

DENEY HAYVANLARINDA SPİNAL KORD YARALANMASI MODELLERİ

82 BÖLÜM

Ece GÜVENDİ

Spinal kord yaralanması minör defisit ile hemipleji, quadripleji ve ölüme kadar değişen aralıkta kalıcı nörolojik defisitlerle sonuçlanabilen yıkıcı bir olaydır. Hastalarda ciddi fiziksel ve ruhsal kayıplarla sonuçlanır. Patofizyolojide mekanik travma (primer yaralanma) nöronları ve glia hücrelerini hasarlar ve ilerleyen haftalarda hücrelerde ilerleyici hücre yıkımı ve spinal kord yaralanmasına neden olan ikincil bir yaralanma kaskadını başlatır [1, 2].

Son 20 yılda bu hastalarda kullanılabilmesi umudu ile çok sayıda spinal kord yaralanması deneysel tedavi seçeneği araştırma konusu olmuştur. Laboratuvar şartlarında çok çeşitli hayvan modellerinde çalışılması bu tip deneysel tedavilerde özellikle önemlidir [3].

Bu hayvan modelleri seçilirken hem analoguna benzer nedensellik ve işleve sahip olmalı ve basit klinik gözlem dışında da avantajlar barındırmalıdır. Hayvan modelleri ayrıca derinlemesine fizyolojik ve patofizyolojik araştırmalar için uygun seçilmelidir [4].

HAYVAN MODELİ SEÇİMİ

Kemirgenler SKY deneysel çalışmalarında en sık kullanılan memeli hayvanlardır. Sıçanlar, fareler, gerbiller, kobaylar ve hemstırları içeren

çok sayıda çalışma yapılmıştır [5]. Diğer hayvan çalışmaları kediler, insan dışı primat, keçi ve köpekleri içerir ancak bu modellerin bakımı daha zor, pahalıdır ve etik kaygılar nedeniyle kullanımında kısıtlılıkları daha fazladır. Diğer modeller rejeneratif kapasitesi nedeniyle yılan balığı gibi omurgasızları içerir [4].

Sıçan modeller spinal kord yaralanması modeli oluşturmada sıklıkla kullanılırlar. Ucuz, bakımı kolay olmaları ve çoklu sayılarda çalışılabilimleri başlıca avantajlarıdır. Anatomileri iyi çalışılmıştır, aynı zamanda iyi geliştirilmiş fonksiyonel analiz teknikleri mevcuttur. Buna ek olarak sıçanlarda insanda görülenlere benzer şekilde yaralanma alanının kranial ve kaudal bölgesinde sıvı dolu kistik kaviteler gelişir. Spinal kord yaralanması yaralanma alanındaki tüm aksonları hasarladığında, insan ve sıçanlarda motor ve duyu fonksiyonları asla geri dönmez. Bu açıdan benzerlikleri hücre ve farmakolojik tedavilerin denenmesi açısından sıçanlar için avantajlıdır. Sıçanların kortikospinal yolları genelde dorsaldedir. Deney hayvanı olarak seçildiklerinde dezavantajları kortikospinal yollar hasarında anlamlı disabillite yaratmamasıdır, çünkü sıçanlar iki değil dört ayaklıdır [4, 6-8].

Fare modellerinde spinal kord yaralanması meydana geldiğinde, yaralanma alanında hücre

A. Yatay merdiven yürüme testi

İki dikey pleksiglas duvar arasına metal basamaklar yerleştirilerek yata bir merdiven oluşturulur. Sıçanların bu merdiven aracılığı ile bir kafesten diğerine geçmesi bir ödül yardımı ile teşvik edilir [31].

B. Izgara yürüyüşü testi

Hayvanların tellerden oluşan bir ızgara üzerinde 3 dakika içinde minimum 30 sn süre ile yürümelerini sağlayarak uygulanır. Yürüme süresi boyunca ızgara boşlukları arasına düşme sıklıkları değerlendirilir [27].

C. İpe tırmanma testi

Bu test öncesi sıçanların eğitimi gereklidir. Dikey asılmış bir ipe sıçanlar tırmanırken ayaklarının kayması düşmeler ve dengeleri görüntüleri kaydedilerek değerlendirilir [23].

Elektrofizyolojik Değerlendirme**Elektromyografi (EMG)**

EMG verileri hem intramedüller manipülasyon hem hızlı transaksiyel spinal kord basısı ile elde edilebilir ve otonomik disrefleksi çalışmalarında kullanılabilir. Spinal motor yollarının hızlı deformasyonunun lomber motor nöronlarını ateşleme eşğine getirdiği düşünülmektedir [32].

Duysal uyarılmış potansiyeller

Duysal spinal akson iletimini değerlendirmede değerlidir. Korda elektrotlar yerleştirilerek uyarılan potansiyeller kranyumda somatosensoriel korteksdeki uyarılar değerlendirilmektedir [33].

Motor uyarılmış potansiyeller

Spinal korddaki motor yolları değerlendirilmede faydalıdır [33].

Görüntüleme Yöntemleri**Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI)**

MRI kemirgenlerde SKY'da yaygın olarak kullanılmaktadır. Beyaz ve gri maddedeki lezyon düzeylerini, skar ve kavileri değerlendirmekte faydalıdır. Canlı hayvanlarda da kullanılabilmesi bir diğer avantajıdır [4].

Fonksiyonel MRG

Fonksiyonel MRG duyu ve motor iyileşmeyi değerlendirmede kullanışlıdır [4]. Anestezi altında ve mekanik ventilasyon desteği ile uygulanır. Uzuvdaki elektrotların uyarımını takiben somatosensoriel korteks ve subkortikal duysal alanlar kaydedilir [6].

Bilgisayarlı Tomografi (BT)

Yüksek çözünürlüklü BT görüntüleri ile SKY sonrası hayvan modellerde kemik kaybı değerlendirilebilir.

Histolojik incelemeler

Histolojik çalışmalar yaralanma alanındaki akson kaybı, miyelin kaybı ve etrafta sağlam kalan dokuları değerlendirmekte faydalıdır [34].

Spinal kord yaralanmasında hayvan modelleri yaralanma sonrasında hücre kaybı ve korunmasının mekanizmasının anlaşılması, iyileşme mekanizmalarının aydınlatılmasında çok değerlidir. Bütün yaralanma modelleri, her birinden elde edilen bilgilerin farklı olması bakımından kullanışlıdır. Gelişen teknoloji ile yaralanma mekanizmalarının kontrolü ve izlemi daha rahat yapılmakta, böylelikle elde edilen davranış, görüntüleme ve histolojik sonuçların değerlendirilmesi ve yeni tedavilerin geliştirilerek denemesi kolaylaşmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Ahuja, C.S., et al., *Traumatic spinal cord injury*. Nat Rev Dis Primers, 2017. 3: p. 17018.
2. Deep, A., et al., *Mouse models of spinal cord injury and stem cell transplantation*. Translational Research in Anatomy, 2015. 1: p. 2-10.
3. Kwon, B.K., T.R. Oxland, and W. Tetzlaff, *Animal models used in spinal cord regeneration research*. Spine (Phila Pa 1976), 2002. 27(14): p. 1504-10.
4. Sharif-Alhoseini, M., et al., *Animal models of spinal cord injury: a systematic review*. Spinal Cord, 2017. 55(8): p. 714-721.
5. Cheriyan, T., et al., *Spinal cord injury models: a review*. Spinal Cord, 2014. 52(8): p. 588-95.
6. Sharif-Alhoseini, M. and V. Rahimi-Movaghar, *Animal Models in Traumatic Spinal Cord Injury*. 2014.
7. Kjell, J. and L. Olson, *Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies*. Dis Model Mech, 2016. 9(10): p. 1125-1137.

8. Nouri, M., et al., *Does abdominal aorta clamping, as a method of spinal ischemia in rats, really work?* Surg Neurol, 2006. **66**(3): p. 332-3.
9. Inman, D.M. and O. Steward, *Ascending sensory, but not other long-tract axons, regenerate into the connective tissue matrix that forms at the site of a spinal cord injury in mice.* J Comp Neurol, 2003. **462**(4): p. 431-49.
10. Khan, T., et al., *Animal models of spinal cord contusion injuries.* Lab Anim Sci, 1999. **49**(2): p. 161-72.
11. Basso, D.M., M.S. Beattie, and J.C. Bresnahan, *Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection.* Exp Neurol, 1996. **139**(2): p. 244-56.
12. Bottai, D., et al., *Embryonic stem cells promote motor recovery and affect inflammatory cell infiltration in spinal cord injured mice.* Exp Neurol, 2010. **223**(2): p. 452-63.
13. Koozekanani, S.H., et al., *Possible mechanisms for observed pathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen.* J Neurosurg, 1976. **44**(4): p. 429-34.
14. Jakeman, L.B., et al., *Traumatic spinal cord injury produced by controlled contusion in mouse.* J Neurotrauma, 2000. **17**(4): p. 299-319.
15. Rahimi-Movaghar, V., et al., *Effect of decompression on complete spinal cord injury in rats.* Int J Neurosci, 2008. **118**(10): p. 1359-73.
16. Jazayeri, S.B., et al., *The effect of timing of decompression on neurologic recovery and histopathologic findings after spinal cord compression in a rat model.* Acta Med Iran, 2013. **51**(7): p. 431-7.
17. Blight, A., *Animal Models of Spinal Cord Injury.* Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation, 2000. **6**(2): p. 1-13.
18. da Costa, E.S., et al., *Strapping the spinal cord: an innovative experimental model of CNS injury in rats.* J Neurosci Methods, 2008. **170**(1): p. 130-9.
19. Nakae, A., et al., *The animal model of spinal cord injury as an experimental pain model.* J Biomed Biotechnol, 2011. **2011**: p. 939023.
20. Awad, H., et al., *A mouse model of ischemic spinal cord injury with delayed paralysis caused by aortic cross-clamping.* Anesthesiology, 2010. **113**(4): p. 880-91.
21. Yezierski, R.P., et al., *Excitotoxic spinal cord injury: behavioral and morphological characteristics of a central pain model.* Pain, 1998. **75**(1): p. 141-155.
22. Sedy, J., et al., *Methods for behavioral testing of spinal cord injured rats.* Neurosci Biobehav Rev, 2008. **32**(3): p. 550-80.
23. Ahmed, R.U., M. Alam, and Y.-P. Zheng, *Experimental spinal cord injury and behavioral tests in laboratory rats.* Heliyon, 2019. **5**(3): p. e01324-e01324.
24. Whishaw, I.Q., et al., *Long-Evans and Sprague-Dawley rats have similar skilled reaching success and limb representations in motor cortex but different movements: some cautionary insights into the selection of rat strains for neurobiological motor research.* Behav Brain Res, 2003. **145**(1-2): p. 221-32.
25. Irvine, K.A., et al., *A novel method for assessing proximal and distal forelimb function in the rat: the Irvine, Beatties and Bresnahan (IBB) forelimb scale.* J Vis Exp, 2010(46).
26. Bertelli, J.A. and J.C. Mira, *The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat.* J Neurosci Methods, 1995. **58**(1-2): p. 151-5.
27. Behrmann, D.L., et al., *Spinal Cord Injury Produced by Consistent Mechanical Displacement of the Cord in Rats: Behavioral and Histologic Analysis.* Journal of Neurotrauma, 1992. **9**(3): p. 197-217.
28. Nakae, A., et al., *The animal model of spinal cord injury as an experimental pain model.* Journal of biomedicine & biotechnology, 2011. **2011**: p. 939023-939023.
29. Gris, D., et al., *Transient blockade of the CD11d/CD18 integrin reduces secondary damage after spinal cord injury, improving sensory, autonomic, and motor function.* J Neurosci, 2004. **24**(16): p. 4043-51.
30. Choi, Y., et al., *Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain.* Pain, 1994. **59**(3): p. 369-76.
31. Metz, G.A. and I.Q. Whishaw, *The ladder rung walking task: a scoring system and its practical application.* J Vis Exp, 2009(28).
32. Skinner, S.A. and E.E. Transfeldt, *Electromyography in the detection of mechanically induced spinal motor tract injury: observations in diverse porcine models.* J Neurosurg Spine, 2009. **11**(3): p. 369-74.
33. Onifer, S.M., et al., *Adult rat forelimb dysfunction after dorsal cervical spinal cord injury.* Exp Neurol, 2005. **192**(1): p. 25-38.
34. Gensel, J.C., et al., *Behavioral and histological characterization of unilateral cervical spinal cord contusion injury in rats.* J Neurotrauma, 2006. **23**(1): p. 36-54.