak nöronlar arası iletişimsel kopukluklar meydana gelmektedir ve bu durum ciddi nörolojik ve lokomotor hasara sebebiyet vermektedir. Lezyon bölgesinin altında, nörolojik hasarın neden olduğu duysal ve fonksiyonel kayıplar görülebilmektedir (1). Bu hasar insanlarda fonksiyonel olarak bağımsızlığın kaybolmasıyla, ekonomik ve sosyal yönden olumsuz etkilere sebep olmaktadır (2).

Travma sonrası akut dönemde oluşan birincil hasarın ardından meydana gelen ikincil hasar, hasarın prognozunu negatif yönde etkilemektedir. İkincil hasar; iskemi, inflamasyon, hücrel ve aksonal dejenerasyon, doku hasarı ve serbest oksijen radikallerinin tetiklenmesine neden olmaktadır (3-5). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, hasar sonrası iyileşmeye yönelik cerrahi yaklaşımlar, ilaç uygulamaları ve fonksiyonel iyileşmeye yönelik fiziksel terapi yöntemleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Tercih edilen birçok terapötik yaklaşım olmasına rağmen, nörolojik tahribatın rejenerasyonuna yönelik etkili bir tedavi yöntemi bulunamamıştır (6). Rejenerasyon kapasitesi yönünden merkezi sinir sistemi kapsamlı bir yenileyici aktiviteye sahip değildir. Bu sınırlı kapasite, özellikle omurilik rejenerasyonunun yetersiz kalmasına neden olmaktadır (7). Bu yetersizlik, yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesi için yapılan çalışmaların artmasını sağlamıştır. Bipolar bozukluğun tedavisinde etkili tedavi yöntemi olarak keşfedilen lityumun, nörogenizde de olumlu etkiler gösterdiği son zamanlarda bilinmektedir. Nörogenizdeki olumlu etkilerinin yanı sıra inflamasyon ve nöronal sağkalıma yönelik protektif etkilere sahiptir (8-11). Ayrıca lityumun beyin iskemisi üzerinde fonksiyonel iyileşme yönünden olumlu etkileri bulunmaktadır ve hasarla meydana gelen nörolojik tahribatı azaltıcı etki gösterdiği de görülmektedir (12).

Lityum tedavisinin Alzheimer hastalığının bir modeli üzerindeki etkisi incelendiğinde, hipokampal nörodejenerasyona karşı protektif etki gösterdiği ve fonksiyonelliği artırdığı görülmektedir (13).

Yapılan son çalışmalara göre, lityum tedavisi nörotrofik faktörlerin ekspresyonuna yönelik olumlu etkiler göstermektedir. Ek olarak omurilik hasarı

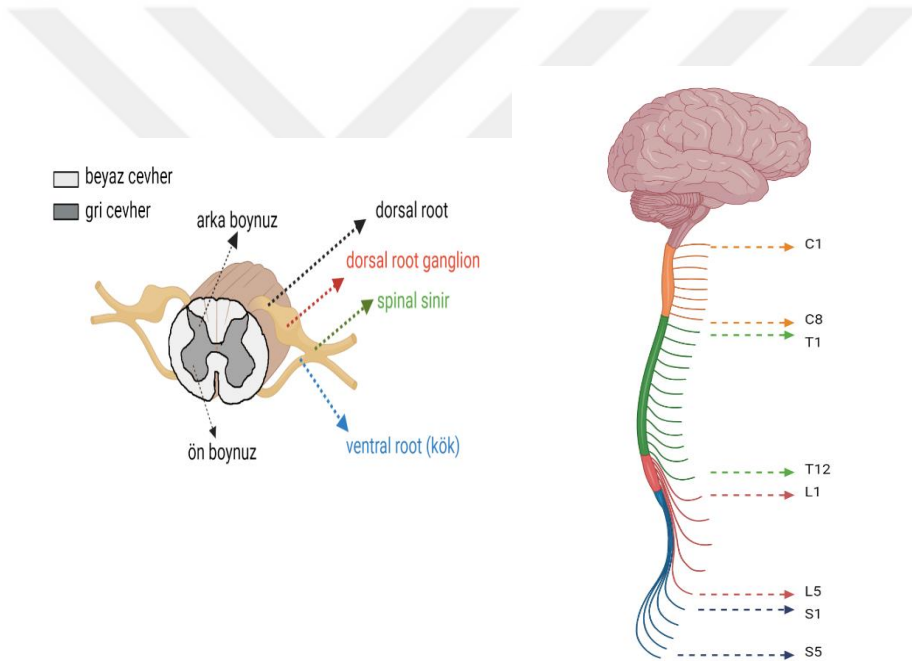
sonrası akut dönemde hasarın prognozunun şekillenmesinde apoptoza karşı koruyucu etki gösterdiği görülmektedir (14, 15). Lityum çalışmaları, genel olarak lityum tedavisinin omurilik hasarı sonrası akut dönemdeki etkileri üzerine yoğunlaşmıştır (16). Bu çalışmaların çoğunda lityum otofajik mekanizmalar üzerinde aktive edici etki göstererek nörolojik işlevselliği artırmış ve nöronal hasara karşı koruyucu etki göstermiştir (5). Lityumun akut dönemde başarılı tedavi edici etkisine karşın, omurilik hasarı gibi uzun yıllar boyunca ciddi nörolojik dejenerasyona sebebiyet veren kronik bir durumda rejenerasyon ve lokomotor fonksiyonellik üzerine terapötik etkisinin nasıl fayda sağladığı bilinmezliğini korumaktadır. Bu doktora tez çalışmasında farelerde gerçekleştirilen omurilik hasarı sonrasında uygulanan lityumun akut ve kronik dönemde yapılan davranış testleri ile koordinasyon, eklem hareketi, yürüme paterni, hareket hızı, hareket mesafesi, hareket süresi ve rotasyona yönelik etkileri değerlendirilmiştir. Nöronal sağkalım, atrofi, glial hücre ve aksonal plastisite değerlendirilerek lityumun dejenerasyona yönelik protektif etkileri incelenecektir.

Elde ettiğimiz bulgular, lityumun omurilik hasarı sonrası uzun dönemdeki rejenerasyona yönelik etkilerinin değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır. Bu çalışma, lityumun yeni ve alternatif bir terapötik seçenek olarak literatürdeki yerini alması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

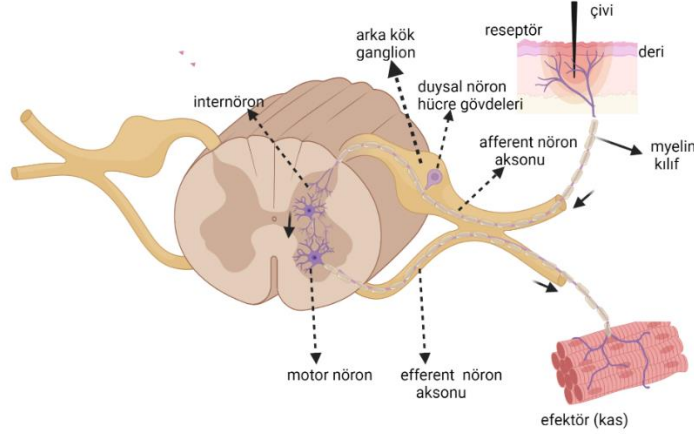
4.1. Omuriliğin Yapısı

Omurilik beyin sapının alt kısmından bulunan, C1 *servikal vertebra* ile L1-L2 *lumbal vertebra* arasında omurilik kanalı boyunca devam eden merkezi sinir sisteminin parçasıdır. Omurilik longitudinal şekilde sıralanan; *servikal*, *torakal*, *lumbal* ve *sakral* diye isimlendirilen bölgelerden oluşmaktadır (17, 18). Duyusal ve motor sinir çiftlerinin kökleri omurganın farklı seviyelerinde bulunmaktadır (17). Spinal sinirler ise duyu ve motorsinirlerin bir araya gelmesiyle oluşmaktadır (19).



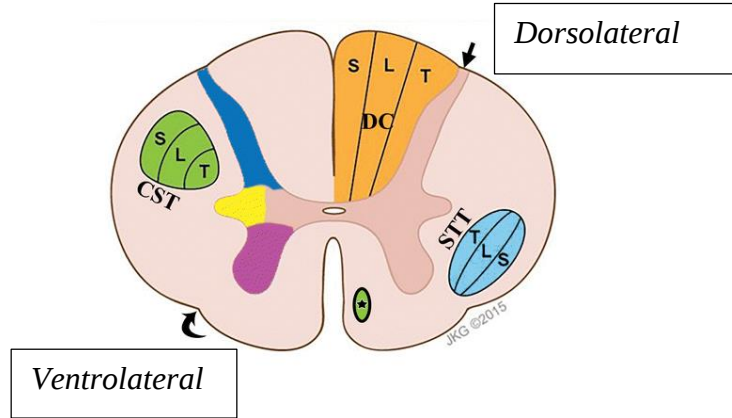
Şekil 4.1.1. Omuriliğin anatomik yapısı (Omurga anatomisi şekli biorender.com internet sitesi kullanılarak uyarlanmıştır (20).

Omurilikteki gri cevher, *dorsal* ve *ventral* boynuzlara sahiptir. Omuriliğin ön boynuzunda ara nöronlar ve motor nöronlar (alfa-gama) yer almaktadır (21). *Dorsal* boynuzlar duyu bilginin işlenmesinde rol oynamaktadırlar (22). Beyaz cevherde ise *ventral*, *lateral* ve *dorsal* olmak üzere sinir yollarının bulunduğu 3 fûnikülüs bulunmaktadır (22-26).



Şekil 4.1.2. Omuriliğin *transvers* kesiti (Omurga *transvers* kesiti şekli biorender.com internet sitesi kullanılarak uyarlanmıştır (27).

Omurilik, merkezi ve periferik sinir sistemi için bilgi iletimi yönünden önemli bir işlevselliğe sahiptir. Bilgi iletiminde duysal (*afferent*) yolaklar, motor (*efferent*) yolaklar ve ara nöronlar görev almaktadırlar (28, 29). Omurilikte bilginin (motor, duysal ve otonomik) iletimi oldukça düzenlidir ve iletileceği yere spesifik olarak düzenlenmektedir (17, 18).

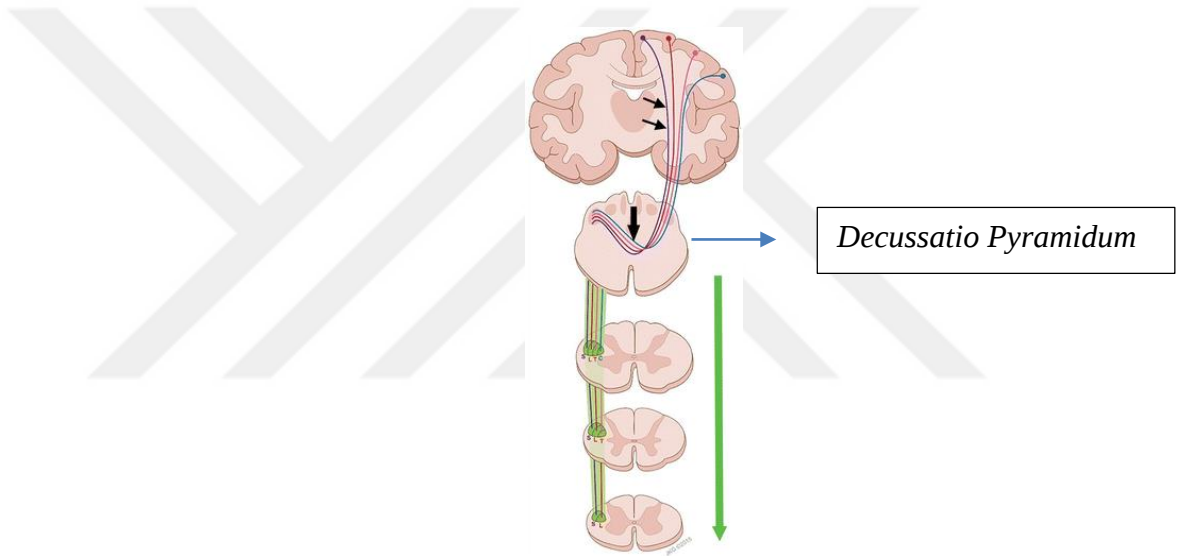


Şekil 4.1.3. Torakal Omuriliğin aksiyal görüntüsü (26). Dorsal boynuz (koyu mavi), lateral boynuz (sarı), ventral boynuz (16). DC: dorsal kolon yolu, CST: kortikospinal yolak, STT: spinotalamik yolak. Bu yolaklar beyaz cevherin periferinde yer almaktadırlar. Yolaklar kendi içinde somatotopik (*medial* yönden *laterale* doğru)

yerleşim şekline sahiptirler. (S: *sakral*, L: *lumbal*, T: *torakal*). *Dorsal* ve *ventral* sinir köklerinin omurilik üzerindeki giriş yerleri oklarla gösterilmiştir (26).

4.2. İnen-Çıkan Yolaklar

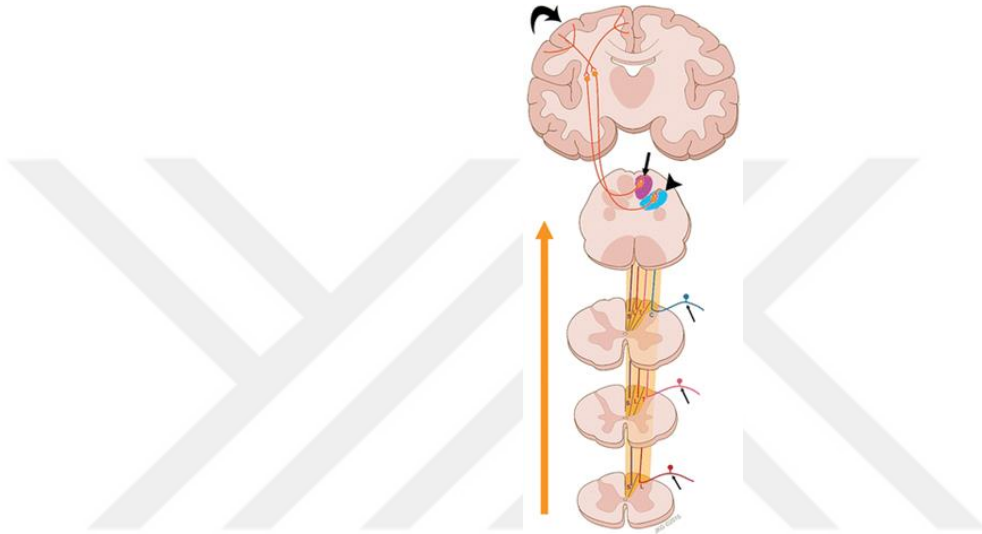
İnen yolaklardan *kortikospinal* yolak, lokomotor aktivitelerde rol oynayan ince motor hareketlerin işlevselliğinde önemlidir (30). Sıçanlarda *kortikospinal* yolak motor ve duyu kontrolünde rol oynamaktadır (31). Sıçanlarda bu yolak tutma, yemek yeme aktivitesi ve kavrama gibi fonksiyonlarda görevlidir (32). *Kortikospinal* yolağın, adım uzunluğu-adımlama gibi ince motor hareketlerin kontrolünde de görevli olduğu düşünülmektedir (33, 34).



Şekil 4.2.1. *Kortikospinal* yol (yeşil ok ile gösterilmiştir). *Kortikospinal* sinir liflerinin %90 oranında çaprazlaşıp omuriliğin karşı tarafına geçtikten sonra *lateral kortikospinal* yolak olarak omuriliğin *lateralinde* devam ederler (26). Sinir liflerinin yerleşim yerleri somatotopik düzene sahiptir (*medial* yönden *lateral* yöne doğru). Mavi renk: *servikal*, pembe renk; *torasik*, kırmızı renk; *lumbal*, mor renk; *sakral* bölge liflerini göstermektedir.

Dorsal kolon yolu, duyuusal bilgilerinin işlevselliğinde, propriyosepsiyon, hassas dokunma ve vibrasyon algısında görevli bir yoldur. *Dorsal* kolon yolağı *lateral fasciculus kuneatus* ve *medial fasciculus gracilis* yolaklarından meydana gelmektedir.

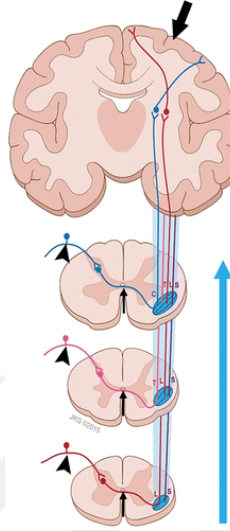
Fasciculus gracilis, duysal bilgileri alt ekstremitelerden almaktadır (*lumbal-medial sakral* lifler). *Fasiculus kuneatus*, duysal bilgileri üst gövde ve üst ekstremitelerden almaktadır (*servikal-lateral torakal* lifler). Bu yolak, DRG aksonları ile *dorsal* boynuzdan omuriliğe girer, medulla bölgesindeki *gracilis* ve *küneatus* nükleusları ile sinaps yaptıktan sonra çapraz yapar, buradan *talamusa* (*ventral posterolateral nükleus* sinaps yapılan yer) giderler. *Talamusta* sinaps yaptıktan sonra birincil somato-duyu kortekse bilginin ulaşmasını sağlarlar (30).



Şekil 4.2.2. *Dorsal kolon yolu* (turuncu ok ile gösterilmiştir). *Nükleus gracilis*; düz şekilli siyah renkli ok ile ifade edilmiştir. *Nükleus küneatus*; siyah renkli ok ucu şekli ile ifade edilmiştir. *Nükleus gracilis*'e taşınan lifler *lumbal* ve *medial sakral* liflerden oluşmaktadır. *Nükleus küneatus*'a taşınan lifler ise *servikal* ve *lateral torakal* liflerden oluşmaktadır. *Nükleus gracilis* ve *küneatus*'taki nöronlarla sinaps yapan aksonlar medullada çapraz yaparak *talamusa* ulaşırlar ve daha sonra birincil duyu korteksine duysal bilginin taşınımını sağlarlar (26). *Dorsal kolon yolağında* sinir liflerinin yerleşim yerleri de somatotopik düzene sahiptir (*medial* yönden *lateral* yöne doğru). Mavi renk; *servikal*, pembe renk; *kırmızı* renk; *lumbal*, mor renk; *sakral* bölge liflerini göstermektedir.

Çıkan yollardan *spinotalamik* yolak; kaba dokunma duyusu, ağrı ve sıcaklık algısı bilgisinin iletilmesinde rol oynamaktadır. Myelinsiz ve küçük çapa sahip duyu bilgisinin taşınımında rol oynayan aksonlar, dorsal kök gangliondan (DRG) çıktıktan sonra omuriliğin *dorsal* boynuz bölgesinden omuriliğe girip sinaps yaparlar. Daha

sonra aksonlar *anterior kommissür* bölgesinde çapraz yapıp omuriliğin *anterolateral* bölgesinde yukarı doğru duyu bilgisinin taşınmasında rol oynamaktadır (30). Bu yolak somatotopik yerleşim düzenine sahiptir (*kortikospinal* yolak gibi) (35).



Şekil 4.2.3. *Spinothalamik* yolak (mavi ok ile gösterilmiştir). Aksonlar DRG nöronları ile sinaps oluşturduktan sonra *dorsal* boynuzdan geçip, çapraz yaparak *anterior commissure*'a geçerler. Omuriliğin *anterolateral segmentinde* *talamusa* doğru yukarı çıkarlar, daha sonra birincil duyu korteksine duyu bilgini iletmesini sağlarlar.

Rubrospinal yolak lokomotor aktivite kontrolünde görevlidir (36, 37). Bu yolak; bir nesneyi tutmak, kavramak, yemek yemek gibi fonksiyonel aktivitelerin ve ekstremiteler fonksiyonelliğinden sorumludur (38).

Retikülospinal yolak lokomotor aktivitelerde rol oynayan bir yolaktır; adımlama fonksiyonunun başlatılmasında görev almaktadır (39). Bu yolak *postürel* duruş, otonomik ve somatik duyu işlevsellik ile ilgili önemli bir yolaktır (40).

Vestibülospinal yol, lokomotor aktivitelerde görevli bir yolaktır. Sıçanlarda yürüme ve hızlı koşma gibi aktivitelerde rol oynamaktadır (41).

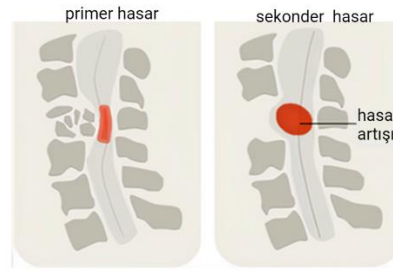
4.3. Omurilik Hasarı

İnsanlarda omurilik hasarının görülme oranı giderek artmaktadır. Her yıl yaklaşık 250.000-500.000 kişi omurilik hasarına maruz kalmaktadır (42). Duyusal, motor, refleks ve otonomik fonksiyonlar tamamen veya kısmi olarak omurilik hasarından etkilenmektedirler. Omurilik hasarı modern toplum açısından morbidite ve mortalite gibi ciddi sonuçların oluşmasına neden olabilmektedir (43). Omurilik hasarı, bireylerin fiziksel özgürlüklerini kısıtlamanın yanı sıra, ekonomik, psikolojik ve sosyal yönden olumsuz etkilenmelerine sebep olmaktadır (43).

Travmaya bağlı fiziksel olarak meydana gelen birincil omurilik hasarında; aksonal iletişim bozuklukları, nöronal ve glial hücre ölümleri ve mikrovasküler dolaşım dejenerasyonu tetiklenmektedir. Travma sonrası hasarın progresyonunu şekillendiren patolojik durumlar, aksonal iletişimsel bozukluklar oluşmasına neden olmaktadır. Bozulan aksonal yolak bütünlüğü sonucunda, yolakların görevli olduğu vücut fonksiyonelliği olumsuz yönde etkilenmektedir. Hasarın fonksiyonellik üzerindeki etkisi kalıcı fonksiyonel yetersizliklere neden olabilmektedir. Hasar sonrası fonksiyonel rejenerasyondaki yetersizlik, merkezi sinir sistemine etki ederek aksonal iyileşmeyi baskılamaktadır (44).

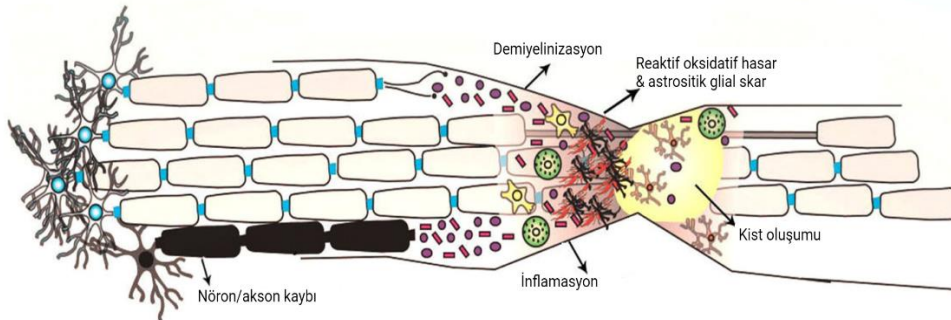
4.3.1. Birincil - ikincil hasar

Akut dönemdeki omurilik hasarı, travmaya bağlı olarak *vertebranın* kırılmasına ve koruyucu yapısının bozulmasına neden olmaktadır. Bu durum omuriliğin zedelenmesiyle sonuçlanmaktadır. Bu omurilik tahribatına bağlı olarak birincil hasar gelişmektedir (45-47). Birincil hasar sürecinde aksonal iletişimsel kopukluklar, nöronal hasar, vasküler dejenerasyon, hemoraj ve glial hücre tahribatı gerçekleşmektedir. Hasarın seyrini etkileyen iki önemli parametre vardır: omurilik tahribatının süresi ve hasarın kapsamıdır. Hasar progresyonunda önemli role sahip ikincil yaralanmanın tetiklenmesinde nöronal dejenerasyon önemlidir (48).



Şekil 4.3.1.1 Birincil-İkincil hasar (49).

Travma sonrası gelişen birincil hasarın ardından dejenerasyonun etkisini artıran ikincil yaralanma tetiklenir. Bu yaralanma nöral ve nörolojik dejenerasyonun kapsamını genişletici etki göstermektedir (50, 51). İkincil yaralanma progresif bir yaklaşıma sahiptir. Bu progresif tutumun tetiklenme nedeni hasara bağlı olarak kan-omurilik bariyerinin protektif yapısının tahribatı sonucunda immun sistem hücrelerinin lezyon bölgesine girmeleri ve aktivasyonlarıdır (52).

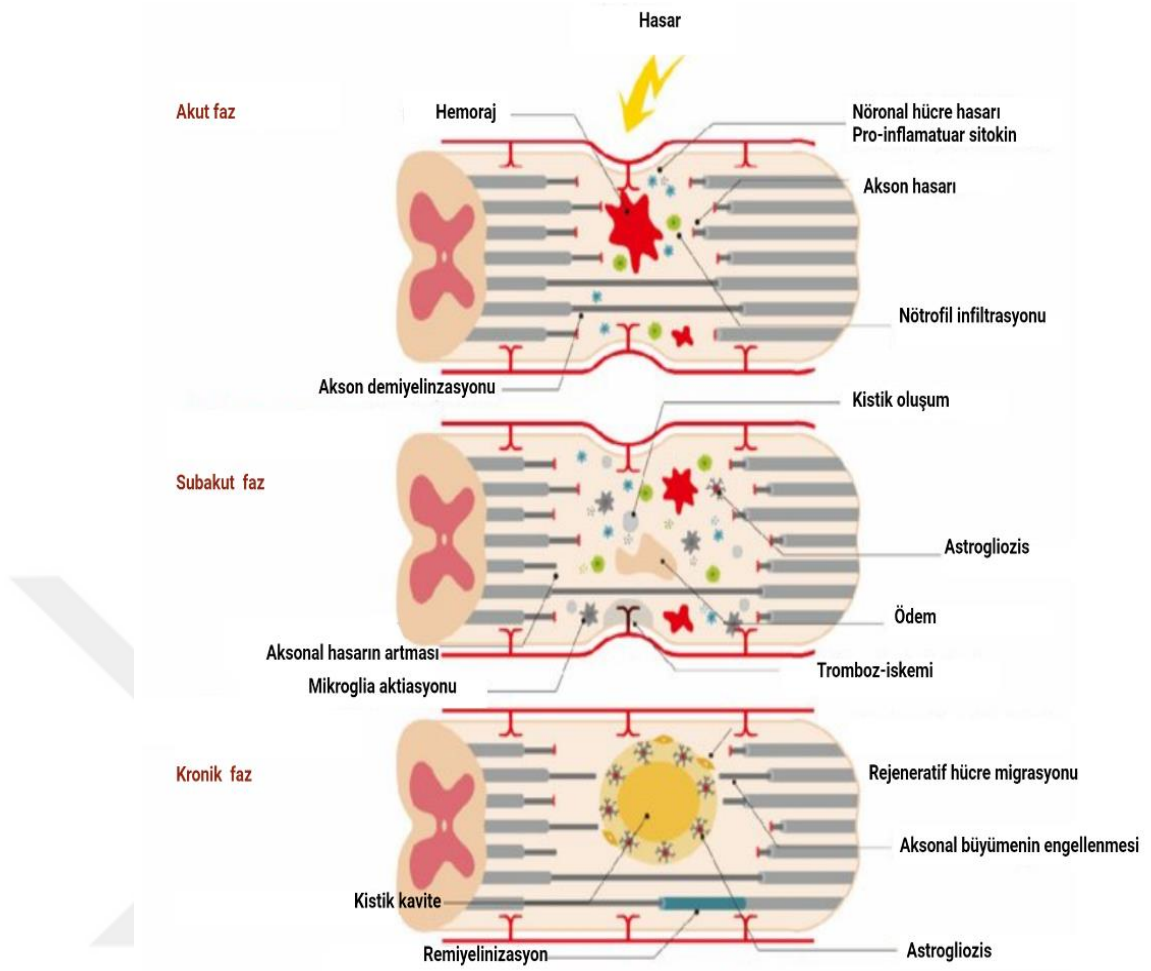


Şekil 4.3.1.2. Birincil-ikincil hasarın mekanizması (53).

4.3.2. Omurilik hasarı patofizyolojisi

Hasar patofizyolojisinin şekillenmesinde hasara bağlı gelişen enerji metabolizmasındaki bozulmalar, iskemi ve hücrel perfüzyon bozuklukları önemlidir.

Myelin hasarı, ödem, hemoraj, aksonal ve nöral dejenerasyon ve nekroz sonucunda meydana gelen kavite oluşumu, hasarın progresyonun şiddetlenmesinde ve enfarktüs oluşumunun tetiklenmesinde etkili olabilmektedir. Ayrıca hasar sonrası sinir dokularında oluşan tahribatta hasarın seyri açısından önemlidir (54).



Şekil 4.3.2.1. Omurilik hasarı patofizyolojisi (55).

Bozulan homeostazi sonrası aşırı glutamat artışı; glutamat eksitotoksitesisi, serbest oksijen radikallerinin artışı (oksidatif hasar) ve doku hasarının oluşmasına neden olabilmektedir. İkincil hasarın oluşmasında önemli olan diğer bir etken de bozulan kalsiyum homeostazisine bağlı olarak gelişen nitrik oksit sentezidir (56, 57).

Hasarın etkisiyle kan omurilik bariyeri ve vasküler yapının bütünlüğü bozulur ve bu durum sistemik hipotansiyonu ve vazojenik ödemin oluşmasını tetikler. Bozulan vasküler otoregülasyon sonrasında hasarın omurilik üzerindeki yıkıcı etkisinde artış gözlenmektedir (53).

Sistemik hipoperfüzyon oluşumu, çok kısa bir süre içinde enerji yetmezliğine bağlı olarak mitokondri işlevselliğinde problemlere neden olmaktadır. Bu durum hücre ölümü tetiklemektedir (53).

İnflamasyon cevabı, hasarın ardından birkaç gün içinde *periferal* immun hücreler (Nötrofiller, T hücreleri ve makrofajlar) tarafından oluşturulur (58). Ayrıca inflamatuvar sitokinlerin ve doku hasarına neden olabilen makrofajların (59) salınımı inflamatuvar yanıtı tetiklemektedir. Oluşan bu yanıt mikrogliyalarda patolojik süreçlerin gelişmesine neden olmaktadır (49, 60).

Omurilik hasarı merkezi sinir sisteminde uyarıcı etkiye sahip glutamat salınımının artmasını tetiklemektedir. Hasarla birlikte anormal olarak artan glutamat, toksik etki oluşturarak hücre ölümlerine sebep olmaktadır. Glutamat artışının nedenleri arasında hasarın progresyonunda önemli olan lipit peroksidasyonu ve apoptotik-nekrotik hücrelerin aktivasyonu yer almaktadır (61). Ayrıca hasara bağlı olarak aksonal membrandaki değişen Na^+/K^+ ATPaz aktivasyonu da glutamat eksitotoksitesini tetikleyici bir nedendir (49, 62).

Hasar sonrası gelişen hücre metabolizmasındaki bozulmalar, hücresel tahribata neden olan serbest oksijen radikallerinin artışını tetiklemektedir (63). Serbest oksijen radikalleri, mitokondri aktivasyonu üzerinde negatif etki göstermektedir (64). Mitokondri işlevselliğindeki bu negatif etki toksisiteye neden olur (65). Glial skar oluşumu reaktif gliosis aktivasyonundan kaynaklanmaktadır. Astrositler lezyon bölgesinin yakınlarında skar bir yapının oluşmasını sağlarlar. Bu yapı aksonal rejenerasyonu engelleyici etkiye sahiptir (66).

Hasarın akut döneminde, oluşan nekroz (hücrenin membranının bütünlüğünü kaybetmesi, zarar görmesi) ve hücredeki inflamasyon sonucunda hücreler yaşamsal faaliyetlerini sürdürememektedirler. Nekrotik hücre ölümlerinin aksine apoptotik hücre ölümü hücre inflamasyonu içermez. Apoptoz hücrenin programlı ölüm şekli olarak nitelendirilmektedir (67).

Omurilik hasarı sonrası apoptoz süreci hücrelerde aktive edilir (nöronlarda, mikrogliyalarda, astrositlerde ve oligodendrositlerde) (68, 69). Hücre ölümlerinin diğer bir nedeni de kalsiyumun kalpain-kaspazların aktivasyonunda görevli olmasıdır (70).

Demyelinizasyon, hasarın akut-subakut dönemlerinde aktif olan aksonal hasardır (67, 71). Aksonal hasarın meydana gelmesi, myelinin aksonu koruyucu

yapısının ortadan kalkmasına ve aksonun tehlikelere (serbest oksijen radikalleri, inflamatuvar sitokinler) açık hale gelmesine neden olur. Aksonal hasar sonrasında nöronal kayıplar oluşur ve aksonal iletişim kopuklukları meydana gelmektedir (72-74).

4.4. Lityum

Lityum, psikiyatrik hastalıkların tedavisinde etkili bir terapötik ajandır. Lityum, motor ve davranışsal aktivitelerin kontrolünde görevli olan nöronal devrelere yönelik koruyucu etki göstermektedir (75-78). Anormal glutamat artışına bağlı olarak ortaya çıkan glutamat eksitotoksitesinin nöronlar üzerindeki zararlı etkilerine karşın lityum pozitif etki göstererek iyonotropik glutamat reseptörü aktivasyonunu koruyucu etki göstermektedir (79-82). Lityum nöronlar üzerinde apoptoza yönelik koruyucu etki göstermektedir (82-84).

Voltaaj bağımlı sodyum kanalları lityumun hücre içine geçişinde görev almaktadır. Hücre içine geçiş basit difüzyon yöntemiyle gerçekleşmektedir (85, 86). Sodyum-Lityum karşı taşıma sistemi (SLC) kullanılarak taşınan lityumun hücre içi miktarı-hücre dışındaki miktarından daha azdır. Lityumun hücre içinde birikiminin önlenmesinde SLC sistemi önemli rol oynamaktadır. SLC'nin lityum üzerindeki bu etkisi terapötik fayda sağlamaktadır. Psikiyatrik, duygusal rahatsızlıklarda bozulan lityum konsantrasyonlarının bir nedeninde SLC mekanizmasının düzenleyici etkisinin azalmasından kaynaklanmaktadır (86-88).

Yapılan bir çalışmada, sıçanlarda beyin iskemisi sonrası kronik dönemdeki lityum tedavisi nörolojik dejenerasyon ve enfarktüs üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Bu sonuçlardan yola çıkarak lityumun iskeminin dejeneratif etkilerini önlediği düşünülmektedir. Hasarın nöronal tahribatının nedenlerinden biri N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin kalsiyumun homeostazisinin bozulmasına (hücre içine kalsiyum girişi artar) neden olmasıdır. Hasara bağlı gelişen bu nöronal tahribata karşı lityum tedavisi protektif etki göstermektedir (89).

Lityum beyindeki gri maddenin yoğunluğunu artırıcı etki göstermektedir. Ayrıca lityumun hücresel tahribata neden olan oksidatif stres ve zararlı etkilerine karşı

protektif etki gösterdiği bilinmektedir. Lityum nöral kök hücre aktivasyonunu artırmaktadır (90, 91).

Lityum nöronegez aktivasyonunu artırıcı etkiye sahiptir. Bu etki *in vivo* ve *in vitro* olarak yapılan çalışmalarda görülmektedir (92). Lityumun akut ve kronik dönemde nörogezi artırmaya yönelik olumlu etkileri bulunmaktadır. Hipokampüste bulunan dentat girus bölgesinde kronik dönemde lityum tedavisi sonrası nöroenez artırmıştır (8).



5. MATERİYAL VE METOT

5.1. Deney Grupları ve Dizaynı

Deneyisel hayvan çalışmaları için İstanbul Medipol Üniversitesi, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulundan 23.05.2018 tarihli ve 38823770-95203.06.03-E.39648 sayılı etik kurul onayı alınmıştır. Bu çalışmada 8-12 haftalık Balb/c erkek fareler kullanılmıştır. Fareler rastgele olacak şekilde deney gruplarına ayrılmıştır. Çalışmada davranış ve immunohistokimyasal değerlendirme yapmak için her grupta hayvan sayısı n=16 olacak şekilde 1. deney seti için 3 deney grubu oluşturulmuştur. Lityumun doza ve zamana bağlı serum konsantrasyonlarını araştırması için her grupta hayvan sayısı n=3 olacak şekilde 2. deney seti için 3 deney grubu oluşturulmuştur.

Deney Grupları:

1. Deney Seti

Grup I: Omurilik hasarı sonrasında kontrol enjeksiyonu (%0.9 sodyum klorür) günlük periton içi olarak uygulanmıştır.

Grup II: Omurilik hasarı sonrasında 0.2 mmol/kg lityum (%0.9 sodyum klorür içerisinde çözünmüş) günlük periton içi olarak uygulanmıştır.

Grup III: Omurilik hasarı sonrasında 2 mmol/kg lityum (%0.9 sodyum klorür içerisinde çözünmüş) günlük periton içi olarak uygulanmıştır.

2. Deney Seti

Grup I: Kontrol enjeksiyonu (%0.9 sodyum klorür) periton içi olarak uygulanmıştır.

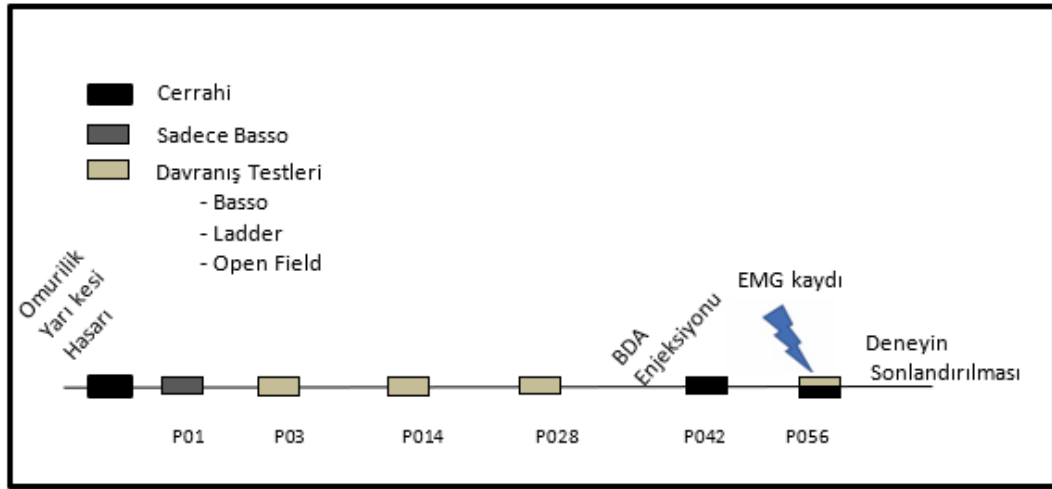
Grup II: 0.2 mmol/kg lityum (%0.9 sodyum klorür içerisinde çözünmüş) periton içi olarak uygulanmıştır.

Grup III: 2 mmol/kg lityum (%0.9 sodyum klorür içerisinde çözünmüş) periton içi olarak uygulanmıştır.

5.1.1. Deney dizaynı

Omurilik hasarı sonrası oluşturulan deney grupları ile omurilik sonrası lityum tedavisinin düşük (0.2 mmol/kg) ve yüksek (2 mmol/kg) dozlarının lokomotor iyileşmeye, atrofiye, nöronal sağkalıma, glial hücrelere ve aksonal plastisiteye olan etkisini araştırılmıştır.

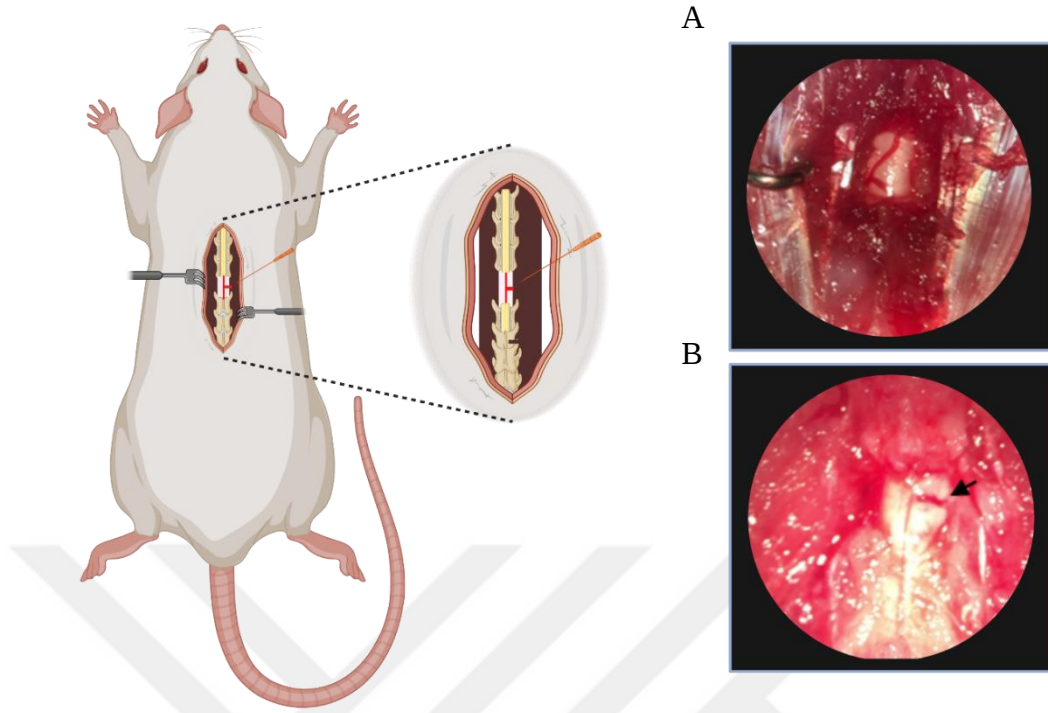
1. Deney seti gruplarının (I-II-III) fonksiyonel geri kazanımı omurilik hasarı sonrası 1., 3., 14., 28., ve 42., günlerde yapılan davranış testleri ile değerlendirilmiştir (Şekil 5.1.2.1.). Hasar sonrası rejenerasyon değerlendirilmesi atrofi, nöronal sağkalım, glial hücreler ve plastisiteye yönelik immunohistokimyasal boyamalar yapılarak değerlendirilmiştir. 2. Deney seti gruplarının (I-II-III) 30 dakika, 1., 3., 6., 12., ve 24., saatteki zamana bağlı serum lityum konsantrasyonlarının ölçümü ICP-MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) analiz yöntemi kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 5.1.1.1 Omurilik Hasarı, Davranış testleri (Basso, Ladder, Open Field), BDA enjeksiyonu, EMG kaydı deney dizaynı.

5.2. Omurilik Hasar Modeli

Deney grubundaki Balb/c fareler için anestezi olarak %1'lik izofloran (N0015A09, Adeka, Türkiye, %30 oksijen, kalanı N₂O) gaz anestezisi kullanıldı. Omurilik yarı kesi hasarı sırasında fareler ısıtıcı pet (507221F, Harvard Apparatus, ABD) üzerine yüzüstü olacak şekilde yerleştirildi. Hayvanların vücut ısısı kontrolünde deney süresince geri-bildirim prensibiyle çalışan rektal ısı ölçer kullanılarak hayvanlarının vücut sıcaklığının 36.5, 37 santigrat derecede stabil kalması sağlanmıştır. Deney süresince stereotaksik sabitleyici (World Precision Instruments, FL, USA) kullanılarak hayvanların vücutlarının sabit kalması sağlanmıştır. Sırt bölgesine yaklaşık 3 cm boyutlarında bir kesi atılmıştır. *Spinotrapezius* kasının tendon seviyesinden diseksiyon yapılarak *vertebranın dorsal* kısmına ulaşılmıştır. *Torakal* 10 (T10) *vertebra* seviyesinden ligamentler disekte edilerek sivri uçlu bisturi aracılığıyla T10 *vertebra* izole edilmiştir. İzole edilen *vertebra* kemikleri forseps ile kırılarak 26G insülin enjektör iğnesi (Hayat Tıbbi Aletler A.Ş.) kullanılarak omurilik sağ kısmına, yarı kesi modeli oluşturulmuştur. *Dorsal spinal* venin altından başlayarak omuriliğin sağ tarafına doğru hasar oluşturulmuştur (Şekil 5.2.1.). Oluşturulan hasarın ardından *vertebranın* üzerindeki kasların dikiminde vikril iplik (W9561, Ethicon) kullanılmıştır. Deri ise 5.0 ipek iplik (S2160, Doğan) kullanılarak dikilmiştir. Dikiş sonrasında hayvanlar kafeslerine alınmıştır. Operasyon sonrasında hayvanların sağ arka ayaklarında pleji meydana gelmiştir.



Şekil 5.2.1. Omurilik yarı kesi görüntüsü. (A) hasarsız omurilik görüntüsü (B) sağ taraf hasarlı omurilik görüntüsü.

5.3. Lityumun Uygulanması

Lityum klorür (LiCl) konsantrasyonları yüksek doz 2 mmol/kg ve düşük doz 0.2 mmol/kg dozlarında seçilmiştir. Omurilik hasarı operasyonunun ardından 24 saat aralıklarla 56 gün boyunca 0.2 mmol/kg veya 2 mmol/kg konsantrasyonlarındaki LiCl (L4408; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) lityum dozları periton içi olarak uygulanmıştır. Kontrol grubuna %0.9 sodyum klorür verilmiştir. Önceki çalışmalardan referans alınarak hayvanlar omurilik hasarından 56 gün sonra sakrifiye edilmiştir (93).

5.4. Lokomotor Aktivite Testleri

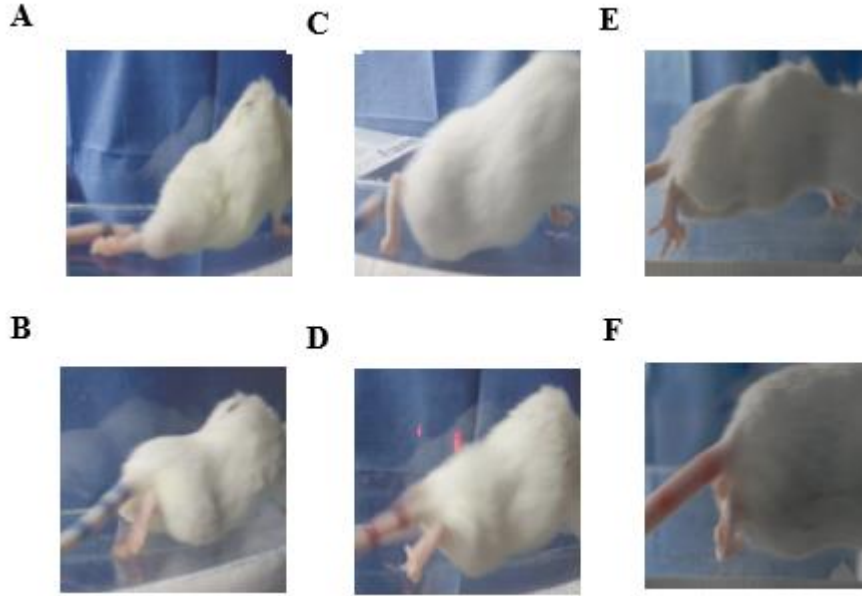
Fonksiyonel iyileşmenin takip edilmesi adına omurilik hasarı sonrası 1, 3, 14, 28 ve 42. günlerde Basso mouse scale (BMS) testi yapılmıştır. Ayrıca hasar sonrası 3, 14, 28 ve 42. günlerde Horizontal ladder rung yürüme testi ve Open field testi yapılmıştır.

5.4.1. Basso fare skalası

BMS testi omurilik hasarı sonrası motor aktivitelerin değerlendirilmesi için kullanılmıştır (94, 95). Puanlama sisteminde eklem hareketleri, koordinasyon ve stabilizasyonun değerlendirilmesinden oluşan 0-9 puanlık derecelendirme skalası yer almaktadır (95) (Tablo 5.4.1.1.). Deney hayvanlarının açık bir alanda yaklaşık 4 dakika boyunca lokomotor aktiviteleri 2 farklı gözlemci tarafından değerlendirilmiştir.

Tablo 5.4.1.1. Basso Fare Skalası

Skor	Motor Hareketler
0	Ayakta bilek hareketi bulunmamaktadır.
1	Hafif ayak bileği hareketi
2	Ayak bilek hareketinde artış görülmektedir.
3	Ağırlık desteksiz plantar adım veya düzensiz <i>dorsal</i> adım görülmektedir.
4	Ara sıra plantar adım
5	Sık ve düzenli plantar adımlama, koordinasyon yok
6	Artmış plantar adımlama, koordinasyon artışı, adımlamada bilekte rotasyon
7	Artmış plantar adımlama, sıklıkla koordinasyon, adımlamada bilek rotasyonunda azalma, gövde stabilitesi sağlanamamaktadır.
8	Ritmik düzenli plantar adımlama, düzenli koordinasyon, adımlamada bilekte rotasyon görülmemektedir, gövde stabilitesinde artış, kuyruk pozisyonu aşağı yada arasıra yukarı doğrudur.
9	Ritmik düzenli plantar adımlama, düzenli koordinasyon, adımlamada bilekte rotasyon görülmemektedir, normal <i>postür</i> , kuyruk pozisyonu sürekli olarak yukarı doğrudur.



Resim 5.4.1.1. BMS testi değerlendirmesi (A) Hiçbir hareket yok (B) Hafif bilek hareketi (C) Bilek hareketi %50'den fazla (D) Arasıra plantar adım desteksiz (E) Sık desteksiz plantar adım (F) Ağırlık destekli plantar adım.

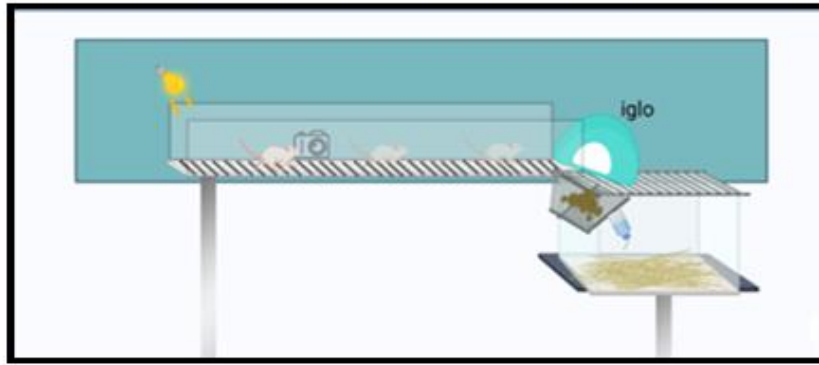
5.4.2. Horizontal merdivende yürüme testi

Bu çalışmada kullandığımız merdiven basamak aparatı (96) yapılan önceki bir çalışmadan uyarlanarak oluşturulmuştur. Bu testte lokomotor iyileşmenin ve koordinasyonun değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Yürüme testinde uzunluğu 69.5 cm çapı 0.2 cm olan iki pleksicam levha aralarında 0.5 cm aralıklarla metal çubuklar yerleştirilmiştir (şekil 5.4.2.1.A.). Levhaların ap boyutunun farelerin yürüme esnasında tekrar farenin koordineli bir şekilde adım atıp atmadığının gözlenebilmesi adına merdivenin yerden yüksekliği 30 cm'dir. Farelerin merdivende yürümesinin hızlı bir şekilde tamamlanması için merdivenin bittiği yere farelerin kendilerini güvende hissettikleri iglo (yuva materyali) yerleştirilmiştir. Yürüme testinin başlangıç noktasına parlak ışık yerleştirilerek farelerde ışık uyarıcı etki oluşturmuştur. Yürüme testinden 1 hafta önce farelerin merdivene ve yürümeye alışması sağlanmıştır. Farelerin hasar öncesi yürüme aktivitesinin incelenmesi adına operasyonun iki gün öncesinde farelerin merdivende yürümeleri yüksek hızlı kamera kullanılarak

kaydedilmiştir. Yürüme kayıtları incelenerek yürüme esnasında farelerin metal çubuklara ayak teması, doğru ve yanlış adım değerlendirilmiştir (Şekil 5.4.2.1.). Doğru adım farelerin basamağa ayak yerleşiminin ağırlık taşıyacak şekilde, avuç içi veya parmakların basamakla tam teması olarak kabul edildi. Yanlış adım ise metal çubuklara ayak yerleşiminin ağırlık destekli olmayıp, avuç içi ve ayak parmakların metal çubukla tam olarak temasının olmadığı adımlama şekli olarak kabul edildi. Yürüme testinin analizi aşağıdaki formül ile kullanılarak yapılmıştır.

$\% \text{ Doğru adım sayısı} = (\text{Doğru atılan adım sayısı} \times 100) / \text{Atılan toplam adım}$ (Şekil 5.4.2.1.).

A



B



C



D



Şekil 5.4.2.1. (A) Horizontal merdivende yürüme testi (B) Yanlış adım atma (C) Ara sıra yanlış adım atma (D) Doğru adım atma.

5.4.3. Açık alan testi

Hayvanların hasar sonrası lokomotor aktivitesini değerlendirmek için 150 cm çapında 35 cm yüksekliğinde dairesel bir platform kullanılmıştır (97, 98) (Resim

5.4.3.1.). Hayvanların dairesel platformdaki spontan hareketlerinin görüntülenmesinde ANY-maze®; Stoelting Co., Wood Dale, IL, ABD kamera sistemi kullanılmıştır. 10 dakika süresince kayıt alınmıştır. Bu testte değerlendirilen parametreler hareketlilik süresi, hareketsizlik süresi, ortalama hız, rotasyon (saat yönü-saat yönü tersi), hareket mesafesidir.

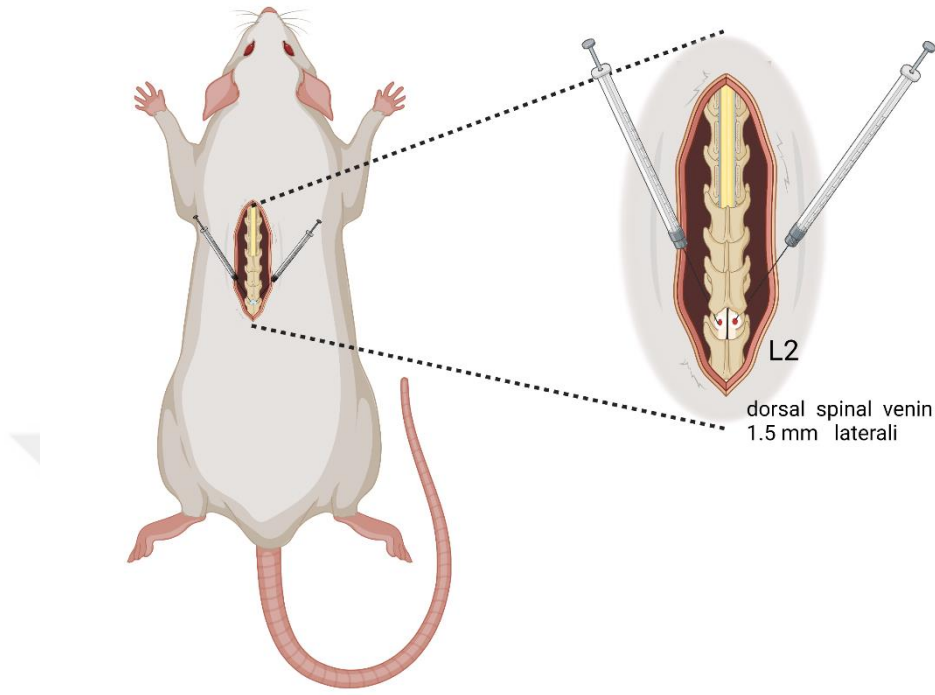


Resim 5.4.3.1. Açık alan testi.

5.5. Hasar Sonrası Aksonal Projeksiyonların Değerlendirilmesi

Lityum tedavisi sonrası aksonal plastisitenin değerlendirilmesi adına hayvanlar gaz anestezi altında iken operasyon sonrası 42.günde hayvanların omuriliğine L2 seviyesine laminektomi yapılarak, bilateral olarak 1 µl biyotinlenmiş dekstran amin (BDA10,000 MW) (D1956; Invitrogen, Waltham, MA, USA) enjekte edilmiştir. Aksonal projeksiyonlar daha önceki yapılan çalışmalara uygun olarak izlenmiştir. BDA 0.01 M Fosfat tampon çözeltisi (PBS) ile seyreltilmiştir. Enjeksiyon bölgesi omurilikte *dorsal* venin 1.5 mm lateralidir. Enjeksiyon için ince uçlu cam pipet kullanılmıştır (Şekil 5.5.1.). Verilen maddenin geri çıkışını engellemek amacıyla cam pipet yaklaşık 1 dk boyunca enjeksiyon bölgesi içerisinde bekletilmiş sonrasında cam pipet ucu yavaşça çıkartılmıştır.

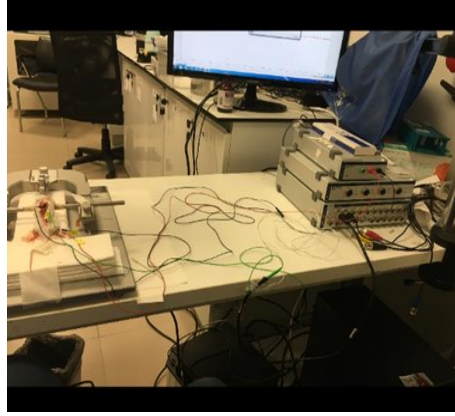
Enjeksiyondan 14 gün sonra hayvanlar yüksek doz anestezi kullanılarak transkardiyal perfüzyon yöntemi ile sakrifiye edilmiştir.



Şekil 5.5.1. BDA enjeksiyonu.

5.6. Elektrofizyolojik Ölçüm Elektromiyografi

Hasar sonrası aksonal rejenerasyonun elektrofizyolojik olarak değerlendirilmesi için elektromiyografi (EMG) kaydı alınmıştır (Resim 5.6.1.). Hasar bölgesinin üst kısmından omuriliğin T6-T7 seviyelerinden *intervertebral foramen* bölgesini uyarmak için iğne uçlu elektrotlar kullanılmıştır. Hasar tarafı olan sağ taraf alt ekstremité *gastrokinemius* kasına *distal* ve *proksimal* konumlandırılacak şekilde pozitif (*proksimal*) ve negatif (*distal*) iğne uçlu elektrotlar yerleştirilmiştir. Elektrotların yerleştirilebilmesi için *gastrokinemius* kasının üstündeki tüylü deri tıraşlanmıştır. Stimülatör panelinin uyarı şiddeti 2V ve 0.2 Hz. dir. Uyarılar 10 tekrardan oluşmaktadır. Veriler, LabChart 8 yazılımı (ADInstruments, Dunedin, New Zeland) ile PowerLab veri toplama sistemi kullanılarak elde edildi. EMG kaydında değerlendirilen ölçümler kasılmanın gecikme süresi, kasılma süresi ve amplitüd ölçülmüştür.



Resim 5.6.1. EMG kayıt düzeneği.

5.7. Zamana Bağlı Serum Lityum Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi

Lityumun doza ve zamana bağlı serum konsantrasyonlarını araştırılmıştır. 30 dakika, 1, 3, 6, 12, ve 24 saatteki serum lityum konsantrasyonlarının ICP-MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) analiz yöntemi kullanılarak ölçümü yapılmıştır.

5.8. Transkardiyal Perfüzyon ve Doku İzolasyonu

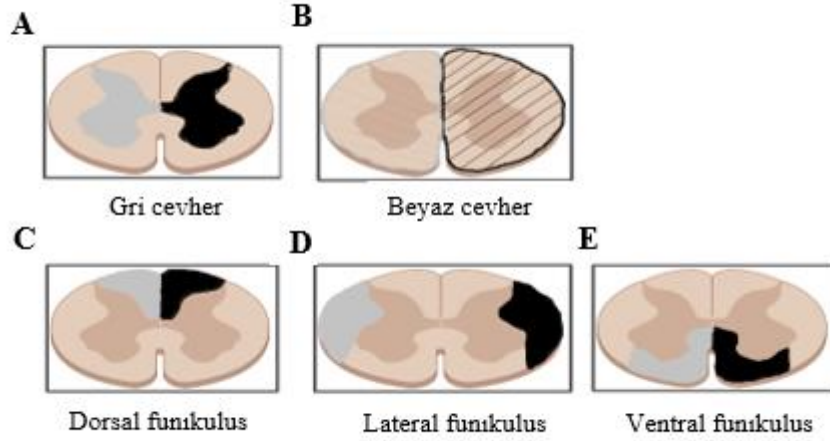
Serum fizyolojik (SF) kullanılarak transkardiyal perfüzyon yapılmıştır. Fiksasyon işleminin gerçekleşmesi için %4'lük paraformaldehit (158127 -500G, Sigma-Aldrich) (PFA) kullanılmıştır. Omurilik hasar bölgesi çıkarılacak omuriliğin merkez noktası kabul edilecek çıkarılan omuriliğin uzunluğu yaklaşık 2 cm olacak şekilde *rostral* ve *kaudal* 2 parça olmak üzere izole edilmiştir. Omurilik izolasyonunda omuriliğin çıkarılırken doku bütünlüğünün bozulmaması için dikkatli bir şekilde *vertebradan* çıkarılmıştır. İzole edilen *rostral* ve *kaudal* omurilik dokuları 2 saat boyunca 4 °C'de %4'lük PFA ile inkübasyonda kalmıştır. Fiksasyon işleminin tamamlanması için dokular PFA'dan çıkarıldıktan sonra %30'luk hazırlanan süktroz (800-081-LG, Multicell) çözeltisine atılarak dokuların süktroz çözeltisinin yüzeyinden aşağı doğru çökmesi beklenmiştir. Çöken *rostral* ve *kaudal* omurilik dokuların şeklinin korunması için 1.5 ml'lik enjektör omurilik kesitlerinin boyutunda kesilerek omurilik dokuları enjektör içine yerleştirilerek dokular koruyucu solüsyon (tissue freezing medium; Leica 14020108926-125 ml) ile kaplanmıştır ve kurubuz üzerinde dondurulmuştur. Kesit alınana kadar dokular saklanması için -80 °C'de kaldırılmıştır.

5.9. Kryostat Cihazı ile Omurilik Kesitlerinin Eldesi

Fikse edilip, -80 °C’de muhafaza edilen *rostral* ve *kaudal* omurilik dokularından Kryostat (CM1950, Leica Biosystems, Wetzlar, Almanya) cihazı kullanılarak 50 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır (Şekil 5.11.2.). Kryostat cihazının iç kısmı -20, -23°C olacak şekilde doku kesitleri alınmıştır. Kesitler pozitif yüklü cam slaytlar (Isoterm, Almanya) üzerine alınarak 40°C ısıtıcı tabla üzerinde 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Isı yoluyla fikse edilen slaytlar önceden -20°C’de soğutulmuş slayt kutularına dizilerek, elde edilen kesitler saklanması için -80 °C’ye kaldırılmıştır.

5.10. Atrofi Değerlendirilmesi

Hasar sonrası lityum tedavisinin atrofi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi adına *rostral* ve *kaudal* omurilik kesitlerine Cresyl violet boyaması yapılmıştır. Omurilik kesitleri b oyama öncesi 40 °C’de sıcaklıkta yaklaşık 40 dakika etüvde bekletilmiştir. Daha sonra kesitler 1X PBS solüsyonunda yaklaşık 5 dakika boyunca çalkalayıcı (Heidolph unimax 1010) yardımıyla yıkanmıştır ardından slaytlar steril su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemleri sonrasında slaytlar Cresyl violet (C5042-106, Sigma Aldrich) boyasında 2 dakika masa üzerinde bekletilip, 13 dakika boyunca çalkalayıcı ile boyanmıştır. Slaytlar, etanol (24102, Sigma-Aldrich) serisinde sırasıyla (%70, %90, %95 ve %100’lük etanol) yaklaşık 15 saniye bekletilmiştir. Örneklerin berraklaştırılması için etanol aşamasından sonra yaklaşık 2-3 dakika boyunca ksilende (534056, Sigma Aldrich, ABD) örnekler bekletilmiştir. Boyaması tamamlanan kesitlerin üzerine entellan damlatılarak (M1289, Sigma-Aldrich) örneklerin üzeri ince cam lamel (Isoterm, Almanya) ile baloncuk olmamasına dikkat edilerek kapatılmıştır. (Beker et al., 2015; Kelestemur et al., 2020). Boyamalar AxioZoom (V16, Carl Zeiss, Jena, Almanya) ışık mikroskobu ile görüntülenmiştir. *Rostral* ve *kaudal* omurilik kesitlerinin *ipsilateral alan* ve *kontralateral alanlarının* atrofi değerlendirilmesi yapılmıştır (Şekil 5.10.1.).

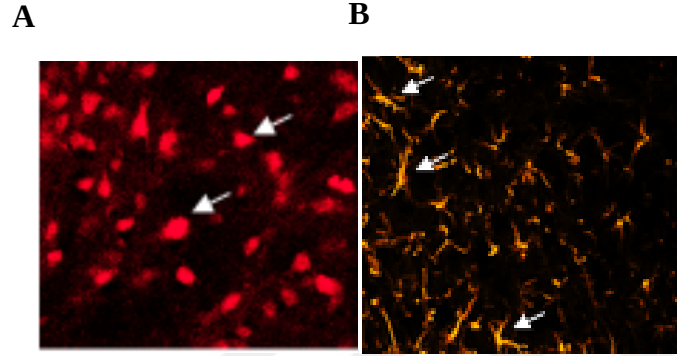


Şekil 5.10.1. Omurilik kesitleri atrofi değerlendirme bölgeleri, siyah renkli- çizgili alan *ipsilateral* bölge, gri renkli- işaretli alan *kontralateral* bölge. (A) Gri cevher atrofi bölgesi (B) Beyaz cevher atrofi bölgesi (C) *Dorsal funikülüs* atrofi bölgesi (D) *Lateral funikulus* atrofi bölgesi (E) *Ventral funikülüs* atrofi bölgesi.

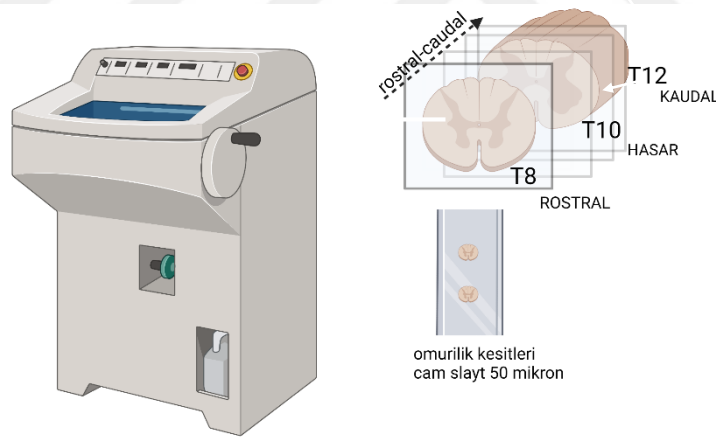
5.11. Nöronal Sağkalım ve Glial Hücrelerin Değerlendirilmesi

Hasar sonrası nöronal sağkalımın değerlendirilmesi için *rostral* ve *kaudal* omurilik kesitlerine NeuN boyaması yapılmıştır. Omurilik kesitleri 40 °C’de sıcaklıkta yaklaşık 40 dakika etüvde bekletilmiştir. Daha sonra kesitler 1X PBS solüsyonunda yaklaşık 5 dakika boyunca çalkalayıcı yardımıyla yıkanmıştır. Yıkama sonrası kesitler 0.1 M PBS içeren 0.3% Triton X-100 (PBS-T)/10% normal keçi serum (G9023; Sigma-Aldrich) ile 1 saat boyunca oda sıcaklığında bloklama yapılmıştır. Bloklama aşamasının ardından omurilik kesitleri 4°C’de 16-18 saat aralığında NeuN Alexa Fluor 647 konjuge antikoru (rabbit monoklonal anti- neuronal nuclei, 1:100; 62994; Cell Signaling, Beverly, MA, USA) ve GFAP Alexa Fluor 555 konjuge antikoru (mouse monoklonal anti- glial fibrillary acidic protein 1:100; 3656; Cell Signaling) ile 4°C’de 16-18 saat aralığında inkübe edilmiştir. Sonrasında kesitler 1X PBS solüsyonunda yaklaşık 5 dakika boyunca çalkalayıcı yardımıyla yıkanmıştır. Yıkama sonrası koruyucu kapatma solüsyonu (Mounting Fluoromount Medium, F4680, Sigma, ABD) örneklerin üzerine damlatılarak slaytlar lamel kullanılarak kapatılmıştır. Boyama sonrası kesitlerin görüntülenmesi için konfokal mikroskobu (LSM780, Carl Zeiss) kullanılmıştır. *Rostral* ve *kaudal* omurilik kesitlerinin hasar sonrası aksonal

projeksiyonları değerlendirilmiştir. Nöron ve glial hücre analizi *ipsilateral* ve *kontralateral rostral* ve *kaudal* omurilik kesitlerinde pozitif hücreler sayılarak analiz edilmiştir.



Şekil 5.11.1. Nöronal sağkalım ve glial hücrelerin değerlendirilmesi. (A) Neun (+) hücreler (B) GFAP (+) hücreler.

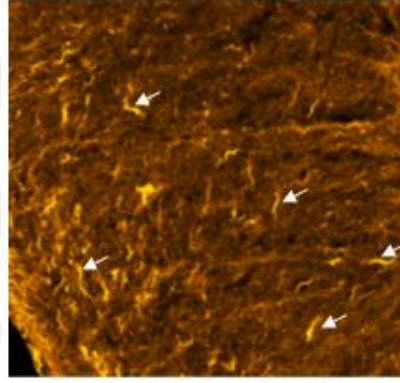


Şekil 5.11.2. Kryostat cihazı ve omurilik kesitleri.

5.12. BDA Boyaması

-80 °C’de muhafaza edilen omurilik kesitleri boyama öncesi 40 °C’de sıcaklıkta yaklaşık 40 dakika etüvde bekletilmiştir. Omurilik kesitleri 1X PBS solüsyonunda yaklaşık 5 dakika boyunca yıkama işlemi yapılmıştır. 1 saat boyunca bloklama işlemi %10 NGS (Normal Goat Serum, Sigma, G9023) ve PBS-T ile çalkalayıcı (Heidolph unimax 1010) yardımıyla inkübe edilmiştir. İnkübasyon

sonrasında %2 NGS, PBS-T, Alexa Fluor 555 Conjugated streptavidin (S21391; Invitrogen) antibody kullanılarak 90 dakika boyunca çalkalayıcı yardımıyla oda sıcaklığında kesitler inkübe edilmiştir. Slaytlara 1X PBS solüsyonunda yaklaşık 5 dakika boyunca yıkama işlemi yapılmıştır. Boyama işleminin ardından örneklerin kurumaması ve saklanabilir olması adına koruyucu mounting Fluoromount medium (F4680, Sigma, ABD) örneklerin üzerine damlatılarak slaytlar lamel kullanılarak yavaşça kapatılmıştır. Bir gece süresince örnekler oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Boyama sonrası slaytların görüntülenmesi için konfokal mikroskobu (LSM780, Carl Zeiss) kullanılmıştır. *Rostral* ve *kaudal* omurilik kesitlerinin hasar sonrası aksonal projeksiyonları değerlendirilmiştir.



Şekil 5.12.1. Aksonal projeksiyon.

5.13. Değerlendirme ve İstatistik

İstatistiksel analizler için SPSS programı (version 15, SPSS Inc., Chicago, USA) kullanılmıştır. Elde edilen değerler ortalama $\pm$ standart sapma olacak şekilde, tek yönlü (one-way) varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiştir. Gruplar arası farklılıklar en düşük anlamlı farklılık testi (least significant difference-LSD) ile analiz edilmiştir. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$). ** $p < 0,05$ kontrol grubu ile 0.2 mmol/kg lityum grubu , # $p < 0,05$ 0.2 mmol/kg lityum grubu 2 mmol/kg lityum grubu arasında istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

6. BULGULAR

6.1. Zamana Bağlı Serum Lityum Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi

Lityum terapötik olarak 0.6-1.2 mmol/L doz aralığında insanlarda etkilidir. Bulgularımıza dayanarak, lityumun doza ve zamana bağlı serum konsantrasyonunu araştırılmıştır.

Yapılan çalışmalara göre beyin iskemisi tedavisinde kullanılan 2 mmol/kg dozundaki lityum nöroprotektif etki göstermiştir (99). Bulgularımıza göre omurilik hasarından sonra uygulanan 0.2 mmol/kg lityum dozu ise rejeneratif etki göstermiştir.

Serum lityum konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi incelendiğinde 2 mmol/kg lityum dozu uygulanan grupta 12 saat sonra, 0.2 mmol lityum dozu uygulanan grupta ise 6 saat sonra serum lityum konsantrasyonlarının <0.05'in altına düştüğü Tablo 6.1.1.'de görülmektedir.

Tablo 6.1.1. ICP-MS ile ölçülen ve mmol/L olarak gösterilen serum lityum konsantrasyonları.

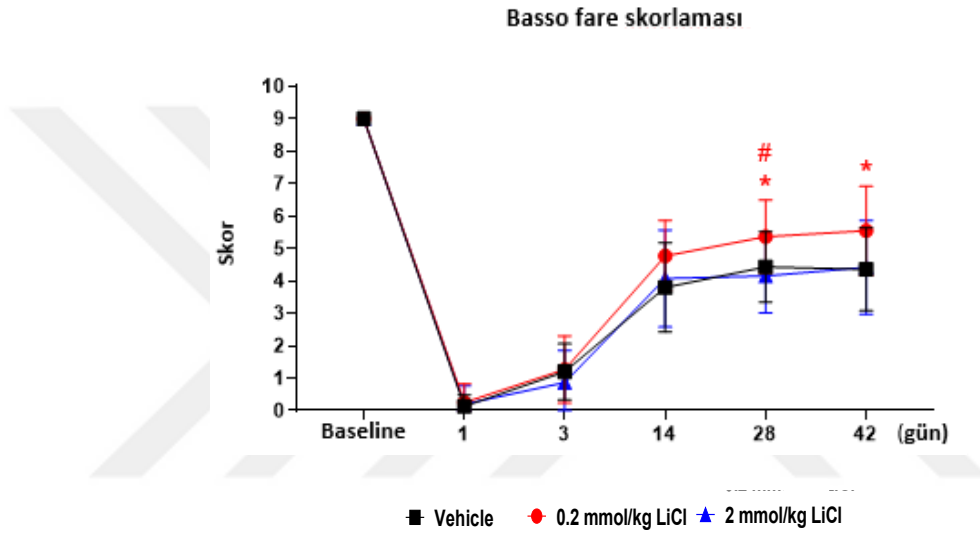
	30 min	1h	3h	6h	12h	24h
Vehicle	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
0.2 mmol/kg	0.18±0	0.12±0.04	0.09±0.03	<0.05	<0.05	<0.05
2 mmol/kg	0.88±0.12	0.45±0.05	0.39±0.09	0.15±0.04	<0.05	<0.05

N/A: Bulunmamaktadır. Veriler, ortalama SD (n= 3 fare/ her saat için) olarak ifade edilmektedir.

6.2. Davranış Testleri ile Omurilik Hasarı Sonrası Lokomotor Aktivitenin Değerlendirilmesi

6.2.1. BMS testi ile fonksiyonel geri kazanımın değerlendirilmesi

Kronik dönemde uygulanan lityum tedavisinin motor aktivite ve koordinasyona yönelik etkisini değerlendirmek adına eklem hareketi, *plantar-dorsal* adımlama, ağırlık destekli-desteksiz plantar adımlama, koordinasyon ve gövde stabilizasyonu BMS testi kullanılarak değerlendirilmiştir (Şekil 6.2.1.1.).



Şekil 6.2.1.1. Omurilik hasarı sonrası motor aktivitenin, *plantar-dorsal* adımlamanın, gövde stabilizasyonu ve koordinasyonun BMS testi ile değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. # $p < 0.05$, 2 mmol/kg lityum tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

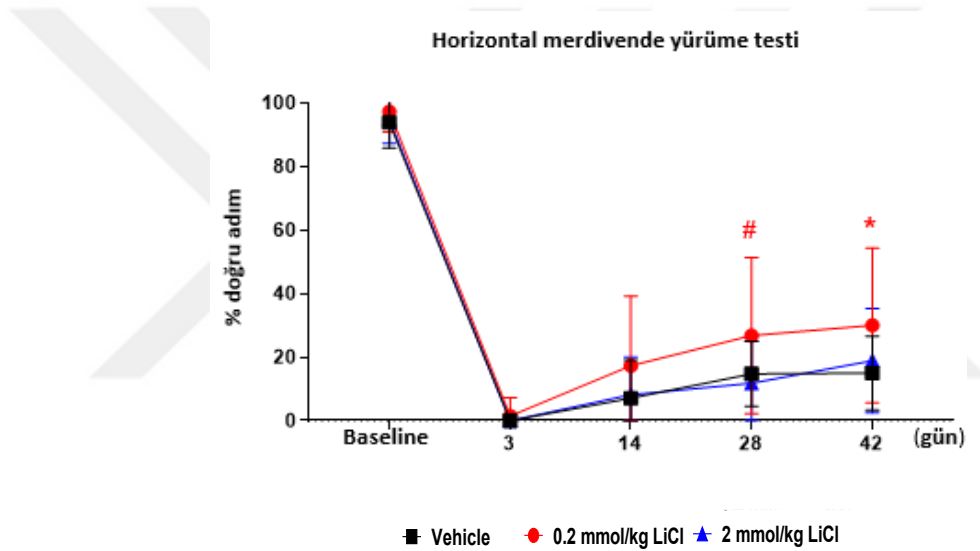
Hasar sonrası 28. ve 42. günde 0.2 mmol/kg lityum grubunda azalan plantar adımlamanın tedavi sonrası arttığı görülmektedir. Hasar sonrası 1. günde ayak bileğinde eklem hareketinin olmaması hasarın tüm gruplar arasında optimize edildiğinin göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Omurilik hasarı sonrası 28. ve 42. günde değerlendirilen motor aktivite, koordinasyon, fonksiyonel geri kazanım kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda ve

42. günde 2 mmol/kg lityum grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırmıştır.

6.2.2 Horizontal merdivende yürüme testi ile motor aktivite ve koordinasyonun değerlendirilmesi

Omurilik hasarı uygulanmadan önceki ve hasar uygulandıktan sonraki dönemdeki motor aktivitenin değerlendirilmesi horizontal merdivende yürüme testi ile yapılmıştır. Bu test ile arka bacak fonksiyonel geri kazanımı, adımlama ve koordinasyon, ayağın basamaklara tam yerleştirilmesi değerlendirilmiştir (Şekil 6.2.2.1.).

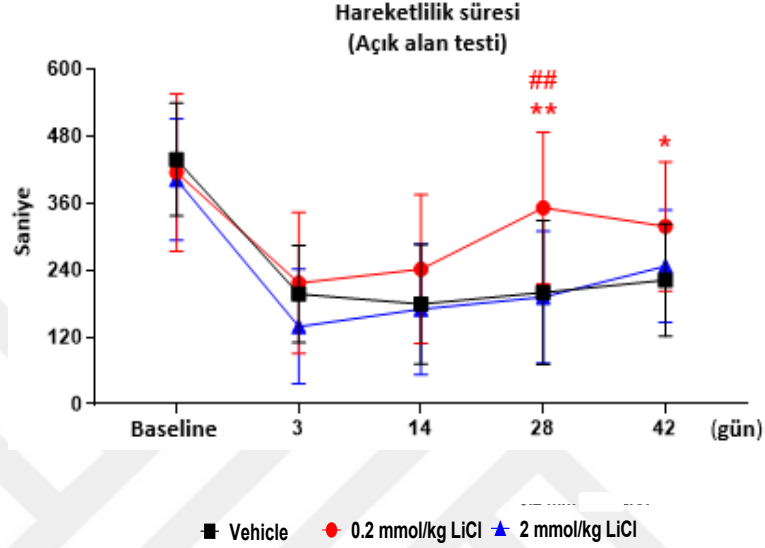


Şekil 6.2.2.1. Omurilik hasarı sonrası doğru, yanlış adımlamanın, koordinasyonun, motor yeteneğin merdivende yürüme test ile değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. # $p < 0.05$ 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Kontrol ve 2 mmol/kg lityum uygulanan farelere kıyasla, 0.2 mmol/kg lityum ile tedavi edilen farelerde hasar sonrası 28. günde ve 42. günde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde doğru adım atması artmıştır.

6.2.3. Açık alan testi ile motor kabiliyetin değerlendirilmesi

Omurilik hasarı sonrası lokomotor aktiviteyi ve hareketlilik süresini ölçmek için açık alan testi kullanılmıştır. Bu testte farelerin açık alan testi süresi boyunca hareket süreleri hesaplanmıştır.

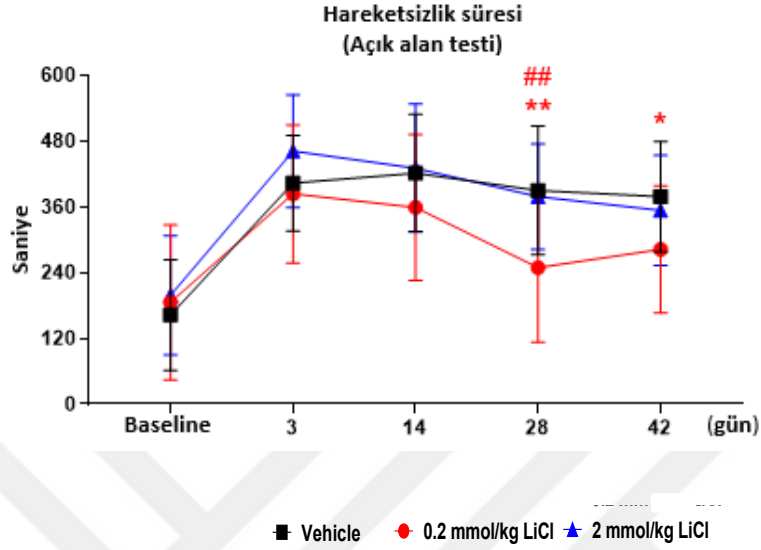


Şekil 6.2.3.1. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile hareketlilik süresinin değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. ### $p < 0.01$, 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

28. ve 42. günde kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda ve 42. günde 2 mmol/kg lityum grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda hareketlilik süresi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır (Şekil 6.2.3.1.). Kontrol ve 2 mmol/kg gruplarına kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda omurilik hasarı sonrası 28. günde lokomotor aktivite (hareketlilik süresi, alınan mesafe, ortalama hız ve rotasyon) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır. Hasar sonrası 14. günde 2 mmol/kg lityum gruplarına kıyasla 0.2 mmol/kg lityum uygulanan gruptaki hemiplejik farelerde rotasyon artmıştır.

Kronik dönemde omurilik hasarı sonrası uygulanan 0.2 mmol/kg lityum tedavisi motor fonksiyonları iyileştirici etki göstermiş ve hareketliliği, fonksiyonel geri kazanımı artırmıştır.

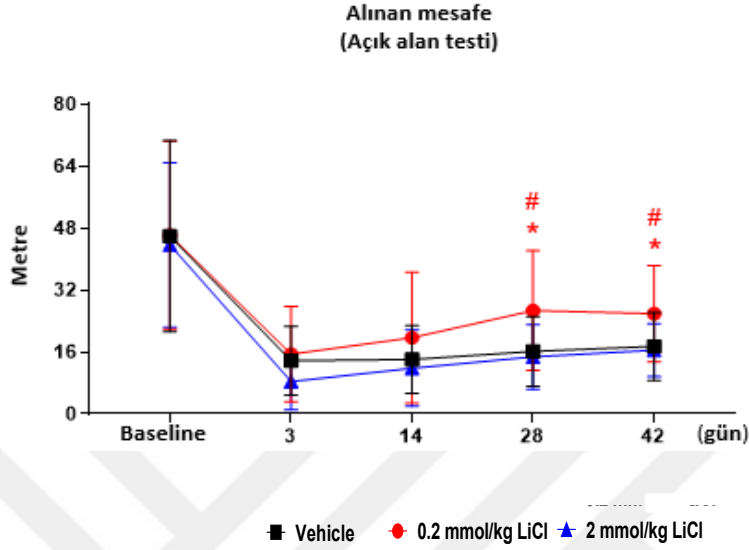
Omurilik hasarı sonrası lokomotor aktiviteyi ve hareketsizlik süresini ölçmek için açık alan testi kullanılmıştır. Bu testte farelerin açık alan testi süresi boyunca hareketsizlik süreleri hesaplanmıştır.



Şekil 6.2.3.2. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile hareketsizlik süresinin değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. ### $p<0.01$, 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

28. ve 42. günde kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda ve 42. günde 2 mmol/kg lityum grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda hareketsizlik süresi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalmıştır (Şekil 6.2.3.2.).

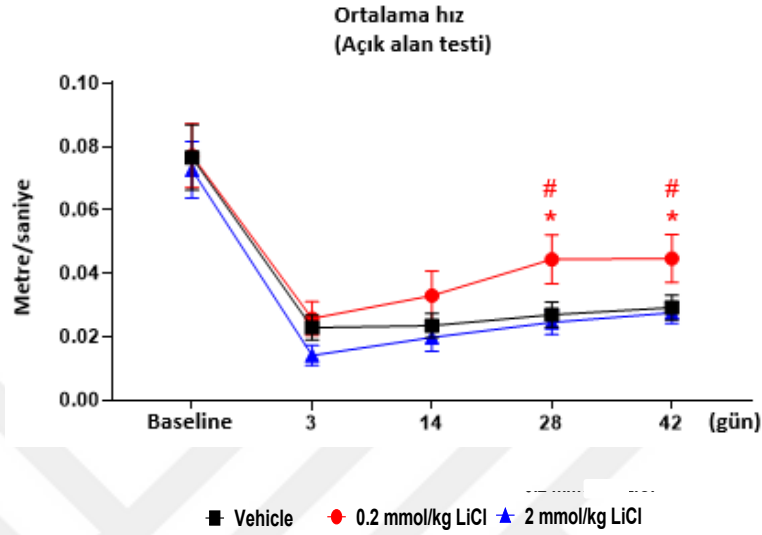
Omurilik hasarı sonrası lokomotor aktiviteyi ve alınan mesafeyi ölçmek için açık alan testi kullanılmıştır. Bu testte farelerin açık alan testi süresi boyunca katettikleri mesafe hesaplanmıştır.



Şekil 6.2.3.3. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile alınan mesafenin değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. # $p < 0.05$, 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

28. ve 42. günde kontrol ve 2 mmol/kg gruplarına kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda katettikleri mesafe istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır (Şekil 6.2.3.3.).

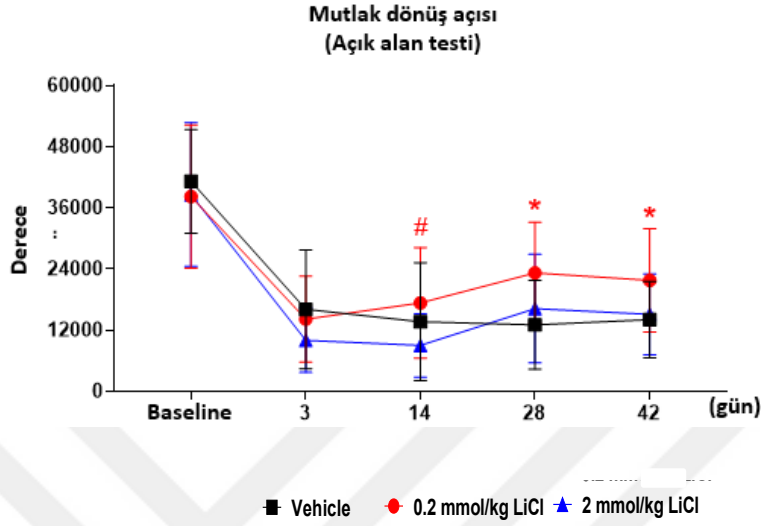
Omurilik hasarı sonrası lokomotor aktiviteyi ve ortalama hızı ölçmek için açık alan testi kullanılmıştır. Bu testte farelerin açık alan testi süresi boyunca ortalama hızları hesaplanmıştır.



Şekil 6.2.3.4. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile ortalama hızın değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. # $p < 0.05$, 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

28. ve 42. günde kontrol ve 2 mmol/kg gruplarına kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda ortalama hız istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır (Şekil 6.2.3.4.).

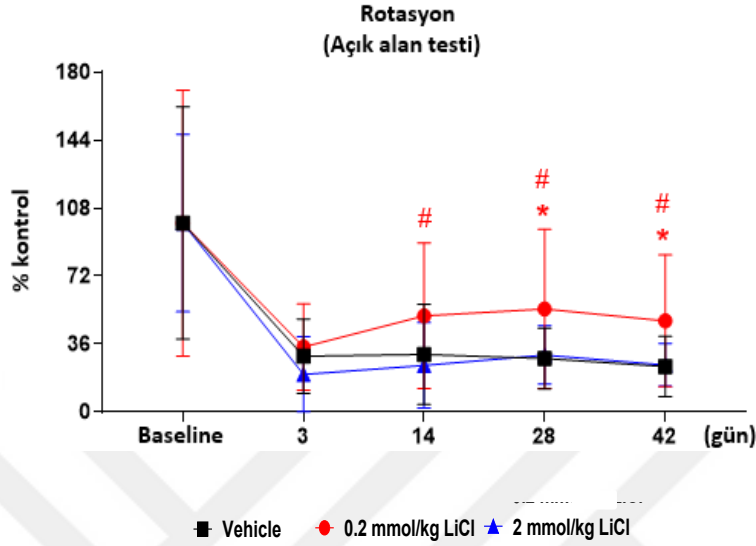
Omurilik hasarı sonrası lokomotor aktiviteyi ve mutlak dönüş hızını ölçmek için açık alan testi kullanılmıştır. Bu testte farelerin açık alan testi süresi boyunca mutlak dönüş hızı hesaplanmıştır.



Şekil 6.2.3.5. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile mutlak dönüş açısının değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. # $p < 0.05$, 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

14. günde 2 mmol/kg grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda mutlak dönüş hızı ortalama hız istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır. 28. ve 42. günde kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda mutlak dönüş hızı istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır (Şekil 6.2.3.5.).

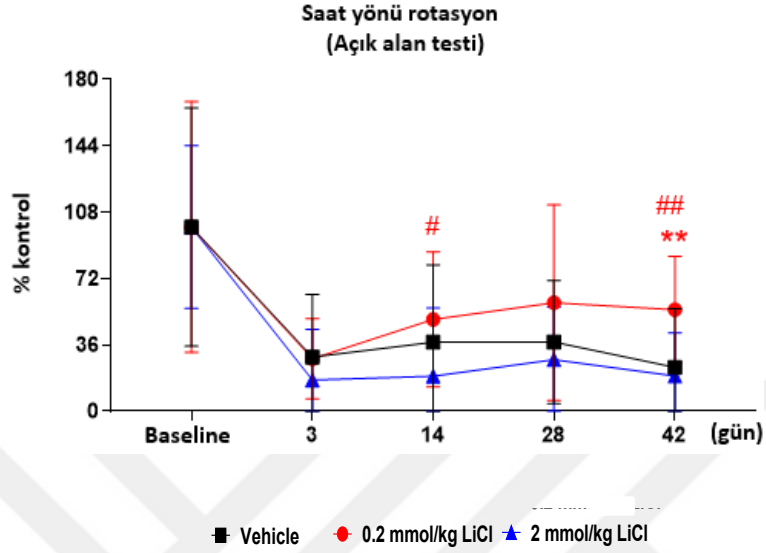
Omurilik hasarı sonrası lokomotor aktiviteyi ve rotasyonu ölçmek için açık alan testi kullanılmıştır. Bu testte farelerin açık alan testi süresi boyunca rotasyonu hesaplanmıştır.



Şekil 6.2.3.6. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile rotasyonun değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. # $p < 0.05$, 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

14., 28. ve 42. günde 2 mmol/kg grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda rotasyonu istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır. 28. ve 42. günde kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda rotasyon istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır (Şekil 6.2.3.6.).

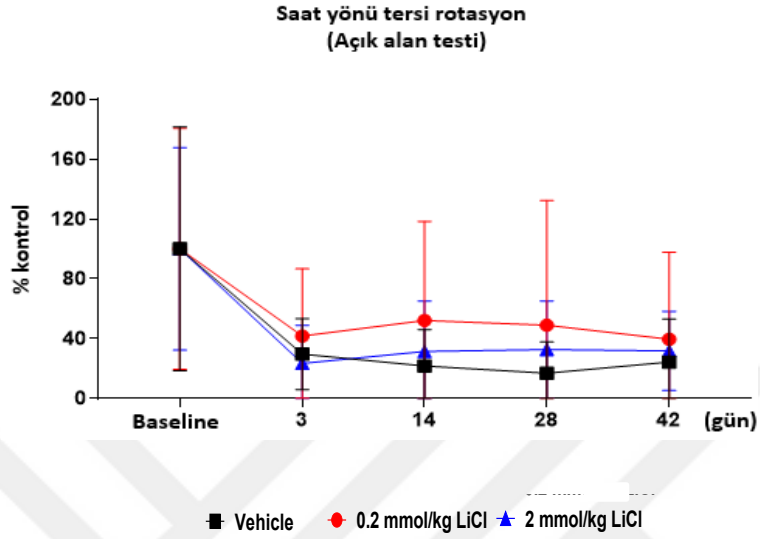
Omurilik hasarı sonrası lokomotor aktiviteyi ve saat yönündeki rotasyonun ölçmek için açık alan testi kullanılmıştır. Bu testte farelerin açık alan testi süresi boyunca saat yönündeki rotasyonu hesaplanmıştır.



Şekil 6.2.3.7. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile saat yönü rotasyonun değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

14., ve 42. günde 2 mmol/kg grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda saat yönündeki rotasyonu istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır. 42. günde kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda saat yönündeki rotasyon istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır (Şekil 6.2.3.7.).

Omurilik hasarı sonrası lokomotor aktiviteyi ve saat yönü tersindeki rotasyonun ölçmek için açık alan testi kullanılmıştır. Bu testte farelerin açık alan testi süresi boyunca saat yönündeki rotasyonu hesaplanmıştır.

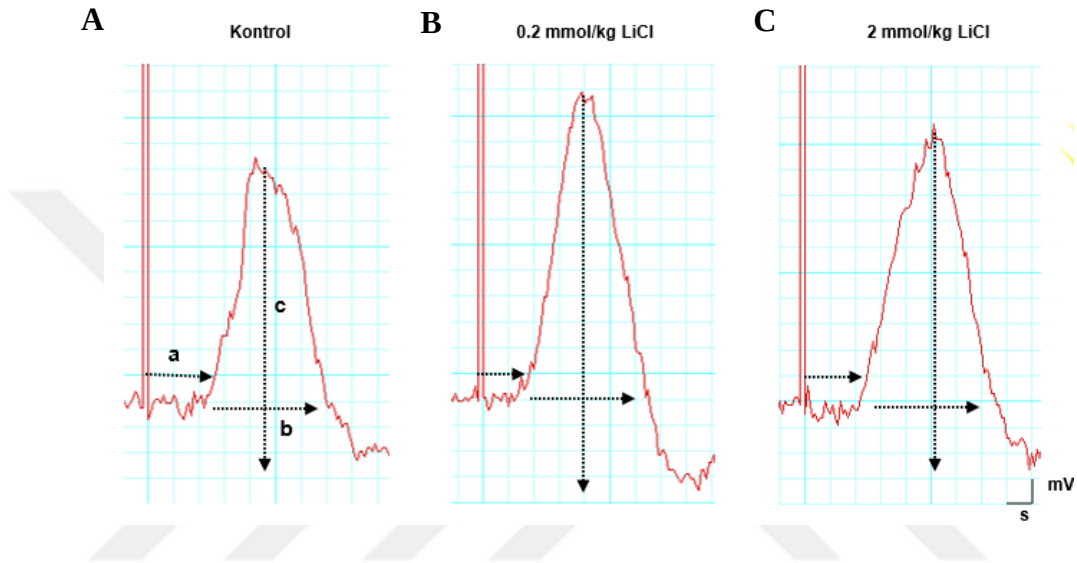


Şekil 6.2.3.8. Omurilik hasarı sonrası açık alan testi ile saat yönü tersi rotasyonun değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

14., 28., ve 42. günde kontrol ve 2 mmol/kg grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda saat yönündeki rotasyonu istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen artmıştır. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (Şekil 6.2.3.8.).

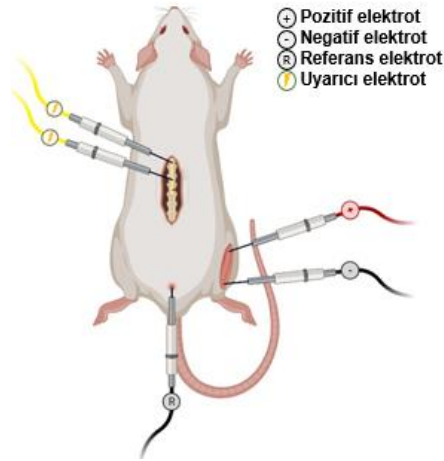
6.3. Elektrofizyolojik Olarak Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi

Hasar sonrası kesintiye uğrayan aksonal iletimin rejenerasyonunda lityumun etkisinin incelenmesi adına düşük doz (0.2 mmol/kg LiCl) ve yüksek doz (2 mmol/kg LiCl) lityum tedavisi uygulan hemiplejik farelerden hasarlı bacaktaki gastrokinemius kasından elektromiyografi (EMG) kaydı alınmıştır.



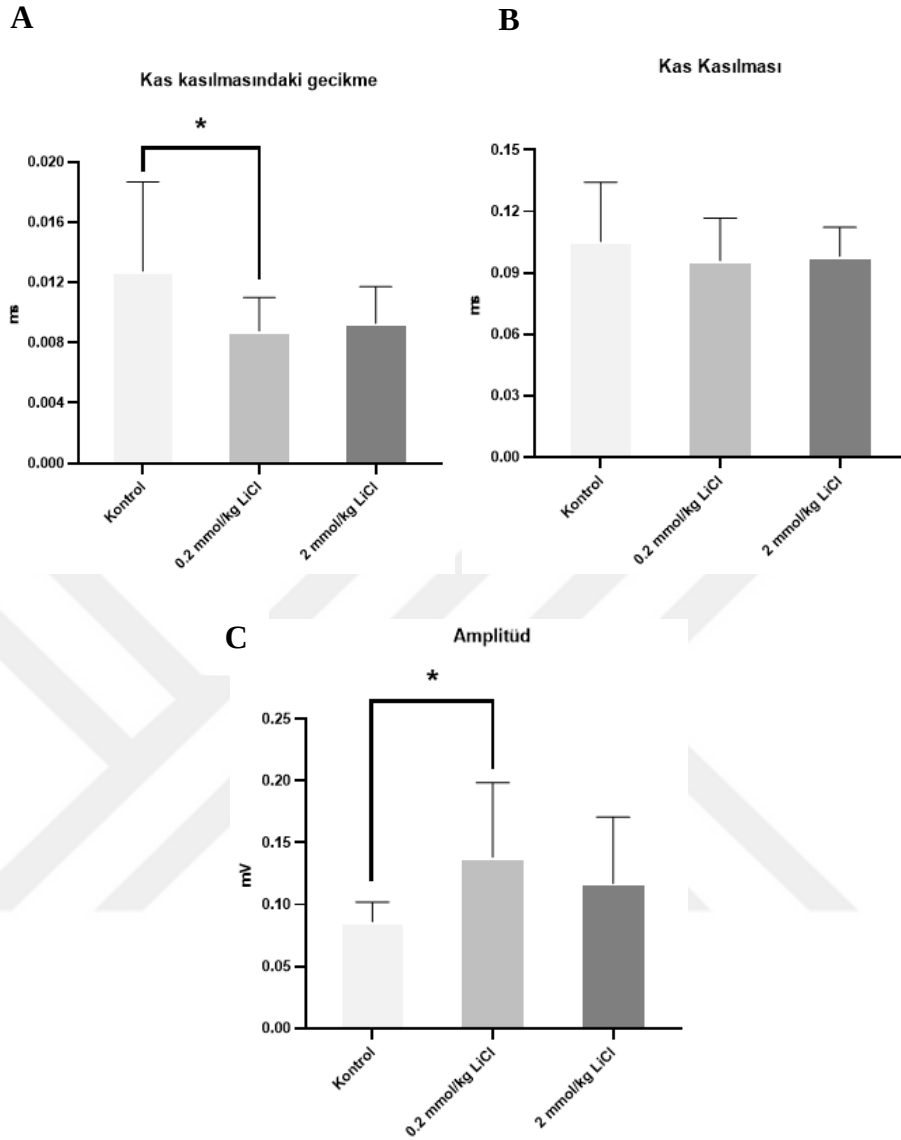
Şekil 6.3.1. Omurilik hasarı sonrası fonksiyonel iyileşmenin elektrofizyolojik olarak değerlendirilmesi. a: uyarı yanıtının gecikme süresi, b: kontraksiyon süresi, c: amplitüd. (A) kontrol grubu EMG grafiği, (B) 0.2 mmol/kg lityum grubu EMG grafiği, (C) 2 mmol/kg lityum grubu EMG grafiği.

Düşük doz lityum tedavisi uyarı sonrası kas yanıtındaki gecikme süresini azaltıcı ve amplitüdü artırıcı etki göstermiştir, ayrıca düşük ve yüksek lityum tedavisi sonrası kasın kontraksiyon süresi kısalmıştır (Şekil 6.3.1.).



Şekil 6.3.2. Uyarıcı, algılayıcı ve referans elektrotların yerleşim yerleri

Uyarıcı iğne elektrot hasar bölgesinin (T10) bölgesinin *rostrale*, referans iğne elektrot ise hasar bölgesinin *kaudale* yerleştirilmiştir. *Gastrokinemius* kasına uyarıyı algılayıcı negatif ve pozitif elektrotlar yerleştirilerek, uyarıya kasın yanıtı kaydedildi (Şekil 6.3.2.). Bu çalışmamızda omurilik hasarından 56 gün sonra uyarı sonrası verilen yanıtın (kas kasılması yanıtının) gecikmesi analiz edilmiştir.



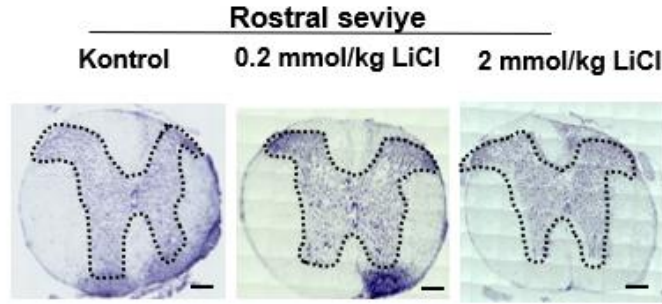
Şekil 6.3.3. Hasar sonrası lityum tedavisinin EMG kaydı ile (A) kas kasılmasındaki gecikme, (B) kas kasılma süreleri ve (C) amplitüd ölçümündeki etkisinin değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

EMG yöntemi kullanılarak kaydedilen sinyal iletimi ve kasın sinyal iletimine olan cevabındaki gecikme süresi kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalmıştır. Kontrol grubuna kıyasla 2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen kas kasılmasındaki gecikme süresi azalmıştır. Uyarı sonrası kontraksiyon süresi kontrol grubuna kıyasla, 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmamasına

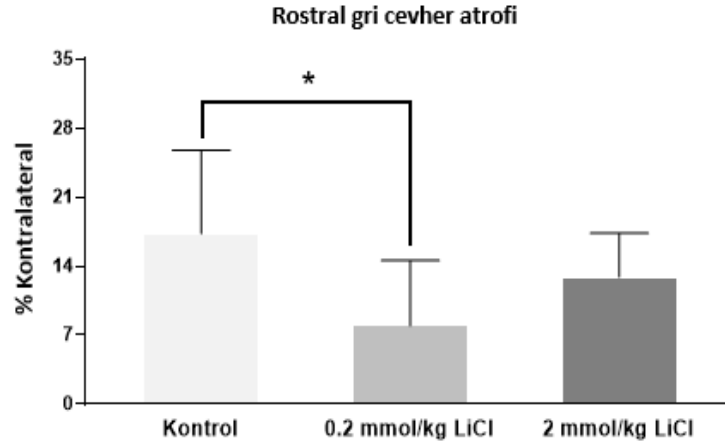
rağmen azalmıştır. Amplitüd değeri kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artmıştır.

6.4. Omurilik Hasarı Sonrası Atrofinin Değerlendirilmesi

Omurilik hasarı sonrası kronik dönemdeki lityum tedavisinin doku hasarı üzerindeki etkisini araştırılmıştır. Omurilik hasarı sonrası omuriliğin *rostral* ve *kaudal* bölgesinde atrofi görülmektedir. Atrofinin değerlendirilmesi için *rostral* ve *kaudal* omurilik kesitlerine Cresyl violet boyaması yapılmıştır. Omuriliğin gri ve beyaz cevherlerinde *kontralaterale* göre *ipsilateral* omurilik bölgesindeki atrofi ölçümü değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, 0.2 mmol/kg lityum tedavisi *rostral* beyaz cevherde koruyucu etki göstermesine rağmen, *kaudal* beyaz cevherde anlamlı bir koruyucu etki göstermemiştir. Fünikülüslerdeki atrofi değerlendirilmesi sonucunda, *dorsal funikülüs (rostral, kaudal)* ve *ventral funikülüs (kaudal)* atrofisine karşı düşük doz lityum tedavisi kontrol ve yüksek doz lityum tedavisine kıyasla koruyucu etki göstermiştir. Düşük doz lityum tedavisi omurilik hasarı sonrası kronik dönemde doku hasarını önlemiştir.

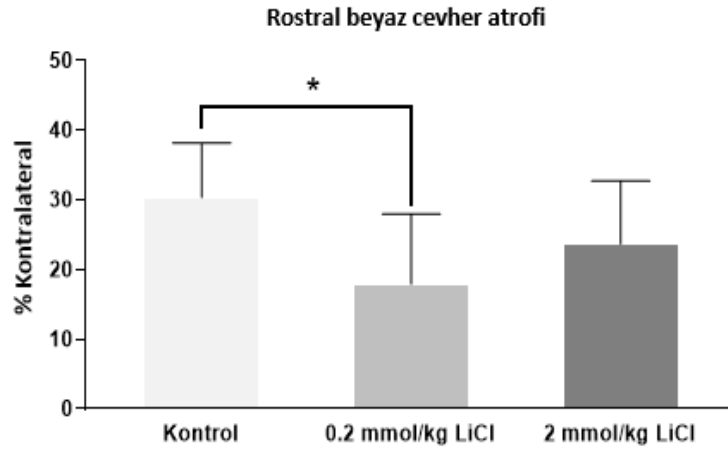


Şekil 6.4.1. Rostral omurilik kesitlerinin Cresyl violet boyaması ile atrofi görüntüsü



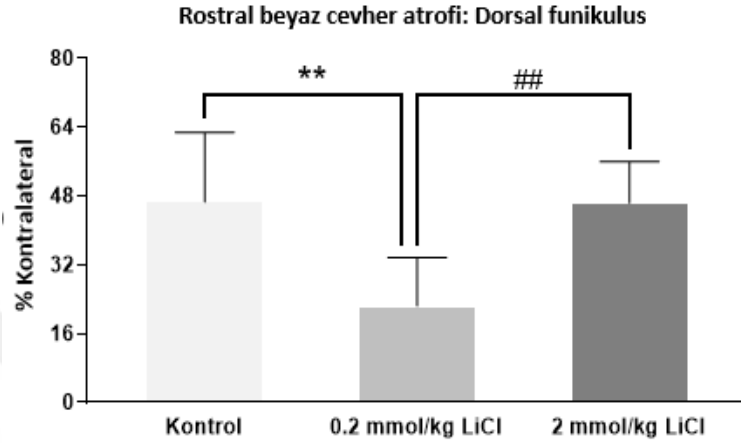
Şekil 6.4.2. *Rostral* omurilik gri cevherdeki atrofi miktarının hesaplanması. *İpsilateralin kontralaterale* göre atrofisi değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Rostral omuriliğin gri cevher atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az atrofi görülmektedir (Şekil 6.4.2.).



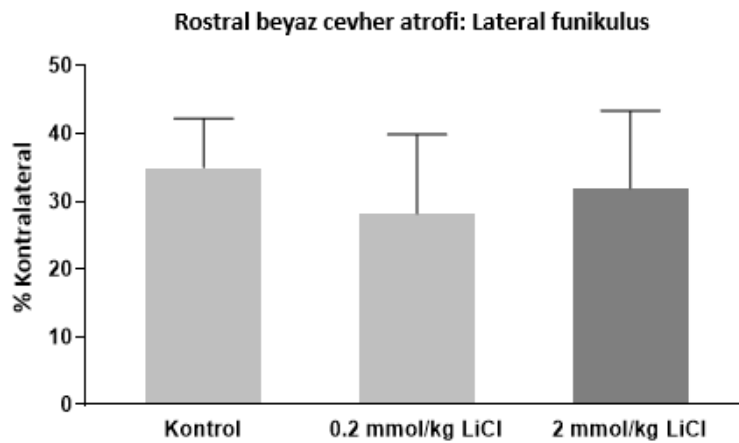
Şekil 6.4.3. *Rostral* omurilik beyaz cevherdeki atrofi miktarının hesaplanması. *İpsilateralin kontralaterale* göre atrofisi değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Rostral omuriliğın beyaz cevher atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az atrofi görülmektedir (Şekil 6.4.3.).



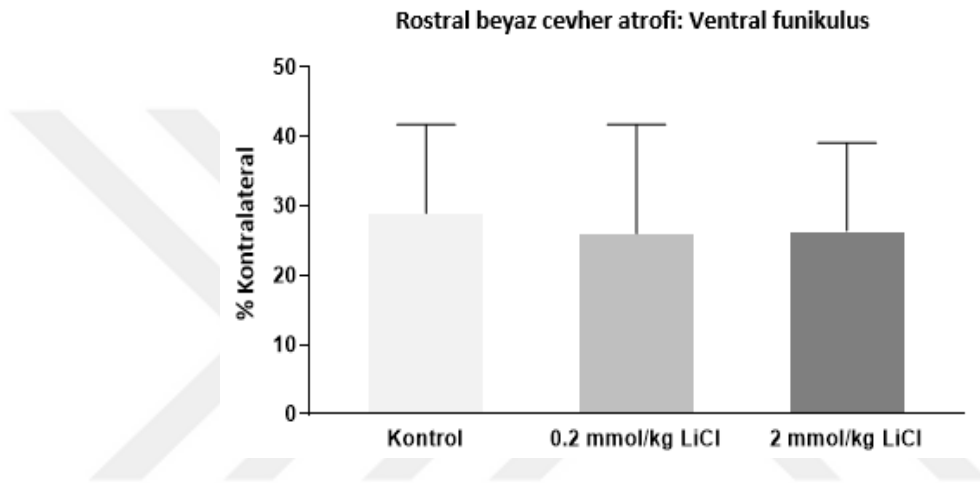
Şekil 6.4.4. *Rostral* omurilik *dorsal funikulus* atrofi miktarının hesaplanması. *İpsilateralin kontralaterale* göre atrofisi değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. ** $p < 0.01$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. ## $p < 0.01$, 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Rostral omuriliğın *dorsal funikulus* atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak daha az atrofi görülmektedir. 2 mmol/kg lityum grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az atrofi görülmektedir (Şekil 6.4.4.).



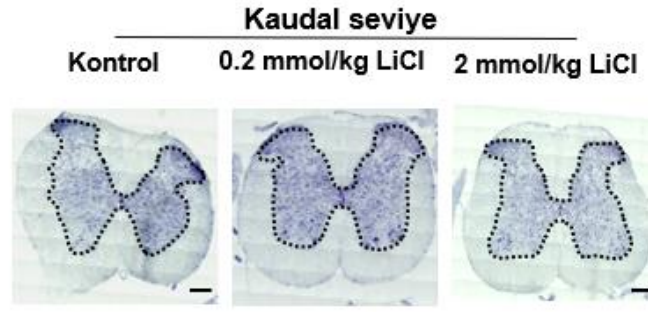
Şekil 6.4.5. *Rostral omurilik lateral funikülüs atrofi miktarının hesaplanması. İpsilateralin kontralaterale göre atrofisi değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.*

Rostral omuriliğin lateral funikülüs atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde olmamasına rağmen daha az atrofi görülmektedir (Şekil 6.4.5.).

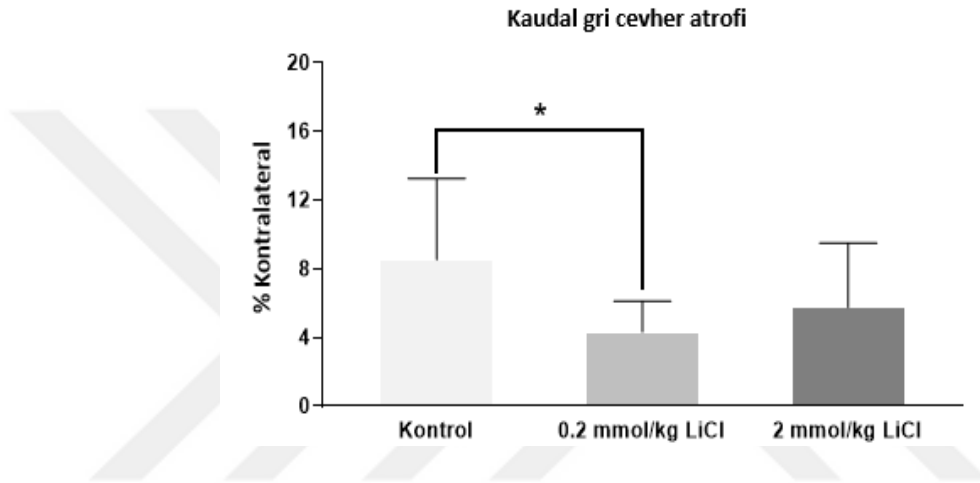


Şekil 6.4.6. *Rostral omurilik ventral funikülüs atrofi miktarının hesaplanması. İpsilateralin kontralaterale göre atrofisi değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.*

Rostral omuriliğin ventral funikülüs atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg ve 2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde olmamasına rağmen daha az atrofi görülmektedir (Şekil 6.4.6.).

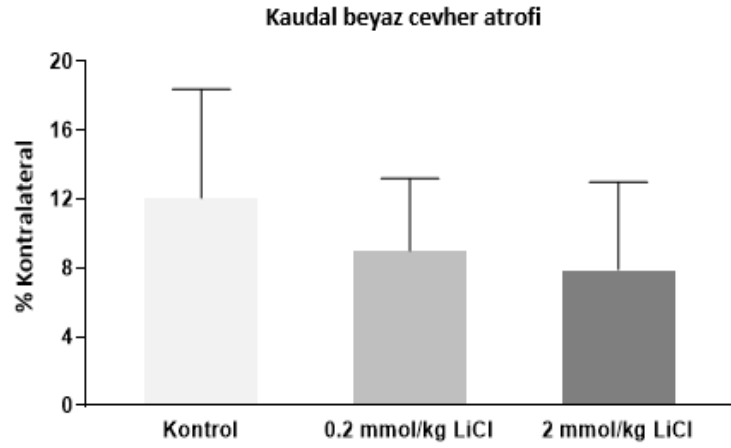


Şekil 6.4.7. Kaudal omurilik kesitlerinin Cresyl violet boyaması ile atrofi görüntüsü



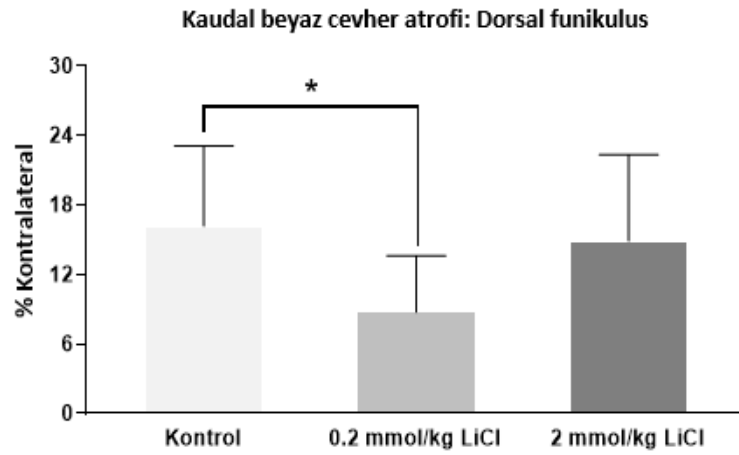
Şekil 6.4.8. Kaudal omurilik gri cevher atrofi miktarının hesaplanması. *İpsilateralin kontralaterale* göre atrofi değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Kaudal omuriliğin gri cevher atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az atrofi görülmektedir (Şekil 6.4.8.).



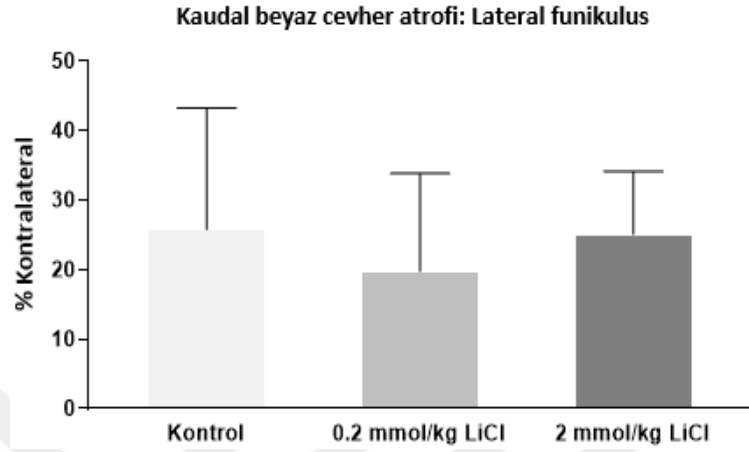
Şekil 6.4.9. Kaudal omurilik beyaz cevher atrofi miktarının hesaplanması. *İpsilateralin kontralaterale* göre atrofisi değerlendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Kaudal omuriliğin beyaz cevher atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg 2 mmol/kg lityum gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen daha az atrofi görülmektedir (Şekil 6.4.9.).



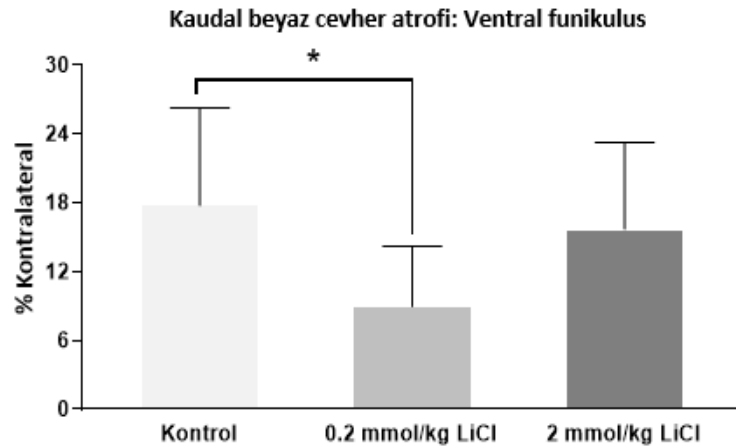
Şekil 6.4.10. Kaudal omurilik dorsal funikulus atrofi miktarının hesaplanması. *İpsilateralin kontralaterale* göre atrofisi değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Kaudal omuriliğin dorsal funikulus atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az atrofi görülmektedir (Şekil 6.4.10.).



Şekil 6.4.11. *Kaudal omurilik lateral funikulus atrofi miktarının hesaplanması. İpsilateralin kontralaterale göre atrofisi değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.*

Kaudal omuriliğin lateral funikulus atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen daha az atrofi görülmektedir (Şekil 6.4.11.).



Şekil 6.4.12. *Kaudal omurilik ventral funikulus atrofi miktarının hesaplanması. İpsilateralin kontralaterale göre atrofisi değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir*

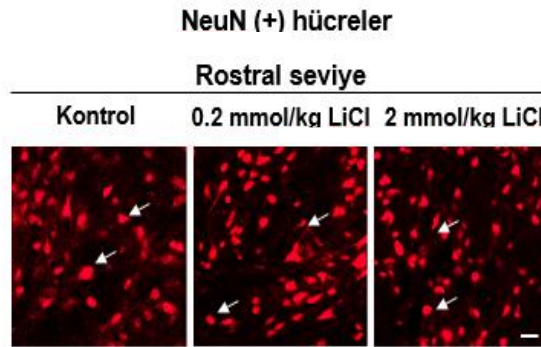
Kaudal omuriliğin *ventral f nik l s* atrofi ölçümüne göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az atrofi görülmektedir ( ekil 6.4.12.).

6.5. Lityum Tedavisinin Omurilik Hasarı Sonrası Nöronal Sağkalım, Motor Nöron ve Glial Hücreye Yönelik Etkisinin Değerlendirilmesi

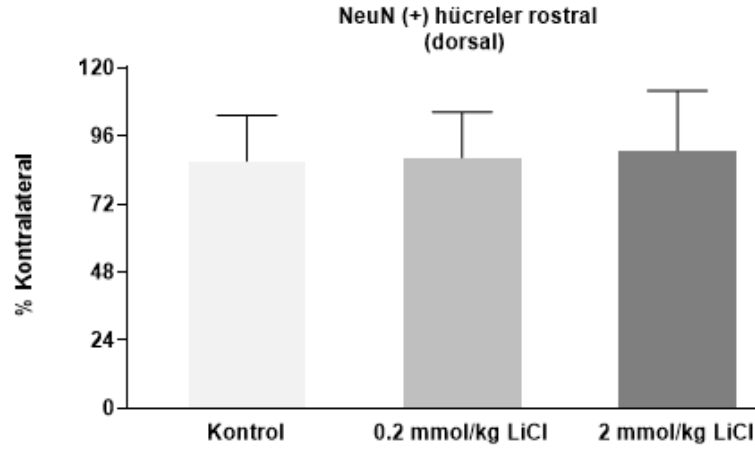
Omurilik hasarından sonra hücre analizi yapmak amacıyla Neun immun boyaması yapılarak, omuriliğin *rostral* ve *kaudal segmentlerinde* NeuN (+) hücreler sayılıp nöronal sağkalım değerlendirildi.

Lityum tedavisi, omurilik hasarı sonrası *rostral segmentin dorsal, dorsomedial* ve *ventral* bölgelerinde nöronal sağkalım değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. *Kaudal* omurilik *segmentinde* ise *dorsal* ve *ventral* bölgelerde ise kontrole 0.2 mmol/kg lityum tedavisi sonrası nöronal sağkalım üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir. *Kaudal* omurilik *segmentinin dorsomedial* bölgesinde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Bulgularımıza göre *rostral* omurilik *segmentindeki* motor nöron değerlendirilmesi sonucunda gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiş olmasına rağmen *kaudal* omurilik *segmentindeki* motor nöron sayısı kontrole kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu g r lm  tir.

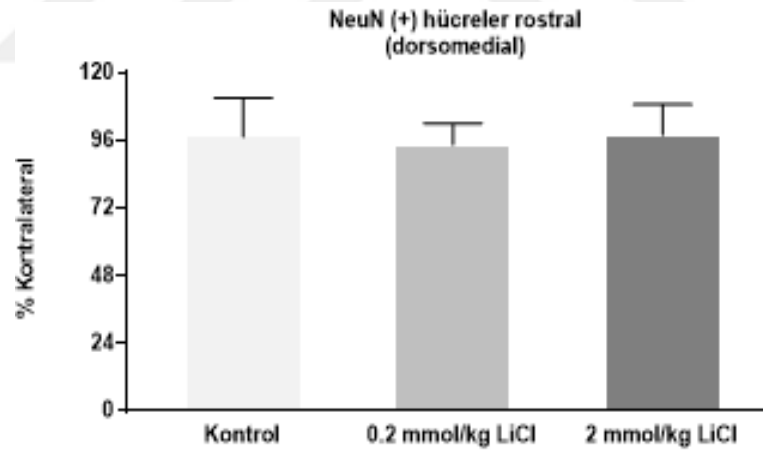


Şekil 6.5.1. NeuN boyaması *rostral* seviye nöronal sağkalım değerlendirilmesi.



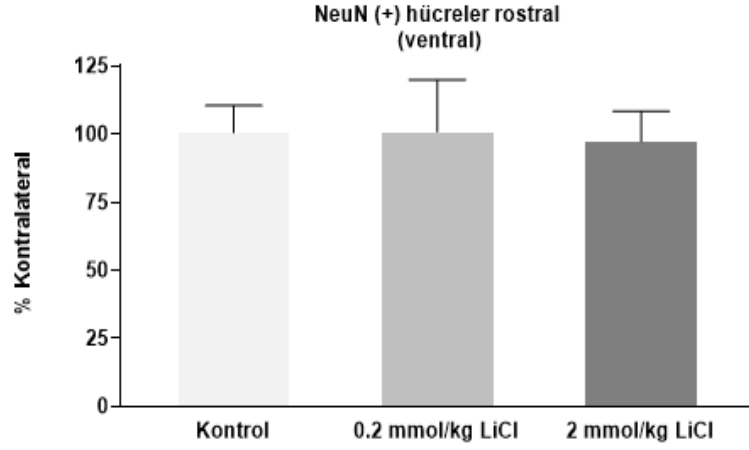
Şekil 6.5.2. Rostral omurilik (gri cevher) dorsal NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi. *İpsilateralin kontralaterale* göre değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Rostral omuriliğin dorsal bölgesindeki NeuN (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında NeuN (+) hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir (Şekil 6.5.2.).



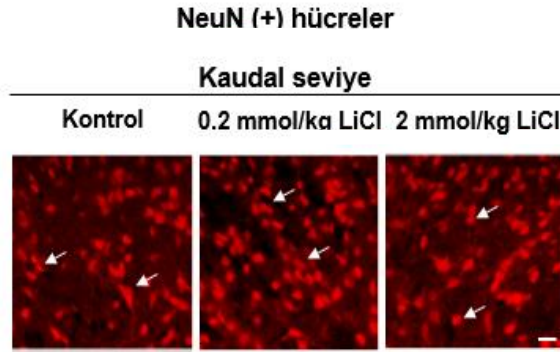
Şekil 6.5.3. Rostral omurilik (gri cevher) dorsomedial NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi. *İpsilateralin kontralaterale* göre değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Rostral omuriliğin dorsomedial bölgesindeki NeuN (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında NeuN (+) hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir (Şekil 6.5.3.).

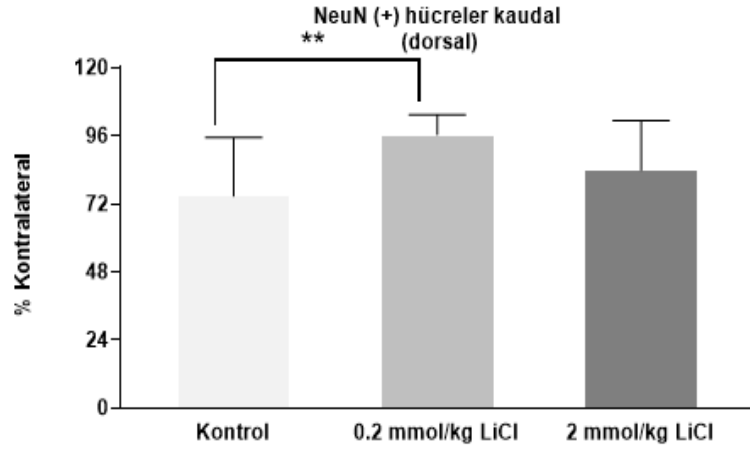


Şekil 6.5.4. *Rostral* omurilik (gri cevher) *ventral* NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi. *İpsilateralin* *kontralaterale* göre değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Rostral omuriliğin *ventral* bölgesindeki NeuN (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında NeuN (+) hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir (Şekil 6.5.4.).

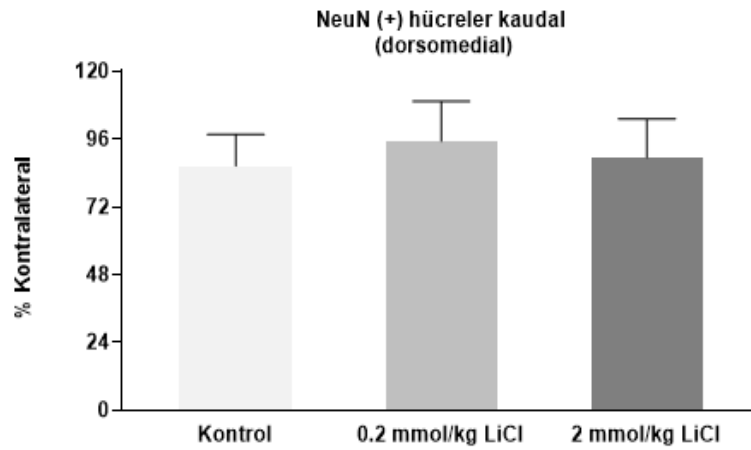


Şekil 6.5.5. NeuN boyaması *kaudal* seviye nöronal sağkalım değerlendirilmesi.



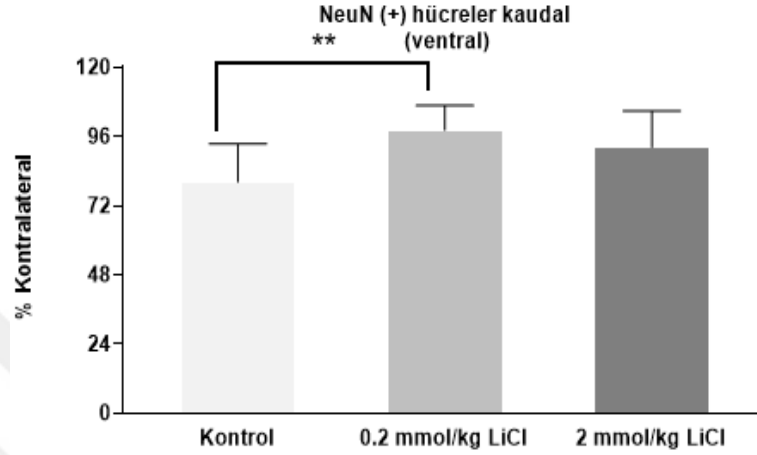
Şekil 6.5.6. Kaudal omurilik (gri cevher) dorsal NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi. *İpsilateralin kontralaterale* göre değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. ** $p < 0.01$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Kaudal omuriliğin dorsal bölgesindeki NeuN (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha fazla NeuN (+) hücre bulunmaktadır (Şekil 6.5.6.).



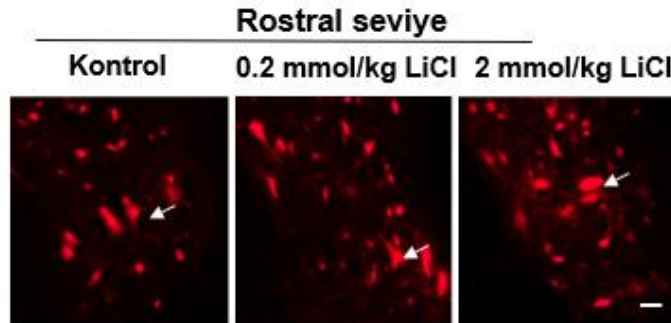
Şekil 6.5.7. Kaudal omurilik (gri cevher) dorsomedial NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi. *İpsilateralin kontralaterale* göre değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Kaudal omuriliğin *dorsalmedial* bölgesindeki NeuN (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında NeuN (+) hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir (Şekil 6.5.7.).

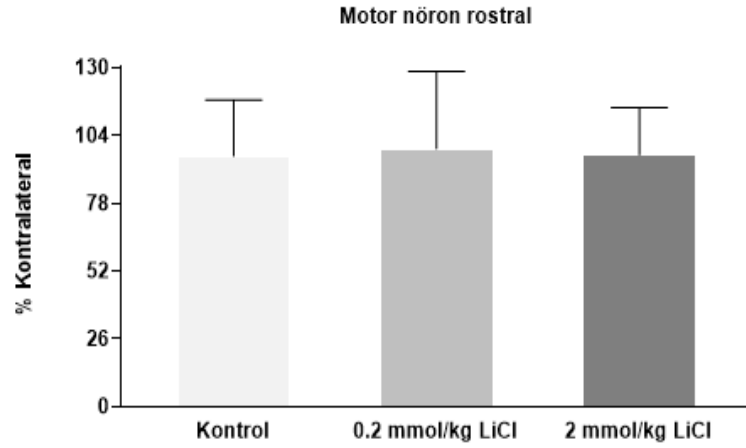


Şekil 6.5.8. *Kaudal* omurilik (gri cevher) *ventral* NeuN (+) hücrelerin değerlendirilmesi. *İpsilateralin* *kontralaterale* göre değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. ** $p < 0.01$, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Kaudal omuriliğin *ventral* bölgesindeki NeuN (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha fazla NeuN (+) hücre bulunmaktadır (Şekil 6.5.8.).

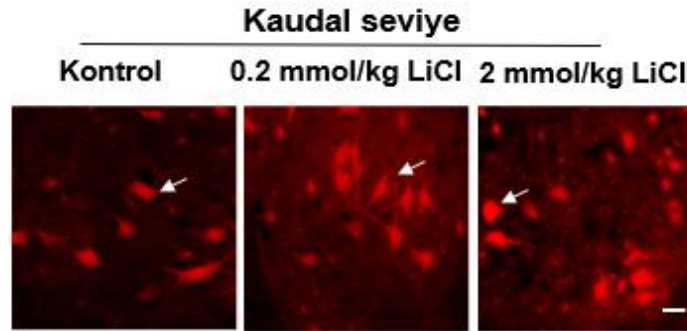


Şekil 6.5.9. NeuN boyaması *rostral* seviye motor nöron değerlendirilmesi.

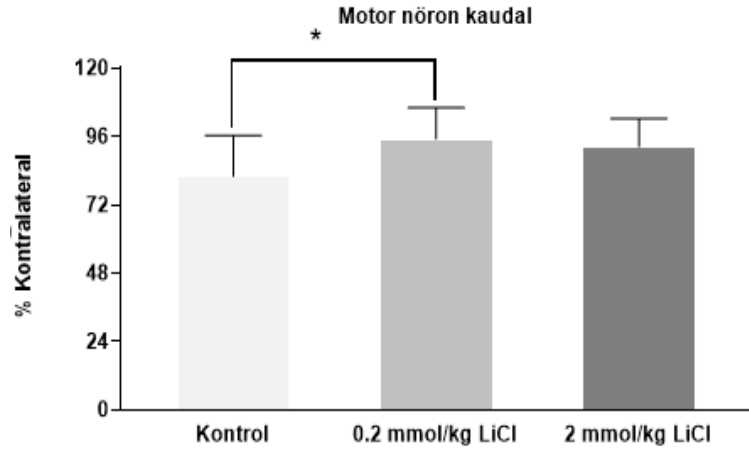


Şekil 6.5.10. *Rostral* omurilik (gri cevher) motor nöronların değerlendirilmesi. *İpsilateralin kontralaterale* göre değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Rostral omuriliğin motor nöron sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında motor nöron sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir (Şekil 6.5.10.).

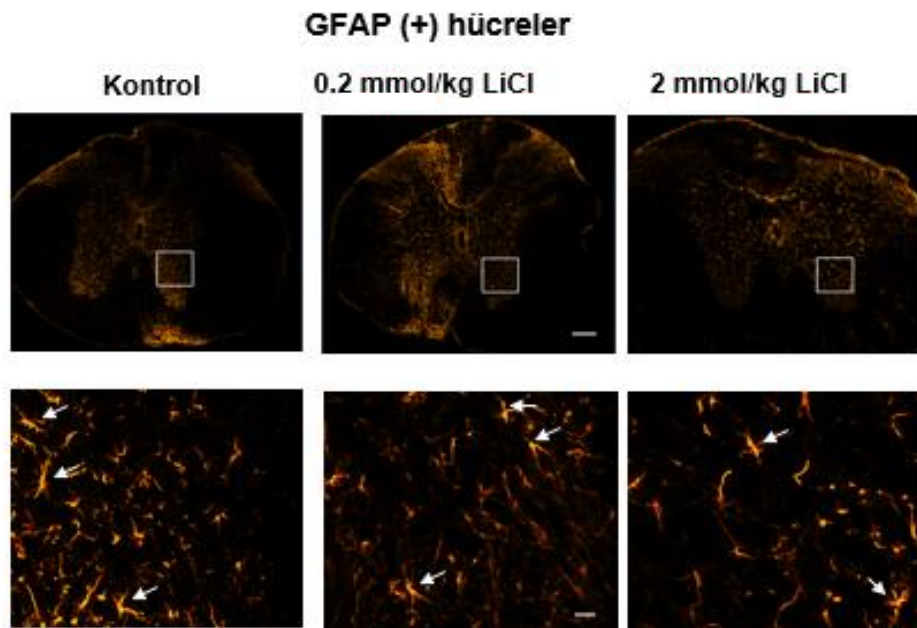


Şekil 6.5.11. NeuN boyaması *kaudal* seviye motor nöron değerlendirilmesi.



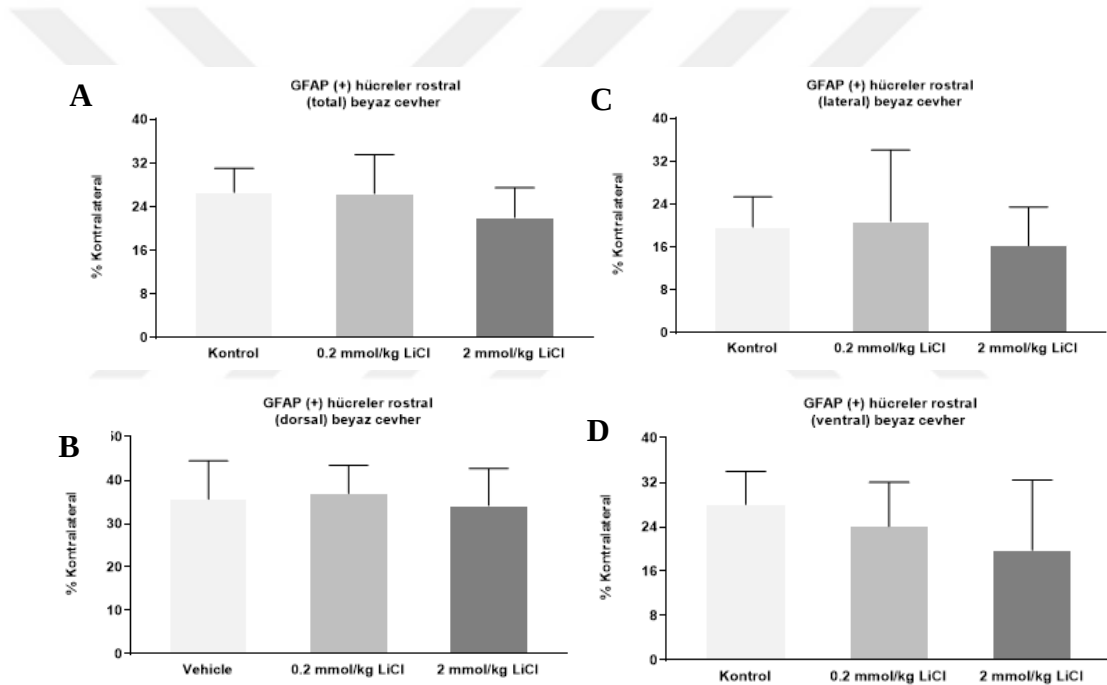
Şekil 6.5.12. *Kaudal* omurilik (gri cevher) motor nöronların değerlendirilmesi. *İpsilateralin kontralaterale* göre değerlendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Kaudal omuriliğin motor nöron sayısı sayısı değerlendirilmesine göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha fazla motor nöron bulunmaktadır (Şekil 6.5.12.).



Şekil 6.5.13. GFAP immün boyaması ile GFAP (+) hücre değerlendirilmesi.

GFAP immün boyama ile omurilik hasarı sonrası uygulanan lityum tedavisinin GFAP (+) hücreler üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Gruplar arasında omuriliğin *rostral segmentinde* gri cevherdeki GFAP (+) hücre sayısında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. *Rostral segmentin* aksine *kaudal segmentte* gri cevherde GFAP (+) hücre sayısında lityum tedavisi sonrası yüksek ve düşük doz istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür. *Ventral* bölgede ise anlamlı olmamasına rağmen lityum gruplarında kontrole kıyasla GFAP (+) hücre sayısında azalma görülmüştür.



Şekil 6.5.14. Rostral omurilik *fünikülüs*lar GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. (A) Rostral omurilik (beyaz cevher) total (*dorsal+lateral+ventral* *fünikülüs*) GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. (B) Rostral omurilik (beyaz cevher) *dorsal* *fünikülüs* GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. (C) Rostral omurilik (beyaz cevher) *lateral* *fünikülüs* GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi (D) Rostral omurilik (beyaz cevher) *ventral* *fünikülüs* GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. *İpsilateral*

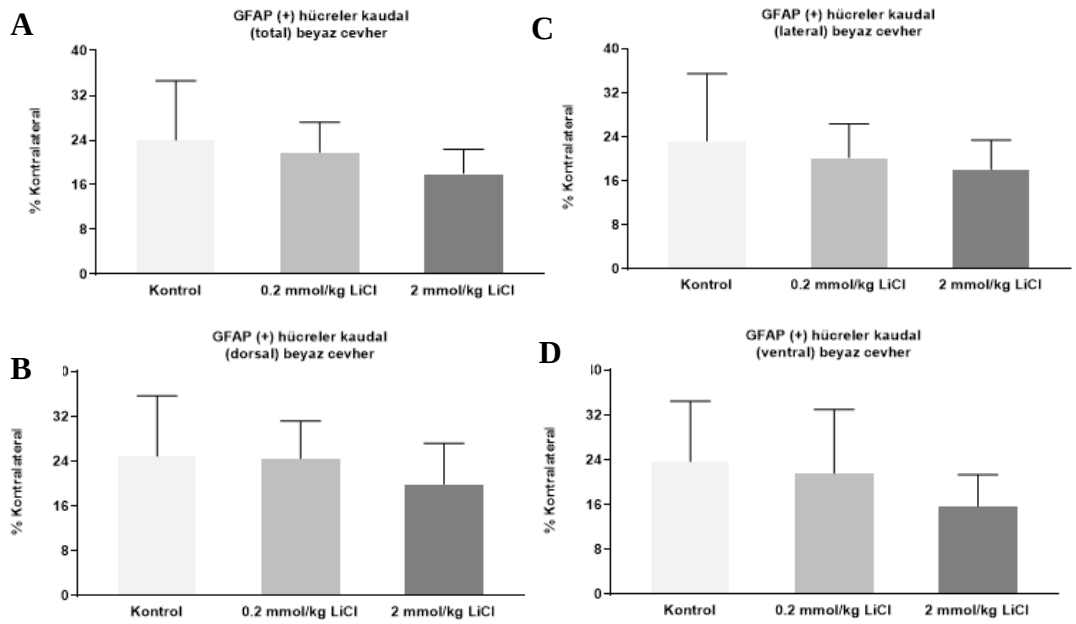
kontralaterale göre değerlendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir

Rostral omuriliğin total (*dorsal+lateral+ventral fönikülüs*lar) bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 6.5.14.A.).

Rostral omuriliğin *dorsal fönikülüs* bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 6.5.14.B.).

Rostral omuriliğin *lateral fönikülüs* bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 6.5.14.C.).

Rostral omuriliğin *ventral fönikülüs* bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemesine rağmen kontrole kıyasla lityum gruplarında GFAP (+) hücre sayısında azalma görülmüştür (Şekil 6.5.14.D.).



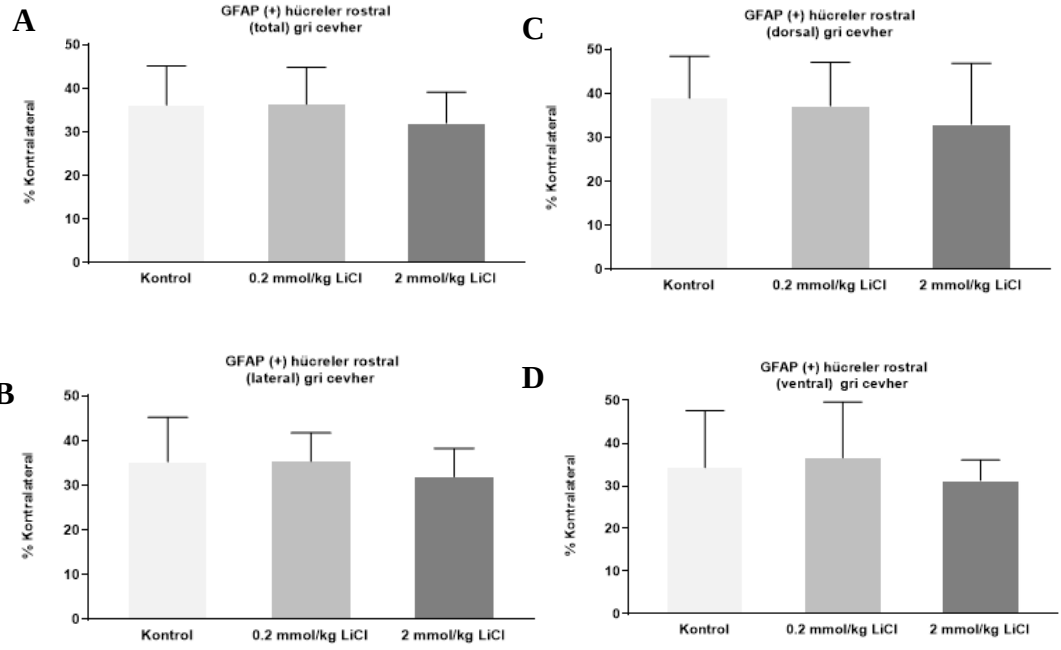
Şekil 6.5.15. *Kaudal omurilik fönikülüsler GFAP (+) hücrelerin değeriendirilmesi. (A) Kaudal omurilik (beyaz cevher) total (dorsal+lateral+ventral fönikülüs) GFAP (+) hücrelerin değeriendirilmesi. (B) Kaudal omurilik (beyaz cevher) dorsal fönikülüs GFAP (+) hücrelerin değeriendirilmesi. (C) Kaudal omurilik (beyaz cevher) lateral fönikülüs GFAP (+) hücrelerin değeriendirilmesi (D) Kaudal omurilik (beyaz cevher) ventral fönikülüs GFAP (+) hücrelerin değeriendirilmesi. İpsilateral kontralaterale göre değeriendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir*

Kaudal omuriliğın total (dorsal+lateral+ventral fönikülüsler) bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değeriendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görölmemesine rağmen kontrole kıyasla düşük ve yüksek doz lityum gruplarında GFAP (+) hücre sayısında azalma görölmüştür (Şekil 6.5.15.A.).

Kaudal omuriliğın dorsal fönikülüs bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değeriendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görölmemesine rağmen kontrol ve düşük doz lityum gruplarına kıyasla yüksek doz lityum gruplarında GFAP (+) hücre sayısında azalma görölmüştür Şekil (6.5.15.B.).

Kaudal omuriliğın lateral fönikülüs bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değeriendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görölmemesine rağmen kontrole kıyasla düşük ve yüksek doz lityum gruplarında GFAP (+) hücre sayısında azalma görölmüştür (Şekil 6.5.15.C.).

Kaudal omuriliğın ventral fönikülüs bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değeriendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görölmemesine rağmen kontrole kıyasla lityum gruplarında GFAP (+) hücre sayısında azalma görölmüştür (Şekil 6.5.15.D.).



Şekil 6.5.16. *Rostral* omurilik gri cevher GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. (A) *Rostral* omurilik (gri cevher) total (*dorsal+lateral+ventral fünükülüs*) GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. (B) *Rostral* omurilik (gri cevher) *dorsal fünükülüs* GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. (C) *Rostral* omurilik (gri cevher) *lateral fünükülüs* GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi (D) *Rostral* omurilik (gri cevher) *ventral fünükülüs* GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. *İpsilateral kontralaterale* göre değerlendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

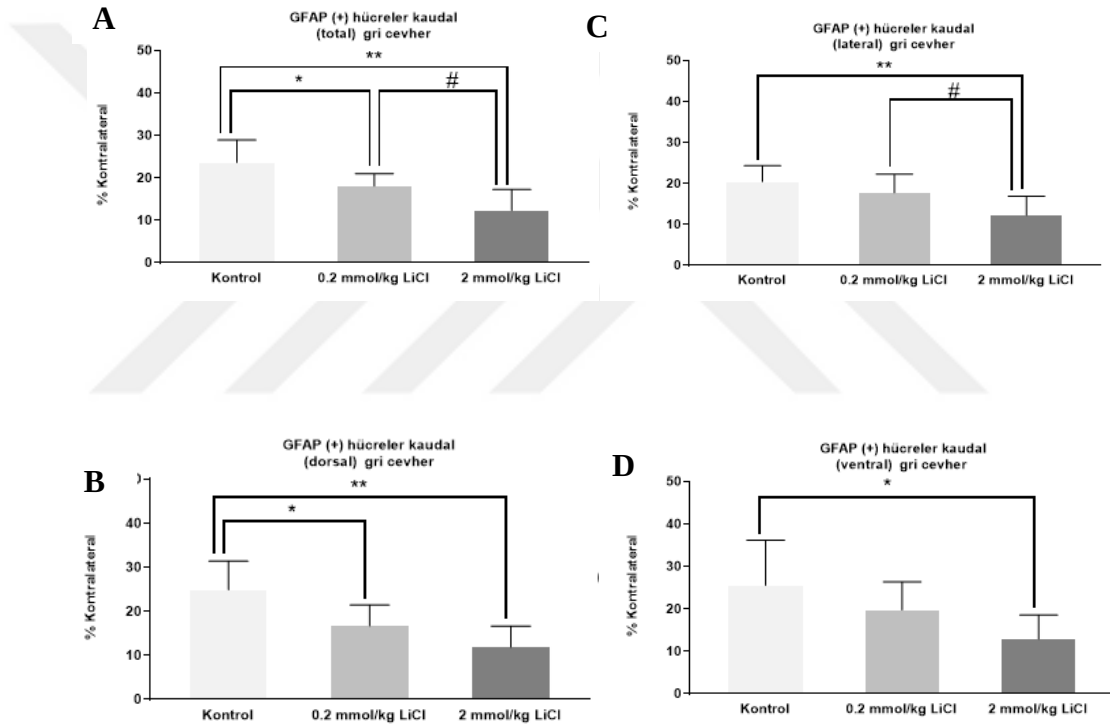
Rostral omuriliğin total (*dorsal+lateral+ventral fünükülüs*lar) bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemesine rağmen kontrole kıyasla yüksek doz lityum grubunda GFAP (+) hücre sayısında azalma görülmüştür. (Şekil 6.5.16.A.).

Rostral omuriliğin *dorsal fünükülüs* bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemesine rağmen kontrole kıyasla yüksek doz lityum grubunda GFAP (+) hücre sayısında azalma görülmüştür (Şekil 6.5.16.B.).

Rostral omuriliğin *lateral fünükülüs* bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık

görülmemesine rağmen kontrole kıyasla yüksek doz lityum grubunda GFAP (+) hücre sayısında azalma görülmüştür (Şekil 6.5.16.C.).

Rostral omuriliğin *ventral fönikülüs* bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemesine rağmen kontrole kıyasla yüksek doz lityum grubunda GFAP (+) hücre sayısında azalma görülmüştür (Şekil 6.5.16.D.).



Şekil 6.5.17. *Kaudal* omurilik gri cevher GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. (A) *Kaudal* omurilik (gri cevher) total (*dorsal+lateral+ventral fönikülüs*) GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. (B) *Kaudal* omurilik (gri cevher) *dorsal fönikülüs* GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. (C) *Kaudal* omurilik (gri cevher) *lateral fönikülüs* GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi (D) *Kaudal* omurilik (gri cevher) *ventral fönikülüs* GFAP (+) hücrelerin değerlendirilmesi. *İpsilateral* *kontralaterale* göre değerlendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

*Kaudal omuriliğin total (dorsal+lateral+ventral f nik l sler) bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg ve 2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak GFAP (+) hücre sayısında azalma g r lm şt r. 0.2 mmol/kg grubuna kıyasla 2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde GFAP (+) hücre sayısında azalma g r lm şt r. *p<0.05, **p<0.01 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. ##p<0.01 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir ( ekil 6.5.15.A.).*

Kaudal omuriliğin dorsal f nik l s bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre kontrol grubuna kıyasla 2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak GFAP (+) hücre sayısında azalma g r lm şt r. 0.2 mmol/kg grubuna kıyasla 2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde GFAP (+) hücre sayısında azalma g r lm şt r. #p<0.05 2 mmol/kg lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir ( ekil 6.5.15.B.).

*Kaudal omuriliğin lateral f nik l s bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg ve 2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde GFAP (+) hücre sayısında azalma g r lm şt r. *p<0.05, **p<0.01 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir ( ekil 6.5.15.C.).*

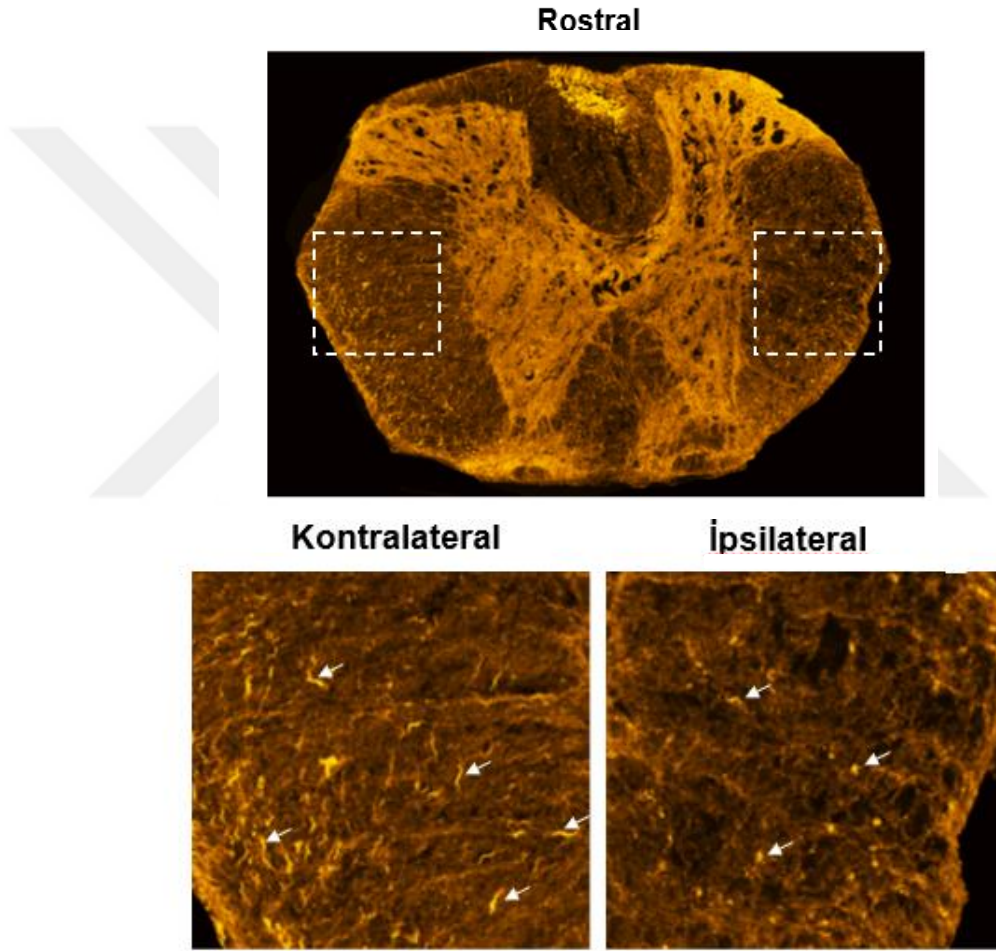
*Kaudal omuriliğin ventral f nik l s bölgesindeki GFAP (+) hücre sayısı değerlendirilmesine göre kontrol grubuna kıyasla 2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde GFAP (+) hücre sayısında azalma g r lm şt r. *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir ( ekil 6.5.15.D.).*

6.6. Omurilik Hasarı Sonrası Aksonal Rejenerasyonun Değerlendirilmesi

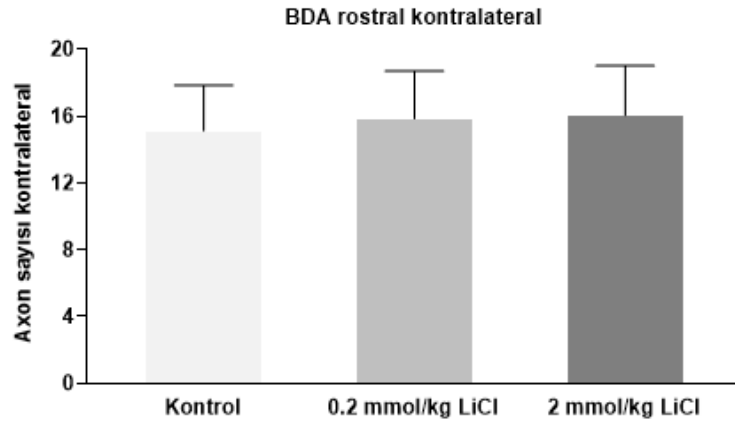
Omurilik hasarı sonrası BDA traser enjeksiyonu L2 omurilik bölgesine aksonal plastisitenin değerlendirilmesi adına yapılmıştır. BDA (+) hücreler sayılarak lityumun hasar sonrası aksonal rejenerasyona etkisi değerlendirilmiştir. Hasar sonrası lokomotor aktiviteden sorumlu yolların izlenmesi adına BDA traser kullanılmıştır.

Lityum tedavisinin *rostral* ve *kaudal* omurilikte *kontralateral* bölgenin gruplar arasında anlamlı bir farklılık oluşturmadığı görülmüştür. Lityum tedavisi sonrası *kontralateral* bölgeye kıyasla *ipsilateral* bölgede istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde akson sayısı artmıştır.

Elde ettiğimiz bulgular neticesinde, Bu sonuçlar, lityum tedavisinin, ileşimsel kopukluğa sahip aksonal bağlantıları *ipsilateral* bölgede rejeenere edici etki gösterdiği görülmüştür.

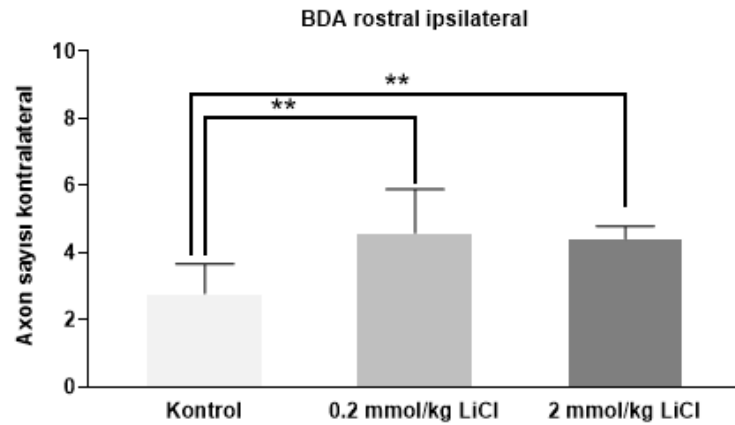


Şekil 6.6.1. BDA (+) hücrelerin, aksonların koronal *rostral* omurilik kesiti *kontralateral* ve *ipsilateral* görüntüsü. BDA boyaması ile aksonal rejenerasyonun değerlendirilmesi.



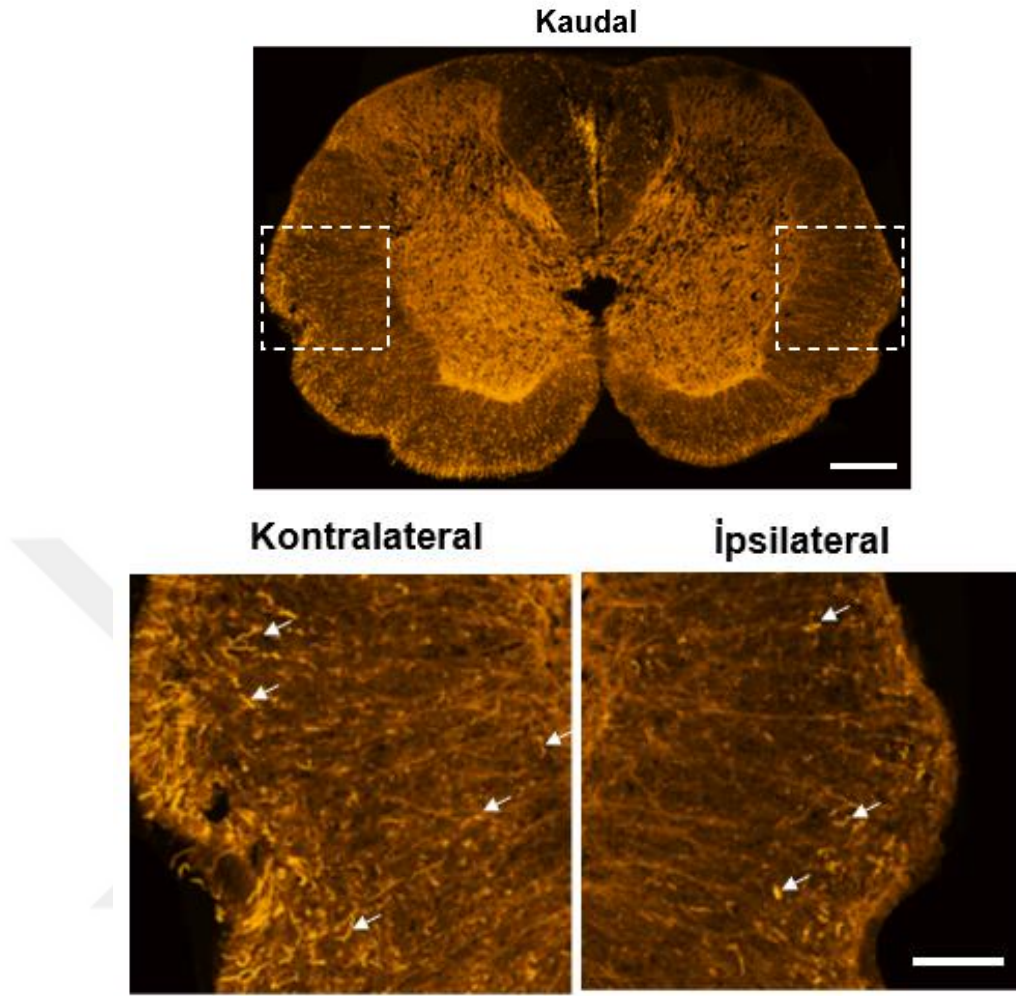
Şekil 6.6.2. *Rostral* omurilik *kontralateral* bölgede BDA (+) hücrelerin, aksonal plastisitenin değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemektedir (Şekil 6.6.2.).

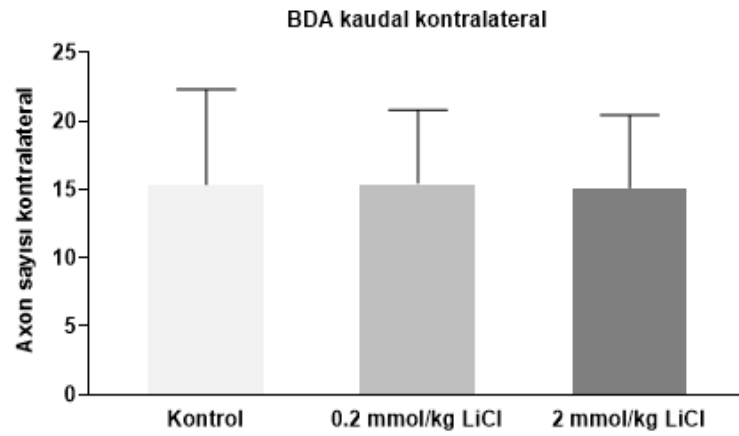


Şekil 6.6.3. *Rostral* omurilik *ipsilateral* bölgede BDA (+) hücrelerin, aksonal plastisitenin değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

* $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. Kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg ve 2 mmol/kg lityum gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde akson sayısında artma görülmüştür (Şekil 6.6.3.).

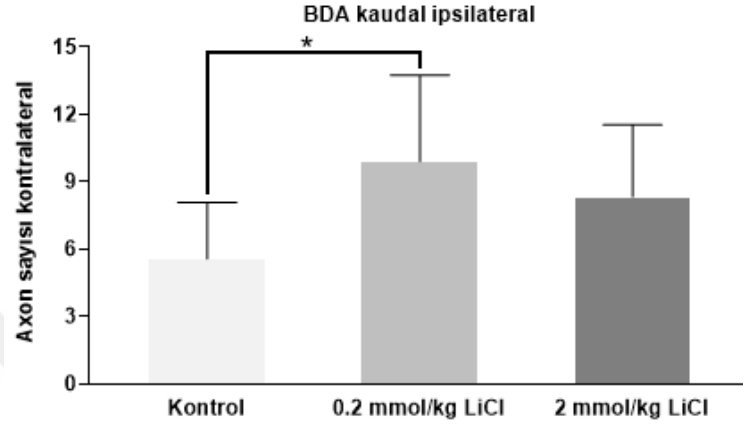


Şekil 6.6.4. BDA (+) hücrelerin, aksonların koronal *kaudal* omurilik kesiti *kontralateral* ve *ipsilateral* görüntüsü. BDA boyaması ile aksonal rejenerasyonun değerlendirilmesi.



Şekil 6.6.5. *Kaudal omurilik kontralateral* bölgede BDA (+) hücrelerin, aksonal plastisitenin değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemektedir (Şekil 6.6.5.).



Şekil 6.6.6. *Kaudal omurilik ipsilateral* bölgede BDA (+) hücrelerin, aksonal plastisitenin değerlendirilmesi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

* $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. Kontrol grubuna kıyasla 0.2 mmol/kg lityum grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde akson sayısında artma görülmüştür (Şekil 6.6.6.).

7. TARTIŞMA

Duygu durum bozukluklarının tedavisinde kullanımına ek olarak (100), lityumun çeşitli patofizyolojik durumlarda ve nörodejeneratif hastalıklarda terapötik etkileri olduğu (87, 101-105) ve uzun süreli iyileşme döneminde nörojenez, anjiyogenez ve aksonal plastisiteyi indüklediği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (93, 106). Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, lityumun orta serebral arter tıkanıklığından sonra nöroprotektif etkileri olduğunu (107), nöronları soğuktan kaynaklanan travmatik beyin hasarından koruduğunu (108), yaralanma hacmini ve nöronal dejenerasyonu azalttığını (109), hipoksi-iskemi sonrası apoptozu ve otofajiyi düzenlediğini (110) ve daha da önemlisi uzun süreli tedavilerde daha yüksek terapötik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (111).

Omurilik hasarı motor ve duyu yollarında kalıcı hasara neden olmaktadır (112, 113) ve ayrıca omurilik hasarı'nın akut ve kronik fazları ikincil yaralanmalar için kritik öneme sahiptir (74). Lityum, nörojenezi arttırmakta, apoptozu inhibe etmekte ve akut faz omurilik hasarından sonra inflamasyonu azaltmaktadır; tüm bunlar nöroproteksiyona neden olmaktadır (8, 105, 114). Ayrıca, önceki çalışmalar lokomotor iyileşmesinin omurilik hasarından 3 gün sonra başladığını ve 14. güne kadar devam ettiğini göstermiştir (111, 115). Bununla birlikte, kronik omurilik hasarı sonrası lityum tedavisinin etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarla, omurilik hasarı sonrası optimum lityum dozunun uzun vadeli etkisini araştırmayı ve fonksiyonel ve lokomotor iyileşme, nöronal sağkalım ve aksonal rejenerasyondaki rolünü belirlemeyi amaçlamıştır.

Lityum, serum konsantrasyonlarında hafif bir artışla bile ciddi yan etkilere neden olan dar bir terapötik indekse sahiptir (116). Daha önceki bir çalışmada, 5.0 mEq/kg dozundaki lityum, travmatik beyin hasarından sonra lezyon bölgesinde terapötik aktiviteye sahip olmadığı görülmüş ve daha yüksek dozda lityumun toksik etkilere neden olduğu saptanmıştır (101). Bu nedenle, lityumun terapötik dozları iyi tanımlanmalıdır. Daha önce bildirilen bulgulara ve serum lityum konsantrasyonu ölçümlerimize dayanarak bu çalışmada, olumsuz etkilerden kaçınmak için 2 mmol/kg lityumun terapötik etkileri ve daha düşük doz olan 0.2 mmol/kg araştırılmıştır.

Torasik omurilik hasarından sonra *retikülospinal* ve *vestibüler* yollar ile kontrol edilen *postural* kontrol, koordinasyonun yanı sıra ağırlık destekli plantar adımlama ve arka ekstremitte koordinasyonunu (95) içeren fonksiyonel iyileşmeyi değerlendirmek için BMS testi yapıldı (117-119). Yaralanmadan 1 gün sonra BMS'deki hızlı düşüş, cerrahi prosedürün optimize edildiğini göstermektedir. Daha sonra lityum tedavisine göre BMS skorlarının düzeldiği gözlenmiştir. 0.2 mmol/kg dozunda uygulanan lityumun, omurilik hasarından sonra plantar adımlamayı ve motor koordinasyonu iyileştirdiği saptanmıştır. Bulgularımız, lityumun omurilik hasarı sonrası lokomotor iyileşmesi üzerindeki etkisini değerlendirmek için Basso, Beattie ve Bresnahan (BBB) testinin kullanıldığı, bugüne kadar mevcut olan bilgilere katkıda bulunmaktadır (5, 120). BBB testinin sınırlamaları nedeniyle, daha kapsamlı bir gözlem elde etmek için BMS testi yapıldı ve omurilik hasarı sonrası uzun süreli lityum uygulamasının terapötik bir etkisinin olduğu tespit edildi. Bulgularımız, lityumun yaralanmadan 42 gün sonra, adım atmayı iyileştirdiğini (121) ve genel motor fonksiyonunu artırdığını gösteren önceki çalışmalarla tutarlıdır (16).

Doğru yürüme, koordineli ekstremitte kullanımı ve ekstremitelerle kavramayı değerlendirmek için, lityum tedavisinden sonra yaralanma sonrası arka ekstremitte adımlarının nicel ve nitel değerlendirmesine izin veren yatay bir merdiven basamak yürüme testi gerçekleştirildi (96). Çalışmamızda, grupların hiçbiri yaralanmadan 3 gün sonrasına kadar adım atmayı düzeltmedi, bu da omurilik hasarının uygun şekilde yapıldığını göstermektedir. Lityum tedavisinin, 3. günden itibaren kademeli olarak doğru adım atmayı iyileştirdiği gözlenmiştir. İlginç bir şekilde, 0.2 mmol/kg konsantrasyonda lityum uygulandığında, arka bacak motor fonksiyonu, dolayısıyla ayak yerleşimi, yaralanmadan 42 gün sonra önemli ölçüde iyileşmiştir. Önceki bulgular, lityumun motor koordinasyon üzerindeki etkinliğini göstermiştir (121), ancak bu çalışmalar, ayak yerleşimi ile değerlendirilen özgünlük ve kesinlikten yoksundur. Ayrıca bu çalışmada, geniş ölçüde hareket ile bağlantılı olan ve klinik sonuçlar sağlayan bir açık alan testi gerçekleştirilmiştir (122, 123) ve alınan toplam mesafe, hareket süresi, hareket hızı ve hareketin yönü gibi parametreler aracılığıyla lityumun omurilik hasarı sonrası lokomotor fonksiyon üzerindeki rolü değerlendirilmiştir. Hemiplejik farelerin artan fonksiyonelliği uzun süreli 0.2 mmol/kg lityum tedavisinin omurilik yaralanmasını takiben motor koordinasyon ve lokomotor

iyileşme için alternatif olarak kullanılabilecek etkili bir doz olduğunu gösterirken, supratherapötik lityum dozları etkisiz kalmıştır.

Lityum, 0.2 mmol/kg dozda uygulandığında, kas kasılma gecikmesini önemli ölçüde azaltmış ve amplitüdü arttırdığı elektromiyografi ile tespit edilmiştir. Kapsamlı kinematik analiz sağlayan EMG kayıtları, yaralanma sonrası iyileşme sürecini değerlendirmek için kullanılmıştır (124). Sinir iletiminin hızını yöneten miyelinleşme, hızlı sinyal yayılımına neden olmaktadır. Demiyelinizasyon durumunda iletim hızı düşmektedir (125). Elde edilen sonuçlar, 2 mmol/kg lityum tedavisinden sonra kas kasılmasının az oranda düzeldiğini, ancak lityum dozu 0.2 mmol/kg'a düşürüldüğünde ise daha önemli bir etki gözlemlenmiştir. Lityumun, yaralanma sonrası uyarımın ardından hasarlı bacadaki kas kasılmasının gecikme süresini azalttığı, böylece sinyalleşmeyi iyileştirdiği gözlemlenmiştir. Bu bulgular, lityumun omurilik hasarından sonra lokomotor fonksiyonunu iyileştirdiğini gösterdiğimiz davranış analiziyle uyumludur.

Sıçan modellerinde omurilik hasarına odaklanan önceki çalışmalar, lezyon hacmindeki azalmanın ve beyaz cevher hasara karşı koruyucu etkisi artmıştır. Locomotor testleriyle, davranışsal fonksiyonları iyileştirdiğini görülmüştür (126, 127). Lityum, yaralanma sonrası hareket ve motor koordinasyonu iyileştirdiğinden, bu çalışmada omurilik hasarı sonrası doku hasarı ve nöronal hayatta kalmadaki rolüne odaklanılmıştır. Düşük doz lityum tedavisinin atrofiyi azalttığı ve çoğunlukla *kaudal* seviyede rezidüel nöron sayısını arttırdığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, motor nöron sayısı *kaudal* seviyede arttı ve gri cevherin *kaudal segmentinde* glial hücreler yüksek oranda gözlenmiştir. Bulgularımız Fan ve ark. tarafından bildirilen; lityum tedavisinin lezyon alanını azalttığı (107), başka bir fare serebral iskemi-reperfüzyon modelinde ise, nöronal sağkalımı desteklediği ve terapötik dozda uygulandığında serebral iskemi sonrasında nöro-korumaya neden olduğunu gösteren çalışmaların sonuçlarıyla tutarlıdır (99). Ek olarak, önceki bir çalışmada, lityumun 7 gün boyunca uygulanma sonucunda omurilik hasarı üzerinde nöroprotektif etkileri olduğunu göstermiştir (111).

Lateral hemiseksiyon yapılan omurilik hasarı modelimiz, beyin ve omurilik arasındaki yolları bozmayı amaçlamaktadır. Bu yollar, yani *kortikospinal* yol (CST), *rubrospinal* yol (RST), *retikülospinal* yollar (90) ve *vestibulospinal* yollar (VST) motor kontrolünü düzenlemektedir (119). *Lateral hemiseksiyonu* değerlendirmek ve omurilik hasarından sonra motor aktiviteyi koordine eden yolların lityum aracılı rejenerasyonunun olup olmadığını belirlemek amacıyla aksonal plastisite değerlendirilmiştir. Bulgularımız, lityum tedavisinin ipsilateral omurilik *rostral* ve *kaudal segmentlerinde* aksonal rejenerasyonu desteklediğini göstermiştir. Lityum tedavisinden sonra, aksonal plastisite *ventral*, *dorsal* ve *lateral* fönikülüslerde önemli ölçüde artmıştır. RST'nin hareket ve yer değiştirebilme özelliğinde kritik bir rol oynadığı bilinmektedir, *Retikülospinal* yolak (ReST) postüral kontrolü ve hareketle ilgili eylemleri modüle etmektedir (118, 119). Bu bilgiler neticesinde lityum tedavisi sonrası RST ve ReST'de gözlenen yüksek aksonal rejenerasyon, davranış testleriyle tespit edilen lokomotor iyileşme, postüral kontrol ve motor koordinasyonun iyileşmesine neden olmuştur. Ayrıca VST, aksonal rejenerasyondaki önemli bir artışın olduğu, gelişmiş denge ve vücut farkındalığını gösteren *ventral fönikülüst*an geçen bir yolaktır (118). Benzer şekilde, *rostral segmentin dorsal fönikülü*su CST'yi içermektedir. Lityumun *intraspin*al nöron liflerinin rejenerasyonu üzerindeki etkisi lokomotor aktivite ve EMG kaydı sonuçlarına göre birbirini destekleyici sonuçlar göstermektedir. Toplu olarak, omurilik hasarından sonra uzun süreli lityum tedavisi, omurilik *segmentlerinde* aksonal rejenerasyonu arttırmıştır, bu da hareket kabiliyetini, fonksiyonel iyileşmeyi, kasın sinirsel yanıtını ve kontraksiyonu artırmıştır.

8. SONUÇ

Sonuç olarak, bu çalışma, intraperitoneal lityum uygulamasının uzun süreli omurilik hasarından sonra terapötik etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen veriler düşük doz lityum tedavisinin hızlı kas kasılmasıyla birlikte; *plantar* adım ve koordinasyonu, koordineli ekstremiteler kullanımı, doğru adımlamayı ve lokomotor aktiviteyi iyileştirdiğini göstermektedir. Ek olarak, lityum omurilik hasarı sonrası doku hasarını azaltarak, rezidüel ve motor nöronları korumuş ve glial hücre sayısını artırmıştır. Omurilik hasarı sonrası kronik dönemde rejenerasyon artırılması adına lityum tedavisinin etkili terapötik bir ajan olabileceği düşünülmektedir.



9. KAYNAKLAR

1. Zhang, S, Fujita, Y, Matsuzaki, R, and Yamashita, T. Class I histone deacetylase (HDAC) inhibitor CI-994 promotes functional recovery following spinal cord injury. *Cell Death & Disease* **9**, 1-14. (2018).
2. Carelli, S, Giallongo, T, Rey, F, Colli, M, Tosi, D, Bulfamante, G, et al. Neuroprotection, recovery of function and endogenous neurogenesis in traumatic spinal cord injury following transplantation of activated adipose tissue. *Cells* **8**, 329. (2019).
3. Volarevic, V, Erceg, S, Bhattacharya, SS, Stojkovic, P, Horner, P, and Stojkovic, M. Stem cell-based therapy for spinal cord injury. *Cell transplantation* **22**, 1309-1323. (2013).
4. Boyce, VS, and Mendell, LM. Neurotrophic factors in spinal cord injury. *Neurotrophic factors*, 443-460. (2014).
5. Zhang, D, Wang, F, Zhai, X, Li, X-H, and He, X-J. Lithium promotes recovery of neurological function after spinal cord injury by inducing autophagy. *Neural regeneration research* **13**, 2191. (2018).
6. Elizei, SS, and Kwon, BK. The translational importance of establishing biomarkers of human spinal cord injury. *Neural Regeneration Research* **12**, 385. (2017).
7. Nori, S, Ahuja, CS, and Fehlings, MG. Translational advances in the management of acute spinal cord injury: what is new? What is hot? *Neurosurgery* **64**, 119-128. (2017).
8. Young, W. Review of lithium effects on brain and blood. *Cell transplantation* **18**, 951-975. (2009).
9. Chi-Tso, C, and Chuang, D-M. Neuroprotective action of lithium in disorders of the central nervous system. *Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Central South University. Medical sciences* **36**, 461. (2011).
10. Huo, K, Sun, Y, Li, H, Du, X, Wang, X, Karlsson, N, et al. Lithium reduced neural progenitor apoptosis in the hippocampus and ameliorated functional deficits after irradiation to the immature mouse brain. *Molecular and Cellular Neuroscience* **51**, 32-42. (2012).

11. Li, G, Jia, Z, Cao, Y, Wang, Y, Li, H, Zhang, Z, et al. Mitochondrial division inhibitor 1 ameliorates mitochondrial injury, apoptosis, and motor dysfunction after acute spinal cord injury in rats. *Neurochemical research* **40**, 1379-1392. (2015).
12. Nonaka, S, and Chuang, D-M. Neuroprotective effects of chronic lithium on focal cerebral ischemia in rats. *Neuroreport* **9**, 2081-2084. (1998).
13. De Ferrari, G, Chacon, M, Barria, M, Garrido, J, Godoy, J, Olivares, G, et al. Activation of Wnt signaling rescues neurodegeneration and behavioral impairments induced by β -amyloid fibrils. *Molecular psychiatry* **8**, 195-208. (2003).
14. Dwivedi, T, and Zhang, H. Lithium-induced neuroprotection is associated with epigenetic modification of specific BDNF gene promoter and altered expression of apoptotic-regulatory proteins. *Frontiers in neuroscience* **8**, 457. (2015).
15. Payandemehr, B, Bahremand, A, Ebrahimi, A, Nasrabad, SE, Rahimian, R, Bahremand, T, et al. Protective effects of lithium chloride on seizure susceptibility: Involvement of α 2-adrenoceptor. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **133**, 37-42. (2015).
16. Abdanipour, A, Moradi, F, Fakheri, F, Ghorbanlou, M, and Nejatbakhsh, R. The effect of lithium chloride on BDNF, NT3, and their receptor mRNA levels in the spinal contusion rat models. *Neurological Research* **41**, 577-583. (2019).
17. Jurkiewicz, M, Crawley, A, Verrier, M, Fehlings, M, and Mikulis, D. Somatosensory cortical atrophy after spinal cord injury: a voxel-based morphometry study. *Neurology* **66**, 762-764. (2006).
18. Bican, O, Minagar, A, and Pruitt, AA. The spinal cord: a review of functional neuroanatomy. *Neurologic clinics* **31**, 1-18. (2013).
19. Bezov, D, Lipton, RB, and Ashina, S. Post-dural puncture headache: part I diagnosis, epidemiology, etiology, and pathophysiology. *Headache: The Journal of Head and Face Pain* **50**, 1144-1152. (2010).
20. neurosurgery.directory. Dorsal root ganglion.
21. Lemon, RN. Descending pathways in motor control. *Annu. Rev. Neurosci.* **31**, 195-218. (2008).

22. Mancall, EL, and Brock, DG. *Gray's clinical neuroanatomy*, Elsevier Health Sciences(2011).
23. Petit-Lacour, M, Lasjaunias, P, Iffenecker, C, Benoudiba, F, Hadj Rabia, M, Hurth, M, et al. Visibility of the central canal on MRI. *Neuroradiology* **42**, 756-761. (2000).
24. Naidich, TP, Delman, BN, Tang, CY, Fowkes, ME, Fatterpekar, GM, Rios, JC, et al. The normal spinal cord and meninges. *Imaging of the Spine: Expert Radiology Series, Expert Consult-Online and Print*, 109. (2010).
25. Solsberg, M, Lemaire, C, Resch, L, and Potts, D. High-resolution MR imaging of the cadaveric human spinal cord: normal anatomy. *American journal of neuroradiology* **11**, 3-7. (1990).
26. Kunam, VK, Velayudhan, V, Chaudhry, ZA, Bobinski, M, Smoker, WR, and Reede, DL. Incomplete cord syndromes: clinical and imaging review. *Radiographics* **38**, 1201-1222. (2018).
27. sphweb.bumc.bu.edu/otit/mph-modules/ph/polio/12.png. spinal cord transverse section.
28. Kirshblum, SC, Burns, SP, Biering-Sorensen, F, Donovan, W, Graves, DE, Jha, A, et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury (revised 2011). *The journal of spinal cord medicine* **34**, 535-546. (2011).
29. Waters, R, Adkins, R, and Yakura, J. Definition of complete spinal cord injury. *Spinal Cord* **29**, 573-581. (1991).
30. Blumenfeld, H. *Neuroanatomy through clinical cases*, Sinauer Associates Sunderland(2010).
31. Stanfield, B. The development of the corticospinal projection. *Progress in neurobiology* **38**, 169-202. (1992).
32. Whishaw, IQ, Gorny, B, and Sarna, J. Paw and limb use in skilled and spontaneous reaching after pyramidal tract, red nucleus and combined lesions in the rat: behavioral and anatomical dissociations. *Behavioural brain research* **93**, 167-183. (1998).

33. Bregman, BS, Kunkel-Bagden, E, Schnell, L, Dai, HN, Gao, D, and Schwab, ME. Recovery from spinal cord injury mediated by antibodies to neurite growth inhibitors. *Nature* **378**, 498-501. (1995).
34. Starkey, M, HAMERS, F, Doherty, P, McMahon, S, and Bradbury, E. Assessing behavioural function following unilateral lesion of the corticospinal tract in adult mice. In *Soc. Neurosci. Abstr* Vol. 43(2004).
35. Nadgir, R, and Yousem, D. Anatomy and degenerative diseases of the spine. In *R Nadgir: Neuroradiology: the requisites* pp. 559-604, Elsevier(2017).
36. Kennedy, PR. Corticospinal, rubrospinal and rubro-olivary projections: a unifying hypothesis. *Trends in neurosciences* **13**, 474-479. (1990).
37. Muir, GD, and Whishaw, IQ. Red nucleus lesions impair overground locomotion in rats: a kinetic analysis. *European Journal of Neuroscience* **12**, 1113-1122. (2000).
38. Muir, GD, and Whishaw, IQ. Complete locomotor recovery following corticospinal tract lesions: measurement of ground reaction forces during overground locomotion in rats. *Behavioural brain research* **103**, 45-53. (1999).
39. Schucht, P, Raineteau, O, Schwab, M, and Fouad, K. Anatomical correlates of locomotor recovery following dorsal and ventral lesions of the rat spinal cord. *Experimental neurology* **176**, 143-153. (2002).
40. Watanabe, S, Kitamura, T, Watanabe, L, Sato, H, and Yamada, J. Projections from the nucleus reticularis magnocellularis to the rat cervical cord using electrical stimulation and iontophoretic injection methods. *Anatomical science international* **78**, 42-52. (2003).
41. Clarac, F, Vinay, L, Cazalets, J-R, Fady, J-C, and Jamon, M. Role of gravity in the development of posture and locomotion in the neonatal rat. *Brain Research Reviews* **28**, 35-43. (1998).
42. Khorasanizadeh, M, Yousefifard, M, Eskian, M, Lu, Y, Chalangari, M, Harrop, JS, et al. Neurological recovery following traumatic spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Neurosurgery: Spine* **30**, 683-699. (2019).

43. Dumont, RJ, Verma, S, Okonkwo, DO, Hurlbert, RJ, Boulos, PT, Ellegala, DB, et al. Acute spinal cord injury, part II: contemporary pharmacotherapy. *Clinical neuropharmacology* **24**, 265-279. (2001).
44. Joosten, EA. Corticospinal tract regrowth. *Progress in neurobiology* **53**, 1-25. (1997).
45. Katoh, H, Yokota, K, and Fehlings, MG. Regeneration of spinal cord connectivity through stem cell transplantation and biomaterial scaffolds. *Frontiers in cellular neuroscience* **13**, 248. (2019).
46. Htwe, O, Hussain, RI, and Naicker, AS. Challenges in Managing Severe Lower Limb Spasticity Associated with Bilateral Hip Joints Subluxation. *Eur. J. Gen. Med* **13**, 165-167. (2016).
47. Ohnmar, H, Das, S, and Naicker, AS. An interesting case of Autonomic Dysreflexia. *Clinica Terapeutica* **160**, 371. (2009).
48. Couillard-Despres, S, Bieler, L, and Vogl, M. Pathophysiology of traumatic spinal cord injury. *Neurological aspects of spinal cord injury*, 503-528. (2017).
49. Anjum, A, Yazid, MDi, Fauzi Daud, M, Idris, J, Ng, AMH, Selvi Naicker, A, et al. Spinal cord injury: pathophysiology, multimolecular interactions, and underlying recovery mechanisms. *International journal of molecular sciences* **21**, 7533. (2020).
50. Yip, PK, and Malaspina, A. Spinal cord trauma and the molecular point of no return. *Molecular neurodegeneration* **7**, 1-10. (2012).
51. Norenberg, MD, Smith, J, and Marcillo, A. The pathology of human spinal cord injury: defining the problems. *Journal of neurotrauma* **21**, 429-440. (2004).
52. Ahuja, CS, Nori, S, Tetreault, L, Wilson, J, Kwon, B, Harrop, J, et al. Traumatic spinal cord injury—repair and regeneration. *Neurosurgery* **80**, S9-S22. (2017).
53. Zhang, Y, Al Mamun, A, Yuan, Y, Lu, Q, Xiong, J, Yang, S, et al. Acute spinal cord injury: Pathophysiology and pharmacological intervention. *Molecular medicine reports* **23**, 1-18. (2021).

54. Agrawal, S, Nashmi, R, and Fehlings, M. Role of L-and N-type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience* **99**, 179-188. (2000).
55. Yamazaki, K, Kawabori, M, Seki, T, and Houkin, K. Clinical trials of stem cell treatment for spinal cord injury. *International Journal of Molecular Sciences* **21**, 3994. (2020).
56. Furlan, JC, and Fehlings, MG. Cardiovascular complications after acute spinal cord injury: pathophysiology, diagnosis, and management. *Neurosurgical focus* **25**, E13. (2008).
57. Hayta, E, and Elden, H. Acute spinal cord injury: A review of pathophysiology and potential of non-steroidal anti-inflammatory drugs for pharmacological intervention. *Journal of Chemical Neuroanatomy* **87**, 25-31. (2018).
58. Segal, JL. Immunoactivation and altered intercellular communication mediate the pathophysiology of spinal cord injury. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* **25**, 145-156. (2005).
59. Wang, X, Cao, K, Sun, X, Chen, Y, Duan, Z, Sun, L, et al. Macrophages in spinal cord injury: phenotypic and functional change from exposure to myelin debris. *Glia* **63**, 635-651. (2015).
60. Sharma, HS. Early microvascular reactions and blood–spinal cord barrier disruption are instrumental in pathophysiology of spinal cord injury and repair: novel therapeutic strategies including nanowired drug delivery to enhance neuroprotection. *Journal of neural transmission* **118**, 155-176. (2011).
61. Vanzulli, I, and Butt, AM. mGluR5 protect astrocytes from ischemic damage in postnatal CNS white matter. *Cell Calcium* **58**, 423-430. (2015).
62. O’Shea, TM, Burda, JE, and Sofroniew, MV. Cell biology of spinal cord injury and repair. *The Journal of clinical investigation* **127**, 3259-3270. (2017).
63. Visavadiya, NP, Patel, SP, VanRooyen, JL, Sullivan, PG, and Rabchevsky, AG. Cellular and subcellular oxidative stress parameters following severe spinal cord injury. *Redox biology* **8**, 59-67. (2016).
64. Sullivan, PG, Krishnamurthy, S, Patel, SP, Pandya, JD, and Rabchevsky, AG. Temporal characterization of mitochondrial bioenergetics after spinal cord injury. *Journal of neurotrauma* **24**, 991-999. (2007).

65. Rabchevsky, AG, Michael, FM, and Patel, SP. Mitochondria focused neurotherapeutics for spinal cord injury. *Experimental neurology* **330**, 113332. (2020).
66. Hu, R, Zhou, J, Luo, C, Lin, J, Wang, X, Li, X, et al. Glial scar and neuroregeneration: histological, functional, and magnetic resonance imaging analysis in chronic spinal cord injury. *Journal of Neurosurgery: Spine* **13**, 169-180. (2010).
67. Johnson, RT, Joy, JE, Altevogt, BM, and Liverman, CT. *Spinal cord injury: progress, promise, and priorities*, National Academies Press(2005).
68. Liu, XZ, Xu, XM, Hu, R, Du, C, Zhang, SX, McDonald, JW, et al. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *Journal of Neuroscience* **17**, 5395-5406. (1997).
69. Beattie, MS, Farooqui, AA, and BRESNAHAN, JC. Review of current evidence for apoptosis after spinal cord injury. *Journal of neurotrauma* **17**, 915-925. (2000).
70. Ray, SK, Hogan, EL, and Banik, NL. Calpain in the pathophysiology of spinal cord injury: neuroprotection with calpain inhibitors. *Brain research reviews* **42**, 169-185. (2003).
71. Guest, J, Hiester, E, and Bunge, R. Demyelination and Schwann cell responses adjacent to injury epicenter cavities following chronic human spinal cord injury. *Experimental neurology* **192**, 384-393. (2005).
72. McTigue, DM. Potential therapeutic targets for PPARgamma after spinal cord injury. *PPAR Res* **517162**(2008).
73. Hall, ED, and Traystman, RJ. Role of animal studies in the design of clinical trials. *Frontiers of Neurology and Neuroscience* **25**, 10. (2009).
74. Oyibo, CA. Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* **71**, 281-299. (2011).
75. Limanaqi, F, Biagioni, F, Ryskalin, L, Busceti, CL, and Fornai, F. Molecular mechanisms linking ALS/FTD and psychiatric disorders, the potential effects of lithium. *Frontiers in cellular neuroscience* **13**, 450. (2019).

76. Tondo, L, Alda, M, Bauer, M, Bergink, V, Grof, P, Hajek, T, et al. Clinical use of lithium salts: guide for users and prescribers. *International journal of bipolar disorders* **7**, 1-10. (2019).
77. Wilson, E, Do Carmo, S, Iulita, M, Hall, H, Ducatenzeiler, A, Marks, A, et al. BACE1 inhibition by microdose lithium formulation NP03 rescues memory loss and early stage amyloid neuropathology. *Translational psychiatry* **7**, e1190-e1190. (2017).
78. Ryskalin, L, Limanaqi, F, Frati, A, Busceti, CL, and Fornai, F. mTOR-related brain dysfunctions in neuropsychiatric disorders. *International journal of molecular sciences* **19**, 2226. (2018).
79. Nonaka, S, Hough, CJ, and Chuang, D-M. Chronic lithium treatment robustly protects neurons in the central nervous system against excitotoxicity by inhibiting N-methyl-D-aspartate receptor-mediated calcium influx. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **95**, 2642-2647. (1998).
80. Du, J, Gray, NA, Falke, CA, Chen, W, Yuan, P, Szabo, ST, et al. Modulation of synaptic plasticity by antimanic agents: the role of AMPA glutamate receptor subunit 1 synaptic expression. *Journal of Neuroscience* **24**, 6578-6589. (2004).
81. Hashimoto, R, Hough, C, Nakazawa, T, Yamamoto, T, and Chuang, DM. Lithium protection against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons: involvement of NMDA receptor inhibition possibly by decreasing NR2B tyrosine phosphorylation. *Journal of neurochemistry* **80**, 589-597. (2002).
82. Puglisi-Allegra, S, Ruggieri, S, and Fornai, F. Translational evidence for lithium-induced brain plasticity and neuroprotection in the treatment of neuropsychiatric disorders. *Translational Psychiatry* **11**, 1-10. (2021).
83. Chuang, D-M. Neuroprotective and neurotrophic actions of the mood stabilizer lithium: can it be used to treat neurodegenerative diseases? *Critical Reviews™ in Neurobiology* **16**(2004).
84. Chuang, DM, Chen, RW, Chalecka-Franaszek, E, Ren, M, Hashimoto, R, Senatorov, V, et al. Neuroprotective effects of lithium in cultured cells and animal models of diseases. *Bipolar disorders* **4**, 129-136. (2002).

85. Komoroski, RA, and Pearce, JM. Estimating intracellular lithium in brain in vivo by localized ⁷Li magnetic resonance spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine* **60**, 21-26. (2008).
86. Szklarska, D, and Rzymski, P. Is lithium a micronutrient? From biological activity and epidemiological observation to food fortification. *Biological trace element research* **189**, 18-27. (2019).
87. Vosahlikova, M, and Svoboda, P. Lithium–therapeutic tool endowed with multiple beneficiary effects caused by multiple mechanisms. *Acta Neurobiol Exp* **76**, 1-19. (2016).
88. Rybakowski, JK, and Lehmann, W. Decreased activity of erythrocyte membrane ATPases in depression and schizophrenia. *Neuropsychobiology* **30**, 11-14. (1994).
89. Schifitto, G, Zhong, J, Gill, D, Peterson, DR, Gaugh, MD, Zhu, T, et al. Lithium therapy for human immunodeficiency virus type 1-associated neurocognitive impairment. *Journal of neurovirology* **15**, 176-186. (2009).
90. Giotakos, O, Tsouvelas, G, Nisianakis, P, Giakalou, V, Lavdas, A, Tsiamitas, C, et al. A negative association between lithium in drinking water and the incidences of homicides, in Greece. *Biological trace element research* **164**, 165-168. (2015).
91. Goldstein, MR, and Mascitelli, L. Is violence in part a lithium deficiency state? *Medical hypotheses* **89**, 40-42. (2016).
92. Senatorov, V, Ren, M, Kanai, H, Wei, H, and Chuang, D. Short-term lithium treatment promotes neuronal survival and proliferation in rat striatum infused with quinolinic acid, an excitotoxic model of Huntington's disease. *Molecular psychiatry* **9**, 371-385. (2004).
93. Doeppner, TR, Kaltwasser, B, Sanchez-Mendoza, EH, Caglayan, AB, Baehr, M, and Hermann, DM. Lithium-induced neuroprotection in stroke involves increased miR-124 expression, reduced RE1-silencing transcription factor abundance and decreased protein deubiquitination by GSK3 β inhibition-independent pathways. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* **37**, 914-926. (2017).

94. Basso, D, Beattie, M, and Bresnahan, J. A new sensitive locomotor rating scale for locomotor recovery after spinal cord contusion injuries in rats. *J. Neurotrauma* **12**, 1-21. (1995).
95. Basso, DM, Fisher, LC, Anderson, AJ, Jakeman, LB, Mctigue, DM, and Popovich, PG. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains. *Journal of neurotrauma* **23**, 635-659. (2006).
96. Farr, TD, Liu, L, Colwell, KL, Whishaw, IQ, and Metz, GA. Bilateral alteration in stepping pattern after unilateral motor cortex injury: a new test strategy for analysis of skilled limb movements in neurological mouse models. *Journal of neuroscience methods* **153**, 104-113. (2006).
97. Kilic, E, Reitmeir, R, Kilic, Ü, Caglayan, AB, Beker, MC, Kelestemur, T, et al. HMG-CoA reductase inhibition promotes neurological recovery, perilesional tissue remodeling, and contralesional pyramidal tract plasticity after focal cerebral ischemia. *Frontiers in cellular neuroscience* **8**, 422. (2014).
98. Kelestemur, T, Beker, MC, Caglayan, AB, Caglayan, B, Altunay, S, Kutlu, S, et al. Normobaric oxygen treatment improves neuronal survival functional recovery and axonal plasticity after newborn hypoxia-ischemia. *Behavioural Brain Research* **379**, 112338. (2020).
99. Ates, N, Caglayan, A, Balcikanli, Z, Sertel, E, Beker, MC, Dilsiz, P, et al. Phosphorylation of PI3K/Akt at Thr308, but not phosphorylation of MAPK kinase, mediates lithium-induced neuroprotection against cerebral ischemia in mice. *Experimental Neurology* **351**, 113996. (2022).
100. Licht, RW. Lithium: still a major option in the management of bipolar disorder. *CNS neuroscience & therapeutics* **18**, 219-226. (2012).
101. Chiu, C-T, and Chuang, D-M. Molecular actions and therapeutic potential of lithium in preclinical and clinical studies of CNS disorders. *Pharmacology & therapeutics* **128**, 281-304. (2010).
102. Mingcun, W. Reductive degradation of lignin in supercritical solvent and application in phenolic resin synthesis. *Acta Polymerica Sinica*, 1433-1438. (2011).

103. Kang, W, and Kang, H. J, Kim H-S, et al. *Tissue distribution of 18F-FDG-labeled peripheral hematopoietic stem cells after intracoronary administration in patients with myocardial infarction. J Nucl Med* **47**, 1295. (2006).
104. Chiu, C-T, Wang, Z, Hunsberger, JG, and Chuang, D-M. Therapeutic potential of mood stabilizers lithium and valproic acid: beyond bipolar disorder. *Pharmacological reviews* **65**, 105-142. (2013).
105. Liu, P, Zhang, Z, Wang, Q, Guo, R, and Mei, W. Lithium chloride facilitates autophagy following spinal cord injury via ERK-dependent pathway. *Neurotoxicity Research* **32**, 535-543. (2017).
106. Li, H, Li, Q, Du, X, Sun, Y, Wang, X, Kroemer, G, et al. Lithium-mediated long-term neuroprotection in neonatal rat hypoxia–ischemia is associated with antiinflammatory effects and enhanced proliferation and survival of neural stem/progenitor cells. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* **31**, 2106-2115. (2011).
107. Fan, M, Jin, W, Zhao, H, Xiao, Y, Jia, Y, Yin, Y, et al. Lithium chloride administration prevents spatial learning and memory impairment in repeated cerebral ischemia-reperfusion mice by depressing apoptosis and increasing BDNF expression in hippocampus. *Behavioural brain research* **291**, 399-406. (2015).
108. Ciftci, E, Karaçay, R, Caglayan, A, Altunay, S, Ates, N, Altintas, MO, et al. Neuroprotective effect of lithium in cold-induced traumatic brain injury in mice. *Behavioural Brain Research* **392**, 112719. (2020).
109. Yu, F, Wang, Z, Tchantchou, F, Chiu, C-T, Zhang, Y, and Chuang, D-M. Lithium ameliorates neurodegeneration, suppresses neuroinflammation, and improves behavioral performance in a mouse model of traumatic brain injury. *Journal of neurotrauma* **29**, 362-374. (2012).
110. Li, Q, Li, H, Roughton, K, Wang, X, Kroemer, G, Blomgren, K, et al. Lithium reduces apoptosis and autophagy after neonatal hypoxia–ischemia. *Cell death & disease* **1**, e56-e56. (2010).
111. Chen, G, Liang, Y, Chen, F, Wang, H, and Zhu, G. The effect of lithium chloride on the motor function of spinal cord injury–controlled rat and the

- relevant mechanism. *European Journal of Inflammation* **17**, 2058739219852855. (2019).
112. Wyndaele, M, and Wyndaele, J-J. Incidence, prevalence and epidemiology of spinal cord injury: what learns a worldwide literature survey? *Spinal cord* **44**, 523-529. (2006).
 113. Krause, J, Newman, J, Clark, J, and Dunn, M. The natural course of spinal cord injury: changes over 40 years among those with exceptional survival. *Spinal cord* **55**, 502-508. (2017).
 114. Fang, X-Y, Zhang, W-M, Zhang, C-F, Wong, W-M, Li, W, Wu, W, et al. Lithium accelerates functional motor recovery by improving remyelination of regenerating axons following ventral root avulsion and reimplantation. *Neuroscience* **329**, 213-225. (2016).
 115. Kim, Y, Kim, J, Ahn, M, and Shin, T. Lithium ameliorates rat spinal cord injury by suppressing glycogen synthase kinase-3 β and activating heme oxygenase-1. *Anatomy & Cell Biology* **50**, 207-213. (2017).
 116. Finley, PR. Drug interactions with lithium: an update. *Clinical Pharmacokinetics* **55**, 925-941. (2016).
 117. Deumens, R, Koopmans, GC, and Joosten, EA. Regeneration of descending axon tracts after spinal cord injury. *Progress in neurobiology* **77**, 57-89. (2005).
 118. Hellenbrand, DJ, Kaeppler, KE, Hwang, E, Ehlers, ME, Toigo, RD, Giesler, JD, et al. Basic techniques for long distance axon tracing in the spinal cord. *Microscopy research and technique* **76**, 1240-1249. (2013).
 119. Ahmed, RU, Alam, M, and Zheng, Y-P. Experimental spinal cord injury and behavioral tests in laboratory rats. *Heliyon* **5**, e01324. (2019).
 120. Zakeri, M, Afshari, K, Gharedaghi, MH, Shahsiah, R, Rahimian, R, Maleki, F, et al. Lithium protects against spinal cord injury in rats: role of nitric oxide. *Journal of Neurological Surgery Part A: Central European Neurosurgery* **75**, 427-433. (2014).
 121. Pajooohesh-Ganji, A, Byrnes, KR, Fatemi, G, and Faden, AI. A combined scoring method to assess behavioral recovery after mouse spinal cord injury. *Neuroscience research* **67**, 117-125. (2010).

122. Kobayashi, YM, Rader, EP, Crawford, RW, and Campbell, KP. Endpoint measures in the mdx mouse relevant for muscular dystrophy pre-clinical studies. *Neuromuscular Disorders* **22**, 34-42. (2012).
123. Tatem, KS, Quinn, JL, Phadke, A, Yu, Q, Gordish-Dressman, H, and Nagaraju, K. Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, e51785. (2014).
124. Tysseling, VM, Janes, L, Imhoff, R, Quinlan, KA, Lookabaugh, B, Ramalingam, S, et al. Design and evaluation of a chronic EMG multichannel detection system for long-term recordings of hindlimb muscles in behaving mice. *Journal of Electromyography and Kinesiology* **23**, 531-539. (2013).
125. Schulz, A, Walther, C, Morrison, H, and Bauer, R. In vivo electrophysiological measurements on mouse sciatic nerves. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, e51181. (2014).
126. Cao, Q, Zhang, YP, Iannotti, C, DeVries, WH, Xu, X-M, Shields, CB, et al. Functional and electrophysiological changes after graded traumatic spinal cord injury in adult rat. *Experimental neurology* **191**, S3-S16. (2005).
127. Dunham, KA, Siriphorn, A, Chompoopong, S, and Floyd, CL. Characterization of a graded cervical hemicontusion spinal cord injury model in adult male rats. *Journal of neurotrauma* **27**, 2091-2106. (2010).

10. ETİK KURUL ONAYI

	
T.C. İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı	
Sayı : 38828770-952.03.06.03-E.39648	20/08/2020
Konu : Etik Kurulu Kararı	
Sayın Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ	
Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 23.05.2018 tarihli 29 karar no ile onay verilen "Lityum'un Uzun Dönem Spinal Kord Hasarı Sonrası Etkilerinin Araştırılması" isimli çalışmanızın etik onay süresi 19.08.2023 tarihine kadar uzatılması isteğiniz uygun bulunmuş olup kayıt altına alınmıştır. Bilgilerinize rica ederim.	
Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İMC-HADYEK) Başkanı	
Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 20.08.2020 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağınızı https://cbys.medipol.edu.tr/e-imza linkinden 60ED95A4XD kodu ile doğrulayabilirsiniz.	
İstanbul Medipol Üniversitesi Kavacak Mah. Ekinciler Cad. No.19 Kavacak Kavşağı - Beykoz 34810 İstanbul	Tel: 444 85 44 İnternet: www.medipol.edu.tr Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 38828770-604.01.01-E.14291
Konu : Etik Kurulu Kararı

24/05/2018

Sayın Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapmış olduğunuz "Lityum'un uzun dönem spinal kord hasarı sonrası etkilerinin araştırılması" isimli başvurunuz incelenmiş olup, etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYЕК) Başkanı

EK:
-Karar Formu (1 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 24.05.2018 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağınızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden 48D2A4C2XC kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacık Mah. Ekinçiler Cad.No:19 Kavacık Kavşağı 34810
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İmü-Hadyek) Kararı

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
23/05/2018	29		Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ

“Lityum’un uzun dönem spinal kord hasarı sonrası etkilerinin araştırılması” başlıklı bilimsel araştırma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna “Oybirliği” ile karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 08.06.2018-08.06.2020

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK	
Üye	Prof. Dr. Mustafa ÖZTÜRK	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Turan DEMİRCAN	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Sultan Sibel ERDEM	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet OZANSOY	
Üye	Dr. Öğr. Gör. Taha KELEŞTEMUR	
Üye	Uzm.Vet. Hek. Ekrem Musa ÖZDEMİR	
Üye	Özge Şeyda DURGUT	
Üye	Fahriye ŞENBAHÇE	