

**T. C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKULTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL GEÇİCİ FOKAL SEREBRAL İSKEMİ
UYGULANAN RATLARDA QUETİAPİNE' İN NÖRONAL
APOPTOZİSDEKİ NÖRON KORUYUCU ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. MUHAMMET BAHADIR YILMAZ**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. A.MEMDUH KAYMAZ**

ANKARA

ARALIK 2009

**T. C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKULTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL GEÇİCİ FOKAL SEREBRAL İSKEMİ
UYGULANAN RATLARDA QUETİAPİNE' İN NÖRONAL
APOPİTOZİSDEKİ NÖRON KORUYUCU ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. MUHAMMET BAHADIR YILMAZ**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. A.MEMDUH KAYMAZ**

Bu çalışma Türk Nöroşirürji Derneği tarafından desteklenmiştir

**ANKARA
ARALIK 2009**

TEŞEKKÜR

Uzun ve zorlu uzmanlık eğitimim boyunca kazandığım tüm bilgi ve becerileri borçlu olduğum anabilim dalı başkanım Sayın Prof. Dr. Şükrü Aykol başta olmak üzere, anabilim dalımızın değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Necdet Çeviker' e, Sayın Prof. Dr. Aydın Paşaoğlu'na, Sayın Prof. Dr. Kemali Baykaner' e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam ve ihtisasım süresince bilgisi, tecrübesi ve önerileriyle bana her konuda maddi, manevi desteğini esirgemeyen tez danışmanım ve değerli hocam Sayın Doç. Dr. A.Memduh Kaymaz'a ve yine tez çalışmam esnasında histopatolojik incelemeleri titizlikle yapan Hacettepe Üniversitesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Figen Kaymaz ve Dr.Ayşegül Süzer'e teşekkür ederim.

Her zaman, her konuda bana destek olup, tecrübelerini benden esirgemeyen, gelecekte de tecrübelerinden faydalanmak isteyeceğim hocalarım ve ağabeylerim Sayın Doç. Dr. Fikret Doğulu, Sayın Doç. Dr. Gökhan Kurt ve Sayın Yrd. Doç.Dr. Hakan Emmez' e teşekkürlerimi sunarım.

Zorlu uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, birlikte çalışmaktan her zaman onur ve mutluluk duyduğum tüm doktor, hemşire ve personel arkadaşlarıma, zorlu tez sürecinde bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan Uzm.Dr Soner Şahin'e ve Uzm. Dr. Hamit Aytar'a teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Son olarak, yine bu zorlu eğitim dönemi boyunca hep yanımda olan eşim Sayın Dr. Semra Yılmaz' a, sevgili anne ve babama saygı ve sevgilerimi sunarım.

Dr. Muhammet Bahadır Yılmaz

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
KISALTMALAR	IV
GRAFİKLER DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
RESİMLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. İnsan Serebrovasküler Anatomisi	2
2.2. İskemik Serebrovasküler Olaylar	7
2.2.1. Genel bilgiler	7
2.2.2. İskemik Serebral Hasarlanma ve Fizyopatolojisi	9
2.3. Apoptozis	13
2.3.1. Nekroz ve Apoptozis Arasındaki Farklar	17
2.3.2. Apoptozis Mekanizmasında Yer Alan Moleküller	19
2.3.3. Apoptozis Mekanizmaları	21
2.3.4. Apoptozisin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	26
2.4. Serotoninerjik Yolaklar ve Apoptozis	33

2.4.1. Serotonin	33
2.4.2. Sentez, Biyotransformasyon ve Eliminasyon	36
2.4.3 Serotonin Reseptörleri	39
2.5. KETİAPİN(Quetiapine) (Serequel©)	44
2.5.1. Ketiapinin Moleküler Yapısı	44
2.5.2. Ketiapinin Etki Mekanizması	45
2.5.3. Ketiapinin İlaç Etkileşimleri	46
2.5.4 Ketiapinin Yan Etkileri	47
3. MATERYAL ve YÖNTEM	48
3.1. Geçici Fokal Serebral İskemi Modeli	49
3.2. Doku Takibi ve İmmunohistokimyasal Boyama	50
3.3. Kesitlerin Değerlendirilmesi	52
4. BULGULAR	54
5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ VE YORUMLANMASI	58
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	60
7. KAYNAKLAR	69
8. ÖZET	90
9. SUMMARY	91
10. ÖZGEÇMİŞ	93

KISALTMALAR

5-HIAA : 5-Hidroksi Indol Asetik Asit

5-HT : 5- hidroksitriptamin (serotonin)

5-HTT/SERT: 5- hidroksitriptamin transporter

ACTH: Adrenokortikotropik hormon

ADP: Adenozin difosfat

ASA: Anterior serebral arter

AkoA: Anterior komünikan arter

AISA: Anterio inferior serebellar arter

AIDS : Acquired immune deficiency syndrome (edinsel immün defekt sendromu)

AIF: Apoptosis-inducing factor

Apaf-1 : Apoptotic protease activating factor

APUD : Amin Prekürsör Uptake Dekarboksilaz

ATP : Adenozin trifosfat

BA: Baziller arter

BOS : Beyin Omurilik Sıvısı

Ca⁺⁺: Kalsiyum

CTZ: Kemoreseptör triger zone

DNA : Deoksiribonükleik asit

EKA: Eksternal karotid arter

ELISA : Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay

EPS : Ekstrapiramidal sistem

GİS : Gastrointestinal sistem

GÜS: Genitoüriner sistem

IBDM : İnsuline bağımlı diabetes mellitus

IKA: İnternal karotid arter

IL : Interlökin

K⁺: Potasyum

Kaspaz : (Caspase): cystein dependent aspartate spesific proteases

KKA: Kommon karotid arter

MAO : Monoamin Oksidaz

Na⁺: sodyum

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

NK1R : Nörokinin 1 reseptörü

NPY : Nöropeptid Y

NSAI : Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar

OSA: Orta serebral arter

PBS : Phosphate buffered saline (fosfat tampon solüsyonu)

PSA: Posterior serebral arter

PISA: Posterior inferior serebellar arter

PS : Fosfotidil serin

QTc : düzeltilmiş QT intervali

SKA: Serebral kan akımı

SSRI : Serotonin Spesifik Reuptake(Gerialım) İnhibitörü

SSS : Santral Sinir Sistemi

TNF- α : Tümör Nekrozis Faktör-alfa

TNFR : Tümör Nekroze Eden Faktör Reseptörü

TPH : Triptofan hidroksilaz

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP end labeling

VA: Vertebral arter

VMH : Ventromediyal Hipotalamik  ekirdek

GRAFİKLER DİZİNİ

**Grafik 1: Gruplarda saptanan median apoptotik hücre sayısının
grafiksel gösterimi.**

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Nekroz ve apoptoziste görülen ultrastrüktürel değişiklikler

Şekil 2. FAS (CD-95) reseptörü ve mitekondri aracılı apoptozis

Şekil 3. Ölüm reseptörleri aracılı ve mitokondri aracılı apoptozis

Şekil 4. Serotonin sentez ve eliminasyonu

Şekil 5. Ketiapin fumarate'ın Moleküler Yapısı

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Metil yeşili ile boyanmış nöron ve glial hücreler (x40).

Resim 2. Apopitag ile boyanıp kahverengi işaretlenmiş nöron ve glial hücreler. Siyah ok apoptotik bir hücreyi göstermektedir (x40).

Resim 3. Metil yeşili ile boyanmış nöron ve glial hücreler izlenmektedir (x40).

Resim 4. 1 günlük iskemi-kontrol grubunda(K-II) apopitag ile boyanıp kahverengi işaretlenmiş nöron ve glial hücreler. Siyah ok apoptotik hücreyi göstermektedir (x40).

Resim 5. 3 günlük iskemi-kontrol grubunda(K-III) apopitag ile boyanıp kahverengi işaretlenmiş nöron ve glial hücreler. K-II grubuna göre apopitag (+) hücreler daha fazla izlenmektedir. Siyah ok apoptotik hücreyi göstermektedir(x40).

Resim 6. 1 günlük iskemi-ilaç grubunda(D-I) metil yeşil ile boyanmış normal, apopitag ile boyanıp kahverengi işaretlenmiş nöron ve glial hücreler izlenmektedir(x40).

Resim 7. 3 günlük iskemi-ilaç grubunda(D-II) iskemik alandaki yoğun apopitag(+) hücrelerin(siyah ok) arasında metil yeşil ile boyanmış normal hücreler(mavi ok) izlenmektedir(x40).

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Serebral iskeminin fizyopatolojisi

Tablo 2. Nekroz ve apoptozis arasındaki farklar

Tablo 3. Fas reseptörü aracılı apoptotik mekanizma

Tablo 4. p53 geninin aracılık ettiği apoptozis

Tablo 5. Apoptozisi saptamada kullanılan yöntemler

Tablo 6. İskemi yapılmayan kontrol grubunda (K-I) apoptag(+) hücre sayıları

Tablo 7. 1 gün yaşatılan iskemi-kontrol grubunda (K-II) apoptag(+) hücre sayıları

Tablo 8. 3 gün yaşatılan iskemi-kontrol grubunda (K-III) apoptag(+) hücre sayıları

Tablo 9. 1 gün yaşatılan iskemi-ilaç grubunda (D-I) apoptag(+) hücre sayıları

Tablo 10. 3 gün yaşatılan iskemi-ilaç grubunda (D-II) apoptag(+) hücre sayıları

Tablo 11. İstatistiksel analiz sonuçları

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnme (stroke) tüm dünyada koroner kalp hastalığı ve kanserlerin ardından üçüncü sırada gelen ölüm nedenidir. Toplumda yaşlı insan oranındaki artış nedeniyle inme ve inmeye bağlı ölümlerin mutlak sayısı artmaktadır. İnmenin ölümlerdeki payı kadar toplumdaki sakatlık ve sosyoekonomik zararları da çok önemlidir. Sadece nörolojik bir problem olmayıp, psikiyatrik ve medikal birçok komplikasyona sebep olabilmektedir. Bunlar arasında kardiovasküler, pulmoner ve metabolik bozukluklar, depresyon ve anksiyete bozukluğu, enfeksiyonlar, gastrointestinal sistem(GİS) kanaması, venöz tromboembolizm, bası yaraları, malnütrisyon izlenen önemli durumlardır. Hastalık sırasındaki tedaviye ve sonrasındaki rehabilitasyon sürecine ek olarak üretim düşmesinden kaynaklanan ekonomik zararlar önemli boyutlara ulaşmaktadır(1). Stroke sonrası oluşan psikolojik tahribatta olayın bir diğer yönünü oluşturmaktadır.

Apoptozis, beyin parankiminin iskemi sonrası reperfüzyon ve sekonder zedelenmesindeki en önemli mekanizmalardan birisidir. Bu yolu ortadan kaldırmak için birçok ajanla deneysel çalışmalar yapılmıştır. 5-hidroksitriptamin-2 (5-HT₂) reseptör blokajının birçok organda, özellikle kardiyak incelemelerde iskemi – reperfüzyon yolağında önemli koruyucu ve apoptozisi önleyici etkisinin olduğu bulunmuştur. Kliniğimizde spinal iskemide 5-HT₂ reseptör blokajı yapan quetiapinin apoptozisi önlemedeki etkinliği araştırılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Dibenzotiyazepin türevi bir atipik antipsikotik olan ketiapinin 5-HT₂ reseptör blokör etkinliği yüksek, ekstrapramidal sistem(EPS) yan etkileri yönünden de güvenilirdir. Travmaya maruz kalan hastaların posttravmatik dönem rehabilitasyonlarında problem oluşturan depresyon ve ajitasyon tablolarının tedavisinde kullanımını destekleyen çalışmalar mevcuttur.

Kliniğimizde spinal iskemide ketiapin ile alınan olumlu sonuçlara bakıldığında; hem serebral iskemiye bağlı geçici veya kalıcı nörolojik defisitlerin hastalarda yarattığı olumsuz duygu durumunu düzeltmede hem de apoptozisi önleyerek sekonder zedelenmeyi azaltmada ketiapinin faydası olabileceği düşünülerek, daha önce hakkında hiçbir yayınlanmış çalışmanın olmadığı serebral iskemide koruyucu bir etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İNSAN SEREBROVASKÜLER ANATOMİSİ

Kommon Karotid Arter (KKA):

Beyin; iki adet internal karotid arter(IKA) ve iki adet vertebral arter (VA) olmak üzere dört damar tarafından beslenmektedir. Trunkus brakioyosefalikus, arkus aortadan çıktıktan 4-5 cm sonra sternoklavikular eklem hizasında sağ KKA ve sağ subklavian arter olarak ikiye ayrılır. KKA'ler boyunda vena jugularis interna ve nervus vagus ile birlikte derin servikal fasyadan kaynaklanan karotid kılıf içerisinde yer alırlar. KKA solda direk arkus aortadan ayrılır. VA'ler ise subklavian arterlerden çıkmaktadırlar. Yukarı doğru kılıf içinde ilerleyen KKA'ler

hiç dal vermeden 4.servikal vertebra hizasında İnternal karotid arter(IKA) ve Eksternal karotid arter(EKA)olarak ikiye ayrılır.

KKA'in bifurkasyondan önceki bölümüne karotid sinüs yada bulbus denir. Bu bölgede sistemik arteriyal basıncı düzenleyen baroreseptör ve kemoreseptörler bulunur. Bifurkasyon sonrası EKA daha medial ve anteriorda yerleşir. Angulus mandibula hizasında arkaya doğru yönelip parotis bezi içerisinde arteria temporalis süperfisialis ve arteria maksillaris olarak ikiye ayrılır. Eksternal karotid arter(EKA):

Superior tiroidal arter(1. Anterior dal), assenden faringeal arter, lingual arter, fasial arter (Dalları oftalmik ile anostomoz yapar), oksipital arter, posterior aurikular arter, superfisial temporal arter (Frontal ve paryetal dal), maksiller arter (İnfraorbital, inferior alveolar, orta meningeal , aksesuar meningeal dalları bulunur) verdiği dallardır(2).

İnternal karotid arter(IKA) :

EKA'nın lateralinde ve posteriorunda yer alır. Anatomik ve radyolojik olarak farklı birçok sınıflama olmasına rağmen kabaca servikal, petröz, kavernöz ve supraklinoid olmak üzere dört segmenttir. Temporal kemiğin petröz parçasına kadar olan servikal bölümünde hiç dal vermez. Petröz kemiğin karotis kanalına girerek petröz segmenti oluşturur. Bu segmentte korotikotimpanik ve pterigoid arterleri(Vidian arter) verir. Kavernöz segmentin en büyük dalı meningohipofizeal trunkustur. Bu arter de inferior hipofizeal arter, dorsal meningeal arter ve tentoryum arterini (Bernasconi&Cassinari arteri) verir. Kavernöz segmentin diğer dalları anterior meningeal arter, McConnell'in kapsüller

arteri ve kavernöz sinüs inferior parçasının arteridir. Supraklinoid segment 2. ve 3. kraniyal sinirler arasında anterior serebral arter ve middle serebral artere dallanır. Superior hipofizeal arter, oftalmik arter, posterior komünikan arter, anterior koroidal arter dallarıdır(2).

Anterior Serebral Arter(ASA):

ASA, optik siniri üstten çaprazlar. Karşı tarafın a.serebri anterioru ile anterior kommunikan arter(AkoA) aracılığıyla anastomoz yapar. 5 segmente ayrılır. Orjinden AkoA' e kadar A1, AkoA'dan kallozomajinal çıkışına kadar A2, kallozomajinal çıkışından genunun 3 cm posterioruna kadar A3, perikallosal dallar A4, terminal dallar A5 olarak adlandırılır. Rekurren arter (Heubner), Medial orbitofrontal arter, Frontopolar arter, Kallozomarginal arter (parasantral dalı ve anterior,middle,posteriora ayrılan İnternal frontal dalı vardır), Pericallosal Arter(Superior internal paryetal ve İnferior internal paryetal) verdiği dallardır(2).

Orta Serebral arter(OSA):

5 segmente ayrılır. Bifurkasyona kadar olan horizontal kısım M1, bifurkasyondan sylvian fissürden çıkana kadar olan bölüm M2, distal dallar M3 ve M4, terminal dallar M5 olarak adlandırılır. Medial ve lateral lentikülostriat arterler, Anterior temporal arter, Posterior temporal arter, Lateral orbitofrontal arter, Asendan frontal arter, Presantral(Prerolandik) arter, Santral (Rolandik) arter, Anterior paryetal(Postrolandik) arter, Posterior paryetal arter, Angüler arter verdiği dallardır(2)

Vertebral Arter(VA):

A.subklavia'nın birinci bölümünden ayrılır. 6. servikal vertebradan itibaren foramen transversiumlarından geçerek atlasın üst kenarında mediale doğru yer değiştirir. Foramen magnumdan geçerek kraniuma ve karşı tarafın A.vertebralis ile birleşerek A.basilarisi oluşturur. Segment ve dallarına bakacak olursak(2); Pars vertebralis, Pars transversa(servikal), Pars atlantika, Pars intrakraniyalis olmak üzere 4 bölümdür. Pars intrakraniyalisten anterior meningeal arter, posterior meningeal arter, medüller(bulber) arterler, anterior spinal arter, posterior spinal arter ve posterior inferior serebellar arter(PISA) ayrılır. PISA'dan ise anterior medüller, posterior medüller, lateral medüller, supratonsiller(Koroidal arter), terminal dallar olan inferior vermiyan ve tonsillo hemisferik dallar çıkar(2).

Baziller Arter(BA):

Her iki A.vertebralis'in bulbusun üst sınırında birleşmesiyle oluşur. Ponsun anteriorunda sulkus basilaris içinde uzanır. Ponsun üst kenarı seviyesinde terminal dalı olan Posterior serebral arterlere (PSA) ayrılır. AISA, İnternal odituvar(labirintin) arter, Pontin dallar, Superior serebellar arter, Posterior serebral arter(PSA) verdiği dallardır. PSA'nın P1(Pedinküler segment), P2(Ambient segment), P3(Quadrigeminal segment) segmentleri mevcuttur. P1'den mesensefalik perforanlar, interpedinküler talamoperforatörler, medial posterior koroidal arter çıkar. P2'den lateral posterior koroidal arter, talamogenikulat talamoperforatörler, anterior temporal, posterior temporal, paryetooksipital ve kalkarin dallar çıkar. P3'den posterior perikallosal dallar, quadrigeminal ve genikulat dallar çıkar(2).

Kabaca bakacak olursak; OSA, kortikal olarak frontal, parietal ve temporal lobların lateral yüzlerinin, ASA ise frontal ve parietal lobların medial yüzlerinin arteriyel beslenmesini sağlar. Perforan dallar ise arterlerin proksimal bölümlerinden ayrılır ve diensefalon, internal kapsül, bazal ganglionlar gibi beynin derininde yer alan oluşumların beslenmesini sağlarlar.

Vertebrobaziller dolaşım spinal kord, beyin sapı, serebellum, talamus, internal kapsül, bazal ganglia, oksipital korteks ve inferior temporal korteksin beslenmesini sağlarlar.

Posterior ve anterior dolaşım kafa tabanında birleşerek Willis Poligonunu oluştururlar. Bu poligon beyin içi dolaşımda en önemli kolleteral yollardan biridir. Poligon önde anterior komminikan arterler aracılığı ile birleşen anterior serebral arterler, arkada posterior serebral arterler ve bu iki grubu birleştiren posterior komminikan arterlerin hegzogonal şekilde anastomozundan meydana gelir (3). Anterior, posterior ve orta serebral arterlerin distal dalları ile kortikal-leptomeningeal anastomozlar bulunmaktadır. Bunlar beyin yüzeyi için kısmi bir kollateral akım ortamı yaratırlar. Ancak talamus, bazal ganglionlar ve derin beyaz cevher gibi derin penetran arterlerle beslenen alanlar için kollateral şansı pek yoktur. Serebral beslenmede rol alabilen anastomozlara bakacak olursak:

1. *Intrakranial anastomozlar*; başlıca Willis poligonunda olmak üzere, kortikal düzeyde ve serebellumda SSA, PISA , AISA arasında olur.

2. *Ekstrakranial-intrakranial anastomozlar*; EKA ile oftalmik arter, EKA meningeal ve etmoidal dalları ile serebral arterlerin leptomeningeal dalları arasında olur.

3. *Ekstrakranial anastomozlar*; Servikalde VA ve EKA arasında olur.

2.2. İSKEMİK SEREBROVASKÜLER OLAYLAR

2.2.1. Genel bilgiler

Serebral iskemi; fokal veya global, geçici veya kalıcı olarak, iskemik(tromboz, emboli) veya kanama nedeniyle beyinin etkilendiği, serebral kan akımının (SKA) azalması veya tam olarak durması sonucu oksijen, adenozin triosfat(ATP) ve glukoz gibi enerji kaynaklarının tükenmesi ile başlayan ve nöronlarda zedelenmeyle sonuçlanan bir dizi olaylar zinciridir (4). Serebral iskemik harabiyetin gelişiminde rol oynayan ve nöronal ölümle sonuçlanan patofizyolojik değişiklikler *eksitotoksisite* (5, 6), *inflamasyon(nekroz)* (7, 8) ve *apoptozistir* (9, 10, 11, 12, 13). Serebral iskemik olayların yaklaşık %80'i iskemik, %20'si ise hemorajik nedenlidir(14). Fokal serebral iskemi; embolik veya trombotik oklüzyon, subaraknoid kanama sonrası oluşan vazospazm, hipertansif arterioskleroz, vaskülitler, ateroskleroz ve kafa travmalarının sonucunda görülebilir. Buna karşın global iskemi; kardiyak arrest, şok, şiddetli hipotansiyon veya subaraknoid kanama sonrası gelişen akut yaygın beyin ödemi neticesinde görülmektedir.

İnme (stroke) tüm dünyada koroner kalp hastalığı ve kanserlerin ardından üçüncü sırada gelen ölüm nedenidir. Toplumdaki yaşlı insan oranındaki artış nedeniyle inme ve inmeye bağlı ölümlerin mutlak sayısı artmaktadır. İnmenin ölümlerdeki payı kadar toplumdaki sakatlık ve sosyoekonomik zararları da çok önemlidir Sadece nörolojik bir problem olmayıp, psikiyatrik ve medikal birçok komplikasyona sebep olabilmektedir. Bunlar arasında kardiovasküler, pulmoner

ve metabolik bozukluklar, depresyon, anksiyete bozukluğu, enfeksiyonlar, venöz tromboembolizm, GİS kanaması, bası yaraları, malnütrisyon gibi durumlar ortaya çıkabilmektedir. Hastalık sırasındaki tedaviye ek olarak sonrasındaki rehabilitasyon ve üretimden düşmelerinden kaynaklanan ekonomik zararlar önemli boyutlara ulaşmaktadır(1). İnme sonrası oluşan psikojik tahribatta olayın bir diğer yönünü oluşturmaktadır.

Yaş (Özellikle 65 yaş üstü), erkek cinsiyet, aile hikayesi, ırk gibi değiştirilemeyen; arteriyel hipertansiyon, diyabet, diyet alışkanlığı, kalp hastalığı (Atrial fibrilasyon, infektif endokardit, mitral stenoz, yakın tarihli geniş miyokard infarktüsü gibi), dislipidemiler, obezite, sigara, madde bağımlılığı, oral kontraseptif ilaçların kullanımı, karotis arter aterosklerozu gibi değiştirilebilen risk faktörleri, hiperkoagülopatiyeye sebep olan durumlar inmede önemlidir.(15).

Fokal iskemide santral alan(core) ve etrafında *penumbra* olarak adlandırılan perifokal alan oluşur. Santral alanda dakikalar içerisinde geri dönüşümsüz ağır hasar oluşur ve nekrotik hücreler görülür. Penumbra ise yapısal olarak hücrenin bütünlüğünün henüz bozulmadığı, elektriksel olarak sessiz, serebral kan akımının(SKA) yeniden sağlanması ve/veya nöron koruyucu ajanların kullanımı ile iyon pompalarının işlevlerini tekrar devam ettirebilecek sağlamlıkta olduğu ve iskemik hasarlanmadan kurtarılabileceği düşünülen bir bölgedir. Apoptotik hücreler de bu penumbra bölgesinde görülmektedir (9, 16, 17, 18). Fokal serebral iskemide kollateral dolaşımdan düşük düzeylerde kan akımı mevcuttur. Bu rezidüel perfüzyon penumbra alanı için; hücre membran devamlılığını koruyarak, iskeminin geri dönüşsüz nöronal hasarına engel

olabilecek ve düşük düzeylerde metabolik aktiviteyi devam ettirebilecek yeterli madde değişimini sağlayabilir (9, 16, 17,19).

Son çalışmalara göre *apopitozis*, fizyolojik sürecin bir parçası olmasına rağmen, inme de içinde olmak üzere değişik patolojik durumlardaki hücre ölümünde de rol oynayan, enerji bağımlı bir işlemdir (9, 17, 20). Her ne kadar iskemik beyin harabiyetinin büyük bir kısmının eksitotoksik harabiyet sonucu oluşan nekroza bağlı olduğu dşnlmekte ise de apoptozisin penumbral beyin bölgesinde de gösterilmesi nöronal korunma sağlanması aşamasında dikkatlerin bu sessiz bölge üzerine de yoğunlaşmasına neden olmuştur (9, 16). Bu nedenle hem deneysel hem de klinik tedavi çalışmalarında kurtarılabilecek *hedef dokudur*. Apoptozisle ilgili ayrıntılı bilgi ilerleyen konularda verilecektir.

2.2.2. İskemik serebral hasarlanma ve fizyopatolojisi

Ortalama 1500 gr olan erişkin beyni, total vücut ağırlığının %2'sini oluşturmasına rağmen sürekli glukoz ve oksijen gereksinimi olup; kardiyak debinin % 15' ini ve total vücut oksijen tüketiminin % 20' sini, glukozun %25' ini kullanır. Normal şartlarda da beyin enerji gereksiniminin yaklaşık %90'ını glukozun oksidasyonuyla elde eder. Dakikada yaklaşık 1000 ml olan bu kanın 800 ml'si karotis sistemiyle, geri kalanı vertebrobasiler sistemle gelir. *Serebral otoregülasyon* sayesinde 50-160 mmHg arasındaki ortalama arteriyel basınç değerlerinde SKA sabit düzeyde tutulur. SKA ortalama 50 ml/dk/100 gr beyin dokusu olmakla birlikte bölgesel farklılıklar mevcuttur. Bu değerler gri cevherde 65-75 ml/dk/100 gr, beyaz cevherde ise 45-50 ml/dk/100 gramdır. Nöronlar glial hücelere göre iskemiye daha hassastır. Korteks, striatum, hipokampusun CA1

bölgesi ve serebellumdaki purkinje hücreleri iskemiye en fazla duyarlı ve en kolay hasar gören bölümlerdir (16). Beynin farklı bölgelerinin ve farklı hücrelerinin bu şekilde iskemi ve hipoksiye karşı farklı yanıt vermesine *selektif hassasiyet* denir. Bu bölgesel SKA; bölgesel perfüzyon basıncının, bölgesel serebrovasküler rezistansa oranıyla belirlenir. Bölgesel perfüzyon basıncı ise serebral arteriyal basınç ile venöz basınç arasındaki farktır ve normal koşullarda sabittir.

Bazal nöronal aktivitenin devam ettirilebilmesi için kritik eşik SKA değeri 20-25 ml/100gr/dk' dır. Bu değer 15-20 ml/100gr/dk olduğunda elektrokortikal aktivite ile birlikte kortikal uyarılmış potansiyaller kaybolur. Nöronlarda hala aksonal transport devam etmekle birlikte, fazla enerji gerektiren diğer birçok hücresel işlev yapılamamaktadır. Bu alandaki hücrelerin tekrar yeterli perfüzyonla kurtarılma şansı vardır. Eğer SKA 10-15 ml/100gr/dk altına düşerse Na^+/K^+ ATPaz pompası bozulur ve irreversible nöronal hasar oluşur.

Hücresel düzeyde bakacak olursak; beyin kan akımının tamamen durması, saniyeler içinde nöronal elektriksel aktivitenin kesilmesine ve birkaç dakika içinde enerji durumunun ve kan homeostazının bozulmasına yol açar. Kısa sürede yüksek enerjili fosfatlar tükenir ve membran Na^+/K^+ ATPaz pompası iflas eder. Potasyum hücre dışına çıkarken; sodyum, kalsiyum, klor ve su hücre içine girerek membran depolarizasyonu oluşur. İskemik hücrede ATP, anaerobik yollarla elde dilmeye başlar. Anaerobik metabolizma sonucu laktat ve hidrojen iyonlarının birikmesiyle laktik asidoz oluşur. Hidrojen iyonlarına bağlı serbest radikaller oluşur ve bu da nöronal zedelenmeyi arttırır. Tüm bu olaylara eş zamanlı olarak glutamat ve aspartat gibi eksitator aminoasitlerin salınımı eşlik eder. İskemi

sırasında kalsiyumun hücre içine girmesi hasarı daha da arttırır. Kalsiyum(Ca^{++}) fosfolipazı aktive eder ve membrana bağlı gliserofosfolipidlerin serbest yağ asitlerine hidrolizine, sonuçta diğer membran lipidlerinin serbest radikal peroksidasyonuna neden olur. Ayrıca kalsiyum(Ca^{++}) proteazları aktive ederek proteinlerin lizisine ve nitrik oksit sentetazın aktivasyonu ile serbest radikallerin çıkmasına neden olur. Sonuçta da irreversibl hücre hasarı meydana gelir ve hücre ölümü gerçekleşir. Tablo 1’de (t45) bu iskemik süreç özetlenmektedir.

İskemik kalan doku bir süre sonra reperfüze olduğunda penumbra bölgesindeki bir kısım hücreler normal fonksiyonlarına dönebilir. Ancak bu sefer de reperfüzyon nedeniyle oluşan serbest oksijen radikallerinin sebep olduğu yeni hasarlar veya infarkt gelişebilir. Kan akımı düzelmesi sırasında olan bu hasarlanmaya ‘*reperfüzyon hasarı*’ denir ve geç dönemde klinik kötüleşmeye yol açabilir. Ayrıca geç dönemde perfüzyon bazen hemorajik transformasyona sebep olabilir.

Doku düzeyinde olan değişikliklere bakacak olursak; iskemik inme sonrası en erken değişikliklerden biri mikrogliya ve astrositler tarafından interlökin-1 (IL-1), interlökin-2 (IL-2), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) gibi proinflatuar interlökinlerin üretilmesidir. Bu sitokinler sayesinde damar içi ve duvarında bulunan lökositlerin üzerindeki reseptör bölgeler aktive olur. Bunu lökositlerin selektin adlı adezyon molekülleriyle endotel yüzeyine bağlanması takip eder. Migrasyon olarak adlandırılan bu olayda lökositler endotel hücreleri arasından ekstravaze olmaya başlayıp parankime geçerler. Lökosit migrasyonu sırasında küçük arteriollerin tıkanmasına bağlı etkilenmiş alanda daha fazla

iskemi gelişebilir. IL-1, IL-2, IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuar sitokinlerin salınması artar. Sonuçta arterlerdeki ve arteriollerdeki hasar büyür. Migrasyon, mikroglia ve astrositlerden daha fazla sitokin salınmasına neden olur ve nöronal sitotoksik hasar meydana gelir. Bununla ilgili Nesic ve arkadaşlarının yaptığı deneysel spinal kord travmasında, IL-1 ekspresyonunda artış ve buna bağlı IL-1 reseptörlerinin, kaspaz-3 aktivitesinin ve apoptozisin arttığı gösterilmiştir (21).

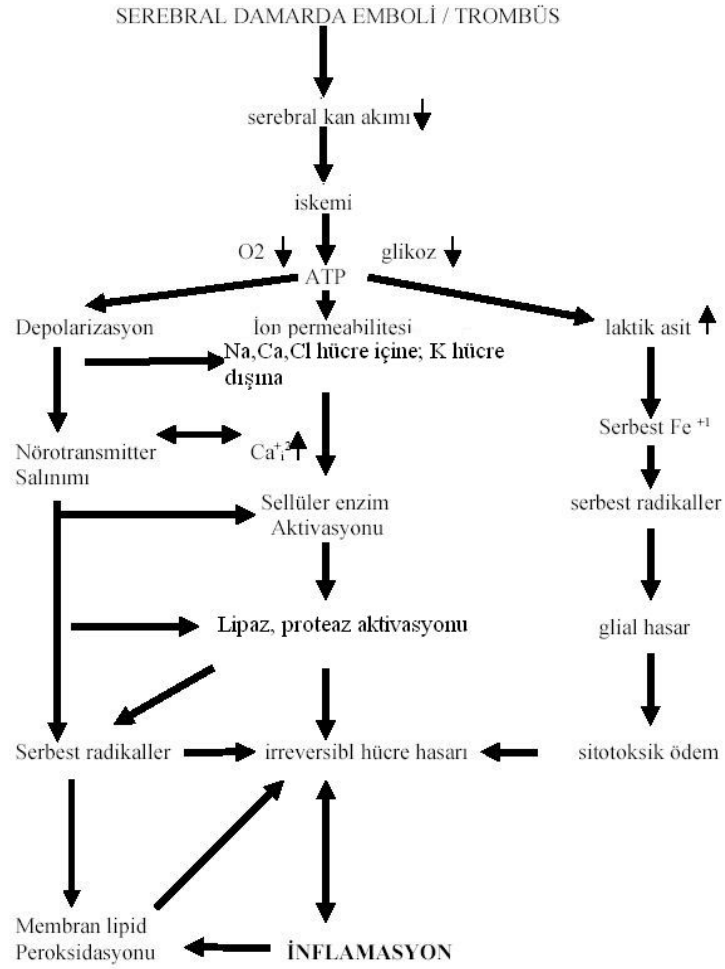
Sonuç olarak iskemik nöronal hasarda salınan sitokinlerin de rolü bulunmaktadır. Bu sırada akut iskemiden dakikalar ve saatler sonra sitotoksik ödem gelişir ve reversibl olabilir. İskemik ödem ise inmeden 24-72 saat sonra giderek artar ve 5. gün civarında maksimuma varır (22).

Süreç ilerledikçe, hasarlı alanda lökositlerin yerini mononükleer hücreler alır. Ölü materyal birkaç ay içinde aktif olarak fagositoza uğrar. Etrafındaki astrosit proliferasyonu sayesinde de ölü doku kısmen glia ile yer değiştirirken, merkez glial kist olarak kalır.

İskemik olaylar zincirinde nöronların etkilenmesi hep ele alınmakla birlikte mikroglia ve oligodendrositlerde de apoptozis olmaktadır. Mikroglia ve oligodendrositlerdeki apoptozis ise iyileşme döneminde aksonal rejenerasyonun uygun şekilde gerçekleşmesine engel teşkil etmektedir(23). Liu ve arkadaşlarının çalışmasında, gross patolojinin olduğu bölgede travma sonrası, nöronlarda 4. saatten itibaren apoptozis tespit edilmeye başlandığı ve 8. saatte pik yaptığı, glial hücrelerde ise apoptozisinin 4 saat ile 14 gün arasında olduğu, 24. saatte pik yaptığı bildirilmiştir(24). Beattie ve arkadaşlarının çalışmasında da geç dönemde

lezyon sahasında bulunan glial hücrelerde apoptozisin halen devam ettiği gösterilmiştir(25).

Tablo 1. Serebral iskeminin fizyopatolojisi(t45)



2.3. APOPTOZİS

Apoptozis ve nekroz, hücre ölümünde rol oynayan mekanizmalardır. Hücrenin intiharı olarak adlandırılan apoptozis, organizmanın biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerinin, çevredeki komşu hücrelere zarar vermeden ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen, programlı, biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerin olduğu bir hücre ölüm

şeklidir. İlk kez 1972 yılında İskoçyalı araştırmacılar olan Kerr ve arkadaşları tarafından “ayrı düşmek” anlamına gelen bu terim kullanılmış, canlı dokulardaki hücre azalmalarından sorumlu olan, yapısal olarak özgün bir hücre ölüm tipi olarak tanımlanmıştır(26). Bu olay dokulardaki hücre sayısının kontrol altında tutulmasındaki en önemli yollardan biridir. Genetik olarak programlanmış olan apoptozis, intrinsik faktörler ile kontrol edilmekle birlikte dışarıdan gelen ekstrinsik sinyaller de hücre zarındaki reseptörler aracılığıyla bu intihar yolunu uyarabilmektedir(27, 28, 29). Apoptozise yol açan sinyaller aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir(30).

1)Hücre Dışı Sinyaller

- ❖ Çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği
- ❖ Ölüm reseptörlerinin aktivasyonu
 - FAS-FAS ligand aracılı apoptozis
 - TNF aracılı apoptozis
- ❖ Sitotoksik T lenfosit aracılı apoptozis
- ❖ Dış etmenler(iskemi, radyasyon, toksinler)

2)Hücre içi sinyaller

- ❖ Deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı
- ❖ Hücre içi Ca^{++} düzeyi artışı
- ❖ Hücre içi pH azalışı
- ❖ Metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları.

Apoptotik süreç ilerledikçe DNA'nın internükleozomal bölgelerinden 180–200 baz çifti veya katları olacak şekilde kırılmalar göstermekte ve kırılan bu

DNA parçaları agoroz jel elektrofrezinde merdiven görüntüsü oluşturmaktadır. Bu bulgu apoptozisin ilk biyokimyasal kanıtı olarak literatüre geçmiştir ve özellikle bu tarihten itibaren apoptozisle ilgili yapılan çalışmaların sayısında hızlı bir artış olduğu gözlenmiştir(28, 29, 31).

Apoptozis hem fizyolojik hem de patolojik şartlarda görülmektedir(32). Embriyogenez ve metamorfoz sürecinde; fetus implantasyonu, organogenez ve gelişim süreci, immün tolerans, sinir hücrelerinin gelişimi, endokrin bağımlı doku atrofisi, primer gonad gelişiminde apoptozis çok önemli rol oynamaktadır. Erişkinde menstrüel siklusta endometriyum hücrelerinin yıkımı, menapozda folikül hücrelerinin atrezisi, laktasyonun bitimini takiben meme bezlerinin rejenerasyonunda, deri ve genitoüriner sistem(G S) hücreleri gibi sürekli çoğalan hücre gruplarının azaltılmasında yine apoptozis rol almaktadır (33, 34, 35, 36, 37, 38). Timusda olgunlaşan T lenfositlerden etkisiz olanları veya otoimmün reaksiyon verme potansiyeli olanlar dolaşıma girmeden önce apoptozisle ölürlür.  nce barsaklardaki kriptaların tabanında yeni oluşan hücreler, kriptaların uçlarına doğru göç ederler ve 3-4 gün süren bu g  n sonunda apoptozisle  l rek barsak boşluğuna d k l rl r. Derinin bazal tabakasında oluşan hücreler üst tabakalara doğru göç ederler. Bu hücrelerde apoptozisle  l rek derinin en üst tabakasındaki koruyucu kısmı oluştururlar(32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40).

Her saniye yaklaşık bir milyon hücre apoptozis ile vücuttan uzaklaştırılmakta ve bunların yerine yenileri yapılmaktadır. Yapım (mitozis) ve yıkım (apoptozis) arasında kontrollü bir denge vardır. Bu dengenin bozulması birçok önemli hastalığın patogenezin  rol oynamaktadır(41, 42, 43). Bu denge

apoptozis lehine bozulursa; Edinsel immün defekt sendromu(Acquired immune deficiency syndrome: AIDS), kronik viral hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, karaciğer yetmezliği, iskemi/reperfüzyon hasarı,insülin bağımlı diabetes mellitus(IBDM) ve miyokard enfarktüsü gibi hastalıklar oluşmaktadır. Denge mitozis yönüne kaydığında ise otoimmünite, kanser oluşmaktadır(31, 44, 45, 46, 47, 48). Bu nedenle etiyolojisi tam olarak açıklanamayan pek çok hastalığın aydınlatılmasında ve tedavisinde ileride kilit rol oynayabilecek, yeni keşiflere açık bir konudur.

Apoptozisdeki morfolojik değişikliklere topluca bakacak olursak; hücre daha küçük boyutta ve sitoplazma daha yoğundur. Kromatin periferde nükleer membranın altında yoğunlaşmış olarak toplanır. Sitoplazmik baloncuklar oluşur ve sonrasında nükleer parça içerebilen, membranla çevrili parçacıklar haline gelir. Bu apoptotik cisimler komşu hücre ve makrofajlarca fagosit edilip lizozomların içinde parçalanır. Komşu hücre proliferasyon ve migrasyonu ile apoptotik boşluk doldurulur. Tüm bunlar sırasında bir dizi biyokimyasal olayda gerçekleşmektedir. Kaspazlar ile protein hidrolizi, transglutaminaz aktivitesi ile aşırı proteinler çapraz ba lanır, DNA internükleozomal bölgelerinden 180–200 baz çifti veya katları olacak şekilde kırılmalar oluşur. Apoptotik hücrelerin hücre zarı dışında fosfatidil serin ve trombospondin ortaya çıkar. Bu sayede hücre fagositoz için tanınır (30).

- 1) Mitokondri membran yapı bozukluğu,
- 2) Sitoplazma kondensasyonu,
- 3) Kromatinin( ekirdek) kırılması ve kondensasyonu
- 4) DNA fragmentasyonu,

- 5) Membran blebbing,
- 6) Apoptotik body oluşumu,
- 7) Fagositöz evreleri bulunur. İlgili konularda bu evrelerin ayrıntıları anlatılmıştır.

Diğer hücre ölüm şekli olan nekroz ise patolojik şartlarda gerçekleşmekte ve apoptozisden morfolojik ve biyokimyasal farkları bulunmaktadır.

2.3.1. Nekroz ve apoptozis arasındaki farklar (Tablo 2)

Toksinler, şiddetli hipoksi, iskemi ve hipertermi gibi etkenler nekroza neden olurken; azalmış büyüme faktörü ve hormonal değişim, hücre yaşlanması, hücre hasarı, düşük doz sitotoksik ilaçlar, hafif düzeyde travma, hipoksi ve iyonize radyasyon gibi etkenler ise apoptozise neden olmaktadır(32, 39, 40).

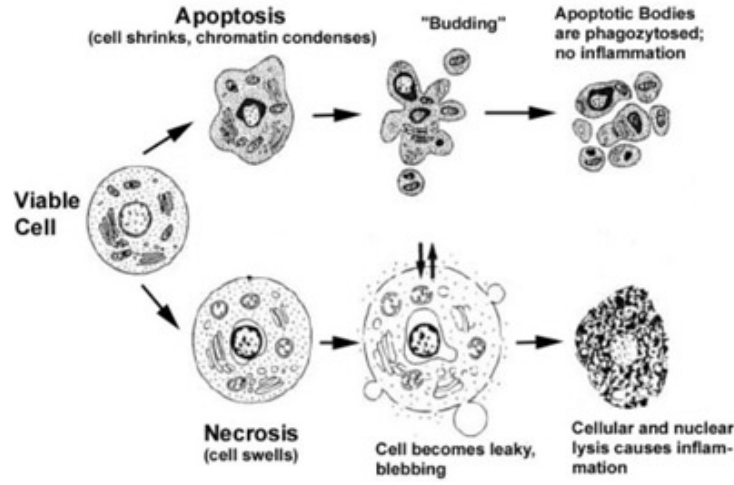
Tablo 2. Nekroz ve apoptozis arasındaki farklar (49).

	<u>NEKROZ</u>	<u>APOPTOZİS</u>
Neden	Toksinler Şiddetli hipoksi İskemi Hipertermi vs.	Büyüme faktörü eksikliği Hücre yaşlanması Hücre hasarı Radyasyon vs.
Morfolojik Değişiklikler	Patolojik şartlarda gözlenir. Hücre şişer. Membran parçalanır. Kromatin nükleusun her yerinde yaygındır. Mitokondriyal değişiklik (+) Nekrotik hücre lizise uğrar. İnflamasyon (+)	Hem fizyolojik hem patolojik şartlarda gözlenir. Hücre bütüştür. Membranda tomuruklanmalar oluşur. Kromatin nükleer membranın hemen altında yoğunlaşır. Mitokondriyal değişiklik (-) Apoptotik hücre membranla kaplı, içerisinde nükleus ve organelleri içeren apoptotik cisimciklere parçalanır. İnflamasyon (-)
Biyokimyasal Değişiklikler	ATP gerekmez (Pasif işlem) +4 C°'de gerçekleşir. DNA rastgele parçalanır.	ATP gerekir(Aktif işlem) +4 C°'de gerçekleşmez. DNA 180–200 baz çifti veya katları olacak şekilde kırılır ve bu DNA parçaları agaroz jel elektroforezinde merdiven görüntüsü verir. Fosfotidil serin translokasyonu (+) Apoptotik cisimcikler makrofajlarca fagosit edilirlir.

Morfolojik açıdan apoptozis ve nekroz arasında önemli farklar bulunmaktadır. Nekroz patolojik, apoptozis ise hem fizyolojik hem de patolojik şartlar altında meydana gelebilmektedir. Apoptozis normal hücre döngüsünde de rol alan bir hücre ölüm şeklidir.

Nekrozda hücre içine aşırı sıvı girişine bağlı olarak hücre şişerken, apoptozise uğrayan hücrenin komşu hücrelerle bağlantısı kesilip hücre yüzeyindeki mikrovilluslar ve diğer hücrelerle yaptıkları özel bağlar ortadan kalkmakta, hücre yüzeyi yuvarlaklaşmakta ve apoptotik hücre nekrotik hücrenin tam tersine küçülmektedir (39, 40). Nekrozda kromatin neredeyse normal hücredeki görüntüye benzerken, apoptotik hücrenin kromatini nükleus membranının hemen altında yoğunlaşmaktadır.

Nekrozda süreç ilerledikçe hücre lizise uğrayıp membran parçalanmakta, hücre dışına doğru hücre içi materyalinin çıkışı gerçekleşmekte ve buna bağlı inflamasyon ortaya çıkmaktadır. Apoptozisde ise hücre değişen miktarlarda nükleus veya diğer hücre içi yapılar içeren , membranla kaplı, küçük apoptotik cisimciklere (apoptotic bodies) parçalanmaktadır. Bu apoptotik cisimcikler komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edildiklerinden inflamasyon oluşmamaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Nekroz ve apoptoziste görülen ultrastrüktürel değişiklikler (50).

Apoptozisin en önemli özgün yönü DNA'nın internükleozomal bölgelerinden 180– 200 baz çifti veya katları olacak şekilde kırılması oluşturmaktadır. Bu durum agaroz jel elektroforezinde merdiven görüntüsü(ladder pattern) imajının ortaya çıkarmaktadır. Nekrozda ise DNA parçalanması rastgele olmaktadır(28, 31, 41).

Apoptotik süreç ilerledikçe membranın iç yüzeyinden dış yüzeye transloke olan fosfatidil serinler özel boyalar yardımı ile (örn. anneksin V) saptanabilmekte ve apoptotik hücrenin normal hücreden ayrımı gerçekleştirilebilmektedir.

Nekrozda ATP gerektirmeyen pasif bir işlemken, aktif bir işlem olan apoptozis de yüksek ATP seviyeleri gerekmektedir(28, 31, 41, 51, 52, 53, 54, 55). Bundan dolayı hücre içi ATP seviyesi ve mitokondrinin durumu hücrenin ölüm şekline yön vermektedir. Mitokondri ciddi olarak zedelenirse apoptotik yol için gerekli olan enerjiyi sağlayamamakta ve hücre nekroz ile ölmektedir(56).

2.3.2. Apoptozis mekanizmasında yer alan moleküller

Apoptozisin mekanizmasında Bcl-2 gen ailesi ve kaspazların rol aldığı düşünülmektedir. Bcl-2 gen ailesinin (B hücre lenfosit/lösemi- 2), apoptozisi

indükleyen pro-apoptotik (Bax, Bid, Bim, Bcl-X_s Bad, Bak vs.) ve apoptozisi baskılayan anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-X_L, Bcl-W, E1B-19K, CED-9) alt grubu bulunmaktadır(10, 57). Hücrenin yaşamını sürdürmesinde bu iki grubun arasındaki denge (Bcl-2/Bax) önemlidir. Zhao ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada anti-apoptotik protein olan bcl-2'nin aşırı ekspresyonunun, sitokrom c salınmasını ve kaspaz 3' ün aktive olmasını inhibe ettiği gösterilmiş (58). Şayet Bax/Bcl-2 oranı yeterince artarsa, sitokrom c mitokondriden salınmakta ve bir seri basamak yoluyla caspase-3 aktive olmaktadır (59).

Bcl-2 gen ailesinin yapısında merkezi konumda hidrofobik bir α heliks ve bunu çevreleyen 5 tane amfipatik α heliks mevcuttur. Yapılarında BH1, BH2, BH3 domainleri bulunmakta, anti-apoptotik üyelerde ek olarak BH4 bölgesi de yer almaktadır. Bu bölgenin apoptozisin diğer hücrel yollarla ilişki kurmasında gerekli olduğu düşünülmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar anti-apoptotik Bcl-2 gen ailesinin pek çok kanser türünde aşırı miktarda eksprese olduğunu göstermektedir(41, 42, 51, 53, 60).

Bcl-2 mitokondri dış membranında bulunur ve iyon transportunu düzenlerken (58); Bax sitozolde bulunur ve apoptotik uyarılar sonucu mitokondri membranına bağlanıp “*pore*” oluşmasını sağlar. Böylece seçimli iyon geçirgenliği bozulmakta ve sitokrom-c, apoptozis indükleyici faktör(AIF, apoptosis-inducing factor) ile birlikte mitokondriden sitoplazmaya salınmaktadır. Bunun ardından da apoptozise kadar giden olaylar zinciri ortaya çıkmaktadır.

Diğer aracı molekül kaspazlardır. Kaspaz (caspase= cystein dependent aspartate-spesific proteases) kelimesi enzimin katalitik aktivesinden gelmektedir.

“C” sistein proteaz aktivitesinden, “aspase” ise proteinlerin içindeki aspartik asitten sonraki kısımları parçalamasından dolayı verilmiştir. İnaktif öncü moleküller olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein içerdiğinden sistein proteazlar olarak adlandırılan bir grup enzimdir(41, 52, 55). Apoptotik süreçte şelale tarzında birbirlerini aktifleştirirler. Bazıları başlatıcı kaspaz (kaspaz 2, 8, 9 ve 10), bazıları da efektör kaspazlardır (kaspaz 3, 6, 7). Başlatıcı kaspazlar, ölüm sinyallerini efektör kaspazlara iletirler. Efektör kaspazlar ise hücre iskelet proteini olan aktin, nükleer membran proteini lamin A, DNA tamirinde rol alan poli adenzin difosfat(ADP) riboz polimeraz gibi proteinleri parçalayarak apoptotik hücre morfolojisini meydana getirirler. Kaspazlar indirekt olarak Ca^{+2} bağımlı endonükleazları aktive ederek DNA’da 180–200 ve katları olacak şekilde baz çiftine ayrılmasına yani fragmentasyonların oluşmasına neden olurlar(27, 60, 61). Enflamatuvar kaspazlar ise (kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14) lenfokin üretiminden sorumludur.

2.3.3. Apoptozis mekanizmaları

Bu mekanizmalar, araştırmaların sonuçlarıyla oluşturulan teoriler olarak kabul edilebilir. Hala birçok mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır. Son çalışmalara göre; hücre dışı kaynaklı sinyallerin ölüm reseptörleri aracılığıyla, hücre içi kaynaklı sinyallerin ise mitokondri aracılığıyla yaptığı apoptozis tanımlanmıştır (27, 55, 60).

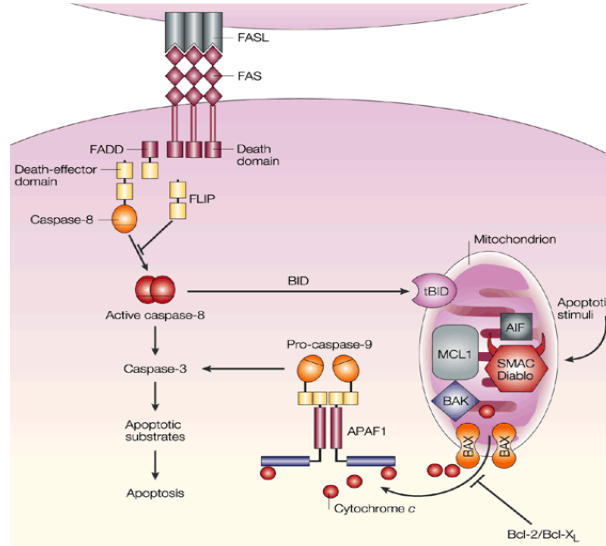
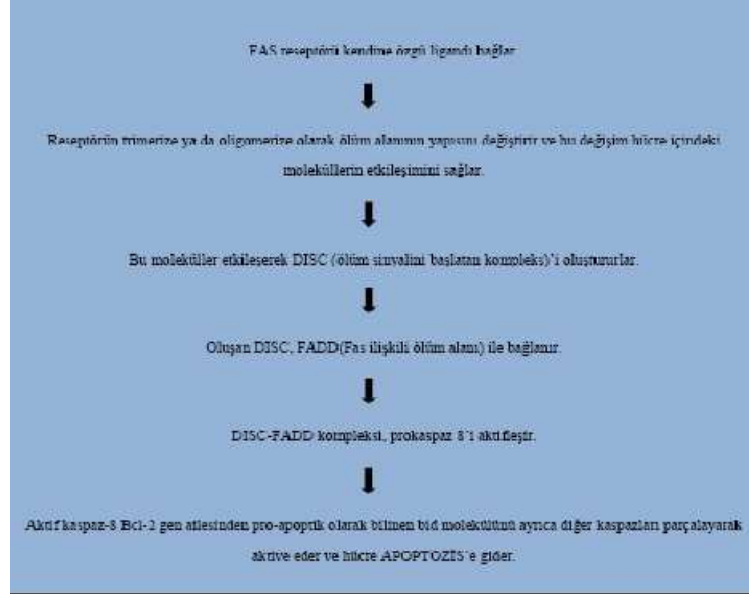
2.3.3.a. Ölüm reseptörleri aracılı apoptozis

Hipoksi, hipertermi, radyasyon ve kemoterapi ajanları gibi DNA hasarına neden olan hücre dışı sinyaller hücre zarındaki ölüm reseptörlerini aktive ederek apoptotik süreci başlatmaktadırlar. Bu membran proteinleri içinde en önemli grup TNFR (tumor necrosis factor receptor) ailesidir. TNFR ailesi içerisinde apoptozis oluşturan reseptörlerin en önemlileri FAS (CD-95) ve TNFR-1' dir. Son zamanlarda DR-3, DR-4 ve DR-5 gibi başka ölüm reseptörleri de tanımlanmıştır(18). Bu reseptörlerin, hücre dışında sisteinden zengin alanları ve iç kısmında homolog ölüm alanları bulunmaktadır. Şekil 2'de görüldüğü gibi, kendilerine özgü ligandı bağlayan ölüm reseptörleri(Fas+FasL, TNFR+TNF, TRAILR+TRAIL, DR4+Apo2L, DR5+Apo2L) sitoplazmanın iç kısmında bulunan parçaları sayesinde apoptotik sinyal ,hücre içinde kaspaz-8'e iletilir ve apoptotik mekanizma uyarılmış olur (60, 62, 63, 64, 65) .

2.3.3.b. FAS (CD-95) reseptörü aracılı mekanizma

Hücre dışı, membranöz ve hücre içi olmak üzere 3 bölümden oluşmaktadır. Bu reseptör sitotoksik T lenfositler ve natural killer hücrelerde bulunan FasL ligandını bağlayarak apoptozisi uyarır (64). İmmün yanıt sonrası aktif T hücrelerinin,virüsle enfekte olmuş hücrelerin ve patolojik hasarlı hücrelerin ortadan kaldırılmasında bu mekanizma çalışır(Tablo 3 ve Şekil 2).

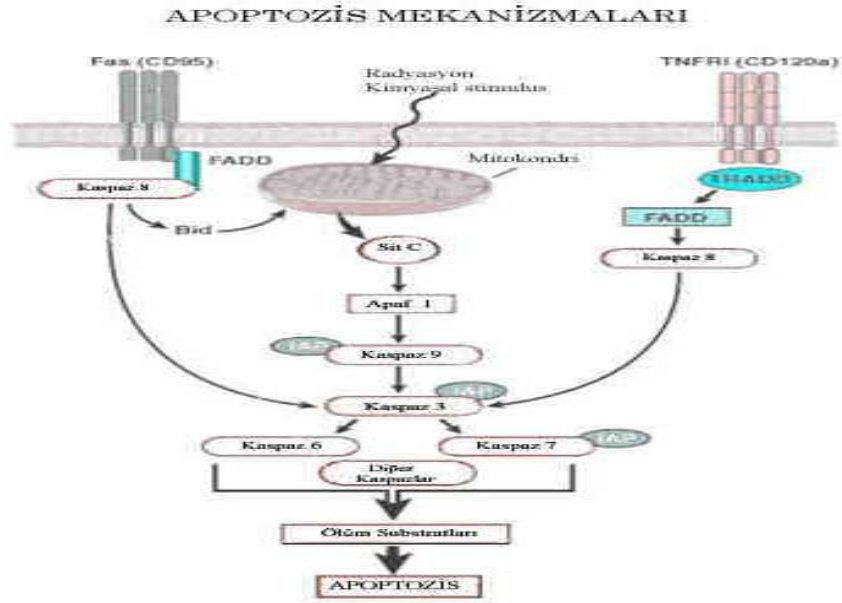
Tablo 3. Fas reseptörü aracılı apoptotik mekanizma (49).



Şekil 2. FAS (CD-95) reseptörü ve mitekondri aracılı apoptozis (66).

2.3.3.c. Mitokondri aracılı apoptozis

DNA hasarı, pH'da düşme, ATP/ADP ve Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)' ın azalması, Bcl-2 transkripsiyon veya translasyonundaki hatalar, hücre döngü bozuklukları gibi hücre içinden kaynaklanan sinyallerle mitokondri membran permeabilitesi bozulur. Mitokondri dış zarının geçirgenlik artışını hücre içi sinyaller ve bazı proteinler (Bcl-2 gen ailesi) ayarlamaktadır. Pro-apoptotik bax proteini sitozolde bulunmakta ve apoptotik uyarı alınmasını takiben mitokondri membranına bağlanıp "pore" oluşumu indüklemektedir. Böylece seçimli iyon geçirgenliği bozulmakta ve sitokrom-c, apoptozis indükleyici faktör(AIF, apoptosis-inducing factor) ile birlikte mitokondriden sitoplazmaya salınmaktadır. Şekil 2 ve 3' te görüldüğü gibi sitoplazmaya salınan sitokrom-c, sitoplazmik bir protein olan Apaf-1(apoptotic protease activating factor-1) bağlanmakta, yapıya ATP ve prokaspaz 9' un eklenmesiyle apoptozom adlı kompleks oluşmaktadır. Daha sonra prokaspaz 9, aktif kaspaz 9' a dönüşerek efektör kaspazlardan prokaspaz 3' ü aktifleştirmekte ve hücre apoptozise gitmektedir. Sitokrom-c' nin, mitokondriden sitozole salınımı apoptozisin geriye dönmeyen bir döneme girdiğinin göstergesi olarak görülmektedir(9, 41, 49, 52, 60).

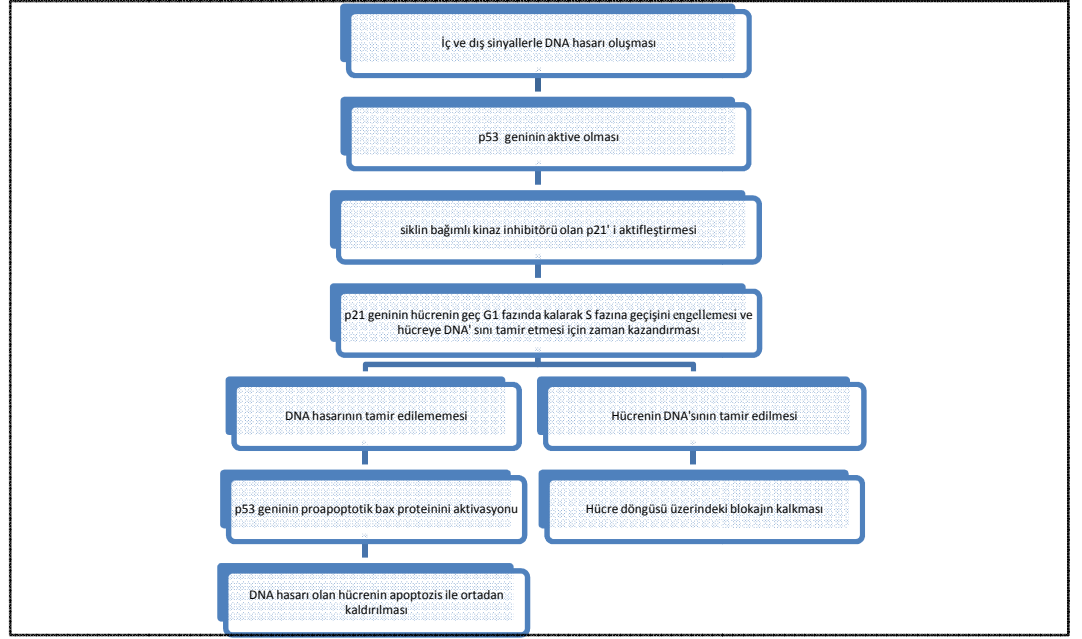


Şekil 3. Ölüm reseptörleri aracılı ve mitokondri aracılı apoptozis (49).

2.3.3.d. p53 gen aracılı apoptozis

İç veya dış sinyaller ile DNA’da hasar oluştuğunda hücreyi apoptozise götüren en önemli gen p53 genidir. Normalde inaktifken DNA hasarı oluştuğunda aktifleşerek siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p21’i harekete geçirmekte ve bu da hücrenin geç G1 fazında kalıp S fazına geçişini engelleyerek hücre döngüsünün durmasına neden olmaktadır. Bu hücreye DNA’ sını tamir edebilmesi için zaman kazandırmaktadır. Hücre DNA’sını tamir edebilirse blokaj kalkmaktadır. Tablo 4’ te görüldüğü gibi, eğer bu süre içerisinde DNA hasarı tamir edilemezse p53 geni tekrar harekete geçip Bcl-2 gen ailesi üyelerinden pro-apoptotik olarak bilinen bax proteinini aktive etmekte ve hücreyi apoptozise götürerek DNA’ sını hasarlı hücreyi ortadan kaldırmaktadır(67, 68).

Tablo 4. p53 geninin aracılık ettiği apoptozis



2.3.4. Apoptozisin belirlenmesinde kullanılan yöntemler

1972’de apoptozis, hücrenin morfolojik görünümüne göre tanımlanmıştı. Günümüzde sadece morfolojik değerlendirmeye değil, apoptozise özgü olayların moleküler düzeyde belirlenmesiyle de saptanabilmektedir. 1980’li yılların sonuna doğru DNA kırıklarının saptanmasına yönelik yöntemler, 1990’ların ortalarında ise apoptotik hücrelerde kaspazların aktifleştiği bulunmasıyla kaspaz aktivasyonlarının belirlenmesine yönelik metodlar, 1990’ların sonuna doğru fosfatidilserin translokasyonunu belirleyen yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. 2000’li yılların başlarında sadece apoptotik epitelial hücrelerde bulunan keratin 18 proteininin, kaspaz aktivitesiyle kırıldıktan sonraki özgün formunu saptayan antikorlarla daha spesifik sonuçlar elde edilmeye başlanmıştır.

Sınıflama apoptozise özgü herhangi bir hücresel aktivitenin belirlenmesi esas alınarak yapılabilmektedir. Örneğin, apoptozis DNA fragmentasyonu esas alınarak saptanacaksa o zaman yukarıda sıralanan metotların bir veya birden fazlası kullanılabilir. DNA fragmentasyonu histokimyasal, biyokimyasal ve Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) ile gösterilebilmekle birlikte hangi yöntemin kullanılacağına karar vermede çalışılacak numunenin cinsi önemlidir. Hücre kültüründen çalışılacak örnekte biyokimyasal bir yöntem olan agaroz jel elektroforezi , dokudaki DNA fragmentasyonları (apoptotik hücreler) araştırılıyorsa o zaman da histokimyasal bir yöntem olan, terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP end labeling (TUNEL) yöntemi kullanılabilir(69). Hücrede apoptozis olayı saatler içinde geliştiğinden, apoptotik süreçteki hücreyi morfolojik olarak tanımlamak ve ölçmek zor olabilmektedir. Genellikle çalışmaların güvenilirliğini arttırmak için farklı yöntemlerin birkaçının bir arada kullanılması gerekebilmektedir. Tablo 5’ te apoptozisi saptamada kullanılan yöntemler sıralanmıştır.

Tablo 5. Apoptozisi saptamada kullanılan yöntemler (49, 70).

2.3.4.a. Morfolojik Görüntüleme Yöntemleri
➤ Işık mikroskobu
➤ Floresan mikroskobu-Lazerli konfokal mikroskobu
➤ Elektron mikroskobu
➤ Faz kontrast mikroskobu
2.3.4.b. İmmünohistokimyasal Yöntemler
➤ Anneksin V yöntemi
➤ TUNEL yöntemi
➤ M30 yöntemi
➤ Kaspaz 3 yöntemi
2.3.4.c. Biyokimyasal Yöntemler
➤ Agaroz jel elektroforezi

- Western blotting yöntemi
- Flow sitometri

2.3.4.d. İmmünolojik Yöntemler

- ELISA
- Fluorimetrik yöntem

2.3.4.e. Moleküler Biyoloji Yöntemleri

- DNA microarray

2.3.4.a. Morfolojik görüntüleme yöntemleri

2.3.4.a.1. Işık mikroskobu kullanımı:

Işık mikroskopisinde hemotoksilen ve giemsa boyamaları kullanılır. Hemotoksilen boyama, morfolojik görüntüleme yöntemleri içinde en ucuz ve en kolay olanıdır. Apoptotik hücrelerin saptanmasında genellikle ilk metod olarak kullanılır. Hücre kültürü çalışmalarında ve doku boyamalarında kullanılabilir. Hematoksilen boyası kromatini boyadığından dolayı apoptotik hücreler nükleus morfolojisine göre değerlendirilebilmektedir. Bazen mitotik hücreler ile apoptotik hücreler karıştırılabildiğinden dolayı deneyim gerektirmektedir. Hücre küçülmesi, sitoplazmik küçülme, kromatinin kondanase olarak nükleus zarının periferinde toplanması, nükleusun küçülmesi veya parçalara bölünmesi gözlemlenebilen değişiklikler arasında yer almaktadır(49).

Giemsa boyamada, nükleus morfolojisine dayanılarak apoptotik hücreler saptanmaktadır. Sitoplazma sınırları hematoksilen boyamaya göre daha iyi

seçilebilmekle birlikte hematoksilin boyamaya belirgin bir üstünlüğü bulunmamaktadır(49).

2.3.4.a.2. Floresan mikroskobu ve lazerli konfokal mikroskobu:

Hoechst boyası, propidium iyodür gibi floresan maddelerin DNA'ya bağlanıp hücrenin kromatini, dolayısıyla nükleusu görünür hale getirmesine dayanan bir yöntemdir. Işıık mikroskobuna göre çok daha pahalıdır. Hücre kültürü çalışmasında canlı hücre ile l hücrenin ayırımına olanak sağlarken hematoksilin ya da giemsa boyamanın kullanıldığı örneklerde, hücrelerin tamamı yöntemin prensibi gereği zaten ölmektedirler. Bu ayırım da canlı veya l hücreleri boyayabilen bir boya (rneğin Hoechst boyası) ile sadece l hücreleri boyayabilen bir başka boya (rneğin propidium iyodür) beraber kullanılmaktadır. Bu boyama yöntemlerindeki prensip canlılığın belirleyicisi olarak hücrenin plazma membranının intakt olup olmadığı temeline dayanmaktadır. Canlı hücrelerde membran intaktır ve propidium iyodür gibi sadece membran bütünlüğü bozulmuş olan l hücreleri boyayan bir boya ile boyanmazlar. Hoechst boyası ise ortamdaki tüm hücreleri boyayarak l veya canlı hücre ayırımına olanak sağlamaktadırlar. Bu şekilde boyanan hücrelerde floresan mikroskobu ile tanımlanabilmektedirler. Bu yöntemle hücrelerin l ya da canlı olduğu anlaşılabilmekte ama l hücrelerin apoptozisle veya nekrozisle ölüp lmediklerinin ayırımı hematoksilin boyamada olduğu gibi nükleus morfolojisine bakılarak yapılmaktadır. Kromatin kondansasyonu veya nükleus fragmentasyonu olan hücreler apoptotik hücreler olarak tespit edilmektedir(49).

2.3.4.a.3. Elektron mikroskobu kullanımı:

Morfolojik değişikliklerin en doğru olarak gözleendiği yöntemdir. Apoptotik hücrelerdeki sitoplazmik küçülme, kromatin kondansasyonu ve fragmentasyonu ,hücre zarı, nükleus zarı ve mitekondrideki subsellüler detaylar incelenebilmektedir(70).

2.3.4.a.4. Faz kontrast mikroskobu kullanımı:

Sadece hücrelerin kültür ortamında, "flask" veya "plate"lerde büyütüldüğü çalışmalarda kullanılmaktadır(70).

2.3.4.b. İmmünohistokimyasal yöntemler

2.3.4.b.1. Anneksin V yöntemi:

Hücre zarının sitoplazmik yüzünde bulunan fosfatidilserin (PS) , hücre apoptozise giderse hücre zarının dış yüzüne transloke olmaktadır. Bu transloke olan PS' ler, floresan bir madde (örn. F1TC) ile işaretlenmiş Anneksin V kullanılarak görünür hale getirilmekte ve böylece apoptotik hücreler saptanmaktadır(49).

2.3.4.b.2. TUNEL yöntemi:

Parafin bloklar, donmuş kesitler, kültürü yapılmış solüsyon halindeki veya "plate"lere ekilmiş, ya da lameller üzerinde büyütölmüş hücrelerde apoptozisin varlığı, DNA kırıklarının insitu olarak tanınmasını sağlayan bu metotla saptanabilmektedir(49).

2.3.4.b.3. M30 yöntemi:

Apoptotik hücrelerde sitokeratin 18'in kaspazların etkisiyle kırılması sonucu ortaya çıkan yeni antijenik bölgesinin İmmünohistokimyasal yöntemle

boyanması prensibine dayanmaktadır. Sadece sitokeratin 18'i eksprese eden epitelyal kaynaklı dokularda kullanılabilmektedir(70).

2.3.4.b.4. Kaspaz-3 yöntemi:

Sadece apoptotik hücrelerde oluşan aktif kaspaz-3 belirlenebilmektedir. Apoptotik hücreleri bu metotla tespit edilebilmek için dokunun kaspaz- 3 eksprese ettiğinin bilinmesi ya da çalışılan dokuda apoptozise yol açan ajanın kaspaz-3' u kırıp kırmadığının bilinmesi gerekmektedir(70).

2.3.4.c. Biyokimyasal yöntemler

2.3.4.c.1. Agaroz jel elektroforezi:

DNA kırıklarının gösterilebildiği bir başka yöntemdir. Apoptoziste DNA 180 baz çifti ve katlarına karşılık gelen internükleozomal bölgelerden kırıldığı için merdiven görüntüsü oluşmaktadır. Bu bulgu apoptozisin karakteristik özelliğidir ve nekrozda görülmemektedir(49).

2.3.4.c.2. Western blotting yöntemi:

Apoptozise özgü bazı proteinlerin eksprese olup olmadıklarının (örn. bcl-2) ya da kırılıp kırılmadıklarının (örn. kaspaz-3) saptanması mümkün olmaktadır. Sitokrom c' nin mitokondriye çıkıp çıkmadığı da bu metotla belirlenebilmektedir. Yalnız, sitokrom c tespitinde önce alt fraksiyonlama yapılarak hücrelerin mitokondriyal ve sitoplazmik fraksiyonları ayrılmaktadır. Ardından, normalde sitoplazmik fraksiyonda bulunması beklenmeyen sitokrom c' nin bu fraksiyonda tespit edilmesi halinde hücrelerin apoptozise gittikleri anlaşılmaktadır(70).

2.3.4.c.3. Flow sitometri:

Floresan bir madde ile işaretlenmiş antikor kullanılarak apoptoziste eksprese olduğu bilinen herhangi bir hücre yüzey proteininin saptanması mümkün olmaktadır. Kolay uygulanabilir olması, uzun zaman almaması ve kantitatif sonuç verebilmesi açısından klinikte apoptozisin saptanmasında kullanışlı bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. İki farklı şekilde uygulanmaktadır:

1. Floresan bir madde olan propidium iyodür kullanılarak,
2. Anneksin V kullanılarak.

Birincisinde, kompleks bilgisayar işlemleri sayesinde hücre boyutu ile içerdiği DNA miktarı kıyaslanarak, azalan DNA miktarının apoptozis lehine olduğu gerçeğinden hareketle, apoptotik hücre popülasyonu (sub-G1 piki) tayin edilmektedir. İkincisinde, floresan mikroskopuyla uzun zaman alan sayma işlemi saniyeler içinde yapılarak sonuç alınmaktadır(49, 70).

2.3.4.d. İmmünolojik Yöntemler

2.3.4.d.1. ELISA:

Kültürü yapılmış hücre popülasyonlarında, insan plazmasında DNA fragmentasyonunun tespiti, aynı şekilde M30 düzeylerinin ölçümü de mümkün olmaktadır (49).

2.3.4.d.2. Fluorimetrik yöntem:

Kültürü yapılmış hücrelerde kaspaz aktivitesinin tayin edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. İlgili kaspazın antikorunun bulunduğu "plate"lere hücre lizatlarının konulması ile kaspaz molekülleri tutulmakta, sonra ortama kaspazların parçaladığı ve kendisine floresan bir maddenin tutunduğu bir substrat

ilave edilmektedir. Ortamdaki kaspaz aktivitesiyle orantılı olarak ortaya çıkan floresanın şiddeti fluorimetre ile ölçülerek kaspaz aktivitesi saptanmaktadır(49).

2.3.4.e. Moleküler biyoloji yöntemleri:

2.3.4.e.1. DNA microarray:

Henüz çok yeni ve çok pahalı bir yöntemdir. Gelecekte tıp çalışmalarında köklü değişiklikler yapacağı iddia edilen bu yöntemde aynı anda ve kısa bir süre içinde yüzlerce genin ekspresyon derecelerinin (mRNA' larının) tespiti mümkün olabilecektir. Böylece, apoptozise özgü hücre yüzey ölüm reseptörlerinin ekspresyon durumları hakkında geniş bilgi edinme olanağı doğacaktır(49).

2.4. SEROTONİNERJİK YOLAKLAR VE APOPTOZİS

2.4.1. Serotonin

Serotoninin (5-hidroksitriptamin) saptanmasından önce, kan pıhtılaşmaya bırakıldığında, serum tonik faktör anlamında “serotonin” adı verilen, vazokonstriktör bir maddenin serbestleştiği bilinmekteydi. 1937’de Vittorio Erspamer ve arkadaşları, enteramin adını verdikleri, ince barsak mukozasında bir düz kas uyarınının varlığı göstermiştir(49). 1951’ de 5- HT’ in sentezi, 5-hidroksitriptofanın serotonin ve enteraminin metaboliti olduğunu göstermeye imkan sağlamıştır. Böylece ikisinin aynı madde olduğu anlaşılmıştır(49).

Memelilerde vücut serotonininin %90’ ından fazlası mide ve barsak duvarındaki (duodenumda yoğun olmak üzere) mukoza hücreleri arasına dağılmış olan enterokromaffin hücrelerde sentez edilir ve depolanır. Enterokromaffin hücreler, histolojik ve embriyolojik açıdan amin prekürsör uptake dekarboksilaz (APUD) hücrelerinin bir tipidir ve embriyolojik olarak nöral krista veya

nöroektodermden kaynaklanırlar. Ayrıca myenterik pleksus ve submukozal pleksus sinirlerinin bir kısmı serotonerjik sinirlerdir. Yemek yeme ya da hipertonic sıvı uygulanmasıyla oluşan mekanik gerilim ve vagus stimulasyonu sonucu enterokromaffin hücrelerden 5-HT salınımı olur. Salıverilen 5-HT primer afferent sinir uçlarını uyararak peristaltik refleksi başlatır ve barsak dolaşımı ve tonusunu düzenler. Böylece, mekanik ve kimyasal uyarılara cevap veren bu hücreler, 5-HT aracılığıyla gastrointestinal işlevlerin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Barsak dolaşımından portal vene geçen serotonin, karaciğerde monoamin oksidaz(MAO)-A tarafından büyük ölçüde metabolize edilir. Geriye kalan 5-HT, akciğer kapillerlerinin endotel hücreleri tarafından alınarak, MAO'la hızlı bir şekilde yıkılır(49).

Trombositler serotonin sentezleyemezler fakat sodyuma (Na^+) bağımlı aktif transportla dolaşımdan alarak sekretuar granüllerde depo ederler. Özellikle konsantrasyonun nispeten yüksek olduğu intestinal dolaşımdan geçerken serotonin uptake'i yaparlar. Lokal vazokonstriksiyon oluşturarak ve trombosit agregasyonuna neden olarak kanamanın durmasına yardımcı olurlar (49, 71).

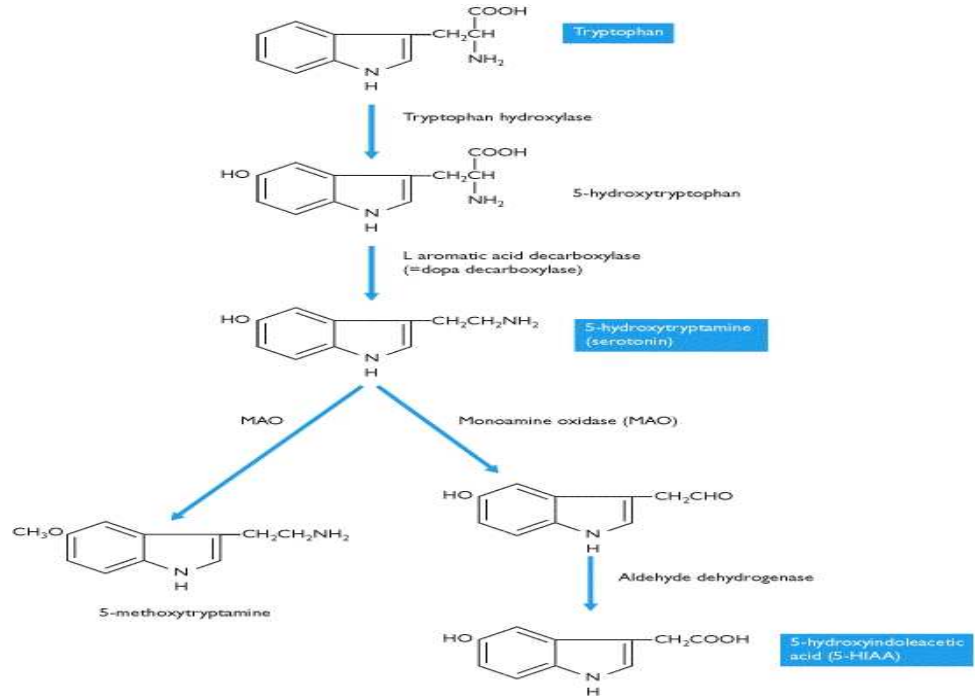
Santral sinir sisteminde(SSS) ise serotonin sentezleyen ve depolayan triptaminerjik (serotoninerjik) nöronların hücre gövdelerini içeren, 9 çekirdekten oluşan, beyin sapındaki raphe çekirdeklerinde bulunur. Raphe sisteminden çıkan yoğun projeksiyonlar hipokampus, hipotalamus ve limbik sistem gibi çeşitli beyin bölgelerine, serebellum, medulla ve omuriliğe yayılır. Raphe retiküler sinirlerinin kan damarlarıyla da ilişkisi vardır. Raphe sinirlerinin çeşitli sinirsel ya da diğer uyarılara cevap verebilme ve değişebilme özellikleri nedeniyle nöral doku

homeostazisinde anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Bu sinirler, dış uyarılara göre kendilerini devamlı şekilde modifiye ederler (49).

Serotonerjik sistem, agresyon, korku, anksiyete gibi duygulanımın düzenlenmesinde major modülatördür; kognitif işlevler, duyu algılanması ve motor etkinlik gibi karmaşık beyin işlevlerinin integrasyonunda da önemli rol oynamaktadır. Bu işlevlere katılan çok sayıda nörotransmitterin etkileşiminde merkezi noktada görev yaptığı düşünülmektedir. Birçok psikiyatrik hastalığın fizyopatolojisine katılımı olduğu, özellikle anksiyete bozukluğunda anahtar rol oynadığı bildirilmiştir(49). Postsinaptik 5-HT1A reseptörlerin uyarılmasının anksiyeteye, presinaptik 5-HT1A reseptörlerin uyarılmasının ise anksiyolitik etkiye neden olduğu gösterilmiştir(49, 72). İntihar etmiş major depresyonlu hastalarda beyin serotonin düzeyinin ve 5-HT1A reseptör sıklığının azaldığı gösterilmiştir. Şizofreni tedavisinde kullanılan klozapin, quetiapin ve risperidon gibi atipik nöroleptikler, 5-HT2A ve 5-HT2C reseptörlerini de antagonize ederler. Ayrıca 5-HT3 reseptör antagonistlerinin de antipsikotik etkiye sahip oldukları düşünülmektedir(73). Serotonerjik sistem, kolinerjik sistemle de etkileşerek myoklonusa neden olur. Esansiyel tremorun ise serotonerjik etkinliğin azalmasına bağlı olduğu düşünülmektedir(73). Ayrıca Parkinson hastalığında görülen tremorun da serotoninerjik reseptör kaybı ya da disfonksiyonu nedeniyle serotoninerjik transmisyonun yetersizliğinden kaynaklandığı rapor edilmiştir(74). Serotonin muhtemelen 5-HT2A ve/veya 5-HT2C reseptörleri aracılığıyla bellek ve öğrenmeyi artırmaktadır. Şiddetli demansın bulunduğu Alzheimer hastalığında beyinde 5- HT2A reseptör sıklığının azaldığı bulunmuştur(73). Serotoninin uyku

fizyolojisinde de rol oynadığı ve serotonin azalmasının uykusuzluğa neden olduğu gösterilmiştir. Uyku-uyanıklık döngüsünün major transmitteri olan oreksinlerle (hipokretinler) serotoninin etkileşimine dair bulgular vardır. Serotoninin oreksin sinirlerinde hiperpolarizasyon oluşturduğu, noradrenerjik sistemle birlikte oreksin sinirleri üzerinde negatif feedback kontrollerinin olduğu düşünülmektedir(75). Serotonin, presinaptik 5-HT1A ve postsinaptik 5-HT2C ve 5-HT1B reseptörleri aracılığıyla beslenme davranışını düzenler ve doyumluk merkezini uyarır. Serotonin agonistlerinin hipotalamik Nöropeptid Y (NPY) miktarlarını azalttığı ve beslenmeyi baskıladığı bildirilmiştir. Ayrıca kansere bağlı anoreksinin gelişmesinde ventromediyal hipotalamik çekirdekteki (VMH) serotonerjik sinirlerin önemli rol oynadığı, kanser esnasında beyin triptofan düzeyinin ve dolayısıyla beyindeki ve beyin omurilik sıvısındaki(BOS) serotonin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. IL-1'in periferik yoldan uygulanması beyin triptofan ve serotonin düzeylerini artırırken, santral yoldan uygulanması serotonin salınımına neden olmaktadır(49, 76). Serotonerjik sinirlerin 5-HT1B ve 5-HT3 reseptörleri aracılığıyla omurilik seviyesinde sinaptik inhibisyon ve böylece analjezi (antinosisepsiyon) oluşturdukları bulunmuştur(73). Bundan dolayı son yıllarda SSRI ilaçlarla, nöropatik ve non-nöropatik ağrı tedavisinde oldukça etkin sonuçlar alınmaktadır(49, 77). Serotonin ilaç olarak kullanılmamakla birlikte serotonin spesifik gerilim blokörleri (SSRI), serotonin salıcıları, agonist ve antagonistleri birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadırlar(49, 78).

2.4.2. Sentez, biyotransformasyon ve eliminasyon



Şekil 4. Serotonin sentez ve eliminasyonu(79).

5-HT, serotoninerjik sinir uçlarında ve trombosit hariç diğer hücrelerde sentez edilir. Şekil 4'te görüldüğü gibi biyosentezi için diyetle alınan L-triptofan gereklidir. Bu amino asitte bulunan 5 numaralı karbon, triptofan hidroksilaz(TPH) ile hidroksillenerek 5-hidroksitriptofan oluşur. Hız kısıtlayıcı enzim olan TPH'nin iki izoformu vardır. TPH1 periferde ve TPH2 serotonerjik sinirlerde tanımlanmıştır. Her iki izoform da aromatik amino asit gen familyasına aittir. TPH1 gen varyasyonlarının antisosyal kişilik bozukluğu, alkolizm, bipolar bozukluk, major depresyon ve intihara eğilim gibi psikiyatrik hastalıklarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir(72).

5-hidroksitriptofan beyinde saptanamaz. Hızlı bir şekilde, vücutta yaygın olarak bulunan aromatik L-amino asit dekarboksilaz ile dekarboksillenerek 5-hidroksitriptamine dönüşür ve kendine özgü sitoplazmik veziküllerde depolanır.

Enterokromaffin hücrelerden ve serotonerjik sinir uçlarından parsiyel ekzositozla salıverilir. Büyük kısmı sinaptik aralıktan 5-HT' e yüksek affiniteli taşıyıcı ile sinir ucuna geri alınmak suretiyle etkisi sonlandırılır. Az bir kısmı da difüzyon, ekstrasöronal up-take ve biyotransformasyona uğrar. SSRI ilaçların ve bazı trisiklik antidepresan ve nörotoksik bileşiklerin hedef yeri olan bu taşıyıcı, 5-hidroksitriptamin transporter (5-HTT veya SERT) olarak isimlendirilir. Yetişkin beyninde raphe sinirlerinde 5-HTT ekspresyonu yapılmaktadır. Yapısal 5-HTT gen varyasyonlarının anksiyete bozukluğu, madde bağımlılığı, yeme bozukluğu, otizm, şizofreni ve bazı nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olduğuna dair veriler mevcuttur(49, 72).

Serotonin, şekil 4' de görüldüğü gibi, hücrelerde mitokondriyel MAO-A ve MAO-B ile metabolize edilerek 5-hidroksiindolasetik aside (5-HİAA) yıkılır. MAO-A izoformu özellikle 5-HT ve noradrenalin, MAO-B ise dopamini yıkar. Her iki izoform da mitokondrilerin dış yüzünde bulunur. Trombositlerde bulunan form, MAO-B izoformudur. İlk basamakta, serotonin MAO ile noradrenalin ve dopamin gibi hücre tipine spesifik şekilde oksidatif deaminasyonla 5-hidroksiindolasetaldehide, takiben aldehid dehidrojenazla 5- HİAA'e yıkılır. 5-hidroksiindolasetaldehidin önemsiz miktarları ise alternatif bir yol olan aldehit redüktazla, alkol 5-hidroksitriptofole indirgenir. 5-HİAA'ın beyinden aktif transportla atılımı, nonspesifik aktif transport inhibitörü probeneside duyarlıdır. Normal kişilerde 5- HİAA'ın idrarla atılan miktarı 2–10 mg/gündür, bu miktar karsinoid sendromlu hastalarda çok yükselir(49). 5-HT'in metabolizmasındaki diğer minör yollar, O- ve N-metilasyondur. 5-HT, N-metilasyonla bir endojen

psikotropik madde olan 5-hidroksi-N,N-dimetiltriptamine (bufotenin) dönüşür. Diğer metillenmiş indolaminler olan, N,N-dimetiltriptamin ve 5-metoksi- N,N-dimetiltriptamin daha aktif halusinojenik ajanlardır ve muhtemelen endojen psikomimetiklerdir(49).

Serotonin, pineal bezde melatonin prekürsörü olarak işlev görür, önce 5-HT-N-asetilazla N-asetil-5-HT'e, daha sonra hidroksiindol O-metiltransferazla melatonine dönüşür. Besinlerle alınan triptofanın az bir kısmı niasine dönüşür. (49, 78).

2.4.3. Serotonin reseptörleri

Serotonin reseptörlerinin sınıflandırılması ilk olarak Gaddum ve Picarelli (1957) tarafından yapılmıştır(49). Daha sonra iki farklı 5-HT reseptörünün varlığı radyoligand bağlama tekniğiyle gösterilerek, 5-HT₁ ve 5-HT₂ olarak sınıflandırılmıştır(49). Günümüze kadar serotonin için yaklaşık 14 reseptör tanımlanmıştır. Bu reseptörler de yapısal ve işlevsel farklılıklarına göre 7 sınıfa (5-HT₁–7) ayrılmıştır. Agonist ve antagonistlerle yapılan fonksiyonel çalışmalar ve radyoligand bağlama çalışmaları sonucunda önce 4 alt grup reseptör ailesi (5-HT₁-4) gösterilmiş ve daha sonra yapılan moleküler biyoloji çalışmalarıyla da bu 4 alt tip doğrulanmış ayrıca yeni reseptör alt tipleri (5-HT_{1E/F}, 5-HT_{3A/B}, 5-HT_{5A/B}, 5-HT₆ ve 5-HT₇) tanımlanmıştır(49, 78).

2.4.3.a. 5-HT₁ reseptörleri

5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, ve 5-HT_{1p} olmak üzere alt tiplere ayrılır. Serotoninin renal vazokonstriktör etkisi 5-HT₁-benzeri reseptörler aracılığıyla olmaktadır. Bazı damarlarda (köpek koroner arter gibi) yaptığı dilatör

etki de kısmen, aynı reseptörler aracılığıyla endotelden nitrik oksit salıvermesine bağlıdır(73).

2.4.3.a.1. 5-HT1A reseptörleri

SSS'nde yaygın olarak bulunur. Bu reseptörler aracılığıyla inhibisyon oluşur ve böylece bu reseptörlerin uyarılması serotonerjik sinirlerin ateşleme hızını düşürür ve takiben serotonin sentez, salınım ve turnover'ı azalır. 5-HT1A reseptörlerinin bir kısmı ise daha çok limbik yapılarda olmak üzere postsinaptik yerleşim gösterirler ve uyarılmaları G-proteinle eslesen potasyum(K⁺) kanalları aracılığıyla nöronal hiperpolarizasyona neden olur. Kronik stres ve uzun süreli glukokortikoid uygulanması bu reseptörlerde down-regülasyona neden olur. Steroid hormonlar da 5-HT1A reseptör ekspresyonunu modüle ederler. P maddesinin kendi reseptörü olan nörokinin 1 reseptörü(NK1R) aracılığıyla 5-HT1A reseptörüyle etkileştiği ve bu etkileşiminin anksiyetenin modülasyonunda önemli olduğu gösterilmiştir(49, 80).

5-HT1A agonistleri anksiyolitik, antidepresan, antiagresif ve muhtemelen de antikataleptik, antiemetik ve nöroprotektif özelliklere sahiptir. Aynı zamanda alkolizmde rollerinin olduğu ve uykunun farklı fazlarını da etkilediklerine dair veriler mevcuttur(81). Anksiyete ve depresyon tedavisinde kullanımı mevcuttur. Buspiron, 5-HT1A reseptörlerinin parsiyel agonistidir ve anksiyolitik olarak kullanılır. Anksiyolitik etkisi primer olarak somatodendritik 5-HT1A reseptörlerini (sinir ucundan 5-HT salınımını azaltan) etkilemesine bağlıdır. 5-HT1A reseptörleri üzerinden oluşan antidepresan etki ise muhtemelen postsinaptik 5-HT1A reseptörleri aracılığıyla oluşmaktadır(49, 82).

Bu reseptörlerin obsesif-kompulsif bozukluk, intihara eğilim, panik bozukluk, seksüel davranış, iştah kontrolü, ısı düzenlenmesi, Adrenokortikotropik hormon (ACTH) salınımı ve kardiyovasküler işlev gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlara da katılımlarının olduğu gösterilmiştir(49, 83). β -adrenoseptör blokörleri olan (-) propranolol ve (-) pindolol, 5-HT_{1A} ve diğer bazı 5-HT reseptörleri üzerinde antagonist etkilidirler(49).

2.4.3.a.2. 5-HT_{1B/1D} reseptörleri

5-HT_{1B} ile 5-HT_{1D} reseptörlerinin homolog oldukları düşünülmektedir. 5-HT_{1B} reseptörlerinin serotonerjik sinir uçlarında eksprese edildiği gösterilmiştir (49). Isı düzenlenmesi, solunum, iştah kontrolü, seksüel davranış, agresyon, anksiyete ve muhtemelen de uyku, sensoryomotor inhibisyon ve lokomotor aktiviteyle ilişkilidirler(83).

5-HT_{1D} reseptörleri SSS'nde geniş ölçüde dağılım gösterirler. Nöral dokuda egemen olan 5-HT_{1D α} tipinin daha çok nörojenik inflamasyona, 5-HT_{1D β} tipinin ise vazokonstriksiyona katılımının olduğu düşünülmektedir. Migrenin nöbet tedavisinde kullanılan 5-HT_{1D} agonisti sumatriptan kullanılmaktadır. Bu reseptörlerin ayrıca, anksiyete, depresyon ve Huntington hastalığı gibi bazı hastalıkların fizyopatolojilerinde rol oynadığı düşünülmektedir(49, 81, 83).

2.4.3.a.3. 5-HT_{1E} reseptörleri

Radyoligand bağlama çalışmaları ile insan beyinde tanımlanmışlardır.

2.4.3.a.4. 5-HT_{1F} reseptörleri

5-HT1E tipine benzemesine rağmen ona göre ergo türevlerini daha yüksek affiniteyle bağlarlar. 5-HT1E reseptörleri gibi klinik önemleri henüz bilinmemektedir(49, 73).

2.4.3.a.5. 5-HT1P reseptörleri

Miğdede tanımlanmış (p-periferel) ancak beyinde gösterilememiştir.

2.4.3.b. 5-HT2 reseptörleri

İnsan vücudunda birçok noktada ve SSS' nde yaygın şekilde bulunurlar(49, 84). 5-HT2A, 5-HT2B ve 5-HT2C olarak 3 alt tipi vardır. Serotonine bağlı olarak mide-barsak ve damar düz kasındaki kasılmaya, trombosit agregasyonuna, hipertansiyon, migren ve sinir depolarizasyonuna aracılık ederler. Atipik antipsikotikler, klozapin, quetiapin ve olanzepin 5-HT2 reseptör antagonistidirler. Hasarlanmış dokularda inflamasyonda ve inflamatuvar ağrıda serotoninin de rolü olduğu bilinmekte olup yine 5-HT2 reseptör blokör ajanların diskopatiye sekonder lomber ağrı tedavisinde etkin olabileceğine dair çalışmalar yapılmış ve hatta 5-HT2 blokör ajanların, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlarınkine (NSAI) ek ağrı kontrolü sağladığı da iddia edilmiştir(66, 84). Bazı deneysel çalışmalarda 5-HT2 reseptör blokajının miyokard iskemisine bağlı hücresel hasarı önleyici etkinliği olduğuna gösterilmiştir(85).

2.4.3.c. 5-HT3 reseptörleri

İlk olarak periferel otonomik, duyu ve enterik sinir hücrelerinde tanımlanmıştır. Serotoninin eksitator etkisine aracılık ederler. Daha sonra beyindeki sinir uçlarında bulunduğu ve serotonin dahil, bazı nörotransmitterlerin salınımını düzenlediği gösterilmiştir. Hem GÜS'de hem de SSS'nde kusma

cevabına katılırlar. Uyarılmaları, basta Na^+ olmak üzere, K^+ ve daha az olarak da Ca^{++} gibi katyonların girişine ve hızlı ve kısa süreli depolarizasyona neden olur(73). Antagonistleri olan ondansetron, granisetron, dolasetron ve tropisetron özellikle sisplatin gibi emetojenik etkisi güçlü kemoterapötik ilaçlara ve radyoterapiye bağlı şiddetli kusmanın tedavisinde kullanılırlar. Etki mekanizmaları periferik vagal afferentlerdeki ve kemoreseptör trigger zone (CTZ) ve nükleus traktus solitarius gibi santral bölgelerdeki 5-HT₃ reseptörlerin bloke etmelerine bağlıdır(49, 73). 5-HT₃ reseptör antagonistlerinin migren tipi ve diğer tip ağrı tedavisinde etkin oldukları, ayrıca anksiyete, depresyon ve demans tedavisinde de yararlı olabileceklerine dair bulgular elde edilmiştir(83). Ayrıca bu reseptörler yeni sınıf antipsikotik ilaçlar için hedef reseptörlerdir ve alkol, nikotin, kokain ve amfetamin bağımlılığı tedavisinde kullanılma potansiyelleri de halen araştırılmaktadır(83).

2.4.3.d. 5-HT₄ reseptörleri

SSS ve periferde yaygın dağılımı vardır. 5-HT₄ reseptörlerinin uyarılması barsakta asetilkolin salınımını uyarır, peristaltizmin düzenlenmesine katkı yapar. Agonistleri metoklopramid, sisaprid ve mosaprid özafagusun alt kısmını ve fundusu gevşetip midenin kapasitesini ve uyuncunu artırırken, antrumunu uyarıp mide boşalmasını çabuklaştırırlar (73).

2.4.3.e. 5-HT₅ reseptörleri

5-HT_{5A} ve 5-HT_{5B} alt tipleri vardır. Motor kontrol, beslenme, anksiyete, öğrenme, bilgi depolama, adaptif cevap ve beyin gelişiminde rol oynadıkları düşünülmektedir(83).

2.4.3.f. 5-HT6 reseptörleri

Bazı tipik (klorpromazin, flufenazin) ve atipik (klozapin, risperidon, olanzepin) nöroleptiklerin bu reseptörlere yüksek affiniteyle bağlandıkları gösterilmiştir (49, 83).

2.4.3.g. 5-HT7 reseptörleri

Serotonin muhtemelen 5-HT7 reseptörleri aracılığıyla sirkadien ritmi etkilemektedir(83).

2.5. KETİAPİN (Quetiapine)(Serequel c, Astra Zeneca)

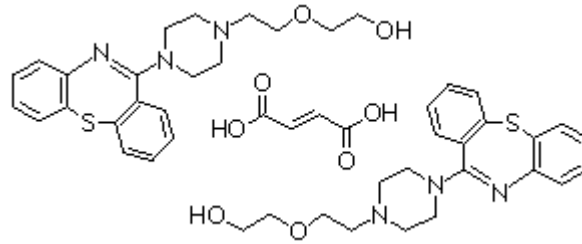
Dibenzotiyazepin türevi bir atipik antipsikotik ajan olup hastalar tarafınca iyi tolere edilmektedir. Kısa dönem, çift kör, randomize çalışmalar göstermiştir ki şizofreni tedavisinde plaseboya göre ketiapin belirgin olarak daha etkindir. Ketiapin şizofreninin pozitif ve negatif belirtileri üzerinde, kısa dönem sağaltımda, herhangi bir ekstrapiramidal belirtiyeye neden olmadan ve prolaktin düzeyini arttırmadan, standart antipsikotikler kadar etkili olduğu bugüne kadar yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur(86, 87, 88, 89).Yine şizofreni hastalarının depresif dönemlerinde de oldukça etkin olduğu kanıtlanmıştır. Bipolar bozukluk tedavisinde de hem mani, hem depresyon dönemlerini kontrol altına almada etkin bir ajan olarak kullanılmaktadır(90, 91, 92, 93).

2.5.1. Ketiapinin moleküler yapısı

Dibenzotiyazepin türevi bir atipik antipsikotik ajan olup yapı olarak klozapin ve olanzapine benzemektedir. Ketiapin, tabletlerde fumarat tuzu olarak bulunmaktadır. Şekil 5 'te moleküler formülü $C_{21}H_{25}N_3O_2S$ gösterilmiştir(89). Ketiapinin farmakokinetiği yaş, cinsiyet, etnik köken ve sigara ile

değişmemektedir(49, 94, 95). Oral alımı takiben hızlı absorbe edilir ve gıda alımından etkilenmez. Plazma proteinlerine %83 oranında bağlanır. Ketiapin metabolizması birincil olarak karaciğerdeki sitokrom p450 3A-4 sistemiyle sülfoksidasyonla gerçekleşir. Atılımı ise inaktif metabolitler şeklinde birincil olarak (%73) idrar yoluyla olur.

Emildikten yaklaşık 2 saat sonra plazma tepe noktasına ulaşır. Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 6 saat (4-12 saat arasında)olmasına rağmen sizofrenili hastalarda yapılan PET çalışmasında serotonin reseptörlerine klinik olarak efektif seviyede en az 12 saat bağlı kaldığı gösterilmiştir. Yani plazmadan eliminasyonuna göre reseptörlerden uzaklaşması daha yavaş seyretmekte olup bu da günde iki kez kullanımına imkan sağlamaktadır. Plazmadaki kararlı düzeyine 48 saatte ulaşmaktadır. Plazma seviyesi, alınan doz ilişkisi lineer farmakokinetik özellikler göstermektedir (88, 89).



Şekil 5. Ketiapin fumaratın moleküler yapısı (96).

2.5.2. Ketiapinin etki mekanizması

Dibenzotiyazepin türevidir ve farmakodinamik olarak klozapine benzemektedir. Serotonin 5-HT₂ ve 5-HT₆ reseptörlerine yüksek, dopamin D₂ reseptörlerine ise daha ılımlı bağlanma afinitesi gösterip blokaj yapmakla birlikte

klozapin gibi histamin H1 reseptörlerine, $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ reseptörlerine de afinitesi vardır. Bunların dışında dopamin D1 ve Muskarinik M1 reseptörlere ise ihmal edilir düzeyde bağlanma özelliği de göstermektedir(86, 87, 97, 98, 99, 100). Klozapin benzeri antipsikotik etkinlik göstermekle birlikte muskarinik ve dopaminerjik reseptörlere daha düşük afinitesi sayesinde antikolinergik ve ekstrapiramidal sistem yan etkileri daha düşük olup prolaktin seviyesi üzerine de etkisi azdır(49, 101, 102). Ketiapinin in vitro çalışmalarda farmakolojik etkisinin mesolimbik ve mesokortikal dopaminerjik sistemlere selektif olduğu ve böylece antipsikotik etki yaptığı gösterilmiştir.

5-HT₂ reseptörlerine afinitesi, D₂ reseptörlerine olduğundan daha fazla olması ve Nigrostriyatal dopaminerjik sistem üzerine etkinliği olmamasından dolayı düşük ekstrapiramidal yan etki açısından avantajlıdır(103). Yaşlı ve ergen hastalarda ,Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi önceden dopaminerjik patolojisi bulunanlarda etkin ve iyi tolere edilmektedir(103).

2.5.3. Ketiapinin ilaç etkileşimleri

Karaciğerde sitokrom P450 3A4 sistemi ile metabolize olduğundan dolayı, bu enzim sistemini inhibe eden eritromisin, ketakonazol, fluvoksamin, buspiron, nefazodon gibi ilaçlar ketiapiin plazma seviyesini arttırırken; karbamazepin ve fenitoin azaltmaktadır(89). Haloperidol ve risperidon, ketiapiin plazma seviyesini etkilemezken tiyoridazin düşürmektedir (87, 89). Ketiapinin, lityum, imipramin, haloperidol, fluoksetin ,risperidol ve lorezepam ile etkileşimi yoktur.

Karaciğer hastalıklarında doz oranını % 25-50 arasında düşürmek gerekirken böbrek hastaları için doz ayarlamasına ihtiyaç duyulmamaktadır. Yaşlı hastalarda dozun % 50 oranında azaltılması önerilmektedir (89, 104).

2.5.4 Ketiapinin yan etkileri

En sık karşılaşılan yan etkileri; ağız kuruluğu, baş ağrısı, dispepsi postural hipotansiyon, taşikardi, kabızlık, sedasyon, başta hafiflik hissi, kilo alımı ve karaciğer enzimlerinin geçici yüksekliğidir (89, 101). Ketiapinin farklı dozlarda iyi tolere edildiği, etkin olduğu ve yüksek dozlarda bile prolaktin seviyelerinde bir değişiklik yapmadığı belirtilmiştir (62).

Antipsikotik ajanlar düzeltilmiş QT intervalini (QTc) uzatabilmelerine rağmen ketiapinin terapötik dozlarda böyle bir etkisinin olmadığı saptanmış ve klinik çalışmalarda da plasebo ile farklı olmadığı gösterilmiştir(49, 105).

Şizofreni tedavisinde, ekstrapiramidal semptomlar (örn. parkinsonizm, akatizi ve distoni) standart ve bazı atipik antipsikotik ajanlara belirgin tolerabilite problemi olarak ortaya çıkıp tedavi programını direkt etkileyebilmektedir. Ketiapinin ise şizofrenik hastaların tedavisi sırasında ekstrapiramidal semptom oluşturma potansiyeli düşüktür. Ketiapin tedavisinde bu semptomların insidansının plasebo değerleriyle benzer olduğu çalışmalarda tespit edilmiş olup uzun dönem tedavilerde ise insidansa küçük bir etki söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle ekstrapiramidal semptomlar nedeniyle kesilmesi gereken standart bir antipsikotik ajanın iyi bir alternatifi ketiapin olacaktır(49, 106). Organik beyin hasarı olan hastalar özellikle Parkinson hastalığı olanlar ekstrapiramidal semptomların gelişimi yönünden artmış riske sahiplerdir. Ancak ketiapinin bu

hasta gruplarında bu semptomları veya istemsiz hareketleri artırmadığına dair çalışmalar mevcuttur(103).

Tardiv diskinezi de standart antipsikotik ajanların uzun dönem kullanımlarıyla ortaya çıkan ve tedavinin kesilmesini gerektiren önemli bir sorundur. Yine ketiapinin tardiv diskinezi oluşturma riski hem erişkinlerde hem de yaşlı hastalarda standart ajanlardan daha düşük görünmektedir(49, 107).

Travmatik beyin hasarı gelişen birçok hastada takiben ortaya çıkan ajitasyon ve agresyon hali psikososyal iyileşmede gecikmeye neden olmakta ve hastaların nörorehabilitasyon programlarından görecekları yararı da etkilemektedir. Yapılan klinik deneysel çalışmalarda ketiapin, travmatik beyin hasarına bağılı agresyon ve ajitasyonun tedavisinde de uygun bir ajan olarak değerlendirilmiştir(49, 108).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafınca G.Ü.ET-07.057 kod numarasıyla deneysel çalışmamızın etik onayı alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (GÜDAM) temin edilen, herbirinde rastgele seçilmiş 6 rat olan beş deney grubu oluşturuldu;

Grup 1 (K-I): İskemi yapılmayan kontrol grubu (N=6)

Grup 2 (K-II): 1 gün yaşatılan iskemi-kontrol grubu (N=6)

Grup 3 (D-I): 1 gün yaşatılan iskemi-ilaç grubu (N=6)

Grup 4 (K-III): 3 gün yaşatılan iskemi-kontrol grubu (N=6)

Grup 5 (D-II): 3gün yaşatılan iskemi-ilaç grubu (N=6)

K-I grubu, sağlıklı beyindeki apoptozis ile iskemi +/- ilaç gruplarını karşılaştırabilmek için sakrifiye edildi. Diğer dört gruba iskemi oluşturmak ve sakrifiye etmek için aynı cerrahi prosedürler uygulandı. Daha önceki çalışmalar göz önünde tutularak ilaç gruplarına ketiapi 10mg/kg/gün intraperitoneal yolla, oluşturulan travmanın 30. dakikasında ve takiben her gün aynı saatte, günde bir kez, 3 gün boyunca verildi(49, 109, 110).

3.1. Geçici Fokal Serebral İskemi Modeli

200-220 gr ağırlıktaki erkek, Wistar cinsi albino ratlar (n:30), deney gününe kadar sıcaklığı $21\pm1^{\circ}\text{C}$ olan bir odada ve gün ışığı 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık kontrollü olarak, 4 tanesi bir kafeste olacak şekilde, su ve yem alımları serbest bırakılarak tutuldular.

Hayvanlarda genel anestezi intramusküler yolla 10mg/kg xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul/Türkiye) ve 50mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul/Türkiye) ile sağlandı. Anestezi derinliği her 15 dakikada bir kuyruktan ağrı verilerek değerlendirildi. Tüm cerrahi uygulamalar mikroskop (Opmi 99, Carl Zeiss, Almanya) altında gerçekleştirildi.

SKA monitorizasyonu sol orta fossaya yüksek hızlı dril (Aesculap Microtron GD 412, Tuttlingen, Almanya) ile burr-hole açılarak Laser Doppler probu (Vasamedics, Blood Perfusion Monitor, Model BPM 433-1, St Paul, MN, ABD) ile yapıldı. 0. dakika ölçümünden sonra OSA oklüzyon işlemi için ventral orta hat boyun insizyonu ile sol karotid arter bifurkasyonu disseke edildi. Geçici fokal serebral iskemi 1991 yılında Kawamura ve ark 'nın tanımladığı OSA'nın intraluminal filament yöntemi ile oluşturuldu (111). Arteria karotis communis ve

internal karotis arterleri komşu vagus sinirinden dikkatlice ayrıldıktan sonra eksternal karotid arter distalinden bağlandı. Oksipital ve pterigopalatin arterler koagüle edildi. Arteria karotis kommunis ve internal karotid artere anevrizma klibi yerleştirilerek kan akımı kesildikten sonra eksternal karotid artere arteriotomi yapıldı. Arteria karotis kommunis ve arteria karotis eksterna bifurkasyonundan, 17-22mm uzunluğunda ucu silikon ile güçlendirilmiş, 3-0 monofilament naylon suture (Ethilon, Ethicon Inc., Somerville, NJ, ABD) internal karotid arterin lümeni içerisinde, OSA'nın ostiumunu kapatıncaya kadar yavaşça ilerletildi. Sonrasında arter bifurkasyon noktasından bağlanarak suture sabitlendi. Tam oklüzyon gerçekleştirildiğinde SKA monitoründe kan akımında düşüş saptandı. SKA'nın 0. dakika ölçümünden en az %50 kadar azaldığı ölçülenlerde suturen ostiumu kapattığı kabul edildi ve deneye devam edildi. Tüm cerrahi işlemler ortalama 25 dakikada gerçekleştirildi. 120 dakikalık oklüzyonu takiben, anestezi altında suture çıkartılarak reperfüzyon sağlandı.

K-II ve D-I gruplarındaki hayvanlar travmanın 24. saatinde sakrifiye edildi. K-III ve D-II gruplarında deney hayvanlarına her gün 10mg/kg/gün i.p. yolla Quetiapine verilmek suretiyle 3 gün takip edildikten sonra sakrifiye edildi. Sağlıklı beyin dokusundaki apoptozisle karşılaştırmak için de K-I grubu sakrifiye edildi.

3.2. Doku Takibi ve İmmünohistokimyasal Boyama

Deneyisel çalışmamızdaki tüm histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler Hacettepe Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı. Örnekler formalinle fiks edildi. Akarsu altında

formalinden kurtarıldıktan sonra alkol serilerinden geçirilmek suretiyle dehidrate edildi. Ardından tüm örnekler parafine gömülüp bloklandı. Mikrotom yardımıyla siyalinize lamalar üzeri 5µ kalınlıkta seri kesitler alındı ve immünohistokimyasal incelemeye geçildi.

Ratlardan alınan beynin tümü %10 tamponlanmış formaldehit ile 3 gün tespit edildi. Dehidratasyon ve parafine alıştırma işlemleri doku takip cihazında(Leica TP 1020 CH,Germany) yapıldı. Parafine gömme ve bloklama işlemleri parafin istasyonunda (Leica EG 1150 CH,Germany) yapıldı.

Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm boyutunda kesitler özel siyalinize kaplı lamalar üzerine alındı. 1 saat ısı ile, 2 kere 15 dakika boyunca ksilol ile kimyasal deparafinizasyondan sonra bu kesitlerden biri lama alınıp hematoksil-eozin ile boyanarak sahanın doğruluğu tespit edildi. Diğer kesitler ApopTag Plus Peroksidaz In Situ Apoptozis Detection Kit(Chemicon, USA cat no:7101) ile immunohistokimya yöntemi kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi.

1) Her biri 5'er dakika olacak şekilde, 3 defa ksilolde ve 2 kez 5' er dakika absolut alkolde bekletildikten sonra kesitler %95 etanolde 3 dakika, %70 alkolde 3 dakika daha bekletilerek deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemleri tamamlandı.

2) Kesitler PBS (phosphate buffered saline - fosfat tampon solusyonu, pH: 7,4) ile 5 dakika yıkandı. Daha sonra PBS içerisinde dilüe edilen 20 µg/ml proteinaz K ile oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.

3) Daha sonra distile su ile yıkanan kesitler endojenöz peroksidaz aktivitesini engellemek amacıyla taze hazırlanmış %3 H₂O₂ solusyonunda 15 dakika bekletildi.

4) Bu işlemi takiben kesitler equilibration buffer ile muamele edildikten sonra DNA fragmanlarının işaretlenmesi amacıyla TUNEL reaksiyonu, Tdt enzimi ile 37⁰C'de 60 dakika inkübe edilerek gerçekleştirildi.

5) Sonra kesitler hızlıca yıkandı ve enzimle birleşmemiş nükleotidler uzaklaştırıldı.

6) Kesitler 1'er dakikadan 3 kez PBS ile yıkandı. Sonra antidigoksinin peroksidaz konjugat ile 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

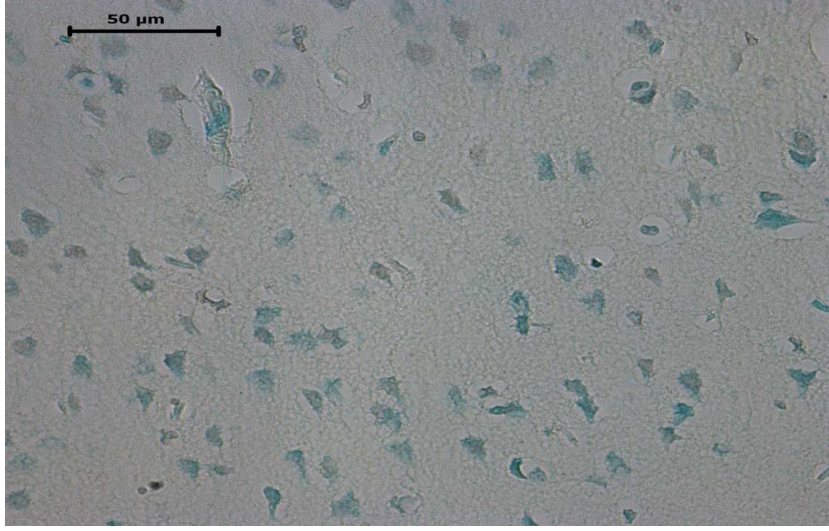
7) Daha sonra kesitler 4 kez PBS ile 2' şer dakika yıkandı ve taze hazırlanan % 0,005 (w/v) 3,3'-diaminobenzidin (DAB) ile işaretlenen DNA fragmanlarının görüntülenmesi için oda ısısında 10 dakika inkübe edildi.

8) Zemin boyaması %0,5'lik metil yeşilinde 10 dakika tutularak yapıldı. Distile su ile yıkandıktan sonra % 100 n-butanol ile dehidrate edildi. Son olarak kapatma balzamu uygulanarak lamel ile kapatıldı.

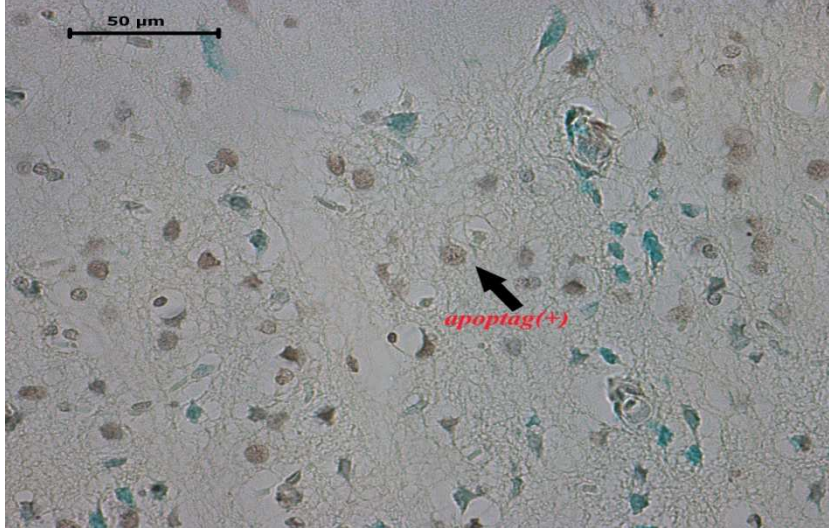
3.3. Kesitlerin Değerlendirilmesi

Tüm grupların immünohistokimyasal olarak boyanmış kesitleri ışık mikroskopunda (Leica CTR 6000, Germany) incelendiği. Örneklerde metil yeşili ile boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler ApopTag pozitif olarak değerlendirildi(Resim 1 ve resim 2). Her gruptaki tüm hayvanlara ait kesitler x40 büyütmede incelendi(x40 büyütmede her alan

0,0625mm²' ye denk gelmektedir). Rastgele 5 farklı alan fotğraflandı(Leica DFC 490 camera, Germany) ve her alandaki ApopTag pozitif hücreler sayıldı.



Resim 1. Metil yeşili ile boyanmış nöron ve glial hücreler(x40).



Resim 2. Apopitag ile boyanıp kahverengi işaretlenmiş nöron ve glial hücreler. Siyah ok apoptotik bir hücreyi göstermektedir(x40).

4. BULGULAR

Bütün gruplarda, her büyük büyütme alanına ait soluk yeşil zeminde, kahverengi boyanmış apoptag pozitif hücre sayısı aşağıdaki tablolarda görülmektedir (tablo 6-10).

Tablo 6. İskemi yapılmayan kontrol grubunda(K-I) apoptag(+) hücre sayıları

K-I	APOPTOTİK HÜCRE SAYISI					
	1.alan	2.alan	3.alan	4.alan	5.alan	toplam
1.hayvan	1	0	0	0	0	1
2.hayvan	0	0	0	0	1	1
3.hayvan	0	1	1	0	0	2
4.hayvan	0	0	0	0	1	1
5.hayvan	0	0	1	0	0	1
6.hayvan	1	0	0	0	0	1

Tablo 7. 1 gün yaşatılan iskemi-kontrol grubunda(K-II) apoptag(+) hücre sayıları

K-II	APOPTOTİK HÜCRE SAYISI					
	1.alan	2.alan	3.alan	4.alan	5.alan	toplam
1.hayvan	40	8	32	35	25	140
2.hayvan	17	10	14	6	21	68
3.hayvan	25	13	23	19	20	100
4.hayvan	10	7	9	9	5	40
5.hayvan	9	3	10	10	11	43
6.hayvan	9	7	5	12	10	43

Tablo 8. 3 gün yaşatılan iskemi-kontrol grubunda(K-III) apoptag(+) hücre sayıları

K-III	APOPTOTİK HÜCRE SAYISI					
	1.alan	2.alan	3.alan	4.alan	5.alan	toplam
1.hayvan	40	26	25	27	24	142
2.hayvan	31	28	34	35	46	174
3.hayvan	26	24	17	20	22	109

4.hayvan	46	47	42	30	38	203
5.hayvan	28	37	30	31	28	154
6.hayvan	29	45	30	23	28	155

Tablo 9. 1 gün yaşatılan iskemi-ilaç grubunda(D-I) apoptag(+) hücre sayıları

D-I	APOPTOTİK HÜCRE SAYISI					
	1.alan	2.alan	3.alan	4.alan	5.alan	toplam
1.hayvan	20	12	13	17	12	74
2.hayvan	8	10	7	9	11	45
3.hayvan	20	24	23	11	13	91
4.hayvan	7	11	8	4	5	35
5.hayvan	12	17	16	15	16	76
6.hayvan	7	9	6	9	8	39

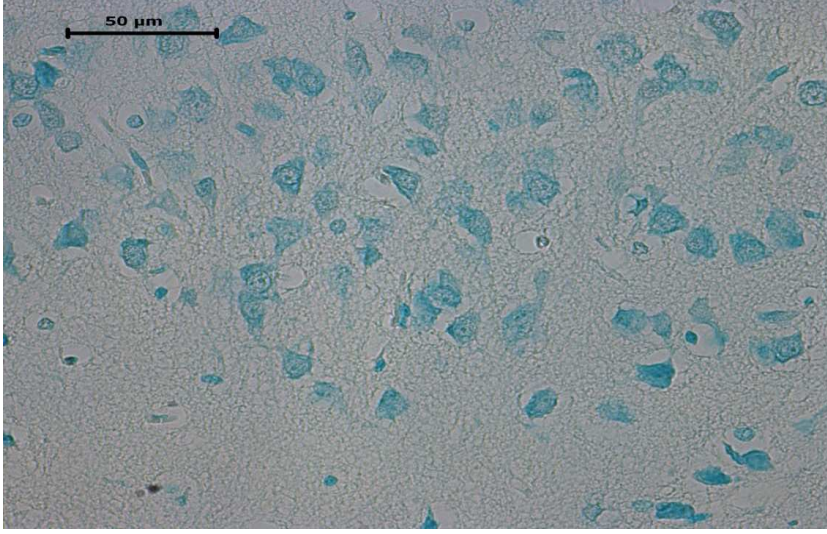
Tablo 10. 3 gün yaşatılan iskemi-ilaç grubunda(D-II) apoptag(+) hücre sayıları

D-II	APOPTOTİK HÜCRE SAYISI					
	1.alan	2.alan	3.alan	4.alan	5.alan	toplam
1.hayvan	30	28	20	32	27	137
2.hayvan	16	17	8	18	7	66
3.hayvan	13	9	8	15	6	51
4.hayvan	5	10	4	8	9	36
5.hayvan	25	7	5	4	7	49
6.hayvan	6	7	10	8	11	42

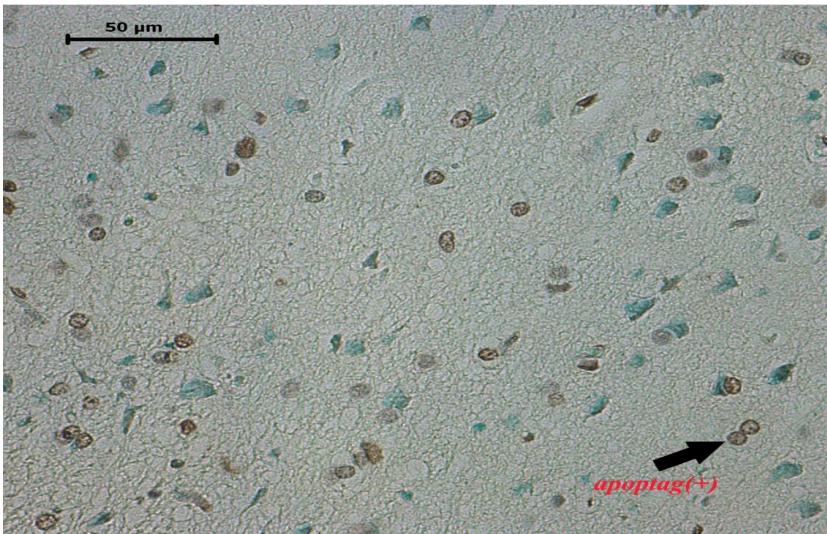
Tablolar incelendiğinde; 3 günlük iskemi-kontrol grubunda,1 günlük iskemi-kontrol grubuna göre apoptotik hücrelerin çok belirgin arttığı izlenmektedir. 1 ve 3 günlük iskemi-ilaç grupları arasında bu belirgin apoptotik hücre artışı görülmemektedir.

1 günlük sonuçlara bakıldığında; iskemi-ilaç grubunda apoptozisin daha az görülmesine rağmen istatistik bölümünde anlatıldığı üzere anlam ifade etmediği,

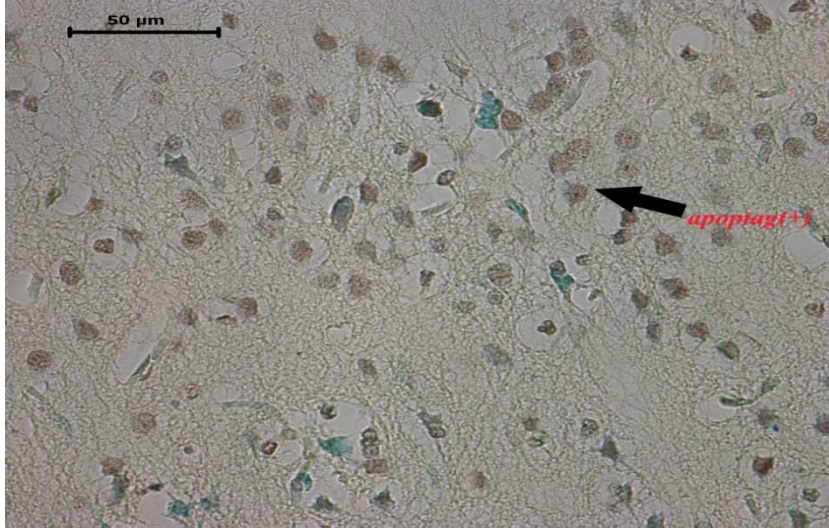
3 günlük sonuçlara bakıldığında ise; iskemi-ilaç grubunda apoptozisin belirgin olarak daha az olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.



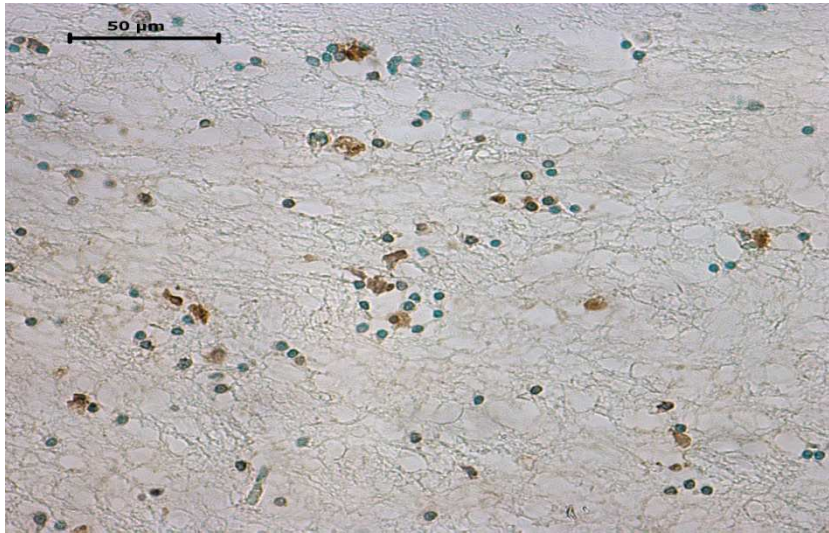
Resim 3. İskemi yapılmayan kontrol grubunda(K-I) metil yeşili ile boyanmış nöron ve glial hücreler izlenmektedir(x40).



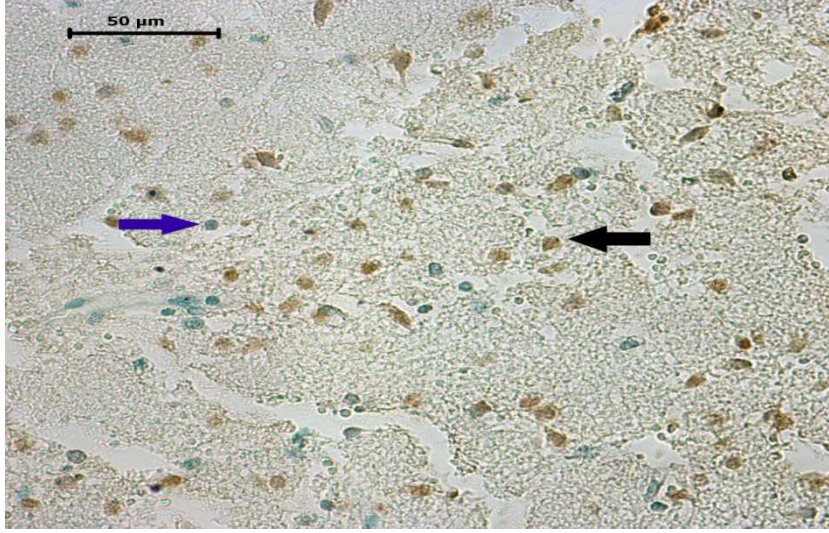
Resim 4. 1 günlük iskemi-kontrol grubunda(K-II) apopitag ile boyanıp kahverengi işaretlenmiş nöron ve glial hücreler. Siyah ok apoptotik hücreyi göstermektedir(x40).



Resim 5. 3 günlük iskemi-kontrol grubunda(K-III) apopitag ile boyanıp kahverengi işaretlenmiş nöron ve glial hücreler. K-II grubuna göre daha yoğun apoptag (+) nöron ve glial hücre izlenmektedir. Siyah ok apoptotik hücreyi göstermektedir(x40).



Resim 6. 1 günlük iskemi-ilaç grubunda(D-I) metil yeşil ile boyanmış normal, apoptag ile boyanıp kahverengi işaretlenmiş nöron ve glial hücreler izlenmektedir(x40).



Resim 7. 3 günlük iskemi-ilaç grubunda(D-II) iskemik alandaki yoğun apoptag(+) hücrelerin(siyah ok) arasında metil yeşil ile boyanmış normal hücreler(mavi ok) izlenmektedir(x40).

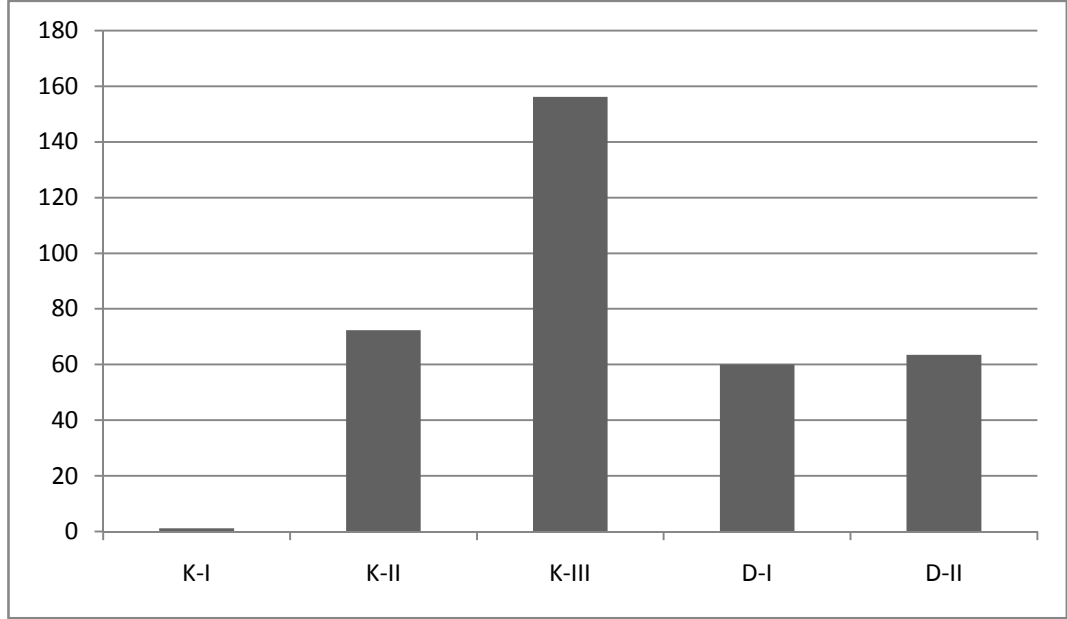
5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ VE YORUMLANMASI

Tablo 6, 7, 8, 9 ve 10’da sunulan değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Grupların karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi, ikili karşılaştırmalar yoluyla farklılık yaratan grupların tespit edilmesinde ise Dunn testi kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçları tablo 11’de gösterilmektedir.

Tablo 11. İstatistiksel analiz sonuçları

	Ortalama	Std. Sapma	Median	Minimum	Maksimum
K-I(n=6)	1,17	0,41	1	1	2
K-II (n=6)	72,33	40,32	55,5	40	140
K-III (n=6)	156,17	31,44	154,5	109	203

D-I (n=6)	60,00	23,26	59,5	35	91
D-II (n=6)	63,50	37,40	50	36	137



Grafik 1: Gruplarda saptanan median apoptotik hücre sayısının grafiksel gösterimi.

Sonuçlar yorumlandığında:

- 1) Tüm gruplar değerlendirildiğinde ; $p < 0.001$ olup gruplar arasında apoptotik hücre sayısı bakımından farklılık olduğu saptandı.
- 2) Gruplar ikili olarak karşılaştırıldığında;
 - K-I / K-II: $p=0,002$
 - K-I / K-III: $p=0,002$
 - K-I / D-I: $p=0,002$
 - K-I / D-II: $p=0,002$
 - **K-II / K-III: $p=0,004$**
 - **K-II / D-I: $p=0,699$**
 - **K-II / D-II: $p=0,699$**

- **K-III / D-I: $p=0,002$**

- **K-III / D-II: 0,004**

- **D-I / D-II: $p=1,000$** değerleri saptandı. Sonuç olarak; iskemik

prosedür uygulanmayan K-I grubu tüm gruplardan anlamlı derecede düşük apoptozise sahip ki bu da uyguladığımız iskemik prosedürün uygunluğunu göstermektedir. Yine sonuçlara göre K-III(3 gün yaşatılan iskemi-kontrol grubu) grubunun diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek apoptotik hücre sayısına sahip olduğu saptandı. K-II, D-I, D-II grupları ise birbirleriyle karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Travmatik ve travmatik olmayan birçok olay sonucunda karşımıza çıkan serebral iskemi, günümüzün en önemli mortalite ve morbidite sebeplerindendir. Primer iskemik veya travmatik serebrovasküler olayların ya da sekonder zedelenmenin oluşturduğu iskemik hasarın önlenmesi amacıyla, farklı mekanizmalarla etki gösteren birçok ilaç veya cerrahi yöntem geçmişte denenmiş ve günümüzde de denenmektedir. Bugün için halen tamamen bu problemi çözecek yöntem veya ilaç bulunamamıştır. Denenen birçok ilaç, mekanizmaların biri veya birkaçı üzerinden etkili olmakta, çok karmaşık ve multifaktöryel ceryan eden bu olaylar zincirini kökten çözememekte, kısıtlı fayda oluşturmaktadır (9). Güncel bilgilerimiz ışığında anti-eksitotoksik, anti-inflamatuvar, antioksidan ve/veya anti-apoptotik olan, SSS'ne rahatça geçebilen, yan etkisi tolere edilebilir olan, iskemi oluşumundan 4-6 saat geçtikten sonra bile kullanıldığında etkisi olabilen, diğer nöron koruyucu maddelerle olumsuz etkileşimi olmayan maddeler

ideal nöron koruyucudur(9). Henüz bu şartları karşılayan ideal madde veya yöntem bulunamamıştır.

Kollateral damarlarca sınırlı perfüzyonu olan, iskemik doku etrafındaki penumbra bölgesinde bulunan hücreler saatlerce canlı kalabilmekte, şayet tekrar yeterli pefüzyon sağlanamazsa buradaki hücrelerde ölüme gitmektedir. Apoptozis ile ilgili yapılan çalışmalar sayesinde bu alanın iskemiden kurtarılabilecek hedef bölge olduğu ortaya konmuştur (9, 19). Deneysel çalışmalarda birçok ilaçla bu apoptotik süreç azaltılarak veya yavaşlatılarak zaman kazanmak, reperfüzyonla da bir kısım fonksiyonların tekrar kazanılması hedeflenmiştir. Bu olumlu tabloya ve reperfüzyonun bazı fonksiyonları düzeltmesine rağmen, tam tersine serbest oksijen radikallerinin oluşup hasarın ilerlemesine de neden olabilmektedir(9, 112).

Yakın zamanlarda; glutamat reseptör antagonistleriyle (9, 113, 114), kalsiyum kanal blokörleriyle (9, 115), serbest oksijen radikallerini yok edici ajanlarla (112, 116), sitikolin ile (9, 117, 118, 119, 120), hipotermiyle (6, 121) ve bazen de bunların kombinasyonlarıyla yapılan birçok çalışmada nöron koruyucu olumlu sonuçlar rapor edilmiştir.

Deneysel ve klinik serebral iskemi çalışmalarında, ılımlı hipoterminin (2-6°C'lik düşüş) tek başına ve kombine çalışmalarda iyi tolere edilip nöron koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (9, 122). Myokardiyal supresyon, trombositopeni, dissemine intravasküler koagülopati, solunum yetmezliği, ağır enfeksiyon ve renal yetmezlik gibi yan etkileri olan ve yoğun bakım şartları gerektiren derin hipotermi, tedavideki yerini daha düşük riskli olan hafif dereceli

hipotermiye bırakmıştır (9, 126). Etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla birlikte metabolik hızı, protein sentezini ve ATP kullanımını azaltarak, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu engelleyerek ve eksitator nörotransmitterlerin salınımını bloke ederek etki ettiği düşünülmektedir (127, 128). Özellikle nöron koruyucu maddelerle kombine edildiğinde, birbirlerinin etkilerini güçlendirerek daha etkin sonuçlar alınabileceği bildirilmiştir(6, 9). Alkan ve arkadaşlarının çalışmasında da MK 801 ile hipotermi kombinasyonunun, bunların tek tek uygulanmasına göre hipoksik iskemik beyin hasarlanmasını daha belirgin olarak azalttığı saptanmıştır (6).

Endojen bir nükleozid olan Sitikolin(CDP-kolin), hücre membranlarının devamlılığında rol oynayan fosfolipidlerin oluşumunda ve tamirinde gereklidir (9, 119, 121, 129, 130). Yapılan çalışmalarda Sitikolin'in apoptotik süreçte görevli pro-kaspaz 1, 2, 3, 6 ve 8 ekspresyonunu ve iskemi sırasında ortaya çıkan DNA fragmentasyonunu azalttığı gösterilmiştir (9, 129). Şahin ve arkadaşlarının çalışmasında hipotermi ile sitikolin kombinasyonunun, kaspaz 3 ve 9'un ekspresyonunu belirgin azalttığı, tek başına sitikolin uygulanan sıçanlara göre anti-apoptotik protein bcl-2'nin artmış olduğu, buna karşın apoptotik yolaktaki kaspaz 3 ve 9'un ise belirgin şekilde baskılandığı saptanmış. Sonuçlar bu kombinasyonun, apoptotik hücre ölüm basamaklarını apoptozom oluşmadan engelleyebileceğini, enerji yetmezliği nedeniyle gelişen eksitator amino asit birikimini ve dolayısıyla nöronal hasarlanmayı azaltabileceğini literatürdeki bilgilerle de korrelasyon gösterecek şekilde ortaya koymaktadır(9, 10, 130, 131). Ayrıca literatürde tek başına hafif hipoterminin (32-34°C) de iskemi sonrası ilk

30 dakikada nöron koruyucu etkisi olduğu , serebral infarktın büyüklüğünü azaltabileceği bildirilmektedir(9, 132, 133, 134, 135).

Luo J ve Shi R' nin deneysel çalışmasında polietilen glikolün, apoptozisde ki en önemli basamaklardan olan sitokrom c salınımını baskılayarak spinal travma sonrasındaki apoptotik hücre ölümünü azalttığı gösterilmiştir (136).

Yune ve ark.(137) 17-beta östradiolün , 2006'da Arishima ve arkadaşları(138), 2007'de Vitellaro-Zuccarello ve arkadaşları (38) eritropoetinin, Bao ve arkadaşları antioksidanların(139, 140), posttravmatik spinal kordda apoptozise karşı önleyici etkisinin olduğunu göstermişlerdir.

Gupta ve arkadaşları 2002'de yaptıkları çalışmayla santral sinir sisteminde endojen inhibitör nöromodülatör olan adenozinin, iskemi sırasında artan eksitatör amino asit (EAA) salınımını azalttığı ve nöronları oksidatif strese karşı koruduğu gösterilmiştir(141). Ekici ve arkadaşlarının yaptığı orta serebral arter iskemi reperfüzyon modelinde , adenozin kullanımı sonrası iskemik alanların azaldığı gösterilmiştir (142).

Caserta ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda irreversibl genel kaspaz inhibitörü olan QVD-OPH' nin, sitokrom C ile ilişkili Kaspaz 9 ve 3, Fas/CD95 ölüm reseptörleriyle ilişkili Kaspaz 8 ve 10'un aktivasyonunu engelleyerek apoptozisi hem nöronal hem de glial hücrelerde önlediği, sekonder yaralanmayı böylece azalttığı, fonksiyonel iyileşmeye katkıda bulunduğu saptanmıştır (70, 143).

Muto ve arkadaşlarının 2005'de, Rajesh ve arkadaşlarının 2006'da yaptıkları çalışmalarda, 5-HT2 reseptör blokörü olan Sarpogrelate' in kardiyak

dokuda antiapoptotik etkiyle buradaki hücrelerin apoptozisle ölümünü engellediği, miyokard disfonksiyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir(49, 85, 122). Capela ve arkadaşlarının ecstasy (MDMA) ile yaptıkları çalışmada, 5-HT_{2A} reseptör yolları üzerinden apoptotik hücre ölümüne neden olduğu ve 5-HT₂ bloker ajan olan Ketanserin kullanılarak da apoptozisin önüne geçilebildiği gösterilmiştir(49, 123, 124).

Literatürdeki 5-HT₂ reseptör agonist ve antagonistleriyle ilgili yazılar ve kliniğimizde yapılan travmatik spinal kord hasarıyla ilgili çalışmada etkin olduğunu gördüğümüz(49) atipik antipsikotik ilaç olan ketiapinin , serebral iskemide de apoptotik hücre ölümünü engelleyici ve travmanın sekonder zararlarını azaltıcı etkisi olabileceği düşünülerek bu çalışma yapılmıştır. Çalışmamızın istatistiksel sonuçlarına göre; apoptozis için uygulanan iskemik prosedürün başarılı olduğu görülmektedir(K-I'in diğer gruplarla değerlendirilmesinde $p=0,002$). Ayrıca 1. gün ile 3. gün kontrol grupları arasında anlamlı fark olup(K-II/K-III: $p=0,004$) bu ilerleyen zamanla birlikte apoptotik hücre ölümünün arttığını göstermektedir. İstatistiksel olarak bakıldığında, zamana bağlı apoptotik hücre ölümündeki artış ilaç uygulanan gruplar arasında saptanmamıştır(D-I / D-II: $p= 1,00$). Esas amacımız olan, ilacımızın etkinliği için yapılan değerlendirmede; 1. gün ilaç ve kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmazken($p=0,699$), 3. gün ilaç grubunda istatistiksel olarak belirgin anlamlı fark saptanmıştır($p=0,004$). Tüm bu sonuçlar ketiapinin, zamana bağlı giderek artan apoptotik hücre ölümünü azalttığını immunohistokimyasal olarak göstermiştir.

Yukarıda bahsi geçen, iskeminin olumsuz etkilerini önlemek için kullanılan ilaç ve yöntemlerin birçoğu gösterdikleri olumlu etkilere rağmen klinik kullanımdan uzaktır. Bizim çalışmamızda kullanılan ve özellikle 3. gün sonuçları karşılaştırıldığında apoptozisi önlemede ki etkinliği çok belirgin olan ketiapin; halihazırda şizofreni, bipolar bozukluğun hem depresyon hem de mani dönemlerinde kullanılan, etkin, yan etki profili antipsikotiklere göre belirgin daha iyi olan bir ilaçtır. Hem hayvan beynindeki iskemi çalışmamızın sonuçları hem de bu ilacın zaten klinik tedavide kullanılıyor olması, yapılacak klinik çalışmalar ışığında ilacın daha geniş klinik perspektifte kullanılmasının önünü açabilir.

Mikroskobik düzeyde serebral iskemi ve yarattığı problemlerle birlikte bunların kliniğe yansımalarına bakıldığında; daha çok motor, duysal, görme ve konuşma bozuklukları karşımıza çıkmaktadır. Bununla birlikte çoğu zaman hastanın ağır nörolojik tablosu nedeniyle gözden kaçırılabilen veya önemsenmeyen, erken ve geç dönemde en sık depresyon olmak üzere bazı nöropsikiyatrik hastalıklar da görülebilmektedir. Sonuç olarak bu durumlar fiziksel ve kognitif iyileşmeyi kısıtlayabilmektedir(144, 145, 146, 147, 148, 149, 150). İskeminin bu yönüne bakıldığında, özellikle şizofreni ile apoptotik hücre ölümü, hipokampal nörodejenerasyon ve atipik antipsikotiklerin bunlara etkisi son zamanlarda popüler araştırma konusu olmuştur.

Yan ve arkadaşlarının çalışmalarında, global serebral iskeminin hipokampal nörodejenerasyona, nöropsikiyatrik bozukluklara ve hafıza bozukluğuna sebep olduğu, ketiapinin nöroprotektif etkisiyle bunları engelleyebileceği rapor edilmiştir(93, 98, 144). Ayrıca ketiapinin önceden

verilmesi, farelerde global serebral iskemi ile tetiklenen depresif ve anksiyolitik benzeri davranışsal değişiklikleri belirgin bir şekilde azalttığı saptanmıştır (93,144). Literatürde ketiapin ve olanzapin kullanımının, PC12 hücre ölümünü azaltmada anlamlı etki gösterdiği, bu sitoprotektif etkinin proapoptotik bax ile antiapoptotik bcl-X_L'nin translokasyon ve ekspresyonunu regüle edilmesi veya antioksidan enzim olan superoxide dismutase-1 artışıyla olabileceği iddia edilmiştir(144, 151, 152, 153).

Bi ve arkadaşları, ketiapinin hayvanda serebral iskemi çalışmasında NF-kappaB p65/p50 ekspresyonunu inhibe ederek nörogenezisi regüle ettiğini göstermişlerdir(154).

İskemik olaylarda bir diğer mekanizma glutamat ilişkili eksitoksisitedir. İskemi ve oksidatif stresin glutamat ilişkili eksitoksisiteyle nöronal zedelenmeyi artırdığı(155); ketiapinin hipokampus ve diğer beyin bölgelerinde glutamat reseptörlerini ekspresyonunu düzenleyerek nöroprotektif etki gösterdiği, yine bu sistem üzerinden şizofreni semptomlarına etki ettiği savunulmaktadır (99, 156,157) .

Muller ve arkadaşlarının yazısında serebellar stroke sonrası istemsiz hareketlerin, motor fonksiyonlarda kötüleşme yapmadan, ketiapin kullanımıyla etkin şekilde iyileştiği(158), Chae ve arkadaşlarının yazısında da stroke sonrası görülen hiperseksüalite ve psikotik semptomları hafiflettiği bildirilmektedir(159).

İki ayrı çalışmada ketiapininide içinde bulunduğu atipik antipsikotik ilaçların N-methyl-4-phenylpyridinium iyonlarının neden olduğu apoptozisi önlediği gösterilmiştir(152, 160). Yine Wang ve arkadaşlarının hücre kültür

alışmalarında, ketiapin ile beta-amiloid peptid ve olanzapin ile beta-amiloid peptid eklenen gruplarda, sadece beta-amiloid peptid eklenen gruba göre hücre yaşıyabilirliği daha fazla, apoptozis daha az bulunmuş(160). Bu iki ilacın, beta-amiloid peptidin yol açtığı caspase-3 aktivasyonunu bloke ettikleri, intrasellüler reaktif oksijen moleküllerinin aşırı üretimini engelledikleri görülmüştür.

1999’ da Tascetta ve arkadaşları, 2003’de de Tarazi ve arkadaşları ketiapinin kronik kullanımında NMDA reseptörleri aracılığıyla nöroprotektif etki gösterdiğini iddia etmişlerdir(156, 157).

Ketiapin sadece şizofrenide değil, birçok çalışmada tanımlandığı gibi, unipolar(91, 93) ve bipolar(92, 93) depresyonda tek olarak kullanıldığında da etkili ve iyi tolere edilen bir ilaçtır. Yukarıda sözü edilen farklı birçok nöroprotektif ve nöropsikolojik etkilerinden dolayı artık daha geniş klinik kullanım perspektifi olması gerektiğini savunan yazılar yayınlanmaktadır (93). Tüm bu olumlu ynlerin aksine, the US Food & Drug Administration (FDA), demansla ilişkili psikozu olan, kardiyovasküler ve enfeksiyöz problemleri bulunan yaşlı hastaların atipik antipsikotiklerle tedavisinde artmış mortalite olabileceğini bildirmektedir(93).

Ketiapininde içinde bulunduğu atipik antipsikotiklerin , antiapoptotik Bcl-2’yi artırdığı yönündeki bilgiler bulunmakla birlikte; Jarskog ve arkadaşlarının ratlarda yaptıkları çalışmada, subkronik antipsikotik kullanımının DNA fragmentasyonunu artırmadan kaspaz-3 aktivitesini artırdığı saptamışlar. Bu sonuçlarla, subkronik antipsikotik tedavinin ölümcül olmayan kaspaz-3 aktivitesi ile ilişkili olduğunu ve bilinenin aksine Bcl-2 aracılı nöroprotektif etkinliği

desteklemediğini iddia etmişlerdir (147). Yine bu çalışmada haloperidol, ketiapin ve klozapinle 4 haftalık tedavi sonrası, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında rat beyinde Bcl-2'nin artmadığı, proapoptotik Bax, Bax/Bcl-2 oranının değişmediği görülmüş. Sonuçlarının, Bai ve arkadaşlarının(161) yaptığı, 4 haftalık klozapin ve olanzapin tedavisiyle %30-50 daha yüksek Bcl-2 mRNA ve proteinini rat frontal korteks ve hipokampusunda saptayan çalışmalarıyla uyumsuz bulmuşlar. Bu farklılık sebebinin de, diğer çalışmalarla farklı fare ırklarının kullanılması ve klozapin haricinde ortak ilaç bulunmamasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Daha çok psikiyatri bölümünce; iskeminin ve apoptozisin nöropsikiyatrik hastalıklardaki rolünü, atipik antipsikotiklerin bu hastalıklardaki etki mekanizmalarını araştırmak üzere yapılan ve yukarda bahsedilen çalışmalarda birçok farklı mekanizma üstünde durulmuştur. Sonuç olarak hem bizim çalışmamızda hem de yukarda bahsedilen çalışmalarda ketiapinin iskemi nedeniyle olan apoptozisi azalttığı gösterilmiştir.

Psikiyatri bölümünce nöropsikiyatrik hastalıklarda kullanım alanının genişletilmesi ve koruyuculuktaki etkinliği vurgulanan bu ilacın; serebral iskemik olaylarla uğraşan nöroloji ve nöroşürirji doktorlarınca da ele alınması, iskemi sonrası apoptozisi azaltarak hastanın klinik tablosuna pozitif katkıda bulunup bulunmayacağına dair çalışmalar yapılması, aynı zamanda gözden kaçması muhtemel iskemiye bağlı nöropsikiyatrik şikayetlerde de olumlu etkiler yapabileceğinin hatırlanması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1) Easton J.D. Current advances in the management of stroke. Neurology 1998;(Supl 3):1-2.
- 2) Greenberg MS. Handbook of Neurosurgery. Cerebral arterial anatomy. Sixth edition.USA:Thieme;2006.
- 3) Yılmaz M. Akut iskemik inmede, internal karotis arterin intima-media kalınlığı ile CRP ilişkisi. Uzmanlık tezi. İstanbul: Sağlık bakanlığı Haydarpaşa numune eğitim ve araştırma hastanesi, 2005.
- 4) Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology. J Neurosurg 1992; 77(2):169-84.
- 5) Ali C, Nicole O, Docagne F, Lesne S, MacKenzie ET, Nouvelot A et al. Ischemia-induced interleukin-6 as a potential endogenous neuroprotective cytokine against NMDA receptor-mediated excitotoxicity in the brain. J Cereb Blood Flow Metab 2000; 20(6):956-66.
- 6) Alkan T, Kahveci N, Buyukuysal L, Korfali E, Ozluk K. Neuroprotective effects of MK 801 and hypothermia used alone and in combination in hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. Arch Physiol Biochem 2001; 109(2):135-44.
- 7) Deng H, Han HS, Cheng D, Sun GH, Yenari MA. Mild hypothermia inhibits inflammation after experimental stroke and brain inflammation. Stroke 2003; 34(10):2495-501.

- 8) Schabitz WR, Li F, Irie K, Sandage BW, Jr., Locke KW, Fisher M. Synergistic effects of a combination of low-dose basic fibroblast growth factor and citicoline after temporary experimental focal ischemia. *Stroke* 1999; 30(2):427-31.
- 9) Şahin S. Geçici fokal serebral iskemi uygulanan sıçanlarda, sitikolin ve hipotermimin nöronal apoptozisdeki nöron koruyucu etkileri. Uzmanlık tezi. Bursa: Uludağ Üniversitesi, 2008.
- 10) Love S. Apoptosis and brain ischaemia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27(2):267-82.
- 11) Li Y, Chopp M, Powers C, Jiang N. Apoptosis and protein expression after focal cerebral ischemia in rat. *Brain Res* 1997; 765(2):301-12.
- 12) Plesnila N, Zhu C, Culmsee C, Groger M, Moskowitz MA, Blomgren K. Nuclear translocation of apoptosis-inducing factor after focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004; 24(4):458-66.
- 13) Li Y, Powers C, Jiang N, Chopp M. Intact, injured, necrotic and apoptotic cells after focal cerebral ischemia in the rat. *J Neurol Sci* 1998; 156(2):119-32.
- 14) Dyken ML, Wolf PA, Barnett HJM et al. Risk Factors in Stroke. *Stroke* 1984;15:1105-11.
- 15) Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J. İschemic Cerebrovascular Disease. *Neurology in Clinical Practice*, fourth edition. 2004;1197-1249.

16) Ginsberg MD. Adventures in the pathophysiology of brain ischemia: penumbra, gene expression, neuroprotection: the 2002 Thomas Willis Lecture. *Stroke* 2003; 34(1):214-23.

17) Onteniente B, Couriaud C, Braudeau J, Benchoua A, Guegan C. The mechanisms of cell death in focal cerebral ischemia highlight neuroprotective perspectives by anti-caspase therapy. *Biochem Pharmacol* 2003; 66(8):1643-9.

18) Yu L, Miao H, Hou Y, Zhang B, Guo L. Neuroprotective effect of A20 on TNF-induced postischemic apoptosis. *Neurochem Res* 2006; 31(1):21-32.

19) Back T. Pathophysiology of the ischemic penumbra--revision of a concept. *Cell Mol Neurobiol* 1998; 18(6):621-38.

20) Korenkov AI, Pahnke J, Frei K, Warzok R, Schroeder HW, Frick R et al. Treatment with nimodipine or mannitol reduces programmed cell death and infarct size following focal cerebral ischemia. *Neurosurg Rev* 2000; 23(3):145-50.

21) Nesic O, Xu GY, McAdoo D, High KW, Hulsebosch C, Perez-Pol R: IL-1 receptor antagonist prevents apoptosis and caspase-3 activation after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2001;18(9):947-56.

22) Barone FC, Feuerstein GZ. Inflammatory Mediators and Stroke: New Opportunities for Novel Thearapeutics. *J Cereb Blood Flow* 1999; 19:819-43.

23) Shuman SL, Bresnahan JC, Beattie MS. Apoptosis of microglia and oligodendrocytes after spinal cord contusion in rats. *J Neurosci Res* 1997;50(5):798-808.

- 24) Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, McDonald JW, et al. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci* 1997;17: 5395-5406.
- 25) Beattie MS, Hermann GE, Rogers RC, Bresnahan JC: Cell death in models of spinal cord injury. *Prog Brain Res* 2002;137:37–47.
- 26) Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-45.
- 27) Assunção Guimarães C, Linden R. Programmed cell deaths. Apoptosis and alternative deathstyles. *Eur J Biochem* 2004;271(9): 1638–50.
- 28) Balla A, Tóth B, Timár G, Bak J, Krajcsi P. Molecular targets for pharmacological cytoprotection. *Biochem Pharmacol* 2001;61(7): 769–77.
- 29) Wyllie AH, Morris RG, Smith AL, Dunlop D. Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J Pathol* 1984;142(1):67-77.
- 30) Apoptozise yol açan sinyaller. <http://www.istanbul.edu.tr/fen/mbg/notlar/1225717821.pdf> (erişim tarihi 18.08.2009).
- 31) Fleisher TA. Apoptosis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;78(3): 245-9.
- 32) Balcı Ekmekçi Ö, Donma O, Ekmekçi H. Programlı hücre ölümü: Apoptozis. *Sendrom* 2004;16: 14–23.
- 33) Cohen JJ. Apoptosis. *Immunol Today* 1993;14:126–30.

- 34) Cohen JJ. Apoptosis: the physiologic pathway of cell death. *Hosp Pract* 1993;28(12):35–43.
- 35) Jones RK, Searle RF, Bulmer JN. Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Reprod* 1998;13(12): 3496-502.
- 36) Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 1995;146(1):3–15.
- 37) Otsuki Y. Apoptosis in human endometrium: apoptotic detection methods and signaling. *Med Electron Microsc* 2001;34(3):166-73.
- 38) Vitellaro-Zuccarello L, Mazzetti S, Madaschi L, Bosisio P, Gorio A, De Biasi S. Erythropoietin-mediated preservation of the white matter in rat spinal cord injury. *Neuroscience* 2007;144(3):865–77.
- 39) Balakumaran A, Campbell GA, Moslen MT. Calcium channel blockers induce thymic apoptosis invivo rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996;139: 122–7.
- 40) Wyllie AH. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980;284:555–56.
- 41) Friedlander RM. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *N Engl J Med* 2003;348:1365–75.
- 42) Rutledge SE, Chin JW, Schepartz A. A view to a kill: ligands for Bcl-2 family proteins. *Curr Opin Chem Biol* 2002;6:479–85.
- 43) Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995;267:1456–62.

- 44) Afford S, Randhawa S. Apoptosis. *Mol Pathol* 2000;53: 55–63.
- 45) Barinaga M. Is apoptosis key in Alzheimer's disease? *Science* 1998;281:1303–4.
- 46) Gibson RM. Does apoptosis have a role in neurodegeneration? *BMJ* 2001;322(7301):1539–40.
- 47) Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100: 57–70.
- 48) Savinov AY, Tcherepanov A, Green EA, Flavell RA, Chervonsky AV. Contribution of Fas to diabetes development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(2): 628–32.
- 49) Aytar H. Deneysel akut spinal kord hasarında quetiapine'in tedavideki etkisi. Uzamanlık Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2007.
- 50) Apoptotic versus necrotic morphology. http://www.celldeath.de/encyclo/aporev/revfigs/rev_2.jpg (erişim tarihi:26/12/2009).
- 51) Antonsson B. Bax and other pro-apoptotic Bcl-2 family "killer-proteins" and their victim the mitochondrion. *Cell Tissue Res* 2001;306(3):347–61.
- 52) Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000;407:770–76.
- 53) Kanduc D, Mittelman A, Serpico R, Sinigaglia E, Sinha AA, Natale C, et al. Cell death: apoptosis versus necrosis (review). *Int J Oncol* 2002;21(1): 165–70.

- 54) Liu X, Kim CN, Yang J, Jemmerson R, Wang X. Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell* 1996; 86(1): 147–57.
- 55) Saraste A, Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res* 2000;45:528–37.
- 56) Lu J, Ashwell KW, Waite P. Advances in secondary spinal cord injury: role of apoptosis. *Spine* 2000;25:1859–66.
- 57) Matsushita K, Matsuyama T, Kitagawa K, Matsumoto M, Yanagihara T, Sugita M. Alterations of Bcl-2 family proteins precede cytoskeletal proteolysis in the penumbra, but not in infarct centres following focal cerebral ischemia in mice. *Neuroscience* 1998; 83(2):439-48.
- 58) Zhao H, Yenari MA, Cheng D, Sapolsky RM, Steinberg GK. Bcl-2 overexpression protects against neuron loss within the ischemic margin following experimental stroke and inhibits cytochrome c translocation and caspase-3 activity. *J Neurochem* 2003; 85(4):1026- 36.
- 59) Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 1993;74:609–19.
- 60) Zimmermann KC, Green DR. How cells die: apoptosis pathways. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:99–103.
- 61) Fujita N, Nagahashi A, Nagashima K, Rokudai S, Tsururo T. Acceleration of apoptotic cell death after the cleavage of Bcl-XL protein by caspase–3 like proteases. *Oncogene* 1998;17:1295–1304.

- 62) Granville DJ, Carthy CM, Hunt DW, McManus BM. Apoptosis: molecular aspects of cell death and disease. *Lab Invest* 1998;78(8):893–913.
- 63) Green DR. Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell* 1998;94:695-8.
- 64) Hirata H, Takahashi A, Kobayashi S, Yonehara S, Sawai H, Okazaki T, et al. Caspases are activated in a branched protease cascade and control distinct downstream processes in Fas-induced apoptosis. *J Exp Med* 1998;187(4):587–600.
- 65) Konopleva M, Zhao S, Xie Z, Segall H, Younes A, Claxton DF, et al. Apoptosis. Molecules and mechanisms. *Adv Exp Med Biol* 1999;457:217–36.
- 66) The Fas-mediated apoptotic pathway. <http://www.bio.davidson.edu/Courses/Immunology/Students/Spring2003/Swails/Fas.html>(erişim tarihi: 18.08.2009).
- 67) Bates S, Vousden KH: Mechanisms of p53 mediated apoptosis. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:28–37.
- 68) Oren M, Rotter V. Introduction: p53-the first twenty years. *Cell Mol Life Sci* 1999;55: 9–11.
- 69) Charriaut-Marlangue C, Ben-Ari Y. A cautionary note on the use of the TUNEL stain to determine apoptosis. *Neuroreport* 1995; 7(1): 61–4.
- 70) Antar V. Bir genel kaspaz inhibitörü olan QVD-OPH'nin nöroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi, uzmanlık tezi. İstanbul: Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi,2005.

- 71) Rang HP, Dale MM. Pharmacology. 4th edition. Churchill-Livingstone, 1999
- 72) Lesch KP, Zeng Y, Reif A, Gutknecht L. Anxiety-related traits in mice with modified genes of the serotonergic pathway Eur J Pharmacol 2003;480: 185–204.
- 73) Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji. 10. Baskı. Ankara: Hacettepe TAS, 2002
- 74) Doder M, Rabiner EA, Turjanski N, Lees AJ, Brooks DJ. Tremor in Parkinson's disease and serotonergic dysfunction: an 11C-WAY 100635 PET study. Neurology 2003;60:601–05.
- 75) Yamanaka A, Muraki Y, Tsujino N, Goto K, Sakurai T. Regulation of orexin neurons by the monoaminergic and cholinergic systems. Biochem Biophys Res Commun 2003;303:120–29.
- 76) Inui A. Neuropeptid Y: a key molecule in anorexia and cachexia in wasting disorders? Molecular medicine today 1999; 2:79–85.
- 77) Goodnick PJ. Use of antidepressants in treatment of comorbid diabetes mellitus and depression as well as in diabetic neuropathy. Ann Clin Psychiatry 2001;13:31–41.
- 78) Gültekin H. Serotonin. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2005; 1(1): 45–54.
- 79) Synthesis and metabolism of 5-hydroxytryptamine (serotonin) . <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=endocrin&part=A1527&rendertype=box&id=A1560>(erişim tarihi:18.10.2009).

- 80) Azmitia EC. Serotonin neurons, neuroplasticity and homeostasis of neural tissue. *Neuropharmacology* 1999;21:33–45.
- 81) Glennon RA, Dukat M, Westkaemper RB, Ismaiel AM, Izzarelli DG, Parker EM. The binding of propranolol at 5-hydroxytryptamine_{1D} beta T355N mutant receptors may involve formation of two hydrogen bonds to asparagine. *Mol Pharmacol* 1996;49(1):198–206.
- 82) Haddjeri N, Blier P, de Montigny C. Long-term antidepressant treatments result in a tonic activation of forebrain 5-HT_{1A} receptors. *J Neurosci* 1998;18: 10150–6.
- 83) Glennon RA, Dukat M, Westkaemper. Serotonin receptor subtypes and ligands. *Neuropharmacology The 4th Generation of Progress*, 2000.
- 84) Hashizume H, Kawakami M, Yoshida M, Okada M, Enyo Y, Inomata Y. Sarpogrelate Hydrochloride, a 5-HT_{2A} Receptor Antagonist, Attenuates Neurogenic Pain Induced by Nucleus Pulposus in Rats. *Spine* 2007; 32:3315–20.
- 85) Muto T, Hotta Y, Miyazeki K, Hiroaki A, Ishikawa N, Hasegawa T, et al. Protective effects of sarpogrelate, a 5-HT_{2A} antagonist, against postischemic myocardial dysfunction in guinea-pig hearts. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2005;272:119–32.
- 86) Hirsch SR, Link CG, Goldstein JM, Arvanitis LA. ICI 204,636: A new atypical antipsychotic drug. *British J Psych* 1996;168(Supp 29):45-56.
- 87) Small JG, Hirsch SR, Arvanitis LA, Miller BG, Link CG. Quetiapine in patients with schizophrenia. A high-and-low-dose double-blind

comparison with placebo. Seroquel Study Group. Arch Gen Psychiatry 1997; 54:549-57.

88) Peuskens J, Link CG. A comparison of quetiapin and chlorpromazine in the treatment of schizophrenia. Acta Psychiatr Scand 1997; 96:265-73.

89) Akgün L. Şizofreni hastalarında olanzapin ve ketiapin kullanımının bazal metabolizma hızına etkisinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Afyonkarahisar: Kocatepe Üniversitesi, 2008.

90) Altamura AC, Salvadori D, Madaro D, Santini A, Mundo E. Efficacy and tolerability of quetiapine in the treatment of bipolar disorder: preliminary evidence from a 12- month open-label study. J Affect Disord 2003;76:267–71.

91) McIntyre A, Gendron A, McIntyre A. Quetiapine reduces residual depressive and prominent anxiety symptoms in partial responders to selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) or serotonin norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs) with major depression: an 8-week, double-blind, randomized, placebo-controlled study. European Psychiatry 2006; 21 Suppl 1:164.

92) Calabrese JR, Keck PE Jr, Macfadden W, Minkwitz M, Ketter TA, Weisler RH, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of quetiapine in the treatment of bipolar I or II depression. Am J Psychiatry 2005; 162:1351-60.

93) Carta MG, Zairo F, Mellino G, Hardoy MC. Add-on quetiapine in the treatment of major depressive disorder in elderly patients with cerebrovascular damage. *Clin Pract Epidemiol Ment Health* 2007;3:28.

94) DeVane CL, Nemeroff CB. Clinical pharmacokinetics of Quetiapine: an atypical antipsychotic. *Clin Pharmacokinet* 2001;40 (7):509–22.

95) Gefvert O, Bergstrom M, Langstrom B, et al. Time course of central nervous dopamine-D2 and 5-HT2 receptor blockade and plasma drug concentrations after discontinuation of Quetiapine (Seroquel) in patients with schizophrenia. *Psychopharmacology* 1998;135 (2):119–26.

96) The structural formula is Quetiapine fumarate. <http://www.drugs.com/pro/seroquel-xr.html> (Erişim tarihi:26.12.2009).

97) Saller CF, Salama AI. Seroquel: biochemical profile of a potential atypical antipsychotic. *Psychopharmacology* 1993; 112:285-92.

98) Yan B, Bi X, He J, Zhang Y, Thakur S, Xu H, et al. Quetiapine attenuates spatial memory impairment and hippocampal neurodegeneration induced by bilateral common carotid artery occlusion in mice. *Life Sci* 2007;81: 353–61

99) Raggi MA, Mandrioli R, Sabbioni C, Pucci V. Atypical antipsychotics: pharmacokinetics, therapeutic drug monitoring and pharmacological interactions. *Current Medicinal Chemistry* 2004;11(3): 279–96.

100) Horacek J, Bubenikova-Valesova V, Kopecek M, Palenicek T, Dockery C, Mohr P, Hoschl C. Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. *CNS Drugs* 2006;20(5): 389–409.

101) Gunasekara NS, Spencer CM. Quetiapine: a review of its use in schizophrenia. *CNS Drugs* 1998; 9 (4): 325–40.

102) Hamner MB, Arvanitis LA, Miller BG, Link CG, Hong WW. Plasma prolactin in schizophrenia subjects treated with Seroquel (ICI 204,636). *Psychopharmacol Bull* 1996;32(1):107–10.

103) Kasper S, Müller-Spahn F. Review of Quetiapine and its clinical applications in schizophrenia. *Expert Opin Pharmacother* 2000;1 (4):783–801.

104) Wong SL, Cao G, Mack RJ, Granneman GR. Pharmacokinetics of sertindole in healthy young and elderly male and female subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 62:157-64.

105) Atkinson GA, Hellewell JSE, Raniwalla J. Extrapyramidal symptom and tolerability profile of Seroquel® (Quetiapine): an overview of phase II/III placebo controlled trials. *Eur Neuropsychopharmacol* 1997;7 Suppl 2: 224.

106) Arvanitis LA, Miller BG. Multiple fixed doses of "Seroquel" (quetiapine) in patients with acute exacerbation of schizophrenia: a comparison with haloperidol and placebo. The Seroquel Trial 13 Study Group. *Biol Psychiatry* 1997;42(4):233–46.

107) Correll CU, Leucht S, Kane JM. Lower risk for tardive dyskinesia associated with second-generation antipsychotics: a systematic review of 1-year studies. *Am J Psychiatry* 2004;161(3):414–425.

108) Kim E, Bijlani B. A pilot study of Quetiapine treatment of aggression due to traumatic brain injury. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2006; 18(4):547–49.

109) Ellenbroek BA, Lubbers LJ, Cools AR. Activity of "seroquel" (ICI 204,636) in animal models for atypical properties of antipsychotics: a comparison with clozapine. *Neuropsychopharmacology* 1996;15(4):406–16.

110) Orsetti M, Canonigo PL, Dellarole A, Colella L, DiBrisco F, Ghi P. Quetiapine prevents anhedonia induced by acute or chronic stress. *Neuropsychopharmacology* 2007;32(8):1783–90.

111) Kawamura S, Yasui N, Shirasawa M, Fukasawa H. Rat middle cerebral artery occlusion using an intraluminal thread technique. *Acta Neurochir* 1991; 109(3-4):126-32.

112) Cho S, Park EM, Febbraio M, Anrather J, Park L, Racchumi G et al. The class B scavenger receptor CD36 mediates free radical production and tissue injury in cerebral ischemia. *J Neurosci* 2005;25(10):2504-12.

113) LeBlanc MH, Li XQ, Huang M, Patel DM, Smith EE. AMPA antagonist LY293558 does not affect the severity of hypoxic-ischemic injury in newborn pigs. *Stroke* 1995; 26(10):1908-14.

114) Childs AM, Evans RH, Watkins JC. The pharmacological selectivity of three NMDA antagonists. *Eur J Pharmacol* 1988; 145(1):81-6.

115) Franke CL, Palm R, Dalby M, Schoonderwaldt HC, Hantson L, Eriksson B et al. Flunarizine in stroke treatment (FIST): a double-blind, placebo-controlled trial in Scandinavia and the Netherlands. *Acta Neurol Scand* 1996; 93(1):56-60.

116) Schmidley JW. Free radicals in central nervous system ischemia. *Stroke* 1990; 21(7):1086-90.

117) Adibhatla RM, Hatcher JF. Cytidine 5'-diphosphocholine (CDPcholine)' in stroke and other CNS disorders. *Neurochem Res* 2005; 30(1):15-23.

118) Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Cytidine-5'-diphosphocholine affects CTP-phosphocholine cytidyltransferase and lysophosphatidylcholine after transient brain ischemia. *J Neurosci Res* 2004; 76(3):390-6.

119) Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Phospholipase A2, hydroxyl radicals, and lipid peroxidation in transient cerebral ischemia. *Antioxid Redox Signal* 2003; 5(5):647-54.

120) Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Citicoline: neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia. *J Neurochem* 2002; 80(1):12-23.

121) Maier CM, Ahern K, Cheng ML, Lee JE, Yenari MA, Steinberg GK. Optimal depth and duration of mild hypothermia in a focal model of transient cerebral ischemia: effects on neurologic outcome, infarct size, apoptosis, and inflammation. *Stroke* 1998; 29(10):2171-80.

122) Rajesh KG, Suzuki R, Maeda H, Murio Y, Sasaguri S. 5-HT₂ receptor blocker sarpogrelate prevents downregulation of antiapoptotic protein Bcl-2 and protects the heart against ischemia-reperfusion injury. *Life Sci* 2006; 79(18): 1749–55.

123) Capela JP, Fernandes E, Remião F, Bastos ML, Meisel A, Carvalho F: Ecstasy induces apoptosis via 5-HT(2A)-receptor stimulation in cortical neurons. *Neurotoxicology* 2007;28(4):868–75.

124) Capela JP, Ruscher K, Lautenschlager M, Freyer D, Dirnagl U, Gaio AR, Bastos ML, Meisel A, Carvalho F: Ecstasy-induced cell death in cortical neuronal cultures is serotonin 2A-receptor-dependent and potentiated under hyperthermia *Neuroscience* 2006; 139(3): 1069–81.

125) Shibano T, Morimoto Y, Kemmotsu O, Shikama H, Hisano K, Hua Y. Effects of mild and moderate hypothermia on apoptosis in neuronal PC12 cells. *Br J Anaesth* 2002; 89(2):301-5.

126) Phanithi PB, Yoshida Y, Santana A, Su M, Kawamura S, Yasui N. Mild hypothermia mitigates post-ischemic neuronal death following focal cerebral ischemia in rat brain: immunohistochemical study of Fas, caspase-3 and TUNEL. *Neuropathology* 2000; 20(4):273-82.

127) Krieger DW, Yenari MA. Therapeutic hypothermia for acute ischemic stroke: what do laboratory studies teach us? *Stroke* 2004; 35(6):1482-9.

128) Krupinski J, Ferrer I, Barrachina M, Secades JJ, Mercadal J, Lozano R. CDP-choline reduces pro-caspase and cleaved caspase-3 expression, nuclear DNA fragmentation, and specific PARP-cleaved products of caspase activation following middle cerebral artery occlusion in the rat. *Neuropharmacology* 2002; 42(6):846-54.

129) Weiss GB. Metabolism and actions of CDP-choline as an endogenous compound and administered exogenously as citicoline. *Life Sci* 1995; 56(9):637-60.

130) Sastry PS, Rao KS. Apoptosis and the nervous system. *J Neurochem* 2000; 74(1):1-20.

131) Winfree CJ, Baker CJ, Connolly ES, Jr., Fiore AJ, Solomon RA. Mild hypothermia reduces penumbral glutamate levels in the rat permanent focal cerebral ischemia model. *Neurosurgery* 1996; 38(6):1216-22.

132) Busto R, Dietrich WD, Globus MY, Ginsberg MD. The importance of brain temperature in cerebral ischemic injury. *Stroke* 1989;20(8):1113-14.

133) Busto R, Globus MY, Dietrich WD, Martinez E, Valdes I, Ginsberg MD. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *Stroke* 1989; 20(7):904-10.

134) Cowie DA. The role of hypothermia in neurosurgical patients. *Curr Opin Anaesthesiol* 2005; 18(5):496-500.

135) Kader A, Brisman MH, Maraire N, Huh JT, Solomon RA. The effect of mild hypothermia on permanent focal ischemia in the rat. *Neurosurgery* 1992; 31(6):1056-60.

136) Luo J, Shi R. Polyethylene glycol inhibits apoptotic cell death following traumatic spinal cord injury. *Brain Res* 2007;1155: 10–6.

137) Yune TY, Kim SJ, Lee SM, Lee YK, Oh YJ, Kim YC, et al. Systemic Administration of 17 β -Estradiol Reduces Apoptotic Cell Death and

Improves Functional Recovery following Traumatic Spinal Cord Injury in Rats. *J Neurotrauma* 2004;21(3):293–306.

138) Arishima Y, Setoguchi T, Yamaura I, Yone K, Komiya S: Preventive effect of erythropoietin on spinal cord cell apoptosis following acute traumatic injury in rats. *Spine* 2006;31(21): 2432–8.

139) Bao F, Liu D. Hydroxyl radicals generated in the rat spinal cord at the level produced by impact injury induce cell death by necrosis and apoptosis: protection by a metalloporphyrin. *Neuroscience* 2004;126(2):285–95.

140) Bao F, Liu D. Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces apoptotic cell death and activates caspase–3. *Neuroscience* 2003;116(1):59–70.

141) Gupta YK, Sinha K, Chaudhary G et al. Protective effect of adenosine against neuronal injury induced by middle cerebral artery occlusion in rats as evidenced by diffusion-weighted imaging. *Phar Bioc and behavior* 2002; 72: 569-74.

142) Ekici F, Karson A, Ateş N. Neuroprotective Effect of Adenosine on Transient Middle Cerebral Artery Occlusion. *The Medical Journal of Kocatepe* 2004; 5: 39-42.

143) Caserta TM, Smith AN, Gultice AD, Reedy MA, Brown TL. Q-VD-OPh, a broad spectrum caspase inhibitor with potent antiapoptotic properties. *Apoptosis* 2003;8:345-52.

144) Yan B, He J, Xu H, Zhang Y, Bi X, Thakur S, et al. Quetiapine attenuates the depressive and anxiolytic-like behavioural changes induced by global cerebral ischemia in mice. *Behav Brain Res* 2007;182(1):36-41

145) Bradvik B, Sonesson B, Holtas S. Spatial impairment following right hemisphere transient ischaemic attacks in patients without carotid artery stenosis. *Acta Neurol Scand* 1989;80:411–8.

146) Bokura H, Robinson RG. Long-term cognitive impairment associated with caudate stroke. *Stroke* 1997;28:970–5.

147) Chemerinski E, Levine SR. Neuropsychiatric disorders following vascular brain injury. *Mt Sinai J Med* 2006;73:1006–14.

148) Desmond DW, Moroney JT, Sano M, Stern Y. Incidence of dementia after ischemic stroke: results of a longitudinal study. *Stroke* 2002;33:2254–60.

149) Desmond DW, Moroney JT, Sano M, Stern Y. Mortality in patients with dementia after ischemic stroke. *Neurology* 2002;59:537–43.

150) Williams LS, Ghose SS, Swindle RW. Depression and other mental health diagnoses increase mortality risk after ischemic stroke. *Am J Psychiatry* 2004;161:1090–5.

151) Li XM, Chlan-Fourney J, Juorio AV, Bennett VL, Shrikhande S, Keegan DL, et al. Differential effects of olanzapine on the gene expression of superoxide dismutase and low affinity nerve growth factor receptor. *J Neurosci Res* 1999;56:72–5.

152) Qing H, Xu H, Wei Z, Gibson K, Li XM. The ability of atypical antipsychotic drugs versus haloperidol to protect PC12 cells against MPP⁺-induced apoptosis. *Eur J Neurosci* 2003;17(8):1563–70.

153) Wei Z, Mousseau DD, Richardson JS, Dyck LE, Li XM. Atypical antipsychotics attenuate neurotoxicity of beta-amyloid (25–35) by modulating Bax and Bcl-XL/S expression and localization. *J Neurosci Res* 2003;74(6):942-7.

154) Bi X, Yan B, Fang S, Yang Y, He J, Li XM, et al. Quetiapine regulates neurogenesis in ischemic mice by inhibiting NF-kappaB p65/p50 expression. *Neurol Res* 2009;31(2):159-66.

155) Green AR, Hainsworth AH, Jackson DM. GABA potentiation: a logical pharmacological approach for the treatment of acute ischaemic stroke. *Neuropharmacology* 2000;39(9):1483–94.

156) Tarazi FI, Baldessarini RJ, Kula NS, Zhang K. Long-term effects of olanzapine, risperidone, and quetiapine on ionotropic glutamate receptor types: implications for antipsychotic drug treatment. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2003;306(3):1145–51.

157) Tascadda F, Lovati E, Blom JM, Muzzioli P, Brunello N, Racagni G, Riva MA. Regulation of ionotropic glutamate receptors in the rat brain in response to the atypical antipsychotic seroquel (quetiapine fumarate). *Neuropsychopharmacology* 1999; 21(2): 211–17.

158) Muller T, Reimer J. Quetiapine improves involuntary movements after cerebellar stroke. *J Neurol* 2002;249:1320–1.

159) Chae BJ, Kang BJ. Quetiapine for hypersexuality and delusional jealousy after stroke. *J Clin Psychopharmacol* 2006;26:331–2.

160) Wang H, Xu H, Dyck LE, Li XM. Olanzapine and quetiapine protect PC12 cells from beta-amyloid peptide(25-35)-induced oxidative stress and the ensuing apoptosis. *J Neurosci Res* 2005;81(4):572-80.

161) Bai O, Zhang H, Li XM. Antipsychotic drugs clozapine and olanzapine upregulate bcl-2 mRNA and protein in rat frontal cortex and hippocampus. *Brain Res* 2004;1010:81–86.

8. ÖZET

Serebral iskemi mortalite ve morbiditenin en önemli nedenleri arasındadır. Sadece nörolojik bir problem olmayıp, psikiyatrik ve medikal birçok komplikasyona sebep olabilmekte, bu problemlerde hastanın iyileşmesini geciktirmektedir. Bu nedenle primer ve sekonder serebral iskemik olayları önlemek, nöronal korumayı sağlamak için bugüne kadar birçok çalışma yapılmıştır. Son çalışmalarda özellikle penumbra alanı ve apoptotik hücre ölümü hedef noktaları oluşturmaktadır.

5HT-2 reseptör blokerlerinin apoptozisi önleyebileceğine dair bulgular üzerine, atipik antipsikotik ilaç olan ketiapinin iskemi sonrası özellikle penumbra alanındaki apoptozisi önleyebileceği düşünülerek bu çalışma yapıldı. Toplam 30 hayvanın bulunduğu, 6'şar hayvanlı 5 grup oluşturuldu. K-I grubuna hiçbir işlem yapılmadı ve yeterli iskemi yapıldığına dair diğer gruplarla karşılaştırmak için kullanıldı. K-II grubu geçici fokal serebral iskemi sonrası 1. günde, K-II grubu ise geçici fokal serebral iskemi sonrası 3. günde kurban edildi. D-I grubu iskemi sonrası ketiapin verilip 1.gün, D-II grubu iskemi sonrası hergün ketiapin verilip 3. gün kurban edildi. Tüm örnekler immunohistokimyasal olarak TUNEL yöntemiyle boyanıp apoptotik hücreler sayıldı. Ketiapinin, zamana bağlı giderek artan apoptotik hücre ölümünü azalttığı istatistiksel saptandı(K-III / D-I: $p=0,002$ ve K-III / D-II $p: 0,004$).

Şimdiye kadar iskemide nöronal koruyucu olarak araştırılan etken maddelerin birçoğunun klinik kullanımdan uzak olması, ketiapinin ise halihazırda klinik kullanımda olan, etkin, güvenilir bir ilaç olması nedeniyle bu çalışma önem

arz etmektedir. Bizim sonuçlarımız ve literatür bilgileri ışığında ketiapinin, hem serebral iskemide nöronal koruyucu olarak hem de iskemiden kaynaklanan nöropsikiyatrik sorunların çözülmesinde yardımcı olabileceği görüşündeyiz.

Anahtar kelimeler: Geçici fokal serebral iskemi, apoptozis, ketiapin

9. SUMMARY

Cerebral ischemia constitutes one of the most important reasons of mortality and morbidity. It is not only a neurological problem; may also cause several psychiatric and medical complications which may result with delayed improvement of patient. Therefore, several studies have been conducted for prevention of primary and secondary cerebral ischemic accidents and for providing neuronal protection so far. Especially ischemic penumbra and apoptotic cell death remain as a target in recent studies.

Current study was conducted in the light of the findings supporting anti-apoptotic effects of 5HT₂ receptor blockers with the idea of ketiapine –an atypical antipsychotic drug may prevent apoptosis especially in the region of ischemic penumbra following ischemia. A total number of 30 animals divided into 5 groups each including 6 were used. No intervention was performed for K-I group which was used to compare with other groups for confirming if adequate ischemia was obtained. K-II group was sacrificed at the first day and K-III was sacrificed at 3rd day following transient focal cerebral ischemia. DI group was sacrificed after single dose administration of ketiapine at the first day and DII was sacrificed following daily administration of ketiapine after ischemia at the 3rd day. All samples were stained immunohistochemically via TUNEL method and apoptotic

cells were counted. Ketiapine was found significantly relative with reduction in increasing apoptotic cell death over time. (K-III/D-I: $p=0,02$ and K-III/D-II $p:0,004$)

Many previously researched neuronal protective agents for ischemia are out of clinical use; however ketiapine is an effective, safe and recently used drug in clinical practice, which renders this study more important. We believe that ketiapine may help in cerebral ischemia as a neuroprotective and may also help in solving neuropsychiatric problems resulting from ischemia in the light of our results and literature data.

Keywords: Transient focal cerebral ischemia, apoptosis, quetiapine

10. ÖZGEÇMİŞ

Ad: Muhammet Bahadır

Soyad: Yılmaz

Dogum Yeri ve Tarihi: Akdağmadeni/Yozgat, 29.08.1978

Egitim:

1984-1985 Sakarya İlköğretim Okulu,Bursa

1985-1989 Mithatpaşa ilköğretim okulu,Bursa

1989-1995 Bursa Erkek Lisesi

1995-2001 Uludağ Üniversitesi Tıp fakültesi

2002-2003 Ankara Üniv. Tıp Fak. Nöroşirürji asistanlığı

2003-2010 Gazi Üniv. Tıp Fak. Nöroşirürji asistanlığı

Yabancı Dil: İngilizce

Üye Oldugu Bilimsel Kuruluşlar: Yok

Bilimsel Etkinlikler:

Türk nöroşirürji yeterlilik yazılı sınavında başarı(26.10.2008)

Poster ve sözlü sunumlar:

1. Paşaoğlu A, Yılmaz MB, Kaymaz M, Kurt G. Santral nörositomali hastalarda cerrahi ve diğer tedavi yöntemlerinin literatür eşliğinde karşılaştırılması. (TND 19. Bilimsel Kongresi: Poster sunumu – 2005).

2. Paşaoğlu A, Kurt G, Kale A, Güven Ç, Yılmaz B, Durdağ E. Atlanto-axial subluksasyon + intramedüller kist. (TND 19. Bilimsel Kongresi: Poster sunumu – 2005).

3. Emmez H, Tokgöz N, Doğulu F, Yılmaz MB, Kale A, Baykaner MK. Yedi farklı kranyal ve spinal anomalinin saptandığı bir spina bifida olgusu. (TND 20. Bilimsel Kongresi: Poster sunumu – 2006).

4. Emmez H, Yılmaz MB, Öztanır N, Nurata H, Güreli M, Kaymaz M. Nadir bir menenjioma varyantı: Clear cell menenjioma. (TND 20. Bilimsel Kongresi: Poster sunumu – 2006).

5. Paşaoğlu A, Yılmaz MB, Kaymaz M, Kurt G. Oligodendroglioma ile karışan santral nörositoma: olgu sunumu. (TND 20. Bilimsel Kongresi: Poster sunumu – 2006).

6. Paşaoğlu A, Yılmaz MB, Kaymaz M, Kurt G. Geç dönem nüks santral nörositoma. (TND 20. Bilimsel Kongresi: Poster sunumu – 2006)

7. Aydınçak Ö, Yılmaz MB, Aytar H, Güven Ç, Aykol Ş. İntrakraniyal toxoplazma: olgu sunumu. (Sinir sistemi cerrahisi derneği 2. bilimsel kongresi, 2006).

8. Yılmaz MB, Kurt G, Ergün E, Durdağ E, Baykaner K. Pineal bölge tümörlerinde nöroendoskopik başarısızlık. (Sinir sistemi cerrahisi derneği 2. bilimsel kongresi,2006).

9. Durdağ E, Yılmaz MB, Kale A, Cemil B, Baykaner K. Ventriküloperitoneal şanlı hastada peritoneal ucun abdomenden toraksa geçişi: olgu sunumu. (Sinir sistemi cerrahisi derneği 2. bilimsel kongresi,2006).

10. Kaymaz M, Yılmaz MB, Güven Ç, Emmez H, Baykaner K. Desmoplastic infantile Astrocytoma diagnosed after simple partial seizure. (5th meeting of The Asian Society for Neuro-oncology,2007).

11. Yılmaz M. B., Aydın C., Ergün E., Nurata H., Baykaner K. Multipl anomalilerin eşlik ettiği aplazia kutis konjenita: Vaka sunumu. (TND 21. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu - 2007).

12. Yılmaz M. B., Aytar H., Nurata H., Kurt G., Baykaner K. Konjenital dermal sinüs traktına bağlı lomber abse ve dermoid kist birlikteliği: Olgu sunumu. (TND 21. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu - 2007).

13. Nurata H., Yılmaz M. B., Börcek A. Ö., Öner A. Y., Baykaner K. Wiplash yaralanmasına bağlı retrofarengeal hematoma gelişen çocuk hasta: Olgu sunumu. (TND 21. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu - 2007).

14. Güven Ç, Yılmaz MB, Yaşar B, Doğulu F, Çeviker N, Aydıncak Ö. Hemorajiye bağlı ani ve ilerleyici paraparezi ile prezente olan torakal menenjioma. (TND 21. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu - 2007).

15. Ergün E, Yılmaz MB, Kale A, Emmez H, Baykaner K. Çocukta spinal metastaz yapan köşe yerleşimli malign menenjioma: Olgu sunumu (TND 21. Bilimsel Kongresi: Tartışmalı poster sunumu - 2007).

16. Yılmaz MB, Kaymak A, Kurt G, Perçin FE, Baykaner K. Spondylocostal dysostosis'e eşlik eden tip-1 SCM: Olgu sunumu. (TND 21. Bilimsel Kongresi: Tartışmalı poster sunumu - 2007)

17. Kaymaz M, Yılmaz MB, Güven Ç, Emmez H, Baykaner K. Basit parsiyel motor nöbet sonrası saptanan desmoplastik infantil astrositoma: Olgu sunumu. (TND 21. Bilimsel Kongresi: Tartışmalı poster sunumu - 2007).

18. Aydınçak Ö, Yılmaz MB, Emmez ÖH, Kurt G, Sepici A, Memiş L, Baykaner K. Ratlarda lomber laminektomi sonrası ortaya çıkan epidural fibrosisın önlenmesinde temozolamidin etkisi. (TND 22. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu - 2008).

19. Kurt G, Yılmaz MB, Aykol Ş, Baykaner K, Paşaoğlu A, Çeviker N. İntrakanaliküler vestibüler schwannomalı hastada gamma knife radyocerrahi sonrası akut fasiyal paralizi: Olgu sunumu. (TND 22. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu - 2008).

20. Kurt G, Yılmaz MB, Aykol Ş, Emmez H, Doğulu F, Kaymaz M, Baykaner K, Çeviker N, Paşaoğlu A. Pontoserebellar köşe yerleşimli tümörlerde gamma knife radyocerrahi sonuçlarımız. (TND 22. Bilimsel Kongresi: Sözel Sunum - 2008).

21. Töngel M, Yılmaz MB, Emmez H, Kaymaz M, Paşaoğlu A. Hepatik kapsül perforasyonu ve subkapsüler BOS koleksiyonu: Bir ventrikülo-peritoneal şant komplikasyonu. (TND 22. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu – 2008).

22. Aykol Ş, Aydın C, Kale A, Emmez H, Yılmaz MB, Kaymaz MA, Paşaoğlu A Spinal vasküler malformasyon. (TND 23. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu – 2009).

23. Töngel M, Yılmaz MB, Kurt G, Çeviker N. Frame-based stereotactic ventriculoperitoneal shunting for acute and devastating pseudotumor cerebri-case report. (TND 23. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu – 2009).

24. Emmez H, Süner Hİ, Kale A, Yılmaz MB, Kurt G, Çeviker N. Servikal intramedüller malign melanom metastazı: Olgu sunumu. (TND 23. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu – 2009).

25. Aykol Ş, Töngel M, Kale A, Emmez H, Kaymaz M, Yılmaz MB. Hipofiz adenomunu taklit eden semptomatik Rathke kisti-Olgusu. (TND 23. Bilimsel Kongresi: Elektronik poster sunumu – 2009).

Ulusal ve uluslararası yayınlar:

1. Çelik B, Kurt G, Çivi S, Yılmaz MB, Çeviker N. Nöroşirürjide konsültasyonlar. Türk Nöroşirürji Dergisi cilt:15, Sayı:3, 311-313, 2005.

2. Emmez H, Tokgöz N, Dogulu F, Yılmaz MB, Kale A, Baykaner MK. Seven distinct coexistent cranial and spinal anomalies. Pediatr Neurosurg. 2006;42(5):316-9.

Toplantı ve kurs katılımı:

- 1) 2. Endoskopik sellar parasellar bölge cerrahi kursu(2009)
- 2) TND stereotaktik, fonksiyonel, ağrı ve epilepsi cerrahisi öğretim ve eğitim grubu sonbahar sempozyumu “tremor ve epilepsi”(2009)

- 3) Vestibular schwannomada tedavi seçenekleri kursu(2008)
- 4) Karotis arter cerrahi kursu(2008)
- 5) Uluslar arası katılımlı 12. Ulusal anatomi kongresi(2008)
- 6) Uluslar arası katılımlı 12. Ulusal anatomi kongresinde gerçekleştirilen pterional yaklaşım, interhemisferik yaklaşık, posterior fossa yaklaşımları kursları(2008)
- 7) Yüksek gradeli tümörler 1. Ankara toplantısı(2007)
- 8) 2. Hidrosefali sempozyumu(2007)
- 9) TND 21. Bilimsel kongresi(2007)
- 10) Ankara hipofiz günleri(2006)
- 11) Sinir sistemi cerrahisi derneği, 1. Bilimsel kongresi(2005)
- 12) TND spinal ve periferik sinir cerrahisi grubu “spinal cerrahide temel bilimler yaz okulu”(2005)
- 13) TND 19. Bilimsel kongresi(2005)