

**T.C.**  
**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KAFA YARALANMASINDA MYCOPHENOLATE**  
**MOFETİL'İN NEUROPROTECTİVE ETKİLERİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Abdulsemat GÖKALP**  
**BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**Van – 2014**

**T.C.**  
**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KAFA YARALANMASINDA MYCOPHENOLATE**  
**MOFETİL'İN NEUROPROTECTİVE ETKİLERİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Abdulsemat GÖKALP**  
**BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**Yrd. Doç. Dr. İsmail GÜLŞEN**  
**TEZ DANIŞMANI**

**Van – 2014**



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Doç.Dr. Nejmi KIYMAZ'a, Yrd.Doç.Dr.İsmail GÜLŞEN'e ve Uz.Dr.İsmail DEMİR'e, uzmanlık eğitimim süresince bilgi, birikim ve deneyimlerini aktararak bu disiplinde yetişmemi sağlayan sayın hocalarım Doç.Dr. Mehmet ARSLAN, Uz.Dr. Metehan ESEOĞLU'na saygı ve şükranlarımı sunarım. Asistan olarak görev yapmakta olan arkadaşlarım Dr. Enver SÖSUNCU, Dr.Fethullah KUYUMCU, Dr.Mehmet Edip AKYOL'a, Histopatolojik değerlendirmede yardımlarından dolayı Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Gülay BULUT, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Hamit Hakan Alp'e, Tezimin istatistik aşamasındaki yardımlarından dolayı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Öğretim üyesi Doç.Dr. Sıddık KESKİN'e, Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım mesai arkadaşlarım Uz. Dr. Burhan Oral GÜDÜ, Uz. Dr. Abdalbaki Kozan, hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme, ortaöğrenim döneminde tıp fakültesini kazanmama özellikle vesile olan Muzaffer ÖZFİDAN ve Mehmet DEMİR hocalarıma ve diğer saygıdeğer hocalarıma, çalışmalarım süresince fikir danıştığım çalışma arkadaşlarıma ve çalışmam boyunca katkıları olan sağlık çalışanları ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr.Abdulsemat GÖKALP

VAN – 2014

## İÇİNDEKİLER

|                                                             |      |
|-------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR .....                                              | I    |
| İÇİNDEKİLER .....                                           | II   |
| ÖZET .....                                                  | IV   |
| ABSTRACT .....                                              | VI   |
| KISALTMALAR .....                                           | VIII |
| 1-GİRİŞ ve AMAÇ .....                                       | 1    |
| 2-GENEL BİLGİLER .....                                      | 2    |
| TARİHÇE .....                                               | 3    |
| EPİDEMİYOLOJİ .....                                         | 4    |
| SINIFLAMA .....                                             | 5    |
| DENEYSEL KAFA TRAVMA MODELLERİ .....                        | 5    |
| KAFA TRAVMASI MEKANİZMASI .....                             | 6    |
| KAFA TRAVMALARININ FİZYOPATOLOJİSİ .....                    | 7    |
| PRİMER BEYİN YARALANMASI .....                              | 7    |
| SKALP YARALANMALARI .....                                   | 8    |
| KAFATASI KIRIKLARI .....                                    | 8    |
| KAFA İÇİ YARALANMALAR .....                                 | 8    |
| 1-Epidural kanama) .....                                    | 8    |
| 2-Subdural kanamalar .....                                  | 9    |
| 3-İntraserebral hemoraji. ....                              | 9    |
| 4-Kommosyo (Kontüzyo) serebri:) .....                       | 9    |
| 5.Kontüzyo ve Laserasyo Serebri:) .....                     | 9    |
| SEKONDER BEYİN HASARI .....                                 | 10   |
| Sebepleri .....                                             | 10   |
| Fizyopatoloji .....                                         | 10   |
| BEYİN ÖDEMİ .....                                           | 15   |
| Ödemin Sınıflandırılması .....                              | 15   |
| KAN-BEYİN BARIYERİ .....                                    | 17   |
| Travma Sonrası Oksidan Hasar ve Savunma Mekanizmaları ..... | 18   |
| Serbest radikaller ve Oksidan hasar .....                   | 19   |

|                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| DNA Hasarı [8HİDROKSİ 2 DEOKSİ GUANOZİN (8-OHdG)] .....                                                             | 21 |
| Lipit Peroksidasyonu [Malondialdehit (MDA)] .....                                                                   | 21 |
| Ubikinonlar [Redükte Koenzim Q, KOENZİM Q10 (CoQ10)] .....                                                          | 22 |
| Endojen (Doğal) Antioksidanlar .....                                                                                | 22 |
| Süperoksid dismutaz (SOD): Süperoksidin hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. ....         | 22 |
| Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): sitozolik bir enzimdir. Hidroksiperoksidlerin indirgenmesinden sorumludur (101)..... | 23 |
| 3.MYCOPHENOLATE MOFETİL (MMF) .....                                                                                 | 24 |
| MMF GENEL BİLGİ.....                                                                                                | 24 |
| ETKİ MEKANİZMASI.....                                                                                               | 25 |
| 4. MATERYAL VE METOD .....                                                                                          | 26 |
| HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA .....                                                                                        | 30 |
| BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA.....                                                                                           | 30 |
| 8 hidroksi 2 deoksi guanozin (8-OHdG) ölçüm şekli: 6).....                                                          | 30 |
| Coenzym Q10 Analizi:.....                                                                                           | 31 |
| MDA Analizi: .....                                                                                                  | 32 |
| Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px). ....                                                                                 | 32 |
| İSTATİSTİK ANALİZ .....                                                                                             | 32 |
| 5. BULGULAR.....                                                                                                    | 33 |
| HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....                                                                                        | 33 |
| BİYOKİMYASAL BULGULAR .....                                                                                         | 35 |
| 6. TARTIŞMA VE SONUÇ.....                                                                                           | 40 |
| KAYNAKLAR.....                                                                                                      | 43 |

## ÖZET

### DENEYSEL KAFA YARALANMASINDA MYCOPHENOLATE MOFETİL'İN NEUROPROTECTİVE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Amaç:** Çalışmamızda ratlarda oluşturulan diffüz kafa travması sonrası oluşan beyin hasarında mycophenolate mofetil'in (MMF) histopatolojik değerlendirme ve antioksidan enzim düzeylerini ölçürek nöroprotektif etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metod:** Çalışmada ağırlıkları 200-350 gram arasında değişen 29 adet erişkin erkek Wistar-Albino rat kullanıldı. Hayvanlar dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu olarak A.grubu (n= 6), MMF grubu olarak B grubu (n= 7), travma grubu olarak C grubu (n=8), travma oluşturulup MMF verilen D grubu (n=8) olarak belirlendi. A grubuna (Kontrol grubu) intraperitoneal yolla sedasyon uygulanarak 1.saatte 1 cc serum fizyolojik uygulandı. MMF verilmedi ve travma uygulanmadı. B grubuna (MMF verilen grup) intraperitoneal yolla sedasyon uygulanarak 1. saatte MMF (30 mg/kg) verildi. Kafa travması oluşturulmadı, C grubuna (travma grubu) intraperitoneal yolla sedasyon uygulanarak marmarou'nun impact akselerasyon travma modeli ile diffüz kafa travması oluşturuldu. 1.saatte intraperitoneal yolla 1 cc serum fizyolojik uygulandı. MMF uygulanmadı. D grubuna (travma oluşturulan ve MMF verilen) intraperitoneal yolla sedasyon uygulanarak marmarou'nun impact akselerasyon travma modeli ile diffüz kafa travması oluşturuldu. 1.saatte MMF (30 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulandı. Tüm gruplara 24 saat sonra intraperitoneal yolla sedasyon uygulanarak ekssanguinasyon uygulandı. Histopatolojik ve biyokimyasal çalışma için ratların beyin dokusu hasarsız olarak çıkarıldı. Histopatolojik kesitler hematoxylen ve eozin boyamaları yapıldı. Histopatolojik farklılıkları değerlendirildi. Biyokimyasal incemede beyin dokusunda 8-OHdG, CoQ10, MDA, SOD ve GSH düzeylerine bakıldı.

**Bulgular:** Histopatolojik çalışmada hematoxylen-eozin boyaları kullanıldı. Tüm grupların H&E boyanmasında ışık mikroskop altında hücresel olarak

değerlendirilmesinde farklılık gözlenmedi. Tüm gruplarda H&E boyamasında normal doku görünümü saptandı.

Biyokimyasal çalışmalarda dokuda Coq10 / total Coq oranının ve SOD düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı. MDA düzeyinde tedavi grubunda MMF'in antioksidan etki gösterdiği ve böylece doku MDA düzeyini tedavi grubunda travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını gösterilmiştir. 8-OHdG düzeyinde tedavi grubunda MMF'in antioksidan etki gösterdiği ve böylece doku 8-OHdG düzeyini tedavi grubunda travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını göstermiştir. GSH düzeyinde tedavi grubunda MMF'in antioksidan etki gösterdiği ve böylece doku GSH düzeyini tedavi grubunda travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını göstermiştir.

**Sonuç:** MMF' nin 8-OHdG, GSH, MDA düzeylerine etki etmesi antioksidan ve nöroprotective etki ettiği görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Diffüz kafa travması, mycophenolate mofetil, 8-OHdG, GSH, MDA, Coq10/total Coq oranı, SOD,

## ABSTRACT

### EVALUATION OF NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF MYCOPHENOLATE MOFETIL IN EXPERIMENTAL HEAD INJURY

**Aim:** In this study we aimed to evaluate neuroprotective effects of MMF in brain injury secondary to experimental diffuse head trauma in rats by histopathological analysis and measurements of the antioxidant enzyme levels.

**Material and methods:** A total of 29 adult male Wistar-Albino rats (weights range between 200 and 350 gram) were included in the study. They were classified to 4 groups: Control group (Group A; n=6), MMF group (Group B; n=7), Trauma group (Group C; n=8) and MMF administrated trauma group (Group D; n=8). 1 hour after intraperitoneal sedation 1 cc izotonic solution (% 0,9 NaCl) was administrated to control group (Group A). Trauma was not performed and MMF was not administrated. 1 hour after intraperitoneal sedation MMF (30 mg/kg a dose) was administrated to MMF group (Group B). Trauma was no performed. After intraperitoneal sedation a diffuse head trauma with Marmarous' impact acceleration trauma model was performed to trauma group (Group C). MMF was not administrated. After intraperitoneal sedation a diffuse head trauma with Marmarous' impact acceleration trauma model was performed to MMF administrated trauma group (Group D). 1 hour after, intraperitoneal MMF (30 mg/kg a dose) was administrated. After 24 hours following intraperitoneal sedation, exanguination was performed to all groups. Brains of all these rats were taken carefully without any damage. Histopathological specimens were evaluated with hematoxylen and eosin chains. Histopathological differences between these groups were compared. On byochemistrical evaluation 8-OHdG, CoQ10, MDA, SOD and GSH levels were measured in brain tissues.

**Findings:** Hematoxylen and eosin chains were used for histopathological examination. There was not any cellular appearance difference between these groups on light microscopic evaluation. A normal tissue appearance was observed in all patients.

In byochemistrical studies, A statistically significant difference for Coq10/total Coq ratio and SOD levels between the groups was not detected. We observed antioxidant

effect of MMF for MDA levels in treatment group and a statistically significant reduction of MDA levels in treatment group when compared with trauma group. MMF provided a statistically significant reduction in tissue 8-OHdG levels and thus had an antioxidant effect. In addition MMF caused a statistically significant reduction in tissue GSH levels in treatment group when compared with trauma group and therefore had an antioxidant effect.

**Result:** Neuroprotective and antioxidant effects of MMF due to reduction in 8-OHdG, MDA and GSH levels, were observed.

**Key Words:** Diffuse head trauma, MMF, 8-OHdG, Coq10, MDA, SOD, GSH, CoQ10/total Coq ratio.

## KISALTMALAR

- 1- KİBAS: Kafa içi basınç artışı sendromu
- 2- TBH: Travmatik Beyin Hasarı
- 3- SKA: Serebral kan akımı
- 4- SPB: Serebral perfüzyon basıncı
- 5- MMF: Mycophenolate mofetil
- 6- MDA: Malondialdehit
- 7- 8-OHdG: 8 hidroksi 2 deoksiguanozin
- 8- SOD: süperoksit dismutaz
- 9- GSH: Glutatyon peroksidaz
- 10- Co Q10: Koenzim Q 10
- 11- SSS: Santral Sinir Sistemi
- 12-GKS: Glasgow Koma Skalası



## 1-KAFA TRAVMASI

### GİRİŞ ve AMAÇ

Kafa travmaları öldürücü, sakat bırakıcı, uzun süre tedavi ve bakım gerektiren patolojik bir durumdur. Her gün biraz daha hızlanan yaşam koşullarında kafa travmalarının insidansı ve buna bağlı mortalite ve morbidite riski giderek artmaktadır (1).

Travma sonucu santral sinir sisteminde (SSS) ilk olarak primer beyin hasarı meydana gelmektedir. Primer beyin yaralanmaları skalp yaralanması, kafatası kırığı, kontüzyon, beyin laserasyonu, diffüz aksonal yaralanma ve intrakranial yaralanma (epidural, subdural, intraserebral) gibi olaylar içermektedir. Ancak kafa travması sonucu oluşan hasardan sadece primer yaralanma sorumlu değildir. Primer beyin hasarını takiben ortaya çıkan birçok karmaşık fizyopatolojik olaylara bağlı olarak sekonder beyin hasarı oluşmaktadır (2)(3).

Ağır kafa travmalı hastalarda mortalite ve morbiditeyi etkileyen, travmaya bağlı birincil etkiler yanında, kafa içi basınç artışı, hipoksi, iskemi ve metabolik olaylar gibi ikincil faktörler vardır. Bu sebeple kafa travmasının direkt etkisiyle meydana gelen ve birincil doku harabiyeti olarak adlandırılan olaylara ek olarak; KİBAS, posttravmatik endokrin ve biyokimyasal olaylar, herniasyon, beyin ödemi, beyin iskemisi, hipoksi ve hiperemi gibi ikincil olayları birbirinden ayırmak, tedaviyi planlamak açısından son derece önemlidir (2).

Travmatik kafa travmasına bağlı gelişen ölümlerin yaklaşık %90'ı ilk 48 saat içinde gerçekleşmekte ve genellikle beyin sapı herniasyonuna ve kontrolsüz intrakraniyal basınç artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (4).

Beynin diğer organlara göre oksidatif streslere karşı savunma mekanizması daha azdır. Bu nedenle beynin travmaya karşı antioksidan mekanizmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Travmaya maruz kalan beyin, oksidanlara karşı ikincil hasardan korunduğu oranda normal fizyolojisine dönebilir (5).

Travmatik beyin hasarına yönelik tedavilere rağmen hastalarda morbidite ve mortalite hala yüksektir. Morbidite ve mortaliteyi azaltmak için çalışmalar devam etmektedir.

Çalışmamızın amacı immünsüpresif etkileri gösterilmiş olan MMF'nin marmarou impakt akselerasyon travma modeli kullanılarak ratlarda kafa travması oluşturularak kafa travması patojenezinde rol oynayan enflamatuar ve oksidatif sürecin değerlendirilmesidir. Bu anlamda beyinde histopatolojik çalışma ve biyokimyasal çalışma olarak Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GSH), 8-hidroksi 2-deoksi guanozin (8-OHdG), membran lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit (MDA) ve Koenzim Q 10 (CoQ10 ) düzeylerini ölçüp istatistik olarak SPSS programı kullanılarak MMF'nin neuroprotective etkileri araştırılması planlandı.

## 2-GENEL BİLGİLER

### TARİHÇE

Kafa travması hayatın erken dönemlerinde görülen ölüm ve sakatlıkların en yaygın nedenidir, en çok 15-30 yaşları arasındaki insanları etkilemekte ve erkeklerde kadınlardan 2-4 kat daha fazla rastlanmaktadır. Her 15 saniyede bir kafa travması ve 12 dakikada bir kafa travmasına bağlı ölüm görüldüğünden, acil doktoru her gün bu tip hastalarla karşılaşmaktadır. Bütün travma ölümlerinin %50'sine kafa travması eşlik etmektedir (6). ABD'de yılda her 100.000 kişiden 200'ü kafa travmasına maruz kalmakta ve ölüm oranı 100.000'de 25 olarak gerçekleşmektedir (4)(6). Ülkemizde bu oran 100.000'de 10'dur. ABD'de yılda 7,5 milyon insan kafa travmasına uğramakta ve bunların 120.000'i ağır kafa travması olarak kabul edilmektedir. Ağır kafa travmalarında mortalite %40'tır ve bunların çoğu olay yerinde ölmektedirler. Ağır kafa travması geçirip yaşayanların %10-15'i yaşam boyu süren nörolojik defisitli kişiler olmaktadır. Bütün travmaların %20-50'sini motorlu araç kazaları, geri kalanını yüksekten düşmeler, darp ve ateşli silah yaralanmaları oluşturmaktadır (4)(7).

Nöroşirürjinin kafa travmasının tedavi edilmesi ile başladığı düşünülmektedir. Okların sebep olduğu birleşik çökme kırıkları eski Çin hanedanlıklarından beri bilinmektedir. Travmatik pıhtıların delik açılarak boşaltıldığında iyileştiği, böylelikle hastaların yaşadığı İknalar zamanında bulunmuştur. Hipokrat, kafa travmalarını sınıflayarak bazılarında delik açılmasını önermiştir (8).

Harvey Cushing, Fransa'da 1.Dünya savaşı sırasında kafa travmalarının tedavisi hakkında bildiklerimizi arttırdı. Erken debridman yapılması, kemik ve şarapnel parçalarının çıkarılması ve aseptik yara kapatılması, penetre yaralanmalara bağlı ölüm oranlarını önemli ölçüde azalttı. Ayrıca 2.Dünya savaşı sırasında mobil cerrahi üniteler savaş alanına kuruldu, havalandırmanın ve penisilinin koruyucu etkilerinin tümü öğrenildi (9)(26).

Denny-Brown ve Russell'in Oxford'da 2. Dünya Savaşı'nın ilk yıllarında yaptıkları çalışmada travma esnasında maymunun kafası serbest olduğunda beyin hasarının daha geniş olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra Generalli ve arkadaşlarında

deneysel primat çalışmalarında bu çalışmaya genişleterek doğrulamışlardır. Oxford'daki fizikçi Holbourn 1940'larda beynin jelatin modelleriyle deneyler yapmış ve ak maddede bugün diffüz aksonal yaralanma denilen yırtılma lezyonlarını taklit etmiştir (8)(10).

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Kafa travmaları toplumda oldukça sık görülen önemli sağlık ve sosyoekonomik problemlere neden olmaktadır. Günümüzde batı ülkelerinde, 45 yaş altındaki bireylerde kazalar ölümün önde gelen nedenidir. Kafa travmaları, kazaya bağlı ölümlerin %70'ini oluşturur. Spinal kord hasarına göre 10-40 kat daha fazla oranda görülürler (11). Genel olarak ölümlerin, kalp hastalığı ve kanserlerden sonra gelen 3. nedenini oluştururken, 1-44 yaş grubunda ise ölümlerin en sık görülen nedenidir (12)(13).

Kafa travmalarında yüksek risk grupları; yaş, cinsiyet, ırk ve sosyoekonomik duruma göre ayrılabilir. 10 yaş altında kafa travması oldukça yüksek oranda görülürken, 15-24 yaşları ve 60-65 yaşları arasında tekrar pik yapar. Erkeklerde daha fazla görülür (K/E:1/2-1/2.8). Sosyoekonomik durumu düşük olanlarda görülme oranı yüksek olarak bildirilmiştir (13). Direkt ve indirekt maliyeti 56 milyar doları aşan önemli bir sakatlık nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca adli, tıbbi ve cerrahi açılarından da önemli bir konudur (14). Kraniyoserebral kafa travmaları doğumla başlar. Her yaş ve cinsten insan herhangi bir nedenden dolayı kafa travmasına maruz kalabilir. Yenidoğanlarda vakum ve forseps uygulamaları, beşikten veya kucaktan düşmeler en sık nedendir. Çocukluk döneminde ise düşme, trafik kazaları, oyuncakların başa çarpması ve darp travma nedeni olabilir (12). ABD'de kapalı kafa travmalarının en sık nedeni trafik kazaları (motor yaralanmaları) dır. Bunu ikinci sırada düşmeler ve üçüncü sırada darp izler (15). Son yıllarda, kafa travmalarının fizyopatolojisi hakkındaki bilgilerde artmasına, yoğun bakımdaki hasta izleme ve bakım tekniklerindeki gelişmelere bağlı olarak mortalite oranı % 20 düzeylerine kadar azalmış ve prognozda belirgin düzelmeler gözlenmiştir (16).

## **SINIFLAMA**

Kafa travmaları 3 grupta toplanabilir: 1) Mekanizması, 2) Şiddeti, 3) Morfolojisi (17).

**Mekanizması:** Künt veya delici olarak sınıflandırılır. Künt kafa travmaları, trafik kazaları, düşmeleri kapsar. Penetran yaralanmalar ise genellikle ateşli silah veya bıçak yaralanmalarıdır. Künt ve penetran travma arasındaki fark duranın yırtılıp yırtılmamasına dayanır. Penetran travmalarda, cilt kesisi kemikte kırık ve dura yırtığı görülür.

**Şiddeti:** Nörolojik bulguları değerlendirmek için GKS kullanılır. Gözlerini spontan açan, sözlü emirlere uyan, oryante hastaların GKS 15 iken, gözlerini açamayan, konuşamayan hastanın GKS 3' tür. GKS 8 veya altı koma olarak değerlendirilir. Buna göre travmanın düzeyi hafif ve ciddi travma olarak ayrılabilir.

**Morfoloji:** BT, kafa travmalarının sınıflamasını ve tedavisini geliştirmiştir. Kafa travmalı bir hastaya cerrahi planlanmadan önce mutlaka BT yapılmalıdır. Morfolojik olarak kafa travmaları 2 gruba ayrılabilir; 1) kafatası kırıkları 2) kafa içi lezyonlar (17).

## **DENEYSEL KAFA TRAVMA MODELLERİ**

Kafa travmasında hayvan modelleri, insandaki kafa travmasının primer ve sekonder sebeplerini araştırmak ve insan beyni mevcut sinir hasarını onarmaya yönelik çeşitli tedavi yöntemlerini geliştirmek için yapılmaktadır (18).

DeneySEL kafa travmaları, Denny-Brown Russell'in çalışmalarıyla akselerasyon konküzyon ve perküsyon-konküzyon olmak üzere iki kategoriye ayırmıştır (10). Mekanik kuvvet amplitüdüne, süresine, hızına ve akselerasyonuna bağlı olarak hem dinamik hem de statik beyin travmasına neden olur.

Statik modellerdeki mekanik kuvvet belirlenmiş amplitüd ve süreye sahipken, hız ve akselerasyon önemli değildir. Statik modeller doğal olarak genellikle yaralanmada yer alan morfolojik ve fonksiyonel süreçlere odaklanır. Diğer taraftan ise amplitüd, süre, hız ve akselerasyonu iyi belirlenmiş mekanik kuvvet, dinamik beyin

yaralanmasına neden olur. Dinamik beyin yaralanması direkt ve indirekt beyin yaralanması olarak alt gruplara ayrılır. İndirekt dinamik beyin yaralanmasında mekanik kuvvet genellikle tüm vücuda yöneliktir, salınım basınç dalgalarının kinetik enerjisi vücudu geçerek etkilerini beyin dokusu üzerinde açığa çıkarırlar (19).

Marmarou'nun impakt akselerasyon modeli, diğer modellere göre uygulanması kolay, ucuz, kontrol edilebilir olması nedeniyle popülerdir. Hem apoptotik hem de nekrotik hücre ölüm hasarı ortaya çıkarır. Histopatolojik yaygın bilateral nöron, akson, dentrit ve mikrovasküler hasarı oluşturur. Özellikle korpus kallozum, internal kapsülde, optik traktusta, serebral ve serebellar pedikülde ve beyin sapında diffüz aksonal yaralanma olur (20).

Deneyisel model seçimi araştırmanın amacına göre olmalıdır. Modellerin temel amacı nekrotik ve apoptotik nöronal hücre ölümünü ortaya koymak ve travmaya sekonder gelişen davranış değişikliği, fizyolojik, metabolik, kan doku değişiklikleri, kan beyin bariyeri geçirgenliği, enflamatuvar ve immünolojik cevaplar hakkında bilgi sahibi olmaktır (18).

## **KAFA TRAVMASI MEKANİZMASI**

Kafadaki mekanik etki tipleri statik veya dinamik olarak sınıflandırılabilir (21). Statik etki, 200 ms'den daha uzun sürede meydana gelen yavaş etkileri kapsar. Genellikle kafa tabanı veya kafatasında meydana gelen kırıklar ile sonuçlanır. Dinamik etki daha sık görülür. 50 ms'den daha kısa sürede ve hızlı kuvvetler hasara neden olur. Dinamik etkinin 2 tipi vardır: Çarpma ve itme. İtici etki, başın hareketlenmesi veya hareket eden başın çarpmadan durması ile meydana gelir (21). Burada meydana gelen yaygın beyin hasarı ve serebral konküzyon azdır (22). Çarpma, dinamik etkinin en sık görülen tipidir ve genellikle bağlantılı, hareketsiz güçlerin bir birleşimi sonucunda olur. Çarpma enerjisinin çoğu, başa kontakt güç olarak iletilir ve bunun sonucunda "kontakt fenomeni" olarak bilinen bir etki kompleksi oluşur. Kontakt fenomeni, çarpma noktasının yanında veya uzağında meydana gelen mekanik olaylar grubudur. Bu

fenomenin önemi, çarpan aletin boyutuna ve kontakt noktasına iletilen gücün büyüklüğüne göre değişir (19).

## **Kafa Travmalarının Fizyopatolojisi**

**1.Primer beyin yaralanmaları,** travma anında ya travmanın direkt etkisi sonucu beyin parankiminde ya da akselerasyon ve deselerasyon kuvvetlerine bağlı uzun beyaz cevher traktuslarında meydana gelir. Beyin parankimasına olan direkt travma, beyin kemik protuberanslara çarpmasının veya beyin kemik fragmanlar ya da yabancı cisim tarafından penetrasyonu sonucu oluşur. Akselerasyon-deselerasyon kuvvetleri uzun beyaz cevher traktuslarında kopup ayrılmaya neden olarak aksonal bozulma ve sekonder hücre ölümlerine yol açarlar (23).

**2.Sekonder beyin yaralanmalar,** başlangıç travmasını takip eden sistemik ve intrakranyal olaylardır, primer travmaya bir yanıt olarak meydana çıkarlar ve nöronal harabiyet ile hücre ölümüne yol açarlar. Primer travma tarafından tetiklenen enflamatuvar olaylar bir dizi biyomoleküler değişikliklerin bir sonucu olup mikrosirkülasyonun bozulmasına ve nöronal bütünlüğün ortadan kalkmasına yol açar. Dolayısıyla sistemik hipotansiyon, hipoksi, hiperkapni, artan intrakranyal basınç gibi sekonder yaralanmalar orijinal beyin travması ya da multipl travmalar tarafından başlatılan bir seri fizyolojik değişikliklerin biyokimyasal sonuçlarıdır (23).

## **PRİMER BEYİN YARALANMASI**

Patofizyolojik olarak primer beyin hasarını fokal ve diffüz lezyonlar olarak ikiye ayırmamız mümkündür. Fokal beyin hasarı sonucunda tipik olarak kontüzyon ve hematomlar görülür. Fokal travmalar esas olarak uygulanan lokalizasyonuna ve büyüklüklerine bağlı olarak morbidite ve mortaliteyi etkiler. Diffüz aksonal hasarlar ise sıklıkla motorlu araç yaralanmalarından sonra ortaya çıkar. Beyin be beyin sapı boyunca diffüz aksonlarda morfolojik ve fonksiyonel hasarla karakterizedir ve beyaz cevherde diffüz dejenerasyona yol açar (18).

Klink pratikte diffüz aksonal hasar ve fokal hasarlar çoğunlukla birlikte görülürler (24).

Sık görülen kafa travmaları şöyledir.

## **SKALP YARALANMALARI**

Skalp laserasyonları travmanın yerini işaret ederler. Yoğun kanayabilirler. Eğer beraberinde çökme kırığı varsa intrakranyal enfeksiyon için giriş yeridir (25).

## **KAFATASI KIRIKLARI**

Genelde yaralanma ne kadar şiddetli ise kırık olasılığı o kadar artar. Kafatası kırığı olan hastaların kafatası kırığı olmayanlara göre intrakranyal kanama olasılığı daha fazladır. Kafatası kırıkları kubbe veya kaide kırıkları olabilir. Şiddetli kafa yaralanmasında kubbe kırığı olma insidansı % 62 dir. Bunların % 17 si kaideye uzanım gösterir. Kaide ile sınırlı olanların insidansı % 4 dür (25).

Şiddetli beyin travmalarına kafatası kırıkları eşlik edebilir. Kanama, kranyal sinir yaralanmalarına yol açabilir ve kubbe kırıkları çizgisel karakterde olabilir ve sinüslere uzanabilir. Yıldızvari, kapalı veya açık kırık tarzında olabilir. Kapalı kırıklarda dış dünya ile temas yokken açık kırıklarda ise bu temas santral sinir enfeksiyonları için giriş kapısı oluşturur (23).

## **KAFA İÇİ YARALANMALAR**

**1-Epidural kanama** tüm yaralanma tiplerinin % 2 sinde görülür. Ölümcül kafa yaralanmaların % 5-15'inde bulunur. Kırıkların % 85'inde epidural kanama vardır. Çocuklarda kırık olmasa da epidural kanama görülebilir. En sık temporal bölgede görülür (25). Epidural kanama kafatasına gelen darbe sonucu kırığa bağlı olarak



sıklıkla, dural arter ya da venlerde ve bazen de diploik venlerde oluşan laserasyonlar sonucu meydana gelir. En sık olarak da orta meningeal arterin yırtığı bu tip bir kanamaya yol açar. Arteriyel kaynaklı bir kanama sonucu oluşan kan birikimi nörolojik tablonun hızla bozulmasına neden olur (23).

**2-Subdural kanamalar** şiddetli beyin travmalarında genellikle serebral hemisferleri dural sinüslere bağlayan ve subdural boşluğu birleştiren kortikal ven veya pial arterlerin yaralanmaları ile oluşur. Yaklaşık % 13'nde başka beyin hasarına ilişkin kanıt çok yoktur. Akut, subakut ve kronik olarak tanımlanmaktadır. Mortalite yaklaşık %60-80'dir (23)(25).

**3-İntraserebral hemoraji** hafif veya şiddetli kafa travmalarından sonra oluşur ve genellikle kitle lezyonu oluştururlar. Parankim içerisindeki kan bilgisayarlı tomografide hiperdens gözlenir. İntraparankimal hematomların pek çoğu travmadan ancak 24 saat sonra görünür hale gelir. Bu nedenle klinik kötüleşme ve progresif kontrol edilemeyen intrakranial hipertansiyon durumlarında yeniden görüntüleme çalışmaları yapılmalıdır. Büyük intraserebral hematomlar, beynin frontal ve temporal bölgelerinde bulunurlar. İntraserebral hematomlar, kurşun yaralanmaları, perfore yaralanmalar ve depresyon fraktürleri gibi darbenin, kafanın nispeten küçük bölgesine isabet ettiği vakalarda gözlenir (24).

**4-Kommosyo (Kontüzyo) serebri:** Travmadan hemen sonra, kısa bir süre için şuur kaybı ile karakterize olan klinik tablodur. Kommosyo serebri, beyinde patolojik bir değişiklik olmadan kısa süreli bilincin kaybolması anlamına gelir. Fizyopatolojik olarak beyin sapındaki uyanıklık durumunu idare eden retiküler formasyondaki geri dönüşümlü fonksiyon bozukluğu ile izah edilmektedir (15).

**5.Kontüzyo ve Laserasyo Serebri:** Serebral kontüzyon ile laserasyon deyimleri arasında kesin bir sınır olmasa da, kontüzyon denilince; beyinde sıyrıklar ve eziklerin yaygın olarak bulunduğu anlaşılır. Doku ve vasküler sistem yırtılmamıştır. Fakat kapiller staz oluşmuş BOS emilimi azalmış ve ödem meydana gelmiştir. Yer yer peteşial kanamalar görülebilir. Laserasyonda ise olay daha lokalize ve daha ciddidir. Damarlar yırtılmış ve beyin dokusunun bütünlüğü bozulmuştur. Beyin laserasyonunda sinir dokusu lezyonu geri dönüşümsüzdür ve hemen daima gial bağ dokusu oluşumu ile iyileşir (2)(27).

## **SEKONDER BEYİN HASARI**

Başlangıç travmasını takip eden sistemik ve intrakranyal olaylardır, primer travmaya bir yanıt olarak meydana çıkarlar ve nöronal harabiyet ile hücre ölümüne yol açarlar. Primer travma tarafından tetiklenen enflamatuvar olaylar bir dizi biyomoleküler değişikliklerin bir sonucu olup mikrosirkülasyonun bozulmasına ve nöronal bütünlüğün ortadan kalkmasına yol açar. Dolayısıyla sistemik hipotansiyon, hipoksi, hiperkapni, artan intrakranyal basınç gibi sekonder yaralanmalar orijinal beyin travması ya da multipl travmalar tarafından başlatılan bir seri fizyolojik değişikliklerin biyokimyasal sonuçlarıdır (23).

### **Sebepleri**

Sekonder beyin yaralanmaları primer travmanın etkileriyle daha ileri hücrel harabiyetler sonucunda oluşur. Primer travmayı takiben saatler ya da günler içinde meydana gelir. Hemen, daima, bütünüyle iskemik tipte olup % 80'in üzerinde fatal seyreder (28).

Sekonder beyin yaralanması; oluşan primer yaralanmanın başlattığı ve yaralanmadan sonraki saatler ve günler içerisinde gelişen bir dizi fizyopatolojik süreçle ilgili olarak ortaya çıkan hasardır (16)(29). Sekonder dejenerasyon yaralanma ile tetiklenen olaylar kaskadı, endojen hücre ölümü yollarının aktivasyonunun eseridir. Akut yaralamadan sonra beyinde kanama, ödem, aksonal ve nöronal nekroz, kist formasyonu ve enfarkt gibi patolojik değişiklikler oluşur (30). Artmış glutamat seviyesi, eksitotoksinite, oksidatif hasar, iskemi, nitrik oksidin kalsiyum ( $Ca^{+2}$ )'a bağlı üretimi, hücrel membranlara serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyonu sekonder yaralanma kaskadının içerikleridir (31). Sekonder beyin harabiyetinde major üç neden olarak hipoksi % 30 ( $PaO_2 < 65$  mmHg), hipotansiyon % 13 (sistolik kan basıncı  $< 90$  mmHg ) ve anemi % 12 (hematokrit  $< \% 30$  ) bulunmuştur (23).

### **Fizyopatoloji**

Travmatik beyin yaralanmasının sistemik etkileri hipotansiyon ve azalmış kardiyak outputu içerir. Lokal etkiler hasarlı beyin dokusunda otoregülasyon kaybı, hem gri, hem beyaz cevherde özellikle hemorajik ve komşu bölgelerde mikrosirkülasyonda

belirgin azalmazdır. TBH sonrasında serebral yaralanmanın ilk evreleri direkt doku hasarı ile serebral kan akımı (SKA) ve metabolizmanın regülasyonunun bozulması ile karakterizedir. Bu “iskemi benzeri” model anaerobik glikolize bağlı laktik asit birikimi, membran permeabilitesinin artması ve sonuçta ödem oluşumuna yol açar. Anaerobik metabolizma hücrenin enerji durumunu devam ettirmesi için yetersiz olduğundan adenosin trifosfat (ATP) depoları boşalır ve enerjiye bağlı membran iyon pompaları bozulur (32).

Fizyopatolojik kaskadın ikinci basamağı eksitator nörotransmitterlerin (glutamat, aspartat) fazla salınımı, N-metil-D-aspartat,  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionat ve voltaja bağımlı  $Ca^{+2}$  ve  $Na^{+}$  kanallarının aktivasyonu ile birlikte terminal membran depolarizasyonu ile karakterizedir. Sonuçta  $Ca^{+2}$  ve  $Na^{+}$  iç akımı kendi kendini tüketen (katabolik) intrasellüler süreçlerin başlamasına yol açar.  $Ca^{+2}$  lipid peroksidazlar, proteazlar ve fosfolipazları aktive ederek serbest yağ asitlerinin ve serbest radikallerin intrasellüler konsantrasyonunu artırır (33). Kaspazlar (ICE benzeri proteinler), translokazlar ve endonükleazların aktivasyonu biyolojik membranlar ve nükleozomal deoksiribonükleik asit (DNA)’da (DNA fragmentasyonu ve DNA tamirinin inhibisyonu) ileri yapısal değişiklikleri başlatır. Bu olaylar birlikte vasküler ve sellüler yapıların membran parçalanmasına ve sonunda programlanmış hücre ölümüne (apoptozis) yol açar (34).

Beyin kan akımı 100 g doku başına dakikada ortalama 55-65mL olup, gri cevherde nöronal aktiviteye paralel olarak daha yüksektir (65-75mL/100gm doku/dk). Beyaz cevherdeki kan akım hızı 100 gm dokuda 45-50mL/dk’dır. Genel olarak kardiyak çıkışın %15’i beyine (750mL/dk) yönelir. Beyin kan akım miktarını belirleyen en önemli faktörler doğrudan serebral perfüzyon basıncı (SPB) ve dolaylı olarak dokunun metabolik gereksinimidir. SPB santral sinir sisteminde (SSS) dokuların perfüzyonunu sağlayan etkin basınç farkıdır. Sistemik ortalama arteriyel basınç ile kafa içi basınç arasındaki fark olup, sistemik ortalama arteriyel basınç, diyastolik basınç ile nabız basıncının (sistolik basınç-diyastolik basınç) 1/3’ünün toplamına eşittir (23). Normalde SPB 80-100 mm Hg arasındadır. Otoregülasyon SPB’ndaki değişikliklere karşın beyin kan akımını (normalde yaklaşık 50-150mmHg) sabit tutmaya çalışan fizyolojik bir uyum mekanizmasıdır. SPB düştüğünde, beyin damarlarında vazodilatasyon, yükseldiğinde vazokonstriksiyon oluşarak beyin kan akımının sabit kalması sağlanmaya

çalışılır (35)(36)(37). Laboratuvar hayvanları ve insanlardaki çalışmalar ile TBH'nın SKA üzerindeki etkileri araştırılmıştır. TBH sonrası çok erken evrelerden geç evrelere kadar belirli bir zaman aralığında SKA'nı değerlendirmek için  $^{133}\text{Xe}$  sintilasyon saptaması,  $^{133}\text{Xe}$  BBT, sabit xenon BBT ve  $^{15}\text{O}_2$  pozitron emisyon BBT kullanılarak gerçekleştirilen birçok araştırma fokal veya global serebral iskeminin sıklıkla ortaya çıktığını göstermiştir (38)(39)(40)(41).

Toplam iskemik beyin hacmi ortalama % 10'dan az olabilir. Serebral iskemi, ölüm veya vejetatif durum ile ilişkilidir (39)(40)(41).

Serebral hipoperfüzyonun sıklıkla kötü sonuç ile ilişkili olması TBH ve iskemik inmenin aynı temel mekanizmaları paylaştığını akla getirmektedir. Bu varsayım bir yere kadar doğru olsa da bu iki primer yaralanma tipi arasında ana farklılıklar vardır. Örneğin, geri dönüşümsüz doku hasarının gelişmesi için SKA eşiği TBH'li hastalarda 15 ml/100g/dak iken iskemik inmeli hastalarda 5–8,5 ml/100g/dak'dır (42).

Serebral iskemi esas olarak metabolik stres ve iyonik karmaşaya yol açarken, kafa travmasında buna ilaveten beyin dokusu yırtılma güçlerine maruz kalır, nöron hücre gövdeleri, astrositler ve mikroglia da ardışık yapısal yaralanma ve serebral mikrovasküler ve endotel hücre hasarı olur (35)(43)(44).

Mekanik yer değiştirme sonucu morfolojik yaralanma (örn.vasküler distorsiyon), otoregülasyonun bozulunca hipotansiyon, nitrik oksit veya kolinerjik nörotransmitterlerin yetersizliği ve prostaglandinin indüklediği vazokonstriksiyonun artması posttravmatik iskeminin mekanizmaların içinde yer alır (45)(34)(35).

Travmatik beyin yaralanması olan hastalarda yaralanmanın erken evrelerinde serebral hiperperfüzyon ( $>55\text{ml}/100\text{g}/\text{dak.}$ ) gelişebilir. Benzer şekilde posttravmatik iskemiye hemen hiperemi izleyebilir (46)(47).

SKA'ndaki artışlar serebral kan hacminde artış ve bunun sonucunda KİB artış ile birlikte vazoparaliziye neden olur. Bu durum metabolik gereksinim ötesinde iskemi kadar zararlı görünmektedir(48). Hem serebral iskemi hem de hiperemi SKA ve serebral metabolizma arasında uyumsuzluk demektir. Örneğin, metabolik hız normal veya

yüksekken akımın düşük olması iskemik bir durum olup, metabolik hız normal veya düşükken SKA'nın yüksek olması halinde serebral hiperemi olur (46)(49).

Serebrovasküler  $\text{CO}_2^-$  tepkisi (yani, hipo veya hiperkapniye yanıt olarak serebrovasküler konstrüksiyon veya dilatasyon) serebral kan akımı otoregülasyonu ile karşılaştırıldığında daha güçlü bir etkidir. Şiddetli beyin yaralanması olan hastalarda travmadan sonraki erken evrelerde  $\text{CO}_2^-$  tepkisi azalmıştır. Hiperemik durumlarda KİB tedavisinin hedefi olarak bu fizyolojik prensibin gösterildiği diğer hastaların çoğunda  $\text{CO}_2^-$  tepkisi sağlamdır veya artmıştır (50).

Serebral metabolizma (serebral oksijen ve glukoz tüketimi) ve serebral enerji durumu (fosfokreatin ve ATP nin dokudaki konsantrasyonu veya indirekt olarak laktat/piruvat oranı) sıklıkla TBH'den sonra azalır (42)(51).

Metabolik bozulmanın hızı primer sebebin şiddetine bağlıdır. Metabolik disfonksiyonu olmayan veya çok az olanlarla karşılaştırıldığında metabolik hızları düşük olan hastalarda sonuçlar daha kötüdür. Travma sonrasında serebral metabolizmada azalma solunum hızının ve ATP üretiminde azalma, mevcut nikotinik koenzim havuzunda ve intramitokondriyal  $\text{Ca}^{2+}$  yükünde azalma ile mitokondriyal disfonksiyona yol açan primer nedene bağlıdır (52)(53).

Metabolik bozulmayı düzeltme girişimi olarak hiperoksi kullanımı tutarsız sonuçlar ortaya çıkarır (54). Serebral metabolik gereksinimdeki azalmalar SKA'nda azalma ile ilişkili olabilir veya olmayabilir (42).

Alternatif bir fizyopatolojik olay olarak glukoz hipermetabolizması olabilir. Bunu geçici de olsa ardışık nöroeksitasyonlar ile birlikte SKA'daki artışların yeterince karşılayamadığı (eş zamanlı) masif transmembran iyon içakımları yönetir. Bu tip akım metabolizmasındaki eşleşmeme sekonder iskemik sebeplerin gelişimini destekler. Travmatik beyin yaralanması beyine gelen oksijen ve serebral oksijen tüketimi arasındaki dengesizlik ile karakterizedir. Bu uyumsuzluğu çok sayıda vasküler ve hemodinamik mekanizma indüklemekteyse de kesin son nokta beyin dokusu hipoksisidir. Travmatik beyin yaralanması olan hastalarda doku hipoksisinin insidansı, süresi ve genişliği sonucun kötü olması ile uyumludur. Beyinde oksijen yoksunluğu ardından sekonder beyin hasarı SPB veya KİB normal olsa bile ortaya çıkabilir. Beyin

dokusu oksijen basıncı parametresini KİB veya SPB kılavuzluğundaki tedavi algoritmaları ile birleştiren klinik protokoller oksijen taşınması ve oksijen ihtiyacı arasındaki etkileşim hakkında önemli bilgiler sağlamış, tedavi kişiye göre kritik beyin dokusu oksijenasyonuna dayandırıldığında sonuçların iyileştiğini göstermiştir (55)(56).

Travmatik beyin yaralanması iskemik reperfüzyon yaralanması ile benzerlikler gösteren karmaşık bir immünolojik/enflamatuvar doku yanıtı yelpazesine neden olur. Hem primer hem de sekonder nedenler proenflamatuvar sitokinler, prostaglandinler, serbest radikaller ve kompleman dâhil olmak üzere hücre salınımını aktive eder. Bu süreçler kemokinleri ve adezyon moleküllerini indükler ve sonrasında immün ve glial hücreleri paralel ve sinerjik olarak harekete geçirir (57)(58). Aktive polimorfonükleer lökositler adezyon moleküllerinin aracılığı ile hem defektif hem de sağlam endotel hücre tabakalarına yapışır. Bu hücreler makrofajlar ve T-hücre lenfositlerinin yanı sıra yaralı dokuya sızarlar (59). Bu enflamatuvar süreçle yanıt olarak yaralı ve komşu doku yok edilir, saatler, günler ve haftalar içinde astrositler mikrofilamentler ve nötrofinler üreterek skar dokusu sentez ederler. Yaralanmadan sonraki saatler içinde tümör nekroz faktörü, interlökin-1- $\beta$  ve interlökin-6 gibi proenflamatuvar enzimlerin miktarı artar. Doku hasarının ilerlemesi direkt olarak nörotoksik mediyatörlerin salınımına veya indirekt olarak nitrik oksit ve sitokinlerin salınımına bağlıdır. Vazokonstriktörlerin biraz daha salınması (prostaglandinler ve lökotrienler), lökosit ve trombosit adezyonu ile mikrovasküler yapının obliterasyonu ve ödem oluşumu doku perfüzyonunu daha da azaltır ve ardından sekonder beyin hasarını şiddetlendirir (49).

Travmatik beyin yaralanmasından sonra iki farklı hücre ölümü tipi görülebilir: Nekroz ve apoptoz (programlanmış hücre ölümü). Nekroz, eksitator amino asit nörotransmitterlerin aşırı salınımı ile birlikte şiddetli mekanik veya iskemik/hipoksik doku hasarına ve metabolik yetmezliğe yanıt olarak ortaya çıkar. Sonrasında fosfolipazlar, proteazlar ve lipid peroksidazlar biyolojik membranları otolize uğratar. Sonuçta ortaya çıkan hücre artığı 'antijen' olarak algılanır ve enflamatuvar süreçler tarafından arkada skar dokusu kalacak şekilde ortadan kaldırılır. Programlanmış hücre ölümü anlamına gelen apoptozis terimi ilk defa 1965 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (60). Apoptotik hücre ölümü indüklenebilir hücreler tarafından

spesifik indükleyici bir uyarana aktif olarak regüle fizyolojik yada programlanmış hücre ölümüdür. SSS’de apoptoz, hem nöronları, hem glial hücreleri etkiler (61). Travmatik beyin yaralanmasını takiben apoptotik hücre ölümü bilgisi nöronal hücre ölümünü limitlemek ve nörolojik fonksiyonu iyileştirmek için yeni ek stratejiler sağlayabilir (62).

Apoptoza uğrayan hücreler travmadan hemen sonraki dönemde fizyolojik membran potansiyeli sağlayan yeterli ATP üretimi ile morfolojik olarak sağlamdırlar. Apoptoz, glutaminerjik eksitotoksikite, serbest radikal hasarı, sitokinler ve inflamatuvar yaralanma tarafından tetiklenir (62)(63). Fosfatidilserin translokasyonu nükleer membranların parçalanması, kromatin kondansasyonu ve DNA parçalanması ile birlikte membran bütünlüğünün farklı, ilerleyici şekilde bozulmasını başlatır. Yoğunlaşmış intrasellüler materyalden türeyen çok küçük partiküller (apoptotik cisimler) eksitotoksik mekanizmalar ile küçülmekte olan hücreden temizlenir. Apoptozun doğası için genelde enerji kaynağına ve doğal olarak var olan pro ve anti-apoptotik proteinler arasında dengesizliğe ihtiyaç vardır. Programlanmış hücre ölümünün en önemli mediyatörlerinin interlökin dönüştürücü enzim ailesinin spesifik proteazlarını temsil eden kaspazların ardışık aktivasyon ve deaktivasyonu olduğu saptanmıştır (64).

## **BEYİN ÖDEMİ**

Travma, beyin tümörü, toksik, anoksik, metabolik ve enfeksiyon kaynaklı olabilen beyin ödemi, morbidite ve mortaliteyi olumsuz yönde etkileyen bir durumdur. Beynin sıvı hacmindeki bu artış, kafa içi basıncı artırmanın yanı sıra perfüzyon ve oksijenasyonun bozulmasına neden olur. Diğer organlardan farklı olarak beyin, su içeriğinin artışına çok daha duyarlıdır ve beyin ödemi yaşamı tehdit eden bir durumdur (65).

### **Ödemin Sınıflandırılması**

Beyin ödemi sınıflandırması ilk kez 1967’de yapılmıştır. Buna göre vazojenik ve sitotoksik olmak üzere iki tip ödem mevcuttur. 1975’de bu sınıflamaya hidrosefalik hastalarda gözlenen interstisyel ödem ve osmotik dengenin bozulmasından kaynaklanan ozmotik ödem de eklenmiştir (66). Osmotik ödemde özellikle sodyum ( $\text{Na}^+$ ) gibi

elektrolitlerin dengesindeki bozulma ve hücre içine su girişindeki artış söz konusudur. Hidrosefalik/interstisyel ödemde beyin-omurilik sıvısının akışında sorun vardır. Vazojenik ve sitotoksik ödem oluşumunda ise birçok faktörün rolü vardır. Bunlar arasında glutamat, NO, araşidonik asit ve metabolitleri, histamin, kininler, interlökinler, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), laktat, serbest oksijen radikalleri, potasyum ( $K^+$ ), hidrojen ( $H^+$ ) ve kalsiyum ( $Ca^{2+}$ ) sayılabilir. Ödem sınıflandırması ve bu ödem tiplerinin özellikleri, oluşum mekanizmaları Tablo 1’de özetlenmiştir (67).

Son TBY çalışmalarının sonuçları bu yaralanmalarda hâkim olan ödem tipinin hücrel ödem olduğunu göstermiştir. Bu sonuçları başka araştırmalar doğrulamıştır (66).

Travmatik beyin yaralanmasında iyonik disfonksiyon olduğu ve mekanik zarar ile eş zamanlı olarak ortaya çıkan depolarizasyon sonucunda ekstrasellüler  $K^+$ ’un geçici süre ile arttığı kanıtlanmıştır. Bu iyonik homeostaz kaybına beraberinde sodyum hareketi eşlik etmelidir (66). Travmatik beyin yaralanmasının, mekanik deformasyon, nörotransmitter salınımı, mitokondri disfonksiyonu ve membran depolarizasyonunun normal iyon gradiyentlerinde değişikliğe neden olabilecek olaylar kaskadını tetiklediği düşünülmektedir. Mekanik deformasyon ile eksitatuvar amino asitler salınır ve membran depolarizasyonu iyonların elektrokimyasal gradiyentlerinden aşağıya doğru hareketine izin veren ligand kapılı iyon kanallarını aktive edebilir. İyon akımı ve travma sonucu membran depolarizasyonu voltaja duyarlı iyon kanallarını tetikleyebilir, sonrasında iyon hareketine başka yollar sağlar. Bu iyonik bozukluklar ekstrasellüler  $K^+$ ’da artış, beraberinde ekstrasellüler  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$  ve  $Cl^-$ ’da azalma ile belirlenir. İyonik homeostazın yeniden sağlanması  $Na^+-K^+$  adenosin trifosfataz,  $Na^+/K^+/2Cl^-$  cotransporter,  $Na^+-H^+$  transporter  $Na^+-Ca^{+2}$  değiştiricisi gibi enerjiye bağlı co- ve counter (birlikte ve karşılıklı) işlemler veya vasküler ya da BOS kompartmanına basit sürüklenme yolu ile olabilir. Beyin yaralanmasına eşlik eden iyonik hareketteki net dengenin ekstrasellüler boşluklardan hücrelerin içine katyon hareketine neden olduğundan kuşkulanan mantıklıdır.  $Na^+$  ve  $Ca^{+2}$  hareketini elektronötraliteyi korumak için pasif olarak  $Cl^-$  ve bunu da izoozmotik olarak su takip eder. Devam ederse bu iyonik bozukluklar KİB artışının esas katılımcısı olduğu gösterilen hücre şişmesi ve sitotoksik ödeme neden olabilir (69).



|                                        | <i>Vazojenik</i>                                                                                                                                                   | <i>Sitotoksik</i>                                                                                                                                | <i>Ozmotik</i>                                                         | <i>İnterstisyel</i>                                                         |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>Neden</b>                           | KBB hasarı,<br>Akut: travma,<br>inme, hemoraji,<br>arteriyel<br>hipertansiyon<br>Kronik: Tümör,<br>apse, ensefalit                                                 | İskemi, Anoksi,<br>İntoksikasyon                                                                                                                 | Metabolik<br>bozukluk:<br>Diyaliz,<br>Dehidratasyon,<br>Diyabetik koma | Obstriktif<br>hidrosefali                                                   |
| <b>Oluşumu</b>                         | Doku hasarı<br>sonucu kapiller<br>endotel<br>hücrelerinin<br>geçirgenlik<br>artışı                                                                                 | 1. Hücre<br>zarında<br>Na/K<br>geçirgenliğinde<br>artış<br>2. Na/K-ATPaz<br>pompasında<br>bozukluk<br>3. Osmotik<br>maddelerin<br>alımında artma | Ozmotik<br>gradient<br>(plazma→doku)                                   | Beyinomurilik<br>sıvısının geri<br>emilimi ya da<br>efluksunun<br>bozulması |
| <b>Geçirgenlik</b>                     | Artar                                                                                                                                                              | Değişmez                                                                                                                                         | Değişmez                                                               | Değişmez                                                                    |
| <b>Ödem<br/>sıvısının<br/>özelliği</b> | Proteinden<br>Zengin                                                                                                                                               | Protein yok<br>Elektrolitten<br>zengin                                                                                                           | Protein yok<br>Elektrolit oranı<br>çok<br>yüksek veya çok<br>düşük     | Normal beyin<br>omurilik<br>sıvısı                                          |
| <b>Morfoloji</b>                       | İnterstisyel<br>boşlukta<br>genişleme,<br>hücreler<br>şişmez;<br>Çoğunlukla<br>beyaz madde<br>etkilenir,<br>sekonder<br>olarak<br>astrositlerde<br>şişme gözlenir. | Hücreler şişer;<br>İnterstisyel<br>boşluk<br>azalır                                                                                              | Hücreler şişer;<br>İnterstisyel<br>boşluk<br>azalır                    | Sıvı hücreler<br>arasıdır;<br>İnterstisyel<br>boşlukta<br>genişleme         |

**Tablo 1: Ödem sınıflandırması (66)(67)(68).**

## KAN-BEYİN BARIYERİ

Kan beyin bariyeri (KBB) beyindeki vasküler endotel hücrelerinin oluşturduğu bir yapıdır. Endotel, astroglia, perisit hücreleri ve bazal laminanın oluşturduğu bu sistem dolaşımdaki maddelerin beyne geçmesini kısıtlar. Astrositlerin glial ayakları ve perisit adı verilen ve endotel hücrelerinin büyümesini kontrol eden kontraktıl hücreler bazal laminaya tutunan serebral endotel hücrelerini sıkıca sararlar. Bunlarla birlikte sıkı bağlantıları olan tek sıra hücreler KBB'ni oluşturmaktadır. Pinositik veziküllerin

eksikliği ve pencere bulunmaması da geçişi kısıtlamaktadır (70). Sıkı bağlantılar paraselüler geçişi kısıtlar. Ancak lipofil bileşikler çözünerek ya da difüzyonla geçebilir. Polar bileşikler ise özel taşıyıcılarla taşınır. KBB’nde 20’den fazla spesifik taşıyıcı pompanın varlığı saptanmıştır (71).

Beynin yaklaşık %1’inde KBB’nin bulunmadığı bazı bölgeler vardır. Sirkümventriküler organlarda (medyan eminens, area postrema, subfornikal organ, subkomissural organ, hipofiz bezi, nörohipofiz ve organum vasculosum) KBB yoktur (71).

### **Travma Sonrası Oksidan Hasar ve Savunma Mekanizmaları**

Memeli santral sinir sisteminde bazı aminoasitlerin metabolik fonksiyonlarının yanında nörotransmitter görevlerinde olduğu bilinmektedir. Elektrofizyolojik çalışmalar nörotransmitter olarak görev yapan aminoasit ileticilerinin iki grupta toplanabileceğini göstermiştir. Eksitator aminoasitler; iki adet karboksilik asit grubu içerirler (L-glutamik asit ve L-aspartik asit). İnhibitör aminoasitler ise monokarboksiliktirler (GABA, Taurin, Glisin, B-Alanin) (72).

Glutamat, santral sinir sisteminin en önemli eksitator nörotransmitteridir (73). Spesifik membran reseptörleri ile etkileşerek duysal enformasyonun iletilmesi, motor aktivite, spinal reflekslerin düzenlenmesi, hafıza ve öğrenme gibi birçok önemli fonksiyonda rol oynar (74)(75). Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun nöronal hasara yol açtığı Olney ve arkadaşları tarafından tanımlanmış ve eksotoksisite olarak isimlendirilmiştir (76)(77). Eksitator aminoasitlerin nörotoksik etkilerini açıklamak üzere birçok mekanizma ileri sürülmüştür. Eksitotoksinler tarafından tetiklenen hücre ölümü, akut nöronal şişmeye öncülük eden sodyum ve klorun ve daha sonra gecikmiş hasara yol açan kalsiyumun hücre içerisine girmesini sağlayan spesifik reseptörler tarafından yönetilir (77). Travmatik beyin yaralanması sonrası eksotoksisiteye neden olan aşırı glutamat birikimi, hücre membran polarizasyonuna bağlı olarak sinaptik veziküllerden glutamat salınımının uyarılması ve enerji yetmezliğine bağlı glutamat geri alım mekanizmalarının çalışmamasına bağlıdır (78).

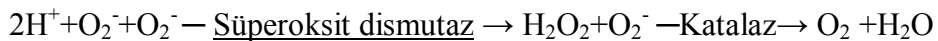
Oksidatif stres travmatik beyin yaralanmasına yanıt olarak reaktif oksijen türlerinin (oksijen serbest radikalleri ve süperoksidler, hidrojen peroksit, nitrik oksit ve peroksinitrit dahil ilişkili varlıklar) oluşumu ile bağlantılıdır. Eksitotoksisite ve endojen antioksidan sistemin (süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz)

tükenmesine bağı olarak reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi hücrel ve vasküler yapıların peroksidasyonu, protein oksidasyonu, DNA parçalanması ve mitokondriyal elektron transport zincirinin inhibisyonunu indükler. Bu mekanizmaların hemen hücre ölümüne katılımı yeterli ise de oksidatif stres enflamatuvar süreçler ile erken veya geç apoptotik programları indükler (79)(80)(81).

### **Serbest radikaller ve Oksidan hasar**

Beyinde travma sonrası oluşan iskemik dokunun reperfüzyonu sırasında gerçekleşen tekrar oksijenlenme (reoksijenasyon) bir yandan nöronal canlılığın devamını sağlarken diğer yandan da reaktif oksidanların oluşumuna yol açan sayısız enzimatik oksidasyon reaksiyonu için substrat olarak gerekli olan oksijeni ortama getirmektedir (82)(83).

Son yıllarda serbest radikallerin nöral doku iskemisini takiben meydana gelen patolojik değişikliklerden sorumlu olduğu gösterilmiştir (84). Travmadan sonra geri dönüşümsüz olarak hasarlanan hücreler, sağlam hücreler için toksik olan bazı kimyasal maddeler salarlar. Bu toksinlerin bazıları serbest radikaller adı verilen kaçak oksijen molekülleridir (47). Bu serbest radikaller dış yörüngelerinde bir fazla elektron (çiftlenmemiş) bulunan reaktif moleküllerdir (32). Bu elektron başka biolojik moleküllere kolayca aktarılarak oksidasyonu sağlar. Normal hücrel yollarda oksijeni indirmek için üretilmişlerdir. Serbest radikaller normal koşullarda mitokondride oluşur ve antioksidan sistemlerle zararlı etkileri engellenir (32). Süperoksit radikali oksijen molekülünün bir elektron daha alarak redükte olması sonucu oluşur. Mitokondride elektron transportu, süperoksit ile yapılır. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini, hidrojen peroksit'e ( $H_2O_2$ ) çevirir.  $H_2O_2$  zayıf oksidan ve zayıf redüktandır. Fe ve diğer katalazlar tarafından hidroksil radikaline (HO) çevirirler (85)(86). Hidroksil radikali hidrojen peroksit'e bir elektron ilavesi veya oksijen molekülüne 3 elektron verilmesiyle oluşur. Bilinen en güçlü oksidan radikalidir ve küçük miktarlarda bile bulunduğu yerde aşırı hasar yapabilir. Bu radikaller lipidlerle, proteinlerle ve nükleik asitlerle reaksiyona girerler ve daha çok serbest radikal açığa çıkaran lipid peroksitleri yaparlar (85).



Travmaya uğramış sinir sisteminde travmadan birkaç dakika veya saatler sonra birçok sebepten dolayı süperoksit radikali oluşur. Bu mekanizmalar; araşidonik asit kaskadı, biyojenik amin nörotransmitterlerin otoenzimatik otooksidasyonu, mitokondrial ksantin oksidaz aktivasyonu ve ekstravaze oksihemoglobin oksidasyonudur. Hücrenin maruz kaldığı iskemi ve bunu takip eden reperfüzyon esnasındaki serbest oksijen radikali artışı karşısında endojen antioksidanlar, serbest oksijen radikali temizleyicileri ve peroksidazlar yetersiz kalmaktadır (84).

Hayvanlarda SSS mekanik travması sonrasında reaktif oksijen türevlerindeki belirgin artış artık çok iyi bilinmektedir. Dokunun oksidatif stresini azaltmanın, sekonder nöron hasarını azaltmada efektif bir farmakolojik yaklaşım için potansiyel bir hedef olduğu düşünülmektedir. Farklı mekanizmalarla olsada askorbik asit ve hipotermi sinerjik etki ile ROS (reaktif oksijen türevleri) üretimini ve ilişkili hasarı azaltır (87). Serbest radikaller hücreyi oluşturan tüm yapılarla reaksiyona girebilirler ancak bu etkileşime en hassas yapılar lipitlerdir (85). Yüksek oranda poliansatüre yağ asitleri içeren hücre membranının yıkılması, serbest radikallere bağlı nöronal hasar oluşumunun en önemli aşamasıdır (88). Serbest yağ asitlerinin, serbest radikallerle oksidasyonu 'lipid peroksidasyonu' olarak adlandırılır. Lipid peroksidasyonu, radikallerin ortaya çıkması ve doymamış yağ asitlerinin bir hidrojen atomu alması ile başlar. Oksijen molekülü ile birleşerek peroksil radikalini oluşturur (84). Hücre membranında meydana gelen lipid peroksidasyonu membran lipoproteinlerinin oksidasyonu ve yapısal bütünlüğün bozulmasına yol açarak anormal iyon girişi ile hücre ölümüne neden olur (33). Klinik gözlemler beyin lezyonunun sekonder yaralanma ile büyüdüğünü gösterir. Altta yatan moleküler ve hücresel mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Mevcut kanıtlar serbest oksijen radikal oluşumu ve membran lipitlerinin peroksidasyonunun rol oynadığını göstermektedir. Deneysel olarak lipid peroksidasyon seviyesini belirleyerek bazı terapötik yaklaşımların etkinliği değerlendirilmiştir. Peroksidasyon, lipid peroksidasyon ürünlerinden biri olan malondialdehidin (MDA) dokudaki miktarı ölçülerek değerlendirilmiştir. Peroksidasyon artışı hücresel tahribatı değerlendirmede değerli bir parametredir (41). Vücutta aşırı serbest radikal oluşumunu engelleyen, ya da oluşmuş radikalleri yok etme işlevine sahip birçok antioksidan mekanizma mevcuttur. Bunlar süperoksit-dismutaz, glutatyon-peroksidaz, katalaz gibi reaktif O<sub>2</sub> türevlerini daha az toksik ürünlere çeviren antioksidan enzim sistemleri; alfa tokoferol, askorbat,

ürük asit, glutatyon, beta karoten gibi serbest radikal nötralizatörleri ve bazı reaksiyonlarda demir ve bakırı bağlayan ferritin, transferin, serüloplazmin ayrıca mitokondride oluşan radikalleri suya indirgeyen sitokrom oksidaz gibi antioksidan sistemlerdir (58).

Beyin KBB ile korunmuş olmakla birlikte oksidan hasara karşı çok daha duyarlıdır. Bunda endojen antioksidan kapasitenin azlığı ve beynin yağ asidi, askorbat ve demirden zengin olması gibi yapısal faktörlerin rolü vardır (80).

### **DNA Hasarı [8HİDROKSİ 2 DEOKSİ GUANOZİN (8-OHdG)]**

Serbest radikaller nükleik asit baz modifikasyonları yaparak, nokta mutasyonlara ve DNA zincir kırıklarına neden olabilir. DNA hasarına yol açan hidroksil radikallerinin,  $H_2O_2$  ve süperoksitin geçiş metalleriyle reaksiyonu sonucu oluştuğu gösterilmiştir (89). Geçiş metalleri ve serbest radikallerin etkisiyle DNA'da oluşan majör oksidatif etkiler sarmal açılmaları, depürinasyon, çapraz bağlanma ve baz modifikasyonları olarak bilinmektedir (90).

Timin bazı, timin glikol ve 5-hidroksimetil urasile, guanin bazıda 8-hidroksiguanine dönüşür (90). İn vivo reaktif oksijen türleri hasarının hassas birer göstergesi olan 8-OH-dGua (8-hidroksi-2-deoksiguanozin) ve 8-OH-Gua (7,8-dihidro-8-oksoguanin) mutajenik olmaları nedeniyle potansiyel birer karsinogenez belirteci olarak düşünülebilirler (91). Timin glikol hücre içinde oluştuktan 24 saat sonra kandan temizlenerek idrara geçer. İdrarda bulunan deoksitimin glikol diyet kaynaklı değildir. İdrar timin glikol düzeyi de oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak değerlendirilir (92).

### **Lipit Peroksidasyonu [Malondialdehit (MDA)]**

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonu ve prostaglandin biyosentezinde doğal olarak meydana gelen, mutajenik ve karsinojenik bir üründür. DNA ile reaksiyona girerek deoksiguanozin ve deoksiadenozine bağlı form oluştururlar. Bu reaksiyonlar sonucu oluşan majör form, M1G olarak isimlendirilen pirimidopürinondur. Bakterilerde bölgeye spesifik mutajenik etki gösterir ve nükleotid kesilerek onarım yolağında onarılırlar. M1G, sağlıklı insanların karaciğer, lökositler, meme ve pankreasında  $10^{-8}$  nükleotid başına  $1^{-120}$  düzeylerinde saptanmıştır (93).

Lipit peroksidasyonu tepkimeleri serbest radikallerin poliansature yağ asidi zincirinin  $\alpha$ -metilen gruplarından bir hidrojen uzaklaştırması ile başlamaktadır (94). Böylece bir yağ asidi zinciri radikal niteliği kazanır. Oluşan lipit radikali (L ) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle molekül içi çift bağ aktarılması ile diğer konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra lipit radikallerinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu lipit peroksit radikali (LOO<sup>•</sup>) meydana gelmektedir. Bu lipit peroksit radikali de zar yapısındaki diğer bir poliansature yağ asidini etkileyerek yeni lipit radikalının oluşumunu sağlamakta kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşmektedir. Böylece reaksiyonun otokatalitik bir biçimde yürümesi sağlanmaktadır. Lipit peroksidasyonu lipit hidroperoksitlerinin aldehit (MDA: Malondialdehit) ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona ermektedir (95).

#### **Ubikinonlar [Redükte Koenzim Q, KOENZİM Q10 (CoQ10)]**

Koenzim Q10 (KoQ10; Ubikinol-10 ve/veya Ubikinon-10) hücredeki enerji üretimi sırasında kilit enzimatik reaksiyonlarda koenzim olarak görev yapan, her hücrede bulunabilen, yağda çözünen, vitamin benzeri bir bileşiktir (96)(97). Ubikinonlar, yağda eriyen, izopren veya farnesil içeren kinon türevleridir ve antioksidan etkiye sahiptir (98). Plazma seviyesi 0.05-0.15 mM arasında değişir. Redükte koenzimQ (CoQH<sub>2</sub>); perferil, peroksil ve lipit radikalleri ile reaksiyona girebilmekte ve lipit peroksidasyonunun başlama ve ilerleme aşamalarını inhibe etmektedir. Hücrede lipit peroksidasyonunu önlemesi nedeniyle CoQH<sub>2</sub>'nin kanser gelişme yatkınlığını azalttığı düşünülmektedir (99).

#### **Endojen (Doğal) Antioksidanlar**

##### **Enzimatik Antioksidanlar**

**Süperoksid dismutaz (SOD):** Süperoksidin hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler.



SOD'nın fizyolojik etkisi, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksid serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD aktivitesi, yüksek oksijen

kullanımı olan dokularda ve özellikle eritrositlerde fazladır. SOD ayrıca fagosit edilmis bakterilerin öldürülmesinde rol oynar, bundan dolayı granülosit fonksiyonları için oldukça önemlidir (100).

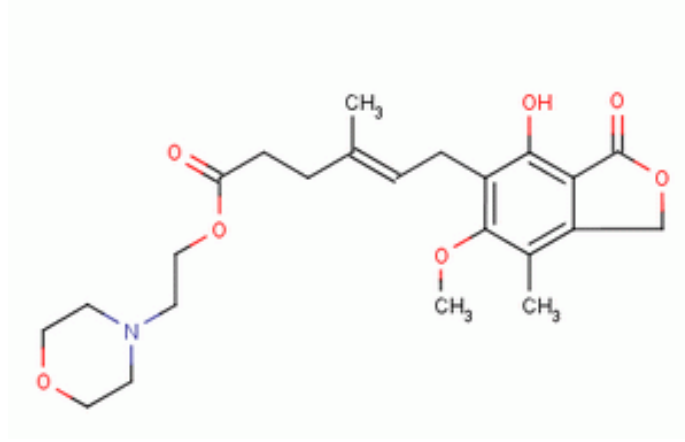
**Glutasyon peroksidaz (GSH-Px):** sitozolik bir enzimdir. Hidroksiperoksidlerin indirgenmesinden sorumludur (101).



Hidroksiperoksidlerin redükte olmasıyla meydana gelen okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktazın katalizlediği reaksiyonla tekrar glutatyona (GSH) dönüşür (102). Glutasyon peroksidaz serbest radikal peroksidasyonu ile fagositik hücrelerin zarar görmesine engel olur.

### 3.MYCOPHENOLATE MOFETİL (MMF)

#### MMF GENEL BİLGİ



**Şekil 1: MMF moleküler yapısı**

MMF otoimmün hastalıklarda kullanılmıştır (104)(106).

Mikofenolat mofetil (MMF) yeni geliştirilen, etki mekanizması yönünden azatiyopürin'e (AZP) benzer, potent immünsüpresif bir ajandır. Eski bir ilaç olan mikofenolik asit (MFA)'in öncü (prodrug), semi-sentetik bir morfolinoester türevi olup, MFA'dan daha yüksek biyoyararlanıma ve immün baskılayıcı özelliğine sahiptir (103)(104). MFA, bir *Penicillium* fungus ürünüdür. İlk kez 1896 da anti-neoplastik; 1946'da anti-viral, anti-fungal; 1969'da immünsüpresif aktiviteleri gösterilmiştir (103)(104). MMF; 1990'da renal transplantasyonlardan sonra organ reddinin önlenmesinde kullanılmış, 1995'de FDA (Food and Drug Administration) tarafından onay almıştır (105).

Mikofenolat mofetil (MMF), bir immünsüpresif olan mikofenolik asidin (Mycophenolic acid: MPA) ester predrug formudur. Mikofenolat mofetil (MMF) immunosupresif olarak mikrogial ve astrositik aktivasyonu inhibe etmek ve nöronal hasar sonrası hücre ölümünü önemli ölçüde azaltma kapasitesine sahiptir (107).



## ETKİ MEKANİZMASI

Mikofenolat mofetilin aktif komponenti olan MPA, inozin monofosfat dehidrogenaz (IMPDH) enziminin selektif ve reversibl inhibitörüdür (108).

IMPDH, de novo pürin sentezinde hız sınırlayıcı enzimdir ve inozinden guanozin nükleotidlerinin oluşumunu katalize eder. MMF ile guanozin nükleotidlerinin (guanozin monofosfat, guanozin trifosfat ve deoksiguanozin trifosfat) deplesyonu T ve B lenfositler üzerinde antiproliferatif etki gösterir. Vücudumuzda lenfositler dışındaki diğer hücrelerin DNA ve RNA sentezi için gerekli olan nükleotidlerin sağlanması için alternatif "salvage" yolunu kullanabilmesi, lenfositlerin ise normal fonksiyonları ve proliferasyonlarını sağlamak için IMPDH'nin hız sınırlayıcı enzim olduğu de novo yoluna bağımlı olması, MMF'nin lenfositler üzerindeki selektif etkisini açıklar (109).

In vitro olarak MMF, T ve B hücre proliferasyonunu bloke eder, antikor oluşumunu engeller ve sitotoksik T hücre oluşumunu inhibe eder. Ek olarak, fibroblast ve endotelial hücrelerin mitojenik cevaplarını baskılar, mikst lenfosit cevabını engeller, humoral immün cevabın göstergesi olan anti-vimentin antikorlarını baskılar, mezangial hücre aktivasyonunu engeller, adezyon moleküllerinin ve/veya ligandlarının glikozilasyonunu azaltır (110). MMF, oral yoldan alındığında tam olarak absorbe olur ve hızla esterazlar yoluyla hidrolize olarak MPA'ya dönüşür (111).

#### 4. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi ve Deney Hayvanları Etik Kurulu kararıyla 05/09/2013 tarihinde 2013/09/... Protokol numarasıyla onaylanmış olup, 01.06.2013 ile 01.03.2014 tarihleri arasında yapılmıştır. Çalışmada daha önce herhangi bir deneyde kullanılmamış ağırlıkları 200-350 gram arasında değişen 29 adet erişkin erkek Wistar-Albino rat kullanıldı. Ratlar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edildi. Çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi Laboratuvarında yapıldı.

##### **Hayvanlar dört gruba ayrıldı**

**A grubu:** Kontrol grubu (n=6) (Travma ve ilaç verilmeyen grup).

**B grubu:** Travma oluşturulmayan ve intraperitoneal yolla 30 mg/kg MMF uygulanan grup (n= 7).

**C grubu:** Travma grubu (n=8),

**D grubu:** Travma oluşturulan ve intraperitoneal yolla 30 mg/kg MMF uygulanan grup (n=8 ).

Cerrahi işlem öncesi tüm sıçanlara intraperitoneal yolla 10 mg/kg dozunda xylazin (Rompun, Bayer Birleşik Alman İlaç Fabrikaları, İstanbul) ve 70-90 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer İlaçları Limited Şirketi, İstanbul) uygulandı. Gereksinim duyulması durumunda başlangıçta uygulanan dozların %20'sini aşmayan dozlar aralıklı olarak tekrarlandı. Travma modeli için Marmorou'nun tarif ettiği impact akselerasyon tekniğinden faydalanılarak 1 joule'lük enerji oluşturularak kafa travması oluşturuldu (114)(20)(115).

Marmorou'nun ağırlık düşürme modeli, dış çapı 21mm iç çapı 17mm olan silindirik bir boru içerisinden 0,5 metre yükseklikten 0,2 kg ağırlığındaki metal çubuktan dik olarak bırakılması şeklinde uygulandı (Resim 1). Silindirin yüksekliği ve düşürülecek ağırlık  $E=m.g.h$  formülü ile hesaplandı. Böylece uygulanacak travma standardize edilmiş oldu.

$$E = m \cdot g \cdot h, \quad E: 0,2 \times 10 \times 0,5 = 1 \text{ joule}$$

E: Enerji (joule), M:kütle (0,2 kg), g:Yerçekim ivmesi (g:10), h:Yükseklik, (0,5 metre).



**Resim 1: Marmarou'nun impact akselerasyon travma modeli**

A grubu (Kontrol grubu) 0.saatte intraperitoneal yolla xylazin ve ketamin uygulandı. 1.saatte intraperitoneal yolla 1cc serum fizyolojik uygulandı. MMF verilmedi ve travma uygulanmadı. 24.saatte intraperitoneal yolla xylazin ve ketamin verilerek torakotomi uygulandı. Ekssanguinasyon uygulandı. Ratların beyin dokusu hasarsız olarak alındı.

B grubu (MMF verilen grup) 0.saatte intraperitoneal yolla xylazin, ketamin uygulandı. Travma oluşturulmadı. İntraperitoneal yolla MMF (30 mg/kg) 1.saatte verildi. 24.saatte intraperitoneal yolla xylazin ve ketamin verilerek torakotomi uygulandı. Ekssanguinasyon uygulandı. Ratların beyin dokusu hasarsız olarak alındı.

C grubu (travma grubu) intraperitoneal yolla 0.saatte xylazin ve ketamin uygulandı. Marmarou'nun impact akselerasyon travma modeli ile diffüz kafa travması oluşturuldu. 1.saatte 1cc serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı. MMF uygulanmadı. 24.saatte intraperitoneal yolla xylazin ve ketamin verilerek torakotomi uygulandı. Ekssanguinasyon uygulandı. Ratların beyin dokusu hasarsız olarak alındı.

D grubu (travma oluşturulan ve MMF verilen) intraperitoneal olarak 0.saatte xylazin ve ketamin uygulandı. Marmarou'nun impact akselerasyon travma modeli ile diffüz kafa travması oluşturuldu. 1.saatte intraperitoneal yolla MMF (30 mg/kg) uygulandı. 24.saatte intraperitoneal yolla xylazin ve ketamin verilerek torakotomi uygulandı. Ekssanguinasyon uygulandı. Ratların beyin dokusu hasarsız olarak alındı.

Deney sonrası tüm gruptaki ratlar 24 saat süreyle Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi Laboratuvarında standart rat yemi ve su ile beslendi. 24 saat sonra tüm grupta yer alan ratlara xylazine ve ketamin hidroklorür kullanılarak derin anestezi oluşturuldu. Derin anesteziyi takiben ratlara torakotomi uygulandı. Torakotomi sonrasında serum fizyolojik ile 2 dakika süreyle intrakardiyak perfüzyon yapılırken karaciğere kesi uygulandı. Perfüzyondan hemen sonra beyin dokusu hızlı bir şekilde hasarsız olarak çıkarıldı. Serum fizyolojik ile yıkandı. Deneklerin beyin dokusu verteks hizasında travma bölgesi merkezlenip her iki frontoparyetal bölgeyi içine alacak şekilde ikiye bölündü. Dokulardan birisi histopatolojik inceleme için formaldehit sıvısı içerisine diğeri de biyokimyasal analiz yapmak için 2 cc serum fizyolojik içine konularak -40°C'de bekletildiler.

Formaldehit sıvısı içerisine konulan %50 beyin dokuları histopatolojik analizleri yapılmak üzere 100. Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD laboratuvarına teslim edildi.

2cc Serum fizyolojik sıvı içerisine konulan %50 beyin dokuları -40°C bekletildi. Doku analizleri yapılmak üzere 100. Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD laboratuvarına teslim edildi.

Deney süresince ratlardan kontrol grubunda 2 rat öldü. Bir rat travma esnasında hemen öldü. 2. rat 12 saat sonra öldü. Ayrıca B grubundan bir rat biyokimyasal çalışma

yapılırken beyin dokusunda biyokimyasal parametreleri çalışılmadığı için deneyden çıkarıldı.



**Resim 2: Normal Beyin dokusu görünümü**



**Resim 3: Travma sonrası 1. gün ekssanguinasyon uygulanıp kraniotomi uygulanan ratların beyin dokusu görünümü**

## **HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA**

Tüm gruplardaki ratların beyin dokularının %50'i histopatolojik çalışma yapılmak üzere ayrıldı. Histopatolojik inceleme için travma bölgesini içerecek şekilde alınan beyin dokusu örnekleri Yüzüncü Yıl üniversitesi Tıp fakültesi Patoloji Laboratuvarında %10'luk tamponlu formaldehitte tespit edilen dokular ışık mikroskopunda incelenmek üzere otomatik vakumlu doku takip cihazı ile takip edildi. Parafin bloklara gömüldü. Dört mikron kalınlığında kesitler alındı. Lamlara alınan bu kesitler histopatolojik değerlendirme için Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Olympus BX50 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz Sistemi (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) ile incelenerek Olympus E330 basic marka fotoğraf makinası ile fotoğrafları çekildi.

## **BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA**

Tüm gruplardaki ratların beyin dokularının %50 beyin dokuları 2 cc serum fizyolojik içerisine konuldu. Biyokimyasal kitlerden olan 8-hidroksi-2-deoksi guanozin (8-OHdG/dG  $10^6$ ), Malondialdehit (MDA) (mikromol/gr doku), Koenzim Q 10 (CoQ10 ), SOD (IU/gr doku) ve GSH (mikromol/gr doku) düzeyleri ölçüldü. Ölçüm yöntemleri aşağıdaki şekilde yapıldı.

**8 hidroksi 2 deoksi guanozin (8-OHdG) ölçüm şekli:** Dokunun hazırlanması: 50-200 mg doku buzda ya da +4 °C'de 1 mL homojenizasyon tamponu ile (30mM Tris pH 8, 10 mM EDTA, 10 mM 2-merkapto etanol, % 0.5 (v/v) Triton X100) mekanik homojenizatör ile homojenize edildi. Elde edilen karışım 10 dK 1000 g'de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı.. Elde edilen pellet 1 ML ekstraksiyon tamponu ile ( 0.1 M Tris pH 8, 0.1 M NaCl, 20 mM EDTA) tekrar süpansedilerek, 30 sn vortexlenerek homojen hale getirildi ve 1000 g de 2 dK santrifüj edildi. Elde edilen pellet tekrar ekstraksiyon

tamponu eile süspanse edildi. Süspansiyon vortexlendi ve iyice karışması sağlandı. Karışıma 400 µL fenol eklendi ve 1 dK kuvvetlice vortexlendi. Fazların ayrılması için oda sıcaklığında 10 dK beklendi ve üst faz ayrılarak temiz bir tüpe konuldu. Temiz tüpe alınan kısma 400 µL kloroform-izopropanol eklendi (24:1) 10000 g de 10 dK santrifüj edildi ve üst faz yine temiz bir tüpe alındı. Kontaminasyondan kaçınıldı. Son santrifüjden elde edilen karışıma 40 µL 3 M sodyum asetat pH 5 ve 800 µL buz soğukluğunda etanol eklendi ve yavaşça alt üst edilerek karışması sağlandı. 10000 g de 15 dK santrifüj edildi. Üstte kalan kısım tamamen uzaklaştırıldı ve altta kalan kısma 1 mL %70 lik etanol eklendi (116).

**Hidroliz işlemi:** Son olarak elde edilen 1 mL lik karışıma 0.5mL %60'lık formik asit eklendi. Tüplerin ağzı kapatıldı. 60 dK 150 °C 'de bekletildi. Tüplerin soğuması beklendi. Soğuyan tüplerdeki formik asitin uzaklaşması için oda sıcaklığında bekletildi ve yaklaşık 1 mL lik karışım -20 °C de çalışma gününe kadar saklandı (117). HPLC ile analiz: 8-OHdG ve dG seviyeleri daha önceden tanımlanmış olan sistemlerle çeşitli dalga boylarında HPLC-UV ve HPLC-ECD elektrokimyasal dedektörlerle HPLC' de ölçüldü. HPLC analizinden önce hidrolize DNA örnekleri HPLC eluent ile yeniden çözüldü. Son hacim 1ml olacak. 20 µL son hidrolizat HPLC-ECD (HP, HP 1049A ECD detector, Agilent 1100 modular sistemler HP 1049A ECD dedektör, Almanya): Kolon, ters faz –C18 (RP-C18) analitik kolon (250 mm × 4.6 mm × 4.0 µm, Phenomenex, CA). Mobil faz, dakikada 1 ml akış hızına sahip olan asetonitril (97: 3, v/v) içeren 0.05 M potasyum fosfat [pH 5.5] tamponundan meydana gelmekteydi. dG konsantrasyonu 245 nm' de absorbanı ölçülerek, 8-OHdG elektrokimyasal okumayla (600 mV) gözlemlendi. dG ve 8-OHdG, Sigma marka dG ve 8-OHdG standartları kullanılarak miktarları belirlendi. DNA hasarı göstergesi olarak 8-OHdG/ dG 10<sup>6</sup> olarak verildi (118).

**Coenzym Q10 Analizi:** Dokunun hazırlanması: 200-300 mg doku 2 mL 2-propanol içine konarak ultrasonikatörde 10 dk bekletildi. Bu işlem de 2-propanol buz gibi soğuk olmalı tüp bir buz içine yerleştirilerek ultrasonikatörde bekletildi. Karışım 30 sn vortekslelendikten sonra 10.000 rpm de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant temiz bir tüpe alınarak çalışma gününe kadar -80 °C de saklandı. Ubiquinol-10 ve ubiquinon-10 analizi Mosca ve arkadaşlarının tanımladığı şekilde yapıldı. İkiyüz mikro litre süpernatant örneğine 50 µL 1-4 benzoquinon (2mg/mL) eklendi ve 10 sn vorteksle karıştırıldı. Oda

sıcaklığında 10 dakika inkübe edildikten sonra 1 mL n-propanol eklendi. 1000 rpm’de 2 dk santrifüj edildikten sonra 200 µL süper natan HPLC-UV sistemine verildi. UV dedektör 275 nm ye akış hızı 1ml/dk ya ayarlandı. Mobil faz olarak %65-35 etanol, metanol karışımı, kolan olarakta Supercosil LC 18 (Supelco) 25x 0.46 cm i.d. 5 µm kullanılacaktır.. Sonuçlar Ubiquinol-10/ubiquinon-10 şeklinde verildi (119)(120).

**MDA Analizi:** Doku numuneleri homojenize edildi. Her gram başına 9 mL %1,15 KCl tamponu ile homojenizasyon işlemi yapıldı. Bu homojenat 10000 rpm de 30 dk santrifüj yapıldı. Supernatan alındı. Hesaplama yapıldı: Şayet sadece absorbans değerleri okunup standart çalışılmıyacaksa hesaplama aşağıdaki şekilde yapıldı.  $MDA (nmol/mL) = (Abs/0,156) \times DF = Abs \times 320$ ,  $MDA (nmol/ gr protein) = (Abs \times 320 \times 10) / (gr/mL protein)$  (121).

Süperoksit dismutaz (SOD) (IU/gr doku) Enzim Aktivitesi Ölçümü: SOD enzim aktivitesi ölçümü nitroblue tetrazolium (NBT) ile ortaya çıkan O<sub>2</sub>’nin indirgenmesi esasına dayanan Sun ve arkadaşlarının yöntemine göre yapıldı (122).

**Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) (mikromol/gr doku) Enzim Aktivitesi Ölçümü:** GSH-Px aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının yöntemine göre; NADP’ın enzim aktivitesiyle ortamdan uzaklaştırılması sonucu 340 nm ’de absorbansın azalması ölçüldü (123).

## İSTATİSTİK ANALİZ

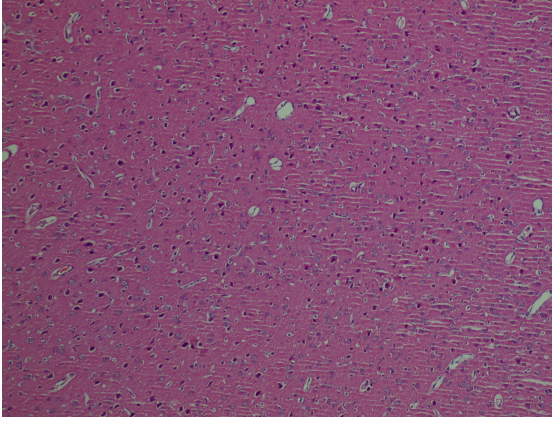
Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değer olarak ifade edilmiştir. Bu özellikler bakımından grupları karşılaştırmada Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testini takiben farklı grupları belirlemede Dunnet testi kullanılmıştır. Özellikler arası ilişkileri belirlemede gruplarda ayrı ayrı olmak üzere Spearman korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.



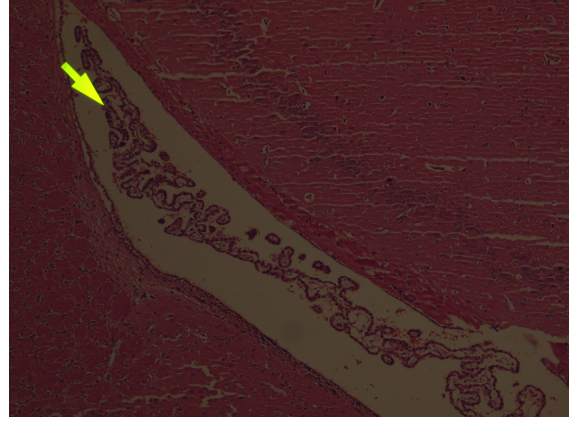
## 5. BULGULAR

### HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

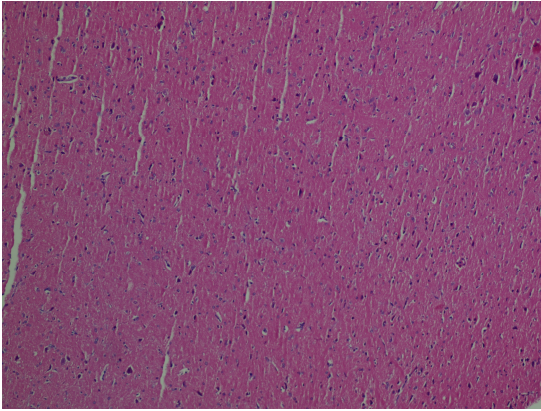
Tüm grupların hematoxylen&Eozin boyamalarında sıçanların beyin dokusu kesitlerinde, dıştan pia mater ile çevrili olarak dışta gri cevherden oluşmuş korteks ve içte beyaz cevherden meydana gelen medulla yapısı açıkça seçiliyordu. Korteks ve medulla tabakalarındaki nöronlar, gial doku ve vasküler yapılar normal histolojik yapıda gözlemlendi. Ventriküller açık ve koroid pleksus yapıları normal histolojik yapıda değerlendirildi (Resim 4-5-6-7-8-9-10-11).



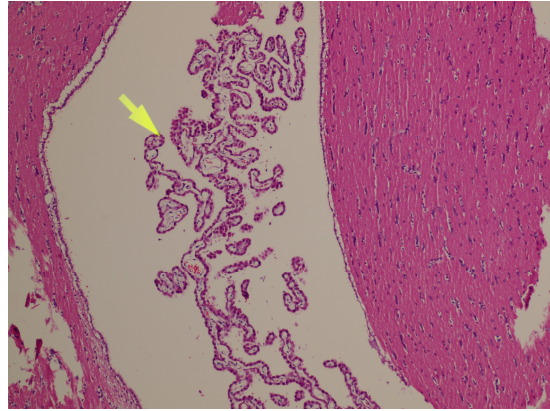
**Resim 4**



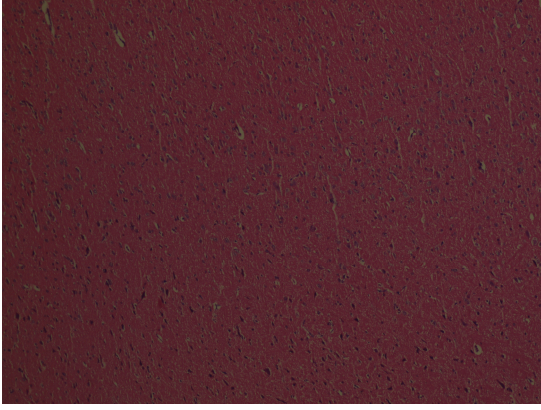
**Resim 5**



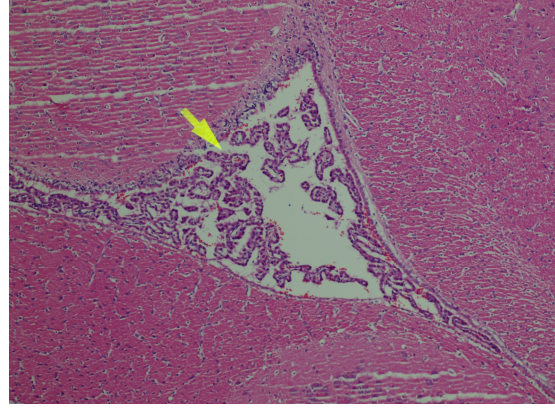
**Resim 6**



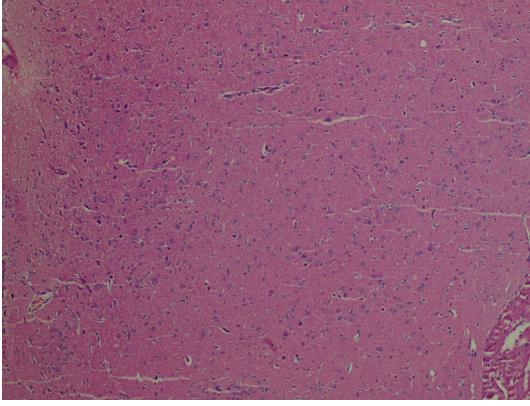
**Resim 7**



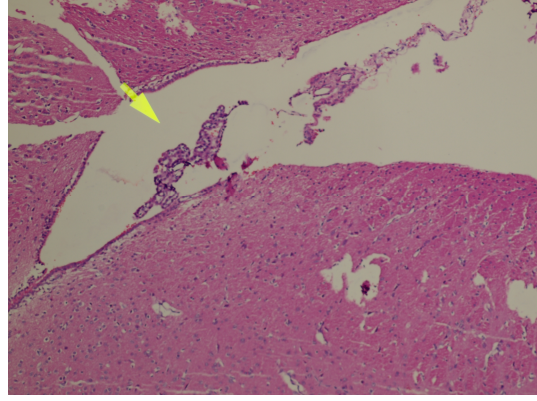
**Resim 8**



**Resim 9**



**Resim 10**



**Resim 11**

**Resim 4 ve 5: A grubu**

**Resim 6 ve 7: B grubu**

**Resim 8 ve 9: C grubu**

**Resim 10 ve 11: D grubu**

**Resim 4-6-8-10 : Normal histolojik yapıda beyin korteks görünümleri. (HE&100)**

**Resim 5-7-9-11: Ventrikül içinde normal histolojik yapıda koroid pleksus görünümleri. (HE&100)**

## BİYOKİMYASAL BULGULAR

Tüm grupların 8 hidroksi 2 deoksi guanozin (8-OHdG), Malondialdehit (MDA), Koenzim Q 10 (CoQ10 ), SOD (IU/gr doku) ve GSH (mikromol/gr doku) ölçüm sonuçları tablo 2’de verilmiştir. Özellikler arası ilişkileri belirlemede gruplarda ayrı ayrı olmak üzere Spearman korelasyon katsayısı hesaplanması tablo 3-4-5-6 da verilmiştir.

|                                      | Grup | Median | Ort.    | Std. Sap. | Min. | Mak.  | p     |
|--------------------------------------|------|--------|---------|-----------|------|-------|-------|
| MALONDİALDEHİT<br>(MİKROMOL/GR DOKU) | A    | 1,37   | 1,43 c  | 0,37      | 0,94 | 1,97  | 0,001 |
|                                      | B    | 2,95   | 3,00 bc | 1,40      | 0,96 | 5,39  |       |
|                                      | C    | 6,10   | 5,38 a  | 2,14      | 1,22 | 7,60  |       |
|                                      | D    | 3,66   | 3,87 ab | 1,28      | 1,72 | 5,73  |       |
| 8-OHdG/10 <sup>6</sup> dG            | A    | 1,44   | 1,36 ab | 0,24      | 0,98 | 1,59  | 0,050 |
|                                      | B    | 1,32   | 1,21 b  | 0,33      | 0,55 | 1,54  |       |
|                                      | C    | 1,39   | 1,51 ab | 0,26      | 1,22 | 1,92  |       |
|                                      | D    | 1,57   | 1,73 a  | 0,49      | 1,16 | 2,43  |       |
| SOD (IU/gr doku)                     | A    | 6,60   | 6,12    | 1,15      | 4,30 | 7,20  | 0,456 |
|                                      | B    | 6,80   | 7,88    | 2,99      | 4,30 | 12,50 |       |
|                                      | C    | 5,75   | 6,95    | 3,06      | 4,25 | 12,60 |       |
|                                      | D    | 6,35   | 6,19    | 0,90      | 4,30 | 7,20  |       |
| Total Coq10                          | A    | 3,58   | 3,58    | 0,70      | 2,55 | 4,35  | 0,216 |
|                                      | B    | 3,53   | 3,48    | 1,34      | 1,87 | 5,43  |       |
|                                      | C    | 2,97   | 3,16    | 0,51      | 2,47 | 3,77  |       |
|                                      | D    | 2,76   | 2,69    | 0,68      | 1,67 | 3,89  |       |
| Coq10                                | A    | 1,73   | 1,65    | 0,41      | 0,99 | 2,00  | 0,670 |
|                                      | B    | 1,91   | 1,77    | 0,49      | 1,10 | 2,46  |       |
|                                      | C    | 1,54   | 1,57    | 0,55      | 0,99 | 2,55  |       |
|                                      | D    | 1,46   | 1,50    | 0,27      | 1,08 | 1,98  |       |
| GSH Px (mikromol/gr doku)            | A    | 15,07  | 15,77 a | 5,59      | 9,97 | 23,42 | 0,030 |
|                                      | B    | 11,36  | 10,87 b | 2,98      | 5,79 | 14,14 |       |
|                                      | C    | 8,81   | 8,79 b  | 2,85      | 3,94 | 13,22 |       |
|                                      | D    | 8,10   | 9,44 b  | 5,30      | 3,01 | 20,64 |       |
| Oran (coq10/totalcoq)                | A    | 0,47   | 0,47    | 0,10      | 0,28 | 0,58  | 0,544 |
|                                      | B    | 0,51   | 0,57    | 0,26      | 0,26 | 1,06  |       |
|                                      | C    | 0,47   | 0,50    | 0,15      | 0,28 | 0,68  |       |
|                                      | D    | 0,58   | 0,57    | 0,10      | 0,35 | 0,69  |       |

**Tablo 2: Değişkenlerin gruplara göre karşılaştırma sonuçları ve tanımlayıcı istatistikleri**

|                                         | MALONDİALDEHİT<br>(MİKROMOL/GR<br>DOKU) | 8-<br>OHdG/10 <sup>6</sup><br>dG | SOD<br>(IU/gr<br>doku) | Total<br>Coq10 | Coq10  | GSH Px<br>(mikromol/gr<br>doku) | Oran<br>(coq10/totalcoq) |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------|------------------------|----------------|--------|---------------------------------|--------------------------|
| MALONDİALDEHİT<br>(MİKROMOL/GR<br>DOKU) | 1,000                                   |                                  |                        |                |        |                                 |                          |
| 8-OHdG/106 dG                           | 0,600                                   | 1,000                            |                        |                |        |                                 |                          |
| SOD (IU/gr doku)                        | -0,200                                  | 0,200                            | 1,000                  |                |        |                                 |                          |
| Total Coq10                             | -0,314                                  | -0,543                           | -0,14                  | 1,000          |        |                                 |                          |
| Coq10                                   | 0,143                                   | -,657                            | -0,37                  | 0,543          | 1,000  |                                 |                          |
| GSH Px (mikromol/gr<br>doku)            | -0,657                                  | 0,029                            | 0,029                  | 0,314          | -0,486 | 1,000                           |                          |
| Oran (coq10/totalcoq)                   | 0,543                                   | 0,029                            | 0,029                  | -0,543         | 0,371  | -0,886*                         | 1,000                    |

\* p<0,05 ; \*\* p<0,01

**Tablo 3: A Grubu için Spearman korelasyon katsayıları**

|                                         | MALONDİALDEHİT<br>(MİKROMOL/GR<br>DOKU) | 8-<br>OHdG/10 <sup>6</sup><br>dG | SOD<br>(IU/gr<br>doku) | Total<br>Coq10 | Coq10  | GSH Px<br>(mikromol/gr<br>doku) | Oran<br>(coq10/totalcoq) |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------|------------------------|----------------|--------|---------------------------------|--------------------------|
| MALONDİALDEHİT<br>(MİKROMOL/GR<br>DOKU) | 1,000                                   |                                  |                        |                |        |                                 |                          |
| 8-OHdG/10 <sup>6</sup> dG               | 0,360                                   | 1,000                            |                        |                |        |                                 |                          |
| SOD (IU/gr doku)                        | -0,321                                  | -0,487                           | 1,000                  |                |        |                                 |                          |
| Total Coq10                             | 0,357                                   | 0,505                            | -0,75                  | 1,000          |        |                                 |                          |
| Coq10                                   | 0,679                                   | -0,234                           | -0,18                  | 0,143          | 1,000  |                                 |                          |
| GSH Px (mikromol/gr<br>doku)            | -0,393                                  | 0,234                            | ,000                   | -0,179         | -0,536 | 1,000                           |                          |
| Oran (coq10/totalcoq)                   | 0,000                                   | -0,685                           | 0,714                  | -0,857*        | 0,321  | -0,214                          | 1,000                    |

\* p<0,05 ; \*\* p<0,01

**Tablo 4: B Grubu için Spearman korelasyon katsayıları**

|                                      | MALONDİALDEHİT<br>(MİKROMOL/GR DOKU) | 8-OHdG/106 dG | SOD<br>(IU/gr doku) | Total Coq10 | Coq10  | GSH Px<br>(mikromol/gr doku) | Oran<br>(coq10/totalcoq) |
|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------|---------------------|-------------|--------|------------------------------|--------------------------|
| MALONDİALDEHİT<br>(MİKROMOL/GR DOKU) | 1,000                                |               |                     |             |        |                              |                          |
| 8-OHdG/106 dG                        | 0,419                                | 1,000         |                     |             |        |                              |                          |
| SOD (IU/gr doku)                     | 0,467                                | 0,571         | 1,000               |             |        |                              |                          |
| Total Coq10                          | 0,311                                | 0,048         | 0,143               | 1,000       |        |                              |                          |
| Coq10                                | 0,036                                | 0,143         | 0,286               | 0,429       | 1,000  |                              |                          |
| GSH Px (mikromol/gr doku)            | 0,012                                | 0,238         | 0,667               | 0,048       | 0,286  | 1,000                        |                          |
| Oran (coq10/totalcoq)                | -0,132                               | 0,119         | 0,262               | 0,095       | 0,929* | 0,190                        | 1,000                    |

\* p&lt;0,05 ; \*\* p&lt;0,01

**Tablo 5: C Grubu için Spearman korelasyon katsayıları**

|                                      | MALONDİALDEHİT<br>(MİKROMOL/GR DOKU) | 8-OHdG/106 dG | SOD<br>(IU/gr doku) | Total Coq10 | Coq10 | GSH Px<br>(mikromol/gr doku) | Oran<br>(coq10/totalcoq) |
|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------|---------------------|-------------|-------|------------------------------|--------------------------|
| MALONDİALDEHİT<br>(MİKROMOL/GR DOKU) | 1,000                                |               |                     |             |       |                              |                          |
| 8-OHdG/106 dG                        | -0,024                               | 1,000         |                     |             |       |                              |                          |
| SOD (IU/gr doku)                     | 0,643                                | 0,024         | 1,000               |             |       |                              |                          |
| Total Coq10                          | -0,286                               | 0,286         | 0,286               | 1,000       |       |                              |                          |
| Coq10                                | 0,238                                | 0,452         | 0,024               | 0,667       | 1,000 |                              |                          |
| GSH Px<br>(mikromol/gr doku)         | -0,119                               | -0,167        | 0,333               | 0,833*      | 0,500 | 1,000                        |                          |
| Oran<br>(coq10/totalcoq)             | 0,452                                | -0,143        | 0,571               | 0,762*      | 0,167 | -0,762*                      | 1,000                    |

\* p&lt;0,05 ; \*\* p&lt;0,01

**Tablo 6: D Grubu için Spearman korelasyon katsayıları**

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre MDA düzeyi bakımından gruplar arası farkı istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ( $p:0,001$ ). Buna göre en yüksek MDA ortalaması C grubunda gözlenirken bunu sırasıyla D ve B grupları izlemiştir. B grubundan olan farkı istatistik olarak önemli bulunmamakla birlikte en düşük değerin A grubunda olduğu görülmüştür. Benzer şekilde C grubundaki en yüksek ortalama değeri ile D grubu arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamış ancak, C grubunun A ve B gruplarından olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. Buna göre ilaç içeren gruplardan D grubunun MDA düzeyi, kontrol grubundan farklı bulunmuş diğer ilaç grubu olan B nin ise kontrol grubundan olan farkı istatistik olarak önemli bulunmamıştır. C ve D gruplarının kontrol grubundan olan farkları da istatistik olarak anlamlı bulunmuştur.

İstatistik olarak 8-OHdG düzeyi bakımından gruplar arası farkın istatistik olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $p:0,050$ ). 8-OHdG düzeylerinin A, C ve D grupları ile B grubu arasında farkları istatistik olarak anlamlı bulunmuştur. Yine A, B ve C grupları ile D grubu arasında farkları istatistik olarak anlamlı bulunmuştur.

SOD düzeyleri arasındaki farkın istatistik olarak önemli olmadığı görülmüştür ( $p:0,456$ ). SOD düzeylerinin gruplar arasındaki farkları istatistik olarak önemli bulunmamıştır.

GSH Px düzeyleri arasındaki farkın istatistik olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $p:0,030$ ). A grubu ile B, C ve D grupları arasında farkları istatistik olarak anlamlı bulunmuştur.

Oran ( $\text{Coq10} / \text{totalCoq}$ ) düzeyleri arasındaki farkın istatistik olarak önemli olmadığı görülmüştür ( $p:0,544$ ). Oran ( $\text{Coq10} / \text{total Coq10}$ ) düzeylerinin gruplar arasındaki farkları önemli bulunmamıştır.

Çalışılan özellikler arası ilişkileri belirlemek üzere gruplarda ayrı ayrı yapılan (Spearman) korelasyon analizleri sonucunda Kontrol grubunda GSH Px değeri ile Oran  $\text{coq10}/\text{totalcoq}$  değeri arasında %88.6 negatif korelasyon saptanmıştır. Buna göre kontrol grubunda GSH Px'nın artması durumunda %88.6 oranında Oran ( $\text{coq10}/\text{totalcoq}$ ) değerinin azaldığı veya Oran ( $\text{coq10}/\text{totalcoq}$ ) değerinin artması durumunda %88.6 oranında GSH Px değerinin azaldığı söylenebilir.



Benzer şekilde D grubunda da aynı özellikler arasında % 76.2 oranında negatif korelasyon bulunmuştur. Bu durumda kontrol grubunda GSH Px'nin artması durumunda % 76,2 oranında Oran (coq10/totalcoq) değerinin azaldığı veya Oran (coq10/totalcoq) değerinin artması durumunda % 76,2 oranında GSH Px değerinin azaldığı söylenebilir.

#### **Spearman korelasyon katsayılarına göre**

A grubunda GSH/ Oran (coq10/totalcoq)= -0,886 ( $p<0,05$ ), saptandı (Tablo 3).

B grubunda oranlarda istatistik açıdan farklılık gözlenmedi (Tablo 4).

C grubunda oranlarda istatistik açıdan farklılık gözlenmedi (Tablo 5).

D grubunda GSH/ Oran (coq10/totalcoq)= -0,762 ( $p<0,05$ ), saptandı (Tablo 6).

## 6. TARTIŞMA VE SONUÇ

TBH toplumda görülme sıklığının yüksekliği, fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan oluşturduğu hasarın büyüklüğü ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememiş olması nedeniyle günümüzde halen önemini sürdürmektedir. Geliştirilmeye çalışılan etkin farmakolojik tedavi yöntemleri travma sonrası gelişen süreçlerin patofizyolojisinin iyi anlaşılması gerekliliğini ortaya koymaktadır (124).

Bilindiği gibi TBH sonrası nörolojik hasar, primer mekanik yaralanma ile olduğu kadar doku hasarına yol açan hücre ölümü kaskatlarından da kaynaklanmaktadır. Eş zamanlı mekanik doku hasarından kaynaklanan primer yaralanma, nekrotik hücre ölümü ile sonuçlanır. Sekonder hasarlanma, yaralanma ile tetiklenen bir olaylar kaskadı, endojen hücre ölümü yollarının aktivasyonunun eseridir (125). Primer mekanik yaralanmanın tedavisi mümkün değildir. Sekonder yaralanmaya yönelik çalışmaların amacı, lezyon bölgesinde canlılığını koruyan nöronları korumak ve ilerleyici hasarlanmayı arttıracak patolojik süreçleri engellemektir (126). Böylelikle nöronal yaralanmada deneysel ve klinik araştırmaların büyük kısmı sekonder yaralanmayı önlemek ya da azaltmaya yöneliktir (125).

İnsandaki kafa travmasının primer ve sekonder sebeplerini araştırmak ve insan beyni mevcut sinir hasarını onarmaya yönelik çeşitli tedavi yöntemlerini geliştirmek için kafa travması hayvan modelleri yapılmaktadır. Deneysel modellerin temel amacı nekrotik ve apoptotik nöronal hücre ölümünü ortaya koymaktır (127).

Çalışma için seçilen deneysel model, diğer modellere göre uygulanması kolay, ucuz, kontrol edilebilir bir model olan Marmarou'nun impakt akselerasyon modelidir. Bu model hem apoptotik, hem de nekrotik hücre ölümü ortaya çıkarmaktadır. Bu hasara bağlı olarak artan oksidatif hasar, iskemi, nitrik oksidin kalsiyuma bağlı üretimi, hücrel membranlara serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyonu, enflamatuvar ve immunolojik cevap, glutamat gibi ekstitatör aminoasitlerin salınması, eksitotoksikite, nörotransmitter ve nöromodülatör sistemlerin bozulması ile sekonder yaralanma kaskadının içerikleri ortaya konulabilmektedir (31)(18).



Histolojik olarak yaygın bilateral nöron, akson, dentrit hasarı ve mikrovasküler hasar ile diffüz aksonal yarananma ortaya çıkar. Wagner ve arkadaşlarının, TBY oluşturdukları maymunların ultrastrüktüel incelemelerinde, mekanik travmaya bağlı hasarın ilk fazında beyin dokusunda, özellikle gri cevherde peteşiyel hemorajiler şeklinde ortaya çıktığı gözlenmiştir. Bu mikrosirkülasyondaki travmaya bağlı olarak damarlarda oluşan proteinöz sızıntı, beyinde ödeme yol açarak kafa içi basıncının artmasına ve kan akımının azalmasına neden olur. Ortaya çıkan tablo “posttravmatik iskemi”dir (112). Beyin dokusu iskemi reperfüzyon hasarına son derecede duyarlıdır. Bundan dolayı beyin dokusunda iskemi ve tekrarlayan reperfüzyona bağlı olarak nöronal hasar ve apoptozis gelişir (113).

**Sonuç olarak:** Literatür araştırmalarında MMF nin böbrek, karaciğer ve kalp nakillerinde kullanılan bir ön ilaç olup beyin ve periferik sinir sisteminde yeterli sayıda deneysel çalışma yapılmadığı literatür çalışmamızda gözlenmiştir. Çalışmamızda kullanılacak olan MMF daha önce kafa travmalı ratlarda kullanılan bir çalışma saptanmamıştır. Ancak MMF nin spinal travma oluşturulan ratlarda çalışma yapıldığı literatürde tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda Mycophenolate mofetil Wistar albino ratlara 30 mg/kg dozunda tek doz uygulandı. 24 saat sonra tüm ratlar eksanguinasyon uygulanıp kraniotomi ile beyin dokuları hasarsız olarak alındı.

Histopatolojik değerlendirilme tüm grupların H&E boyanmasında ışık mikroskop altında hücresel olarak değerlendirilmesinde farklılık gözlenmedi.

Travma sonucu dokuda Oran (Coq10/total Coq) ve SOD düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı. MDA düzeyinde tedavi grubunda MMF’in antioksidan etki gösterdiği ve böylece doku MDA düzeyini tedavi grubunda travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını göstermiştir. 8-OHdG düzeyinde tedavi grubunda MMF’in antioksidan etki gösterdiği ve böylece doku 8-OHdG düzeyini tedavi grubunda travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını göstermiştir. GSH Px düzeyinde tedavi grubunda MMF’in antioksidan etki

gösterdiği ve böylece doku GSH Px düzeyini tedavi grubunda travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını göstermiştir.

Çalışmamız sonucunda MMF nin histopatolojik değerlendirilmesinde gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir. MMF nin biyokimyasal çalışmalar açısından Oran (Coq10/total Coq) ve SOD düzeyinin antioksidan etki göstermemiş olup 8-OHdG, MDA ve GSH Px düzeyleri antioksidan etki göstermiştir. Çalışmamız MMF nin deneysel kafa travmasında neuroprotectif etkili olup farklı sayıda deneysel ve klinik çalışma gerektirmektedir.

## KAYNAKLAR

- 1- Eugene P, Bell JD, Baker AJ. Traumatic brain injury: Can the consequences be stopped? CMAJ 2008;178:1163–1170
- 2- Jenneth B, Galbraith S. Head injuries: Pathology and natural history of head injury. An introduction to neurosurgery (4th ed). William Heinemann, London 1983, pp 214-233
- 3- Dohi K, Satoh K, Nakamachi T, et al. Does Edaravone (MCI- 186) act as an antioxidant and a neuroprotector in experimental traumatic brain injury? Antioxid Redox Signal 2007 Jan 1; [Epub ahead of print
- 4- Gentry LR. Imaging of Closed Head Injury. Radiology 1994;1: 1–17
- 5- Özben T: Pathophysiology of cerebral ischemia. Mechanism involved neuronal damage. In: Free radicals, Oxidative stress, and antioxidant (Eds. Özden T). Plenum Press, New York, 1998, 163-187.)
- 6- Head Trauma in: Alexander RH, Proctor HJ. Advanced Trauma Life Support. 3 Edition. American College of Surgeons. Chicago. 1993; 159-183.
- 7- Gaylan LR. Head Injury in: Tintinalli JE, Ruiz E, Krome LR. Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide. 3 edition. McGraw Hill. New York. 1992; 913-921.
- 8- Jennett B, Historical perspective on head injury. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT. eds. Neurotrauma. McGraw Hill: New York; p.3–12, 1996
- 9- Textbook of Neurological Surgery. Batjer HH, Loftus CM (eds). Volume 3, X. Cranial and Cerebral Trauma Section, 2795- 2803, 2003.
- 10- Denny-Brown D, Russell WR. Experimental cerebral concussion. J Physiol 99(1):153, 1940.
- 11- Capra V, Ambrosio M, Riccioni G, Rovati GE. Cysteinyl-leukotriene receptor antagonists: present situation and future opportunities. Curr Med Chem 13(26): 3213–3226, 2006.

- 12- Kraus JF, McArthur DL, Silverman TA, Jayaraman M: Epidemiology of brain injury, In: Narayan RK, ). Wilberger JE, Povlishock JT (eds). Neurotrauma. Mc Graw Hill Companies. pp 13-30, 1996.
- 13- Neave V, Weiss MH. Neurological evaluation of a patient with head trauma: coma scales. In Wilkins HR, Rengacharty SS (eds).Neurosurgery. Mc Graw Hill Book Co. 1570-1577, 1985.
- 14- Hall ED, Braughjer JM. Central nervous system and stroke. II. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. Free Radic Biol Med 6: 303–313, 1989.
- 15- Gökalp HZ, Erongun U. Kafa Travmaları. Nöroşirürji ders kitabı. Gökalp HZ, Erongun U (ed). Ankara, s.202-251, 1988.
- 16- Iacoangeli M, Roselli R, Pompucci A, Scerrati M. Acute menagement of head injury. Contemp Neurosurg 22: 1–8, 2000.
- 17- Valadka AB, Narayan RK: Emergency room management of the head-injured patient, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). Neurotrauma. Mc Graw Hill Companies. pp119-135,1996
- 18- Cernak I. Animal models of head trauma. NeuroRx 2(3): 410–422, 2005
- 19- Seleyumun kafa travmasına bağlı davranışsal ve biyokimyasal değişikliklere etkisi, Dr.Senem Şahin ÇELİK, İstanbul, 2009
- 20- Marmarou A, Foda MA, van den Brink W, Campbell J, Kita H, Demetriadou K.A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. J Neurosurg 80(2): 291–300, 1994
- 21- Gennarelli TA, Meaney DF: Mechanisms of primary Head İnjury, In: Wilkins RH, Rengachary SS (eds). Neurosurg.2 nd ed. New York: McGraw-Hill, pp:2611-2621, 1996

- 22- Crooks CY, MD, Zumsteg JM, Bell KR. Traumatic Brain Injury: A Review of Practice Management and Recent Advances. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 18: 681–710, 2007
- 23- Ergüngör MF. Kafa travmalarında patofizyoloji, Temel Nöroşirürji. Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları. Ankara 27: 298–305. 2005.
- 24- Marik PE, Varon J, Trask T. Management of head trauma. *Chest* 2002;122:699-711.
- 25- Graham DI, Neuropathology of the head injury. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT. eds. *Neurotrauma*. Mc Graww Hill: New York; p.43–58, 1996
- 26- Temel Nöroşirürji. Kaya Aksoy (ed), Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları, 2005.
- 27- Jennett B, Lindsay KW. Temel Nöroşirürji. Çeviri: Özcan OE, Turgut M, Açıkgöz B. 1994; . 229-32
- 28- Graham DI, Adams JH, Doyle D, Teasdale GM, Lawrence AE, McLellan DR. Ischaemic brain damage is still common in fatal non-missile head injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 52: 346–350, 1989
- 29- Huang XJ, Zhang WP, Li CT, Shi WZ, Fang SH, Lu YB, Chen Z, Wei EQ. Activation of CysLT receptors induces astrocyte proliferation and death after oxygen-glucose deprivation *Glia* 56(1): 27–37, 2008
- 30- Agraval SK, Nashmi R, Fehlings MG: Role of L and N type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience*; 99: 179-188, 2000
- 31- Eugene SF, Ramachandra PT: Neuroprotection in brain and spinal cord trauma. *Current Opinion in Anaesthesiology*;18: 181-187, 2005
- 32- Miller JD, Piper IR, Jones PA, Pathophysiology of head injury. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT. eds. *Neurotrauma*. Mc Graww Hill: New York; p.61–69, 1996
- 33- Oliver I. Schmidt, Christoph E. Heyde, Wolfgang Ertel, Philip F. Stahel. Closed head injury—an inflammatory disease? *Brain Research Reviews* 48: 388– 399, 2005

- 34- Werner C, Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Br J Anaesth* 99(1): 4–9, 2007
- 35- DeWitt DS, Prough D. Traumatic cerebral vascular injury: the effects of concussive brain injury on the cerebral vasculature. *J Neurotrauma* 20: 795–825, 2003
- 36- Popp AJ, Feustel PJ, Kimelberg HK, athophysiology of traumatic brain injury, In: Wilkins RH, Rengachary SS (eds). *Neurosurg.* 2 nd ed. New York: McGraw-Hill, pp:2623-2637, 1996
- 37- Tanrıverdi B: Serebral metabolizma, serebral kan akımı ve anesteziyelerin etkisi, Keçik Y, Ünal N (ed), *Nöroanestezi, Atlas Kitapçılık, Ankara*, 1: 1-41, 2000
- 38- Bouma GJ, Muizelaar JP. Cerebral blood flow, cerebral blood volume, and cerebrovascular reactivity after severe head injury. *J Neurotrauma* 9: 333–348, 1992
- 39- Coles JP, Fryer TD, Smielewski P, Rice K, Clark JC, Pickard JD, Menon DK. Defining ischemic burden after traumatic brain injury using 15O PET imaging of cerebral physiology. *J Cereb Blood Flow Metab* 24: 191–201, 2004
- 40- Inoue Y, Shiozaki T, Tasaki O, Hayakata T, Ikegawa H, Yoshiya K, Fujinaka T, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H. Changes in cerebral blood flow from the acute to the chronic phase of severe head injury. *J Neurotrauma* 22: 1411–1418, 2005
- 41- Overgaard J, Tweed WA. Cerebral circulation after head injury. *J Neurosurg* 59: 439–446, 1983
- 42- Cunningham AS, Salvador R, Coles JP, Chatfield DA, Bradley PG, Johnston AJ, Steiner LA, Fryer TD, Aigbirhio FI, Smielewski P, Williams GB, Carpenter TA, Gillard JH, Pickard JD, Menon DK. Physiological thresholds for irreversible tissue damage in contusional regions following traumatic brain injury. *Brain* 128: 1931–1942, 2005
- 43- Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *J Cereb Blood Flow Metab* 24: 133–150, 2004
- 44- Rodriguez-Baeza A, Reina-De La Torre F, Poca A, Marti M, Garnacho A. Morphological features in human cortical brain microvessels after head injury: a three-dimensional and immunocytochemical study. *Anat Rec Part A* 273: 583–593, 2003
- 45- Armstead WM. Differential activation of ERK, p38, and JNK MAPK by nociceptin/orphanin FQ in the potentiation of prostaglandin cerebrovasoconstriction after brain injury. *Eur J Pharmacol* 529: 129–135, 2006

- 46- Kelly DF, Martin NA, Kordestani R, Counelis G, Hovda DA, Bergsneider M, McBride DQ, Shalmon E, Herman D, Becker DP. Cerebral blood flow as a predictor of outcome following traumatic brain injury. *J Neurosurg* 86 (4): 633–641, 1997
- 47- Martin NA, Patwardhan RV, Alexander MJ, Africk CZ, Lee JH, Shalmon E, Hovda DA, Becker DP. Characterization of cerebral hemodynamic phases following severe head trauma: hypoperfusion, hyperemia, and vasospasm. *J Neurosurg* 87: 9–19, 1997
- 48- Kelly DF, Kordestani RK, Martin NA, Nguyen T, Hovda DA, Bergsneider M, McArthur DL, Becker DP. Hyperemia following traumatic brain injury: relationship to intracranial hypertension and outcome. *J Neurosurg* 85 (5): 762–771, 1996
- 49- Werner C, Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Br J Anaesth* 99(1): 4–9, 2007
- 50- Lee JH, Kelly DF, Oertel M, McArthur DL, Glenn TC, Vespa P, Boscardin WJ, Martin NA. Carbon dioxide reactivity, pressure autoregulation, and metabolic suppression reactivity after head injury: a transcranial Doppler study. *J Neurosurg* 95: 222–232, 2001
- 51- Glenn TC, Kelly DF, Boscardin WJ, McArthur DL, Vespa P, Oertel M, Hovda DA, Bergsneider M, Hillered L, Martin NA. Energy dysfunction as a predictor of outcome after moderate or severe head injury: indices of oxygen, glucose, and lactate metabolism. *J Cereb Blood Flow Metab* 23: 1239–1250, 2003
- 52- Tavazzi B, Signoretti S, Lazzarino G, Amorini AM, Delfini R, Cimatti M, Marmarou A, Vagnozzi R. Cerebral oxidative stress and depression of energy metabolism correlate with severity of diffuse brain injury in rats. *Neurosurgery* 56: 582–589, 2005
- 53- Verweij BH, Muizelaar JP, Vinas F, Peterson PL, Xiong Y, Lee CP. Impaired cerebral mitochondrial function after traumatic brain injury in humans. *J Neurosurg*. 93: 815–820, 2000
- 54- Magnoni S, Ghisoni L, Locatelli M, Caimi M, Colombo A, Valeriani V, Stocchetti N. Lack of improvement in cerebral metabolism after hyperoxia in severe head injury: a microdialysis study. *J Neurosurg* 98: 952–958, 2003
- 55- Johnston AJ, Steiner LA, Coles JP, Chatfield DA, Fryer TD, Smielewski P, Hutchinson PJ, O'Connell MT, Al-Rawi PG, Aigbirihio FI, Clark JC, Pickard JD, Gupta

- AK, Menon DK. Effect of cerebral perfusion pressure augmentation on regional oxygenation and metabolism after head injury. *Crit Care Med* 33: 189–195, 2005
- 56- Stiefel MF, Udoetuk JD, Spiotta AM, Gracias VH, Goldberg A, Maloney-Wilensky E, Bloom S, Le Roux PD. Conventional neurocritical care and cerebral oxygenation after traumatic brain injury. *J Neurosurg* 105: 568–575, 2006
- 57- Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM. The role of inflammation in CNS injury and disease. *Br J Pharmacol* 147 Suppl 1: 232–240, 2006
- 58- Potts MB, Koh SE, Whetstone WD, Walker BA, Yoneyama T, Claus CP, Manvelyan HM, Noble-Haeusslein LJ. Traumatic injury to the immature brain: inflammation, oxidative injury, and iron-mediated damage as potential therapeutic targets. *NeuroRx* 3: 143–153, 2006
- 59- Zhang Z, Artelt M, Burnet M, Trautmann K, Schluesener HJ. Early infiltration of CD8 macrophages/microglia to lesions of rat traumatic brain injury. *Neuroscience* 141: 637–644, 2006
- 60- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26;239-245, 1972
- 61- Li GL, Brodin G, Farroque M, et al. : Apoptosis and expression of Bcl-2 after compression trauma to rat spinal cord. *J Neuropathol Exp Neurol* 55: 280-289, 1996
- 62- Lou J, Lenke LG, Ludwig FJ et al: Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal Cord*. Oct;36(10):683-690,1998
- 63- Lou J, Ashwell K, Ken WS et al: Advances in spinal cord injury: Role of apoptosis *Spine*25; 1859-1866, 2000
- 64- Eldadah BA, Faden AI. Caspase pathways, neuronal apoptosis, and CNS injury. *J Neurotrauma* 17: 811–829, 2000
- 65- Kempinski O. Cerebral edema. *Semin Nephrol* 21(3): 303–307, 2001
- 66- Unterberg AW, Stover J, Kress B, Kiening KL. Edema and brain trauma. *Neuroscience*. 129(4): 1021–1029, 2004
- 67- Toklu et al., 2009 Toklu HZ, Uysal MK, Kabasakal L, Sirvanci S, Ercan F, Kaya M. The effects of riluzole on neurological, brain biochemical, and histological changes in early and late term of sepsis in rats. *J Surg Res.*;152(2):238-48. 2009
- 68- Kempinski O. Cerebral edema. *Semin Nephrol* 21(3): 303–307, 2001



- 69- Marmarou A. A review of progress in understanding the pathophysiology and treatment of brain edema. *Neurosurg Focus* 22(5): E1, 2007
- 70- De Vries HE, Kuiper J, De Boer AG, Van Berkel TJ, Breimer DD: The blood-brain barrier in neuroinflammatory diseases. *Pharmacol Rev* 49: 143–155, 1997
- 71- Smith QR. Transport of glutamate and other amino acids at the bloodbrain barrier. *J Nutr* 130 (4S Suppl): 1016–1022, 2000
- 72- Kruk Z, Pycock C: Neurotransmitters and drugs. London Chapman and Hall 1991
- 73- Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S et al: Acute spinal cord injury, Part1, Pathophysiologic mechanisms. *Clin. Neuropharmacolgy*; 24(5): 254-264, 2001
- 74- Praticò D, Reiss P, Tang LX, Sung S, Rokach J, McIntosh TK. Local and systemic increase in lipid peroxidation after moderate experimental traumatic brain injury. *J Neurochem* 80(5): 894–898, 2002
- 75- Reading HW, Isbir T. The role of cation activated ATPase in transmitter release from the art iris. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 65: 105–116,1980
- 76- Jones TR, Labelle M, Belley M, Champion E, Charette L, Evans J, Ford-Hutchinson AW, Gauthier JY, Lord A, Masson P, McAuliffe M, McFarlane CS, Metters KM, Pickett C, Piechuta H, Rochette C, Sawyer R, Rodger IW, Yoyng RN, Zamboni R, Abraham WM. Pharmacology of montelukast sodium (Singulair), a potent and selective leukotriene D4 receptor antagonist. *Can J Physiol Pharmacol.* 73(2): 191–201, 1995
- 77- Reilly PL. Brain injury: the pathophysiology of the first hours. 'Talk and Die revisited'. *J Clin Neurosci* 8(5): 398–403, 2001
- 78- Mills CD, Xu GY, McAdoo J et al: Involvement of metabotropic glutamate receptors in excitatory aminoacid and GABA release following spinal cord injury in rat. *J Neurochem*;79: 835-848, 2001
- 79- Bayir H, Kagan VE, Borisenko GG, Tyurina YY, Janesko KL, Vagni VA, Billiar TR, Williams DL, Kochanek PM. Enhanced oxidative stress in iNOS-deficient mice after traumatic brain injury: support for a neuroprotective role of iNOS. *J Cereb Blood Flow Metab* 25: 673–684, 2005
- 80- Chong ZZ, Li F, Maiese K. Oxidative stress in the brain: Novel cellular targets that governsurvival during neurodegenerative disease. *Prog Neurobiology* 75: 207–246, 2005

- 81- Shao CX, Roberts KN, Markesbery WR, Scheff SW, Lovell MA. Oxidative stress in head trauma in aging. *Free Radic Biol Med* 41: 77–85, 2006
- 82- Hall ED. Lipid antioxidants in acute central nervous system injury. *Annals of Emergency Med* 22: 1022-1027, 1993
- 83- Ikeda Y, Long DM. The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals. *Neurosurgery* 27(1):1-11, 1990
- 84- Marshall LF. Head injury: recent past, present, and future. *Neurosurgery* 47(3): 546–561, 2000
- 85- Miller DC. Use of perfusion fixation for improved neuropathologic examination. *Arch Pathol Lab Med.* 122(11):949, 1998
- 86- Moos MP, Mewburn JD, Kan FW, Ishii S, Abe M, Sakimura K, Noguchi K, Shimizu T, Funk CD. Cysteinyl leukotriene 2 receptor-mediated vascular permeability via transendothelial vesicle transport. *FASEB J* 22(12): 4352–4362, 2008
- 87- Morganti-Kossmann MC, Satgunaseelan L, Bye N, Kossmann T. Modulation of immune response by head injury. *Injury* 38(12): 1392– Bukan N 1400, 2007
- 88- Obrenovitch TP, Urenjak J. Is high extracellular glutamate the key to excitotoxicity in traumatic brain injury? *J Neurotrauma* 14: 677–698, 1997
- 89- Bukan N. Glibenklamidin streptozotosin-diabetik ratlarda kalp dokusu süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerine etkisi. *Uzmanlık Tezi Ankara: Gazi Üniversitesi; 1999*
- 90- Kasprzak KS Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis *Free Radical Biology & Medicine* 2002; 32(10):958-967
- 91- Lunec J, Hollaway KA, Cooke MS, et al. Urinary 8-Oxo-2'- Deoxyguanosine: Redox Regulation of DNA Repair In Vivo. *Free Rad. Biol. Med* 2002; 33(7):875-885
- 92- Cathcart R, Schwieters E, Saul RL, Ames BN, et al. Thymine Glycol and Thymidine Glycol in Human and Rat Urine: A Possible Assay for Oxidative DNA Damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989;86: 9697-9701
- 93- Dix T.A., Aikens J., Mechanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation, *Chem, Res. Toxicol*, 6: 2-18 1993
- 94- Sodergen EN. "Lipid peroxidation in vivo. Uppsala University. Uppsala, 2000:61s (Yayınlanmamış)

- 95- Bishop ML, Janet LP. Free Radicals in Clinical Chemistry: Principles, Procedures, Correlations. 3rd ed. Philadelphia, New York; 1996:765-777
- 96- R. Stocker, "Coenzyme Q<sub>10</sub>" Reviewed, Linus Pauling Institute Micronutrient Research for Optimum Health, <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/othernuts/coq10/>, (2007)
- 97- K. Overvad, B. Diamant, L. Holm, G. Hülmer, S.A. Mortensen, S. Stender, "Review Coenzyme Q10 in health and disease", European Journal of Clinical Nutrition, 53, 764-770, 1999
- 98- Powers SK, Sen CK, et al. Physiological antioxidants and exercise training: Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. Birinci Baskı. Amsterdam: Sen CK, Packer L, Hanninen O (eds) Elsevier; 1999)
- 99- Portakal O, Özkaya Ö, Erden İnal M, Bozan B, Kosan M, Sayek İ, Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer. Clinical Biochemistry 2000;33(4):279-284
- 100- McCord JM. Oxygen free radicals: release and activities. A superoxide-activated chemotactic factor and its role in the inflammatory process. Agents and Actions 10/6:522-527, 1980
- 101- Bast A, Haenen GRMM, Doelman CJA. Oxidants and antioxidants: state of the art. The Am J of Med 91: Suppl 3C-2S, 1991
- 102- Akkuş, İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya, Mimoza Yayınları, 1995
- 103- Mele ST, Halloran PF. The use of mycophenolate mofetil in transplant recipients. Immunopharmacology 2000; 47: 215-45
- 104- Lipsky JJ. Mycophenolate mofetil. Lancet 1996; 348: 1357-9
- 105- Kollman MG, Korting HC, Behrens S, et al. Mycophenolate mofetil: A new therapeutic option in the treatment of blistering autoimmune diseases. J Am Acad Dermatol 1999; 40: 957-60
- 106- Pan TD, McDonald C. Cytotoxic Agents. In: Wolverton SE, editor. Comprehensive Dermatologic Drug Therapy. 1st edition. London: WB Saunders Company; 2000. p.181-97

- 107- Fahim Ebrahimi, Marco Koch, Time dependent neuroprotection of mycophenolate mofetil: effects on temporal dynamics in glial proliferation, apoptosis, and scar formation
- 108- Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil a rationally designed immunosuppressive drug. Clin Transplant 1993;7:96- 104.
- 109- Long-term Graft and Patient Survival With Mycophenolate Mofetil Therapy in Renal Transplantation
- 110- Allison AC, Eugui EM. Preferential suppression of lymphocyte proliferation by mycophenolic acid and predicted long term effects of mycophenolate mofetil in transplantation. Transplant Proc 1994;26: 3205-3210
- 111- Bullingham RES, Nicholls A, Kamm Br. Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. Clin Pharmacokinet 1998;34: 429-55
- 112- Dohrman GJ, Wagner FC, Bucy PC: The microvasculature in transitory traumatic paraplegia: An electron microscopic study in the monkey. J Neurosurg; 35:263-271, 1971
- 113- Ozbal S, Erbil G, Koçdor H, Tuğyan K, Pekçetin C, Ozoğul C. The effects of selenium against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. 438 (3): 265-269, 2008.
- 114- Ucar T, Tanrioer G, Gurer I, Onal MZ, Kazan S. Modified experimental mild traumatic brain injury model. J Trauma 60(3): 558–565, 2006
- 115- Foda MA, Marmarou A. A new model of diffuse brain injury in rats. Part II: Morphological characterization. J Neurosurg 80(2): 301–313. 1994
- 116- Shigenaga MK, Aboujaoude EN, Chen Q & Ames BN (1994): Assays of oxidative DNA damage biomarkers 8-oxo-2'-deoxyguanosine and 8-oxoguanine in nuclear DNA and biological fluids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. Methods Enzymol 234: 16–33

- 117- Fabrizio Mosca, Daniele Fattorini, stefano Bompere ve Gian Paolo Littarru. Assay of Coenzym Q10 in Plasma by single Dilution Step. Analitical Biocehmistry 305, 49-54, 2002
- 118- Armstrong D. Free radical and antioxidant protocols. Introduction. Methods Mol Biol. 1998; 108:5–8
- 119- Edlund P. Determination of coenzyme Q10, a-tocopherol and cholesterol in biological samples by coupled-column liquid chromatography with coulometric and ultraviolet detection J Chromatogr 1988;425: 87– 97. Methods Enzymol. 2004; 378:170-6.
- 120- Assay of coenzyme Q10 in plasma by a single dilution step. Littarru GP, MoscaF, Fattorini D, Bompadre S, Battino M
- 121- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbutric acid reaction. Anal Biochem. 1979; 95: 351-358
- 122- Sun, Y., L.W. Oberley, and Y. Li, A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 34(3): p. 497-500, 1988
- 123- Paglia, D.E. and Valentine W.N., Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med. 70(1): p. 158-69, 1967
- 124- Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO et all: Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. Clin. Neuropharmacology; 24(5): 265-279, 2001
- 125- Kirshblum SC, Groah SL, Mckinley WO: Spinal cord injury medicine.1.Etiology, classification, and acute medical management. Arch Phys Med Rehabil. 83:50-57, 2002
- 126- Tator CH, Fehlings MG: Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanism. J Neurosurg 75:15-26, 1991
- 127- Hausmann R, Biermann T, Wiest I, Tübel J, Betz P. Neuronal apoptosis following human brain injury. Int J Legal Med 118(1): 32–36, 2004