



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL TRAVMATİK BEYİN HASARINDA MELATONİNİN
NÖROPROTEKTİFETKİNLİĞİNİN KASPAZ BAĞIMLI APOPTOTİK SİNYAL
YOLAKLARI YÖNÜNDEN İNCELENMESİ**

Dr. SEZER ONUR GÜNARA

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2022



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL TRAVMATİK BEYİN HASARINDA MELATONİNİN
NÖROPROTEKTİFETKİNLİĞİNİN KASPAZ BAĞIMLI APOPTOTİK SİNYAL
YOLAKLARI YÖNÜNDEN İNCELENMESİ**

Dr. SEZER ONUR GÜNARA

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DOKTOR ÖĞRETİM ÜYESİ İBRAHİM BAŞAR

DİYARBAKIR-2022

TEŞEKKÜR

Asistanlığımın başladığı ilk günden itibaren bana karşılaştığım her türlü zorlukta yardımcı olan hocalarım Prof. Dr. Adnan Ceviz, Prof. Dr. Tefvik Yılmaz, Doç. Dr. Yahya Turan, Doç. Dr. Hüseyin Özevren ve Dr. Öğretim Üyesi İbrahim Başar'a teşekkür ederim.

Tez yazma sürecim boyunca her türlü desteği sunarak tezimi engin bilgi ve tecrübeleriyle destekleyen tez danışmanım Prof. Dr. Adnan Ceviz'e çok teşekkür ederim.

Tezimin hem istatistik kısımlarında hem de engin bilgi ve tecrübesiyle bana yardımcı olan kayınpederim Prof. Dr. Ömer Satıcı'ya çok teşekkür ederim.

Tezimin hem histolojik kısımlarında hem de bilgi ve tecrübesiyle her zaman yanımda olan, emeklerine sonsuz minnettar olduğum Dr. Öğretim Üyesi Uğur Şeker'e teşekkürü bir borç bilirim.

Beni büyütüp bu yaşa getiren annem Sema Olgaç'a, hayatta yaşadığım her türlü zorlukta yanımda duran sevgili eşim Merve Günara'ya, yaşama sevincim biricik kızım Arven Günara'ya ve canım oğlum Aras Günara'ya çok teşekkür ederim.

Beyin ve sinir cerrahisi gibi zorlu bir bölümde beraber çalıştığım Dr. Kamuran Aydın'a, Dr. Barış Arslanoğlu'na, Dr. Burak Atlas'a, Dr. Rıdvan Çetin'e, Dr. Salih Atama'ya, Dr. Aziz Çevik'e, Dr. Abdullah Yiğit'e, Dr. Abdulkadir Kankılıç'a, Dr. Barış Altun'a, Muhammed Kılıç'a, Dr. İsmail Baz'a teşekkür ederim.

Dicle Üniversitesi Beyin ve Sinir cerrahisinde beraber çalıştığım tüm hemşire ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. Sezer Onur Günara

Dicle Üniversitesi Nöroşiruji Ana Bilim Dalı

Araştırma Görevlisi

Diyarbakır-2022

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (DÜBAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No: TIP.21.014)

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

İÇİNDEKİLER DİZİNİ	II
RESİMLERİN DİZİNİ.....	V
TABLolar DİZİNİ	VII
ÖZET.....	1
SUMMARY	3
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Kafa Travması	7
2.1.1. Tarihçe.....	7
2.1.2. Kafa Travmaları Epidemiyolojisi	8
2.1.3. Kafa Travmalarında Sınıflandırma	10
2.1.3.1. Primer Beyin Yaralanmaları.....	12
2.1.3.2. Sekonder Beyin Yaralanmaları.....	12
2.1.4. Primer Beyin Yaralanmalarının Morfolojik Sınıflaması	13
2.1.5. Sekonder Yaralanmaların Dinamiği	18
2.2. Travmatik Beyin Yaralanması ile İskemik Enfarkt Karşılaştırması.....	19
2.3. Beyin Ödemi	21
2.3.1. Beyin Ödem Sınıflandırması	22
2.3.2. Beyin Ödem Tedavisi.....	23
2.4. Kafa Travmalarının Biyomekaniği.....	23
2.4.1. Statik yüklenme	24
2.4.2. Dinamik yüklenme	24
2.5. Travmatik Beyin Hasar Belirteçleri.....	24
2.5.1. S100B Proteinleri	25
2.5.2. GFAP.....	26
2.5.3. MBP	26
2.5.4. NSE	26
2.5.5. CTP.....	27
2.6. Kan Beyin Bariyeri.....	27
2.7. Travmatik Beyin Hasarında Deney Hayvan Modelleri	28
2.7.1. Serbest Düşme Modeli:	29
2.7.2 Direkt Beyin Travması Modeli.....	29

2.7.3 Su Darbeli Travma Oluşturma Modeli	30
2.7.4 Momentum Değişim Modeli	31
2.7.5 Kontrollü Kortikal Vuruş Modeli	31
2.7.6. Balistik Benzeri Delici Yaralanma Modeli	31
2.8. Travma Sonrası Oksidatif Hasar Mekanizmaları	31
2.8.1. Serbest Oksijen Radikalleri	32
2.8.2. Endojen Antioksidan Elemanlar	35
2.9. Travmatik Beyin Hasarı Sonrası Hücre Ölüm Mekanizmaları	35
2.9.1. Apoptozis	35
2.9.2. Nekroz	38
2.10. Melatonin Genel Özellikleri ve Travmatik Beyin Hasarındaki Rolü	39
2.10.1. Melatonin Sentezi	39
2.10.2. Melatonin Reseptörleri	41
2.10.3. Melatonin Farmakokinetiği	41
2.10.4. Melatonin Etkileri	41
2.10.4.1. Melatonin ve İmmün Sistem	41
2.10.4.2. Melatonin ve Kanser	42
2.10.4.3. Melatoninin Antioksidan Etkisi	42
2.10.4.4. Melatonin ve Uyku	43
2.10.4.5. Melatonin ve Psikiatrik Rahatsızlıklar	44
2.10.4.6. Melatonin Nörodejeneratif Olaylara Etkileri	44
2.10.4.7. Melatonin ve Apoptoz	45
3. Materyal ve Metod	46
3.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Deneyin Düzenlenmesi	46
3.2. TBH Modelinin Oluşturulması ve Deneyin Sonlandırılması	46
3.3. Rutin Doku Takibi	48
3.3.1. H&E ve Luxol Fast Blue Boyama	49
3.3.2. İmmunohistokimya Boyama	50
3.4. İmmunohistokimya Örneklerinin Kantitatif Değerlendirilmesi	51
3.5. İstatistiksel Analiz	51
3.6. İmmunohistokimya ve İstatistiksel Analiz	52
4. BULGULAR	53
4.1. Hemotoksilen&Eozin bulguları	53

4.2. Luxol Fas Blue Bulguları	56
4.4 İstatistik Bulguları	63
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ	71
7. KAYNAKÇA	72
8. ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
9. EKLER	83
9.1. İntihal Raporu	83



RESİMLERİN DİZİNİ

Resim 1: Lineer kafa kırığı	13
Resim 2: Çökme kırığı.....	14
Resim 3: Kafa taban kırığı bulguları.....	14
Resim 4: Diffüz aksonal yaralanma Mrg görüntüleri.....	16
Resim 5: Epidural kanama	17
Resim 6: Beyin ödemi tipleri	22
Resim 7: Kan beyin bariyeri.....	28
Resim 8: Serbest düşme modeli.....	29
Resim 9: Direkt beyin travması modeli	30
Resim 10: Su darbeli travma modeli.....	30
Resim 11: Kontrolü kortikal vuruş modeli.	31
Resim 12: Reaktif oksijen türevleri dönüşümleri.....	33
Resim 13: Melatoninin sentezlenmesi	40
Resim 14: Deney Düzeneği.....	47
Resim 15: Kontrol grubunda exise edilmiş normal beyin görüntüsü.	47
Resim 16: Travma grubunda fare görüntüsü.	48
Resim 17: Travma grubunda exise edilmiş beyin görüntüsü.	48
Resim 18: Kontrol grubunun küçük büyütmede hematoksilen ve eozin boyanmış beyin kesiti.....	53
Resim 20: Kontrol grubunun büyük büyütmede hematoksilen ve eozin boyanmış beyin kesiti.....	53
Resim 21: Travma grubunun küçük büyütmede hematoksilen ve eozin boyanmış beyin kesiti.....	54
Resim 22: Travma grubunun büyük büyütmede hematoksilen ve eozin boyanmış beyin kesiti.....	54
Resim 23: Travma + Melatonin grubunun küçük büyütmede hematoksilen ve eozin boyanmış beyin kesiti	55
Resim 24: Travma + Melatonin grubunun büyük büyütmede hematoksilen ve eozin boyanmış beyin kesiti	55
Resim 25: Kontrol grubu Luxol Fast Blue boyanmış beyin kesiti	56
Resim 26: Travma grubu Luxol Fast Blue boyanmış beyin kesiti	56
Resim 27: Travma + Melatonin grubu Luxol Fast Blue boyanmış beyin kesiti	57

Resim 28: Kontrol grubu beyin kesitinde Bax immunohistokimya	57
Resim 29: Travma grubu beyin kesitinde Bax immunohistokimya	58
Resim 30: Travma + Melatonin grubu beyin kesitinde Bax immunohistokimya	58
Resim 31: Kontrol grubu beyin kesitinde Bcl-2 immunohistokimya	59
Resim 32: Travma grubu beyin kesitinde Bcl-2 immunohistokimya	59
Resim 33: Travma + Melatonin grubu beyin kesitinde Bcl-2 immunohistokimya	60
Resim 34: Kontrol grubu beyin kesitinde Kaspaz-3 immunohistokimya	60
Resim 35: Travma grubu beyin kesitinde Kaspaz-3 immunohistokimya	61
Resim 36: Travma + Melatonin grubu beyin kesitinde Kaspaz-3 immunohistokimya	61
Resim 37: Kontrol grubu beyin kesitinde Kaspaz-9 immunohistokimya	62
Resim 38: Travma grubu beyin kesitinde Kaspaz-9 immunohistokimya	62
Resim 39: Travma + Melatonin grubu beyin kesitinde Kaspaz-9 immunohistokimya	63

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Glaskow Koma skalası.....	10
Tablo 2: Pupil reaktivite skoru.	11
Tablo 3: Reaktif oksijen türevleri ve yarı ömürleri	32
Tablo 4: İmmunohistokimya analizlerinin istatistiksel sonuçları.....	64



ÖZET

DENEYSEL TRAVMATİK BEYİN HASARINDA MELATONİN NÖROPROTEKTİF ETKİNLİĞİNİN KASPAZ BAĞIMLI APOPTOTİK SİNYAL YOLAKLARI YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Amaç: Bu çalışmada travmatik beyin hasarı (TBH) oluşturulan ratlarda melatonin nöroprotektif etkisi kaspaz bağımlı apoptotik sinyal yolları açısından incelenmiştir.

Gereçler ve yöntem: Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama Araştırma Merkezinden temin edilen 21 adet fare 3 gruba (Kontrol, Travma, Travma+Melatonin) ayrıldı. Kontrol grubundaki hayvanlar deney süresince herhangi bir uygulamaya tabi tutulmayarak deney sonunda sakrifiye edilerek beyin dokuları toplandı. Travma ve Travma + melatonin grupları genel anestezi altına alındı ve hazırlanan büret standı ve boru düzeneği vasıtasıyla 80 cm yükseklikten 30 gr ağırlık hayvanların frontal loblarına gelecek düzeyde serbest düşüş ile deneysel TBH modeli oluşturuldu. Travma modeli oluşturulan hayvanlara 30 dk sonra intraperitoneal yolla 10 mg/kg melatonin injeksiyonu yapıldı ve enjeksiyondan 1 saat sonra hayvanlar dekapitasyon ile sakrifiye edilerek kan ve beyin dokuları alındı. Toplanan beyin örnekleri %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonu içerisinde fikse edildi ve rutin histolojik takibe tabi duduldu. Parafine gömülen dokulardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen & Eozin (H&E), Luxol Fast Blue ile rutin histopatolojik değerlendirme amacıyla boyandı. Ayrıca beyin dokularından alınan seri kesit örneklerine Bax, Bcl-2, Kaspaz-3 ve Kaspaz-9 immunohistokimya uygulanarak apoptotik proteinlerin ekspresyon düzeyleri incelendi. *İstatistik analizde*, Kruskal Wallis Medyan Testi kullanıldı. İkili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Bulgular

Kontrol grubunda serebral nöronların, nörogliaların ve büyük bir kısmı miyelinli olan sinir liflerinin normal görüntüde olduğu izlendi. Travma ve Travma + melatonin gruplarında travmaya bağlı korteks bölgesinde beyin doku kaybı açıkça gözlemlendi. Miyelin boyaması yapılan örneklerde kontrol grubunda miyelinli sinir liflerinin ak maddede büyük bir alan kapladığı izlenirken travma grubunda daha soluk boyanan durum demiyelinasyonu göstermekteydi. travma + melatonin grubunda ise hem soluk boyanan hem de miyelinli sinir liflerinin gözlemlendiği koyu boyama alanlarının varlığı tespit edildi ve

demiyelinasyonun travma grubuna göre azaldığı tespit edildi. İmmunohistokimya boyaması yapılan örneklerde kontrol grubunda Bax dağılım oranının $27,12 \pm 1,83$ olduğu bunun travma grubunda anlamlı şekilde arttığı ve $47,79 \pm 8,86$ 'lık bir oran oluşturduğu, melatonin tedavisi uygulanan grupta ise Bax immunopozitivifliğinin $34,81 \pm 6,20$ 'lik bir oran elde ettiği ve her iki grubun arasında bir yer aldığı tespit edildi. Bcl-2 immunohistokimya analizi sonucunda kontrol kesitlerinde dokuların $4,00 \pm 0,18$ 'lik oranda pozitifliğin varlığı izlendi. Bu oranın travma grubunda $6,50 \pm 1,13$ 'e yükseldiği ve travma+melatonin grubunda ise artışın her iki grupta da anlamlı derecede farklı olarak $7,91 \pm 2,17$ 'ye yükseldi. Kaspaz-3 immunohistokimya analizlerimizin sonucunda kontrol grubunda dokuların $1,60 \pm 0,08$ 'lik kısmında immunopozitivitenin varlığı izlendi. Travma grubunda bu oranın $3,51 \pm 0,74$ 'lük orana yükselerek anlamlı şekilde artış gösterdiği, travma + melatonin grubunda ise $1,60 \pm 0,08$ 'lik oran elde edilerek kontrol grubuna benzer immunopozitivifliğin varlığı tespit edildi. Kaspaz-9 immunopozitivite değerlendirmesi yaptığımız analizlerde kontrol grubunda $1,50 \pm 0,09$ 'luk oranın varlığı görüldü. Buna karşın travma grubunda immunopozitivitenin $3,12 \pm 0,49$ 'a anlamlı şekilde arttığı, travma + melatonin grubunda ise bu immunopozitivite oranının $1,60 \pm 0,06$ olduğu ve kontrol grubu ile benzer olduğu tespit edildi.

Sonuç

Çalışmamız sonucunda travmatik beyin hasarının hem iç hem de dış apoptozis ile ilişkili proteinlerin ekspresyon düzeyinde artışa neden olarak nörodejenerasyonu tetiklediği tespit edildi. Uygulamış olduğumuz 10 mg/kg'lık melatonin dozunun planlanan deney hayvan modelinde TBH kaynaklı apoptotik protein ekspresyon düzeylerini ve demiyelinasyonu hafiflettiği, ayrıca anti-apoptotik protein ekspresyonunu tetiklediği sonucuna ulaşıldı

Anahtar kelimeler: Travmatik beyin hasarı, Melatonin, Apoptozis, Nörodejenerasyon, Fare

SUMMARY

INVESTIGATION OF MELATONIN NEUROPROTECTIVE EFFECTIVENESS IN EXPERIMENTAL TRAUMATIC BRAIN INJURY IN TERMS OF CASPASE DEPENDENT APOPTOTIC SIGNAL PATHWAYS

Objective: In this study, the neuroprotective effect of melatonin in rats with traumatic brain injury (TBI) was investigated in terms of caspase-dependent apoptotic signaling pathways.

Materials and Methods: 21 mice obtained from Dicle University Health Sciences Application and Research Center were divided into 3 groups (Control, Trauma, Trauma+Melatonin). The animals in the control group were not subjected to any application during the experiment and were sacrificed at the end of the experiment and their brain tissues were collected. Trauma and Trauma + melatonin groups were placed under general anesthesia, and an experimental TBI model was created by free fall to the frontal lobes of animals with a height of 80 cm and a weight of 30 g, by means of the prepared burette stand and pipe assembly. Intraperitoneal injection of 10 mg/kg melatonin was administered to the animals in which trauma model was created 30 minutes later, and 1 hour after the injection, the animals were sacrificed by decapitation and their blood and brain tissues were taken. Collected brain samples were fixed in 10% buffered formalin solution and subjected to routine histological follow-up. 5 µm thick sections taken from paraffin-embedded tissues were stained with Hematoxylin & Eosin (H&E), Luxol Fast Blue for routine histopathological evaluation. In addition, the expression levels of apoptotic proteins were examined by applying Bax, Bcl-2, Caspase-3 and Caspase-9 immunohistochemistry to serial section samples taken from brain tissues. The Kruskal Wallis Median Test was used for statistical analysis. Mann-Whitney U test was used for pairwise comparisons.

Results: In the control group, it was observed that cerebral neurons, neuroglia and nerve fibers, most of which were myelinated, were in normal appearance. In the trauma and trauma + melatonin groups, brain tissue loss was clearly observed in the cortex region due to trauma. In the myelin stained samples, it was observed that myelinated nerve fibers occupied a large area in the white matter in the control group, while the paler stained state in the trauma group showed demyelination. In the trauma + melatonin group, the presence of both pale and dark staining areas with myelinated nerve fibers was detected, and

demyelination was found to be decreased compared to the Trauma group. In the samples with immunohistochemistry staining, the Bax distribution ratio was $27.12 \pm 1.83\%$ in the control group, this increased significantly in the Trauma group and constituted a rate of $47.79 \pm 8.86\%$. It was determined that it had a ratio of ± 6.20 and was somewhere between both groups. As a result of Bcl-2 immunohistochemistry analysis, the presence of $4.00 \pm 0.18\%$ of the tissues in the control sections was observed. This rate increased to $6.50 \pm 0.13\%$ in the Trauma group and increased to $7.91 \pm 2.17\%$ in the Trauma+melatonin group, which was significantly different in both groups. As a result of our caspase-3 immunohistochemistry analyzes, the presence of immunopositivity was observed in $1.60 \pm 0.08\%$ of the tissues in the control group. In the trauma group, this rate increased significantly to $3.51 \pm 0.74\%$, while in the trauma + melatonin group, a rate of $1.60 \pm 0.08\%$ was obtained and the presence of immunopositivity similar to the control group was detected. In the analyzes in which we evaluated caspase-9 immunopositivity, a rate of $1.50 \pm 0.09\%$ was observed in the control group. On the other hand, it was determined that immunopositivity increased significantly to $3.12\% \pm 0.49\%$ in the trauma group, and this immunopositivity rate was $1.60 \pm 0.06\%$ in the trauma + melatonin group, which was similar to the control group

Conclusion: As a result of our study, it was determined that traumatic brain injury triggered neurodegeneration by causing an increase in the expression level of both internal and external apoptosis-related proteins. It was concluded that the 10 mg/kg melatonin dose we applied alleviated TBI-induced apoptotic protein expression levels and demyelination, and also triggered anti-apoptotic protein expression in the planned experimental animal model.

Key words: Traumatic brain injury, Melatonin, Apoptosis, Neurodegeneration, Mice

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kafa travmaları öldürücü, sakat bırakıcı, uzun süre tedavi ve bakım gerektiren bir patoloji olup, 1-44 yaş arasındaki ölümlerin en sık sebeplerindendir. 45 yaşından küçük kişilerde nörolojik hasara bağlı gelişen sekellerin başta gelen nedenidir. Kafa travmalarında asıl mortalite nedeni travma anında meydana gelen primer hasarlanma olsa da travma sonrası değişen zamanlarda meydana gelen sekonder hasarlanma ise mortalite ve morbidite de önemli bir yer tutmaktadır.

Travma sonrası primer hasar skalp yaralanması, kafatası kemik kırıkları, kontüzyon, diffuz aksonal hasar ve intrakranial kanamlara kadar değişen birçok klinik tablo ile ortaya çıkabilirken, sekonder hasar ise primer hasarı takiben ortaya çıkar ve karmaşık bir fizyopatolojik yapıya sahiptir.

Beyin hasarında rol oynayan sekonder doku harabiyetinin prognozu önemli ölçüde kötü yönde etkilediği gösterilmiştir. Sekonder doku hasarının bir kısmı önlenabilir olup bu yönde yapılacak olan çalışmalarla sekonder hasarın önüne geçilebilir hasta mortalite morbiditesinde büyük bir düşüş sağlanabilmektedir. Sekonder hasarın büyük bir kısmını travma sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri gerçekleştirdiğinden serbest oksijen radikallerinin oluşumunu engelleyici, etkisini azaltıcı melatonin gibi ajanların kullanımı hasta prognozunu iyi yönde etkileyeceği açıktır. Beynin antioksidan mekanizmasının diğer organlara nazaran daha güçsüz olması sebebiyle travma sonrası destek tedavisi daha önemli bir yer tutmaktadır. Travma sonrası beyin oksidatif ajanlar tarafından hasara uğramasının engellenmesi durumunda beyin eski işlevine dönebilmekte yada hasarı minimuma indirebilecektir.

Pineal bezde bulunan pinealositler tarafından triptofandan sentezlenen melatonin gece boyunca salgılanır ve gece gündüz siklusunun önemli bir indükleyicisidir. Melatonin bir elektron donörü olarak kuvvetli bir serbest radikal temizleyicisidir. Melatonin nitrik oksid, oksijen, hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türevlerini detoksifiye ederken aynı zamanda glutatyon peroksidaz, superoksid dismutaz gibi antioksidan enzimleri de stimule etmektedir.

Çeşitli çalışmalarda antioksidan etkisi kanıtlanmış olan vitamin E ve vitamin C'ye göre melatonin 2 kat daha güçlü bir antioksidan olduğu Pieri ve arkadaşları tarafından fluoremetri yöntemi ile yapmış oldukları çalışmada gösterilmiştir(103).

Yapılan diğ er çalışmalarda melatonin düşük dozlarda (5mg/kg) beyin  demini azalttığı, neuroprotektif etkisi olduğu yüksek dozlarda ise (15mg/kg) beyin  demini arttırıcı etkisi bulunduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada, kafa travması oluşturulan farelerde melatonin hangi mekanizma ile nöroprotektif etkisini oluşturduğu i  ve dış kaspaz mekanizmaları açısından incelenmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kafa Travması

2.1.1. Tarihçe

Arkeolojik olarak yapılan çalışmalara kafa travmasına ait ilk rapor M.Ö 2800'lü yıllara ait olup Mısırlı hekim ve rahip İmhotep'e aittir. Kafa travmalarını 3'e ayırarak tedavi edilir, tedavi edilebilir ve tedavi edilemez diye gruplara ayırmıştır(1). Travmatik beyin hasarlarına bağlı oluşan kanamaların delik açılarak boşaltılmasına ait ilk delillere ise İnka İmparatoruğu' nun mezarlarında yapılan arkeolojik çalışmalarda rastlanmıştır. Avrupa'da tedavi amacıyla yapılan ilk trepanasyonlar Hipokrat(M.Ö 460-355), Cornecius Celcus(M.S.1.), Galen(M.S. 131-201) gibi hekimler tarafından kullanılmıştır. İbni Sina ise trapanasyonu 9.yy da önermiştir. Anadolu' da trapanasyon ile çökme kırıklarına ait ilk tedavi kalıntıları Asurluların yaşadıkları Kültepe yöresinde yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır.

Capri'li Jakop 1518 yılında aynı zamanda sadece nöroşirujiyle ilgili ilk eser olan kitabında kafa travmalarından ve trapanasyonlardan bahsetmiştir. 16.yüzyılda Fransız Jean L.Petit kontüzyon ve kompresyon ayrımı yapmıştır. Tönnis ve Lcew kafa travması patofizyolojisini 19. Yüzyılda yazmıştır(2).

2. Dünya Savaşı'ndan sonra kafa travmaları sınıflaması ve tedavisinde çok aşama kaydedilmiştir. Denny-Brown ve Russel tarafından primatlarda yapılan çalışmalarda travma esnasında primatın kafatası serbest olduğunda parankimal hasarın daha fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Hastalar beyin cerrahı, anesteziist ve diğer ilgili travma hekimleri tarafından multidisipliner şekilde değerlendirilip çok hızlı ve etkin şekilde tedavi edilmeye başlanmış olup böylece mortalite ve morbiditede önemli azalma kaydedilmiştir. Bir başka önemli ilerleme ise 1970li yıllarda Amerika'da bulunan beyin tomografisi sayesinde yaşanmış olup kuşku üzerine açılan burr holelere son verilmiştir(3). Manyetik rezonans görüntülemenin bulunmasından (1972) ve kranial anlamda kullanılmasından sonra ise BBT ile görülemeyen patolojilerde görülmüş olup klinik olarak hafif travmalı olarak sınıflanan hastalarda bile beyin parankimal hasarın ne kadar büyük olabileceği gösterilmiştir.

Günümüzde de en aktif şekilde kullanılan Glaskow Koma skoru ise 1974'de Teasdale ve Jenet tarafından bulunmuş olup kafa travması geçiren hastaların mortalitesi ve morbiditesi hakkında öngörü sahibi olmamızı sağlamıştır(2).

Travma sonucu ölen hastaların birçoğunda yapılan otopsi çalışmalarında hipoksik veya iskemik beyin hasarı, travmaya ait hemorajik ve diğer bulgular, kafa içi basınç artış bulguları görünmüş olup nöroşirujik, nörolojik ve yoğun bakımda hasta bakımına ait ilerlemelerin ne kadar önemli olduğunu göstermiştir. Travma sonrası multidisipline olarak yapılacak olan erken medikal ve cerrahi tedavi hayat kurtarıcı olacak olup bu konulardaki çalışmalar son hızıyla devam etmektedir. Travma sonrası oluşan kranial hasarda melatonin kullanılması ait çalışmalar 1990'lı yıllardan beri devam etmektedir. Melatonin bu etkisini travma sonrası oluşan sekonder hasarada serbest oksijen radikallerini uzaklaştırmada ve apoptotik yolların düzenlenmesini sağlayarak yapmaktadır

2.1.2. Kafa Travmaları Epidemiyolojisi

Kafa travmaları ve bu travmalara bağlı oluşan hasarlanmalar gelişmiş ya da gelişmemiş tüm dünya ülkelerinde çok sık görülen ve önemli mortalite, morbidite sebeplerinin başında gelmektedir. Travmatik beyin hasarı ABD'de direk ve indirek olarak her yıl yaklaşık maliyeti 60 milyar doları aşan sakatlık sebebidir. Ayrıca adli, tıbbi ve cerrahi açıdan da en önemli konuların başında gelmektedir.

Dünya sağlık örgütünün tahminlerine göre dünyada her yıl 3,5 milyon insan kaza ve şiddet nedenli travmaya bağlı hayatını kaybetmektedir. Bu oranlar gelişmiş ülkelerde daha çok kazalara bağlı olup gelişmemiş ülkelere daha çok şiddet olaylarına bağlı olmaktadır. Yine Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre travmalara bağlı ölüm oranı tüm dünya için 100,000'de 83,7 iken Türkiye'de 100000'de 120 olup bu ölümlerin 1/3 ü kafa travmaları sonucu gelişmiştir. Tüm dünyada yapılan çalışmalarda bu oranın %50'lere çıktığı da gösterilmiştir(5).

Kafa travmalarının epidemiyolojisi de diğer tüm travmalarda olduğu gibi sosyoekonomik, yaş, ırk, cinsiyet ve diğer faktörlerden etkilenmektedir. Kafa travması en çok 15-25 yaş grubu arasında görülüyor olup ülkemizde genç erişkinlerde görülen kafa travmalarına en çok sebebiyet trafik kazaları olmaktadır. Bunları sırasıyla düşmeler ve ateşli silah yaralanmaları izlemektedir. Bu yaş grubuna ait ölüm sebepleri arasında ülkemizde kafa travmaları 3. sırada yer almaktadır(6.7.8) 25-60 yaş arasında bu risk düşmekte olup 60 yaş üzerinde artan yaş ile birlikte risk de artmaktadır(8). Bebekler ve çocuklarda kafa travması açısından yüksek risk grubunda olsalar bile 75 yaş üzerindeki geriatric toplumun kafa travmasına bağlı hastaneye yatma ve ölme riskleri daha fazladır.

Erkek/Kadın oranı değişen çalışmalarda $\frac{1}{2}$ ile $\frac{1}{2.8}$ arasında değişmektedir. Sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlarda kafa travması oranı yükselmek ile birlikte kadın erkek oranları değişmemektedir(9).

Çoklu travmaya bağlı ölümlerin %50'sinin sebebi kafa travması olup bu ölümlerin yarısı hastaneye ulaşmadan gerçekleşmekte, hastaneye ulaşan ölümlerin $\frac{2}{3}$ ü ise ilk 24 saatte olmaktadır. Bu ölümlerin sebebinde ana faktör primer beyin hasarı olup sekonder beyin hasarına bağlı ölümlerin %90'ında kontrol edilemeyen kafa içi basınç artışı sebebiyledir. Bu ölümlerin %60'ında intrakranial hematoma tespit edilmiştir(5).

Amerika Birleşik Devletlerinde genç popülasyondaki ölümlerde travma 1. Sıklıkta görülmekte olup bu travmaların yaklaşık %50-55'inden kafa travması sorumludur. Tüm yaş gruplarında ise kardiyovasküler hastalıklar ve kanserlerden sonra 3. Sırada yer almaktadır(10). ABD nörolojik cerrahi birliğinin 2007 sonuçlarına göre en sık spor yaralanmasına bağlı kranial travma boksta olup bunu Amerikan futbolu, buz hokeyi ve diğer sporlar izlemektedir.

Ülkemizde Işık ve arkadaşları tarafından yapılan travmaya yönelik retrospektif çalışmada 954 hasta incelenmiş hastaların %75.4'ü erkek %24.6'sı kadın, %52'si genç nüfus, %75'sinin sebebi trafik kazaları olmuştur. Bu hastaların Glaskow koma skalasına göre sınıflamasında %48'i hafif, %31'i orta %21'i ise ağır travmaya maruz kalmıştır. Hastalar %18,5'i opere edilmiş olup operasyon sebeplerinin başında epidural ve subdural kanamalar yer almaktadır. Son olarak bu seride mortalite oranı %19,4'dür(11).

Travmatik beyin hasarının %42'sinden trafik kazaları sorumludur. Travmatik beyin hasarına bağlı ölümlerin %70-75'inden ise trafik kazaları sorumludur. Çocuklarda görülen travmaların sebebi düşmeler olup bunların büyük bir kısmı ev içerisinde yüksekten düşmelerdir. Yaşlılarda da düşme travmatik beyin hasarı sebebinde ilk sırada yer almaktadır. Genç erişkinlerde ise trafik kazalarıyla birlikte düşmeler ve spor yaralanmaları yer almaktadır.

Son yıllarda gelişen teknolojiyle birlikte görüntüleme yöntemleri de gelişmiş ve daha sık kullanılır hale gelmiştir. Ayrıca travma patofizyolojisi hakkında daha fazla bilgi sahibi olarak daha etkin medikal ve cerrahi tedaviler uygulanmakta olup böylece travmatik beyin hasarına bağlı mortalite ve morbidite oranı %20'lere varan oranlarda azaltılmıştır(12).

2.1.3. Kafa Travmalarında Sınıflandırma

Kafa travmaları sınıflandırması olarak birçok merkez birçok farklı sınıflandırma tipleri kullanmakta olup hepsinin birbirine göre üstünlükleri ve eksiklikleri bulunmaktadır. İdeal bir sınıflama hangi hastada beyin tomografisi çekileceği, hangi hastanın tetkik yapılmadan takip edileceği, hangi hastaya acil cerrahi girişim uygulanacağı ve hangi hastada ilerde gelişecek komplikasyonların oluşacağına dair bilgi vermelidir.

Var olan sınıflamalar kategorik, matematiksel ve özel sınıflamalar olarak ayrılabilirler olup bunların arasında en çok kullanılan matematiksel sınıflamalardan biri olan Glaskow Koma Sklasıdır.(1974) (Tablo-1) Liege grubu daha sonrasında Glaskow Koma skolasına beyin sapı reflexlerini de eklemiştir. 2018 yılında Paul Brenan ve arkadaşları tarafından GKS-P diye tanımlanan bir skala oluşturularak glaskow koma skolasına pupil ışık reaksiyonu verisini eklemiştir. Bu skalada toplam gks skorundan pupil ışık reflexi sonucu çıkartılarak yapılmaktadır.

Tablo 1: Glaskow Koma skolası.

Tablo. Glasgow Koma Skalası

Göz Yanıtı (E)		Motor Yanıt (M)		Verbal Yanıt (V)	
Spontan	4	Komutlara Uyuyor	6	Oryante	5
Sözel Uyarılarla	3	Uyarıyı Lokalize Ediyor	5	Konfüzyonel	4
Ağrılı Uyarılarla	2	Uyarıya Kaçınma (Normal Fleksiyon)	4	Kelimeler	3
Yok	1	Global Fleksör Yanıt (Anormal Fleksiyon)	3	Sesler	2
		Global Ektensör Yanıt	2	Yok	1
		Yanıt Yok	1		

Tablo 2: Pupil reaktivite skoru.

Tablo. Pupil Reaktivite Skoru (PRS)

Işık Yanıtı Vermeyen Pupiller	Pupil Reaktivite Skoru (PRS)
Her ikisi de	2
Tek pupil	1
Hiçbiri	0

$$GKS-P = GKS - PRS$$

Glaskow Koma sklasına göre: 1-Hafif kafa travması: GKS 14-15 olup, var olan travmaların %75-80'nine tekabül etmektedir, bu travmalarda geçici(5 dakikadan az) bilinç kaybı var olabilir, nörolojik defisit ise bulunmaz. 2-Orta kafa travması: GKS:9-13 arasında olup fokal nörolojik defisit olabilir, bilinç kaybı 5 dakikadan uzundur, kranial travmaya primer ya da sekonder hasarlar eşlik edebilir. Hastaya yoğun bakım takip ve tedavisi gerekebilmektedir. 3-Ağır kafa travması: GKS:3-8 arasında olup hasta komatöz yada komadadır, hastaya mutlak yoğun bakım takip tedavisi gereklidir, mortalite ve morbiditesi en yüksek hasta grubudur.

Kafa travmaları morfolojik tiplerine göre;

A)Skalp yaralanmaları

B)Kranium kırıkları:

1-Lineer kırıklar/Parçalı kırıklar

2-Çökme kırıkları: Tam kat/Tam kat olmayan

3-Kafa taban (bazal) kırıkları: Likör fistül var/yok

C)Diffüz beyin hasarı:

1-Konküzyon

2-Diffüz aksonal yaralanma

D)Fokal yaralanmalar:

1-Kontüzyon/intraserebral hematoma

2-Epidural hematoma

3-Subdural hematoma

E)Herniasyonlar ve Beyin ödemi

Kafa travmaları travma mekanizmasına göre:

A)Künt travmalar

1-Yüksek hızlı

2-Düşük hızlı

B)Penetran travmalar(Ateşli silah ve diğer penetran yaralanmalar)

Kafa travmaları şiddetine göre sınıflaması:

A)Hafif: GKS:14-15

B)ORTA: GKS:9-13

C)AĞIR: GKS:3-8

Kranial travmalar oluşturdukları hasarın zamanlamasına göre primer ve sekonder yaralanmalar olarak ikiye ayrılırlar(13).

2.1.3.1. Primer Beyin Yaralanmaları

Travmanın meydana geldiği anda olmaya başlayan ya travmanın direkt etkisi ile parankimde meydana gelen ya da travmanın indirekt etkisiyle oluşan hasarlanmalardır. Beyin parankiminde oluşan direkt travma beynin travmaya bağlı kemik yapıya çarpması veya beynin kemik fragmanlar ya da yabancı cisimler tarafından penetrasyonu ile oluşmaktadır. Akseralasyon-deseralasyon kuvvetleri beyaz cevher traktuslarında kopmalara sebep olarak aksonal bozulma ve sekonder hücre ölümüne sebep olur(14).

2.1.3.2. Sekonder Beyin Yaralanmaları

Travmanın başlangıç anında değil de takip eden süreçte meydana gelen ve genellikle primer travmaya vücudun verdiği tepkiyle meydana gelen yaralanmalardır. Primer beyin travmasını takiben meydana gelen birçok biomoleküler değişimle oluşan hücre ölümleri olup mikrosirkülasyonun bozulmasına ve nöronal bütünlüğün kaybolmasına yol açarlar. Vücudun genel bir cevabı olan sistemik hipotansiyon, hipoksi, hiperkapni, taşikardi, artan intrakranial basınç artışı gibi sekonder yaralanmalar gerçekte beyin travması ya da multipl travmalar tarafından başlatılan seri fizyolojik değişikliklerin biyokimyasal sonuçlarıdır(14).

2.1.4. Primer Beyin Yaralanmalarının Morfolojik Sınıflaması

A)Skalp Yaralanmaları: Skalp yaralanmaları travmanın yerini işaret etmek ile birlikte kafa derisinin çok kanlanması sebebiyle çok kanayabilmekte olup yeni doğan ve küçük çocuklarda hemorajik şok ile sonuçlanabilecek kanamalardır. Eğer beraberinde penetran bir travma yada çökme kırığı var ise enfeksiyon için giriş yeridir.

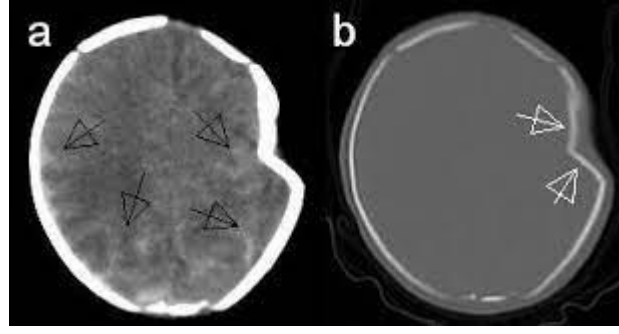
B)Kranium Kırıkları:

1-Lineer Kırıklar: Darbenin şiddeti kemiğin karşı kuvvetini yenmesi sonucu oluşmakta olup doğrusal bir hat boyunca kırık oluşur. Kırığa sebep olan enerji bir hat boyunca yayılır ve enerjinin bittiği yerde fraktür hattı sonlanır. Lineer fraktür hattı birden çok hatta yayılması ise parçalı fraktür olup kemik bütünlüğü tamamen bozulmuştur.



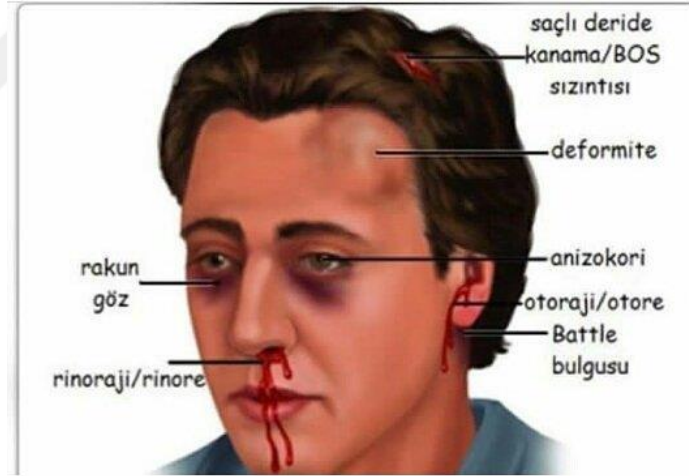
Resim 1: Lineer kafa kırığı (15).

2-Çökme Kırıkları: Kranial bölgede gelişen travmanın şiddeti kemik yapının bütünlüğünü bozarak parankime doğru çökmeye sebep olmaktadır. Çökme fraktürleri tam kat ve tam kat olmayan olarak ikiye ayrılmakta olup tam kat olan fraktürler cerrahi müdahale ile düzeltilmektedirler. Tam kat olmayan fraktürlerin ise tedavi algoritması açık fraktür olup olmamasına göre değişmektedir. Açık fraktürler enfeksiyon kaynağı olması sebebiyle genellikle cerrahi olarak düzeltilmektedirler.



Resim 2: Çökme kırığı (16).

3-Kafa Taban Kırıkları: Travmaya bağlı oluşan fraktür hattının kafa tabanına kadar ulaşarak mevcut bölgeye hasar vermesiyle oluşur. Lineer, parçalı yada çökme fraktürü olabilecek olup fasyal sinir hasarına sebep olabilmektedir. Likör fistül sebebiyle otore yada rinore oluşturabilmektedirler. Hastaların fizik muayanesinde rakun göz ve kulak arkasında battle sign görülmektedir. Likör fistül görülen hastalarda menenjit profilaksisi mutlaka başlanmalıdır(17). Bahsedilen fizik muayane bulguları aşağıda resmedilmiştir.



Resim 3: Kafa taban kırığı bulguları

C)Diffüz Beyin Yaralanmaları:

1-Konküzyon: Kafa travmasını takiben kısa süreli bilinç kaybının da eşlik edebileceği baş ağrısı, bulantı-kusma, çift görme gibi klinik bulgular da verebilen beynin tamamını etkileyen durum olarak tanımlanabilir.

2-Diffüz Aksonal Yaralanma: Travma sonrasında yüksek hıza bağlı olarak beyin beyaz cevherinde meydana gelen geniş kapsamlı hasardır. Yüksek hızla gelişen travma sonucunda kraniumun lateral hareketine bağlı olarak tentorium ve falkstaki aşırı esneme ayrıca hipoksik iskemik değişiklikler bu tip yaralanmaya sebep olabilirler(18).

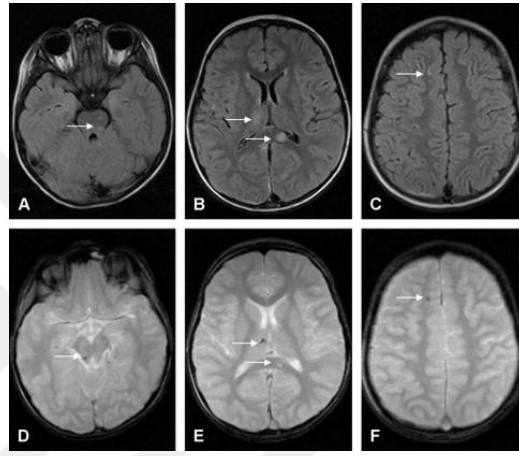
İnsanlarda ve primatlarda yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda aksonal hasarın oluşmasındaki asıl mekanizmanın travmanın yırtıcı ve gerici kuvvetlerin etkisinden çok aksondaki iletimin bozulması, nörofilaman ve membranlı organellerin aşırı birikimi sonucu hasara uğrayarak zarar gördükleri gösterilmiştir. Travmanın ilk saatlerinde olmayan hasarlanma 6-12 saat gibi sürelerde aksunun proksimal segmenti ile distal segmenti arasındaki bağlantı koparak wallerian dejenerasyon oluşur. Yapısal değişiklikler önce aksunun en zayıf bölgesi olan ranvier boğumunda görülür. Genellikle beyin nodal paranodal bölgelerinde yapıca daha küçük olan aksollar aksonal parçalanmaya daha yatkındır. Yapıca küçük olan aksollarda parçalanma daha sık görülmekte olup aksol hasarı primer aksotomi şeklinde gerçekleşir. Yapıca daha büyük aksollarda ise hasarlanma organel birikimi sonucu şişme ile başlar 6-12 saat sonra ise aksonal ayrışmalar başlar. Aksonal ayrışmanın başladığı zaman sekonder aksotomi olarak nitelendirilir. Bütün kafa travmalarında aksotomi iskelet zararına sekonder olarak gelişen bir süreçtir(19). Ayrıca yapılan çalışmalar göstermiş ki travmayı takiben ilk birkaç saat uygulanacak uygun tedavi ile bazen diffüz aksonal yaralanma tablosu düzetilebilir.

İskemik ve sitotoksik hasarla oluşan diffüz aksonal hasarlanma ise serbest oksijen radikallerinin özellikle hidroksil radikalının hücre zarında lipid peroksidasyonu sonucu iyon kanallarından aşırı kalsiyum geçişi buna bağlı olarak sitokin salınımı ve serbest yağ asitlerinin vazokonstriksiyon ve iskekiye neden olabilen aşırı vazoreaktif maddelere dönüştüren metabolik değişikliklere uğraması şeklinde tanımlanabilir(21).

Diffüz aksonal yaralanma 3 aşamaya ayrılmıştır, birinci aşama lezyon yalnız serebral hemisferin parasagittal beyaz cevheriyle sınırlıdır. İkinci aşamada buna ek olarak korpus kallozumda etkilenmiştir. Son olarak üçüncü aşamada ise bunlara ek olarak sereral pedinküllerde fokal lezyonlar da izlenir(22). Diffüz aksonal yaralanmaların ilk saatlerinde beyin tomografisi %80'lere varan oranlarda normal görünmektedir, ilerleyen saatlerde ise karakteristik olarak korpus kallozum ve beyin sapı alanlarının gri beyaz cevher birleşim alanlarında küçük peteşiyel kanlanmalar gözlenir. Diffüz aksonal yaralanma serebral hemisferlerde 2 santimden küçük multipl hemorajiler, korpus kallozumdaki hemorajiler,

intraventriküler hemoraji, 3. Ventrikül komşuluğunda ve beyin sapı kanamalarını ile karakterizedir.

Mrg diffüz aksonal yaralanma tanımlamasında daha iyi bir tetkik olup T2 ağırlıklı imajarda daha parlak görülen korpus kallozum spleniumunda ve beyaz cevherde temporal ya da parietal kortikomedüller kavşakta multifokal sinyaller ve dorsolateral rostral orta beyin ve korona radiata da dahil olmak üzere diğer bölgelerde sıklıkla anormal sinyaller ile karakterize spesifik olmayan değişiklikleridir(21). Diffüz aksone mrg görüntüsü aşağıda gösterilmiştir.



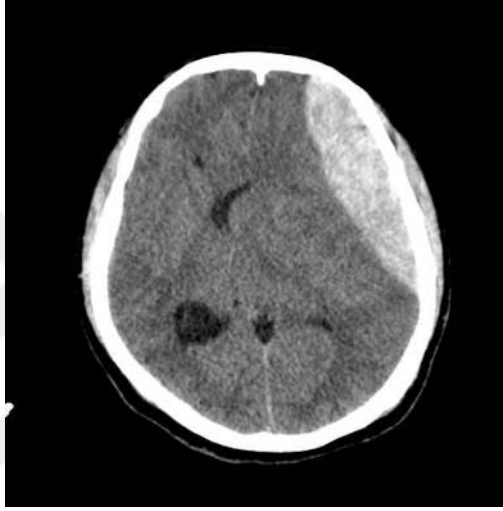
Resim 4: Diffüz aksonal yaralanma Mrg görüntüleri (22).

D)Fokal Yaralanmalar

1-Kontüzyon-İntraserebral Hematom: Kafa tasının darbeye bağlı olarak altındaki beyin dokusuna direk zarar vermesi yada esnemiş kafa tasının oluşturduğu negafit basınca bağlı oluşur. Kontüzyonda piamater araknoid sağlam iken piamater ve araknoid hasarlanırsa laserasyondan bahsedilir(24). İntraserebral hematomlar ise kontüzyondan daha geniş alanlar kapsayan mekanizma olarak ise aynı şekilde oluşan hasarlanmalardır. Sıklıkla frontal ve temporal loblarda olmak üzere derin hemisferlerde görülürler. Serebellumda ise daha az sıklıkta izlenirler

Fokal yaralanmalar travmanın meydana geldiği alanda olabildiği gibi tam olarak zıt tarafında da oluşmuş olabilirler. Karakteristik olarak frontal pollerde, orbita girusta, silvian fissürlerin üst ve altındaki kortekste, temporal pollerde, temporal alanın lateral ve inferior yüzeylerinde görülürler(24).

2-Epidural Hematom: Kafa tasına gelen darbeye bağı olarak gelişen kırık sonucunda sıklıkla dural arterde bazen de dural ve diploik venlerde oluşan laserasyon sonucunda gözlenir. En sık olarak orta meningeal arterin yırtığı ile oluşur. Tüm yaralanmaların %2'sinde oluşmakta olup ölümcül yaralanmaların %5-15'inde izlenmiştir. Epidural kanamalar en fazla temporal bölgede görünmekte olup çocuklar da herhangi bir kırık gözlenmeden de görülebilmektedir. Artere bağı epidural kanamalarda klink tablo akut olarak bozulduğu gibi erken teşhis ve tedaviyle sonuçları yüz güldürücü olmaktadır. Epidural hematoma karakteristik olarak sütur hatlarını geçmemektedir.



Resim 5: Epidural kanama (26).

3-Subdural Hematom: Şiddetli tramaya bağı olarak beyin köprü venlerinin yırtılmasına bağı olarak gelişmekte olup, yaşlılarda ve atrofik beyinlilerde minör travmayla da oluşabilmektedirler. Akut, subakut ve kronik olarak tanımlanabilmekte olup akut subdural hematomlarda mortalite %60'lara kadar çıkabilmektedir(23).

E)Herniasyonlar ve Beyin Ödemi: Kranial travmalara yada ödeme bağı olarak gelişen beyin parankiminin yer değiştirme şekline herniasyon denmekte olup, erken teşhis ve tedavisi olmazsa mortalitesi çok yüksek patolojilerdir.(Beyin ödemi sekonder yaralanmalarda anlatılacaktır)

2.1.5. Sekonder Yaralanmaların Dinamiği

A)Etiyoloji: Travmayı takiben ilerleyen dakikalar, saatler, günler hatta haftalar içerisinde görülen, başlangıçtaki darbeye karşı vücudun sistemik cevabı sonrası ortaya çıkan vasküler ve nöronal hasarla tanımlanan yaralanmalardır. Yüzde seksene varan oranlarda iskemik tipte olup iskemik tipte olanların mortalite oranı çok yüksektir(18). Primer olarak hasar görmüş olan beyin sekonder olarak beyin ödemi, intrakranial basınç artışı(KİBA), serebral vazospazm, epilepsi, intrakranial enfeksiyon yönlerinden etkilenir. Primer hasar sonrası oluşan sistemik etkiler ise hipoksemi, arteriyel hipotansiyon, hiperkapni ve şiddetli hipokapni, ateş, hiponatremi, anemi, diffüz intravasküler koagulopatidir. Bunların arasında en sık görülen üç neden ise hipoksi (oksijen basıncının %65'in altına düşmesi) (%30), hipotansiyon (sistolik kan basıncının 90'nın altına düşmesi) (%13) ve anemidir (hematokritin 30'un altına inmesi) (%12) (26).

Gelişen medikal ve cerrahi tedaviler, yoğun bakım hizmetinin daha iyi sağlanması, yapılan birçok araştırmanın sonucuyla birlikte sekonder hasarların erken teşhis ve tedavisiyle önlenabilir olması hasta mortalite ve morbiditesini iyi yönde etkilemiştir.

B)Fizyopatoloji: Travmatik beyin hasarını takiben gelişen sekonder hasarlanmanın ilk evresinde serebral kan akımı ve parankimal metabolizmanın otoregülasyonun bozulması şeklinde olmaktadır. Serebral kan akımının bozulmasıyla iskemiye uğrayan hücreler ve dokular enerji üretimi için anaerobik glikoliz yolunu kullanacak olup bunun sonucunda ise hücrelerde laktik asit birikimi meydana gelmektedir. Enerji üretiminin azalması ve laktik asit birikime bağlı bozulan enerji bağımlı(ATP) sodyum potasyum ve diğer iyon kanalları sebebiyle artan hücre zarı geçirgenliğine bağlı membran permabilitesi artar ve hücrede ödem oluşur(27). Meydana gelen ikinci evrede ise fizyopatolojik olarak eksitator nörotransmitterler olan glutamat ve aspartat fazla salınımı, N-metil-D-aspartat, a-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionat ve voltaj bağımlı kalsiyum ve sodyum kanalları aktivasyonu sonucunda terminal membran depolarizasyonu oluşur. Böylece hücre içerisinde anormal olarak biriken Ca ve Na hücrenin kendini yok etmesiyle sonuçlanacak katabolik süreçleri başlatmış olur.

Kalsiyum lipit peroksidaz, proteaz ve fosfolipazı aktive ederek hücre harabiyeti oluşturur bunun sonucunda serbest yağ asitlerinin ve serbest oksijen radikallerinin intraselüler konsantrasyon artar serbest oksijen radikallerinin hücre düzeylerinin artması daha fazla hücre harabiyeti ve kalsiyum artışına sebep olarak kısır döngü

oluşturur(28).Artmış hücre depolarizasyonu, anormal hücrel katyon birikimi, kaspazlar, translokazlar, endonükleazların aktivasyonu hücrese membran harabiyeti ve nükleozomal deoksiribonükleik asit (DNA)'da fragmentasyon ve ileri yapısal değişiklikleri başlatır. İnaktive olan DNA tamir inhibisyonu ile birlikte hücresel döngü bozulur, vasküler ve selüler yapıların parçalanmasıyla programlanmış hücre ölümü olan apoptozis başlar.

Serebral kan akımı 100 gram beyin dokusuna 1 dakika içerisinde gelen mililitre cinsinden gelen kan miktarı olup beyin içerisinde fokal farklılıklar göstermektedir. Ortalama serebral kan akımı 50ml/100gr/dk'dır. Serebral kan akımının 18ml/dk'nın altına düşmesi geri dönüşümsüz hücrel hasara sebebiyet verir. Serebral perfüzyon basıncı ortalama arteriyel basınçtan kafa içi basıncı artışı demek olup kafa içi basınç sistemik arteriyel basıncı geçmesi durumunda beyin arteriyel dolaşımı sonlanır.

(SEREBRAL PERFÜZYON BASINCI= ORT SİSTOLİK BASINÇ-KİB)

Serebral vasküler direnç ise kanın serebral arterlerden venlere doğru akımına karşı olan güçtür. Bu ise başlıca kan viskozitesine ve vasküler faktörlere bağlıdır. Travmadan sonraki ilk 24 saat içerisinde serebral kan akımı %50' ye varan oranlarda düşmekte olup iskemik sınırlara ulaşmaktadır. Yapılan otopsi deneylerinde kranial travma sonrası vefat eden hastaların %80'inde iskemik değişiklikler izlenmiştir(29). Akut kafa travmasını takiben kafa içi basıncı artar. Kafa içi basınç artışıyla beyne, aorta ve vertebral arter ile gelen kan azalır, aortik ve kaotik sinüslerdeki baroreseptörler gelen az kan akımına bağlı olarak oluşan vazomotor reflex ile kalpten pompalanan kan miktarı artırılır böylece sistemik kan basıncı artar, sistemik kan basıncının artmasıyla beyne gelen kan miktarı artar mevcut bu reflexe "Cushing refleksi" denir. Klinikte ani hipertansiyon ile karakterizedir.(30) Kafa travmalı hastalarda serebral dokunun yeterince kanlanması için perfüzyon basıncının 70mmhg'nin üzerinde olması gerekmektedir. 50mmhg'nin altına indiğinde hipoksik değişiklikler, 40mm/hg'nin altına indiğinde ise geri dönüşümsüz iskemi meydana gelerek beyin otoregülasyonu bozulur geri dönüşümsüz iskemik değişiklikler başlar(31).

2.2. Travmatik Beyin Yaralanması ile İskemik Enfarkt Karşılaştırması

Travmatik beyin hasarına bağlı gelişen serebral hipoperfüzyonun yüksek oranlarda kötü sonuçla ilişkili olması iskemik inmeyle benzer hasta mortalitesi ve morbiditesi örnekleri göstermesine rağmen iki yaralanma arasında temel farklılıklar barındırmaktadır. Örneğin ttravmatik beyin hasarında geri dönüşümsüz doku hasarının gelişmesi için

15ml/100gr/dk kan akımı gerekliken iskemide bu oran daha az olup yaklaşık olarak 5-8.5ml/100gr/dk'dır(32).

Travmatik beyin hasarına bağı olarak serebral iskemide gelişen metabolitik stres ve iyon değişimlerine ek olarak parankimal doku yırtılmasıyla oluşan nöron hasarlanmaları, glial hücre dejenerasyonları ve serebral mikrovasküler, endotel hücre hasarları oluşur.

Mekanik yer değiştirmenin oluşturduğu postravmatik beyin hasarına bağı kafa içi basıncının sistolik basıncı geçmediği fazlarda serebral hiperperfüzyon gelişip (55ml/100gr/dk'dan fazla olmasıyla) hiperemi gelişebilmektedir.(33). Serebral kan akımındaki artışlar serebral kan hacminde artmaya ve bunun sonucunda kafa içi basınç artışıyla birlikte serebral paraliziye neden olur. Hem serebral iskemi hem de hiperperfüzyon(hiperemi) serebral metabolizmadaki bozulmayı göstermektedir.

Travmatik beyin yaralanmasından sonra hastaların yüksek oranında serebral kan akım otoregülasyonu bozulmuştur. Bu bozulma travmayı hemen takiben olabileceği gibi ilerleyen dönemlerde de oluşabilmekte olup etkisi geçici ya da kalıcı olabilmektedir. Serebral kan kımının otoregülasyonundaki bozulma hasarın şiddetinden ise etkilenmez(34). Serebral enerji durumu ise travmadan sonra azalmakta olup enerji azalması metabolik bozulmayı da önceden irdelendiği gibi beraberinde getirmektedir. Serebral metabolizma bozulması ise serebral akımının tersine travma şiddetine bağı olarak değişmektedir(35). Metabolik bozulma ana olarak mitokondiriyal bozulmayla karakterize olup mitokondiriyal bozulmayla birlikte hücresel enerji fonksiyon bozuklukları oluşmaktadır. Patolojik değişikliklere maruz kalan hücreler ise enerji gereksinimlerini anaerobik glikoliz ile karşılamaya çalışıp bunun sonucunda ise hücreye şişme ve ödem oluşmakta anyonik ve katyonik disfonksiyonlara bağı olarak hücre apoptozisi ve nekrozu başlamaktadır.

Travmatik beyin hasarı beyine gelen oksijen ve serebral oksijen tüketimi arasındaki dengesizlikle karakterize olup, oksijen dengesizliklerinin nihayi sonucu ise doku hipoksisi olmaktadır. Travmatik beyin hasarı sonrası oluşan hipoksi süresi, insidansı ve genişliği ise mortalite ve morbidite ile direk ilişkili olduğuna dair birçok klinik ve deneysel çalışma bulunmaktadır. Beynin hipoksik kalan ana yerine göre oluşturulan tedavi modaliteleriyle günümüzde bu mortalite ve morbiditenin önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Tedavi kişiye, yaşa, cinsiyete kritik beyin dokusu oksijenizasyonuna göre değişiklikler göstermektedir(36). Travmatik beyin hasarından sonra hem primer hem de sekonder neden

sitokinler, serbest oksijen radikalleri, prostoglandinler ve komplemanlar salının bu hücrel mediyatörler ise kemokinler ve adezyon moleküllerinin aktive olmasını sağlayarak hem patolojik hemde patolojik olmayana hücrelere bağlanarak anormal hücrel yanıtı sebebiyet verebilmektedirler. Böylece normal fizyolojik yanıtın yanında vücut hücrelerinin anormal reaksiyonlarına bağlı olarak travmanın boyutu primere oranla daha da artabilmektedir.

2.3. Beyin Ödemi

Kısaca beyin sıvı oranındaki artış olarak açıklanabilcek olan beyin ödemi etiyolojik olarak incelendiğinde travma, neoplazi, toksik durumlar, metabolik bozukluklar, enfeksiyonlar kaynaklı olabilmektedir. Vücuttaki diğer organlarla karşılaştırıldığında beyin ödemi kompanzasyon mekanizmasının diğer organlara oranla çok daha güçsüz kaldığı anlaşılmış olup bunun başlıca sebebinin ise yüksek enerji ihtiyacı olduğu varsayılmaktadır(37).

Kraniumun sabit hacimli, rijit yapısı içinde bulunan birleşenlerinin birinin hacminin artması halinde diğer bileşenlerin hacim azalmasıyla kompnase edilmesini gerekmektedir. Bu dengenin prensipleri ise Monro Kelie Doktrini ile açıklanmıştır. Bu doktrine göre beyin sıvısındaki artış ilk başta BOS'un spinal alana kaydırılmasıyla kompanse edilmeye çalışılsa da eğer kompanzasyon yetersiz kalması durumunda parankim herniasyonu ile sonlanmaktadır(38). Erişkinlerde normal intrakranial basınç 7-15 mmHg'dir. Normal intrakranial basınç arterlerin pulsasyonua bağlı olarak pulsatil bir seyir göstermektedir. Bu ilk olarak Lundberg tarafından fark edilmiş ve 3 farklı dalga tanımlanmıştır.(A-B-C dalgaları olmak üzere serebral kan akımının artmasına ve azalmasına bağlı olarak tanımlanmıştır)(38).

Serebral perfüzyon basıncının 150mm/hg'nin üstüne çıktığı durumlarda otoregülasyon bozularak hücrel geçirgenlik artışı vazojenik ödem oluşmaktadır. Serebral hipoksi durumunda ise karbondioksit artışına bağlı olarak vazodilatasyon gelişmekte olup bu sebeple ödem gelişmektedir. Parsiyel oksijen basıncının 50mm/hg'nin altına düştüğü durumlarda karbondioksit artışıyla birlikte bu mekanizma ile ödem oluşmaktadır.

Beyin ödeminin arttığı durumlarda klinik olarak en başta baş ağrısı ve bulantı-kusma gibi nonspesifik bulgular ortaya çıkar. Yapılan muayane sonucunda papil ödem ve

altıncı sinir paralizisine bağlı olarak batan güneş manzarası gözlenir. Beyin ödeminin kontrol altına alınmadığı durumlarda ise bilinç bulanıklığı ve ani respiratuar, kardiyak arrest oluşmaktadır. Ağır kafa travmalı hastalarda bu senaryo çok sık karşımıza çıkmaktadır.

2.3.1. Beyin Ödem Sınıflandırması

İlk kez 1967 yılında vazojenik ve sitotoksik ödem olarak sınıflandırılan beyin ödeminin 1975 yılında hidrosefalik hastalarda gözlenen intertisyel ödem ve osmotik dengenin bozulmasından kaynaklanan osmotik ödem eklenmiştir.

Vazojenik ödemde kan beyin bariyerinin hasarlanmasına bağlı olarak geçirgenlik artışı ile birlikte hücre içi sıvı artışı ile karakterizedir. Başlıca etiyolojik sebepleri arasında travma, inme, hipertansiyon, tümörler ve apseler gelmektedir. Sitotoksik ödem ise hücre zarında bulunan iyon kanallarında hasarlanmaya bağlı olarak gelişmekte olup başlıca nedenleri arasında iskemi, anoksi ve intoksikasyon gelmektedir.

İntertisyel ve osmotik ödem ise daha çok hidrosefaik hastalarda görünmekte olup intertisyel ödem beyin omirilik sıvı akışında sorun vardır. Osmotik ödemde sodyum potasyum hasarına bağlı olarak hücre içinden sodyum atılamamakta ve hücre su ile dolarak şişmektedir.

Beyin Ödemi Tipleri, Nedenleri, Örnekler Ve Tedavi Seçenekleri			
ÖDEM TİPİ	NEDEN	ÖRNEK	TEDAVİ
Vazojenik	KBR yitimi	Tüberküloz	Karbonat tedavisi
Sitotoksik	Hücre zarı hasarı	İskemi, toksemiler	Ca kanal blokörleri, NMDA antagonistleri, Serbest radikal temizleyiciler, Eritrosübitler
Hidrostatik	Artmış vasküler transüneral basınç	NPHGD (ADH analogları, vazopressin)	Antihipertansif tedaviler, drenaj operasyonları
Hiposmolar	Hiposmolarite	Uygunsuz ADH sendromu, Serbest su kaybı sendromları	Su tedavisi, Flikloksiazol
İntertisyel	Obstrüktif hidrosefaali	Kista, SGL	Hidrosetin giderilmesi, EDS drenajı, şant ameliyatı
Beyin şişmesi	Artmış kan hacmi	Aktifiyet dilatasyonu, vücut soğutma	Hiperventilasyon, Drenajlar, EDS drenajı

Resim 6: Beyin ödemi tipleri (40).

Yapılan çalışmalarda travmatik beyin hasarında oluşan ödemin başlangıç kısmı hücrel ödeme olup iyon kanallarındaki hasarlanmalara bağı olarak hücrel su geçirgenliğı artışı ve hücrel şişmeyle karakterize olup, bu durum tedavi edilmeyen durumlarda sitotoksik ödeme neden olmaktadır (41).

2.3.2. Beyin Ödeme Tedavisi

Beyin ödeminin tedavisinin temel amacı ödeme sebep olan durumu ortadan kaktır. Bu amaçla medikal ve cerrahi tedavi seçenekleri uygulanmakta olup. Cerrahi tedavilerin içerisinde hematoma boşaltılması, çökme kırık düzeltilmesi medikal tedavinin yetersiz olduğı ve herniasyon durumlarında dekompresif kraniektomiler ile sabit hacimli rijit kraniuma hacim kazandırma operasyonlarıdır. Yapılan çalışmalarda dekompresif kraniotominin büyüklüğü ile sağ kalım arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır.

Medikal tedaviler:

- 1-Fizyolojik homeostazısının sağlanması: Hastanın övolemik, normotansif ve oksijen düzeyinin normal sınırlara getirilmesi.
- 2-Bos drenajının sağlanması: İntraventriküler katater ile bos basıncının düşürülmesi.
- 3-Analjezi-sedasyon-barbiturat koması
- 4-Baş elevasyonu: Baş 30 derece elevasyona getirilerek venöz dönüş artırılır.
- 5-Diüretikler: En çok osmotik diüretik olan mannitol kullanılır.
- 6-Hiperventilasyon: Karbondiosik oranı 30-35 mmhg aralığında tutulmasına karar verilmiştir.
- 7-Hipotermi: Vücut sıcaklığı 34 derecenin altına düşürülür.

2.4. Kafa Travmalarının Biyomekaniğı

Dokuların normal koşullarda maruz kaldıkları güç şiddeti doku adaptasyonun ötesine geçmesi ve karşı koyabilme yeteneğini aşması hainde yara oluşumu gerçekleşmektedir.

Dokuların üzerindeki aşırı mekanik gücün etkisiyle, traksiyon, kompresyon, torsiyon oluşmaktadır, oluşacak olan yara ise hedef dokunun yapısına ve mekanik güce bağıdır. Kranial travmanın gücü, büyüklüğü, hızı, süresi, oluşacak olan yaranın

büyükliğini değiştirecektir. Travma mekaniğinin iyi anlaşılması kafa travmalarının teşhis ve tedavisine pozitif yönde katkı sunacaktır (54).Kafa travmalarının mekaniği temel olarak 2 ayrı başlıkta incelenir bilinir:

2.4.1. Statik yüklenme

Dinamik yüklenmeye göre daha nadir görülen bu yüklenme tipi çığ, deprem gibi doğal afetlerde kafayı sert yapılara sıkıştıran güç yüklenmesi ile ortaya çıkar. Travma süresinin 200ms'nin üzerinde olması gerekmekte olup, bu statik güç yüklenmesi sonucunda kafa kubbe ve kaide kemiklerinde çok sayıda kırık meydana gelecektir (55).

2.4.2. Dinamik yüklenme

Kafanın en çok maruz kaldığı travma şeklidir. Enerjinin süresi ne tarz bir patoloji oluşacağının en önemli faktörüdür. Dinamik yüklenmelerde kuvvet süresi 50ms'nin altındadır. 2 çeşit dinamik yüklenme olup bunlar dalga yüklenme(implusive) ve darbe yüklenmedir. Dalga yüklenmede hareket halinde kafa durur ya da duran kafa hareket etmeye başlar bu tip yüklenmede kranium herhangi bir yere çarpmaz. Sarsılmış bebek sendromu bu tip yüklenmeye örnek verilebilir. Darbe yüklenme ise dalga yüklenmeye göre de daha fazla görülecek olup en fazla görülen mekanik travma şeklidir.

2.5. Travmatik Beyin Hasar Belirteçleri

Travmatik beyin hasarı çok sık karşılaşılan ve mortalite, morbiditesi çok yüksek patolojilerden biri olmak ile birlikte tanı konulması ve prognozunun tahmini hala güç bir süreçtir. Tanı kriterlerinin net olmayışı mevcut sürecin zorlaşmasında etkili olmak ile birlikte klinik ve deneysel çalışmalar bu konuda devam etmektedir.Travmatik beyin hasarı tanımlamasında klinik belirteçler olan; baş ağrısı, bulantı-kusma, bilinç kaybı, amnezi gibi klinik tablolar meydana gelmektedir. Öte yandan radyolojik olarak röntgen, tomografi ve mrg de tanı koydurucu yöntemlerdir. Ancak klinik ve radyolojik belirteçlerin prediktif değerleri yeterli değildir. Klinik belirteçler saatler hatta günler sonra ortaya çıkabilmektedirler. Klinik ve radyolojik bulguların aksine biyobelirteçler yapan kişiden bağımsız olarak objektif sonuçlar verse de mevcut şartlar altında yeterli kullanılamamaktadırlar.

Serum biyobelirteçleri beynin dışında birçok organda da kullanılmakta olup, bunlar arasında en yaygın kabul gören CK-MB ve Troponinlerdir. Beyin hasarını göstermek beynin karmaşık ve sipesifik yapısından ötürü diğer organlara göre çok daha zor olmaktadır. Tek bir hasar tipi ve ölen tek bir çeşit hücre olmaması sebebiyle spesifik bir belirteç bulmak zordur. Beyin hasarında serum belirteçlerinin kullanılması 1970'lerde düşünülse de kullanılması 1990'lı yılları bulmuştur. En fazla kullanılan serum belirteçler S100B, Nöron spesifik enolaz (NSE), Glial fibriler asidik protein (GFAP), Myelin-basic protein (MBP) ve CTP (cleaved tau protein)'dir.

2.5.1. S100B Proteinleri

Kalsiyum bağlayıcı proteinlerin geniş bir alt tabakasını oluşturmaktadır. Düşük molekül ağırlık 21 proteinden oluşan protein grubudur. Nörodejenerasyon, diyabet, kardiyomiyopati gibi patolojilerde yükselmektedirler. S100B beyinde hakim olan S100 protein tipidir. Normalde nanomolar konsantrasyonlarda sinir büyümesini uyarır ve nöronların sağ kalımını artırır; böylece koruyucu bir faktördür. Ayrıca oksidatif strese karşı nöronların korunmasında rol oynar. Bununla birlikte beynin ekstrasellüler alanında mikromolar düzeylere ulaşır; inflamasyonu uyarır ve apoptozu indükleyerek nöron hasarına yol açar(56). Aktive edilmiş astrositlerden aşırı üretilen S100B proteini nörodejenerasyona yol açan önemli faktörlerden biridir.

S100B ile ilgili klinik durumlar:

- *IL-1 S100B miktarını arttırarak Alzheimer hastalığına yol açabilmektedir.
- *Beyin ölümü gösterilen hastalarda kanda bulunan yüksek orandaki S100B organ nakli başarısını düşürmektedir.
- *Şizofrenili hastaların kanlarında yapılan biyokimyasal çalışmalarda S100B miktarının yüksek olduğu gösterilmiştir.
- *Down sendromlu bireylerde S100B yüksekliği Alzheimer ve anormal nöron gelişimine sebep olmaktadır.
- *İskemi sonrası enfarkt alanın artmasında reaktif astroglioz ve S100B arasında ilişki bulunmuştur.
- *Gebelikte fetüsün sinir sistemi gelişiminin izlenmesinde ve pediatrik yoğun bakımlarda sinir sistemi izleminde S100B takibi önerilmektedir.

*Malign melanom tedavi ve prognozunun belirtilmesinde kullanılan bir tümör belirteçtir.

*Kardiyak cerrahilerden sonra kanda yükselebilmektedir.

*S100B p53 genini baskılayarak, mevcut genin apoptoz indüklemesini engellemektedir.

S100B gösterilmesi için yapılan rat deneylerinde açlık sırasında herhangi bir travmaya maruz kalmayan deneklerde kanda 2 kat yüksek bulunması, sadece sinir sisteminden salınmıyor olması, kan beyin bariyerinden tam olarak difüze olmadığı için serumda oranlarının net olarak gösterilememesi, kritik yoğun bakım hastalarında düşük pH, azalmış hemoglobin ve laktik asidoz sonrasında herhangi bir nörolojik hasar olmaksızın yükselmesi, serum kan düzeylerinde yükselmenin bifazik olması sebebiyle nörolojik hasarı göstermekte tartışmalıdır (57).

2.5.2. GFAP

Astrositlerin ara filamentleri olan GFAP, astroglioz durumlarında kanda yüksek miktarda bulunmaktadır. Ayrıca travmatik beyin hasarı, Alzheimer ve diğer inflamatuvar demiyelinizan hastalıklarda yüksek miktarda bulunmuştur (58).

2.5.3. MBP

18.5kDa ağırlığındaki MBP miyelin kılıfının temel proteindir, artmış posttranslasyonel modifikasyonları sonucu hem santral sinir sisteminin normal gelişiminde hem de multipl skleroz gibi hastalıklarda olan miyelin dejenerasyonunda rol aldığı gösterilmiştir (59). Multipl sklerozun patogenizinde sinir miyelin kılıfında MBP'ye karşı artmış otoantikor cevabı gözlenmiştir(60). Spinal demiyelinizasyonun en önemli göstergelerinden biri BOS da artmış MBP düzeyleridir (61).

2.5.4. NSE

NSE'nin BOS ve serum düzeylerinin santral sinir sisteminin birçok malign ve benign hastalıklarında yükselmiş olduğu gösterilmiş olup, acile inme ile gelen hastaların enfarkt alanlarında net bir korelasyonu gösterilememiştir. Acile gelen hastalarda Anand ve Stenad tarafından yapılan çalışmada NSE düzeylerinin 24 saat sonra yükseldiği gösterilmiştir.

2.5.5. CTP

Tau nöronlarının aksonlarına yerleşmiş olan bir mikrotübül ilişkili proteindir. Molekül ağırlığı 48-64 kDa arasındadır. Aksonal mikrotübüle bağlanarak onu stabilize eder.(62)

Travmatik beyin hasarı vakalarının %48'inde gelişen diffüz aksonal hasar, kafa travmasında başta gelen mortalite ve morbidite nedenlerindendir. Dikkatli incelenmezse tomografide atlanabilir. Oysaki bu olgularda BOS CTP düzeyleri aksonal hasarı yansıtacak oranlarda yükselmiş hatta CTP yükselmeleri tomografinormalken bile aksonal hasarı gösterebilmiştir(62). Shaw ve arkadaşları tarafından acile kranial travma ile gelen hastaların serum CTP'si ölçmüş ve hastaların prognozunu gözlemlemişlerdir. Tomografi ile hasarbulguları saptanan hastalarda, CTP yüksek düzeylerde kaydedilmiş ve yine CTP'si yüksek düzeylerde bulunan hastalarda hastanede yattış süresi boyunca mortal sonuçlanma oranları yüksek bulunmuştur(63). Ancak yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda hasar sonrası prognoz ile ilgili kesin bir korelasyon gösterilememiştir. Tüm biyobelirteçler arasında travma sonrasında S100B serum ve BOS düzeylerinin yüksek olmasının kötü belirteç olduğu hastaların uzun dönem kontrollerinde düşük GKS skorlarıyla saptanmıştır(64). Yüksek 100B düzeyleri ile düşük GKS skorları arasında korelasyon bulunmaktadır. Ancak biyobelirteçlerin en büyük handikaplarından birinin kötü prognoz gösteren hastalarda cutt-off değeri için fikir birliği bulunmamasıdır. Avrupada travma sonrası gelen yüksek GKS i hastalarda serumda S100B düzeyi saptanamaması durumunda tomografi tetkiki geciktirilse bile Amerika'da böyle bir uygulama yapılmamaktadır (65).

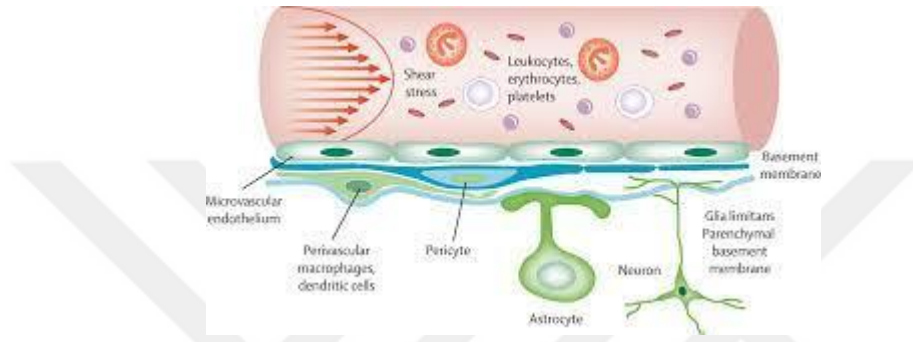
2.6. Kan Beyin Bariyeri

Yapıca endotel, perisit hücreleri, bazal amina ve astrositlerden meydana gelen kan beyin bariyeri vasküler endotel hücrelerinden oluşmuş olup; sistemik dolaşımdaki maddelerin beyin dokusuna geçmesini kısıtlamaktadır. Astrositlerin glial ayakları ve aynı zamanda kontraktıl olan ve endotel hücrelerin büyümesini kontrol eden perisitler beyin endotel hücrelerini sıkıca sararlar. Kan beyin bariyeri yapısındaki pinositik vezikül ve pencerele kapillerin olmayışı da madde geçişi kontrol mekanizmasına destek olmaktadır.

Kan beyin bariyerinin yapısındaki sıkı bağlantılar hücresele geçişi kısıtlar, ancak yağda çözünen (lipofilik) bileşikler difüzyona uğrayarak geçebilirler. Polar bileşikler ise

özel taşıyıcı proteinler ile taşınmaktadır. Kan beyin bariyerinin yapısında 20den fazla özel taşıyıcı protein bulunmakta ve serebral alana gerekli mineraller ve diğer maddeler bu yollarla taşınmaktadır(52).

Beynin sirkümventriküler organlarında(medyan eminens, area postrema, subfornikal organ, subkommissural organ, hipofiz bezi, nörohipofiz ve organum vasculosum) kan beyin bariyeri bulunmamaktadır(52). (Aşağıda kan beyin bariyerinin şematik yapısı gösterilmiştir.)



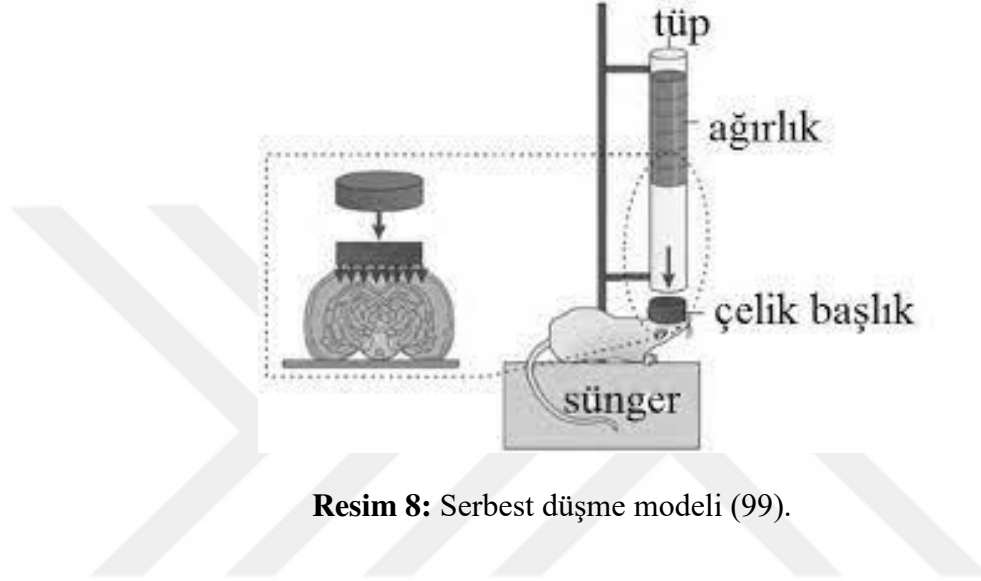
Resim 7: Kan beyin bariyeri (53).

2.7. Travmatik Beyin Hasarında Deney Hayvan Modelleri

Travma sonrası yaralanan insanların beyinlerinde moleküler inceleme yapılamaması ve kafa travması ile gelen hastada daha önceden etkisi kanıtlanmamış bir ilaç denenemeyeceği için hayvanlarda deney yapılmasını gerektirmektedir. Deneysel hayvan modellerinin kullanılmasının diğer bir sebebi ise klinik travmadaki fazların ve patolojik olayların aynısının patoloji yada tedavisini gösterecek şekilde oluşturulmasıdır. Ancak hayvan deneylerinin ise bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlardan en önemlilerinden birisi travma sonrası hayvanlarda GKS gibi skorlamaların yapılamayacak olmasıdır. Dolayısıyla hayvanlarda travmanın şiddetini değerlendirecek bir ölçüt yoktur. Herhangi bir travma modeli tam olarak insandaki travma değerlendirmesini ise karşılamamaktadır. Travmatik beyin yaralanması araştırmalarında maliyetlerinin düşük ve hacimlerinin küçük olması sebebiyle genellikle sıçanlar kullanılmaktadır.

2.7.1. Serbest Düşme Modeli:

Bu modelde 450-500 gramlık bir ağırlık 1,1.5metreden hayvanın kafatasına bırakılır. Burada oluşan travma bırakılan cismin ağırlığına ve yüksekliğine göre değişmektedir. Buna Marmarou ağırlık düşürme modeli denir(99). Bu modelde hayvanda ağır travma modeli oluşmaktadır. Mice ile uygulanan modellerde ise daha düşük ağırlıklar kullanılmaktadır.

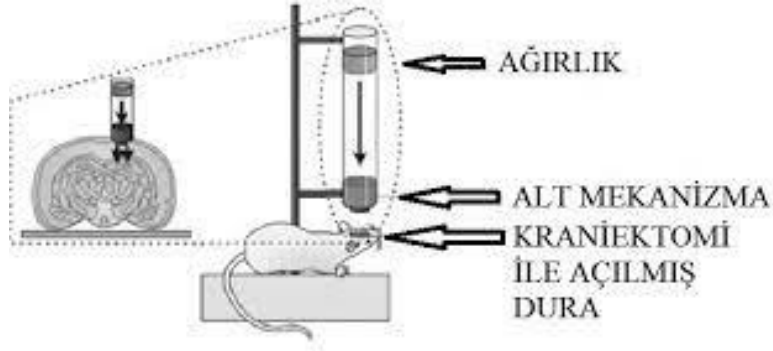


Resim 8: Serbest düşme modeli (99).

Pleksiglas bir tüpten bellir bir yükseklikten cisim düşürülerek travma oluşturulur. Hayvana anestezi verilir, orta hat insizyonu ile kafatası açılır, kranial fraktür oluşmaması için lambda ile bregma arasına paslanmaz çelik disk yapıştırılır(100). Bu modelin özelliği nöronlarda aksonlarda ve dentritlerde bilateral hasar oluşturmamasıdır. Korpus kallozum, optik sinir, internal kapsül, beyin sapı hasar gören yapılardır.

2.7.2 Direkt Beyin Travması Modeli

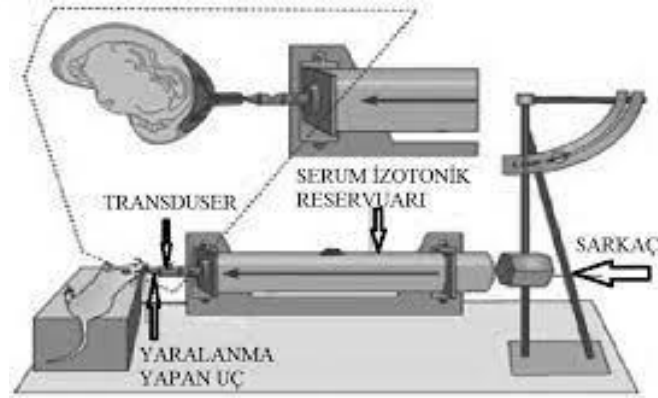
Kraniotomili yada kranitomisiz hayvanların kafasına ağırlık düşürerek travma oluşturulmasıdır. Feeney ve arkadaşlarının geliştirdiği bir sistemdir(101). Travmanın şiddeti yer çekimi ile orantılıdır. Kullanılan cismin ağırlığı ve yüksekliği travmanın şiddetini etkilemektedir(102).



Resim 9: Direkt beyin travması modeli (102).

2.7.3 Su Darbeli Travma Oluşturma Modeli

Unilateral travma oluşturulacak olan bu modelde, travma kontüzyon yapmaz. Son zamanlarda en sık kullanılan deneysel travma modelidir. Sistemdeki sarkaç pistona çarparak suyu hareketlendirir hareketlenen su ise kraniotomi yapılmış hayvan durasında travma yaratır(102).



Resim 10: Su darbeli travma modeli (102).

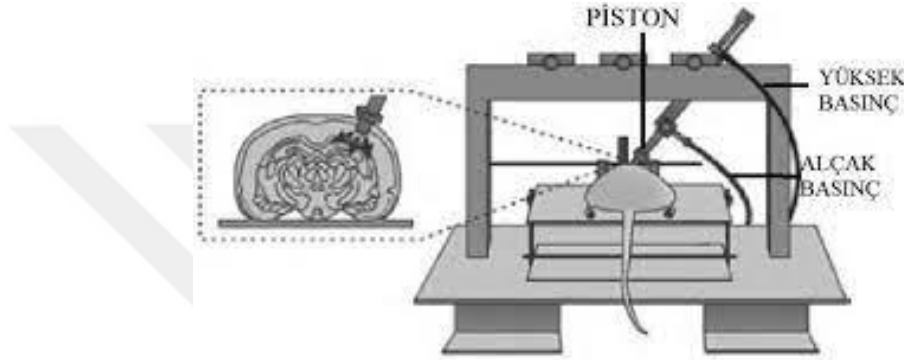
Suyun vurması ile beyin dokusunda itilime ve deformasyon oluşsa da insandaki travmada olduğu gibi kontüzyon yada fraktür gibi hasarlar oluşmaz. Bu travmada intrakranial kanama ve ödem oluşmaktadır. Daha çok spor yaralanmaları ile ilgili çalışmalarda kullanılır.

2.7.4 Momentum Değişim Modeli

Hafif travma oluşan bu modelde havalı bir piston ile travma oluşturulur.

2.7.5 Kontrollü Kortikal Vuruş Modeli

Elektromanyetik dalga yada piston ile travma oluşturulur. Darbe direk duranın üzerinde oluşturulur. Travma sonucunda akut subdural hematom, kontüzyon, hematom gibi durumlar (oluşturur). Bu yöntemde mekanik faktörün şiddeti, hızı ve derinliği kontrol edilebilir(102).



Resim 11: Kontrolü kortikal vuruş modeli (102).

2.7.6. Balistik Benzeri Delici Yaralanma Modeli

Ateşli silah yaralanmalarının aratılması için yapılan travma modelidir. Yüksek enerjili mermi ile travma oluşturulur. Bunun sonucundan beyinde bir kavite oluşur. Buradaki yaralanma kurşunun girişi şiddeti ve katettiği yol ile ilişkilidir.

2.8. Travma Sonrası Oksidatif Hasar Mekanizmaları

Travmatik beyin hasarı primer ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılmakta olup, hasar mekanizmaları hücresel düzeyde incelendiğinde her iki yaralanmada da eksitator tipte aminoasitlerin aşırı salınımının rol aldığı gözlemlenmiştir. Bu eksitator aminoasitlerin başında ise glutamat gelmektedir. Extrasellüler alanda aşırı glutamat birikimi nöronların ve astrositlerin hücre zarlarını etkileyerek iyonotropik ve metabotropik glutamat reseptörlerini aşırı uyarır. Aşırı uyarılan reseptörlerden fazla miktarda Ca^{+2} , Na^{+} ve K^{+} gibi katyonik iyonlar fazla miktarda salınırlar.

Fazla miktarda salınan Ca^{+2} fizyolojik ve patolojik apoptotik süreçlerin başlamasına, Na^{+} ve K^{+} ise hücre içi gradienti bozarak iyon kanallarının normalin dışında çalışmasına sonucu nekroz olan hücresel olaylar kaskatına sebep olmaktadır. Hücresel düzeyde iyon değişiklikleri kan-beyin bariyerinin yıkılmasına, metabolik ihtiyacın artmasına ve diğer katabolik süreçleri tetikleyerek parankimal hasara neden olmaktadır(66).

Travmatik beyin hasarına yanıt olarak oluşan reaktif oksijen radikalleri (serbest oksijen radikalleri, süperoksidler: hidrojen peroksit, nitrik oksit...) oksidatif stres oluştururlar. Serbest oksijen radikallerine karşı antioksidan sistemlerin tükenmesi durumunda serbest oksijen radikalleri aşırı miktarda bulunup hücresel peroksidasyon, DNA parçalanması, protein oksidasyonu, mitokondriyal zar parçalanması ve elektron transport zincir inhibisyonu(enerji üretiminin durması) indükler. Süperoksitlere karşı süperoksit dismutaz, katalaz glutatyon peroksidaz gibi antioksidan sistemleri koruyucu görev yapmaktadırlar(67).

2.8.1. Serbest Oksijen Radikalleri

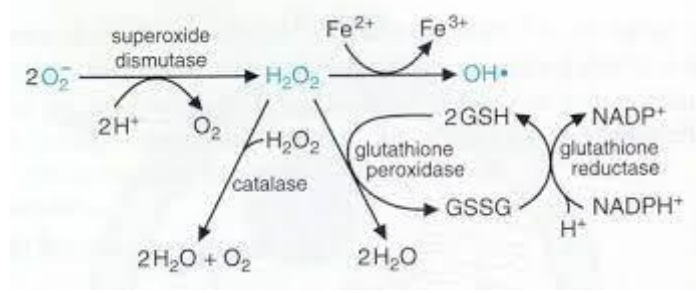
Eşlenmemiş elektron bulundurması sebebiyle kararlı durumda bulunmayan atom ya da moleküllere serbest radikal denmektedir. Elektronlar stabil atom yada moleküllerde eşlenikli halde bulunmaktadır, ancak moleküle elektron ilavesi halinde molekül reaktif yani kararsız hale geçerler. Başlıca serbest oksijen radikalleri ve yarılanma ömürleri aşağıda tabloda gösterilmiştir.

Tablo 3: Reaktif oksijen türevleri ve yarı ömürleri (68).

Tablo 3. Reaktif O_2 türlerinin tahmini yarı ömürleri

<u>Radikaller</u>	<u>Reaktif O_2 türleri</u>	<u>Yarı ömrü (sanive)</u>
• $\text{OH}^{\cdot}$	Hidroksil radikali	10^{-9}
• $\text{RO}^{\cdot}$	Alkoksi radikali	10^{-6}
• $\text{ROO}^{\cdot}$	Peroksi radikali	7
• $\text{NO}^{\cdot}$	Nitrik oksit radikali	1-10
• $\text{O}_2^{\cdot -}$	Süperoksid anyon radikali	Enzimik*
• <u>Nonradikaller</u>		
• O_2	Singlet O_2	10^{-5}
• ONOO^-	Peroksinitrit	0.05-1
• H_2O_2	Hidrojen peroksid	Enzimik*

* Özel enzimlerle temizlenirler, yarı-ömürleri bu enzimlerin varlığına bağlıdır.



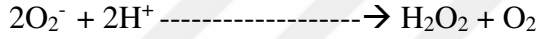
Resim 12: Reaktif oksijen türevleri dönüşümleri

Vücudun aldığı oksijenin %95 metabolik ihtiyaçlar için kullanılırken geri kalan yaklaşık %5'lik oksijen serbest oksijen radikallerine dönüşmektedir. (O_2^-) Oksijen molekülüne fazladan 1 adet elektron ilavesiyle reaktif oksijen oluşmakta olup bu reaktif molekül süper oksit dismutaz (SOD) tarafından H_2O_2 'ye indirgenerek kararlı hale dönüştürülür.

e^-

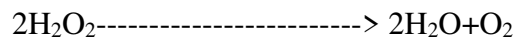


SOD

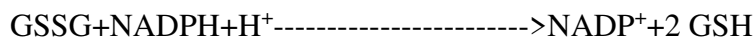
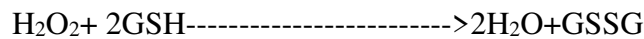


Oluşan H_2O_2 serbest elektron içermediğinden tek başına serbest radikal değildir, katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından toksik olmayan su ve indirgenmiş glutatyon (GSSG)'ye dönüştürülür. İndirgenmiş glutatyon ise NADPH ile birleşerek glutatyon dönüşür.

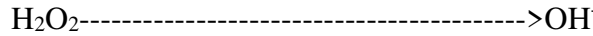
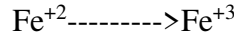
katalaz



GSH-Px



H₂O₂ geçiş metallerin varlığında fenton reaksiyon ile toksik OH radikaline dönüşür. H₂O₂'nin indirgenebilmesi için ortamda Fe⁺² ve Cu⁺² gibi geçiş metallerinin olması gerekmektedir. Bu metaller hücrede serbest halde bulunmazlar. Bakırın serum depo formu serruplazmin, demirin serum depo formu ise transferindir. Serumda bakır ve demirin serbest halde bulunmaması da vücudun antioksidan metabolizmasına katkı sağlamaktadır(69).



Hidroksil iyonu çok reaktif ve çok toksik bir iyondur, büyük molekü yapısı ve yüksek elektronegativitesi sebebiyle DNA, protein, karbonhidrat gibi yapısal moleküller ile etkileşime girerek bu maddeleri içeren hücrel moleküllerde oksidatif stres oluşturarak zarar vermektedir. Makromoleküllerin hücrelerde kısıtlı miktarda bulunduklarından zarar görmeleri oldukça önemlidir(70).

Oksidatif hasar organizmada oluşan toksik oksijen türevi metabolitlerin neden olduğu hücre, doku ve organ hasarını tanımlamaktadır. Başlıca oksidatif hasar parametreleri; karbonil tayini proteinlerin oksidatif hasarını gösterir, malondialdehit (MDA) lipidlerin oksidatif hasarını gösterir ve 8-okso,dihydro-2-deoksikuanosin tayini ise DNA hasarını göstermekte kullanılır.

Serbest oksijen radikalleri vücutta endojen olarak oluşturulabildiği gibi hava kirliliği, radyasyon, petisitler gibi ekzojen faktörler sebebiyle de oluşabilmektedirler. Reaktif oksijen moleküllerinin iskemi-reperfüzyon hasarı, artrit, Alzheimer, tümör oluşumu gibi birçok hastalıkta hasar oluşmasına sebep olduğu gösterilmiştir. Antioksidan maddelerin kullanımının serbest oksijen moleküllerinin oluşturduğu patolojiye karşı koruyucu etkisi birçok klinik çalışmayla gösterilmiştir. Nörolojik hasar oluşturan serbest oksijen radikallerine karşı kullanılacak olan antioksidanın kan beyin bariyerini geçebilir olması elzemdir(71). Serbest oksijen radikallerinin yüksek reaktivite seviyesinden ötürü hücre zarında bulunan yağ asitleri, DNA nükleotidleri ve proteinler ile reaksiyona girerek bunlara hasar vermektedirler. Yapılan deneylerde serbest radikallerin DNA nükleotidlerine olan hasarı PARS enzimi aktive edip DNA sarmalında kırılmaya sebep olarak yaptığı gözlenmiş olup PARS enzim inhibisyonun enflamatuvar hastalıklara karşı koruyucu özellik gösterdiği belirtilmiştir(72).

2.8.2. Endojen Antioksidan Elemanlar

Serbest oksijenlerin çok toksik olduğundan önceki kısımlarda bahsedilmiş olup, radikallerinin oluşma mekanizmasının inhibisyonu hasarlanmanın önlenmesi açısından çok önemlidir.

SOD enzimi hidrosil iyonunu H_2O_2 ye dönüştürerek serbest oksijen metabolizmasının ilk basamağını inhibe etmektedir. Oluşmuş olan H_2O_2 ise katalaz enzimi tarafından metabolize edilerek su ve oksijen molekülüne dönüştürülür. Vücutta serbest demir ve bakırın bulunmaması da fenton reaksiyonuna engel olmakta ve böylece serbest oksijen radikallerinin oluşması engellenmektedir. E vitamini lipitten zengin olan yapılarda (hücre zarı), C vitamini ise su bazlı ortamlarda antioksidan görevi görmektedirler. Diğer antioksidanlara örnek verilecek olursa; a-lipoik asit, ürat, glutatyon-GSH, karotenoidler, flavonoidler ve melatonin verilebilir.

Beyin, kan beyin bariyeriyle korunmasına rağmen yapısal olarak demirden, askorbik asitten, yağ asidinden zenginliği ve antioksidan kapasitesinin azlığı sebebiyle antioksidanlara karşı çok duyarlıdır. Antioksidanlar travmaya bağlı primer ve sekonder hasarda yara oluşumunu engelleyeceği birçok çalışmada gösterilmiştir(73).

2.9. Travmatik Beyin Hasarı Sonrası Hücre Ölüm Mekanizmaları

Travmaya uğramış ve normal fonksiyonlarını yerine getiremeyen hücrelerin ortadan kaldırılması santral sinir sisteminin normal gelişimi ve fonksiyonlarını sürdürmesi için elzemdir. Aşırı hücre kaybı ise akut ve kronik nörodejeneratif hastalıkların temelini oluşturmaktadır. Travmatik beyin hasarından sonra 2 çeşit hücre ölümü tanımlanmış olup bunlar programlanmış hücre ölümü olan apoptozis ve enerji gereksinime gerek olmayan nekrozdur. Apoptozis, travmatik beyin hasarı sonrası nöronal hücre ölümünde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (42).

2.9.1. Apoptozis

Hücrelerin programlanmış bir şekilde ölümü veya intiharı olarak tanımlanmakta olup, enerji gereksinimi olan bir süreçtir. Fizyolojik bir durum olan apoptozisin işlev bozukluğu beraberinde birçok patolojiye ve hastalıklara sebep olmaktadır(43).

Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi tarafından yapılan en son güncellemede, hücre ölümü alt tipleri sınıflandırmasına birçok apoptotik ve nekrotik hücre ölüm tipi dahil edilmiştir. Bunlar; intrinsik apoptoz, ekstrinsik apoptoz, mitokondriyal geçirgenliğe bağlı nekroz, nekroptosis, ferroptosis, piroptosis, parthanatos, entotik hücre ölümü, netotik hücre ölümü, lizozom bağımlı hücre ölümü, otofaji bağımlı hücre ölümü, immünojenik hücre ölümü, hücre senesens ve mitotik katastrofidir(44).

Nekroz ve apoptozisin ayrımını yapmak çok önemli olup ikisi arasında etiyolojik olarak birçok farklılık bulunmaktadır, apoptozis nedenleri arasında HIV, büyüme hormon eksikliği, radyasyon tümör hücreleri, kanser ilaçları, sitotoksik t hücreleri ve orta şiddetli oksidatif stres.(şiddetli oksidatif stres nekroz yapmaktadır). Nekroz nedenleri arasında ise hipoksi, hipertermi viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, iskemi bulunmaktadır (45).

Apoptoz ve nekrozun mikroskopta morfolojik olarak karşılaştırılmasında ise; apoptoziste hücre ölümü sırasında halo bulunurken, nekrozda hücre membran kaybı, endoplazmik retikulum dilatasyonu, hücre ve organellerin şişmesi gözlemlenir. Apoptoziste ise hücre küçülür, membranlar hasar görmez kromatin iplikleri çekirdek etrafında toplanır en sonunda ise morfolojik olarak hücre organelleri membran ile kaplı küçük apoptotik cisimciklere dönüşür.Nekrozda hücreler gruplar halinde ölürken ve enflamasyon görülürken apoptoziste hücreler tek tek ölür ve enflamasyon bulgusu gözlenmez. Apoptozis fizyolojik ve patolojik olarak gelişebilir. Fizyolojik apoptozise endometiriyumun dökülmesi, yara iyileşmesi sonrasında inflamatuvar hücrelerin ortadan kaldırılması(kaldırılmazsa patolojik skar dokusu gelişerek fonksiyon kaybı oluşacaktır), embriyogenez sırasında fetüsün el ve ayak parmak arasındaki perdelere kaldırılması örnek verilebilmektedir(46).

Apoptotik Yolaklar:Patolojik ve fizyolojik apoptoziste başlıca 5 farklı yolak kullanılır. Bunların en yaygın olarak bilineni metabolik ve hipoksik stres ile tetiklenen intrinsik yolak ve ölüm ligandları olarak bilinen Fas-L ya da tümör nekroz faktörü- α gibi dış uyaranlar ile tetiklenen ekstrinsik yolaklardır. Bu iki yolağın dışında p53 ile aktive edilen kaspaz 2 bağımlı yolak, kaspazı doğrudan aktive eden granizim b yolağı, DNA fragmentasyonu ile başlayan granizim a yolağıdır(47).

İntrinsik apoptoz: Mitokondriyal hasara, organel hasarlanmalarına, sinyal yolak patolojilerine ve büyüme faktörü yoklukları gibi durumlarda aktive olmaktadır. Bu uyaranlar sebebiyle hücre içi kalsiyum artar, ph azalır, bcl-2 gen ekspresyonunu başlatarak

apoptozisi indükler. Apoptozisin indüklenmesinde kalsiyum gibi iyonlar, p53 gibi genler ve başlarında mitokondirinin olduğu organeller görev almaktadırlar(48). Bcl-2 proteini hem apoptotik hem de antiapoptotik yolda görevli olup, apoptotik yolda primer olarak mitokondiri aktivasyonunda görevlidir. Hücrenin yaşamaya devam etmesi yada apoptotik yolağa girmesi bcl-2 gen aile üyeleri arasındaki dengeye bağlıdır. Heterodimer olan bcl2/bax oranı hematolojik malignitelerde prognostik faktör olarak kullanılmaktadır. Bugüne kadar 25 bcl-2 ailesi üyesi tanımlanmıştır gruplar arasındaki ayırım ise bcl-2 üzerinde bulunan BH bölgeleriyle yapılmaktadır. 5 farklı BH bölgesi olup apoptoziste görevli olan BH ise BH3'tür. Bcl-2 proteini mitokondri üzerindeki BAX/BAD proteinlerini inaktive ederek apoptozisi önlerler. Aynı zamanda Bcl-2 proteini mitokondri üzerindeki BAX,BOK ve BAK gibi proteinleri aktive ederek mitokondiryal zar geçirgenliğini artırır böylece proapoptotik yolda görevlenmiş olurlar.Diğerlerinin aksine sadece BH3 ihtiva eden Bcl-2 grubu direk olarak mitokondrideki proapoptotik olan BAX ve BAD proteinlerini aktive ederek apoptozisi başlatır(49). Expresse olan BAX/BAD proteinleri APAF proteinleri ile birleşerek proapoptotik yoldaki görevlerini yerine getirirler.

İntirinsk apoptozis yolunun ana adımı MOMP artmasıdır, MOMP artmasıyla sitokrom C sitozele salınır serbest kalan sitokrom C ise Apaf-1 Kaspaz 9 aktivasyonunda görevlidir. Sitokrom C, Apaf-1, kaspaz-9 ve ATP'den oluşan komplekse apoptozom denilir. Apoptozom'un oluşması ile birlikte kaspaz kaskadı başlatılmış olur.

Ekstrinsk apoptoz: Ekstrinsk apoptotik yol doğal öldürü hücreler(NK), makrofajlar ve t hücrelerinin hücre zarındaki ölüm reseptörlerine bağlanmasıyla başlar. Fas ve tümör nekroz faktör reseptörleri intrensik proteinlerdir. Fas-L ve tümör nekroz alfanın bağlanması ile prokaspaz 8 kaspaz 8e dönüşerek ekstrinsik apoptotik yolak başlamış olur(50). Ölüm reseptörleri; CD95 (Fas/APO-1), TNFR1, DR3 (APO3), DR4, DR5 (TRAIL R2) ve DR6'dır. Hücre ölüm sinyalleri hedef hücre zarı üzerindeki TNF'den oluşan ölüm reseptörlerine bağlanarak etkisini göstermektedir. Apoptotik ligandların aktivasyonu sonucunda prokaspaz 8 ve prokaspaz 10 ilgili proteinlere bağlanarak kaspaz8 ve kaspaz 10 aktivasyonunu sağlar, aktive olan kaspaz 8 ve 10 ise apoptozis devam ettirici kaspazlar olan kaspaz3-6 ve kaspaz 7yi aktive ederler. Öldürücü kaspazlar olan kaspaz3 kaspaz6 ve kaspaz 7 aktivasyonu ile birlikte hücre iskeleti yok edilmesi başlamış olur. Ayrıca intrinsik yolakta da görevli olan kaspaz 8 mitokondirden sitokrom c salınımını sağlayarak intrinsik yolağı aktive etmiş olur.Travmatik beyin hasarını takiben apoptozise

giden astrosik hücreler erken postravmatik dönemde, yeterli ATP varlığında hücre olarak sağlamdılar. Primer travmayı takiben saatle ve günler içerisinde apoptozis belirgin hale gelmektedir. İnterlökin ailesinden olan kaspazların aktivasyonu ile apoptozisin indüklendiği gösterilmiştir.(51)Apoptozis sırasında önemli rol oynayan sistein-proteaz grubu enzimlerdir. Tam olarak açılımları Cysteine Aspartate Spesific Protease'dır.

2.9.2. Nekroz

Organizmada enerji bağımsız bir şekilde ve geri dönüşümsüz olarak hücre ölmesine nekroz denmektedir. Eksitör aminoasitlerin aşırı salınımı ve metabolik yetersizlikler ile birlikte, şiddetli mekanik ve iskemik travmaya maruz kalan hücreler nekroza uğramaktadırlar. Travmayı takiben hücre zarı fosfolipazlar, proteazlar ve lipiperoksidazlar aracılığıyla otolize uğrar. Bu durumla birlikte nekroz bölgesindeki hücreler normal fonksiyonlarını göremezler. Nekrozda 2 adet temel olay ile nekrotik değişiklikler başlar bunlar hücrelerin denatürasyonu ve protein denatürasyonudur.

Nekrozda Mikroskobik Değişiklikler:

1.Sitoplazmadaki Değişimler:

- a) Sitoplazmadaki glikojenin tükenmesi
- b) Sitoplazmanın eozinofilik boyanması.
- c) Sitoplazmolizis
- d) Sitopazmanın boyanamaması

2.Çekirdekteki Değişimler

- a) Piknozis: Hücre çekirdeğinin büzüşmesidir.
- b) Karyoreksis: Çekirdek membranının yırtılması ve kromatinin ince küçük bazofilik granüllere ayrılarak stoplazma içine dağılmasıdır
- c) Karyolizis: Ölü hücrenin lizozomlarından açığa çıkan enzimlerle (nükleazlar) çekirdek kromatininin erimesidir

Nekroz çeşitleri:

- 1-Koagulasyon nekrozu
- 2-Kazeifikasyon nekrozu

3-Likefaksiyon nekrozu

4-Yağ nekrozu

5-Fibrinid nekroz

2.10. Melatonin Genel Özellikleri ve Travmatik Beyin Hasarındaki Rolü

Melatonin latince çam kozalağı(pinealis) anlamına gelen pineal bezden salınmakta olup, Yunanca siyah anlamına gelen ‘‘melas’’ ve iş anlamına gelen ‘‘tosos’’ kelimelerinin birleşmesiyle oluşmuştur.

Pineal Bez:

Pineal bez omurgalıların beyinde yer alan serotonin bir türevi olan melatonin üreten, vücutta uyku uyanıklık modülasyon kalıplarını üreten ve mevsimsel fonksiyonları etkileyen kırmızı-gri renkte bezdir. Pineal bez posterior komissür ve dorsal habenular kommissür arasında, 3. Ventrikü posterior duvarına yapışıktır. Erişkin insanda ortalama ağırlığı 100-180mg’dır. Embryolojik olarak 3. Ventrikülün arka üst kısmından (prosencephalon) gelişir ve bu bölgeye pineal sap ile bağlı kalır. Pineal bezin beslenmesi posterior serebral arterin medial posterior choroidal arterin dallarıyla olmaktadır. Vücutta böbrekten sonra en çok kanlanan ikinci organdır. Venöz dolaşımı intraserebral ve aracılığıyla olur. Süperior servikal gangliyondan sempatik inervasyon alır. Pineal bez bölgesinde kan beyin bariyeri bulunmaz. Ana hücre tipi melatonin salgılayan pinealosittir. Pinealositler melatonin salgıladıkları gibi kana salmakta olur herhangi bir depolama işlevi görmezler.

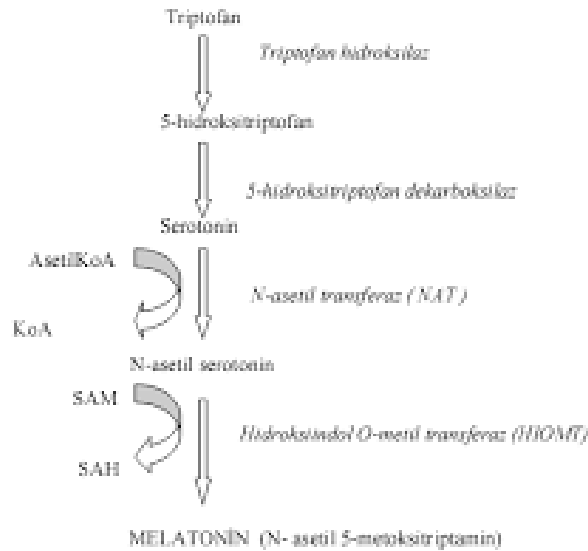
2.10.1. Melatonin Sentezi

Fotoreseptörlerce alınan karanlık bilgisi monosinaptik retinohipotalamik yol ile hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdeğe gelir, suprakiazmatik çekirdek sirkadiyen ritm ile çalışmaktadır. Suprakiazmatik çekirdeğe gelen impluslar daha sonra paraventriküler çekirdeğe(PVN) geçer oradan da medial ön beyin ve retiküler formasyonda birleşerek omiriliğin intermediolateral çekirdeğine giderler. Buradan sempatik sinir sisteminin preganglionik adrenerjik sinirleri ile alınan uyarılar süperior servikal gangliona (SCG) götürülür. Superior servikal gangliyondan kaynaklanan son sempatik bilgi ise pineal beze ulaşır. Sempatik uyarı pineal bezin parankim hücreleri üzerindeki terminallerde günlük karanlık-aydınlık değişimlerine göre ritmik şekilde norepinefrin salgırlar. Salgılanan

norepinefrin pineolist membranındaki B-adrenerjik reseptörlerce tanınır ve buna bağlı olarak siklik nükleotid sistem uyarılır.

Melatonin sentezinin ana maddesi esansiyel bir aminoasit olan ve yalnızca dışardan besinlerle alınan triptofandır. Triptofan pineal bez tarafından plazmadan alındıktan sonra pinealositlerde triptofan hidroksilaz ile hidroksillenerek 5-hidroksitriptofana dönüşür. 5-Hidroksitriptofan seratonin melatonin bezindeki ilk ara metabolit olup kan-beyin bariyerini kolayca geçebilir. Triptofan hidroksilaz enzimi ise seratonin üretiminin hız kısıtlayıcı basamağıdır. Triptofan hidroksilaz enziminin BH₄ ve O₂'yi kofaktör, B6 vitaminini de koenzim olarak kullanır. 5-Hidroksitriptofan 5-Hidroksitriptofan hidroksilaz enzimi aracılığı ile karboksil grubunu kaybederek 5-Hidroksitriptamine (Seratonin) dönüşür. Seratonin kan beyin bariyerini geçemez. Seratonin NAT aracılığıyla asetillenerek N-asetilseratonine dönüşür. N-asetilseratonin ise HIOMT ile N-asetil 5-Metoksi triptamine yani melatonine dönüşür(74).

Yapılan hayvan deneylerinde melatonin sentezinde hız kısıtlayıcı olan NAT aktivitesinin karanlıkta pik yaptığı gösterilmiştir. Ayrıca karanlıkta pineal bezi inerve eden sempatik zincirin, norepinefrin ile artan cAMP'nin den NAT aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (75).



Resim 13: Melatoninin sentezlenmesi

Melatonin pineal bezin dışında safra kesesinden ve gastrointestinal sistemden de sentezlenmekte olur. Nöroepileptikler, noradrenalin uptake inhibitörleri ve seratonin reuptake inhibitörleri tarafından seratonin salınımı arttırılır, seratonin salınımını azaltanlar ise triptofan eksikliği, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar monamin tüketen ajanlardır. Pineal bezin dışında sentezlenen melatoninin kan düzeyleri ihmal edilebilecek kadar azdır. Pineal bez kan dolaşımındaki melatonin %80'ni salgılar(76).

2.10.2. Melatonin Reseptörleri

Üç ana grupta tanımlanan melatonin resesptörleri:

MT1: Yüksek afinite, sirkadiyen ritimden, serebral arter kontraksiyonundan, üreme işleminden, renal fonksiyonlardan sorumludur.

MT2: Düşük afinite

MT3: Guanin redüktaz ailesi üyesi(yeni bulunan reseptör grubu)

Afobazole ve luzindole bilinen melatonin agonistleridir.

2.10.3. Melatonin Farmakokinetiği

Kandaki melatonin %60'ı albümine bağlı olarak bulunur. Melatonin yarı ömrü 3-45 dakika arasında değişmektedir. Yağda yüksek oranda çözülen melatonin suda ise sınırlı miktarda çözünür. Melatonin karaciğerde metabolize olarak 6-sülfatoksimelatonine dönüşerek idrar ile atılır. İdrarda gösterilecek olan 6-sülfatoksimelatonin serum konsantrasyonu ile yakın ilişkilidir.

Melatoninin gece konsantrasyonları gündüz konsantrasyonlarının yaklaşık 10 katıdır. Salınımı genellikle 22'de başlamakta olup, 02-04 saatleri arasında miktarı pik yapmaktadır. 07-09 Saatleri arasında ise azalmaya başlar. Salgılanma hızı 29mg/gün'dür.

2.10.4. Melatonin Etkileri

2.10.4.1. Melatonin ve İmmun Sistem

Melatonin az salınmasının hem humoral hem de hücrel bağışıklığı azalttığı gösterilmiştir. Maestroni ve arkadaşları tarafından sürekli ışık altında tutulan farelerin immün sisteminin baskılandığı bulunmuş olup(77) Wichman ve arkadaşları farelerde

yumuşak doku travması ve hemorajik şokun immun baskılayıcı etkisinin melatonin ile geri çevirdiğini bulmuştur(78).

Pinealoktomili farelerde immun sistemin baskılandığı, timuslarının atrofik olduğu ve dalak boyutlarının küçüldüğü görülmüş olup bu farelere oral yoldan melatonin verilmesi ile bu bulgular düzelmiştir(79). Mevsimsel çalışmalarda kısa günlerde lenfosit mitojen ve splenosit proliferasyonun artırarak dalak ve timus büyüklerinde artış olduğu gösterilmiştir. Yaşlı fareler oral melatonin verildiğinde timus ve t lenfosit aktivitesi görülmüştür(80).

Melatonin MT1 reseptörü üzerinden sağlıklı hücrelerde apoptozisi azalttığı gösterilmiştir. İnsanlarda 10 gün oral 10mg melatonin verildiğinde tükürükteki IgA miktarının arttığı görülmüştür. Başka bir çalışmada idrardaki melatonin düzeyi yüksek insanların tükürüklerinde daha fazla IgA bulunmuştur. Stress, viral hastalık, kortikosteroid ve ilaç kullanımı, travma, hemorajik şok, yaşlanmaya bağlı immun sistem hasarlarının melatonin ile önlenebileceği gösterilmiştir.(81) Melatonin immun modülasyonu doz bağımlı olup 100mg/kg'dan fazla alınımında antikor oluşumunu baskılamaktadır. Bunu ise reseptöre down regülasyon yaparak yaptığı bulunmuştur(82).

2.10.4.2. Melatonin ve Kanser

Melatonin kalmoduline reseptörlerine yüksek afinite göstererek bağlanır böylece kalsiyum kalmoduline birleşmesi engellenir, kalmodulin kalsiyum ayrışması hücre siklusunu yavaşlatarak bölünmeyi geciktirir, bu mekanizmayla tümöral hücrelerin büyümesinin engelleneceği ileri sürülmüştür(82). Geceleri ışık altında çalışan kadınlarda yapılan bir çalışmada melatonin düzeylerinin düşük olduğu, kanser insidansının ise arttığı gözlenmiştir(83). Gecelerin uzun sürdüğü kış aylarında ve coğrafi konumlarda melatonin üretiminin arttığı ve kanser insidansının ise düşük gözlendiği görülmüştür.

2.10.4.3. Melatoninin Antioksidan Etkisi

Melatonin suda ve lipitte yüksek çözünebilen yapısı sayesinde tüm hücre içi yapılara rahatlıkla girmektedir, hücre zarının çekirdeği ve organelleri etkin bir şekilde oksidatif hasara karşı koruyabilmektedir. Hücre zarının dış yüzeyine bağlanarak oksijen radikallerinin bağlanmasını engeller. Mitokondoriyal solunum sonucunda oluşabilecek olan serbest oksijen, hidrojen peroksit, hidroksil gibi serbest radikallerin oluşumunu azaltarak antioksidan özelliğini gösterir. Çekirdeğe kadar ulaşabilmesi sayesinde DNA'nın oksidatif strese karşı korunmasını sağlar(84).

Melatonin pro-oksidatif olmayan ve kolayca oksitlenemeyen yapısından ötürü redoks döngüsüne, radikal üreten reaksiyonlara girmez(85). Doğal oksidan olan melatonin OH radikalini nötralize etme yeteneği glutatyondan 5 kat, peroksiti radikalini yok etme yeteneği ise E vitamininden 2 kat fazla olduğu gösterilmiştir(86).

Melatonin yapısı ötürü diğer antioksidanlardan farklıdır. Diğer antioksidanlar antioksidan etkilerini gösterdikten sonra prooksidan maddelere dönüşürler(E vit, C vit, B-karoten...)Ancak melatonin antioksidan özelliğini gösterdikten sonra oluşturacağı metaboliti de antioksidan özelliği göstermektedir. Bu özelliğe “terminal antioksidan” denir ve bir antioksidan için çok değerlidir(84).

Melatonin esansiyel bir madde olan linoleik asitin kanserli hücre içine girmesini engelleyerek, kanseri hücrenin enerji metabolizmasını bozar(87).Melatonin nöral dokularda beyinde preoksitleri ortadan kaldırmakta primer olarak görevli olan glutatyon peroksidaz enzim aktivitesini arttırarak da antioksidan özellik göstermektedir(88).Sonuç olarak melatonin antioksidan enzimleri uyardığı, lipit peroksidasyonunu engellediği ve beyin dokusunun oksijen kaynaklı serbest radikallerden koruduğu gözlemlenmiştir(89).

2.10.4.4. Melatonin ve Uyku

Melatonin uyku üzerindeki etkisini hipotermik etkisi ile yaptığı ve uykunun başlangıcı, kalitesi ve latent evresinde etkili olduğu gösterilmiştir. Uykunun süresi ile bir etkisi gösterilememiştir. Melatonin salgısı için uykunun şart olmadığı karanlık bir ortamın yeterli olduğu gösterilmiş olup, karanlıkta melatonin salınımı vücut ısını düşürerek (vazdilatasyon ile) uyku hissini oluşturduğu gösterilmiştir. Melatoninin uyku getirici etkisi hipnotik değildir.Melatonin verilen bireylerde yapılan EEG ölçümlerinde alfa dalgalarında artış olduğu gösterilmiştir. Uyku bozukluğu olanların serum melatonin düzeylerinin bozukluk olmayanlara göre daha düşük çıktığı gösterilmiş olup, günlük 5mg oral melatonin alan bireylerin REM uyku süresinin ve uyku kalitesinin arttığı gözlenmiştir(90).

55 Yaş üstü hastalarda yapılan çalışmalarda melatonin düzeylerinin düşük olduğu ve bunun uyku kalitesini azalttığı saptanmış olup, gece 2mg verilen melatonin uyku kalitesini arttırdığı ancak toplam uyku süresini ise değiştirmedeği gösterilmiştir(91).

2.10.4.5. Melatonin ve Psikiyatrik Rahatsızlıklar

Her gün 200mg melatonin verilen psikiyatrik rahatsızlıkları olan hastaların rahatladığı gözlenmiştir(92). Fotoperiyodik hipoteze göre kış mevsiminde uzun gecelerin mevsimsel affektif bozukluğa sebep olduğu gözlenmiş olup aynı hastaların yazın remisyona girdiği gözlenmiştir. Mevsimsel affektif bozukluğun parlak ışıkla tedavi edilmesi bu hipotezi desteklemektedir. Başka çalışmalarda ise depresyonda olan hastaların melatonin seviyelerinin düşük olduğu gösterilmiştir(93). Çalışmalar depresyondaki hastaların tedavilerinde kullanılan melatonin hastalarda uyku düzenlemesi yaparak depresyon belirtilerini azalttığı gözlemlenmiştir. Ancak depresyonda kullanılacak olan melatonin antidepresanlar gibi gün boyu kullanımının depresyon semptomlarını artırarak hastaları daha kötüye götürdüğü gösterilmiştir. Bu sebeple melatonin sirkadiyen ritm göz önünde bulundurularak kullanılması tavsiye edilmiştir(94-95). Antidepresan ilaçların seratonin ve norepinefrini artırarak melatonin artışı yaptığı ve bu sebeple uyku yapabilecekleri gösterilmiştir.

Bipolar olan hastaların serum melatonin düzeylerinin düşük olduğu ve bu hastaların manik dönemlerindeki serum melatonin düzeylerinin depresif dönem düzeylerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır(96-97). Şizofreni olan hastalarda serum melatonin düzeylerinin düşük olduğu ve sirkadiyen ritm bozukluklarına rastlanmıştır. Erbaş ve arkadaşları tarafından intihara meyilli olan kişilerde yüksek düzeyde bulunan IL-2' nin melatonin supresyonu yaparak depresyonu ve intihara meyili arttırdığı gösterilmiştir.

2.10.4.6. Melatonin Nörodejeneratif Olaylara Etkileri

Yapılan çalışmalar yaşla artan nörodejenerasyona karşı melatonin koruyucu olduğu ancak melatonin ise yaşla birlikte azaldığı bunun ise nöronal apoptozisi arttırdığı gösterilmiştir(98). Erbaş ve arkadaşları yaptığı çalışmalarda sepsisli hastalarda oluşan inflamasyon ve sitokine bağlı nöropatinin melatonin tarafından engellendiğini çekal perforasyon ile sepsise soktukları sıçanlarda göstermişlerdir. Melatonin kan beyin bariyerini koruduğu ve subaraknoid kanamaya bağlı beyindeki oksidatif stresi önlediği gösterilmiştir. Melatonin nörolojik skorlarda gelişme sağladığı gösterilmiştir. Melatonin serebral kan akımını değiştirerek migren üzerinde etkili olabileceğine dair çalışmalar

bulunmakta olup migren atağı geçiren kişilerde serum melatonin düzeyi düşük bulunmuştur. Melatonin ile kortizol düzeyleri arasında ters orantı olduğu gösterilmiştir.

2.10.4.7. Melatonin ve Apoptoz

Melatonin sağlıklı hücrelerde apoptozu engellediği, tümöral hücrelerde ise apoptozu arttırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu etkisini kalsiyum kalmodulin ayrışması yaparak yaptığı söylene de bu konuyla ilgili tam bir görüş birliği sağlanamamaktadır. Biz ise bu deneyimizde melatonin apoptozisin hangi aşamasında etkilediğini göstermeye çalışacağız.



3. Materyal ve Metod

3.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Deneyin Düzenlenmesi

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM) bünyesindeki Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu (HAYDEK) gerekli izinler alınarak gerçekleştirilmiştir (izin no: 2020/34). DÜSAM'dan temin edilen ağırlıkları 30 ile 50 gr arasında değişen 21 adet yetişkin dişi fare 3 gruba (Kontrol, TB, TB+Melatonin) ayrıldı. Hayvanlar deney süresi boyunca standart yem ve suya ad libitum erişim sağladı. Deney hayvanları 12 saat'lik gece-gündüz periyodunda muhafaza edildi ve ünitenin oda ısısı 21 ± 3 °C'ye nem oranı ise $\%50 \pm 5$ 'e ayarlandı. Deneysel protokol hayvanlar gruplarına ayrıldıktan sonra bir hafta süreyle gerçekleştirilen adaptasyon prosedüründen sonra gerçekleştirildi.

3.2. TBH Modelinin Oluşturulması ve Deneyin Sonlandırılması

Deneyde kullanılan serbest ağırlık düşme düzeneği, travma oluşturulmuş nazal kanama gözlenen farenin ve sakrifikasyon sonrası beyin dokularının görüntüleri Resim 14-17 arasında gösterilmiştir. Deneyde oluşturulan gruplardan kontrol grubundaki hayvanlara herhangi bir uygulama yapılmadı ve hayvanlar deney sonunda sakrifiye edilerek beyin ve kan dokuları alındı. Travma ve Travma+Melatonin grubundaki hayvanlar Ketamin ve Ksilazin ile genel anestezi altına alındıktan sonra hazırlanan serbest ağırlık düşürme aparatı vasıtasıyla travmatik beyin hasarı modeli oluşturuldu. Travma grubundaki hayvanlarda hasar oluşturulduktan 30 dakika sonra 0,1 ml serum fizyolojik intraperitoneal yolla (i.p.) uygulandı. Travma +Melatonin grubundaki hayvanlara ise hasar modelini oluşturduktan 30 dakika sonra absolute ethanol içerisinde çözünmüş ve taze hazırlanmış 10 mg/kg melatonin (Katalog no: M5250-1G - Sigma-Aldrich St. Louis, MO, A.B.D.) hazırlandı ve 9 kat izotonik ile sulandırıldı. Bu şekilde $\%10$ alkol içeren süspansiyon hazırlanmış oldu ve hazırlanan melatonin çözeltisi i.p. yolla uygulandı. Hayvanlara hasar oluşturulduktan 30 dakika sonra uygulamalar yapıldı ve enjeksiyonu takiben 1 saat sonra hayvanlar dekapite edilmek koşuluyla sakrifiye edilerek beyin dokuları alındı. Bütün hayvanların beyin dokuları tamponlanmış $\%10$ 'luk nötral formalin içerisinde fiksasyona tabi tutuldu. Elde edilen kan örnekleri santrifüj edilerek serumları çıkartıldı ve daha sonraki analizler için -80 °C'lik laboratuvar tipi derin dondurucuda muhafaza edildi. Formaldehit fiksasyonu

uygulanan beyin doku örneklerine histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmelerin yapılması amacıyla rutin doku takibi uygulandı.



Resim 14: Deney Düzeneği.



Resim 15: Kontrol grubunda exise edilmiş normal beyin görüntüsü.



Resim 16: Travma grubunda nasal kanamalı fare görüntüsü.



Resim 17: Travma grubunda exise edilmiş beyin görüntüsü.

3.3. Rutin Doku Takibi

Toplanan total beyin dokuları 24 saatlik fiksasyon sonrasında 12 saat süreyle akar çeşme suyu altında yıkandı ve artan alkol serilerinde (%70, 80, 90 96, 100) birer saat süreyle dehidre edildi. Daha sonra iki seri ksilen ile şeffaflandırılan örnekler 1:1 ksilen

parafin karışımı içerisinde 2 saat süreyle parafin infiltrasyonuna maruz bırakıldı. İnfiltrasyon 56 °C'ye ayarlı inkübatör içerisinde gerçekleştirildi ve bu sürenin sonunda kirli parafin uzaklaştırılarak temiz parafin ile 1 saatlik infiltrasyon tekrarlandı. Daha sonra doku örnekleri parafin bloklara gömülerek kesit alınmak üzere muhafaza edildi.

Elde edilen parafin bloklardan bir mikrotom yardımıyla (Thermo Shandon Finesse – Thermo Scientific, Waltham, MA, A.B.D.) 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Hasar bölgesine dair doku renk farklılıkları gözlemlendiği düzeyde elde edilen kesitler sıcak su banyosuna bırakıldı ve pozitif şarjlı tutucu lamlara alındı. Elde edilen seri kesitler kurutma ve parafin depolimerizasyonu için 56 °C'lik inkübatörde 30 dakika süreyle bekletildi. Doku kesitleri daha sonra hematoksilin ve eozin (H&E) ile boyandı ve rutin histopatolojik inceleme gerçekleştirildi. Seri kesitlerin diğer örneklerine ise miyelin değerlendirmesi amacıyla Luxol Fast Blue boyama gerçekleştirildi. Geri kalan seri kesitlere ise immunohistokimya yapıldı ve dokuda Bax, Bcl-2 Kaspaz-3 ve Kaspaz-9 immunopozitiviteleri incelendi.

3.3.1. H&E ve Luxol Fast Blue Boyama

Her iki boyamanın da yapılacağı kesitler iki seri ksilen içerisinde 10'er dakika süreyle deparafinize edildi. Azalan alkol serilerinde (%100,96,90,80,70) 15'er dakika süreyle bekletilip rehidre edilen kesitler distile suya alındı. H&E boyanacak örnekler hematoksilin solüsyonuna alındı ve 8 dakika süreyle oda ısısında boyandı. Daha sonra akar çeşme suyunda yıkanan örnekler Eozin solüsyonuna bırakıldı ve 3 dakika süreyle alkolik eozin solüsyonu ile boyama gerçekleştirildi. Boyanan örnekler %70 ve %80'lik alkol serilerinde daldır-çıkar yapılarak fazla eozin boyası uzaklaştırıldı. Daha sonra %90, %96 ve %100'lük alkol serilerinde 1'er dakika süreyle bekletilen kesitler iki seri ksilen'de şeffaflandırıldı ve entellan ile kapatıldı. Luxol Fast Blue boyaması yapılacak kesitler ise iki seri ksileni takiben %100 ve %96'lık alkollerde 15'er dakika rehidre edildi. Daha sonra doğrudan Luxol Fast Blue boyama protokolüne geçildi. Bu boyama için kullanıma hazır bir Luxol Fast Blue (Katalog no: 04-200812, BioOptica, İtalya) boyama kiti kullanıldı. Tüm aşamalar üretici firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi. Bu amaçla alkolde rehidre edilen örneklerin etrafı boya kaybını azaltmak amacıyla sınırlayıcı hidrofobik PAP Pen ile çizildi. Daha sonra kitin içerisinde bulunan A reagent solüsyonu örneklerin üzerine damlatıldı ve 56 °C'ye ayarlanmış inkübatör içerisinde nemli bir ortam kabı kullanılarak gece boyunca inkübasyon gerçekleştirildi. Gece inkübasyonu

gerçekleştirilen örnekler daha sonra %95'lik alkol içerisine alındı ve yıkama işlemi yapıldı. Örnekler üzerinde kalan fazla boya rezidüel kristalleri uzaklaşana kadar alkolde yıkama işlemi sürdürüldü. Örnekler daha sonra distile suda yıkandı üzerlerine kit içeriğindeki B reagent damlatılarak 30 saniye oda ısısında inkübe edildi. Örnekler %70'lik alkolde diferensiye edildi ve zemin şeffaf bir görüntü verene kadar %70'lik alkolde diferensiasyon tekrar edildi. İstenen şeffaflık elde edildikten sonra örnekler iki seri distile suda yıkandı ve kesitlere C reagent damlatılarak 20 dakika süreyle 56 °C'de inkübasyon gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası örnekler %95'lik alkolde tekrar diferensiye edildi ve absolu ethanolde 10 dakika bekletildikten sonra iki seri ksilende şeffaflandırıldı ve entellan ile kapatıldı. Hazırlanan örnekler mikroskopik inceleme amacıyla muhafaza edildi.

3.3.2. İmmunohistokimya Boyama

TBH oluşturulan ve kontrol grubundan elde edilen seri kesitlerde Caspase-3, Caspase-9, Bax ve Bcl-2 immunohistokimya yapıldı. Bu amaçlar iki seri ksilen'de 15'er dakika bekletilen örnekler parafinden arındırıldı. Daha sonra azalan (%100,96,90,80,70) alkol serilerinde 5'er dakika süreyle rehidre edilen kesitler distile suya bırakıldı. Bu aşamadan itibaren dokular immunohistokimya aşamalarına alındı. Bu sebeple iki seri Tamponlanmış Fosfat Tamponlu Salin Solusyonu (PBS) içerisinde 5'er dakika süreyle yıkanan kesitler, taze hazırlanan sodyum sitrat solüsyonu (ph:6,0) içerisinde ısıtılmak suretiyle antijen retrieval aşamasına tabi tutuldu. Oda ısısına soğuması beklenen örnekler tekrar iki seri PBS'te yıkandı ve endojen peroksidaz inhibisyonu için metanolde çözülmüş %3'lük H₂O₂ solusyonunda 20 dakika süreyle bekletildi. PBS içerisinde yıkanan örneklerin etrafı hidrofobik PAP Pen ile çizildi ve bütün aşamalarda kesitlerin kurumamasına özen gösterildi. Etraf çizimi tamamlanan örneklerin üzerine bloklama solüsyonu (Katalog no: TA-125-UB,Thermo Scientific, Waltham, MA, A.B.D.) damlatıldı ve oda ısısında 7 dk süreyle inkübasyon gerçekleştirildi. Daha sonra PBS içerisinde sırasıyla 1/100, 1/100, 1/50, 1/50 dilüe edilenKaspaz-3 (Katalog no: sc-56053, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, ABD), Kaspaz-9 (Katalog no: sc-56076, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, ABD),Bax (Katalog no: sc-7480, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, ABD)ve Bcl-2 (Katalog no: sc-57382, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, ABD) primer antikorları doku kesitlerinin üzerine damlatıldı. Primer antikor damlatılan örnekler nemli ortam kabına alındı ve buzdolabında +4 °C'de gece boyunca inkübasyon gerçekleştirildi. Daha sonra iki seri PBS'te yıkanan örneklerin üzerine sekonder antikör (Katalog no: TP-125-BN

- Thermo Scientific, Waltham, MA, A.B.D.) damlatıldı ve oda ısısında 20 dakika süreyle inkübasyon gerçekleştirildi. Tekrar PBS içerisinde iki seri yıkanan örneklerin üzerine peroksidaz enzimi (Katalog no: TS-125-HR - Thermo Scientific, Waltham, MA, A.B.D.) damlatıldı ve 20 dakika süreyle tekrar oda ısısında inkübasyon gerçekleştirildi. Kesitlerde immunopozitivite 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) ile gerçekleştirildi bu amaçla kullanıma hazır bir kit (Katalog no: TA-125-HD - Thermo Scientific, Waltham, MA, A.B.D.) kullanıldı. Reaksiyon gözlendiğinde PBS içerisinde yıkanan örnekler Hematoksilen solüsyonu ile zıt boyandı ve çeşme suyunda yıkandıktan sonra artan alkol serilerinde (%70,80,90,96,100) dehidre edilen örnekler iki seri ksilende 5'er dakika şeffaflandırıldı ve entellan ile kapatıldı. Entellanı kuruya kesitler incelenmek üzere muhafaza edildi.

3.4. İmmunohistokimya Örneklerinin Kantitatif Değerlendirilmesi

İmmunohistokimya boyaması yapılan örneklerde DAB immunopozitivite düzeyi zıt boyama Hematoksilen ile karşılaştırılarak seki-kantitatif veriler elde edildi. Bu amaçla kesitlerde serebral korteks'in hasar modeli oluşturulan gruplarda hasara yakın serebral korteks bölgesinden, kontrol grubunun doğrudan korteks bölgesinden her hayvandan rastgele elde edilen 21 kesit görüntüsü boyanma yoğunluğunun incelenmesi için kullanıldı. Boyama yoğunluğu değerlendirmesinde hematoksilen (mavi-laciver) boyanan saha içerisinde DAB pozitif (kahverengi-siyah) alanların yoğunluğu içerisindeki oranı hesaplanarak yarı-kantitatif data'lara ulaşıldı. Boyanma yoğunluğunun hesaplanması Image J Versiyon 1.53n yazılımı ile gerçekleştirildi. Elde edilen oransal veriler istatistiksel yönden incelendi.

3.5. İstatistiksel Analiz

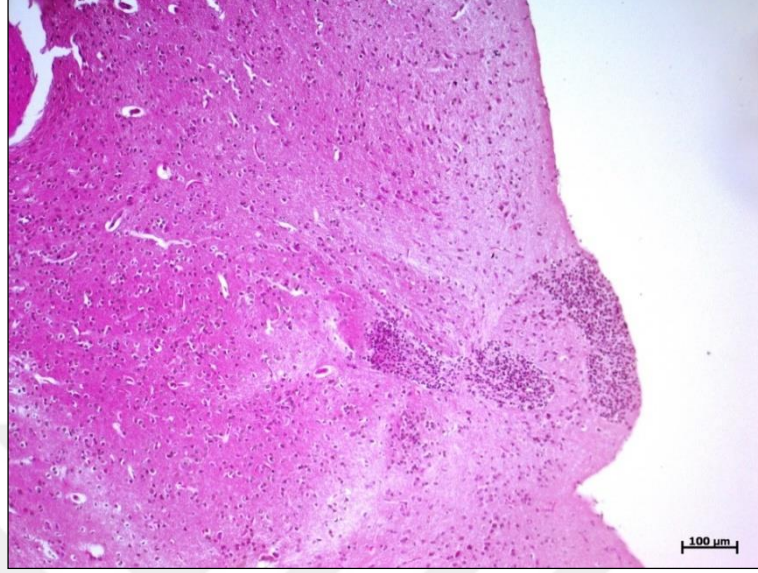
Elde edilen verilerin gruplar arasında farklı olup olmadığı istatistiksel yönden incelendi. Bu amaçla elde edilen Image J analiz sonuçları SPSS (IBM) programında istatistiksel yönden incelendi. Datasetler istatistiksel olarak parametrik olmayan Kruskal Wallis testi ile incelendi ve gruplar arasındaki çoklu karşılaştırma Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Gruplar arasındaki farkın <0.05 olması durumunda ($p<0.05$) gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu kabul edildi. Elde edilen istatistiksel sonuçlar ortalama $\pm$ SD (standart sapma) şeklinde gösterildi.

3.6. İmmunohistokimya ve İstatistiksel Analiz

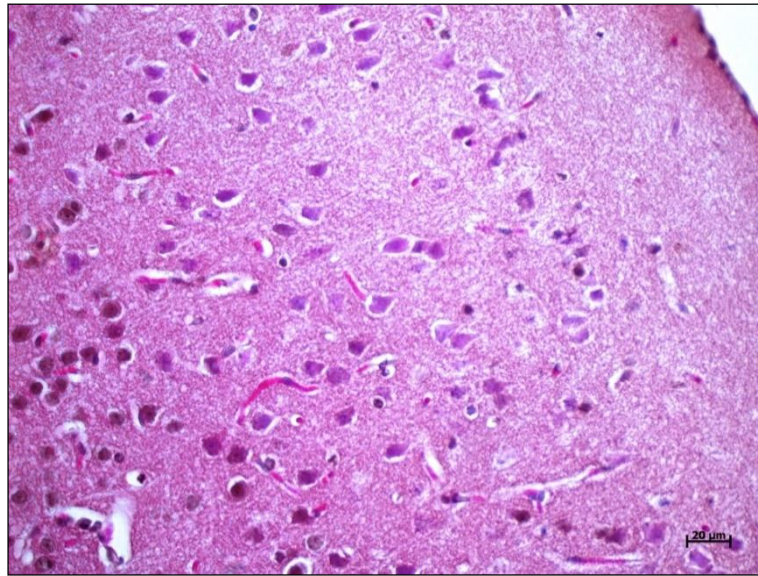
İmmunohistokimya boyanan örneklerde DAB immunopozitiflik değeri total doku alanı göz önünde bulundurularak gerçekleştirildi. En büyük büyütmede her hayvana ait beyin dokusundan elde edilen seri kesitlerden her bir immunohistokimya boyama için travmatik veya sub-travmatik serebral kortikal bölgelerden rastgele seçilen 5 saha immunopozitiflik yönünden incelendi. Bu sebepler her gruptan her bir immunohistokimya analizi için elde edilen 35 alan pozitiflik endeksi yönünden ele alındı. Doku boyanma endeksinin değerlendirilmesi için Image J yazılımı kullanıldı. Elde edilen veriler istatistiksel yönden incelendi ve istatistiksel anlamlılık non-parametrik Kruskal-Wallis Median testi ile değerlendirildi. Gruplar arasındaki çoklu karşılaştırma post-hoc Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ SD şeklinde yazıldı ve $p < 0.05$ istatistiksel yönden anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

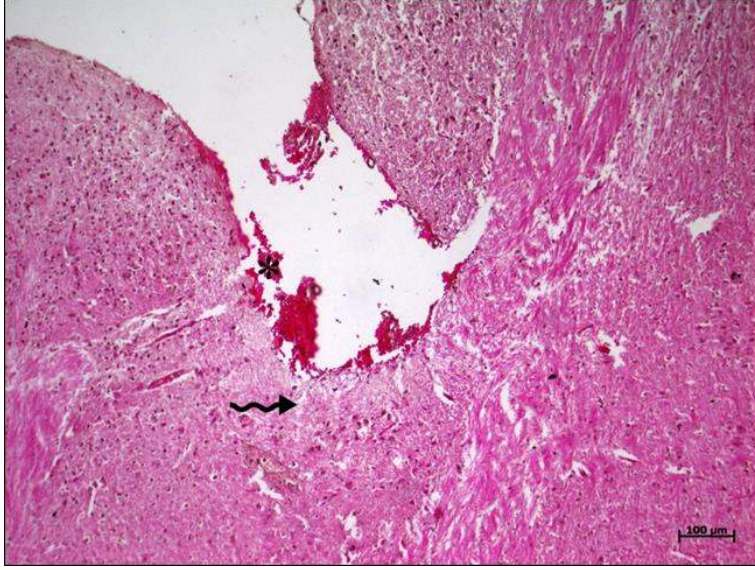
4.1. Hemotoksilen&Eozin bulguları



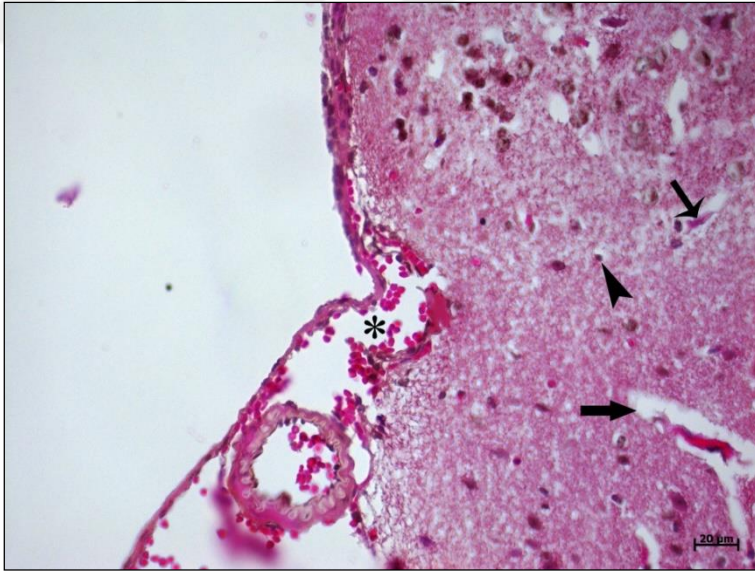
Resim 18: Kontrol grubunun küçük büyütmede hematoksislen ve eozin boyanmış beyin kesiti. Kontrol grubunda serebral korteks'in normal görüntüsü izlendi. **Boyama:** H&E, **Bar:** 100µm.



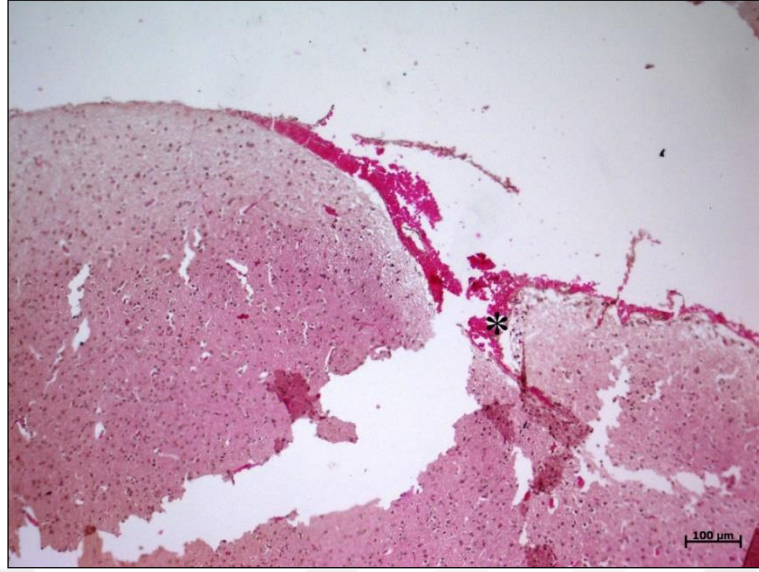
Resim 19: Kontrol grubunun büyük büyütmede hematoksislen ve eozin boyanmış beyin kesiti. Kortikal piramidal nöronların ve nörogliaların normal görüntüsü izlenmektedir. Serebral kapillerlerin normal yapıda olduğu ve perivasküler kavitenin darlığı görülmektedir. **Boyama:** H&E, **Bar:** 20µm.



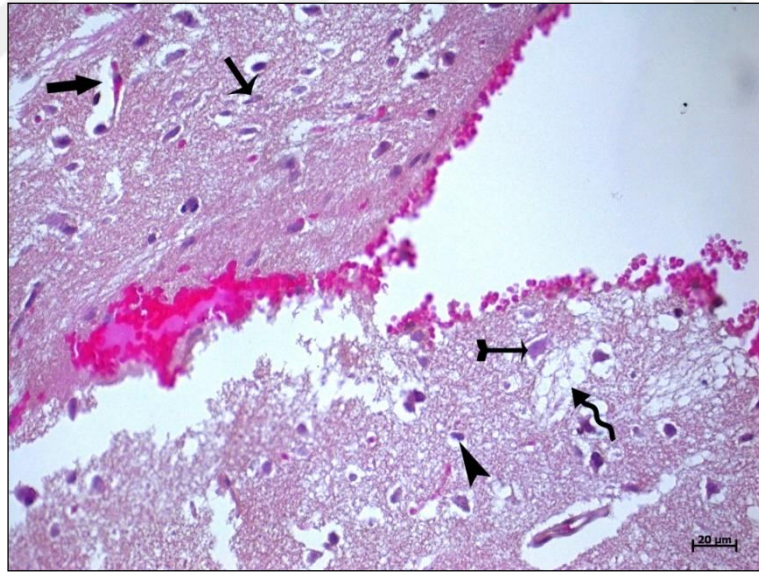
Resim 20: Travma grubunun küçük büyütmede hematoksilin ve eozin boyanmış beyin kesiti. Serebral korteks travma alanında beyin dokusunda kayıp ve hemaoraji (*), subtravmatik alanda yoğun ödemli beyin dokusu (kıvrımlı ok) izlenmektedir. Boyama: H&E, Bar: 100µm.



Resim 21: Travma grubunun büyük büyütmede hematoksilin ve eozin boyanmış beyin kesiti. Subaraknoid bölgede perfore olmuş beyin damarları çevresinde yoğun hemoraji (*), piramidal nöron perikaryonlarında (ok) ve nöroglialarda (ok başı) piknotik çekirdek görüntüsü, perivasküler kavitede artış ve ödemli görüntü izlenmektedir. **Boyama:** H&E, **Bar:** 20µm.

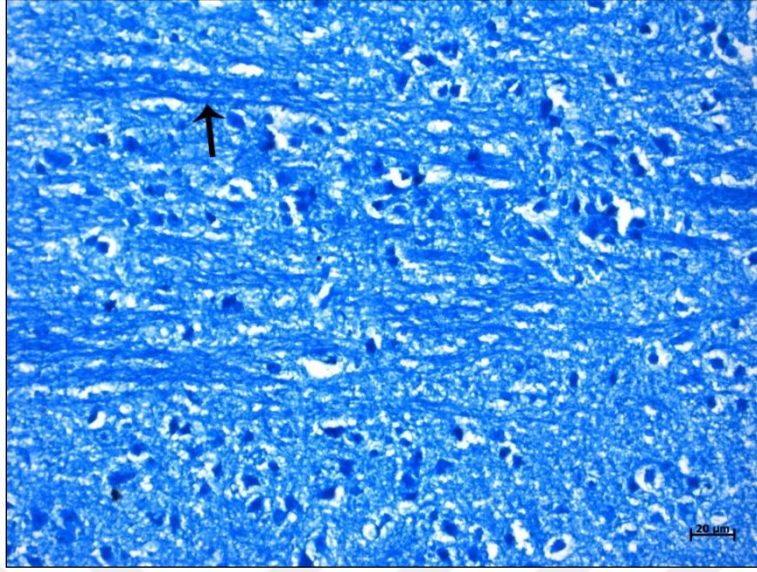


Resim 22: Travma + Melatonin grubunun küçük büyütmede hematoksilin ve eozin boyanmış beyin kesiti. Serebral korteks düzeyinde beyin dokusunda fiziki etmene bağlı yoğun doku kaybı ve hemoraji (*) izlenmektedir. **Boyama:** H&E, **Bar:** 100μm.

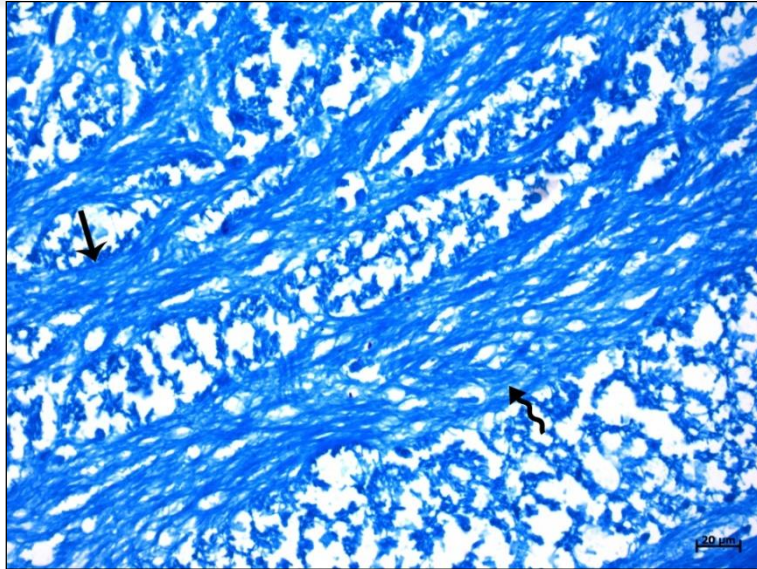


Resim 23: Travma + Melatonin grubunun büyük büyütmede hematoksilin ve eozin boyanmış beyin kesiti. Melatonin uygulanan grupta hemorajik ve doku kaybı izlenen korteks görüntüsünün yanı sıra perivasküler kavitenin Travma grubuna göre azaldığı, piknotik çekirdekli nöronların (ok) yanı sıra normal görüntüde izlenen nöronların (kuyruklu ok) varlığı izlenmektedir. Bu grubun beyin kesitinde travma grubuna benzer şekilde yer yer ödem alanları (kırımlı ok) izlenmektedir. **Boyama:** H&E, **Bar:** 20μm.

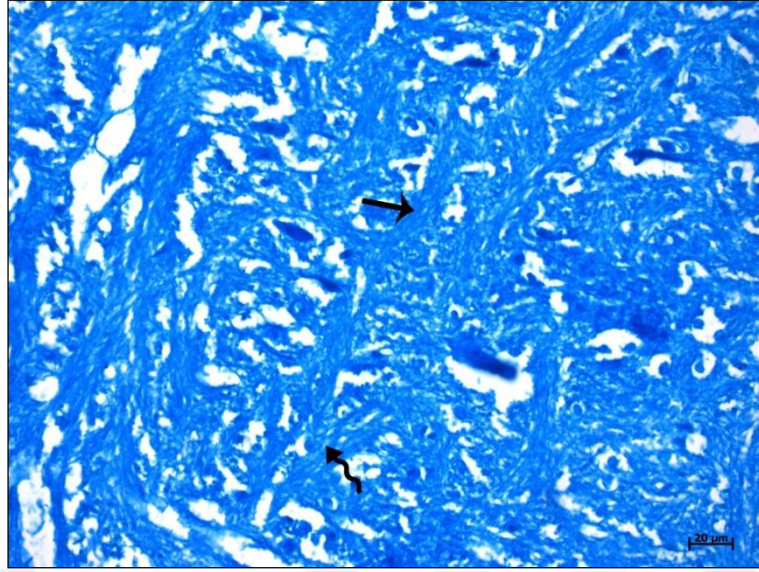
4.2. Luxol Fas Blue Bulguları



Resim 24: Kontrol grubu Luxol Fast Blue boyanmış beyin kesiti. Kontrol grubunda sinir liflerinde miyelinasyonun normal görüntüde olduğu ve koyu mavi renk pozitifliğinin varlığı izlendi (ok). **Boyama:** Luxol Fast Blue. **Bar:** 20 µm.

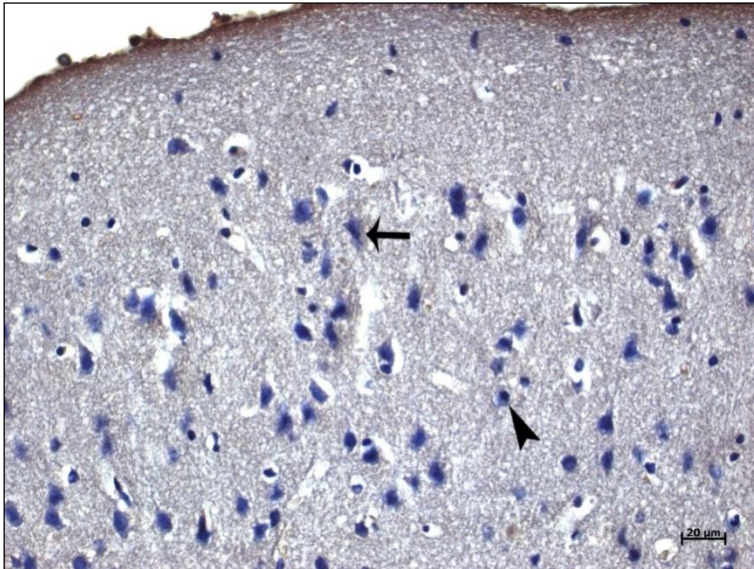


Resim 25: Travma grubu Luxol Fast Blue boyanmış beyin kesiti. Travma grubunda koyu renkli gözlenen miyelinli sinir lifleri (ok), daha soluk boyanmış vedemiyelinasyon belirtisi gösteren sinir liflerinden (kıvrımlı ok) daha az yaygınlık göstermektedir. **Boyama:** Luxol Fast Blue. **Bar:** 20 µm.

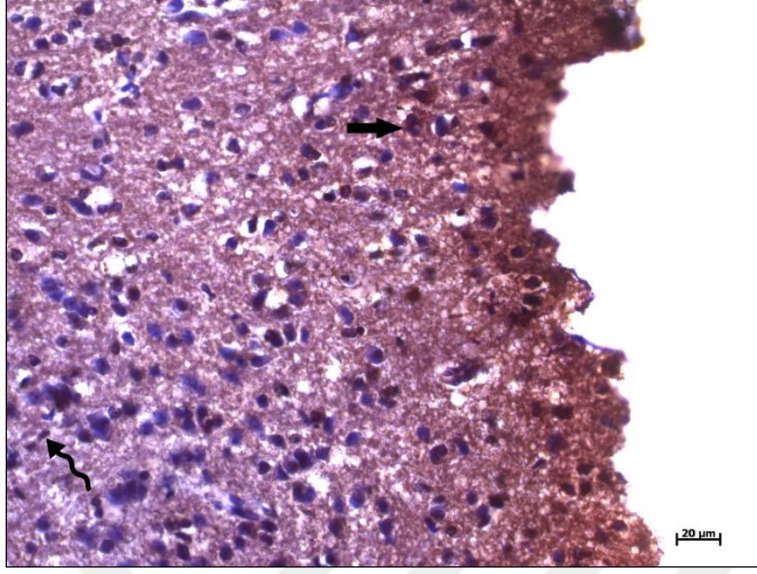


Resim 26: Travma + Melatonin grubu Luxol Fast Blue boyanmış beyin kesiti. Travma + Melatonin grubunda koyu renkli boyandığı izlenen miyelinli sinir liflerinin (ok) yoğunluğunun daha soluk boyanan sinir liflerine (kırımlı ok) göre daha fazla olduğu izlendi. **Boyama:** Luxol Fast Blue. **Bar:** 20 μm.

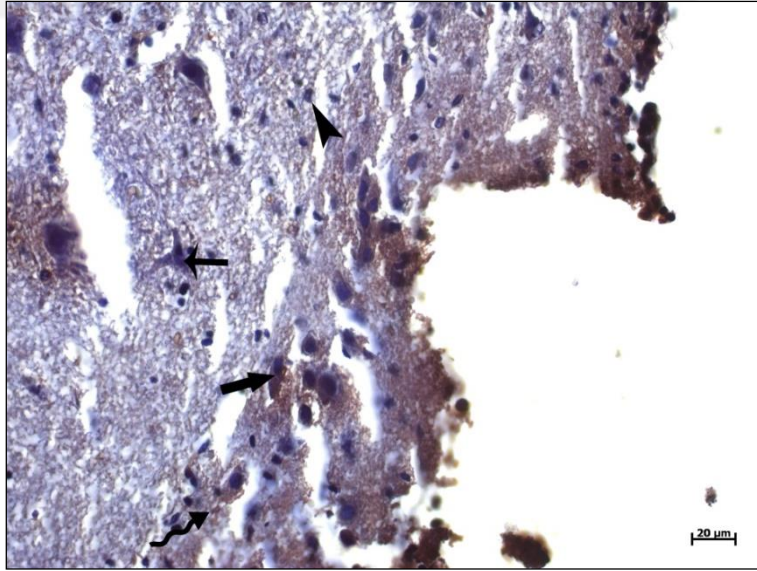
4.3 İmmunohistokimya Bulguları



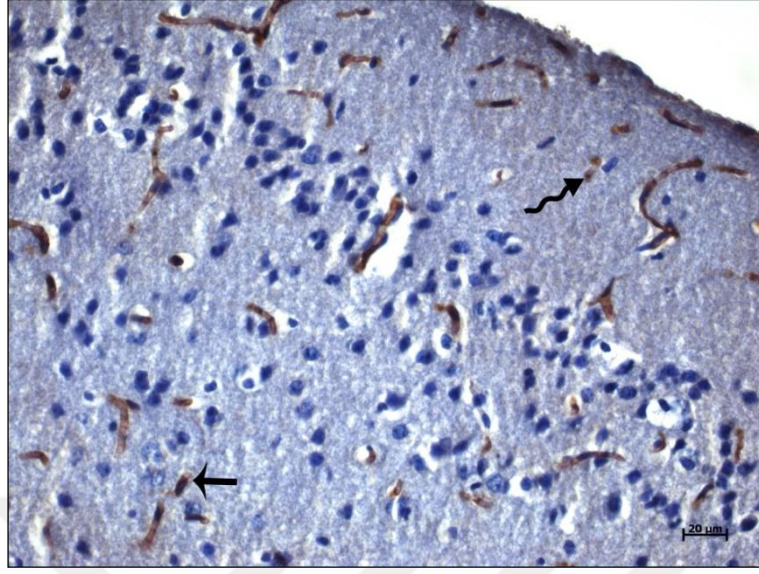
Resim 27: Kontrol grubu beyin kesitinde Bax immunohistokimya. Kontrol grubundan alınan beyin kesitlerinde Bax immunopozitivitesinin nöronlarda (ok) ve nöroglialarda (ok başı) düşük düzeyde olduğu izlendi. **Boyama:** Bax immunohistokimya. **Bar:** 20 μm.



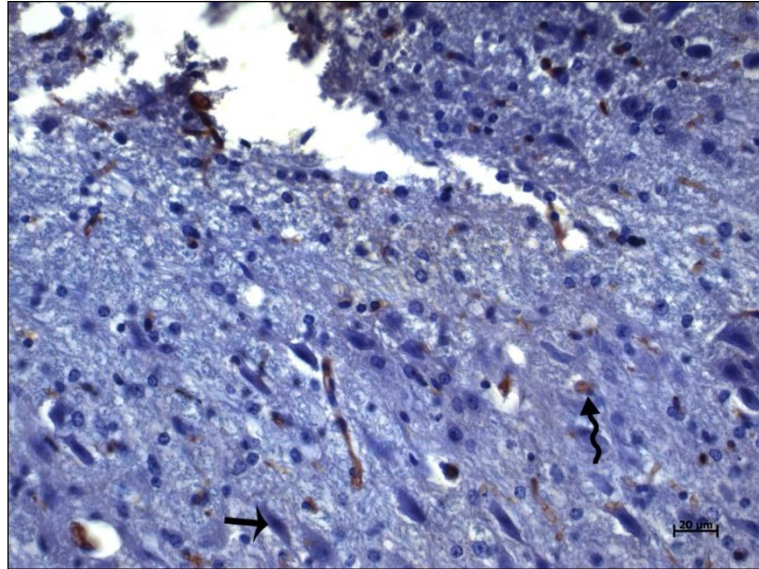
Resim 28: Travma grubu beyin kesitinde Bax immunohistokimya. Travma grubu beyin kesitinde nöronlarda (kalın ok) ve nöroglialarda yüksek düzeyde immunopozitivite. Boyama: Bax immunohistokimya. **Bar:** 20 μ m.



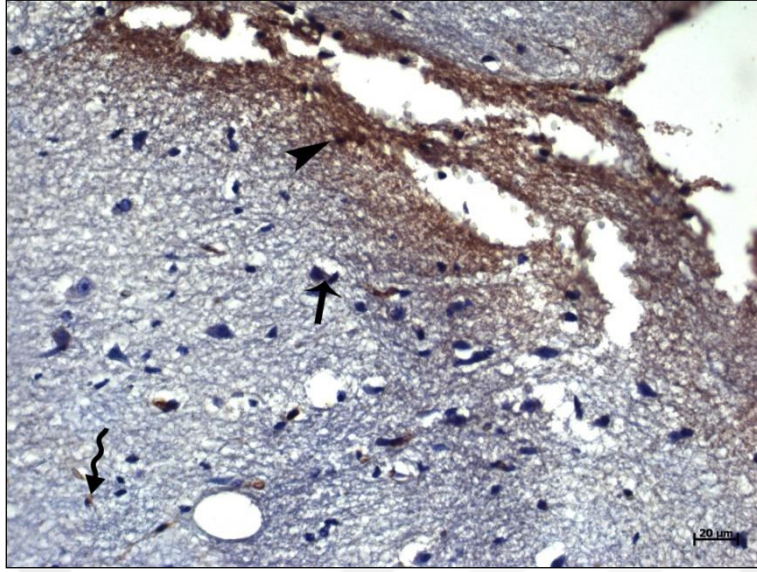
Resim 29: Travma + Melatonin grubu beyin kesitinde Bax immunohistokimya. Melatonin tedavisi uygulanan grupta deneysel travma oluşturulan bölgede yoğun düzeyde immunopozitiflik izlenen nöronlar (kalın ok) ve glia hücrelerinin (kırımlı ok) yanı sıra travma bölgesinde immunopozitivitenin düşük düzeyde olduğu nöronlar (ok) ve nöroglialar (ok başı) izlenmektedir. Boyama: Bax immunohistokimya. **Bar:** 20 μ m.



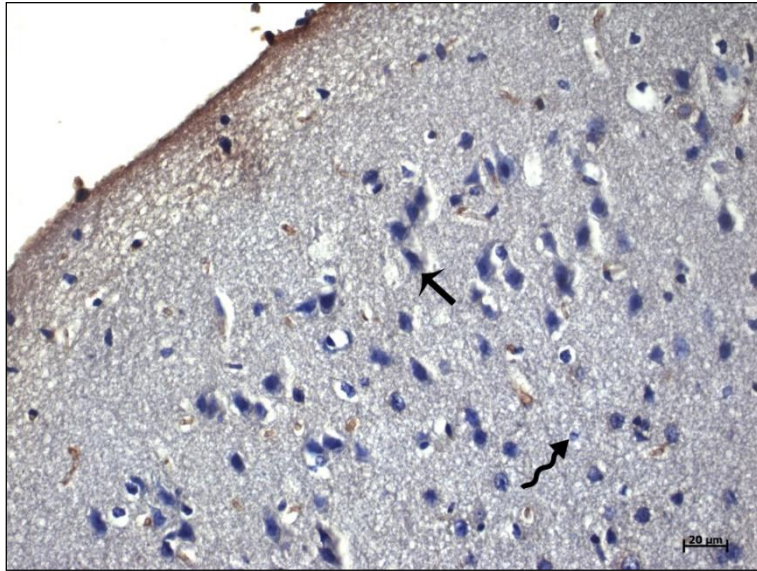
Resim 30: Kontrol grubu beyin kesitinde Bcl-2 immunohistokimya. Kortekste bulunan nöronlarda (ok) ve nöroglialarda (kırımlı ok) düşük ve orta düzeyde Bcl-2 immunopozitivite. Boyama: Bcl-2 immunohistokimya. **Bar:** 20 μ m.



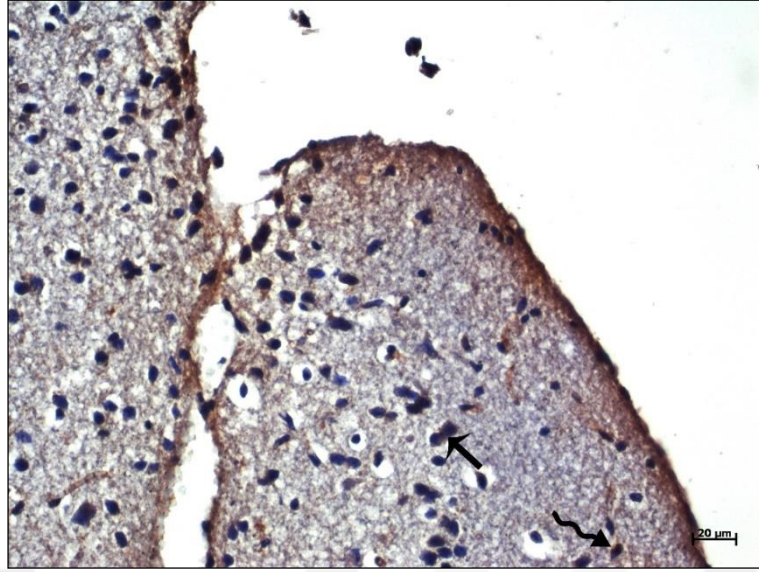
Resim 31: Travma grubu beyin kesitinde Bcl-2 immunohistokimya. Kortekste bulunan nöronlarda (ok) ve nöroglialarda (kırımlı ok) düşük düzeyde Bcl-2 immunopozitivite. Boyama: Bcl-2 immunohistokimya. **Bar:** 20 μ m.



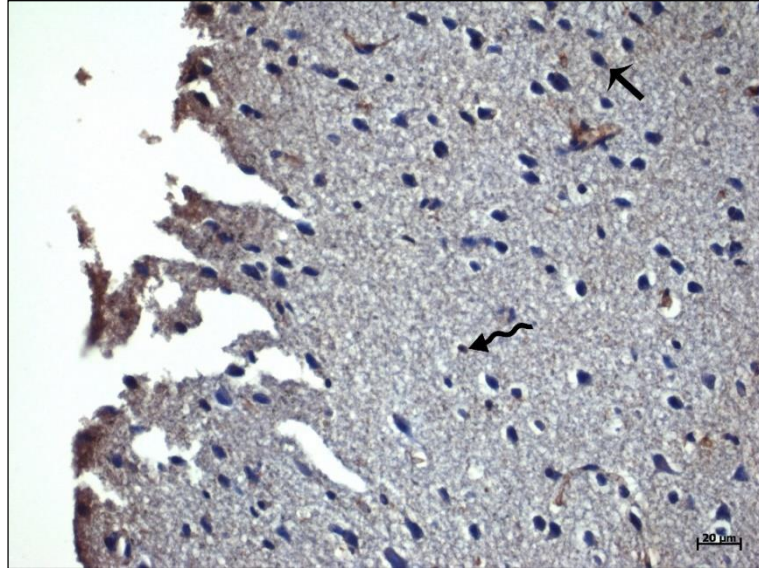
Resim 32: Travma + Melatonin grubu beyin kesitinde Bcl-2 immunohistokimya. Melatonin tedavisi uygulanan grupta nöronlarda (ok) ve nöroglia hücrelerinde (kırımlı ok) diğer gruplara oranla artış gösteren Bcl-2 immunopozitivite. Ayrıca sub travmatik alanda beyin dokusunda Bcl-2 immunopozitivitesinde yoğunlaşma alanları (ok başı) görülmektedir. Boyama: Bcl-2 immunohistokimya. **Bar:** 20 μm.



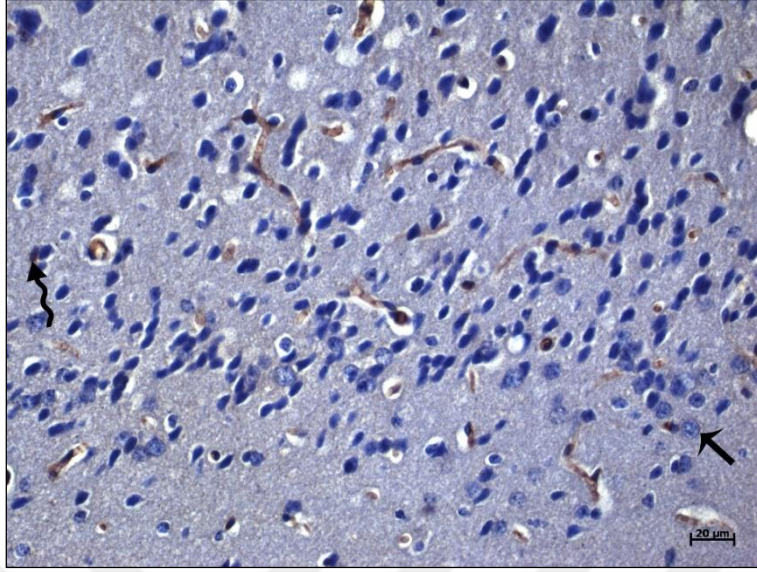
Resim 33: Kontrol grubu beyin kesitinde Kaspaz-3 immunohistokimya. Kontrol grubunda nöron sitoplasmasında (ok) ve nöroglialarda (kırımlı ok) düşük düzeyde kaspaz-3 immunopozitivite. Boyama: Kaspaz-3 immunohistokimya. **Bar:** 20 μm.



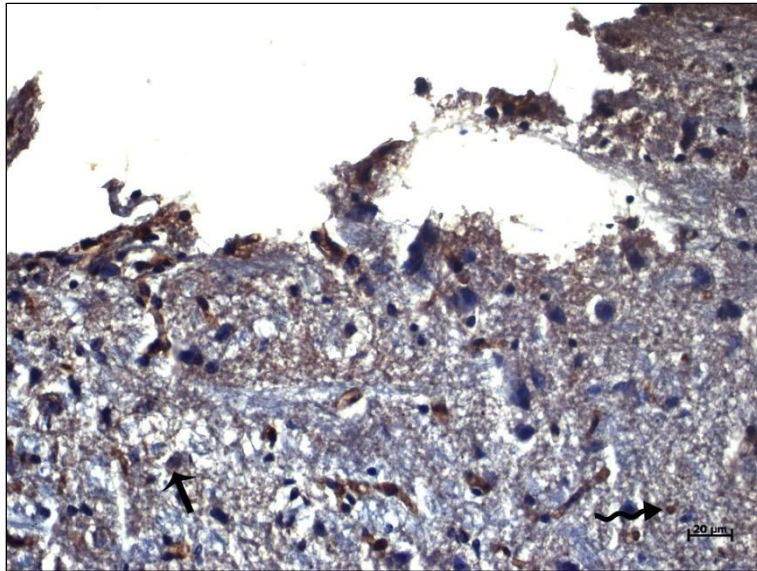
Resim 34: Travma grubu beyin kesitinde Kaspaz-3 immunohistokimya. Nöronlarda (ok) ve nöroglialarda (kıvrımlı ok) artış gösteren kaspaz-3 immunopozitivite. Boyama: Kaspaz-3 immunohistokimya. **Bar:** 20 µm.



Resim 35: Travma + Melatonin grubu beyin kesitinde Kaspaz-3 immunohistokimya. Nöronlarda (ok) ve nöroglialarda (kıvrımlı ok) travma grubuna göre daha düşük düzeyde kaspaz-3 immunopozitiflik. Boyama: Kaspaz-3 immunohistokimya. **Bar:** 20 µm.

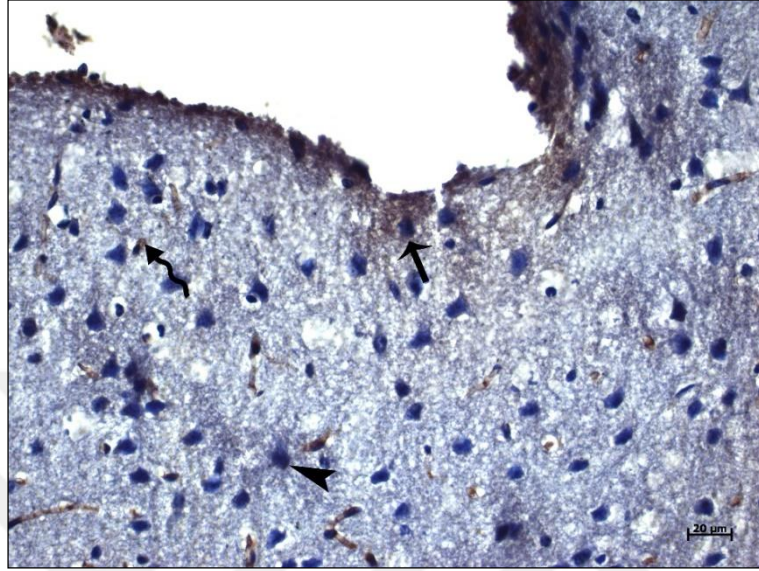


Resim 36: Kontrol grubu beyin kesitinde Kaspaz-9 immunohistokimya. Nöronlarda (ok) ve glia hücrelerinde (kırımlı ok) yer yer gözlenen immunopozitifliğin yanı sıra beyin dokusunun genelinde immunopozitifliğin oldukça düşük olduğu izlendi. Boyama: Kaspaz-9 immunohistokimya. **Bar:** 20 μm.



Resim 37: Travma grubu beyin kesitinde Kaspaz-9 immunohistokimya. Travmatik serebral korteks bölgesinde piknotik çekirdekli nöronlarda (ok) ve nöroglialarda (kırımlı ok) yer yer gözlenen immunopozitifliğin yanı sıra beyin dokusunun genelinde immunopozitifliğin oldukça düşük olduğu izlendi. Boyama: Kaspaz-9 immunohistokimya. **Bar:** 20 μm.

ok) yoğun kaspaz-9 immunopozitifliği. Boyama: Kaspaz-9 immunohistokimya. **Bar:** 20 μ m.



Resim 38: Travma + Melatonin grubu beyin kesitinde Kaspaz-9 immunohistokimya. Melatonin tedavisi uygulanan grubun travma bölgesinde nöronlarda (ok) ve glia hücrelerinde (kırımlı ok) izlenen kaspaz-9 immunopozitivitenin sub travmatik serebrak korteks bölgesinde yer alan nöronlarda (ok başı) nispeten azaldığı görülmektedir. Boyama: Kaspaz-9 immunohistokimya. **Bar:** 20 μ m.

4.4 İstatistik Bulguları

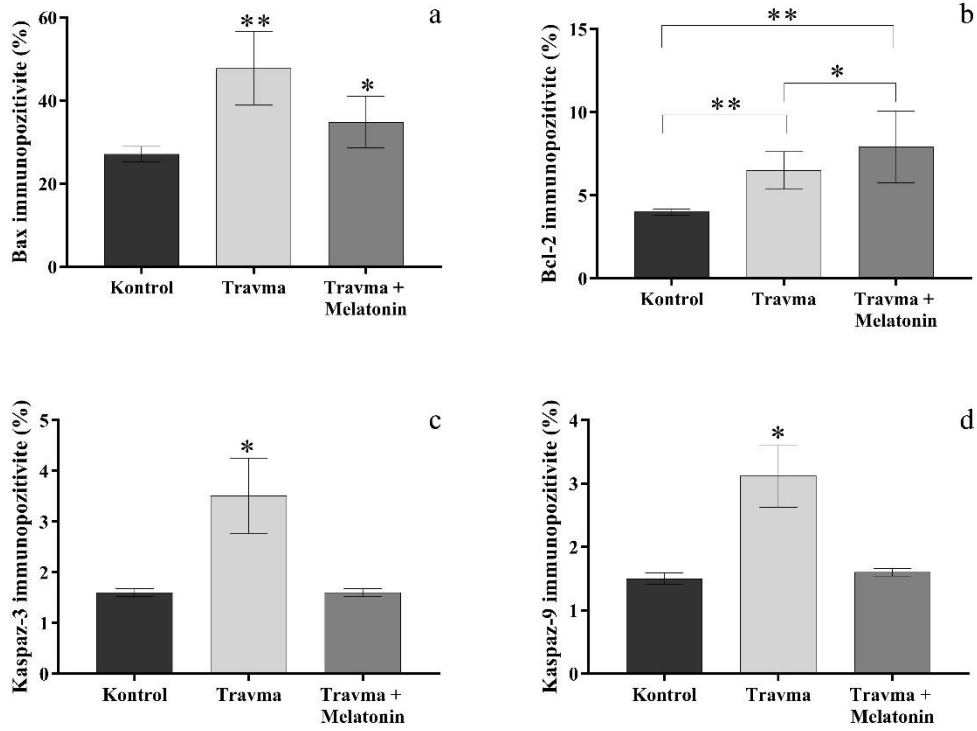
İmmunohistokimya analizlerinin istatistik analizi sonuçları Tablo-4 ve Şekil-1’de gösterilmiştir. Bax immunohistokimya boyanan kesitler incelendiğinde kontrol grubunda Bax immunopozitivite oranının $27,12 \pm 1,83$ olduğu tespit edildi. Travma grubunda ise bu oran $47,79 \pm 8,86$ olduğu ve kontrolden anlamlı derecede farklı immupozitivite olduğu ($p < 0.01$) tespit edildi. Travma + Melatonin grubunda ise bu oran $34,81 \pm 6,20$ olduğu ve melatonin tedavisi uygulanan grupta Bax immunoexpresyon düzeyinin hem kontrol hem de travma grubundan anlamlı derecede ($p < 0.01$) farklı olduğu sonucuna ulaşıldı. Bcl-2 immunopozitivite yüzdeleri incelendiğinde kontrol grubunda $4,00 \pm 0,18$ ’lik bir oran gözlenirken bu yüzdenin travma grubunda anlamlı derecede artarak ($p < 0.01$) $6,50 \pm 1,13$ ’lük bir değere ulaştığı tespit edildi. Travma + melatonin grubunda Bcl-2 immunopozitivite değerinin $7,91 \pm 2,17$ ’lik bir değere ulaştığı ve hem kontrol grubundan ($p < 0.01$) hem de travma grubundan ($p < 0.05$) anlamlı derecede yüksek Bcl-2

immunopozitivitenin olduğu tespit edildi. Gruplara ait kaspaz – 3 immunohistokimya kesitleri analiz edildiğinde ise kontrol grubunda % $1,60 \pm 0,08$ 'lik bir oran gözlenirken travma grubunda bu oranın anlamlı bir şekilde yükselerek ($p<0.01$) % $3,51 \pm 0,74$ 'lük değere ulaştığı tespit edildi. Travma + melatonin grubunda kaspaz-3 immunopozitivite yüzdesinin % $1,60 \pm 0,08$ olduğu ve kontrol grubuna benzer olmakla birlikte ($p>0.05$), travma grubundan anlamlı derecede farklı olduğu ($p<0.01$) sonucuna ulaşıldı. Kaspaz-9 immunopozitivite incelemesi yaptığımız kesitleri analiz ettiğimizde kontrol grubunun dokularında pozitiflik dağılımının % $1,50 \pm 0,09$ olduğu, travma grubunda ise bu oranın anlamlı şekilde aratarak ($p<0.01$) % $3,12 \pm 0,49$ 'a yükseldiği görüldü. Kaspaz-9 immunopozitivite değerlendirmesinde travma + melatonin grubunda yoğunluk oranının % $1,60 \pm 0,06$ olduğu ve hem kontrol hem de travma grubundan anlamlı derecede farklı ($p<0.01$) kaspaz immunopozitivitenin varlığı tespit edildi.

Tablo 4: İmmunohistokimya analizlerinin istatistiksel sonuçları.

	Bax		Bcl-2		Kaspaz 3		Kaspaz 9	
	İmmunopozitivite (%)		İmmunopozitivite (%)		İmmunopozitivite (%)		İmmunopozitivite (%)	
	Ortalama	SD	Ortalama	SD	Ortalama	SD	Ortalama	SD
Kontrol	27,12	1,83	4,00	0,18	1,60	0,08	1,50	0,09
Travma	47,79	8,86	6,50	1,13	3,51	0,74	3,12	0,49
Travma + Melatonin	34,81	6,20	7,91	2,17	1,60	0,08	1,60	0,06
Kruskal Wallis								
Ki-Kare=35,183 P=0,000								

Grup No'larının İkili Karşılaştırmaları			
Örnek 1-Örnek 2	Test İstatistiği	$\alpha(0.05)$	Adj. Sig. ^a
Kontrol-Travma + Melatonin	16,095	,000	,000
Kontrol-Travma	42,000	,000	,000
Travma + Melatonin-Travma	11,524	,001	,002



Şekil 1:İmmunohistokimya analizlerinin istatistiksel sonuç grafikleri. a) Bax immunopozitivite yoğunluk yüzdesi için * $p < 0.01$, ** $p < 0.01$. b) Bcl-2 immunopozitivite yüzdesi için * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. c) Kaspaz-3 immunopozitivite yoğunluk yüzdesi için * $p < 0.01$. d) Kaspaz-9 immunopozitivite yoğunluk yüzdesi için * $p < 0.01$.

5. TARTIŞMA

Dünya genelinde sayısız birey Travmatik beyin hasarı (TBH) ile yüzleşmekte ve hasarın derecesine bağlı olarak hayati tehlike, sakat kalma gibi olgularla karşı karşıya kalmaktadır (104,105). Sadece Amerika Birleşik Devletlerinde 2010 yılında 2,5 milyon vakanın varlığı tahmin edilmektedir ve Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nın bugüne kadar TBH 'nin tedavisine yönelik onay verdiği ve rutinde kullanılan bir tedavi metodu henüz geliştirilememiştir ayrıca hasarın şiddetine bağlı olmakla beraber TBH' ye maruz kalan bireyler uzun yıllar fonksiyon eksiklikleri gibi günlük yaşamı etkileyen sorunlarla da karşılaşabilmektedirler(106). Bu nedenle TBH' nin etkilerini azaltmaya yönelik geliştirilecek olası ilaç tedavi yöntemleri önem kazanmaktadır.

Bugüne kadar yapılmış araştırmalarda TBH' nin neden olduğu post-travmatik hasarın kontrol altına alınması ve hastaların yaşam kalitesinin yükseltilmesi amacıyla test edilen ilaç ve kimyasallar içerisinde en umut vericisinin melatonin olduğu düşünülmektedir. Doğal bir hormon olan melatoninin düşük toksisitesi sayesinde merkezi sinir sistemi ile ilişkili birçok hastalığın tedavisinde başvurulabilecek potansiyel bir ajan olduğuna inanılmaktadır(107.108). Merkezi sinir sistemine yabancı olmayan bir kimyasal bileşen olması melatoninin kan-beyin bariyerini kolayca geçebilmesi ve hedef bölgeye rahatlıkla ulaşmasını ve ilgili reseptörlere tutunarak hücre içi siklusların aktive edilmesini sağlamaktadır(109.110). TBH' nin semptomlarına benzer olguların izlendiği spinal kord hasarı, Alzheimer, sepsis kaynaklı beyin hasarı, inme, amiotrofik lateral skleroz (ALS) gibi bazı deney hayvan model çalışmalarında melatoninin protektif etkisi rapor edilmiştir (111.112.113). Günümüze kadar deney hayvanları üzerinde TBH' nin nörodejeneratif etkisini araştıran sayısız çalışmanın yanı sıra sürdürülmekte olan klinik testler de bulunmaktadır. Daha önce yapılmış bir çalışmada Ding ve ark. 200 gr ağırlık kullanarak oluşturdukları travmatik beyin hasarı modelinde melatonin tedavisinin nöron dejenerasyonunu indirgeyerek beyin dokusunu koruduğunu rapor etmiştir(114). Yine bu çalışmada 10 mg/kg melatonin uygulamasının pro-apoptotik Bax ekspresyonunu anlamlı derecede azalttığı ve yine mitokondriyal apoptotik süreçte önemli rol oynayan sitokrom-c düzeyini düzenlediğini göstermiştir. Bizim yapığımız deney il Ding ve ark. Yaptığı çalışmayı karşılaştırdığımızda her iki çalışmada da uygulanan 10 mg/kg melatoninin TBH kaynaklı nörodejenerasyonu apoptoz ilişkili protein ekspresyonlarını düzenleyerek koruduğunu söylememiz mümkündür. Ding ve ark.'nın rapor ettiği şekliyle intrinsek

apoptotik sinyal yolları yönünden Bax ve sitokrom-c düzeyini dengeleyici potansiyelinin yanı sıra bizim sunmuş olduğumuz sonuçlar uygulanan dozun hem intrinsik hem de ekstresek apoptotik stimulatorlerin baskılanması ve anti-apoptotik protein ekspresyonların artırılmasına olanak sağlayabileceğini ortaya koymaktadır. Bu bakımdan incelediğimizde her iki çalışma da melatoninin TBH kaynaklı apoptotik nörodejenerasyonu engelleyici bir ajan olarak kullanılabileceğini öne süren bulgular ortaya koymaktadır. Deney hayvanları üzerinde modellenen bir başka TBH araştırmasında Ling ve ark. Sıçanlar üzerinde kontrollü kortikal darbe modeli kullanarak TBH oluşturmuş ve melatoninin koruyucu etkisini araştırmıştır (C). Bu çalışmada araştırmacılar sıçanlara 5 ml/kg melatonin uygulamış ayrıca araştırma grupları içerisinde melatonin uyguladıkları gruplardan birine de bir mitofaji inhibitörü olan 3-metiladenin 5 µl dozunda uygulanmıştır. Bu çalışma sonunda Ling ve ark. Melatoninin mTOR üzerinden mitofajiyi tetiklediğini ve bu şekilde TBH olgularında pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımını dengeleyerek inflamasyonu düzenlediğini rapor etmiştir. Bir başka araştırmada Jadhav ve ark. Cerrahi beyin hasarı (CBH) modeli oluşturdukları deney hayvanlarında farklı dozlarda (5, 15 ve 150 mg/kg) uygulanan melatoninin nöroprotektif etkisini incelemiştir (115). Bu çalışmanın sonuçları düşük dozlarda (5 ve 15 mg/kg) melatonin tedavisinin beyin travmasına bağlı ödem oluşumunu azaltmada yetersiz olduğu ancak 15 mg/kg melatonin uygulanan hayvanlarda oksidatif stresi anlamlı derecede azalttığı rapor edilmiştir. Ancak söz konusu bu çalışmanın en önemli çıktısının uygulanan 150 mg/kg'lık melatoninin CBH modelinde nörodejenerasyon üzerinde protektif etkisini çok yoğun gösterememesidir. Bu sonuç melatonin tedavilerinin TBH olgularında bir standardizasyona henüz ulaşamamış olduğunu göstermektedir. Yine deney hayvanlarında yapılmış olan bir başka araştırmada Yürükler ve ark. 2 metre yükseklikten 300 gr ağırlığı serbest bırakmak üzere oluşturdukları TBH deney hayvan modelinde melatoninin nöroprotektif etkisini araştırmıştır (116). Yürükler ve ark. Deney hayvanlarında uyguladıkları bu deneyde 5 mg/kg melatonin TBH modelini uyguladıktan 1 saat sonra i.p. yolla uygulamıştır ve deneyin başlamasından 24 saat sonra hayvanları kurban ederek beyin dokusundaki apoptotik protein düzeylerini araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda Yürükler ve ark. 5 mg/kg post travmatik melatonin uygulamasının travma uyguladıkları grupla karşılaştırdıkları zaman intraselüler reaktif oksijen düzeyini anlamlı derecede azalttığını, ayrıca kaspaz-3 ve kaspaz-9 düzeylerini de anlamlı derecede düşürdüğünü rapor etmiştir. Bu çalışma ve bizim gerçekleştirdiğimiz araştırma arasında modelleme açısından bazı farklılıklar

bulunmaktadır. Yürükler ve ark. deney modeli olarak sıçanları seçmiştir ve kullandıkları ağırlık 300 gr olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada uygulanan melatonin dozu 5 mg/kg olacak şekilde seçilmiştir. Bizim uyguladığımız deney modeli ise fareler üzerinde olup 10 mg/kg melatonin uygulanmış ve 80 cm'den 30 gr ağırlığın serbest düşüşü ile TBH modeli oluşturulmuştur. Bunun yanı sıra her iki araştırmada da post travmatik melatonin tedavisinin nöroprotektif etkileri apoptotik sinyal yollarının araştırılması ile gerçekleştirilmiştir. Yürükler ve ark.'nın sunmuş olduğu bulgular ile mevcut araştırmamızın benzer sonuçlar sunduğunu söylememiz mümkündür. Her iki çalışma da kaspaz-3 ve kaspaz-9 immunoekspresyonunun melatonin tedavisi uygulanan hayvanlarda anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. Bizim araştırmamızda ek olarak anti-apoptotik Bcl-2 düzeyi ve pro-apoptotik Bax düzeyi de incelenmiştir. Bcl-2 düzeyinde travma grubunda ve travma modeli oluşturup melatonin tedavisi uyguladığımız gruplarda Bcl-2 immunpozitifliğin arttığını gözlemledik. Özellikle travma grubunda kontrol grubuna kıyasla artış eğiliminde olan Bcl-2 immunoekspresyon düzeyindeki anlamlı artışın TBH' ye karşı organın göstermiş olduğu karşı yanıtta kaynaklandığını düşünmekteyiz. Buna ek olarak melatonin tedavisi uyguladığımız grupta diğer iki grupla karşılaştırdığımızda ortaya çıkan Bcl-2 ekspresyon düzeyindeki anlamlı artışın bu hipotezimizi desteklediği ve antioksidan potansiyeli bilinen melatoninin organın TBH'na oluşturduğu anti-apoptotik yanıtı güçlendirdiğini düşünmekteyiz.

TBH olgularında merkezi sinir sistemine ait nöronların yanı sıra nörogliaların ve sinir miyelinasyonunun harabiyeti de daha önce yayınlanmış olan birçok araştırmada ve derlemede ele alınmıştır (117). Bu araştırmalardan birinde TBH modeli oluşturulan farelerde travma bölgesinin oldukça uzak alanlarında dahi oligodendrositlerin TBH'na bağlı patolojik olgudan etkilendiği ve bu nöroglial dejenerasyonun TBH modelinin oluşturulmasından oldukça uzun zaman sonra dahi sürdüğü rapor edilmiştir (118). Ayrıca TBH dışında multiple skleroz gibi demyelinasyon hastalıklarında melatoninin koruyucu bir ajan olabileceğine yönelik bulgulara mevcuttur (119). Yapmış olduğumuz deneysel modelde melatonin'in kortikal nöronlarda ve glia hücrelerinde dejeneratif etkisini apoptotik sinyal yolları yönünden gösterdiğini tespit ettik. Ayrıca ak madde düzeyinde miyelin yoğunluğuna göre boyama spesifitesi bulunan Luxol Fast Blue ile boyama gerçekleştirdiğimiz örneklerde travma oluşturduğumuz grupta renk densitesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğunu tespit ettik. Ayrıca melatonin tedavisi uyguladığımız grupta da büyük bir çoğu miyelinli sinir lifi bulunduran ak maddenin demyelinasyonunun

travma grubuna göre azaldığını söylememiz mümkündür. Literatür incelememizde TBH'na bağlı miyelinasyon veya demiyelinasyon durumunu değerlendiren bir makaleye rastlayamadık. Bu bakımdan elde ettiğimiz sonuçların literatür için anlamlı bulgular ortaya koyduğunu düşünmekteyiz. Daha önceki çalışmalar ve genel literatür tutumu melatoninin nöroprotektif etkisini anti-apoptotik, anti-inflamatuvar ve serbest radikal temizleyici bir ajan olması sebebiyle sağladığını göstermektedir. Mevcut çalışmamızda her ne kadar oksidatif stres markerlarını göz önünde bulundurmamış olsak ta melatoninin oksidatif stres önleyici etkisi kanıtlanmış bir gerçektir (120). Genel literatür yaklaşımı ve elde ettiğimiz miyelin dejenerasyonuna ait bulguları bir bütün olarak ele aldığımızda melatoninin tedavisi uyguladığımız grupta demiyelinasyon'un potansiyel azalmasında melatoninin antioksidan etkisinin rol oynadığını söylememiz mümkündür.

Her ne kadar literatürde melatoninin TBH olgularındaki nöroprotektif etkisini araştıran sayısız deney hayvanı çalışması bulunsada klinik araştırmalar yönünden mevcut araştırma konusuna dair araştırmalar çok kısıtlıdır. Ge ve ark.'nın 2020 yılında yapmış oldukları bir çalışmada 15 mg/kg melatonin tedavisinin sıçanlarda TBH modelinde hem antioksidan özellik göstererek nöroprotektif hem de kognitif fonksiyonları iyileştirici olabileceği yönünde bulgular sunulmuştur (121). Buna karşın Kemp ve ark. tarafından yapılmış bir klinik araştırmada ise yaşları 16–65 arasında değişen (ortalama = 39,6) ve TBH öyküsü bulunan 7 erkek hastada 5 mg melatonin ve 25 mg amitriptilin uygulanan hastalarda uyku gecikmesini, uyku süresi, genel ruh ve kognitif durum değerlendirildi. Bu çalışmanın sonuçları melatoninin uyku gecikmesini düzene sokma noktasında etkili olduğu ancak uyku süresi, uyku kalitesini, genel ruh hali ve kognitif performansı iyileştirme noktasında yeterli olmadığı sonucuna ulaşıldı (122). Ancak bu çalışmadaki yaş aralığının çok geniş olması, uygulanan dozun deney hayvanlarında izlenen başarılı kognitif bulgulardan daha düşük dozda olması gibi durumların söz konusu çalışmanın kısıtlayıcı etmenleri olduğunu söylememiz mümkündür. Bizim çalışmamız ile mukayese edildiğinde çalışma protokolünde kullandığımız post travmatik 10 mg/kg melatonin dozunun ağırlık düşmesi kaynaklı beyin doku hasarını anlamlı derecede azalttığını söylememiz mümkündür. Buna karşın akut dönemdeki nörodejenerasyonu araştırmamızdan kaynaklı kognitif fonksiyonları test edememiş olmamız sebebiyle uygulanan dozun kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkisi üzerinde bir yorum yapmamız mümkün değildir. Ayrıca Ge ve ark. söz konusu çalışmada TBH kaynaklı apoptotik indüksiyon ve nörodejenerasyonu TUNEL Assay yöntemini kullanarak değerlendirmiştir. Bizim mevcut araştırmamızda da

uyguladığımız mevcut dozun apoptotik süreçte önemli rolü olduğu bilinen pro ve anti-apoptotik protein ekspresyonlarını anlamlı derecede etkili olduğu ve bu sayede nöral ve glial DNA fragmentasyonlarını engelleyerek nörodejenerasyonu bloke ettiğini söyleyebiliriz. Bu açıdan hem Ge ve ark. hem de mevcut çalışmamızın tutarlı sonuçlar verdiğini söylememiz mümkündür.

Her ne kadar literatürde melatoninin TBH kaynaklı nörodejenerasyonu hafifletmede başvurulacak bir ajan olabildiği yönünde güçlü bulgular bulunsa da Jadhav ve ark. rapor ettikleri sonuçları göz önünde bulundurduğumuzda melatoninin nöroprotektif potansiyelinin doz bağımlı olduğunu söylememiz mümkündür. Bu nedenle yaptığımız çalışmanın önemi daha da artmakta ve daha detaylı yeni çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ

Travmatik beyin hasarı (TBH) ve post travma komplikasyonlar insan yaşamını tehdit etmekte ve bu noktada klinik yönden cerrahi müdahalenin dışında geliştirilmiş bir ek tedavi protokolü henüz bulunmamaktadır. Yapmış olduğumuz araştırmada post-travmatik melatonin tedavisinin travmanın beyinde neden olduğu doku kaybını önleyememiş olmasının dışında travmatik hasara bağlı nörodejenerasyonu, glia hücre disfonksiyonunu ve buna bağlı olarak demiyelinasyonu azalttığına yönelik sonuçlar ortaya koymaktadır. Bu nedenle TBH olgularında melatoninin destek amacıyla kullanılabilecek bir ajan olduğunu düşünmekteyiz ancak travmanın şiddeti ve bireylerin genel sağlık durumlarının da bu oluşturulacak olası tedavi protokollerinde önemli bir rol oynayacağına inanmaktayız. Her ne kadar düşük toksisiteye ve kan-beyin bariyerini rahatlıkla geçerek merkezi sinir sistemine rahat bir şekilde ulaşıyor olsa da melatoninin çok yüksek dozlarda travmatik beyinde protektif potansiyelinin azaldığına dair bazı bulgular da bulunmaktadır. Bu sebeple melatoninin TBH’nda nöroprotektif bir ajan olarak kullanılıp kullanılamayacağına yönelik çok daha detaylı ve yeni araştırmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKÇA

- 1-Gökalp Z. Nöroşiruji ders kitabı, mars matbaası, Ankara, 1998
- 2-Paşaoğlu A. Erişkinde Kafa travmaları, Temel nöroşiruji kitabı(2005)
- 3-Jennett B. Historical perspective on head injury. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT. Eds,1996
- 4-Hall ED, Braughjer JM. Central nervous system and stroke. 2. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. Free radic biol med6:303-313,1989
- 5-Jennet B. Bond M. Assessment of outcome after severe brain damage A practical scale. Lancet 1:480-484,1975
- 6-Akkose S, Armağan E, Bulut M, Tokyay R: Trauma care system in Turkey and the approach to patients suffering head trauma. Ulus Travma Derg 8:1-2, 2002
- 7-Karasu A, Sabanci PA, Cansever T, Hepgul KT, Imer M, Dolaş I, Taviloğlu K: Epidemiological study in head injury patients. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg 15:159–163,2009
- 8-Jee JH, Kelly DF, Oertel M, Mcarthur DL, Gleen TC Carbon dioxide reactivity,pressure autoregulation and metabolic suuppression reactivity after head injury: a transcrranial doppler study,2001
- 9-Kraus JF, Mcarthur DL, Silverman TA, Jayarama M. Epidemiology of brain injury. Narayan RK(eds)neurotravma McGraw Hill Company, New York 1996:16-17
- 10- Kraus JF, Mcarthur DL, Silverman TA, Jayarama M. Epidemiology of brain injury. Narayan RK(eds)neurotravma McGraw Hill Company, New York 1996:22-24
- 11-Işık HS, Bostancı U, Yıldız Ö, Özdemir C, Gökyar A. Kafa travması nedeniyle tedavi edilen 954 erişkin olgunun retrospektif değerlendirilmesi; Ulusal Travma Acil Cerrahi Dergisi,2011;46-50
- 12-Ergüner F. Kafa Travmalarında Patofizyoloji Temel nöroşiruji, TND yayınları(2010)
- 13-Reilly PL. Brain injury: the pathophysiology of the first hours.398-403,2001
- 14- Ergünör MF, Kafa travmalarında patofizyoloji, Temel Nöroşiruji, Türk Nöroşiruji Derneği Yayınları,Ankara 27:298-305,2005

- 15-http://entcase.com/manuscript_ln_pdf_yeni/420/makale/otoloji/temporal-kemik-frakturunun-neden-oldugu-coklu-kraniyal-sinir-hasari.htm, erişim tarihi:9.11.2021
- 16-<https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/931953>, erişim tarihi:9.11.2021
- 17-<https://interaktifsozluk.net/g/23416>, erişim tarihi:9.11.2021
- 18-Graham DI, Adams JH, Doyle D, Teasdale GM, Lawrence AE, Mclellan DR, Ischemic brain damage is still common in fatal non-missile head injury. J Neurol Neurosurg Psychiatry 52:346-350, 1989
- 19-Geddes JF. Primary traumatic brain injury. In:Whitwell H.L (ed). Forensic Neuropathology, Oxford University Press, New York,94-107,2005
- 20-Ergünör MF, Kafa travmalarında patofizyoloji, Temel Nöroşiruji, Türk Nöroşiruji Derneği Yayınları,Ankara 27:298-305,2005
- 21- Ergünör MF, Kafa travmalarında patofizyoloji, Temel Nöroşiruji, Türk Nöroşiruji Derneği Yayınları,Ankara 27:298-305,2005
- 22- Gennarelli TA, Thibault LE, Adams JH, Diffuz axonal injury and traumatic coma in the primate. Ann Neurol 12(6): 564-574, 1982
- 23- <https://www.sciencedirect.com/topics/nursing-and-health-professions/diffuse-axonal-injury>
- 24-Graham DI, Neuropathology of the head injury, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT. Ed. Neurotrauma. Mc Graw Hill: New York: p43-58,1996
- 25- <https://radiopaedia.org/cases/epidural-haematoma-4?lang=us>
- 26- Ergünör MF, Kafa travmalarında patofizyoloji, Temel Nöroşiruji, Türk Nöroşiruji Derneği Yayınları,Ankara 27:298-305,2005
- 27- Miller JD, Piper IR, Jones PA, Pathophysiology of head injury. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT. Eds. Neurotrauma. Mc Graw Hill; New York; p.61-69, 1996
- 28- Oliver I. Schmidt, Cristoph E. Heyde, Wolfgang Ertel, Philip F. Stabel, Closed head injury-an inflammatory disease? Brain Research Reviews 48: 338-399, 2005
- 29-Marik PE, Varon J, Trask T. Management of head trauma. Chest 2002; 122(2) 699-711.

- 30-Kocsis B, Fedina L, Pasztor E, Effect of preexisting brain ischemia on sympathetic nerve reponse to intracranial hypertension J Appl Physiol 1991; 70(5): 2181-2187
- 31-Marmarou A, Eisberg. HM, Foulkes MA et al. Impact of ICP instability and hypotension on outcome in patients with severe head trauma. J Neurosurg 1991; 75: 59-66.
- 32-Cunningham AS, Salvador R, Coles JP, Chatfield DA, Bradley PG, Johnston AJ, Steiner LA, Fryer TD, Aigbirhio FI, Smielewski P, Williams GB, Carpenter TA, Gillard JH, Pickard JD, Menon DK. Physiological thresholds for irreversible tissue damage in contusional regions following traumatic brain injury. Brain 128: 1931-1942, 2005
- 33-Kelly DF, Martin NA, Kordestani R, Counelis G, Hovda DA Bergsneider M, McBride DQ, Shalmon E, Herman D, Becker DP. Cerebral blood flow as a predictor of outcome following traumatic brain injury. J Neurosurg 86(4) : 633-641, 1997
- 34-DeWitt DS, Prough D, Traumatic cerebral vascular injury; the effects of cocussive brain injury on the cerebral vascularute. J Neurotrauma 20; 795-825, 2003
- 35- Verweji BH, Muizelaar JP, Vinas F, Peterson PL, Xiong Y, Lee CP. Impaired cerebral mitochondrial function after traumatic brain injury in humans. J NeuroUrg.93;815-820, 2000
- 36- Stiefel MF, Udoetuk JD, Spiotta AM, Gracias VH, Goldberg A, Maloney- Wilensky E, Bloom S, Le Roux PD. Conventional neurotocal care and cerebral oxygenation after traumatic brain injury. J Neurosurg 105: 568-575, 2006
- 37- Kempiski O. Cerebral edema. Semin Nephrol 21(3): 303-307, 2001
- 38- Mokri B: The Monro-Kellie Hypothesis: Apications in CSF volüme depletion. Neurology 56(12):1746-1748, 2015
- 39- Lundberg N: Continuous recording and control of ventricular fluid pressure in neurosurgical practice. Acta Psychiatr Scand Suppl 36(149):1-193, 1960
- 40-<https://slideplayer.biz.tr/amp/12488137/>
- 41- Marmarou A. A. Rewiew of progress in understanding the pathophysiology and treatment of brain edema. Neurosurg Focus 22(5); E1. 2007
- 42- Stoica BA, Faden AI. Cell death mechanisms and modulations in traumatic brain injury. Drug discov Today 2008; 13(23-24): 1082-1089

- 43-Adamkov M. Logical complexity of Bcl-2 family proteins function in the intrinsic apoptosis. *Srp Arh Celok Lek* 2019;147:98-104
- 44-Galluzzi L, Vitale I, Aaronson S, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ* 2018;25:486-541
- 45-D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell biology international* 2019;43:582-92
- 46-Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007;35:495-516
- 47-Grilo AL, Mantalaris A. Apoptosis: A mammalian cell bioprocessing perspective. *Biotechnology advances* 2019;37:459-75.
- 48-Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019;20:175-93.
- 49-Kale J, Osterlund EJ, Andrews DW. BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death. *Cell Death Differ* 2018;25:65-80.
- 50-Choo Z, Loh AHP, Chen ZX. Destined to die: Apoptosis and pediatric cancers. *Cancers (Basel)* 2019;11:1623.
- 51-Eldadah BA, Faden AI. Caspase pathways, neuronal apoptosis, and CNS injury. *J Neurotrauma*.2000; 17:811-829
- 52- Smith QR. Transport of glutamate and other amino acids at the blood-brain barrier. *J Nutr* 130(4S Suppl): 1016-1022, 2000-
- 53-<https://silo.tips/download/mmunte-de-korunmu-blge-dokuya-zg-mmun-yanit-gelm-merkez-snr-sstem-rne-gher-saruh>
- 54- Gennarelli TA, Meaney DF. Mechanism of primary head injury. In: wilkins RH, Rengachary SS,(eds). *Neurosurgery*. USA: Mc Graw Hill, 1996: 2611-2621
- 55- Öktem İS, Kamaşak K, Doğu Y. Kafa Travmaları. Sözüer E, İkizceli İ(ed), *Travma El Kitabı*, birinci baskı, Adana Özyurt matbacılık 2011: 451-491
- 56- Rothermundt M, Peters M, Prehn JH, Arolt V. S100B in brain damage and neurodegeneration. *Microsc Res Tech* 2003; 60(6): 614-32.

- 57- Netto CB, Conte S, Leite MC, Pires C, Martins TL, Goncalves CA, et al. Serum S100B protein is increased in fasting rats. Arch Med Res 2006; 37 (5): 683-6.
- 58-Eng LF, Ghirnikar RS. GFAP and astrogliosis. Brain Pathol 1994; 4(3): 229-37
- 59- Harauz G, Ishiyama N, Hill CM, Bates IR, Libich DS, Fares C. Myelin basic protein-diverse conformational states of an intrinsically unstructured protein and its roles in myelin assembly and multiple sclerosis. Micron 2004;35(7):503-42
- 60- Perumal J, Filippi M, Ford C, Johnson K, Lisak R, Khan O. Glatiramer acetate therapy for multiple sclerosis: a review. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2006; 2(6): 1019-29.
- 61- Rolf N, Boehm H, Kaindl AM, Lauterbach I, Suttorp M. Acute ascending motoric paraplegia following intrathecal chemotherapy for treatment of acute lymphoblastic leukemia in children: case reports and review of the literature. Klin Padiatr 2006; 218(6): 350-4.
- 62- Zemlan FP, Rosenberg WS, Luebke PA, Campbell TA, Dean GE, Weiner NE, Cohen JA, Rudick RA, Woo D. Quantification of axonal damage in traumatic brain injury: affinity purification and characterization of cerebrospinal fluid tau proteins. J Neurochem 1999; 72: 741-50
- 63- Shaw GJ, Jauch EC, Zemlan FP. Serum cleaved tau protein levels and clinical outcome in adult patients with closed head injury. Ann Emerg Med 2002; 39(3): 254-7.
- 64- Raabe A, Grolms C, Seifert V. Serum markers of brain damage and outcome prediction in patients after severe head injury. Br J Neurosurg 1999; 13(1): 56-9.
- 65- Berger RP. The Use of Serum Biomarkers to Predict Outcome After Traumatic Brain Injury in Adults and Children. J Head Trauma Rehabil 2006 Vol. 21, No. 4, pp. 315-333
- 66-Obrenovitch TP, Urenjak J. Is high extracellular glutamate the key to excitotoxicity in traumatic brain injury? J Neurotrauma 14: 677-698, 1997
- 67-Shao CX, Roberts KN, Markesbery WR, Scheff SW, Lovell MA. Oxidative stress in head trauma in aging, Free radic Biol Med 41: 77-85, 2006
- 68-<https://slidetodoc.com/serbest-radikaller-ve-antioksidanlar-2-serbest-radikaller-nasl/>
- 69-Wu G, Fang Y.Z. Yang S, Lupton J.R, Turner N.D: Glutathione Metabolism and its implications for health. J. Nutr 134; 489-492, 2004

- 70-Gate L, Paul J, Ba G.N New model of diffuse brain injury in rats. Part 2 Morphological characterization J Neurosurg 80(2): 301-313. 1994
- 71-Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. Neuropharmacology 40: 959-975, 2001
- 72-Cuzzocrea S. Shock, inflammation and PARP. Pharmacol Res 52: 72-82, 2005
- 73- Chong ZZ, Li F, Maiese K. Oxidative stress in the brain: Novel cellular targets that govern survival during neurodegenerative disease. Prog Neurobiology 75: 207-246, 2005
- 74- Yazıcı C, Köse K. Melatonin: karanlığın antioksidan gücü melatonin. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2004;13:56-65
- 75-Özçelik F, Erdem M, Bolu A, Gülsüm M. Melatonin genel özellikler ve psikiyatrik bozukluklar: Psikiyatride güncel yaklaşımlar. 2013;5:179-203
- 76-Şener G. Karanlığın hormonu: melatonin. Marmara Eczacılık Dergisi 2010;14:112-120
- 77-Maestroni GJ. Therapeutic potential of melatonin in immunodeficiency states, viral diseases, and cancer. Adv Exp Med Biol 1999;467:217-226
- 78-Wichman MW, Haisken JM, Ayala A, Chaudry IH. Melatonin administration following hemorrhagic shock decreases mortality from subsequent septic challenge. J Surg Res 1996;65:109-114
- 79-Guerrero JM, Reiter RJ, Melatonin-immune system relationships. Curr Top Med Chem 2002;2:167-179
- 80-Mocchegiani E, Bulian D, Santarelli L, Tibaldi A, Muzzioli M, Lesnikov V, et al. The zinc pool is involved in the immune-reconstituting effect of melatonin in pinealectomized mice. J pharmacol Exp Ther 1996;277:1200-1208.
- 81-Maestroni GJ. The immunotherapeutic potential of melatonin. Expert Opin Investig Drugs 2001;10:467-476
- 82-Maestroni GJ. The immunoneuroendocrine role of melatonin. J Pineal Res 1993;14:1-10
- 83-Çetin E. Melatonin ve Bağışıklık sistemi. Erciyes üniversitesi Vet Fak Derg 2005;2:119-123

- 84-Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Braz J Med Biol Res* 1993;26:1141-1155
- 85-Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. *Biochem Pharmacol* 1998;56:1265-72
- 86-Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J Biomed Sci* 2000;7:444-58
- 87-Kerman M, Cirak B, Ozguner MF, Dagtekin A, Sutcu R, Altuntas I, et al. Does melatonin protect or treat brain damage from traumatic oxidative stress? *Exp Brain Res* 2005;163:406-10
- 88-Kus D, Sarsılmaz M. Pineal bezin morfolojik yapısı fonksiyonları. *T Klin J Med Sci* 2002;22:221-226
- 89-Yazıcı C, Köse K. Melatonin: karanlığın antioksidan gücü melatonin. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004;13:56-65
- 90-Wurtman RJ, Zhdanogava I. Improvement of sleep quality by melatonin. *Lancet* 1995;346:1491
- 91-Garfinkel D, Laudon M, Herer P, Vidger C, Zisapel N. Melatonin replacement therapy of elderly insomniacs. *Sleep* 1995;18:598-603
- 92-Lerner AB, Nordlund JJ. Melatonin: clinical pharmacology. *J Neural Transm Suppl* 1978;13:339-47
- 93-Khaleghipour S, Masjedi M, Ahade H, Enayete M, Pasha G, Nadery F, et al. Morning and nocturnal serum melatonin rhythm levels in patients with major depressive disorder: an analytical cross-sectional study. *Sao Paulo Med J* 2012;130:167-172
- 94-Özçelik F, Erdem M, Bolu A, Gülsün M. Melatonin Genel özellikleri ve psikiyatrik bozukluklardaki rolü. 2013
- 95- Khaleghipour S, Masjedi M, Ahade H, Enayete M, Pasha G, Nadery F, et al. Morning and nocturnal serum melatonin rhythm levels in patients with major depressive disorder: an analytical cross-sectional study. *Sao Paulo Med J* 2012;130:167-172
- 96-Lam RW, Berkowitz AL, Berga SL, Clark CM, Kripke DF, Gillin JC. Melatonin suppression in bipolar and unipolar mood disorders. *Psychiatry Res* 1990;33:129-13

- 97-Pacchierotti C, Iapichio S, Bossini L, Pieraccini F, Castrogiovanni P. Melatonin in psychiatric disorders: a review on the melatonin involvement in psychiatry. *Front Neuroendocrinol* 2001;22:18-32
- 98-Sarlak G, Jenwitheesuk A, Chetsawang B, Govitrapong P. Effects of melatonin on nervous system aging: neurogenesis and neurodegeneration. *J Pharmacol Sci* 2013;123:9-24
- 99-http://norosirurji.dergisi.org/pdf/pdf_TND_1584.pdf
- 100-Xiong Y, Mahmood A, Chopp M: Animal models of traumatic brain injury. *Nat Rev Neurosci* 14:128-142,2013
- 101-Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, Murray HM, Dail WG: Response to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat. *Brain Res* 211:67-77, 1981
- 102-http://norosirurji.dergisi.org/pdf/pdf_TND_1584.pdf
- 103-Pieri C, Marra M, Moroni F, et al. Melatonin: a peroxyl radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci* 1994; 55:271-6
- 104- Roozenbeek, B., Maas, A. I., & Menon, D. K. (2013). Changing patterns in the epidemiology of traumatic brain injury. *Nature Reviews Neurology*, 9(4), 231-236.
- 105- Feigin, V. L., Theadom, A., Barker-Collo, S., Starkey, N. J., McPherson, K., Kahan, M., ... & BIONIC Study Group. (2013). Incidence of traumatic brain injury in New Zealand: a population-based study. *The Lancet Neurology*, 12(1), 53-64.
- 106- Osier, N., McGreevy, E., Pham, L., Puccio, A., Ren, D., Conley, Y. P., ... & Dixon, C. E. (2018). Melatonin as a therapy for traumatic brain injury: a review of published evidence. *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1539.
- 107- Wang, X. (2009). The antiapoptotic activity of melatonin in neurodegenerative diseases. *CNS neuroscience & therapeutics*, 15(4), 345-357.
- 108- Seabra, M. D. L. V., Bignotto, M., Pinto Jr, L. R., & Tufik, S. (2000). Randomized, double-blind clinical trial, controlled with placebo, of the toxicology of chronic melatonin treatment. *Journal of pineal research*, 29(4), 193-200.

- 109- Le Bars, D., Thivolle, P., Vitte, P. A., Bojkowski, C., Chazot, G., Arendt, J., ... & Claustrat, B. (1991). PET and plasma pharmacokinetic studies after bolus intravenous administration of [11C] melatonin in humans. *International journal of radiation applications and instrumentation. Part B. Nuclear medicine and biology*, 18(3), 357-362.
- 110- Wiechmann, A. F., Chignell, C. F., & Roberts, J. E. (2008). Influence of dietary melatonin on photoreceptor survival in the rat retina: an ocular toxicity study. *Experimental eye research*, 86(2), 241-250.
- 111- Wang, J., Xiao, X., Zhang, Y., Shi, D., Chen, W., Fu, L., ... & Deng, W. (2012). Simultaneous modulation of COX-2, p300, Akt, and Apaf-1 signaling by melatonin to inhibit proliferation and induce apoptosis in breast cancer cells. *Journal of pineal research*, 53(1), 77-90.
- 112- Wang, X., Sirianni, A., Pei, Z., Cormier, K., Smith, K., Jiang, J., ... & Friedlander, R. M. (2011). The melatonin MT1 receptor axis modulates mutant Huntingtin-mediated toxicity. *Journal of Neuroscience*, 31(41), 14496-14507.
- 113- Zhang, Y., Cook, A., Kim, J., Baranov, S. V., Jiang, J., Smith, K., ... & Friedlander, R. M. (2013). Melatonin inhibits the caspase-1/cytochrome c/caspase-3 cell death pathway, inhibits MT1 receptor loss and delays disease progression in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology of disease*, 55, 26-35.
- 114- Weishaupt, J. H., Bartels, C., Pölking, E., Dietrich, J., Rohde, G., Poeggeler, B., ... & Ehrenreich, H. (2006). Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. *Journal of pineal research*, 41(4), 313-323.
- 115- Ding, K., Xu, J., Wang, H., Zhang, L., Wu, Y., & Li, T. (2015). Melatonin protects the brain from apoptosis by enhancement of autophagy after traumatic brain injury in mice. *Neurochemistry international*, 91, 46-54.
- 116- Lin, C., Chao, H., Li, Z., Xu, X., Liu, Y., Hou, L., ... & Ji, J. (2016). Melatonin attenuates traumatic brain injury-induced inflammation: a possible role for mitophagy. *Journal of pineal research*, 61(2), 177-186.
- 117- Lee, S., Jadhav, V., Ayer, R. E., Rojas, H., Hyong, A., Lekic, T., ... & Zhang, J. H. (2009). Dual effects of melatonin on oxidative stress after surgical brain injury in rats. *Journal of pineal research*, 46(1), 43-48.

- 118- Yürüker, V., Nazıroğlu, M., & Şenol, N. (2015). Reduction in traumatic brain injury-induced oxidative stress, apoptosis, and calcium entry in rat hippocampus by melatonin: Possible involvement of TRPM2 channels. *Metabolic brain disease*, 30(1), 223-231.
- 119- Takase, H., Washida, K., Hayakawa, K., Arai, K., Wang, X., Lo, E. H., & Lok, J. (2018). Oligodendrogenesis after traumatic brain injury. *Behavioural brain research*, 340, 205-211.
- 120- Dent, K. A., Christie, K. J., Bye, N., Basrai, H. S., Turbic, A., Habgood, M., ... & Turnley, A. M. (2015). Oligodendrocyte birth and death following traumatic brain injury in adult mice. *PloS one*, 10(3), e0121541.
- 121- Kashani, I. R., Rajabi, Z., Akbari, M., Hassanzadeh, G., Mohseni, A., Eramsadati, M. K., ... & Zendedel, A. (2014). Protective effects of melatonin against mitochondrial injury in a mouse model of multiple sclerosis. *Experimental brain research*, 232(9), 2835-2846.
- 122- Ikram, M., Park, H. Y., Ali, T., & Kim, M. O. (2021). Melatonin as a Potential Regulator of Oxidative Stress, and Neuroinflammation: Mechanisms and Implications for the Management of Brain Injury-Induced Neurodegeneration. *Journal of Inflammation Research*, 14, 6251.
- 123- Ge, J., Chen, D., Ben, J., Song, X., Zou, L., & Yi, X. (2020). Effect of melatonin on regeneration of cortical neurons in rats with traumatic brain injury. *Clinical and Investigative Medicine*, 43(4), E8-16.
- 124- Kemp, S., Biswas, R., Neumann, V., & Coughlan, A. (2004). The value of melatonin for sleep disorders occurring post-head injury: a pilot RCT. *Brain Injury*, 18(9), 911-919.



9. EKLER

9.1. İntihal Raporu

Uzmanlık Tezi

Yazar Sezer Onur Günara

Gönderim Tarihi: 20-Mar-2022 05:38PM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1788255110
Dosya adı: sezer_tez_17-02-2022_-_Turnitin.docx (7.4M)
Kelime sayısı: 12936
Karakter sayısı: 94228

Uzmanlık Tezi

ORJİNALLİK RAPORU

%**6**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**6**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**0**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

updoc.site

İnternet Kaynağı

%**2**

2

tez.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**2**

3

guncel.tgv.org.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

4

dergipark.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

Alıntıları çıkart

Kapat

Eşleşmeleri çıkar

< 100 words

Bibliyografyayı Çıkart

Kapat