



T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**FARE KAFA TRAVMASI MODELİNDE DEKSMEDETOMİDİNİN
İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Dicle KARAKAYA

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2018



T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**FARE KAFA TRAVMASI MODELİNDE DEKSMEDETOMİDİNİN
İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Dicle KARAKAYA

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Melike MUT AŞKUN

ANKARA

2018

TEŞEKKÜR

Nöroşirürji eğitimim süresince bilgi, birikim ve desteğini esirgemeyen; bu çalışmanın planlanması, uygulanması ve sonuçlandırılmasında büyük emeği geçen danışmanım Sayın Prof. Dr. Melike Mut Aşkun'a saygı ve sevgilerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilimsel, mesleki ve sosyal deneyimlerini benimle paylaşan, cerrahi prensip ve mesleki özgüvenimin oluşmasında büyük emeği olan, yanında çalışmaktan onur duyduğum Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Servet İnci ve değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Mustafa Berker, Sayın Prof. Dr. Atilla Akbay, Sayın Prof. Dr. Burçak Bilginer Sayın Doç. Dr. Halil Kamil Öge ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ahmet İlkay Işıkkay'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, eğitimim boyunca beraber çalıştığım bütün araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için gerekli altyapı ve desteği sağlayan, kendisinden çok şey öğrendiğim, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen Sayın Bio. Dr. Canan Çakır Aktaş ve Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü öğretim üyelerine, bu çalışmada bana yardımcı olan arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Emre Sağlam, Araş. Gör. Dr. Eray Tekirdaş, Araş. Gör. Görkem Yavaş, Araş. Gör. Diaa Yahya ve teknisyen Mesut Fırat'a, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Şennur Uzun'a ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Figen Söylemezoğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak uzmanlık eğitimim sırasında en zor zamanlarımda yanımda olan, hiçbir fedakarlıktan çekinmeyen, varlıkları ile her daim yolumu aydınlatan sevgili annem Ayşenur Karakaya ve babam Ufuk Karakaya'ya, ablası olmaktan mutluluk duyduğum kardeşim ve aynı zamanda meslektaşım Sıla Ufuk Karakaya'ya destekleri için teşekkür ederim.

Tezimi kardeşim Sıla Ufuk Karakaya'ya ithaf ediyorum.

ÖZET

Karakaya D. Fare kafa travması modelinde deksmedetomidinin inflamasyon üzerine etkilerinin incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirurji Anabilim Dalı, Ankara, 2018.

Giriş ve Amaç: Travmatik beyin hasarı (TBH), dünya genelinde kalıcı veya geçici sakatlıkların ve ölümün en sık nedenidir. Travma sonrası nörolojik fonksiyon kayıplarına neden olan ikincil (sekonder) hasar süreci ilerleyici nörodejenerasyona ve gecikmiş hücre ölümüne sebep olmaktadır. İkincil hasarda verilen cevaplardan biri olan nöroinflamasyon, santral sinir sisteminin patojenlere veya hücresel hasar sonucu oluşan sinyal moleküllere karşı oluşan doğal immün yanıttır. Doğal bağışıklık sistemi, steril inflamasyonda hasarlı hücreler tarafından salınan ve inflamatuvar yanıtı başlatan “damage-associated molecular patterns” (DAMPs) tarafından aktive edilir. İnflamazom adı verilen sitozolik multiprotein komplekslerinin aktive olması aktif kaspaz-1 oluşumunu, kaspaz-1 ise prointerlökin-1 β ve 18’in matür formlarına dönüşümünü sağlar. Bunun yanı sıra geç dönemde lenfosit ve mikrogliya/makrofaj aktivasyonu izlenir. Deksmetomidin (DEX), antiinflamatuvar etkileri birçok deneysel hayvan modellerinde gösterilmiş, solunum baskılanmasına neden olmadan ağrı kesici ve sedasyon etkileri olan, güçlü ve selektif bir α 2-adrenoseptör (adrenerjik reseptör) agonistidir. Bu çalışmada, kafa travması modelinde antiinflamatuvar ve sedatif dozlarda verilen intraperitoneal DEX’in, 3. günde inflamasyon üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, 4 ayrı grup ve her grupta 5 adet Swiss Albino fare (n=5) olacak şekilde toplam 20 adet fare kullanılmıştır. 5’i *sham* grubu, 5’i kontrol grubu, 10 tanesi ise deney grubu olarak ayrılmıştır. Farelere 9 cm yükseklikten 80 gr serbest ağırlık düşürülerek kafa travması modeli oluşturulmuştur. Travmadan yarım saat sonra kontrol grubuna intraperitoneal serum fizyolojik, deney gruplarına ise intraperitoneal sırasıyla 40 ve 200 μ g/kg DEX enjeksiyonu yapılmıştır. Tüm grupların 1. ve 3. gün sonunda nörolojik değerlendirmeleri mNSS ile yapıp fareler kurban edildikten sonra beyin dokularındaki histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır.

Bulgular: 40 µg/kg dozunda verilen DEX ile nörolojik olarak anlamlı bir iyileşme sağlandığı ($p=0,024$), 200 µg/kg DEX verildiğinde ise iyileşmenin istatistiksel olarak anlamlılığa yakın olduğu görülmüştür ($p=0,06$). IL-1 β sinyal pozitifliği, 200 µg/kg DEX verilen grupta anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,028$). Iba-1 (İyonize kalsiyum bağlayıcı adaptör molekül-1) ile işaretlenen mikrogliaların hasarlı bölgeye göçünün, kontrol grubuna göre 200 µg/kg DEX verilen grupta daha az olduğu görülmektedir ($p=0,031$). 40 ve 200 µg/kg DEX verilen gruplarda kontrol grubuna göre aktif mikroglia sayısı da anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,0357$ ve $p=0,0357$). T lenfosit infiltrasyonu değerlendirildiğinde, 40 µg/kg DEX verilen grupta kontrol grubuna göre CD3 + hücre sayısının anlamlı olarak daha az olduğu görülmüştür ($p=0,05$). Kontrol grubu, 40 ve 200 µg/kg DEX verilen gruplar ile karşılaştırıldığında NLRP3 sinyali ilaç verilen gruplarda anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,031$ ve $p=0,031$). Son olarak, histopatolojik incelemelerde, DEX verilen deney gruplarında sitotoksik ödemin azaldığı görülmüştür.

Sonuç: Fare kafa travması modelinde DEX kullanımı, nöroinflamasyon ve mikroglial aktivasyonu inhibe ederek nörolojik fonksiyonlarda düzelmeye katkı sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Travmatik beyin hasarı, inflamasyon, inflamazom, mikroglia

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (HÜBAP) (Proje numarası: THD-2017-16630) tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Karakaya D. Investigation of antiinflammatory effects of dexmedetomidine on experimental traumatic brain injury model, Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Ankara, 2018.

Introduction & Objectives: Traumatic brain injury (TBI) is a leading cause of mortality and permanent or transient neurological disability worldwide. After primary damage, secondary damage processes begin, which last longer and cause loss of neurological function. Neuroinflammation, one of the responses to secondary damage, is an innate immune response to the pathogens or signaling molecules that result from cellular damage. The innate immune system is activated by "damage-associated molecular patterns" (DAMPs), which are released by damaged cells in sterile inflammation then inflammatory response begins. Activation of inflammasomes, which are a group of cytosolic multiprotein complexes, initiates the cleavage of pro-caspase-1 to the mature form of caspase-1 which is then able to cleave pro IL-1 β and pro IL-18 into their mature forms of IL-1 β and IL-18. In addition, later in the response, lymphocyte and microglia/macrophage activation is observed. Dexmedetomidine (DEX) is a potent and highly selective α 2-adrenoceptor agonist which has analgesic and sedative properties without causing respiratory depression, and its antiinflammatory effects are shown in many experimental animal models. In this study, we aimed to investigate the antiinflammatory effects of intraperitoneal dexmedetomidine given in antiinflammatory and sedative doses, on the third day of inflammation in experimental traumatic brain injury model.

Material & Methods: In this study, twenty male Swiss Albino mice were divided into four groups: *sham* (n=5), control (n=5), 40 μ g/kg DEX (n=5) and 200 μ g/kg DEX (n=5) injected groups. Closed head trauma was performed by using weight drop model (80 gr, 9 cm). Half an hour after the trauma, intraperitoneal saline was injected into the control group and intraperitoneal 40 and 200 μ g / kg DEX were given to the experimental groups. Neurological evaluations of all the groups were performed with mNSS at the end of the first and third days. The mice were sacrificed in the third day and histopathologic and immunohistochemical findings of the brain tissues were examined and compared with the control group.

Results: A neurologically significant improvement was obtained with DEX given at 40 µg / kg dose ($p = 0.024$), but when 200 µg / kg DEX was given, the improvement was not found to be statistically significant ($p = 0,06$). IL-1 β signal positivity was significantly reduced in the group given 200 µg / kg DEX compared to the control group ($p = 0.028$). The number of Iba-1 (Ionized calcium binding adaptor molecule-1) marked microglia which have migrated to the injury site was lower in the group that has been given 200 µg / kg DEX than the control group ($p = 0.031$). In the 40 and 200 µg / kg DEX groups, the number of active microglia was significantly lower than the control group ($p = 0.0357$ and $p = 0.0357$). When T lymphocyte infiltration was evaluated, the number of CD3 + cells were significantly lower in the group given 40 µg / kg DEX compared to the control group ($p = 0,05$). NLRP3 signal was significantly reduced in both of the drug-treated groups when compared to the control group ($p = 0.031$ and $p = 0.031$, respectively). Lastly, in histopathological examinations, cytotoxic edema decreased in experimental groups which were given DEX.

Conclusion: In mice head trauma model, dexmedetomidine inhibits neuroinflammation and microglial activation that contributes to neurological recovery.

Keywords: Traumatic brain injury, inflammation, inflammasome, microglia

Supported by HÜBAP (Project number: THD-2017-16630).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Travmatik Beyin Hasarı: Epidemiyoloji	3
2.2. Travmatik Beyin Hasarının Türleri ve Sınıflandırmalar	4
2.3. Travmatik beyin hasarı: klinik bulgular, tanı, tedavi ve prognoz	8
2.3.1. Fokal Beyin Hasarı	8
2.3.1.1. Kontüzyon	8
2.3.1.2. Travmatik İntrakranial Hematomlar	9
2.3.1.2.1. Epidural Hematom	9
2.3.1.2.2. Subdural Hematom	9
2.3.1.2.3. İntraserebral Hematom	11
2.3.2. Diffüz Beyin Hasarı	11
2.3.2.1. Konküzyon	11
2.3.2.2. Diffüz Aksonal Hasar	12
2.4. Travmatik beyin hasarının mekanizması	13
2.4.1. Primer (Birincil) Hasar	13
2.4.2. Sekonder (İkincil) Hasar	16

2.5.	Travmatik Beyin Hasarında Spesifik Mekanizmalar	17
2.5.1.	Travmada Serebral Kan Akımı	17
2.5.1.1.	Hipoperfüzyon fazı (Faz 1, ilk gün)	18
2.5.1.2.	Hiperperfüzyon fazı (Faz 2, 1-3 gün arası)	18
2.5.1.3.	Vazospazm fazı (Faz 3, 4-15 gün arası)	18
2.5.2.	Serebral Kan Akımının Düzenlenmesi – Serebrovasküler Otoregülasyon ve CO ₂ Reaktivitesi	19
2.5.3.	Serebral Oksijenizasyon	19
2.5.4.	Eksitotoksisite ve Oksidatif Stres	20
2.5.5.	Ödem	20
2.5.6.	İnflamasyon	21
2.5.7.	Nekroz ve Apoptoz	21
2.6.	Nöroinflamasyon	22
2.6.1.	İnflamazom Tanımı, Yapısı ve İşlevi	22
2.6.2.	İnflamazomların Aktivasyonu ve Regülasyonu	23
2.6.3.	İnflamazom Aktivasyonunun Nöroinflamasyon Üzerine Etkileri	24
2.6.4.	Nörolojik Hastalıklarda İnflamazomlar	25
2.6.4.1.	Alzheimer Hastalığı	25
2.6.4.2.	Multiple Skleroz (MS)	27
2.6.4.3.	Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS)	27
2.6.4.4.	Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları	28
2.6.4.5.	Serebral İskemi	28
2.6.4.6.	Hemorajik İnme	28
2.7.	Travmatik Beyin Hasarında İnflamasyon ve Nöroproteksiyon	29
2.8.	Deksmedetomidin	33
2.8.1.	Genel Bilgiler	33
2.8.2.	Farmakoloji	34
2.8.3.	Kardiyovasküler ve Solunum Sistemi Etkileri	34
2.8.4.	Santral Sinir Sistemi Etkileri	35
2.8.5.	Nöroprotektif ve Antiinflamatuvar Etkileri	35

3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları	36
3.2. Deney Grupları ve Protokol	36
3.3. Anestezi ve Yaşamsal Bulguların Takibi	37
3.4. Kafa Travmasının Oluşturulması	38
3.5. İntraperitoneal Deksmetomidinin Hazırlanması ve Verilmesi	39
3.6. Nörolojik Değerlendirme	39
3.7. Sakrifikasyon, Beyinlerin Çıkarılması ve Fiksasyon	41
3.8. Kesitlerin Alınması ve İmmünohistokimyasal ve Histopatolojik Değerlendirme	41
3.9. İstatistiksel Değerlendirme	43
4. BULGULAR	44
4.1. Travma Şiddetinin Etkisi	44
4.2. Nörolojik Değerlendirme Sonuçları	44
4.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	46
4.3.1. IL-1 β Sinyalinin Değerlendirilmesi	47
4.3.2. Iba-1 ile Mikroglia Aktivasyonunun Gösterilmesi	49
4.3.3. T Lenfosit Aktivasyonunun Gösterilmesi	52
4.3.4. NLRP3 Sinyalinin Değerlendirilmesi	54
4.4. Histopatolojik Değerlendirme	57
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇ	65
7. KAYNAKLAR	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

A β	: Amiloid β
AIM2	: Absent in melanoma-2
AMP	: Adenozin monofosfat
AMPA	: α -amino-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionat
ALS	: Amyotrofik lateral skleroz
ATP	: Adenozin trifosfat
AVFO ₂	: Arteriovenöz oksijen farkı
cAMP	: siklik AMP
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
BT	: Bilgisayarlı tomografi
DAH	: Diffüz aksonal hasar
DAMPs	: Damage-associated molecular patterns
DEX	: Deksmedetomidin
EAE	: Deneyisel otoimmün ensefalomyelit
EDH	: Epidural hematoma
GDNF	: Glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör
GFAP	: Glial fibriler asidik protein
GKS	: Glasgow koma skoru
GMP	: Guanozin monofosfat
H-E	: Hematoksilen-eozin

HIF	: Hipoksi ile indüklenen faktör
HSP	: Isı şok proteinleri
Iba-1	: İyonize kalsiyum bağlayıcı adaptör molekül-1
ICD	: International Classification of Disease
ICAM-1	: İntraselüler hücre adhezyon molekülü
IL	: İnterlökin
İSH	: İntraserebral hematoma
İKB	: İntakranial basınç
IMPACT	: International Mission for Prognosis and Clinical Trial
mNSS	: Modified neurologic severity score
MS	: Multiple skleroz
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
NLRs	: NOD benzeri reseptörler
NLRP1	: Nod benzeri reseptör proteini 1
NLRP3	: Nod benzeri reseptör proteini 3
NMDA	: N-metil D-aspartat
PAMPs	: Pathogen-associated molecular patterns
PtO ₂	: Beyin dokusu oksijen basıncı
PTA	: Posttravmatik amnezi
SAK	: Subaraknoid kanama

SDH	: Subdural hematom
SjO ₂	: Juguler venöz bulbus oksijen saturasyonu
SKA	: Serebral kan akımı
SMHO ₂	: Oksijenin serebral metabolik hızı
SPB	: Serebral perfüzyon basıncı
SSS	: Santral sinir sistemi
TBH	: Travmatik beyin hasarı
TLRs	: Toll-benzeri reseptörler
TNF	: Tümör nekroze edici faktör
VCAM	: Vasküler hücre adhezyon molekülü
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Primer travmatik beyin hasarı.	15
Şekil 2.2. İnflamazomun (NLRP3) yapısı ve işlevi.	23
Şekil 2.3. İnflamazom aktivasyonunun nöroinflamasyon üzerine etkileri.	25
Şekil 2.4. NLRP3'ün A β tarafından aktive edilmesi.	26
Şekil 2.5. TBH sonrası dinlenme halindeki mikroglia ve astrositlerin aktive olması ve reaktif gliosis oluşumu.	31
Şekil 2.6. TBH sonrası NLRP1 inflamazom aktivasyonu.	32
Şekil 2.7. Deksmetomidinin kimyasal yapısı.	34
Şekil 3.1. Travma modelinde ağırlık sağ parietal kemikte işaretlenen alana düşürülmüştür.	37
Şekil 3.2. Kraniumun ortaya konulması.	38
Şekil 3.3. Ağırlık düşürme düzeneği ile kafa travmasının oluşturulması.	39
Şekil 3.4. Torakotomi, kardiyak perfüzyon ile doku fiksasyonu ve beynin koronal düzlemde kesitlerinin alınması.	41
Şekil 3.5. Şematik fare beyni koronal kesitinde beyin kısımlarının numaralandırılması.	43
Şekil 4.1. Kafa travması oluşturulan farelerde kranial/intrakranial hasar bulguları.	44
Şekil 4.2. 1. ve 3. gün sonunda yapılan nörolojik muayene skorlarının gruplar içinde değerlendirilmesi.	45
Şekil 4.3. 1. ve 3. gün sonunda yapılan nörolojik muayene skorlarının gruplar arasında değerlendirilmesi.	46
Şekil 4.4. Travma modeli oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularında IL-1 β 'nın epifloresan mikroskop ile görüntülenmesi (40X büyütme, ölçek 20 μ m).	47
Şekil 4.5. IL-1 β sinyalinin karşılaştırılması.	48

Şekil 4.6. Dallanmış, ince uzantıları (beyaz ok) olan dinlenim halindeki (A) ve aktif, ameboid mikroglialar (B).	49
Şekil 4.7. Travma modeli oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularında Iba-1 ile işaretlenmiş mikroglial hücrelerin epifloresan mikroskop ile görüntülenmesi (40X büyütme, ölçek 20 µm).	50
Şekil 4.8. Iba-1 ile işaretlenmiş hasarlı dokuya göç etmiş tüm mikrogliaların gruplar arasında karşılaştırılması.	51
Şekil 4.9. Iba-1 ile işaretlenmiş hasarlı dokuya göç etmiş aktif mikrogliaların gruplar arasında karşılaştırılması.	52
Şekil 4.10. Travma modeli oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularında CD3 ile işaretlenmiş T lenfositlerin epifloresan mikroskop ile görüntülenmesi (40X büyütme, ölçek 20 µm).	53
Şekil 4.11. CD3 ile işaretlenmiş T lenfositlerin gruplar arasında karşılaştırılması.	54
Şekil 4.12. Travma modeli oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularında NLRP3 inflamazom protein kompleksinin epifloresan mikroskop ile görüntülenmesi (40X büyütme, ölçek 20 µm).	55
Şekil 4.13. NLRP3 sinyalinin karşılaştırılması.	56
Şekil 4.14. <i>Sham</i> grubundaki farelerin beyin dokusunda H-E boyaması.	57
Şekil 4.15. Kontrol grubundaki farelerin beyin dokusunda H-E boyaması.	57
Şekil 4.16. 40 µg/kg DEX verilen farelerin beyin dokusunda H-E boyaması.	58
Şekil 4.17. 200 µg/kg DEX verilen farelerin beyin dokusunda H-E boyaması.	58
Şekil 4.18. Kontrol (A), 40 µg/kg DEX (B) ve 200 µg/kg DEX (C) verilen farelerin beyin dokularında yapılan H-E boyaması (40X büyütme).	59
Şekil 5.1. Travmatik beyin hasarında immün yanıtta yer alan moleküllerin ve hücrelerin zamansal dağılımı.	61
Şekil 5.2. TBH'de primer hasar sonrası oluşan nöroinflamasyon kaskadı.	63

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Glasgow Koma Skalası	5
Tablo 2.2. Fokal ve diffüz yaralanmalar	6
Tablo 2.3. Beyin hasarının BT bulgularına göre sınıflandırılması: <i>Marshall Skoru</i>	7
Tablo 2.4. Beyin hasarının BT bulgularına göre sınıflandırılması: <i>Rotterdam Skoru</i>	7
Tablo 2.5. Subdural Hematom Sınıflaması	10
Tablo 2.6. Diffüz Aksonal Hasar Nöropatolojik Sınıflaması	12
Tablo 3.1. Modified neurological severity score (mNSS)	40

1. GİRİŞ

Beyin fonksiyonlarında kafaya alınan darbe, sarsıntı, patlama, penetran yaralanma veya direkt dışardan bir kuvvet uygulanmadan ivmelenme ile oluşan değişiklikler olarak tanımlanan travmatik beyin hasarı (TBH), son yıllarda önemli bir halk sağlığı sorunu olup dünya genelinde kalıcı veya geçici sakatlıkların ve ölümün en sık nedenidir (1, 2). Sadece Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) yıllık 2,5 milyon acil servis başvurusu TBH ile ilişkili olup, bu hastaların yaklaşık 270.000'i hospitalize edilmektedir. Her yıl 50.000'den fazla kişi bu nedenle ölmekte ve 80.000'i ise kalıcı sakatlıkla sonuçlanmaktadır (3, 4). Genç erişkinlerde motorlu araç kazaları, 65 yaş üzerinde ise düşmeler kafa travmasına bağlı ölüm ve sakatlıkların en önemli nedenidir (4). İnsidans erken çocukluk, geç ergenlik-erken yetişkinlik ve yaşlılık olmak üzere üç yaş grubunda artış göstermektedir ve erkeklerde daha sıktır (5).

Travma sonrası beyinde, saniyeler ve dakikalar içinde oluşan ve nöron ölümü ile sonuçlanan ilk hasar, birincil (primer) hasar olarak tanımlanır. Birincil hasarda kemik fraktürleri, beynin kafatası kemikleri altında direkt ezilmesi sonucu kontüzyonlar, ekstrasdural hematom ve akselerasyon-deselerasyon ile oluşan akut subdural hematom ve diffüz aksonal hasar gibi mekanizmalar rol oynar. Birincil hasarın sonuçlanmasıyla etkisi saatler, günler hatta aylar süren daha karmaşık biyokimyasal ve fizyolojik olayları içeren ve travma sonrası nörolojik fonksiyon kayıplarına önemli ölçüde neden olan ikincil (sekonder) hasar süreci başlar. Bu süreç hasarlı dokuda homeostazı sağlamak için hücresel ve moleküler yanıtları içermekle birlikte sıklıkla birincil hasarın alevlenmesine, ilerleyici nörodejenerasyona ve gecikmiş hücre ölümüne sebep olmaktadır. İkincil hasarda verilen cevap, kan beyin bariyerinin yıkılması, oksidatif stres, glutamat eksitotoksitesisi ve nöroinflamasyonu (sitokin üretimi, astrosit ve mikrogliya aktivasyonu ve makrofaj infiltrasyonu) içermektedir (6). Nöroinflamasyon, santral sinir sisteminin patojenlere veya hücresel hasar sonucu oluşan sinyal moleküllere karşı oluşan doğal immün yanıttır. İnflamatuvar yanıt, bu patojenlerin elimine edilmesi, hasarlı hücrelerin temizlenmesi ve doku tamiri için gerekli olsa da, kontrolsüz nöroinflamasyon daha fazla doku yıkımına ve nöral disfonksiyona neden olmakta ve nörolojik fonksiyon kayıpları ile sonuçlanmaktadır (7).

Akut dönemin ardından doğal bağışıklık sistemi, ısı şok proteinleri (HSP), ürik asit, adenosin trifosfat (ATP), potasyum ve nükleik asitler gibi steril inflamasyonda

hasarlı hücreler tarafından salınan ve inflamatuvar yanıtı başlatan “damage-associated molecular patterns” (DAMPs) tarafından aktive edilir. DAMPs, sitozolde bulunan NOD benzeri reseptörler (NLRs) tarafından tanınır. İnflamatuvar yanıtta görev alan bir sistein proteaz olan prokaspaz-1, adaptör proteini (ASC) ve sitozolik sensör, inflamazom adı verilen multiprotein kompleksi oluşturur. Travmatik beyin hasarı ile ilişkisi gösterilmiş başlıca inflamazomlar NLRP1 (Nod benzeri reseptör proteini 1), NLRP3 (Nod benzeri reseptör proteini 3) ve AIM2 (absent in melanoma-2)’dir. İnflamazomların aktive olması prokaspaz-1’in proteolitik etkisi olan aktif alt ünitelere yani kaspaz-1’e dönüşümünü sağlar. Kaspaz-1 ise prointerlökin-1 β ve 18’in matür formlarının oluşumunu sağlar. Bunun yanı sıra geç dönemde lenfosit ve makrofaj aktivasyonu ve mikrogliyalarda da birtakım morfolojik değişiklikler izlenir (8, 9).

Günümüzde mannitol, hipertonic salin, intrakranial basınç monitorizasyonu gibi temel tedaviler, bu hastaların hastaneye başvurusu, tanı konması ve tedavisinin başlanmasına kadar geçen süreçte sekonder hasar mekanizmaları devreye girdiği için sekonder hasarın azaltılması üzerinedir (10).

Son yıllarda yoğun bakım ünitelerinde kullanılmaya başlanan deksmedetomidin (DEX), yeni nesil, solunum baskılanmasına neden olmadan ağrı kesici ve sedasyon etkileri olan, güçlü ve selektif bir α_2 adrenerjik reseptör agonistidir. Hipnotik etkisini locus cereleustaki noradrenerjik nöronlarda hiperpolarizasyon ile gösterir. Antiinflamatuvar etkileri, serebral iskemi-reperfüzyon hasarı (11, 12), sepsiste akciğer hasarı (13), akut böbrek hasarı (14), myokardial iskemi-reperfüzyon hasarı (15) ve hepatik iskemi-reperfüzyon hasarında (16) gösterilmesine rağmen travmatik beyin hasarında bu ilacın etki mekanizmalarını aydınlatmak için başka çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada, kafa travması modelinde antiinflamatuvar ve sedatif dozlarda verilen intraperitoneal DEX’in, 3. günde inflamasyon üzerindeki etkilerinin incelenmesi, 1. ve 3. gün nörolojik değerlendirmelerin karşılaştırılması ve 3. gün sonunda sakrifiye edildikten sonra beyin dokularının histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenerek kontrol grubuyla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Travmatik Beyin Hasarı: Epidemiyoloji

Travmatik beyin hasarı (TBH), doğrudan etki, ani akselerasyon veya deselerasyon kuvvetleri, künt veya penetran travma gibi dış kuvvetler sonucunda beyin işlevlerinde bozulma veya beyinde nöroradyolojik olarak travmaya ait bulguların gösterilmesidir. Bilinç kaybı veya bilinç düzeyinde azalma, travmadan hemen öncesini (retrograd) veya sonrasında (posttravmatik) kapsayan amnezi, objektif olarak nörolojik defisit (kuvvet veya duyu kaybı, dengesizlik, görme bozukluğu, afazi) gelişimi veya travma sırasında mental durumda bozulma (konfüzyon, dezoryantasyon, algıda yavaşlama) gibi klinik belirtilerden herhangi birinin olması beyin işlevlerinde bozulma olarak tanımlanır (1). Beyin işlevlerinde bozulma olmaksızın yüz ve skalpi ilgilendiren travmaları (laserasyon veya abrazyon gibi) da kapsadığından, önceleri yaygın olarak kullanılan *kafa travması* tanımından uzaklaşmıştır.

Epidemiyolojik çalışmalarda verilerin üç kaynaktan elde edildiği görülmüştür: hastane başvurusu veya taburculuk kayıtları, acil servis kayıtları ve ölüm bildirimleri. Ancak hafif şiddette kafa travması geçiren veya evde yaralanan yaşlı hastaların hastaneye başvurmaması nedeniyle verilerin toplanmasında zorluk yaşanmaktadır. Yanı sıra, dahil edilme kriterleri açısından travma sonrası amnezi, konfüzyon ve bilgisayarlı tomografide (BT) beyin hasarı bulgularının varlığı veya Glasgow Koma Skorunun (GKS) 8 veya daha düşük veya 12 veya daha düşük olması gibi farklı kriterler kullandığı görülmektedir (2).

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) verilerine göre ABD’de, 2002-2006 yılları arasında, yılda en az 1.7 milyon TBH nedeniyle acil servis başvurusu, 275.000 hastane yatışı ve 52.000 ölüm gerçekleşmiştir (17). Avrupa’da ise 2015 yılı TBH insidansının 262/100.000/yıl, ölüm hızının ise 10.5/100.000/yıl olduğu bildirilmiştir (18). TBH’nin global mortalitenin %9’undan sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. Beyin travması yaralanmaya bağlı ölümlerin ve majör kalıcı sakatlıkların yaklaşık üçte birinden sorumlu tutulmaktadır. Düşük ve orta gelirli ülkelerde de motorlu taşıt kullanımının yaygınlaşmasıyla TBH insidansının belirgin şekilde arttığı görülmektedir.

Yaş ortalaması çeşitli çalışmalarda 22-49 yaş aralığında bildirilmiştir (19, 20). TBH en sık okul öncesi (1-4 yaş), genç erişkin (15-24 yaş) ve 75 yaş üstü dönemde

görülmektedir (21-24).

TBH, genellikle genç erişkin erkeklerde daha sık görülmektedir. Literatürde erkek-kadın oran yaklaşık 3:1 olarak bildirilmiştir (19, 25, 26). *International Mission for Prognosis and Clinical Trial* (IMPACT) çalışmasında erkek hakimiyetinin ileri yaşlarda (>65 yaş) ve çocukluk çağında azaldığı ve cinsiyetler arası farklılığın olmadığı bildirilmiştir (25). ABD’de yapılan başka bir çalışmada ise TBH nedeniyle acil servise başvuru veya hastaneye yatış riski en yüksek olan gruplar <4 yaş çocuklar, 15-19 yaş adolesanlar ve >75 yaş erişkinler olarak belirlenmiştir. Tüm yaş grupları arasında >75 yaş erişkinlerin hastaneye yatış ve ölüm oranlarının en yüksek olduğu bulunmuştur (20).

Kafa travmasının en sık nedeni düşmeler (%55), motorlu taşıt kazaları (%30) ve direkt kafaya bir cisimle vurulmasıdır (%15). Yaşlılarda ve çocuklarda düşmeler TBH’nin en sık nedeni iken, erişkinlerde düşmeler kadar motorlu taşıt kazaları da sık görülmektedir. 5-14 yaş grubunda özellikle erkeklerde kafaya direkt bir cisimle vurulması ve spor yaralanmaları önemli yer tutmaktadır (20). TBH riski, adolesanlarda ve genç erkeklerde şiddete ve motorlu taşıt kazalarına bağlı artış göstermektedir. İnfantlardaki TBH’nin ise çocuk istismarına bağlı olduğu düşünülmektedir (5). Hyder ve arkadaşları genel olarak TBH’lerin %60’ının trafik kazalarına, %20-30’unun düşmelere, yaklaşık olarak %10’unun şiddete maruz kalma ve kalan %10’unun ise iş kazaları ve spor yaralanmalarına bağlı olduğunu tespit etmiştir (27). IMPACT çalışmasında da benzer bir dağılım tespit edilmiştir; trafik kazaları %53-80, düşmeler %12-30, şiddete maruziyet %1,5-10, kalan %10 ise iş kazaları (%0,5-8), spor kazaları (%0,2-4,5) ve diğer yaralanmalar (%1,5-16) olarak bildirilmiştir (28). Şiddete ikincil TBH sıklığının son yıllarda artarak %7-10 düzeylerine ulaştığı dikkat çekmektedir (28). ABD’de TBH ilişkili uzun dönem sakatlık prevalansının 3,2 – 5,3 milyon kişi veya nüfusun %1-2’si olduğu tahmin edilmektedir (29, 30).

2.2. Travmatik Beyin Hasarının Türleri ve Sınıflandırmalar

Klasik olarak TBH, hasar mekanizmasına göre (kapalı veya penetran), klinik ciddiyetine göre (GKS) ve nörogörüntülemelerde yapısal hasarın anatomik dağılımına göre sınıflandırılır. Ancak akut dönemde bilinç düzeyi medikal sedasyon, paralizi veya intoksikasyon nedeniyle net olarak değerlendirilemeyebilir (31). TBH sonrası klinik durum ve bilinç düzeyinin değerlendirilmesinde en sık kullanılan skala Glasgow Koma Skoru (GKS) ve bilinç kaybı ve posttravmatik amnezinin (PTA) süresidir (32) (Tablo

2.1.). GKS'ye göre TBH, hafif, orta veya ağır kafa travması olarak derecelendirilir. GKS'nin <8 olması ağır beyin hasarını, 9-13 olması orta şiddette beyin hasarını, 14-15 ise hafif beyin hasarını gösterir (3, 5, 32). Hafif beyin hasarı sıklıkla tam nörolojik iyileşme ile sonuçlanırken, %15-30'u bazı nörokognitif ve davranışsal değişiklikler gösterebilir. Orta şiddette TBH'de (GKS: 9-13) hastalar letarjik ve stuporda iken, ağır beyin hasarında (GKS: 3-8) ise koma halindedir. Düşük GKS, ağır beyin hasarı, ağır nörolojik kayıp, vejetatif durum ve ölümle direkt ilişkilidir (32).

Tablo 2.1. Glasgow Koma Skalası

TEST	SKOR
GÖZ AÇMA (G)	
• Spontan	4
• Sesli uyararla	3
• Ağrılı uyararla	2
• Yok	1
EN İYİ MOTOR YANIT (M)	
• Emirlere uyar	6
• Ağrılı uyararı lokalize eder	5
• Ağrılı uyarana fleksiyon-çekme	4
• Fleksor/dekortike postür	3
• Ekstansör/deserebre postür	2
• Yok	1
EN İYİ VERBAL YANIT (V)	
• Oryante	5
• Konfüze/desoryente	4
• Uygunsuz kelimeler	3
• Anlamsız sesler	2
• Yok*	1
EN YÜKSEK SKOR (G+M+V)	15

* entübe hastalar verbal skorlamadan "T" alır ve skala 3T-11T arasında skorlanır.

TBH'nın şiddeti bilinç kaybı ve PTA'nın süresine göre de sınıflandırılmaktadır ve GKS'ye göre klinik sonuçla daha sıkı korele olduğu gösterilmiştir (33). Buna göre

hafif beyin hasarı, bilinç kaybının 1 saatten ve PTA'nın 24 saatten kısa sürmesi, orta şiddette beyin hasarı, bilinç kaybının 1-24 saat ve PTA'nın 1-7 gün sürmesi ve ağır beyin hasarı ise bilinç kaybının 24 saatten uzun ve PTA'nın 1 haftadan uzun sürmesi olarak tanımlanır (33).

Travmatik beyin hasarı, anatomik olarak fokal veya diffüz yaralanma olarak da sınıflanabilir (Tablo 2.2.). Bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılarak yaralanma paternleri incelenip anatomik sınıflamalar yapılabilir ve hastaların sekonder hasar, geç nörolojik kötüleşme ve kötü prognoz için riskleri öngörülebilir. 1991'den bu yana kullanılan ve radyolojik görüntülemelerde kitle lezyonu olup olmaması ile kafa içi basınç artışı bulgularına göre derecelendirme yapılan Marshall skoru (34) (Tablo 2.3.) 2005 yılında güncellenerek Rotterdam Skoru olarak yeniden adlandırılmıştır (35) (Tablo 2.4.).

Tablo 2.2. Fokal ve diffüz yaralanmalar

FOKAL YARALANMALAR	DİFFÜZ YARALANMALAR
Kontüzyonlar	Konküzyon
Kırık	Diffüz aksonal hasar (orta/ağır)
<i>Coup</i>	
<i>Contrecoup</i>	
<i>Intermediate</i>	
<i>Gliding</i>	
Herniasyon	
Hematomlar	
-Epidural	
-Subdural	
-İntraserebral	

Tablo 2.3. Beyin hasarının BT bulgularına göre sınıflandırılması: *Marshall Skoru*

Klinik Ağırlık	Yapısal Hasar (Marshall BT skorlaması)
GKS 3-8: ağır	<i>Diffüz hasarlanma I:</i> BT’de görünür patoloji yok
GKS 9-13: orta	<i>Diffüz hasarlanma II:</i> Sisternler belirgin ve 0-5 mm orta
GKS 14-15: hafif	hat şifti var ve/veya lezyon dansiteleri mevcut; >25 cm ³ yüksek veya mikst dansiteli kitle lezyonu yok, kemik parçaları ve yabancı cisim içerebilir
	<i>Diffüz hasarlanma III:</i> (şişme) Sisternler silik, orta hat şifti <5mm; >25 cm ³ yüksek veya mikst dansiteli kitle lezyonu yok
	<i>Diffüz hasarlanma IV (şift):</i> Orta hat şifti >5mm; >25 cm ³ yüksek veya mikst dansiteli kitle lezyonu yok
	<i>Boşaltılmış kitle lezyonu V:</i> Cerrahi olarak boşaltılmış herhangi bir lezyon
	<i>Boşaltılmamış kitle lezyonu VI:</i> Yüksek veya mikst dansiteli >25 cm ³ lezyon; cerrahi olarak boşaltılmamış

Tablo 2.4. Beyin hasarının BT bulgularına göre sınıflandırılması: *Rotterdam Skoru*

BULGU	SKOR
BAZAL SİSTERNLER	
Normal	0
Komprese	1
Silik	2
ORTA HAT ŞİFTİ	
≤ 5mm	0
>5 mm	1
EPİDURAL KİTLE LEZYONU	
Var	0
Yok	1
İNTRAVENTRİKÜLER KAN VEYA SAK	
Yok	0
Var	1
<i>Sum score</i>	+1
Toplam	1-6

2.3. Travmatik beyin hasarı: klinik bulgular, tanı, tedavi ve prognoz

2.3.1. Fokal Beyin Hasarı

Fokal beyin yaralanmaları kontüzyonlar ve travmaya bağlı intrakraniyal hematomlarla sonuçlanır.

2.3.1.1. Kontüzyon

Kontüzyonlar travma sonrası ortaya çıkan kortikal yüzeye dik, fokal subpial mikrokkanamalar olup hastaların yaklaşık %30'unda ilk BT görüntülemesinde saptanabilir (36). Mevcut hasara piamater hasarı da eklenirse laserasyondan bahsedilir. Kontüzyonlar, çoğunlukla travma esnasında kemiklerle yakın temas halinde olan beyin bölgelerinde görülür; frontal ve temporal kutuplar, orbitofrontal gyruslar, perisylvian yapılar ve inferolateral temporal lob yüzeyleri en sık etkilenen alanlardır.

Kontüzyonlar mekanizma, anatomik yerleşim veya komşu yaralanmalara göre sınıflandırılır. *Kırık kontüzyonları* doğrudan temas yaralanmaları sonucunda ve etkilenen kemiklerin hemen komşuluğundaki beyin dokusunda görülür. *Coup kontüzyonları* kırık olmaksızın etkilenen kemiklerin hemen komşuluğundaki beyin dokusu yaralanması, *contrecoup* ise darbenin karşı tarafındaki beyin dokusunun yaralanması için kullanılır. *Gliding kontüzyonlar* doğrudan temas mekanizmasından ziyade rotasyonel darbeler sonucu görülür ve korteks ile serebral hemisferlerin üst sınırlarına komşu beyaz cevher alanlarını etkileyen hematomlar için kullanılır. *Intermediate kontüzyonlar* korpus kallosum, bazal gangliyonlar, hipotalamus ve beyin sapı gibi derin beyin yapılarını etkileyen lezyonlardır. *Herniasyon kontüzyonları* temporal lobun medial kısımlarının tentoriyal sınırla temas ettiği bölgelerde (örn. unkal herniasyon) veya serebellar tonsillerin foramen magnum ile temas ettiği bölgede (örn. tonsiller herniasyon) ortaya çıkar (37).

Kontüzyonlar etkilenen alana bağlı olarak değişik derecelerde nörolojik defisitlere neden olur. Nadiren de çevreleyen beyin dokusundaki ödem ve hematoma nedeniyle kitle etkisine neden olabilir. En ciddi kontüzyonlar yaralanma mekanizmasından bağımsız olarak frontal ve temporal bölgelerde görülmektedir (38).

2.3.1.2. Travmatik İntrakranial Hematomlar

İntrakraniyal hematomlar cerrahi müdahale gerektirebilecek kitle lezyonlarıdır. Kafatası kırığı olan hastalarda sıklıkla karşılaşılmaktadır. Travmatik intrakraniyal hematomlar yerleşimlerine göre üç gruba ayrılır: epidural, subdural ve intraserebral.

2.3.1.2.1. Epidural Hematom

Epidural hematomlar (EDH) travma sonrası kafatası kemiği ile dura arasında ortaya çıkan kanamalardır. Kafa travmalarının %1-3'ünde epidural hematom izlenir ve epidural hematomların %15-20'si ölümcül seyreder. Epidural hematomlar dural vasküler yapıların veya kafatasının yaralanması sonucu oluşur ve çoğunlukla kafatası kırıklarıyla birliktelik gösterir. Arteriyel kaynaklı EDH en sık temporoparietal kırıklar ile birlikte görülür. Dura ve kemiğin ayrılması sonucu orta meningeal arter yaralanması ile ortaya çıkar. Venöz kaynaklı epidural hematomlar ise tüm epidural hematomların ancak %10'unu oluşturur (39).

EDH'ler radyografik durumlarına göre üçe ayrılır: tip I (akut ve hiperakut-ilk gün, pıhtılaşmamış kan içerir, %58), tip II (subakut, 2-4. günler, katı, %31) ve tip III (kronik, 7- 20. günler, lüsent görünüm, %11) (40).

EDH'li bir hastanın kliniği ilk kez Jacobson tarafından 1886'da tarif edilmiştir: travmayı takiben bilinç kaybı, ardından geçici bir iyileşme (*lucid interval*) ve sonra hızlı nörolojik kötüleşme. Bu klasik tablo hastaların yalnızca %4-21'inde görülmektedir (41). Genişleyen EDH, nörolojik kötüleşme, kontralateral hemiparezi, ipsilateral okülomotor sinir felcine bağlı midriazis, deserebrasyon rijiditesi, arteriyel hipertansiyon, kardiyak aritmiler, solunum bozuklukları, apne ve ölüm ile sonuçlanır. Bu bulguların gelişmesi hematomun boyutuna ve eşlik eden intrakraniyal diğer lezyon varlığına bağlıdır. Tanının hızlı konulması ve erken müdahale ile uygun tedavi yapılması prognozu açısından önemlidir.

2.3.1.2.2. Subdural Hematom

Subdural hematom (SDH), hızlı akselerasyon ve deselerasyon kuvvetleri sonucu sıklıkla köprü venlerinin yırtılması ile oluşan duramater ile araknoid mater arasındaki kanamalardır. Arteriyel ve venöz kanama sonucu oluşurlar. Kanama uzun sürede biriktiği için artmış intrakranial basınç ve herniasyona bağlı semptom vermesi için saatler veya günler geçmesi gerekir (32).

SDH akut, subakut ve kronik olmak üzere üçe ayrılır. Patolojik olarak SDH ilk 48 saatte pıhtılaşmış kandan oluşur, subakut SDH'de pıhtı ve kan karışımı (2-14 gün), ve kronik SDH'de (>14 gün) ise sadece kan görülür (Tablo 2.5.). Klinikte, akut SDH yaralanmadan sonraki ilk 3 günde, subakut 3-21 günde ve kronik SDH ise >21 günde belirti verir.

Tablo 2.5. Subdural Hematom Sınıflaması

TİP	GÜN	İÇERİK	BT
Akut	0-2	Pıhtılaşmış kan	Hiperdens
Subakut	2-14	Pıhtılı kan	İzodens
Kronik	>14	Kan	Hipodens

Akut SDH'ler, tüm SDH'lerin %50-60'ıdır. En sık şiddete maruz kalan veya düşenlerde başın ani hareketi sonucunda görülebileceği gibi kronik antikoagülan kullananlarda minör kafa travması sonucunda da oluşabilir. Akut subdural hematomun mortalitesi %60'lara kadar çıkmaktadır ve ölümlerin yaklaşık %90'ı travmadan sonraki ilk 1 ay içinde gerçekleşmektedir (42).

Çoğu akut SDH beyin yüzeyindeki venöz yaralanmalar nedeniyle olur ve iki şekilde gerçekleşebilir:

1) Darbenin doğrudan etkisi ve meydana gelen kontüzyon ve lacerasyonlar sonucunda kortikal yüzeyden en çok da temporal pole komşu subdural mesafeye kanama ile hematom oluşumu. Subdural hematom ve hasarlanmış nekrotik beyin dokusunun oluşturduğu komplekse patlamış lob (*burst lobe*) denir.

2) Serebral konveksite üzerinde gerilen köprü venlerin yırtılması sonucunda hematom oluşumu. Bu yaralanma türünde beyin hasarı daha hafif olup esasen hematomun oluşturduğu kitle etkisi veya venöz kompresyona bağlı fokal iskemi nedenlidir.

Akut SDH'nin serebral kontüzyonlar nedeniyle komplike olması ve sekonder hasar oluşumu, akut SDH'da preoperatif komatöz hasta oranının yüksek olmasına neden olur. Akut SDH ve EDH'de prognozu etkileyen 3 önemli parametre: bilinç düzeyi, koma ile hematomun boşaltılması arasında geçen süre ve eşlik eden beyin hasarıdır (42).

2.3.1.2.3. İntraserebral Hematom

İntraserebral hematomlar (İSH), tüm travmatik intrakraniyal hematomların %20'sidir. Genellikle büyük lobar kontüzyonlarla birlikte görülürler. Sıklıkla kötü nörolojik sonuç ve yüksek mortalite ile sonuçlanır. Ağır kafa travmasında, hematomun 50 ml'den fazla olması yüksek mortalite ile ilişkilidir. Travmatik İSH de spontan kanamalar gibi zaman içinde büyüme gösterebilir. BT anjiyografide verilen kontrastın ektravaze olması hematom büyümesinin, kötü klinik sonucun ve yüksek mortalitenin önemli bir göstergesidir. İSH ile hemorajik kontüzyon ayırımını yapmak oldukça güçtür. Kontüzyon, beyin dokusu ve kan birleşiminden oluşurken intraserebral kanamalar beyin parankimi içinde kanama alanlarının birleşmesiyle meydana gelir. İSH'lerin çoğu, kontüzyonlarda olduğu gibi orbitofrontal ve temporal loblarda görülür. Bazal gangliyonlar veya internal kapsüldeki derin İSH'ler daha nadir olup tüm TBH'li olguların %2'sinde görülür. Çoğu travmatik İSH nonpenetran kafa travmaları sonucu oluşur. Kronik antikoagülan tedavi almakta olan hastalarda hafif kafa travmasıyla bile İSH gelişmesi riski vardır (43).

Kafa travmasından sonraki ilk birkaç saatte çoğunlukla hemorajik kontüzyonda büyüme veya yeni kontüzyon gelişimi olur. Bu duruma hemorajik kontüzyonun progrese olması denir. Bazen de ilk nöroradyolojik görüntülemeler normal olup sonrasında İSH gelişebilir. Bu durumda ise gecikmiş travmatik İSH'den bahsedilir. Dekompresif hemikraniyektomi sonrası kanamanın genişlemesi sıklıkla ve mortalite ve morbidite ile direkt ilişkilidir (43).

2.3.2. Diffüz Beyin Hasarı

TBH sonrası en sık karşılaşılan durum diffüz beyin yaralanmasıdır. Diffüz yaralanmalar hafif konküzyon şeklinde olabileceği gibi persistan posttravmatik komaya kadar giden ağır bir tablo da izleyebilir.

2.3.2.1. Konküzyon

Konküzyon, tüm dünyada en sık görülen fakat ciddi olmayan, geçici travmatik beyin hasarıdır. Kafanın akselerasyon ve deselerasyonu ile tetiklenen ve beyni etkileyen karmaşık patofizyolojik olayları içerir. Hasarın mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte travma esnasında aksonlardaki gerilmeye bağlı akson iyon kanalları değişiklikleri suçlanmaktadır. Nörogörüntülemede yapısal lezyon izlenmez ve tipik olarak müdahale gerektirmeksizin izlem yeterlidir ve ani gelişen nörolojik

disfonksiyon spontan olarak düzelir. Hastaların küçük bir kısmında postkonküzif semptomlar devam edebilir (44, 45). GKS 15 ve BT normal iken diffüzyon görüntüleme ile sitotoksik ödem görülür.

CDC tarafından ABD’de her yıl acil servise başvuran 135.000 hastanın spora bağlı konküzyon geçirdiği tahmin edilmektedir (46, 47).

2.3.2.2. Diffüz Aksonal Hasar

Diffüz aksonal hasar, açısal ve rotasyonel akselerasyon ve deselerasyon ile beynin gyrensefalik yapıda olması ve beyaz cevher/gri cevher oranının yüksek olması sebebiyle aksonlarda ayrılma ve yırtılma sonucu meydana gelir. Ciddi derecede etkilenmiş ve gros parankimal kontüzyon, laserasyon veya hematoma olmayan olgularda en sık karşılaşılan beyin hasarıdır. Diffüz aksonal hasar (DAH), travmayı takiben gelişen persistan komadan sorumludur ve morbidite ve mortalitenin en önemli sebebidir (48). Koronal veya lateral akselerasyon yaralanmaları en ağır DAH’ye, oblik ve sagittal düzlem akselerasyonları en hafif DAH’ye neden olur. Beyaz cevherdeki aksonların viskoelastik yapıları, traktların anizotropik yerleşimi, mikrotübül ve nörofilamanların lineer olması ve aksolemma yüzeyinin aksoplazma hacmine göre daha geniş olması, aksonların özellikle akselerasyon ve deselerasyon travmasına daha hassas olmasına neden olur (32).

Travma sonrası aksonal dejenerasyon sırasıyla, aksonal transportun bozulması, diskonneksiyona sekonder aksonal ödem ve Wallerian dejenerasyon şeklinde gelişir. Nöropatolojik olarak korpus kallozum, internal kapsül, serebral beyaz cevher, üçüncü ventrikül çevresi, forniks, beyin sapı ve serebellumda diffüz olarak aksonal retraksiyon topçukları, aksonal şişme (aksonal varikozite) ve punktate hemorajiler görülür (32, 49). Punktate hemorajiler “Strich hemorajileri” olarak da adlandırılır. Fonksiyonel iyileşmeyi aksonal hasarın yeri ve ciddiyeti belirler.

DAH, lezyonların yerleşimine göre Adams ve ark. tarafından sınıflandırılmıştır (38) (Tablo 2.6.).

Tablo 2.6. Diffüz Aksonal Hasar Nöropatolojik Sınıflaması

DERECE	LEZYONUN YERİ
I	Serebral hemisferlerin parasagittal beyaz cevherinin aksonal hasarı
II	Grade I’e ek olarak korpus kallosumda fokal lezyon
III	Grade II’ye ek olarak serebral pedinkülde fokal lezyon

2.4. Travmatik beyin hasarının mekanizması

TBH'ye neden olan mekanizmalar hasarın boyutu ve tipini belirler. Travma, kabaca künt (açık/kapalı) ve penetran olmak üzere ikiye ayrılır. Kuvvetin şekli (temas veya eylemsizlik), yaralanmanın tipi (rotasyonel, açılanma, translasyonel), darbenin büyüklüğü ve süresi önemlidir. Temas yaralanması, darbe alan kafanın hareket edemediği durumlarda görülürken, eylemsizlik yaralanmasında kafanın ani hızlanma veya yavaşlamasıyla beyin kafatasından farklı hareket ederek hasarlanır. TBH'de çoğunlukla aynı anda birden fazla mekanizmayla yaralanmalar görülür.

1966'da Goldsmith TBH'ye neden olan üç mekanizma tariflemiştir; hareketli cismin kafaya çarpması (*collision*); kafaya direkt darbe olmaksızın alınan darbenin etkisiyle kafanın ani hareketi ve statik veya kısmen statik bir yükte kafanın ezilmesi.

Beyin hasarına neden olan ilk travmanın ardından saniyeler ve dakikalar içinde nöronlar, glia, aksonlar ve damarlar zedelenir. Primer travmayı takiben etkisi saatler, günler hatta aylar süren hücre içi ve hücre dışı karmaşık biyokimyasal ve fizyolojik olayları içeren ve travma sonrası nörolojik fonksiyon kayıplarına önemli ölçüde neden olan gecikmiş faz başlar (50). Bu faz sırasında pek çok hasta ilk hasarın üstüne gelen hipoksi, hipotansiyon, beyin ödemi ve artmış kafa içi basıncının etkileri sonucu ortaya çıkan ve travma sonrası nörolojik fonksiyon kayıplarına önemli ölçüde neden olan sekonder hasarla karşı karşıya gelir.

TBH ilişkili beyin hasarı primer ve sekonder hasar olmak üzere ikiye ayrılır. Sekonder beyin hasarının saptanması, önlenmesi ve tedavisi ağır TBH'li hastaların takibindeki temel prensiptir.

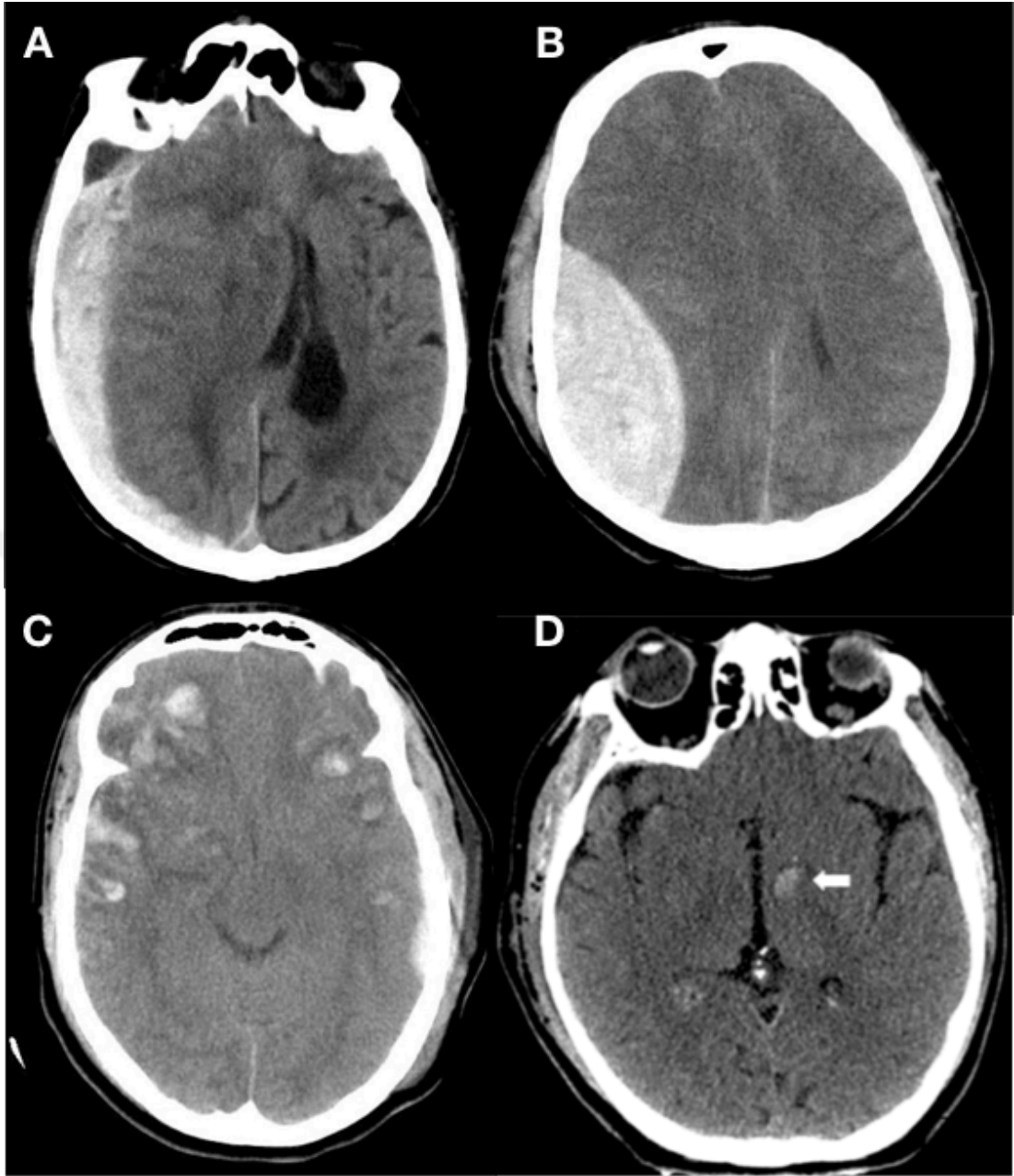
2.4.1. Primer (Birincil) Hasar

Primer hasar travma esnasında oluşur. TBH'ye sebep olan bu eksternal kuvvetler; doğrudan etki, ani ve hızlı akselerasyon ve deselerasyon, penetran ve patlama sırasında blast etkisi ile oluşabilir. Bu kuvvetlerin doğası, ciddiyeti, yönü ve süresi hasarın paternini ve büyüklüğünü belirler. Makroskopik düzeyde beyaz cevheri oluşturan yollarda yırtılma, fokal kontüzyonlar, intraserebral veya ekstraserebral hematomlar ve diffüz beyin ödemi izlenir. İskemik beyin hasarı ise sıklıkla primer hasarın üzerine eklenir. Yaygın olabileceği gibi perilezyonel de olabilir (31, 51).

Diffüz aksonal hasar; beyaz cevherde çok sayıda küçük lezyon şeklinde görülür. Ağır diffüz aksonal hasar durumunda hastalar tipik olarak kafa içi basıncı artmaksızın koma durumunda olur ve çoğunlukla prognoz kötü seyreder. Bu durumda hemisferlerdeki gri cevher sınırını da etkiler ve daha ciddi durumlarda korpus kallosum ve/veya orta beyin de etkilenir. Fokal serebral kontüzyonlar en sık karşılaşılan lezyonlardır. Kontüzyonlar, özellikle akselerasyon ve deselerasyon mekanizmasıyla oluşan kafa kaidesi kırıklarının doğrudan etkisine maruz kalan frontobazal ve temporal bölgelerde sık görülür. Serebral kontüzyon alanlarının birleşmesi veya intraparaknimal damarların yırtılmasına bağlı intraparaknimal hematomlar oluşabilir. Ağır kafa travmalarında %25-30, orta şiddette kafa travmalarında ise %5-10 oranında görülür.

Ekstraaksiyal hematomlar ise genellikle yüzeysel serebral katmanları ilgilendirir; epidural, subdural ve subaraknoid kanama. Erişkinlerde tipik olarak orta meningeal arter yırtılmasına bağlı oluşan epidural hematoma (EDH) hemen her zaman kafatası kırığıyla ilişkilidir. Çoğunlukla lentiküler (bikonveks) şekilli olup altındaki beyin parenkiminde hasar bulunmaz. Bu nedenle hastalar daha iyi prognozludur. Subdural hematomlar (SDH), serebral kortikal yüzeylerden geçen dural venöz sinüslere açılan köprü venlerin yırtılması sonucu ortaya çıkar. Bu kanamalar yarım ay şekilli olup genellikle alttaki beyin parenkimi hasarıyla birliktedir. Subaraknoid kanama (SAK), küçük pial damarların yırtılması sonucu oluşur ve sıklıkla sylvian fissür ile bazal sisternlerde görülür. Ventrikül içi kanama veya yüzeysel intraserebral kanama da ayrıca subaraknoid aralığa uzanabilir. Ventrikül içi kanama ise subependimal venlerin yırtılması veya komşu intraparenkimal veya subaraknoidal kanamanın uzanması nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (31, 35).

Ağır TBH'li hastaların yaklaşık üçte birinde kanamanın büyümesine neden olan, morbidite ve mortalite riskini artıran koagülopati gelişir (28). Bu durum hastanın kullanmakta olduğu antikoagülan veya antiagregan ilaçlardan kaynaklanabileceği gibi doku faktörü ve fosfolipidlerin sistemik dolaşıma katılmasıyla oluşan uygunsuz pıhtılaşma ve tüketim koagülopatisi nedeniyle de ortaya çıkabilir.



Şekil 2.1. Primer travmatik beyin hasarı. Beyin BT'de yarım ay şekilli akut subdural hematoma ve belirgin kitle etkisi nedeniyle orta hat yapılarını sola ittiği (shift) görülmektedir (A). Beyin BT'de bikonkav, lentiküler epidural hematoma (B), frontobazal ve temporal bölgelerde serebral kontüzyonlar (C) ve diffüz aksonal hasar (D).

2.4.2. Sekonder (İkincil) Hasar

Sekonder hasar, travmayı takip eden saatler, günler hatta aylar boyunca süren; serebral iskemi ve intrakranial hipertansiyon ile sonuçlanabilen hücresel hasarla ilgilidir. Bu dönemde verilen medikal tedavi oldukça önemlidir (52). Sekonder hasarda rol oynayan mekanizmalar;

- Glutamat, serbest radikal ilişkili hücre membran hasarına yol açan nörotransmitter aracılı eksitotoksinite
- Kalsiyum aracılı hasar
- Mitokondriyal disfonksiyon
- İnflamatuar yanıt
- Apoptoz
- Vazospazm, fokal mikrovasküler tıkanıklık, damar yaralanması nedenli sekonder iskemi

Glutamat ve diğer eksitator nörotransmitterlerin iyon kanallarında kaçığa sebep olmaları özellikle astrositlerde ve sonuç olarak tüm beyinde şişmeye ve intrakranial basınç artışına neden olur. Serbest radikal ve kalsiyum aracılı hasar, nekrotik hücre ölümünün en önemli sebebidir. Kaspaz gibi proapoptotik moleküllerin indüklediği apoptotik hücre kaybı ve otofaji de hücre ölümünün diğer sebepleridir. İnflamatuar yanıt, özellikle kontüzyon ve kanamaların çevresinde görülür. TBH'den saatler sonra mikrogliya, astrosit ve polimorfonükleer lökositlerden sitokin salınımı görülmesine rağmen maksimum yanıt birkaç gün sonra oluşur ve kan-beyin bariyerinde bozulmayla, hücre ölümüyle ve apoptozun tetiklenmesiyle sonuçlanır. Aynı zamanda hasarın sınırlandırılması, hasar sonrası debrisin temizlenmesi ve rejenerasyonun başlatılması için de inflammatuar yanıt gereklidir. Mitokondriyal disfonksiyon, ATP üretiminin azalmasına ve sonuç olarak apoptosis, nekroz ve aksonal hasara neden olur (31).

Bütün bu mekanizmaların yol açtığı nöronal hücre ölümü, serebral ödem ve artmış kafa içi basıncı beyin hasarını artırabilir. TBH sonrası öncelikle doğrudan doku hasarı, beyin kan akımında ve metabolizmasında bozulma görülür. İskemiye andıran bu tablo sonucunda anaerobik glikolizin devreye girmesiyle birlikte dokuda laktat birikir, hücre zarı geçirgenliği bozulur ve ödem meydana gelir. Anaerobik metabolizma neticesinde mevcut ATP depoları tüketilir ve enerji bağımlı iyon pompaları çalışamaz.

Patofizyolojik kaskadın ikinci aşaması ise eksitatuvar nörotransmitterlerde (ör. glutamat, aspartat) aşırı salınım, N-metil D-aspartat (NMDA), α -amino-hidroksi-5-metil-4- izoksazolpropionat (AMPA) reseptörlerinin ve voltaj bağımlı kalsiyum ve sodyum kanallarının aktivasyonu sonucu ortaya çıkan terminal membran depolarizasyonu ile karakterizedir. Artan hücre içi kalsiyum ve sodyum akışıyla birlikte hücre içi katabolik süreç tetiklenir. Kalsiyum, lipid peroksidaz, proteaz ve fosfolipazları aktive eder ve serbest yağ asitleri ile hücre içi serbest oksijen radikali artışı görülür. Buna ek olarak kaspazların (interlökin 1 beta dönüştürücü enzim-ICE benzeri proteinler), translokazların ve endonükleazların aktivasyonu hücre membranında ve nükleozomal DNA'larda DNA fragmentasyonu ve DNA tamir mekanizmalarında bozulmalar gibi ilerleyici yapısal değişikliklere neden olur. Tüm bunların neticesinde damar ve hücre yapılarında bozulmayla birlikte nekroz veya apoptoz ortaya çıkar (52, 53).

2.5. Travmatik Beyin Hasarında Spesifik Mekanizmalar

2.5.1. Travmada Serebral Kan Akımı

Daha önce yapılan çalışmalar TBH'dan sonra herhangi bir zamanda oluşan sistemik hipotansiyon ile kötü prognoz arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. Hipotansiyon ataklarının sayısı ve süresi mortalite ile yakından ilişkilidir. TBH sonrası erken ve geç dönemde serebral kan akımı değerlendirmeleri yapılmış ve birçok çalışmada fokal veya global serebral iskeminin meydana geldiği gösterilmiştir (54). Serebral iskemi varlığı, toplam iskemik alan beyin hacminin %10'undan az bile olsa, ölüm veya vejetatif durum gibi kötü nörolojik sonuçlarla ilişkilidir (55).

TBH ve iskemik inme patofizyolojisi benzerlikler gösterse de ikisi arasında majör farklılıklar bulunmaktadır. TBH'li hastalarda geri dönüşümsüz doku hasarına neden olan serebral kan akımı (SKA) eşiği 15 ml/100g/dk iken iskemik inmede 5-8,5 ml/100g/dk'dır. Serebral iskemi daha çok metabolik stres ve iyonik değişikliklere neden olurken kafa travması ek olarak beyin dokusunda nöronlar, astrositler, mikroglialar ve serebral mikrovasküler ve endotelial düzeylerde hasarlanmaya neden olur (56). Travmanın erken döneminde hastalarda serebral hiperperüzyon (SKA >55 ml/100g/dk) görülebilmektedir. Benzer şekilde hiperemi posttravmatik iskemiye takip edebilir. SKA artışının metabolik ihtiyacı karşılayamaması, serebral kan hacminde artışa ve sonuç olarak kafa içi basınç artışına neden olur (57).

Serebral kan akımı, travmatik beyin hasarını takip eden günlerde belirgin değişiklik gösterir. TBH'ye yanıt hastadan hastaya farklılık gösterebilir fakat temel olarak tanımlanmış 3 farklı hemodinamik dönem bulunmaktadır (58).

2.5.1.1. Hipoperfüzyon fazı (Faz 1, ilk gün)

TBH'yi takip eden ilk 24 saat serebral hipoperfüzyon ile karakterizedir. Her ne kadar SKA azalsa da transkraniyal doppler ile bakılan orta serebral arter kan akımı hızı, arteriovenöz oksijen farkı ($AVFO_2$), oksijen içeriği ve arterial-jugular fark normaldir. Bu nedenle jugular venöz bulbus oksijen saturasyonu da (SjO_2) normaldir. Hipoperfüzyon fazı esnasında oksijenin serebral metabolik hızı ($SMHO_2$), normalin yaklaşık %50'sidir. Azalan kan akımından patolojik mikrosirkülatur direncin sorumlu olduğu düşünülmektedir. $AVFO_2$ 'nin normal olması, bu fazda serebral kan akımı ile serebral metabolizma hızının dengede olduğunu göstermektedir (59).

2.5.1.2. Hiperperfüzyon fazı (Faz 2, 1-3 gün arası)

İlk günün ardından serebral kan akımı artar. Bu durum $AVFO_2$ 'de düşüş ile birliktedir ve juguler bulbus oksijen saturasyonunda artma görülür. Bu fazda rölatif kan akımı gereksinime bağlı olarak hiperemi vardır. Orta serebral arter kan akım hızı artar. Hiperemiyle ilgili patofizyolojik mekanizma bilinmemektedir. Artan serebral glikoz metabolizması ve laktat, adenosin, nöropeptid gibi vazodilatör metabolitlerin artışına bağlı serebral mikrovasküler dirençte düşme meydana gelir. Hipereminin kendisi belirgin intrakranial basınç artışına sebep olur.

2.5.1.3. Vazospazm fazı (Faz 3, 4-15 gün arası)

Posttravmatik serebral vazospazm hastanın prognozunu belirleyen bir sekonder hasarlanmadır (57). TBH'li hastaların üçte birinden fazlasında görülür ve ağır beyin hasarının göstergesidir. Hipoperfüzyon süresi ve etkilenen doku miktarı ile birlikte değerlendirildiğinde posttravmatik vazospazm, anevrizmal subaraknoid kanama sonrası görülen vazospazmdan farklıdır. Vazospazma neden olan mekanizmalar arasında azalmış potasyum kanal aktivitesine bağlı kronik vasküler düz kas depolarizasyonu (60), nitrik oksitte azalmaya bağlı azalmış endotelin salgısı (61), vasküler düz kasta siklik GMP azalması (62), prostaglandinle indüklenen vazokonstriksiyon (63) ve serbest radikal oluşumu (64, 65) yer alır.

Orta serebral arterde kan akım hızı daha da artar. Vazospazm fazında $AVFO_2$ düşük seyrederek ve bu nedenle SjO_2 yüksek bulunur. Bu durum, muhtemelen ya $SMHO_2$ 'nin kalıcı olarak düşük seyretmesine ya da hücre ölümüne bağlıdır. Vazospazm ise serebral iskeminin kötüleşmesine neden olur.

Serebral metabolizma (serebral oksijen ve glukoz tüketimi) ve serebral enerji (doku fosfokreatinin ve ATP konsantrasyonları veya indirekt olarak laktat/pirüvat oranı) sıklıkla TBH sonrasında azalır (66).

2.5.2. Serebral Kan Akımının Düzenlenmesi - Serebrovasküler Otoregülasyon ve CO_2 Reaktivitesi

Serebrovasküler otheregülasyon ve vasküler reaktivite (CO_2 -reaktivitesi) yeterli SKA'yı sağlamada önemli mekanizmalardır. Serebral perfüzyon basıncı (SPB) ve kafa içi basınç (KİB) ayarlanmasında da temel olan bu mekanizmaların bozulması durumunda sekonder beyin hasarı riski artmaktadır (52).

Serebral perfüzyon basıncının 50-150 mmHg arasında seyretmesi halinde SKA'nın sabit kalması olarak bilinen serebrovasküler otheregülasyon (SPB artış veya azalmasına cevaben serebrovasküler yapılarda kasılma veya gevşeme), TBH sonrasında bozulur veya ortadan kalkar (52, 67, 68). Bu bozulma travmadan hemen sonra veya zaman içerisinde gelişebilir. Hasarın şiddetinden bağımsız olarak kalıcı veya geçici olabilir ve primer hasarın ciddiyetiyle ilişkilidir. Prognoz, metabolik hızı düşen hastalarda metabolik disfonksiyonu hafif olan ve olmayanlara göre daha kötüdür.

CO_2 reaktivitesi ise hipo-hiperkapniye verilen serebrovasküler yanıttır ve daha güvenilirdir. Ağır beyin hasarı ve kötü prognozlu hastalarda CO_2 reaktivitesi travmanın erken döneminde bozulmaktadır (52, 68).

2.5.3. Serebral Oksijenizasyon

TBH, serebral oksijen desteği ve serebral oksijen tüketimi arasında dengesizlik olmasıyla karakterizedir. Travmatik beyin yaralanması sonrası serebral perfüzyonun ve sonuç olarak oksijenasyonun bozulması beyin hipoksisi ile sonuçlanır. TBH'li hastalarda beyin dokusu oksijen basıncı (PtO_2) kritik eşik değeri 10-15 mmHg olup daha altındaki değerlerde nöral dokuda iskemik hasar oluşur (69).

Sonuçta doku hipoksisi süresinin ve etkilediği doku miktarının fazla olması hastaların nörolojik sonuçlarını olumsuz etkilemektedir. Dolayısıyla beynin optimal oksijenizasyonunun devamı kritik önem taşımaktadır.

2.5.4. Eksitotoksisite ve Oksidatif Stres

TBH'de primer ve sekonder olarak masif eksitatuvar nörotransmitter özellikle de glutamat artışı görülmektedir (52, 70). Ekstraselüler ortamda bulunan fazla glutamat nöron ve astrositleri etkiler ve iyonotropik ve metabotropik glutamat reseptörlerinin aşırı uyarımı ile intraselüler ortama kalsiyum, sodyum ve potasyum akımı sağlanır (71). Bu olaylar kan beyin bariyerinin yıkılması gibi katabolik süreçleri tetikler. Hücreler iyonik gradient değişimlerini kompanse etmek için Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi ve dolayısıyla metabolik ihtiyaç artar. Bu ise kan akımı-metabolizma dengesinin bozulmasıyla sonuçlanan kısır bir döngü yaratır (52).

Oksidatif stres TBH'ye cevaben reaktif oksijen ürünlerinin (serbest oksijen radikalleri ve süperoksit, hidrojen peroksit, nitrik oksit, peroksinitrit gibi ilişkili moleküller) oluşumuyla ilişkilidir. Eksitotoksisiteye bağlı olarak reaktif oksijen ürünlerinin aşırı üretimi ve endojen antioksidan sistemin (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz) tükenmesi hücresel ve vasküler yapıların peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA'nın parçalanmasına ve mitokondrial elektron transport zincirinin inhibisyonuna neden olur. Bu mekanizmalar erken hücre ölümüne katkıda bulunmasının yanı sıra inflamatuvar süreçler ve erken veya geç apoptoz da oksidatif stresle indüklenir (52, 72, 73).

2.5.5. Ödem

TBH sonrası ödem gelişimi sık karşılaşılan bir durumdur. Günümüzdeki beyin ödemi sınıflandırması yapısal hasar veya hasarla indüklenen su ve ozmotik dengesizlikle ilişkilidir. *Vazojenik beyin ödemi*, beyin damarlarının endotelial hücre tabakasının mekanik, otoimmün veya fonksiyonel olarak yıkımı veya bozulmasıyla karakterizedir. Serebral vasküler endotelial duvarın bütünlüğünün bozulması intravasküler kompartmandan ekstraselüler (interstisiyel) kompartmana kontrolsüz iyon ve protein transferine neden olur ve su birikimi ile sonuçlanır. Anatomik olarak bu patoloji ekstraselüler mesafenin hacmini artırır (64, 74). *Sitotoksik beyin ödemi* ise nöronların, astrositlerin ve mikrogliaların vasküler endotelial duvarın bütünlüğünden bağımsız olarak intraselüler kompartmanlarında su birikimi ile karakterizedir. Bu

patoloji ise iyonlara artmış hücre membran geçirgenliği, enerji azlığına bağlı iyonik pompaların yetmezliği ve ozmotik aktif solitlerin hücreye geri alımına bağlı olarak meydana gelir (74-76). TBH sonrası hastalarda sitotoksik ödem vazojenik ödeme göre daha sık görülmekle birlikte her iki durum da artmış kafa içi basıncı ve sekonder iskemik olaylarla yakından ilişkilidir (52, 77).

2.5.6. İnflamasyon

TBH, iskemi-reperfüzyon hasarına benzer şekilde karmaşık bir immünolojik/inflamatuar doku yanıtına neden olur. Hem primer hem de sekonder hasar proinflatuar sitokinler, prostaglandinler, serbest radikaller ve komplemanlar gibi çeşitli hücrel mediyatörlerin salınımını aktive eder. Bu süreçler kemokin ve adhezyon moleküllerini indükler ve immün ve glial hücrelerin birlikte hareketine neden olur (78). Örneğin, aktive olmuş polimorfonükleer lökositler hem defektif hem de intakt endotelial hücre tabakalarına tutunur. Bu hücreler doku hasarı sırasında makrofaj ve T lenfositlerle birlikte dokuya infiltre olur (79). Lökositlerin dokuya infiltrasyonu P-selektin, intraselüler hücre adhezyon molekülü (ICAM-1) ve vasküler hücre adhezyon molekülü (VCAM) gibi hücrel adhezyon molekülleri aracılığıyla gerçekleşir. Bu inflammatuar sürece cevaben hasarlı doku ve komşuluğundaki yapılar elimine edilir ve saatler, günler hatta haftalar içerisinde astrositler tarafından mikrofilamanlar ve nörotrofik faktörler sentezlenerek skar dokusu oluşturur (80). Tümör nekroze edici faktör (TNF), interlökin-1-beta ve interlökin-6 gibi proinflatuar sitokinler hasardan saatler sonra artar. Doku hasarının devam etmesiyle birlikte nörotoksik mediatörler salınır veya indirekt olarak nitrik oksit ve sitokinler artar. Vazokonstriktörlerin (prostaglandinler ve lökotrienler) artışına ek olarak lökosit ve plateletlerin adhezyonuyla mikrovasküler ağın tıkanması, kan beyin bariyerinin bozulması ve ödem oluşumu doku perfüzyonunu kötüleştirir ve sekonder beyin hasarı yerleşir (52).

2.5.7. Nekroz ve Apoptoz

TBH sonrasında iki farklı hücre ölümü görülür: nekroz ve apoptoz (programlanmış hücre ölümü). Nekroz, ağır mekanik veya iskemik/hipoksik doku hasarı ile aşırı artmış eksitator nörotransmitterler ve metabolik yetmezlik durumuna cevaben meydana gelir. Sonrasında fosfolipazlar, proteazlar ve lipid peroksidazlar biyolojik zarları otolize uğratar. Ortaya çıkan hücre kalıntıları antijen olarak tanınır, inflammatuar süreçlerle ortadan kaldırılır ve geriye skar dokusu kalır. Ancak apoptoza giden nöronlar, travma sonrasında morfolojik olarak intakt olup fizyolojik membran

potansiyeli oluşturabilecek yeterli ATP üretimine sahiptirler. Apoptoz primer hasardan saatler veya günler sonra belirginleşir. Fosfatidilserin translokasyonu ilerleyici membran ayrışmasıyla birlikte nükleer zarlarda lizisi, kromatin kondensasyonunu ve DNA parçalanmasını başlatır. Hücre içinde oluşan apoptotik cisimcikler şişen hücrelerden ekzositoz ile uzaklaştırılır. Kaspazların ardışık aktivasyon ve deaktivasyonu programlanmış hücre ölümünün en önemli mediatörleridir (81, 82).

2.6. Nöroinflamasyon

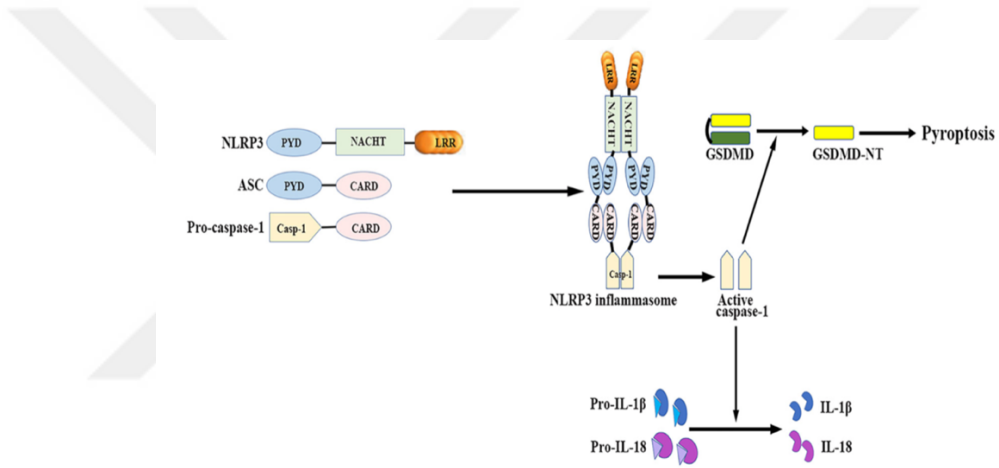
Nöroinflamasyon, santral sinir sisteminde (SSS), çeşitli patojenlere veya hücre hasarı sonucu ortaya çıkan konak kaynaklı sinyal moleküllere karşı oluşan *doğal immün yanıt*tır. İnflamatuar yanıt, bu patojenlerin elimine edilmesi, hasarlı hücrelerin temizlenmesi ve doku tamiri için önemli olsa da kontrolsüz nöroinflamasyon daha fazla doku hasarına ve nöral disfonksiyona neden olabilir. Sonuçta nöroinflamasyon nörolojik fonksiyon kayıplarının önemli bir sebebidir (7).

2.6.1. İnflamazom Tanımı, Yapısı ve İşlevi

İnflamazomlar ilk kez 2002 yılında Martinon ve ark. tarafından tanımlanmış yüksek moleküler ağırlığa sahip protein komplekslerdir (83). *Nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-benzeri, lösinden zengin tekrarlar (LRR) içeren reseptörler (NLR'ler)*, çeşitli patojenlerle ilişkili *pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)* ve hücre hasarı sonucu üretilen *damage-associated molecular patterns (DAMPs)* cevap veren bir grup sensör veya reseptördür. İnflamazom oluşturan NLR'ler üstünde en çok çalışılan gruptur ve NLRP1, NLRP3, NLRC4, NLRC5, NLRP6, NLRP7, NLRP12 ve NLR olmayan inflamazom reseptörü olarak bilinen AIM2'yi içerir. Bu sitozolik sensör molekül, bir adaptör protein olan *apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activating recruitment domain [CARD] (ASC)* ve efektör molekülü bir sistein proteaz olan prokaspaz-1 ile inflamazom adı verilen multiprotein kompleksi oluşturur (83, 84). NLRP, C-terminal leucine-rich repeat (LRR) domain, santral yerleşimli nucleotide-binding oligomerization domain (NOD or NACHT) ve N-terminal pyrin-only domain (PYD)'den oluşur. LRR parçası, PAMPs ve diğer ligandları tanır, NLRP'nin inaktif halde kalmasını sağlar ve protein-protein etkileşimlerine aracılık eder. NACHT parçası, ATPaz aktivitesi ile proteinin kendi kendine oligomerize olmasını, PYD ise NLRP ile ASC adaptör proteini arasında protein-protein homotipik etkileşimi sağlar (7).

ASC, N-terminal PYD ve C-terminal caspase activation and recruitment domain (CARD)'den oluşur. ASC ve NLRP'nin PYD parçalarının homotipik etkileşimi ile dimerik yapıdaki ASC, büyük benek benzeri bir yapıya dönüşür. ASC, CARD parçası aracılığıyla prokaspaz-1 ile etkileşim sağlar (84).

İnflamazomların aktive olması prokaspaz-1'in proteolitik etkisi olan aktif formu kaspaz-1'e parçalanmasına neden olur. Aktif kaspaz-1 ise immatür formlar olan prointerlökin-1 β (IL-1 β) ve 18 (IL-18)'in matür formlarının oluşumunu sağlar. IL-1 β ve IL-18'in ise makrofaj, mikroglia ve astrosit gibi nöroinflamatuvar hücre proliferasyonuna neden olduğu bilinmektedir (8).



Şekil 2.2. İnflamazomun (NLRP3) yapısı ve işlevi (7)

2.6.2. İnflamazomların Aktivasyonu ve Regülasyonu

En iyi bilinen inflamazom olan NLRP3, SSS'nde mikroglia ve astrositlerde bulunur. Yapılan invitro çalışmalarda, dinlenme halindeki hücrelerde bulunan NLRP3 bazal düzeyinin inflamazom aktivasyonu için yeterli olmadığı gösterilmiştir. İnflamazom aktivasyonu için kabul edilen iki kontrol noktası bulunan bir sinyal yolağı bulunmaktadır. Başlatıcı sinyal, NF-kB sinyal yolağının aktivasyonu ve nükleer translokasyonu ile transkripsiyonel olarak NLRP3 ve pro IL-1 β ekspresyonunda artıştır. Ardından PAMPs, agregre olmuş ve yanlış katlanmış proteinler, ATP ve kristalin gibi endojen ve ekzojen NLRP3 aktive edici ajanlar inflamazom kompleks oluşumunu desteklemektedir.

İnflamazomlar direkt stimulanlara cevap olarak aktive olmaktan ziyade hücrel homeostazda bozulmaya daha hassastır. Araştırmacılar değişik teoriler öne sürerek bu durumu açıklamaktadır: 1) intraselüler K^+ konsantrasyonunun düşük olması NLRP3 aktivasyonunda majör role sahiptir; 2) endolizozomal destabilizasyon nedeniyle katepsinlerin sitozole salınımı inflamazom aktivasyonu ile sonuçlanabilir; 3) mitokondrial hasar sonucu salınan serbest oksijen radikalleri, mitokondrial DNA ve kardiolipin inflamazomları aktive eder; 4) Ca^{+2} bağımlı sinyal yolları inflamazom aktivasyonunu tetikleyebilir. Bunun yanı sıra otofaji, microRNA'lar, CARD-only ve pyrin-only proteinleri ise inflamazomların negatif endojen regülatörleridir (7).

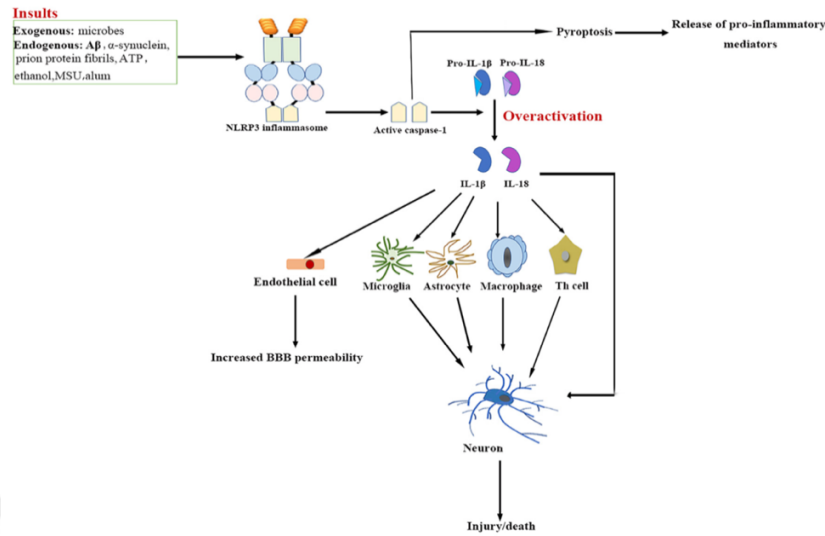
2.6.3. İnflamazom Aktivasyonunun Nöroinflamasyon Üzerine Etkileri

NLRP3/kaspaz-1/IL-1 aksı, SSS'nde bulunan doğal bağışıklık sisteminde kritik öneme sahip bir sinyal yolağıdır. SSS enfeksiyonu, travmatik beyin hasarı ve nörodejeneratif hastalıklarda hastaların beyin-omurilik sıvısında, beyin dokusunda ve plazmalarında yüksek düzeyde IL-1 β ve IL-18 saptanmıştır. IL-1 β ve IL-18'in mikroglia, astrosit, nöron ve endotelial hücrelerde bulunan reseptörlerine bağlanması çok sayıda inflamasyonla ilişkili genlerin ekspresyonu ile sonuçlanır.

IL-1 β , SSS'de inflamatuvar reaksiyonların başlamasında ve devam etmesinde majör role sahiptir. Kan beyin bariyerindeki devamlılığı modüle ederek periferik dolaşımdaki bağışıklık sistemi hücrelerinin SSS'ye infiltrasyonunu sağlar. Aynı zamanda mikroglia, astrosit ve infiltrat olmuş T hücrelerini aktive eder ve IL-6 ve TNF- α gibi diğer proinflamatuvar ve nörotoksik mediatörlerin salınımını artırır.

IL-18 ise esas olarak yardımcı T hücre aracılı immün yanıtı stimüle eder. Mikroglialardaki sinyal yollarını aktive ederek kaspaz-1 ekspresyonunu ve matriks metalloproteinaz ve proinflamatuvar sitokin üretimini artırır. Ek olarak glial hücrelerde Fas ligand ekspresyonunu artırarak Fas aracılı nöronal hücre ölümünü şiddetlendirir.

Pyroptosis, hücre ölümünün oldukça inflamatuvar ve programlanmış formudur. Sadece kaspaz-1 tarafından aktive edilmesiyle nekroz ve apoptozdan ayrılır. Hem glial hücrelerde hem de nöronlarda tanımlanmıştır. Pyroptosis plazma membranında hızlı rüptüre ve TNF- α , IL-1 β , IL-6 gibi proinflamatuvar sitokin ve kemokinlerin aşırı salınımı sonucu inflamatuvar mediatörlerin indüklediği hücre ölümüne neden olur.



Şekil 2.3. İnflamazom aktivasyonunun nöroinflamasyon üzerine etkileri (7)

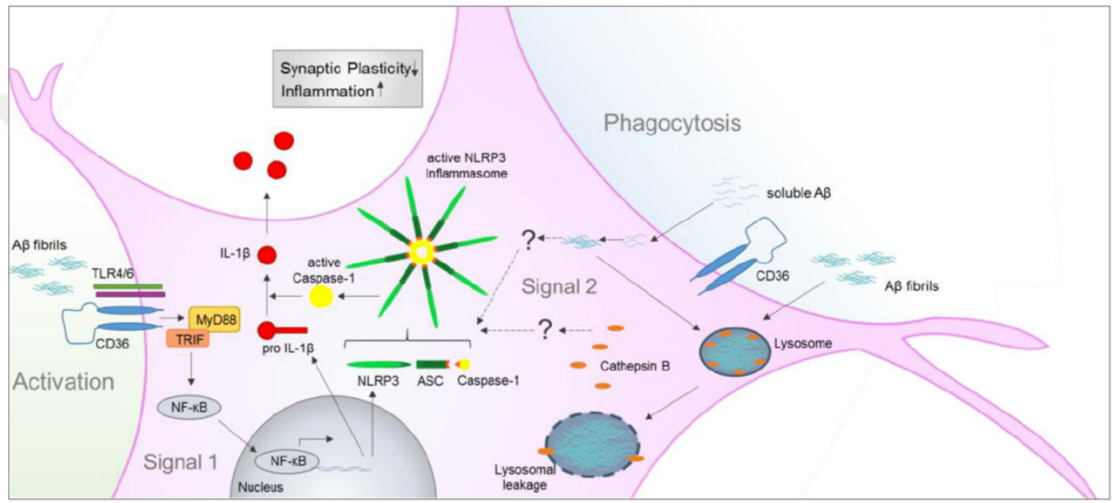
2.6.4. Nörolojik Hastalıklarda İnflamazomlar

2.6.4.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı, özellikle 65 yaş üstü popülasyonda demansın en sık nedeni olup geri dönüşümsüz, ilerleyici, nörodejeneratif bir hastalıktır. Amiloid β ($A\beta$) plaklarının ekstraselüler matrikste, hiperfosforile Tau proteinlerinin ve nörofibriler yumakların ise intraselüler alanda birikimi ile karakterizedir (85). $A\beta$ konsantrasyonunun eşik düzeyin üzerine çıkması, $A\beta$ oligomerlerinin oluşumu ve depolanması ile senil plak oluşumuna neden olur. Bu aşamada akümüle olmuş $A\beta$ 'nın oligomerik veya fibriler formları DAMP gibi algılanır ve mikrogliaları aktive eder. Doğal immün yanıt ise bu oligomerik veya fibriler yapıdaki $A\beta$ 'nın NLR'ler tarafından tanınması ve aktive olmasıyla uyarılır.

İlk kez 2008 yılında Halle ve ark. tarafından tanımlanan fibriler $A\beta$ ile NLRP3 aktivasyonu ile IL-1 β matürasyonu, salınımı ve nöroinflamasyon tetiklenir. Hayvan modellerinde ve hücre kültürlerinde inflamazom aktivasyonunun inhibisyonu ile nöron ölümünün engellendiği ve böylece kognitif disfonksiyondan korunduğu gösterilmiştir (86, 87).

Halle ve ark., NLRP3 inflamazom aktivasyonunda ilk basamağın A β fagositozu olduğunu savunmuşlardır. Bu aktivasyon kemik iliği kaynaklı makrofaj ve mikrogliaların interferon- γ veya lipopoliskkaridler tarafından uyarılmasıyla başlar. Sitokalazin D tarafından fagositozun inhibe edilmesi A β fibrillerince inflamazom aktivasyonunu engeller. Fagositozu takiben A β fibrilleri lizozomlara yerleşir ve lizozomlardan proteolitik bir enzim olan katepsin B'nin sitozole salınımını ve inflamazom aktivasyonunu uyarır (88).



Şekil 2.4. NLRP3'ün A β tarafından aktive edilmesi (88). Hem çözünmüş haldeki hem de fibriller formdaki A β inflamazom aktivasyonunu sağlamaktadır. Fibriller A β mikroglia aktivasyonuna neden olur, böylece NF- κ B üzerinden NLRP3 ve pro IL-1 β transkripsiyonu sağlar (Signal 1). Diğer yol ise hücre içinde agregre olmuş A β 'nın veya fagosite edilmiş fibriller A β 'ların lizozomal rüptürü ile inflamazom aktivasyonudur (Signal 2). Sonuçta kaspaz-1, pro IL-1 β 'yı aktif formu olan ve ekstraselüler matrikse salınan IL-1 β 'ya parçalar.

Sonuç olarak inflamazomlar, NLRP3 aktivasyonunun Alzheimer hastalığının patogenezinde ve progresyonunda önemli role sahip olduğunun gösterilmesiyle yeni tedavi seçeneği haline gelmektedir.

2.6.4.2. Multiple Skleroz (MS)

Multiple skleroz, dünya genelinde yaklaşık 1.5 milyon kişiyi etkileyen başlangıç, progresyon ve patolojisi nedeniyle heterojen özellikler gösteren nöroinflamatuvar, demyelinizan bir hastalıktır. *Relapsing-remitting* ve *progresif (primer veya sekonder)* olmak üzere 2 temel formu vardır.

Önceki çalışmalarda MS patofizyolojisinde T hücre temel alınırken günümüzde artık ek olarak kan beyin bariyerinde bozulma, demyelinizasyon, oligodendroglia ve nöronlarda defekt olduğu da bilinmektedir. Etiyolojisi belirsiz olmasına rağmen klinik çalışmalar kaspaz-1, IL-1 β ve IL-18 ekspresyonunda artışın hastalığın ciddiyeti ve progresyonu ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. IL-1 β , CD4⁺ T hücrelerinin Th17'ye differansiye olmasını sağlarken, IL-18, IFN γ salınımını indükler ve IL-12 ile sinerjistik etki gösterip CD4⁺ T hücrelerinin Th1'e diferansiye olmasını sağlar (9).

İnflamazomların direkt rolü ise hala belirsizliğini korumakla birlikte deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) modelinde inflamazomların demyelinizan hastalıklardaki etkileri açıklanmaya çalışılmaktadır. Örneğin MS tedavisinde ilk sırada kullanılan ilaçlardan biri olan IFN β 'nın etkisini NLRP1 ve 3 inflamazomlarını ve sonuç olarak IL-1 β üretimini inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir (9, 89-91).

2.6.4.3. Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS)

Toksik etkiye sahip, yanlış katlanmış protein agregatlarının oluşumuna sebep olan süperoksit dismutaz 1 (SOD1) mutasyonu, ALS patogenezinde önemli role sahiptir (92, 93). ALS'li hastalarda nöron içinde biriken agregatların major birleşeni olan *Transactive response DNA-binding protein-43 (TDP-43)* (94), mikrogliadaki NLRP3 inflamazom aktivasyonunu tetikleyerek motor nöronda hasara neden olan proinflamatuvar sitokin salınımına yol açar (95). Hem insanda ALS dokusunda hem de rodentlerde NLRP3, ASC, aktif kaspaz-1, IL-1 β ve IL-18 düzeyleri yüksek saptanmıştır (96, 97).

2.6.4.4. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları

Rodent ve insanlarda yapılan çalışmalarda, pnömokokal menenjitte NLRP3 inflamazom kompleksinin önemli rol oynadığı gösterilmiştir (98, 99). Pnömokoklarda por oluşturan bir sitolizin olan pnömolizin, kaspaz-1 bağımlı pyroptotik hücre ölümünü ve IL-1 β matürasyonunu indükler (100). NLRP3 inflamazomunun aşırı aktive olması, inflamatuvar yanıtı ve sonuçta beyin hasarını artırır (98). Benzer şekilde *S. aureus* da mikrogliyalarda ATP ve katepsin B bağımlı yollarla NLRP3 aktivasyonunu sağlar (101). Yine menenjit ve sepsiseminin bir diğer etkeni olan *Listeria monocytogenes*, NLRP3 için önemli bir sensördür (102).

2.6.4.5. Serebral İskemi

Serebral iskemik hasar patogeneğinde doğal immün yanıt kritik rol oynar. Akut iskemiyi takiben gerçekleşen nöron kaybına aktive olmuş mikrogliyalardan salınan proinflamatuvar sitokinler neden olur (103). Deneysel iskemik inme modellerinde NLRP3 artışıyla birlikte yüksek IL-1 β ve IL-18 düzeyleri ve nöronal ve glial hücre ölümü görülmektedir (104). Yapılan çalışmalarda NLRP3 aktivasyonuna yönelik yapılan müdahalelerde, enfarkt hacminde ve nörovasküler hasarda azalma gösterilmiştir (105).

2.6.4.6. Hemorajik İnme

İSH patofizyolojisi, sistemik immün hücrelerin infiltrasyonu, mikroglia aktivasyonu ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokin üretimi ile karakterizedir (106). İSH oluşturulmuş fare modelinde NLRP3 ekspresyonunda artış ve NLRP3'ün inhibisyonu ile nöroinflamasyonda zayıflama ve nörolojik fonksiyonlarda iyileşme gösterilmiştir (107).

SAK, tüm inmeler içinde en yüksek mortaliteye sahip serebrovasküler hastalıktır. SAK gelişiminde nöroinflamasyonun izlendiği erken beyin hasarı anahtar rol oynamaktadır (108). Sıçan SAK modellerinde NLRP3 inflamazom aktivasyonu gösterilmiştir (109).

2.7. Travmatik Beyin Hasarında İnflamasyon ve Nöroproteksiyon

Travma sonrası nöroinflamasyon, glial hücre aktivasyonu, lökositlerin hasarlı bölgeye infiltrasyonu ve inflamatuvar mediatörlerin salınımı ile karakterizedir (110).

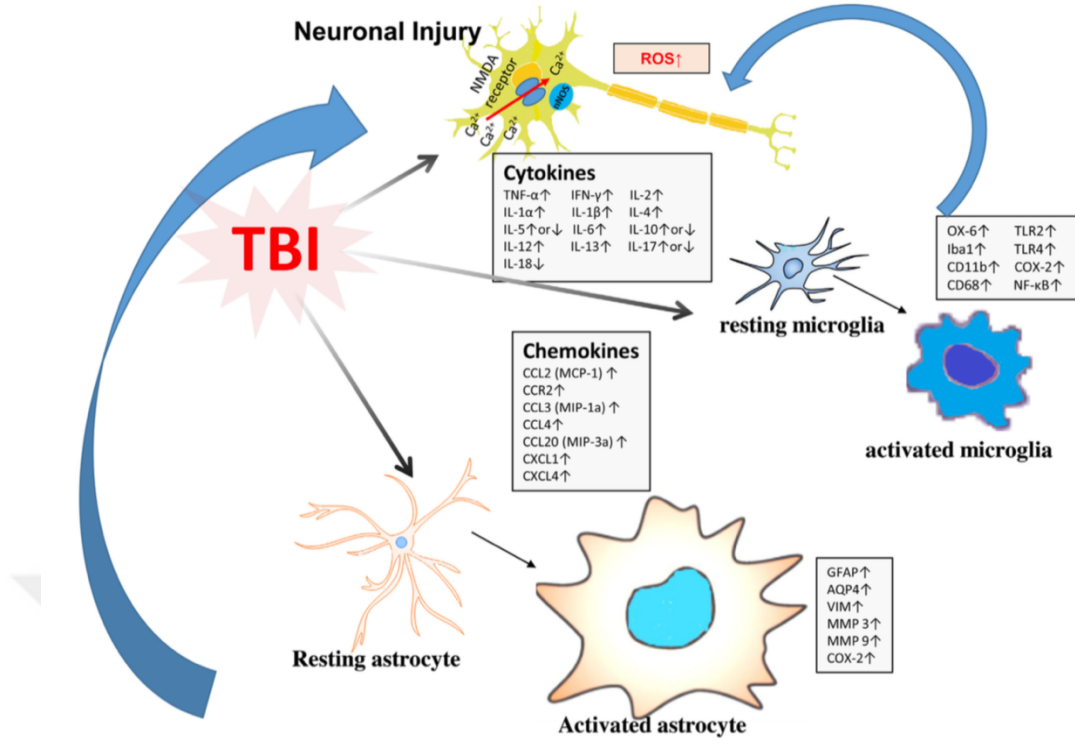
Santral sinir sistemi, normal şartlar altında kan beyin bariyeri tarafından bağışıklık sistemine ait komponentlerin girişini sınırlandıran ve böylece periferik bağışıklık sisteminden ayrılan, immünojenik olarak korunaklı bir organdır. Ancak inflamatuvar süreçte doğal bağışıklık sistemine ait hücrelerin aktivasyonu ve kazanılmış bağışıklık sisteminin cevabı ile bu durum bozulmaktadır. TBH sonrası inflamasyon ekstrasvaze olmuş kan ürünleri, doku debrisleri, intraselüler içerik, kompleman fragmanları, reaktif oksijen ve azot radikalleri gibi pek çok faktör tarafından tetiklenir. Kan beyin bariyerinin bozulması ise periferik dolaşımdan nötrofil, monosit ve lenfositlerin SSS'ye invazyonu ve mikrogliya ve astrositlerin aktivasyonu ile sonuçlanır (111).

Lökositler çok sayıda inflamatuvar mediatör taşımaları ve salgılamaları nedeniyle inflamasyonun başlamasında ve devam etmesinde önemli role sahiptir. Lökosit infiltrasyonunda artış beyin hasarına, kan beyin bariyerinde bozulmaya ve vazojenik ödem oluşumuna neden olur. Bunun yanı sıra humoral sistem de bu yanıtın başlaması, devamı ve rezolüsyonu için önemlidir (112). Diğer nörolojik hastalıklarda olduğu gibi IL-1 β ve IL-18'in, TBH patogenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (113).

IL-1 sitokin ailesinin 3 üyesi bulunmaktadır: proinflamatuvar sitokinler olan IL-1 α ve IL-1 β ve antiinflamatuvar sitokin IL-1 reseptör antagonisti (IL-1ra). IL-1ra, inflamatuvar cevabın regülasyonunda ve proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin sağlanmasında önemlidir. IL-1 α ve IL-1 β , TBH sonrası nörodejenerasyona sebep olan inflamasyonun başlamasından sorumluyken, IL-1ra'nın nöroprotektif etkileri bulunmaktadır. Akut inflamasyonun yanı sıra IL-1 ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin yüksek olması, β -amiloid protein ve fosforile olmuş tau proteininin ekspresyonunda artışa neden olur. Bu uzun dönem inflamasyon sürecinin travma sonrası demansın nedeni olduğu düşünülmektedir (114). IL-1'in proinflamatuvar etkisinin yanı sıra geç dönemde nörotrofik faktörlerin sentezinin uyarılması, astrosit proliferasyonu ve sinaptik plastisite ile doku yapımına da katkısı bulunmaktadır.

Mikroglialar, beynin kendi makrofajları olup, SSS'deki doğal immün sistemin temel hücreleridir. Dinlenme halinde mikroglialar, ağ oluşturan çok sayıda uzantılara sahip olup beyin parankimindeki lokal mikroçevreden ve patolojilerin algılanmasından sorumludur. Hasarlı nöronlardan ve diğer hücrelerden salınan DAMPs, mikroglialar tarafından eksprese edilen toll-benzeri reseptörler (TLRs) ve NOD-benzeri reseptörlerce (NLRs) algılanır ve böylece mikroglialar aktive olur (110). Aktivasyon ile hücrelerin boyutu artar ve lezyon bölgesine migrasyon ve debrisin fagositozu için ameboid hal alırlar. Spesifik yüzey reseptörleri, mikrogliaların fenotiplerini ve fonksiyonel özelliklerini belirler. M1 fenotipindeki mikroglialar, aktif, nörotoksik mikroglialardır ve proinflamatuvar sitokin ve reaktif oksijen ve azot radikallerini salgırlar. Aksine M2 fenotipinde olanlar ise antiinflamatuvar sitokin ve nörotrofik faktör salınımı ile nöroprotektif etkiye sahiptir (115). M2 mikroglialar aynı zamanda anjiogenezi, yara iyileşmesini, doku onarımını, ekstraselüler matriksin yeniden yapılandırılmasını ve destrüktif immün yanıtın baskılanmasını destekler (110, 116). Aşırı ve regüle olmayan mikroglial aktivasyon, ağır ve ciddi hasar ile sonuçlanır. Ayrıca sistemik immün hücrelerin hasarlı bölgeye yetersiz infiltrasyonu, mikroglia aktivasyonunun sonlandırılmamasına veya nöroprotektif fenotipe dönüşmemesine neden olur. TBH sonrası mikroglial aktivasyon ve proliferasyon serebral iskemi gibi diğer durumlara göre daha geç olur. Posttravmatik 3. güne kadar aktivasyon ve proliferasyon belirteçleri izlenememektedir (117). Bu pencere dönemi mikroglia aktivasyonunu hedef alan terapötik girişimler için fırsat sağlamaktadır.

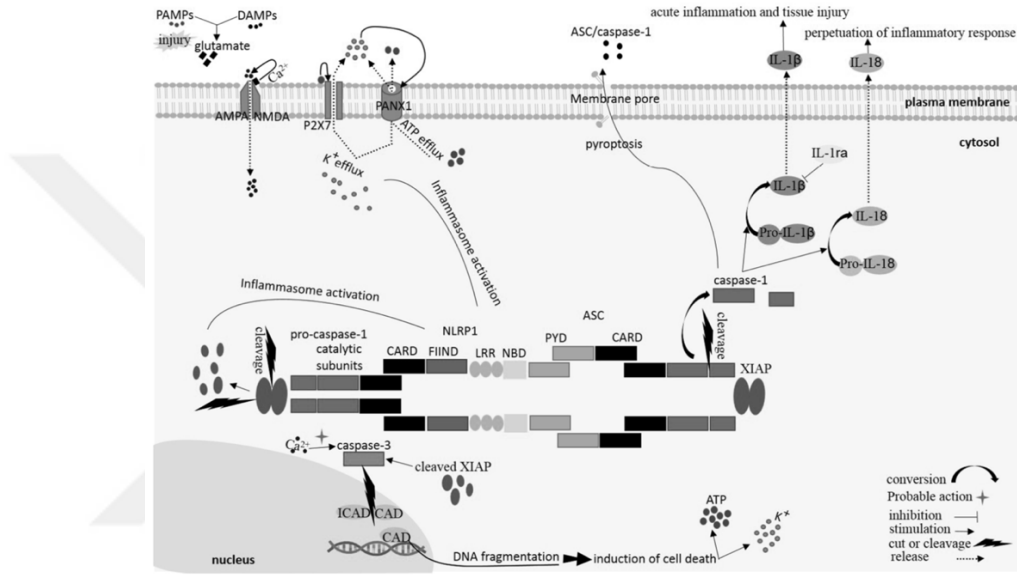
Astrosit aktivasyonu (astrogliozis), ara filamanlarda (vimentin ve GFAP) artış, hücre proliferasyonu ve hücrelerde hipertrofi ile karakterizedir. Aktivasyon ile nörotrofik faktörler artar. Böylece hücre ölümüne karşı koruma ve destek sağlanır. Yanı sıra ekstraselüler glutamat düzeylerini regüle ederek eksitotoksisiteyi azaltır. Travmayı takiben hipertrofik astrositlerin lezyonu çevrelemesi ve kondroidin sülfat gibi proteoglikanları biriktirmesi glial skar oluşumunu sağlar. Ancak bu sağlam fiziksel ve kimyasal bariyer aksonal rejenerasyonu inhibe eder ve fonksiyonel bağlantılar için gereken aksonal büyümeyi ve onarımı engeller (110).



Şekil 2.5. TBH sonrası dinlenme halindeki mikroglia ve astrositlerin aktive olması ve reaktif gliosis oluşumu (6)

Doğal bağışıklık sisteminin diğer bir parçası olan *inflamazomlar* ise hem erişkinlerde hem de çocuklarda TBH sonrası sekonder hasarda önemli role sahiptir. Isı şok proteinleri (HSP), ürik asit, ATP, potasyum ve nükleik asitler gibi steril inflamasyonda hasarlı hücreler tarafından salınan ve inflamatuvar yanıtı başlatan DAMPs tarafından aktive edilirler. DAMPs, sitozolde bulunan NOD-benzeri reseptörler (NLRs) tarafından tanınır. İnflamazomların aktive olması prokaspaz-1'in proteolitik etkisi olan aktif alt ünitelere yani kaspaz-1'e dönüşümünü sağlar. Kaspaz-1 ise prointerlökin-1 β ve 18'in matür formlarının oluşumunu sağlar. TBH ile ilişkisi gösterilmiş başlıca inflamazomlar NLRP1, NLRP3 ve AIM2'dir (9, 118). Travmadan 4 saat sonra NLRP1 ve ASC immünreaktivitesinde artışın gösterilmesi TBH'de dominant inflamazom tipinin NLRP1 olduğunu düşündürmektedir (118). Hastalardan alınan BOS örneklerinde yüksek düzeyde NLRP1 ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkisi gösterilmiştir (8). Ancak Liu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise NLRP3 mRNA'sı TBH sonrası ilk 6 saatte, NLRP3 protein kompleksi ise 24 saatte keskin bir pik yapmaktadır (119). Başka bir çalışmada NLRP3^{-/-} farelerde travma sonrası 24. saatte beyin hasarı ve inflamatuvar mediatörler azalmaktadır (120). Bu çalışmalar

inflamazomları hedef alan yeni tedavi modalitelerini gündeme getirmektedir: 1) NLRs antagonisti antiinflamatuvar ilaçlar (NLRP1'nin terapötik nötralizasyonu), 2) histopatolojik ve fonksiyonel sonucu iyileştiren anti-ASC antikorlar, 3) kaspaz-1 ve pannexin1 antagonizması ile pyroptozun hedefleyen moleküller, 4) özellikle proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β 'yı nötralize eden antikorlar ve 5) K⁺, pannexin-1, P2X4 ve P2X7 kanal inhibitörleri (118).



Şekil 2.6. TBH sonrası NLRP1 inflamazom aktivasyonu (118). Hasar sonrası salınan DAMPs ve PAMPs, ekstraselüler glutamat artışı ile nöronlardaki AMPA ve NMDA reseptörlerinin uyarılmasını sağlar. Bu uyarı ile hücre içine giren Ca²⁺ ve parçalanmış *X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP)*, apoptoz yollarından biri olan kaspaz-3 aracılı DNA fragmentasyonunu ve hücre ölümünü stimule eder. Hücre ölümü ile sitoplazmaya salınan ATP ve K⁺, pannexin-1 (PANX1) kanallarını aktive ederek ATP ve K⁺un hücre dışına çıkışını sağlar. Bunun yanı sıra yüksek konsantrasyona ulaşan ekstraselüler ATP, ATP-kapılı katyon kanalı olan P2X7 kanallarını aktive ederek PANX1 ile birlikte K⁺ çıkışını artırır. İntraselüler K⁺ konsantrasyonunun azalması inflamazomları aktive eder. İnflamazom aktivasyonu ile kaspaz-1, IL-1 β ve 18'in matür formlara dönüşüp salınmasını sağlar. Ayrıca pyroptoz ile hücre ölümünü indükler.

Kazanılmış bağışıklık, patojenlerin antijen spesifik yanıt oluşturarak hücresel veya humoral yolla elimine edilmesidir. B ve T lenfositler tarafından sağlanır.

Deneysel travma modellerinde T hücrelerinin beyin parankimini infiltre etmesi bifaziktir: primer hasardan hemen sonra kan beyin bariyerinin bozulması sonucu ve geç dönemde antijen spesifik T hücrelerin infiltrasyonu. TBH sonrası T hücre infiltrasyonu 3-14 gün arasında görülür ve 6 aya kadar devam eder (121). Kazanılmış bağışıklık, inflamatuvar yanıtta T hücre aktivasyonu ile hem patojenik hem de onarıcı süreçlere aracılık eder. Th1 yanıt ile proinflamatuvar olayları ve beyin hasarını ağırlaştırırken Th2 yanıt antiinflamatuvar ve nörotrofik etkiler ile hasarı hafifletir.

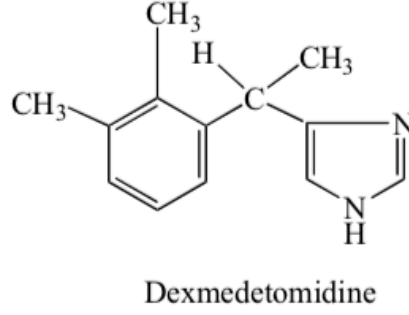
Sonuçta travma sonrası beyin hasarı patofizyolojisinde nöroinflamasyon önemli rol oynamaktadır. Çok sayıda, kompleks, doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemi mediatörleri, inflamasyonun yıkıcı veya yapıcı etkilerini belirler. İnflamasyonunun başlangıcının, devamının ve terminasyonunun daha iyi anlaşılması yeni ve efektif tedavi stratejilerinin gelişimi için önemlidir.

2.8. Deksmetomidin

2.8.1. Genel Bilgiler

Deksmetomidin (DEX), hem sedatif hem de analjezik etkilere sahip, potent, selektif ve spesifik α_2 adrenerjik reseptör agonistidir. α_2 adrenerjik reseptör agonistlerinin prototipi olan klonidin, 1960'lı yıllarda lokal vazokonstriktör etkisi nedeniyle nazal dekonjestan olarak geliştirilmiştir. Sonrasında 1966'da antihipertansif olarak kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda bu grup ilaçların terapötik amaçla kullanımı anksiyoliz, analjezi ve sedasyon gibi başka klinik endikasyonlara kaymıştır.

DEX, ilk kez 1999'da ABD'de yoğun bakım ünitelerinde sedasyon ve analjezi amaçlı kullanılmıştır. Klonidin ile karşılaştırıldığında DEX, α_2 adrenerjik reseptörlere yaklaşık 8 kat daha spesifik olup $\alpha_2:\alpha_1$ selektivite oranı 1600:1'dir. Yarılanma ömrü 2 saattir ve hızlı dağılım özelliğine sahiptir. Yarılanma ömrü kısa olduğu için intravenöz infüzyon için uygun bir ilaçtır. Karaciğerde biyotransformasyona uğrar ve metabolitlerin %95'i böbreklerden atılır (122).



Şekil 2.7. Deksmedetomidinin kimyasal yapısı

2.8.2. Farmakoloji

Sedatif ve antinosiseptif etkilere esas aracılık eden α_2 adrenerjik reseptör, α_{2A} 'dır. DEX, adenilat siklaz inhibisyonuna neden olan G-protein kenetli reseptörler üzerinden etki gösterir. Sonuçta hücresel fonksiyonlar için önemli bir regülatör olan siklik AMP (cAMP) azalır. α_2 adrenerjik reseptör agonistlerin diğer etkisi ise K^+ kanallarını aktive ederek, K^+ 'un hücre dışına çıkışının sağlanması ve nöron içine kalsiyum kanallarından kalsiyum girişinin inhibe edilmesidir. Böylece DEX, membranın iyon iletkenliğini değiştirerek hiperpolarizasyon ve nöronal supresyona neden olur. Esas etkisi, noradrenalin salınımının inhibisyonu ile özellikle locus ceruleustaki eksitasyonun azalmasıdır. Hipnotik etki de, locus ceruleustaki noradrenerjik nöronlarda hiperpolarizasyon ile meydana gelir (123).

2.8.3. Kardiyovasküler ve Solunum Sistemi Etkileri

α_2 adrenerjik reseptör agonistleri, kan basıncı üzerinde bifazik ve doz bağımlı etki gösterir. Düşük dozlarda dominant etki, noradrenalin salınımının azalmasına bağlı sempatik tonusta azalmadır. Bradikardi ise santral sempatolitik etki, baroreseptör refleks ve vagal aktivite ile ilgilidir. Yüksek dozlarda ise vasküler düz kaslardaki α_{2B} adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu hipertansiyon meydana gelir.

DEX'in net etkisi, kan basıncında hafif ve kalp hızında ise orta derecede azalmadır. Stabil hemodinami için DEX'in infüzyon şeklinde verilmesi önerilmektedir. Ciddi hipotansiyon sadece önceden hipovolemik veya vazokonstriksiyonu olan hastalarda görülür.

DEX'in ventilasyon üzerindeki etkisi oldukça azdır. Diğer sedatiflerin aksine sedatif, analjezik ve anksiyolitik etkilerini gösterirken solunum depresyonuna neden olmazlar (124).

2.8.4. Santral Sinir Sistemi Etkileri

Diğer α_2 agonistler gibi DEX, sedasyon, anksiyoliz ve analjezi sağlar. Sedatif etkisi propofol ve benzodiazepin gibi diğer sedatiflerin aksine GABA reseptör aktivasyonuna bağlı değildir ve GABAerjik ilaçlar gibi serebral kortekse etki etmezler. DEX ile indüklenen sedasyonda, hasta entübe ve ventilatörde bağlı olmasına rağmen kolayca uyandırılabilir ve kooperedir, ancak sonrasında uyaran olmadığında yine kolayca uyuyabilir (122).

2.8.5. Nöroprotektif ve Antiinflamatuvar Etkileri

DEX'in nöroprotektif etkisi birçok geçici serebral iskemi modelinde gösterilmiştir (11, 125, 126). DEX, direkt nöronlara etki ederek katekolamin ve glutamat etkisini azaltarak veya nöronal apoptozu engelleyerek koruyucu etki gösterir (125). Bunun yanı sıra astrositler üzerinde de etki gösterir. Bunu glutamatin astrositlere geri alımını artırarak (127), glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF) salınımını destekleyerek (128) ve hipoksi ile indüklenen faktör (HIF)-1 α ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) salınımını artırarak (129) yapar.

DEX, diğer sedatifler gibi sistemik immün cevabı baskılar. Yapılan çalışmalarda, geçici serebral iskeminin indüklediği nöronal apoptozu ve plazma TNF- α düzeyini azalttığı, sepsiste plazma IL-6 düzeyinde ve midazolam veya propofol uygulanan hastalarda postoperatif dönemde serum TNF- α , IL-1 β or IL-6 düzeyinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (130). Si ve ark. yaşlı farelerde yaptıkları diğer bir çalışmada ise DEX, izofluran ile indüklenen nörokognitif hasarı JAK2/STAT3 yolağı üzerinden azaltmıştır (131). Perinöral DEX, NF-kB sinyal yolağını kullanarak (132) ve spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarında ise mast hücre degranülasyonunu engelleyerek (133) etki göstermektedir.

DEX'in nöroprotektif etkisinin yanı sıra antiinflamatuvar özellikleri sepsiste akut akciğer hasarında (13), böbrek (14), myokard (15) ve hepatik (16) iskemi-reperfüzyon modellerinde gösterilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Bu araştırma, Hacettepe Üniversitesi Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü Beyin Araştırmaları Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, ağırlığı 30 - 35 gram arasında olan toplam 20 adet erişkin Swiss Albino erkek fare kullanılmıştır. Standart barınak koşullarında, 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık döngüsünde, $22\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, % 30-55 nem oranı ve su ile yiyeceğe sınırsız erişim (*ad libitum*) sağlanmıştır. Fareler üzerinde uygulanan deney protokolü, ulusal ve uluslararası hayvan deneyleri mevzuatına ve kılavuzlarına uygun olup; **Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu** tarafından **31.10.2017** tarih ve **2017/67-01** karar numarası ile onaylanmıştır.

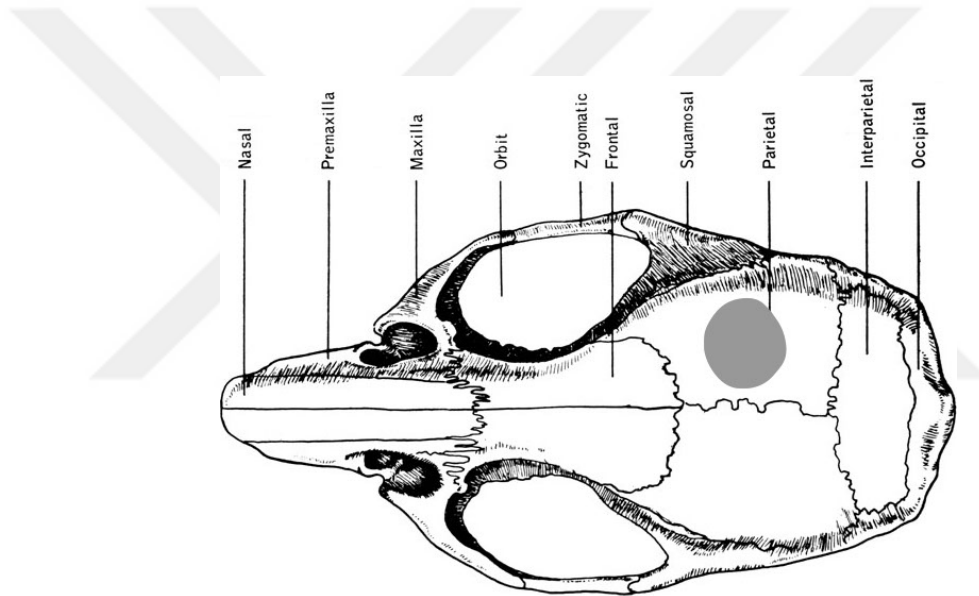
3.2. Deney Grupları ve Protokol

Çalışmada toplam 20 adet fare kullanılmıştır. 4 ayrı grup ve her grupta 5 fare ($n=5$) olacak şekilde gruplandırma yapılmıştır. 5 fare *sham* grubu, 5 fare kontrol grubu geriye kalan 10 fare ise deney grubu olarak ayrılmıştır. Hayvanlara 9 cm yükseklikten 80 gr serbest ağırlık düşürülerek kafa travması modeli oluşturulmuştur. Hayvanların gruplara göre dağılımı şu şekildedir:

- **Grup 1: Sham grubu (skalp insizyonu) ($n=5$):** İzofluran anestezisi altında, bu gruptaki farelerin skalpine orta hat insizyonu yapılarak kranium, sagittal sütür, sağ frontal ve parietal kemikler ekspozе edilmiştir. Ardından 4.0 ipek dikiş ile skalp insizyonları sütüre edilerek fareler kafeslerine alınmıştır.
- **Grup 2: Kafa travması sonrası kontrol ($n=5$):** İzofluran anestezisi altında, farelerin skalpine orta hat insizyonu yapılarak kranium, sagittal sütür ve sağ frontal ve parietal kemikler ekspozе edilmiştir. Fareler sırasıyla ağırlık düşürme (travma) düzeneğine yerleştirilerek 9 cm yükseklikten 80 gr ağırlığında silindirik ağırlık sağ parietal kemik üzerine düşürülmüştür. Sedasyon altında 4.0 ipek dikiş ile skalp insizyonları sütüre edilen fareler kafeslerine alınmıştır. Travmadan 30 dakika sonra farelere *intraperitoneal serum fizyolojik* enjeksiyonu yapılmıştır.
- **Grup 3: Kafa travması sonrası intraperitoneal DEX (40 $\mu\text{g/kg}$) ($n=5$):** İzofluran anestezisi altında, farelerin skalpine orta hat insizyonu yapılarak kranium, sagittal sütür ve sağ frontal ve parietal kemikler ekspozе edilmiştir. Fareler sırasıyla ağırlık düşürme (travma) düzeneğine yerleştirilerek 9 cm yükseklikten 80 gr ağırlığında silindirik ağırlık sağ parietal kemik üzerine

düşürülmüştür. Sedasyon altında 4.0 ipek dikiş ile skalp insizyonları sütüre edilen fareler kafeslerine alınmıştır. Travmadan 30 dakika sonra farelere *intraperitoneal* 40 µg/kg DEX enjeksiyonu yapılmıştır.

- **Grup 4: Kafa travması sonrası intraperitoneal DEX (200 µg/kg) (n=5):** İzofluran anestezisi altında, farelerin skalpine orta hat insizyonu yapılarak kranium, sagittal sütür ve sağ frontal ve parietal kemikler ekspozite edilmiştir. Fareler sırasıyla ağırlık düşürme (travma) düzeneğine yerleştirilerek 9 cm yükseklikten 80 gr ağırlığında silindirik ağırlık sağ parietal kemik üzerine düşürülmüştür. Sedasyon altında 4.0 ipek dikiş ile skalp insizyonları sütüre edilen fareler kafeslerine alınmıştır. Travmadan 30 dakika sonra farelere *intraperitoneal* 200 µg/kg DEX enjeksiyonu yapılmıştır.



Şekil 3.1. Travma modelinde ağırlık sağ parietal kemikte işaretlenen alana düşürülmüştür.

3.3. Anestezi ve Yaşamsal Bulguların Takibi

Deney başlangıcında farelerin ağırlık ölçümünü takiben, genel anestezi indüksiyonu %5'lik izofluran inhalasyonu ile gerçekleştirilmiş ve idame %2'lik izofluran ile (tüm işlemler süresince) sağlanmıştır. Arka ayak sıkıştırma yöntemi ile anestezi derinliği kontrol edildikten sonra fareler yüz üstü pozisyonda ağırlık düşürme düzeneğine yerleştirilmiştir. Farelere yüz maskesi ile deney süresince oksijen desteği ve izofluran anestezisi uygulanmıştır. Deney esnasında sürekli olarak kalp atım sayısı ve kan oksijen saturasyonu pulse oksimetre ile (V3304 Digital Table-Top Pulse

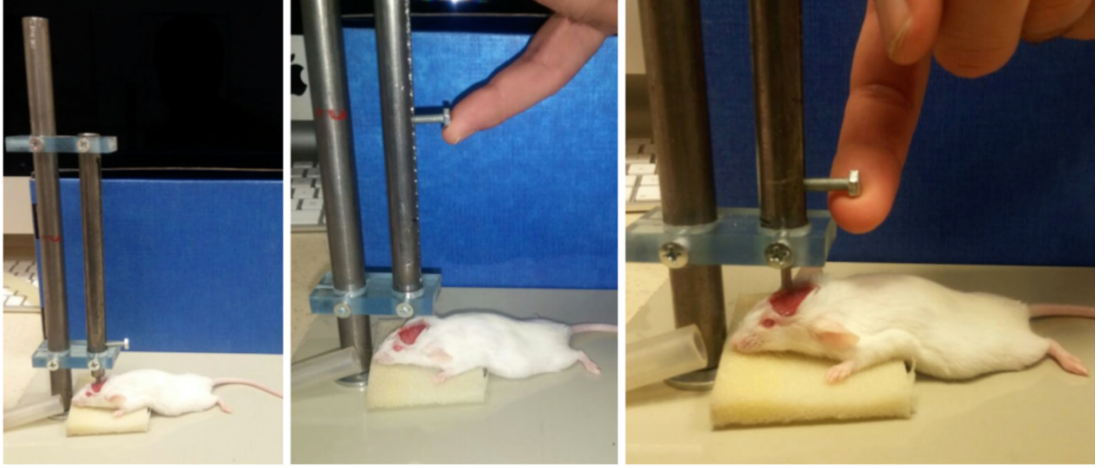
Oximeter, SurgiVet, Amerika Birleşik Devletleri) monitörize edilmiştir. Tüm işlemler boyunca ortalama 2 L/dk oksijen desteği sağlanmış ve fare kendiliğinden solunumu devam eder vaziyette takip edilmiştir. Rektal sıcaklık probu ve homeotermik battaniye yardımı ile (Harvard Apparatus Limited, İngiltere) vücut sıcaklığı $37.0 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 'de tutulmuştur. Belirli aralıklarla (10- 15 dk) kuyruk/parmak sıkıştırma ve göz kırpmaya refleksi kontrol edilerek anestezi derinliği takip edilmiştir.

3.4. Kafa Travmasının Oluşturulması

Anestezi altında, skalp orta hat insizyonu ile açılarak kranium, frontal, parietal ve oksipital kemikler görülecek şekilde ortaya konulmuştur (Şekil 3.2.). Kranium ekspozisyonu sağlandıktan sonra fareler travma düzeneğine alınmıştır. Şekil 3.3.'te görülen serbest ağırlık düşürme düzeneğinin altına sağ parietal kemik silindirik ağırlığın temas yüzeyine denk gelecek şekilde yerleştirilmiş ve izofluran ve O_2 desteği altında 80 gram'lık çelik ağırlık 9 cm yükseklikten düşürülmüştür. Travmanın hemen sonrasında skalp insizyonları 4.0 ipek ile sütüre edilmiştir. Hayvanların ayılması esnasında O_2 desteğine devam edilmiştir. Fareler ayıldıktan sonra kafeslerine alınmıştır.



Şekil 3.2. Kraniumun ortaya konulması



Şekil 3.3. Ağırlık düşürme düzeneği ile kafa travmasının oluşturulması. Silindirik tüp içerisine vertikal olarak yerleştirilmiş 6 mm çaplı (temas eden ucu 3 mm çaplı, 1 cm uzunluğunda, çarpma alanı 7 mm²; ana gövde ile birleşik), 10 cm uzunluğunda 80 gram ağırlığında metal ağırlık, üzerindeki horizontal kol yardımıyla istenilen yükseklikten düşürülmektedir.

3.5. İntraperitoneal Deksmetomidinin Hazırlanması ve Verilmesi

200 mcg/2 mL'lik flakon şeklinde bulunan DEX, %0.09'luk sodyum klorür ile seyreltilip travmadan 30 dakika sonra grup 3 ve 4'e intraperitoneal olarak verilmiştir.

3.6. Nörolojik Değerlendirme

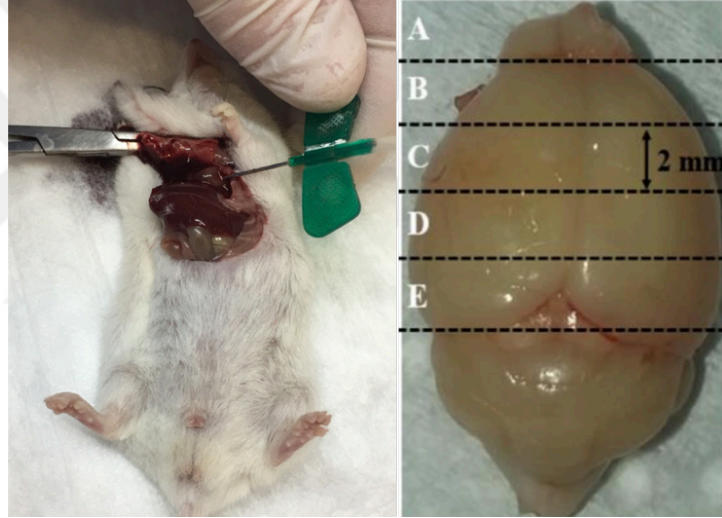
Farelerin nörolojik değerlendirmeleri “*modified neurologic severity score (mNSS)*” ile yapılmıştır (Tablo 3.1.). Bu skarlama farelerin fonksiyonel durumlarını değerlendirmek için kullanılmaktadır. 0 puan nörolojik kaybı olmayan, 18 puan ise ağır nörolojik disfonksiyonun olduğu ve hiçbir görevi gerçekleştiremeyen fareleri ifade etmektedir. İlk muayene travmadan sonra 1. günde, 2. nörolojik değerlendirme ise travmadan sonra 3. günde yapılmıştır. 3. gün sonunda yapılan muayeneler ile ilk muayeneler arasındaki puan farkı $\Delta mNSS$ olarak kaydedilmiştir. Bu puanlar deksmedetomidinin fonksiyonel düzelme üzerindeki etkisinin gösterilmesi için kullanılmıştır. Her bir refleksin yokluğu veya belirtilen görevin yerine getirilememesi puan olarak eklenir. 1-6 puan hafif, 7-12 orta, 13-18 ağır şiddette kafa travması olarak sınıflandırılır.

Tablo 3.1. Modified neurological severity score (mNSS) (134)

<i>Test</i>	<i>Puan</i>
<i>Kuyruğundan tutularak kaldırılma</i>	
Ön ekstremitede fleksiyon yok	1
Arka ekstremitede fleksiyon yok	1
30 saniye içerisinde kafanın vertikal düzlemde 10 derece ve daha fazla kaldırılması yok	1
<i>TOPLAM</i>	3
<i>Farenin yere konulması (sadece bir tanesi seçilir)</i>	
Normal yürüme	0
Düz yürüyememe	1
Paretik taraf boyunca halkasal hareket	2
Paretik tarafa düşme	3
<i>Duyu testleri</i>	
Görsel ve taktıl uyarana yanıt yok	1
Propriyosepsiyon yanıtı yok	1
<i>TOPLAM</i>	2
<i>Silindir denge testi (sadece bir tanesi seçilir)</i>	
Sabit postürle dengeli duruş var	0
Silindire tutunma	1
Silindire tutunma ve 1 ekstremitenin düşmesi	2
Silindire tutunma ve 2 ekstremitenin düşmesi	3
Dengede durmaya çalışma fakat düşme (>40 sn)	4
Dengede durmaya çalışma fakat düşme (>20 sn)	5
Düşme, denge veya tutunma çabası yok	6
<i>Refleks kaybı ve anormal hareketler</i>	
Pinna refleksi (eksternal audituar meatusa dokunulduğunda başın sallanması) yok	1
Kornea refleksi yok	1
İrkilme refleksi (ellerin çırpılmasıyla ortaya çıkan sese tepki) yok	1
Nöbet, myoklonus, myodistoni var	1
Toplam	4
Toplam	18

3.7. Sakrifikasyon, Beyinlerin Çıkarılması ve Fiksasyon

Travmayı takiben uyandırılan fareler 3 gün izlem sonrası immünohistokimyasal ve histopatolojik çalışma için örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildi. Bunun için yüksek doz kloralhidrat anestezisi altında torakotomi yapılarak kalp ortaya konulduktan sonra sol ventrikülden farenin karaciğeri beyazlaşınca kadar heparinli solüsyon verildi, sonrasında vücudu sertleşinceye kadar %4 paraformaldehit (0,1 mol/L sodyum fosfat tamponu içinde, pH: 7,4) ile damarlar perfüze edilerek doku fiksasyonu yapıldı (Şekil 3.4.). Ardından fareler dekapite edilerek beyinleri çıkarıldı ve formaldehit solüsyonunda bekletilerek fikse edildi. Fikse edilmiş beyinler oda sıcaklığında muhafaza edildi.



Şekil 3.4. Torakotomi, kardiyak perfüzyon ile doku fiksasyonu ve beyin koronal düzlemde kesitlerinin alınması

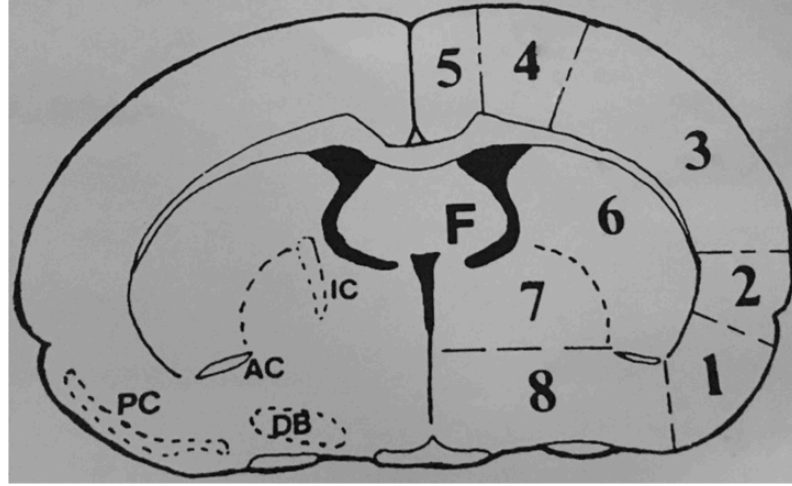
3.8. Kesitlerin Alınması ve İmmünohistokimyasal ve Histopatolojik Değerlendirme

Farelerde kafa travması sonrası hücre hasarı ve inflamasyonun incelenmesi için histopatolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar yapıldı. Beyinlerde taraf doğrulaması yapılabilmesi için travmaya maruz kalmamış, sol hemisfer çini nürekkebi ile işaretlenip, Bouin'in solüsyonu ile tespit edildi. Tespit edilen beyinler olfaktor bulblardan serebelluma kadar 2 mm'lik 5 eşit koronal dilime ayrıldı ve beyin hasarının

daha belirgin olduğu C kesitleri kullanıldı (Şekil 3.7.1). Doku örnekleri takip cihazına alındı. Takip cihazında dehidratasyonu sağlamak için sırayla %70, %80, %90 ve %100'lük alkollerden geçirildi. Şeffaflaştırma için doku örnekleri birer saatten 2 kere ksilolden geçirildikten sonra parafine alıştırma için 2,5 saat saf parafinde bekletildi. Doku takip cihazından alınan örnekler Leica Eg1150H parafin istasyonunda saf parafine gömülerek parafin bloklar elde edildi. Elde edilen parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan kesitler 45 dakika 70°C etüvde bırakıldıktan sonra 2 saat ksilende tutularak deparafinize edildi. Örnekler dereceli alkol serilerinden (%100, %90, %70 ve %50) geçirilerek rehidrate edildi. Doku kesitlerinin bir kısmı Hematoksilen ve eozin (H-E) ile boyandıktan sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi.

Bir kısmı ise immünohistokimyasal boyama için hazırlandı. IL-1 β , Iba-1 ve CD3 için 10 mM pH 6 sodyum sitrat tampon 80°C su banyosuna konulup ısıtıldıktan sonra ısıtılmış tamponun içine deparafinize lamalar yerleştirilerek ısıya maruz bırakıldı. Böylece ısı aracılığıyla antijenler açığa çıkarıldı (antigen retrieval). Lamlar oda sıcaklığında 25-30 dakika bekletildi. NLRP3 boyaması için ise doku kesitleri 1:20 oranında distile su ile dilüe edilmiş proteinaz K ile oda sıcaklığında 15 dakika tutuldu. Tüm örnekler distile su ile yıkanıp 1 saat bloklama solüsyonu ile inkübe edildi. IL-1 β , Iba-1 ve CD3 için fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) içinde %1'lik sıgır serum albumini (BSA) ve %10'luk normal goat serum (NGS) ile, NLRP3 için ise %1'lik BSA, %0.02'lik Triton X, %0.05'lik sodyum asit, %0.4'lük EDTA ve %10'luk normal donkey serum (NDS) karıştırılarak bloklama solüsyonu hazırlandı. Sonrasında kesitler bir gece +4°C'de, NLRP3 ise oda sıcaklığında primer antikor ile inkübe edilip yıkandı. NLRP3 dışındaki kesitler 1 saat oda sıcaklığında 1:200 oranında sekonder antikor (Cy3 goat anti rabbit) ile, NLRP3 ise 2 saat sekonder antikor (donkey anti goat) ile oda sıcaklığında inkübe edildi. Son olarak lamlar yıkandıktan sonra DNA'yı boyayan dolayısıyla hücre çekirdekleri görünür hale getiren, bir mavi floresan boyası olan Hoechst 33342 damlatılarak lameller kapatıldı.

Kesitler Leica DM 6000B mikroskobu ile 40X büyütmede incelendi ve hasarın net görüldüğü 4.-5. bölge bileşkesinden DC 500 model Leica dijital kamera ile fotoğraflar çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı (Şekil 3.5.). Sağ ve sol hemisferler için ilgilenilen belirteç ile pozitif boyanan hücreler, toplam hücre sayısına oranlandı.



Şekil 3.5. Şematik fare beyni koronal kesitinde beyin kısımlarının numaralandırılması

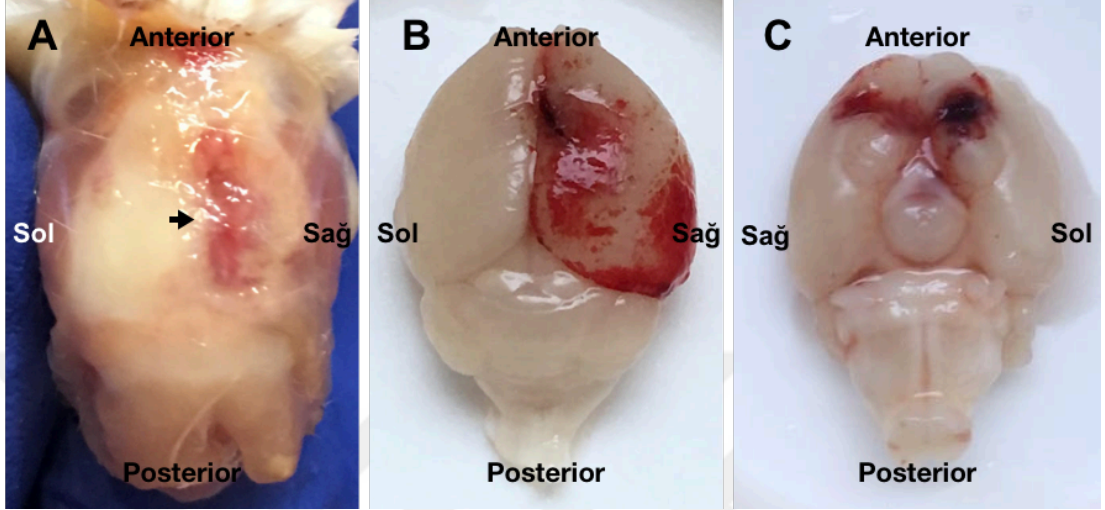
3.9. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesi için GraphPad Prism 7 for Mac programı kullanıldı. İki den fazla sayıda bağımsız grubun ortalamalarının karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi, iki bağımsız grubun ortalamalarının karşılaştırılmasında ise Mann Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Travma Şiddetinin Etkisi

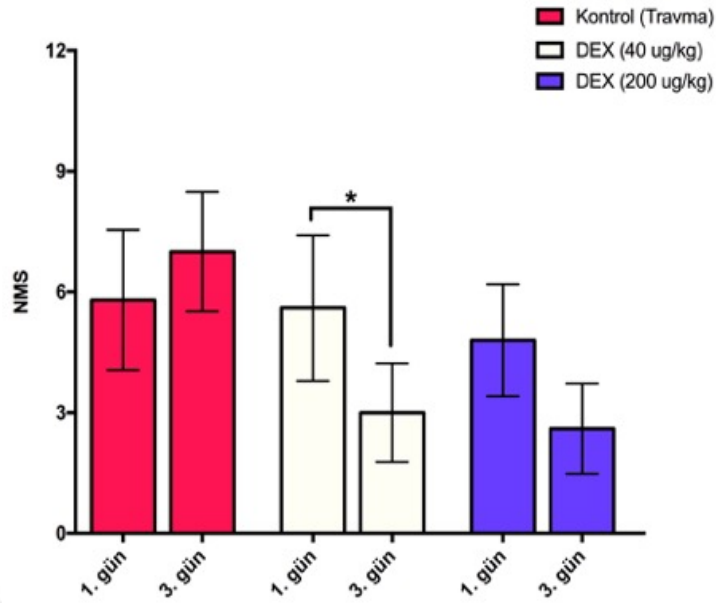
Oluşturulan kafa travması modelinde mortalite izlenmemiştir.



Şekil 4.1. Kafa travması oluşturulan farelerde kranial/intrakranial hasar bulguları. Kafa travması sonrası lineer kemik fraktürü (siyah ok) (A), sağ serebral hemisferde yaygın subaraknoid kanama (B) ve beynin frontobazalinde contrecoup kontüzyonlar (C) izlenmektedir.

4.2. Nörolojik Değerlendirme Sonuçları

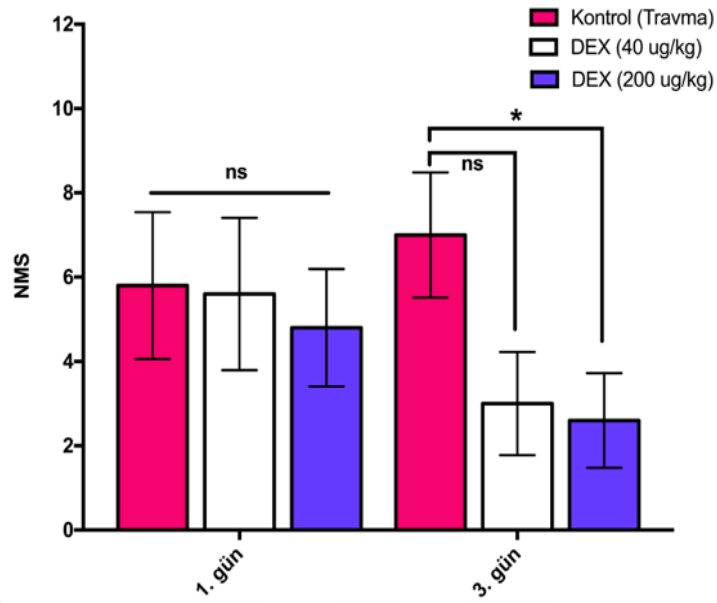
Farelerin nörolojik değerlendirmeleri kafa travması oluşturulduktan sonra 1. ve 3. günde yapılmıştır. Muayeneler arasındaki puan farkı (Δ mNSS) hesaplanmıştır. *Sham* grubunda herhangi bir nörolojik kayıp izlenmemiştir. Kontrol grubunda yapılan değerlendirmede toplam mNSS skoru 1. günde 29 (en düşük 3, en yüksek 12, n=5/grup), 3. gün yapılan muayenede ise 35 (en düşük 4, en yüksek 12, n=5/grup) olarak hesaplanmıştır. 40 µg/kg DEX alan grupta 1. gün toplam mNSS skoru 28 (en düşük 0, en yüksek 10, n=5/grup), 3. günde 15 (en düşük 0, en yüksek 7, n=5/grup) olarak bulunmuştur. 200 µg/kg DEX alan grupta 1. gün toplam mNSS skoru 24 (en düşük 2, en yüksek 10, n=5/grup), 3. gün toplam mNSS skoru 13 (en düşük 1, en yüksek 7 n=5/grup) olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. 1. ve 3. gün sonunda yapılan nörolojik muayene skorlarının gruplar içinde değerlendirilmesi

1. ve 3. gün sonunda yapılan nörolojik değerlendirme puanları arasındaki farklar farelerin üç gün içindeki fonksiyonel düzelmelerini göstermektedir. Bu fark Δ mNSS olarak hesaplanmıştır. Δ mNSS, kontrol grubunda $1,2 \pm 0,82$, 40 μ g/kg DEX verilen grupta $2,6 \pm 0,82$ ve 200 μ g/kg DEX verilen grupta ise $2,2 \pm 0,82$ olarak bulunmuştur. Gruplarda zamana göre nörolojik iyileşme düzeylerinin karşılaştırılabilmesi için Δ mNSS skorları kullanılmıştır. 40 μ g/kg dozunda verilen DEX ile nörolojik olarak anlamlı bir iyileşme sağlandığı ($p=0,024$, $n=5$ /grup), 200 μ g/kg DEX verildiğinde ise iyileşmenin istatistiksel olarak anlamlılığa yakın olduğu görülmüştür ($p=0,06$, $n=5$ /grup).

Gruplar arasında 1. ve 3. gün nörolojik muayene skorları değerlendirildiğinde 1. gün sonunda yapılan mNSS skorları arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$, $n=5$ /grup). 3. gün sonundaki muayeneler karşılaştırıldığında ise 40 μ g/kg DEX verilen grup ile kontrol grubu arasında fark izlenmemesine rağmen 200 μ g/kg DEX verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı iyileşme sağlanmıştır ($p=0,079$ ve $p=0,047$, $n=5$ /grup). DEX verilen iki grup arasında ise fark izlenmemiştir ($p=0,89$, $n=5$ /grup) (Şekil 4.3.).

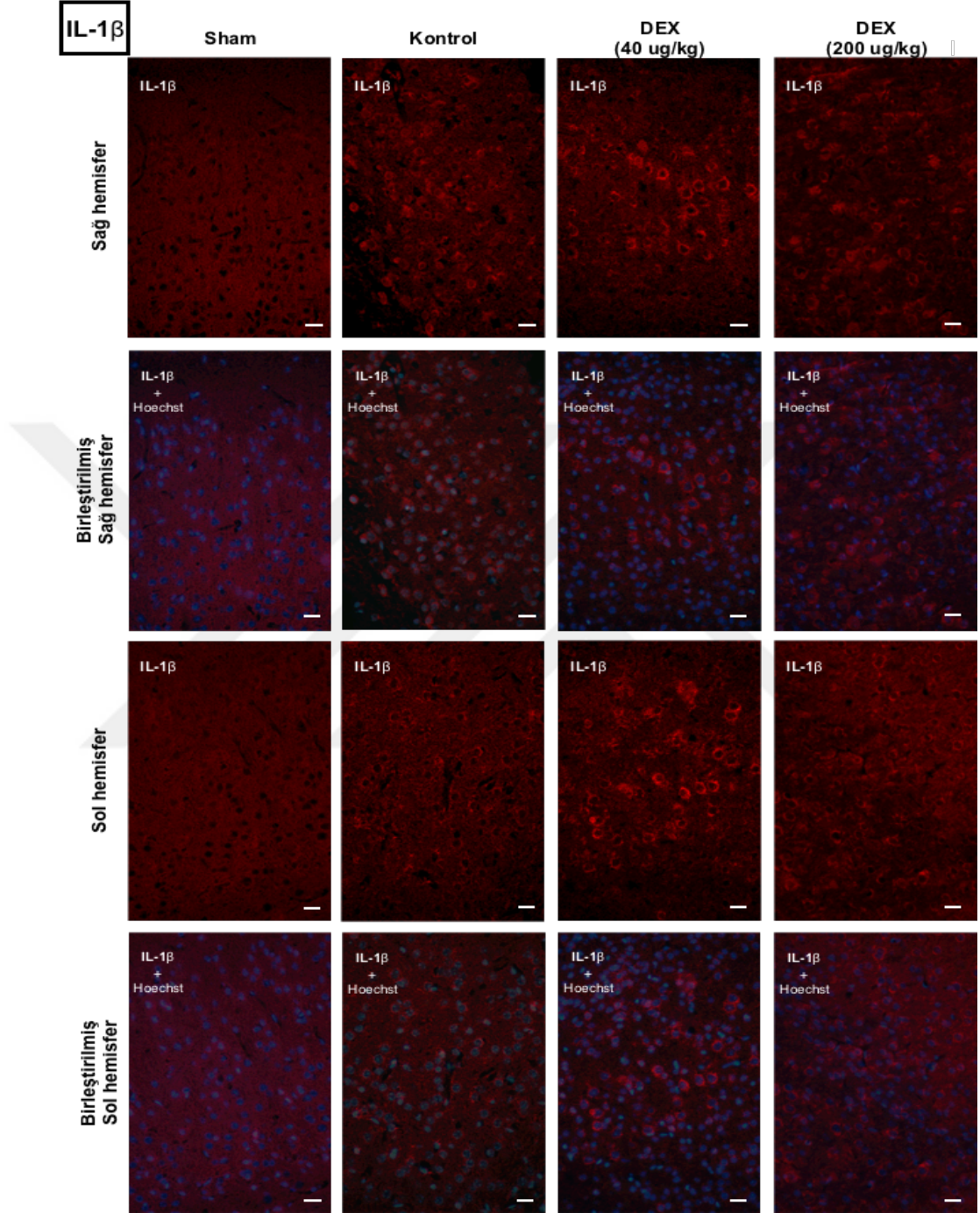


Şekil 4.3. 1. ve 3. gün sonunda yapılan nörolojik muayene skorlarının gruplar arasında değerlendirilmesi

4.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Travma oluşturulduktan 3 gün sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularından alınan kesitlere ayrı ayrı IL-1 β , Iba-1, CD3 ve NLRP3 immünofloresan işaretleme yapılmıştır. Görüntüler tüm farelerden ve aynı dokuda sağ ve sol hemisferden alınıp 40X büyütmede incelenmiştir. İmmünoreaktivite gösteren hücreler sayılıp toplam hücre sayısına oranlanmıştır. Sağ hemisferdeki pozitif hücre yüzdesi sol hemisferdekine oranlanıp bu veriler hem gruplar içinde ortalama $\pm$ standart hata olarak değerlendirilmiş hem de elde edilen oranlar gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

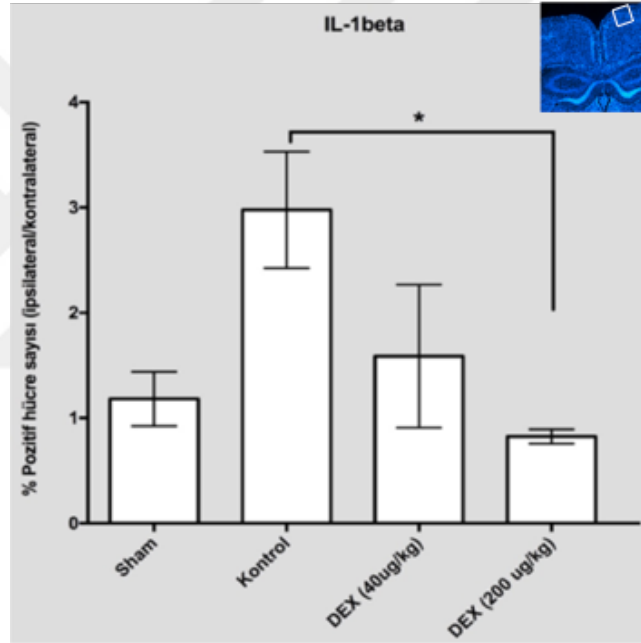
4.3.1. IL-1 β Sinyalinin Değerlendirilmesi



Şekil 4.4 Travma modeli oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularında IL-1 β 'nin epifloresan mikroskop ile görüntülenmesi (40X büyütme, ölçek 20 μ m). İkinci ve dördüncü satırda hücre çekirdeklerini işaretleyen Hoechst görüntüleri ile IL-1 β ile pozitif boyanan hücre görüntüleri birleştirilmiştir.

Bir proinflatuar sitokin olan IL-1 β sinyal pozitifliği *sham* grubunda ortalama $1,18 \pm 0,26$ ($n=5/\text{grup}$), kontrol grubunda $2,98 \pm 0,55$ ($n=5/\text{grup}$), 40 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen grupta $1,59 \pm 0,68$ ve 200 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen grupta $0,83 \pm 0,07$ ($n=5/\text{grup}$) olarak bulunmuştur.

Kontrol grubu, 40 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen grup ile karşılaştırıldığında IL-1 β sinyali ilaç verilen grupta azalmasına rağmen bu düşüş anlamlı bulunmamıştır ($p=0,11$; $n=5/\text{grup}$). Ancak kontrol grubu ile 200 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen gruptaki pozitif boyanan hücre yüzdesine bakıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,028$; $n=5/\text{grup}$) (Şekil 4.5.).

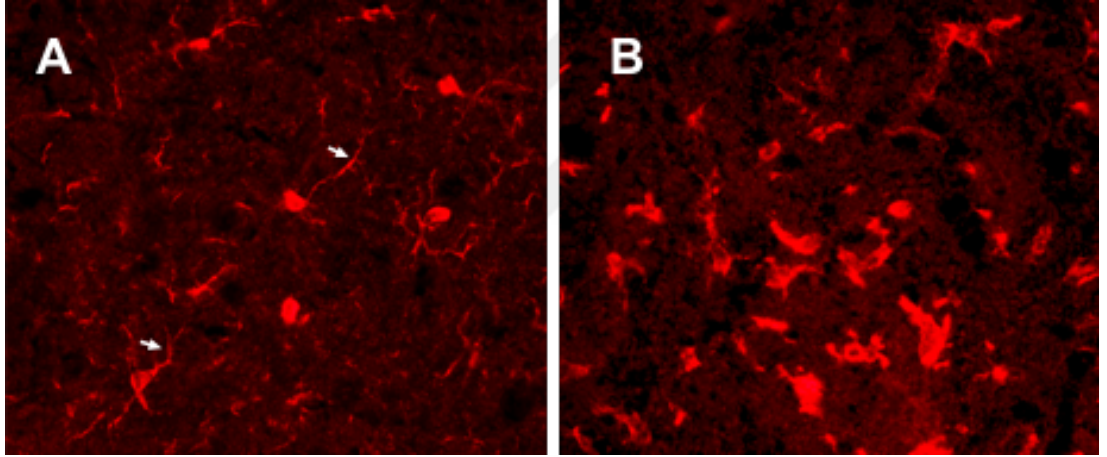


Şekil 4.5. IL-1 β sinyalinin karşılaştırılması. İpsilateral: travmatik beyin hasarının gerçekleştiği sağ hemisfer, kontralateral: karşı, sol hemisfer.

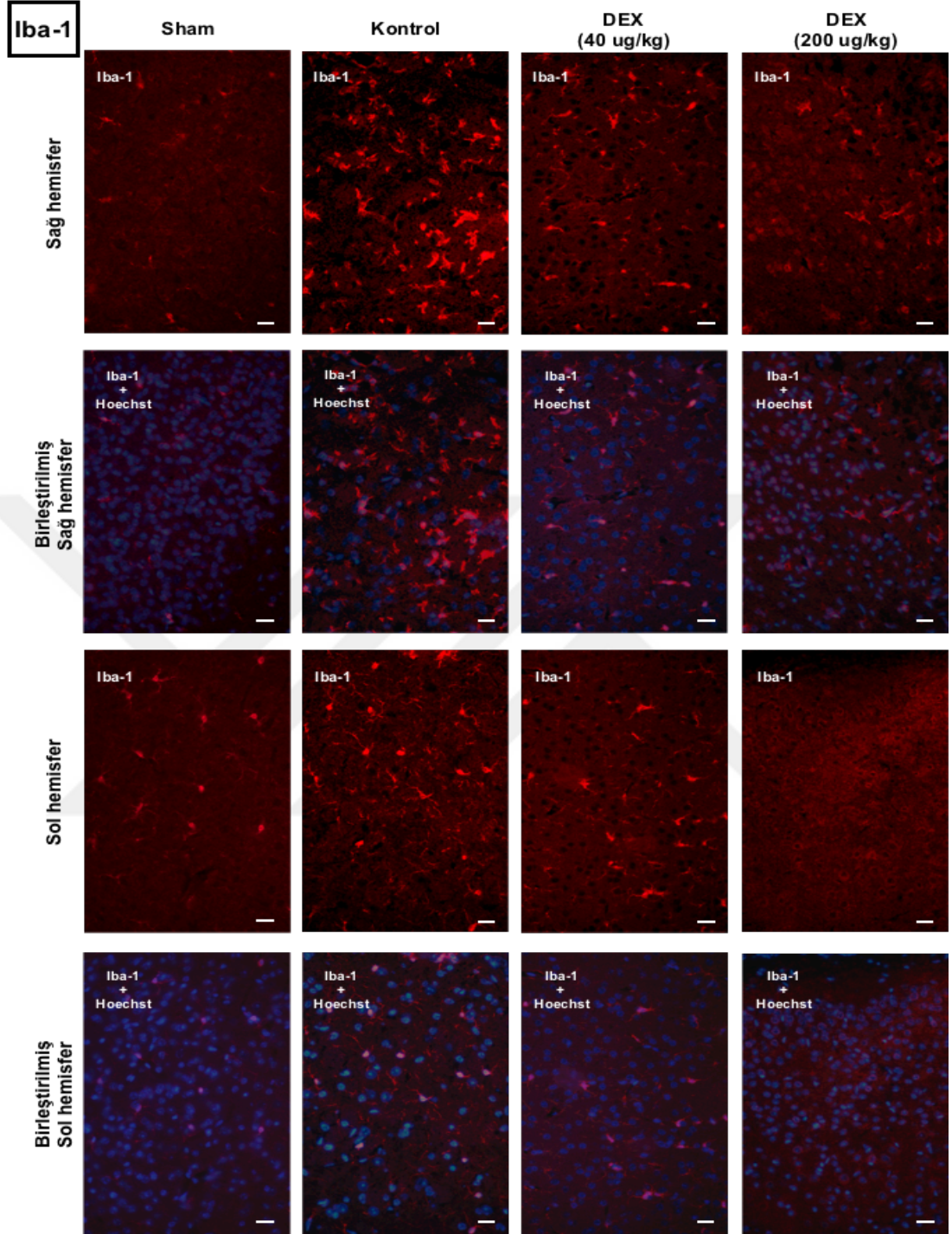
4.3.2. Iba-1 ile Mikroglia Aktivasyonunun Gösterilmesi

Travma sonrası mikroglial hücre aktivasyonun gösterilmesi için mikroglia/makrofaj spesifik kalsiyum bağlayıcı bir protein olan iyonize kalsiyum bağlayıcı adaptör molekül-1 (Iba-1) tercih edilmiştir. Iba-1, aktin demetleme aktivitesine sahip olup aktive mikroglialarda fagositozda rol almaktadır (135).

Travma sonrası oluşan inflamasyonda mikroglial hücrelerin aktive olmasıyla hücrelerin morfolojileri, gen ekspresyonları ve fonksiyonları değişmektedir. Morfolojik olarak dallanmış, ince uzantıları olan mikroglialar doku hasarı veya patojen invazyonu söz konusu olduğunda buna yanıt olarak infiltre olmuş makrofajlardan zor ayırt edilebilen, hipertrofik ve ameboid bir hal alırlar (115) (Şekil 4.6.).



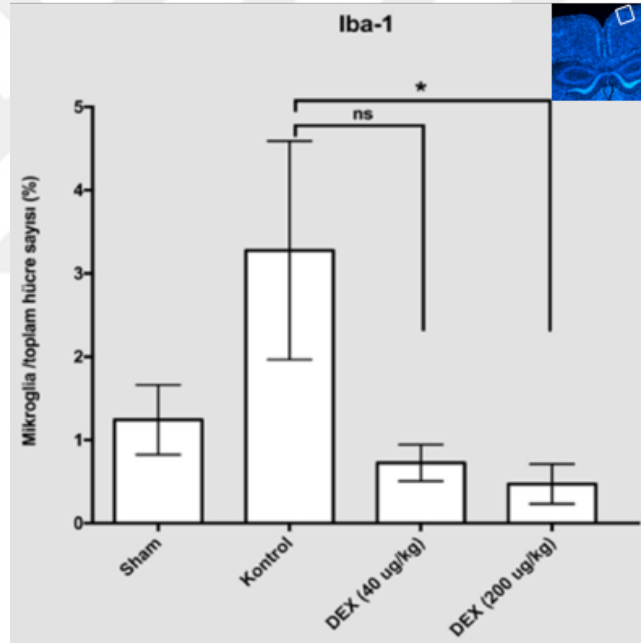
Şekil 4.6. Dallanmış, ince uzantıları (beyaz ok) olan dinlenim halindeki (A) ve aktif, ameboid mikroglialar (B)



Şekil 4.7. Travma modeli oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularında Iba-1 ile işaretlenmiş mikroglial hücrelerin epifloresan mikroskop ile görüntülenmesi (40X büyütme, ölçek 20 μ m). İkinci ve dördüncü satırda hücre çekirdeklerini işaretleyen Hoechst görüntüleri ile Iba-1 ile pozitif boyanan hücre görüntüleri birleştirilmiştir.

Iba-1 ile işaretlenen tüm mikroglialar incelendiğinde, *sham* grubunda ortalama $1,24 \pm 0,42$ ($n=5/\text{grup}$), kontrol grubunda $3,28 \pm 1,31$ ($n=5/\text{grup}$), 40 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen grupta $0,73 \pm 0,22$ ve 200 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen grupta $0,47 \pm 0,24$ ($n=5/\text{grup}$) olarak bulunmuştur.

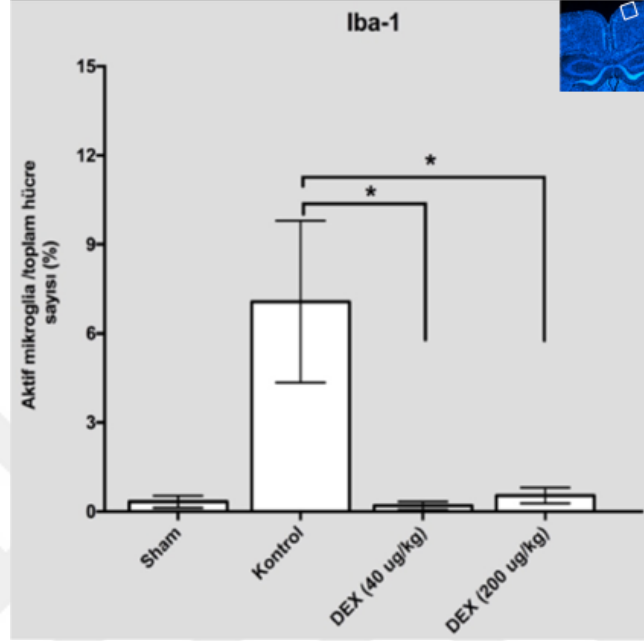
Kontrol grubu, 40 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen grup ile karşılaştırıldığında Iba-1 sinyali ilaç verilen grupta azalmasına rağmen bu düşüş anlamlı bulunmamıştır ($p=0,095$; $n=5/\text{grup}$). Ancak kontrol grubu ile 200 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen gruba bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu, minimum sedatif dozda (200 $\mu\text{g/kg}$) ilaç verilen grupta mikroglial göçün daha az olduğu görülmektedir ($p=0,031$; $n=5/\text{grup}$). Yanı sıra, *sham* grubu ile 200 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen grup kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,206$; $n=5/\text{grup}$) (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Iba-1 ile işaretlenmiş hasarlı dokuya göç etmiş tüm mikrogliaların gruplar arasında karşılaştırılması.

Morfolojilerine göre aktif olan mikroglialar değerlendirildiğinde, *sham* grubunda ortalama $0,33 \pm 0,20$ ($n=5/\text{grup}$), kontrol grubunda $7,07 \pm 2,73$ ($n=5/\text{grup}$), 40 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen grupta $0,20 \pm 0,13$ ve 200 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen grupta $0,54 \pm 0,26$ 'dır ($n=5/\text{grup}$).

40 ve 200 µg/kg DEX verilen gruplarda kontrol grubuna göre aktif mikroglia sayısı anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,0357$ ve $p=0,0357$; $n=5/\text{grup}$) (Şekil 4.9.).

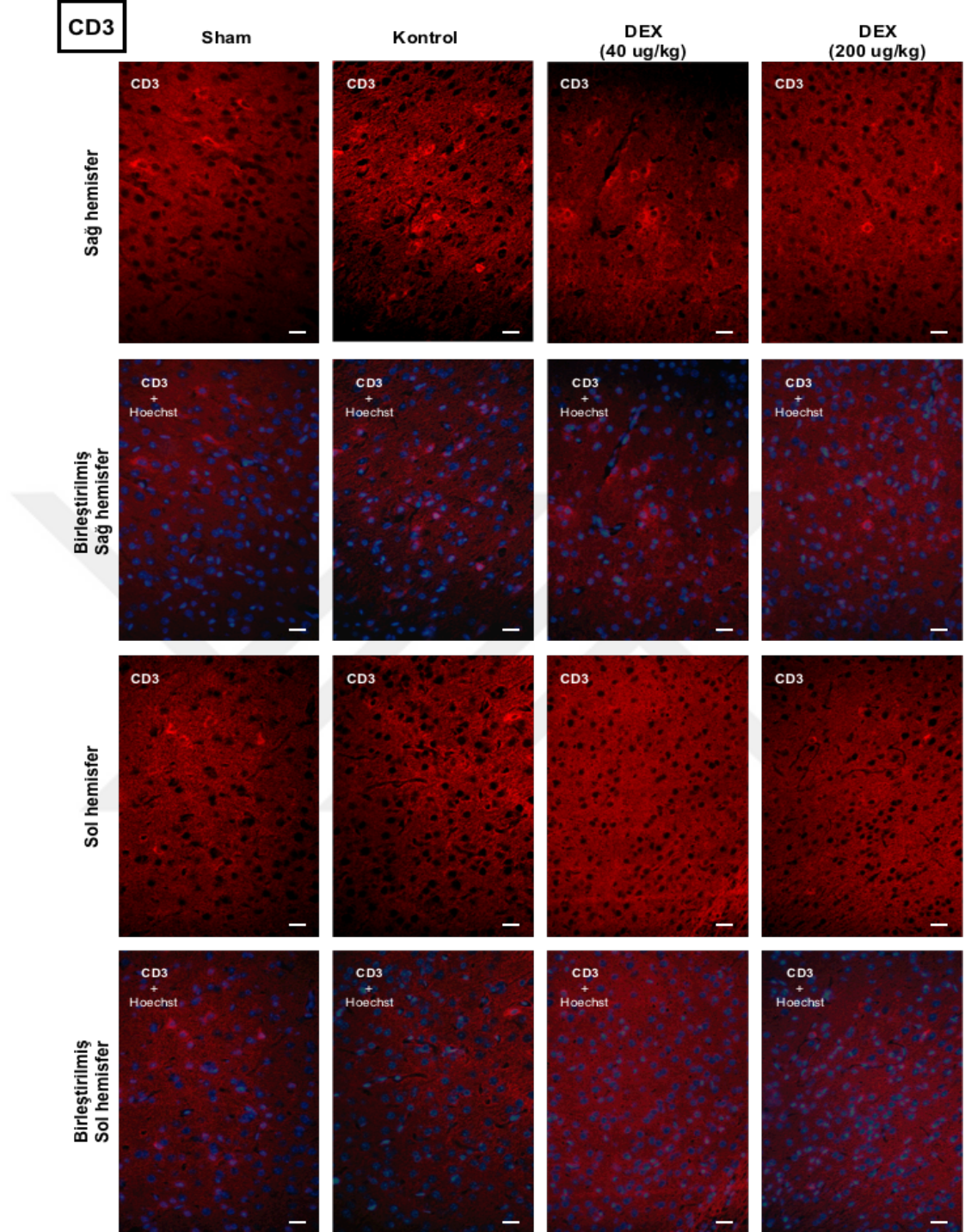


Şekil 4.9. Iba-1 ile işaretlenmiş hasarlı dokuya göç etmiş aktif mikrogliaların gruplar arasında karşılaştırılması.

4.3.3. T Lenfosit Aktivasyonun Gösterilmesi

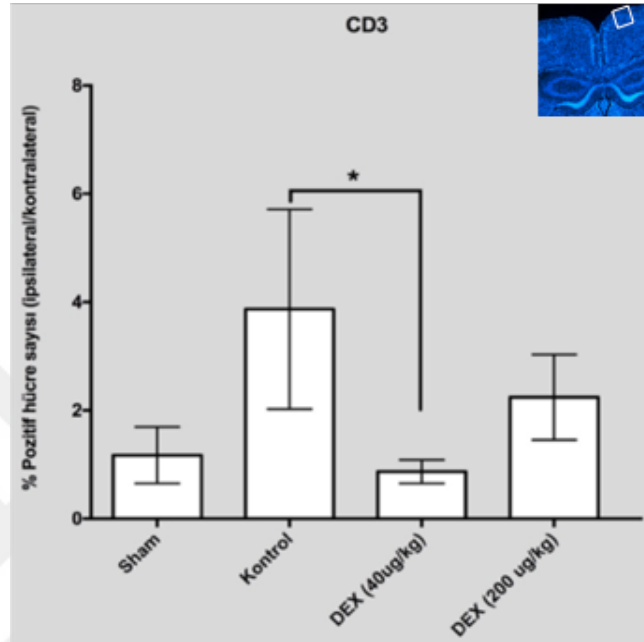
Dokuda T lenfosit aktivasyonun gösterilmesi için bir T lenfosit belirteci olan CD3 ile immünfloresan işaretleme yapılmıştır.

CD3 pozitifliği, *sham* grubunda ortalama $1,17 \pm 0,52$ ($n=5/\text{grup}$), kontrol grubunda $3,87 \pm 1,84$ ($n=5/\text{grup}$), 40 µg/kg DEX verilen grupta $0,87 \pm 0,22$ ve 200 µg/kg DEX verilen grupta $2,42 \pm 0,79$ 'dur ($n=5/\text{grup}$).



Şekil 4.10. Travma modeli oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularında CD3 ile işaretlenmiş T lenfositlerin epifloresan mikroskop ile görüntülenmesi (40X büyütme, ölçek 20 µm). İkinci ve dördüncü satırda hücre çekirdeklerini işaretleyen Hoechst görüntüleri ile CD3 ile pozitif boyanan hücre görüntüleri birleştirilmiştir.

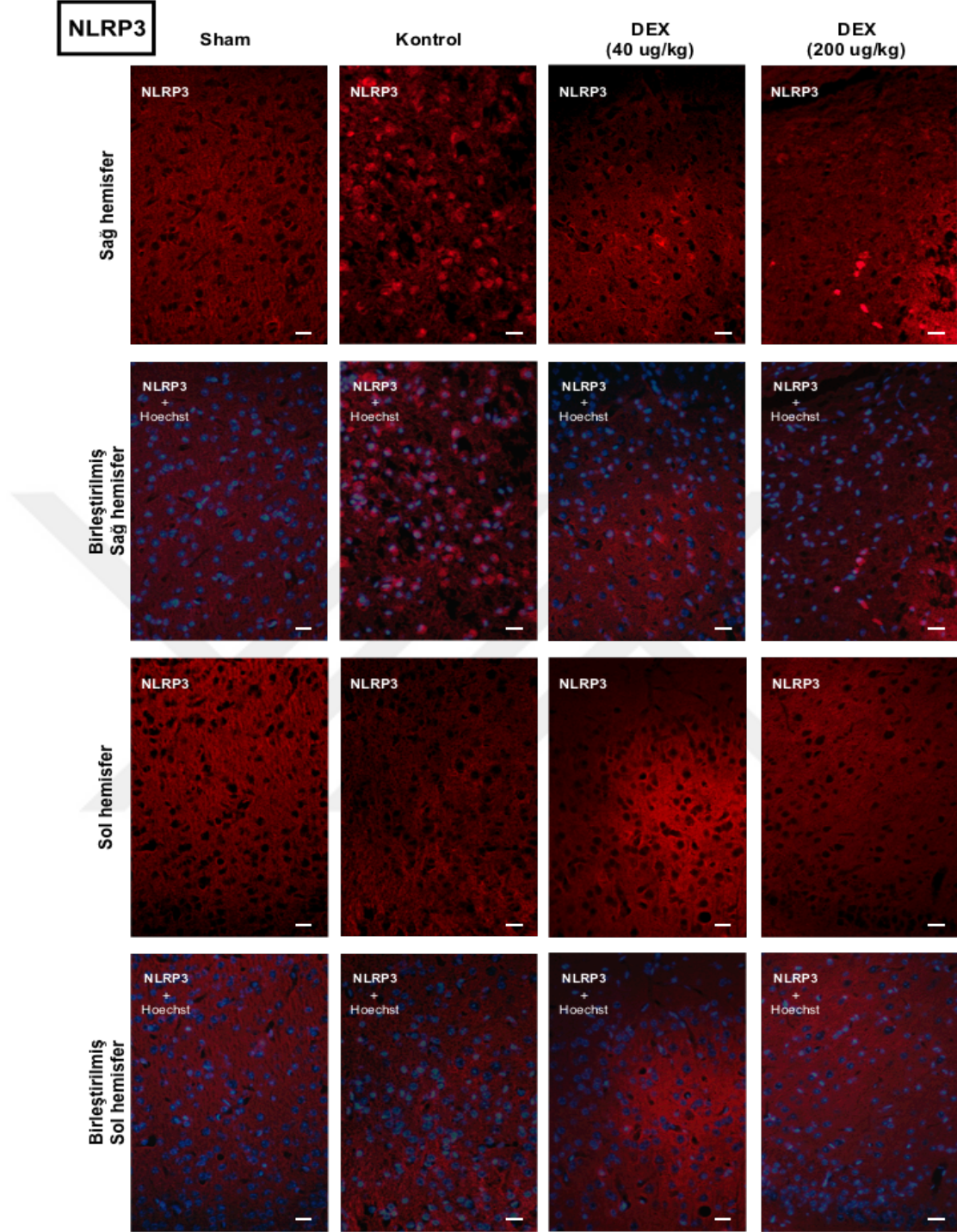
Gruplar karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile 40 µg/kg DEX verilen grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,05$; $n=5/\text{grup}$) (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. CD3 ile işaretlenmiş T lenfositlerin gruplar arasında karşılaştırılması.

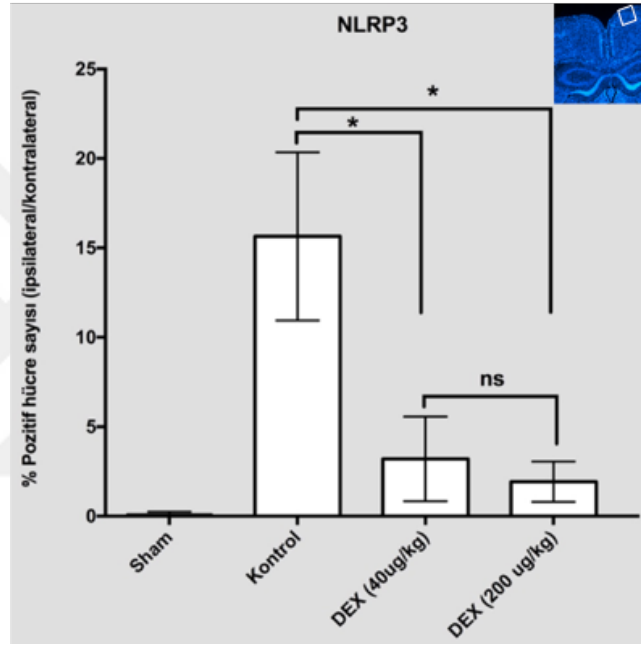
4.3.4. NLRP3 Sinyalinin Değerlendirilmesi

NLRP3 inflamazom protein kompleksi pozitifliği, *sham* grubunda ortalama $0,012 \pm 0,12$ ($n=5/\text{grup}$), kontrol grubunda $15,65 \pm 4,70$ ($n=5/\text{grup}$), 40 µg/kg DEX verilen grupta $3,20 \pm 2,36$ ve 200 µg/kg DEX verilen grupta $1,92 \pm 1,13$ ($n=5/\text{grup}$) olarak bulunmuştur.



Şekil 4.12. Travma modeli oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularında NLRP3 inflamazom protein kompleksinin epifloresan mikroskop ile görüntülenmesi (40X büyütme, ölçek 20 μ m). İkinci ve dördüncü satırda hücre çekirdeklerini işaretleyen Hoechst görüntüleri ile NLRP3 immünreaktivitesi gösteren hücre görüntüleri birleştirilmiştir.

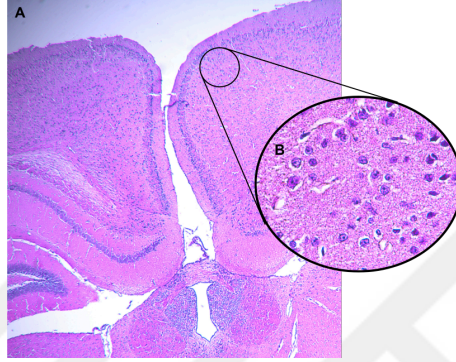
Kontrol grubu, 40 ve 200 $\mu\text{g/kg}$ DEX verilen gruplar ile karşılaştırıldığında NLRP3 sinyali ilaç verilen gruplarda anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,031$ ve $p=0,031$; $n=5/\text{grup}$). İlaç verilen gruplar *sham* grubu ile kıyaslandığında benzer şekilde NLRP3 immünreaktivitesinin her iki grupta da anlamlı olarak azaldığı görülmüştür ($p=0,047$ ve $p=0,047$; $n=5/\text{grup}$). Ancak antiinflamatuvar (40 $\mu\text{g/kg}$) ve minimum sedatif dozda (200 $\mu\text{g/kg}$) DEX verilen gruplara bakıldığında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0.89$; $n=5/\text{grup}$) (Şekil 4.13.).



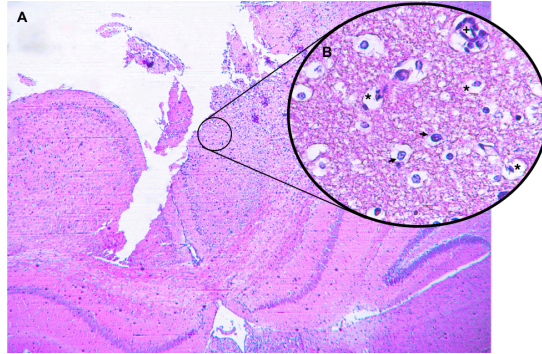
Şekil 4.13. NLRP3 sinyalinin karşılaştırılması.

4.4. Histopatolojik Değerlendirme

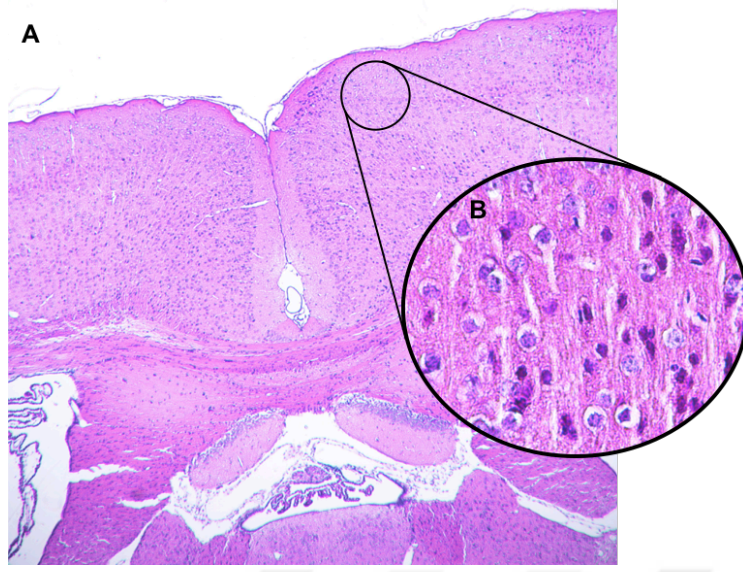
Travma oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen hayvanların beyinlerinden alınan koronal kesitlerin hematoksilin-eozin (H-E) ile yapılan histopatolojik incelemelerinde kontrol grubunda sitotoksik ödem dikkat çekmektedir (Şekil 4.14. ve Şekil 4.15.).



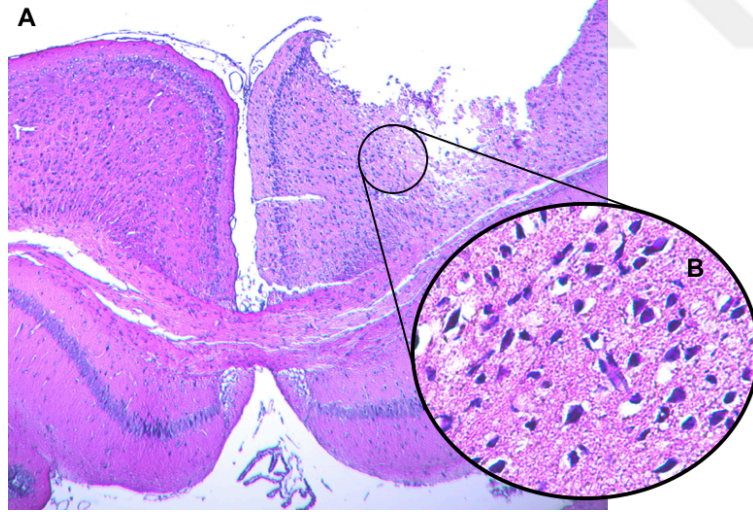
Şekil 4.14. Sham grubundaki farelerin beyin dokusunda H-E boyaması (4X büyütme, A), (40X büyütme, B).



Şekil 4.15. Kontrol grubundaki farelerin beyin dokusunda H-E boyaması (4X büyütme, A). Travma nedeniyle pianın intakt olmadığı hasarlı beyin dokusundaki nöronlarda (*) ve damar lümeni (+) çevresinde astrosit son ayaklarında sitotoksik ödem, akson ve dendritlerde ödeme bağlı parankimde gevşeme ve hücre çekirdeklerinde piknoz (siyak ok) (40X büyütme, B).

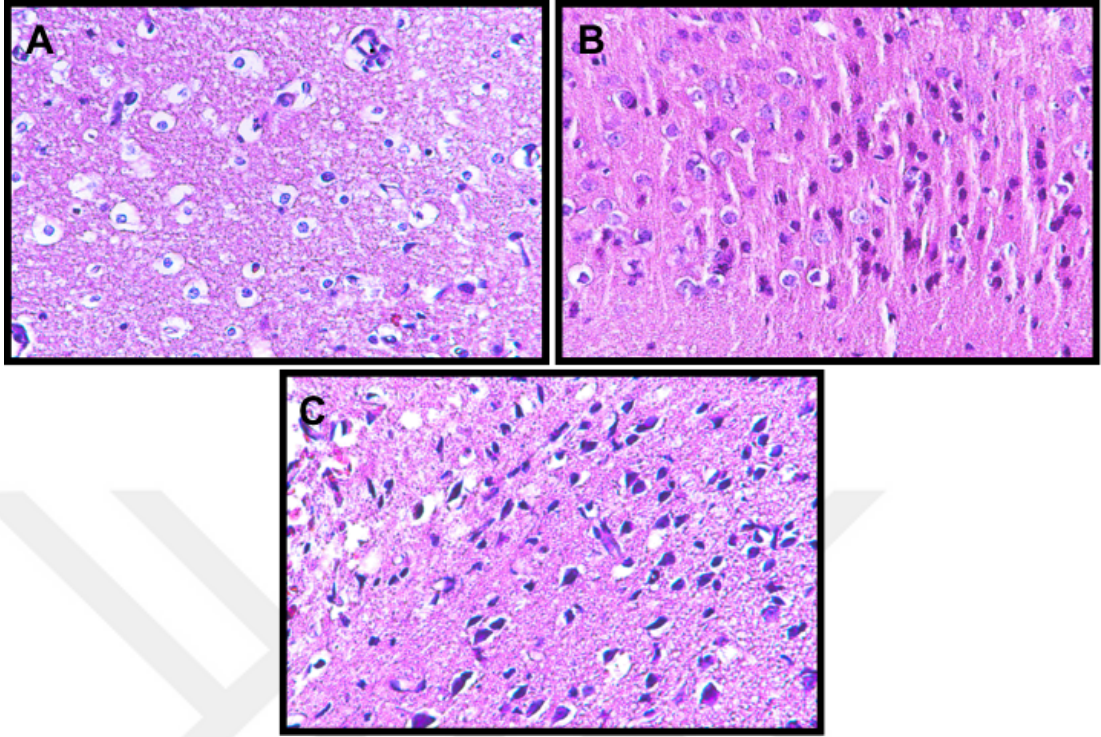


Şekil 4.16. 40 µg/kg DEX verilen farelerin beyin dokusunda H-E boyaması (4X büyütme, A, 40X büyütme, B).



Şekil 4.17. 200 µg/kg DEX verilen farelerin beyin dokusunda H-E boyaması (4X büyütme, A, 40X büyütme, B).

40 ve 200 µg/kg DEX verilen gruplarda yapılan H-E boyamasında kontrol grubuna göre sitotoksik ödemin azaldığı izlenmektedir (Şekil 4.18.).



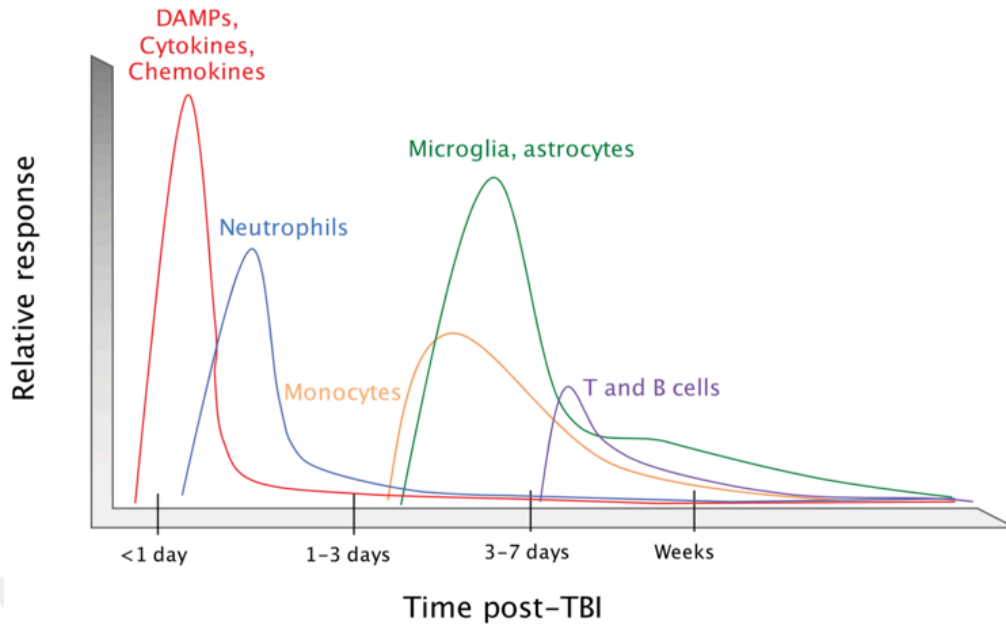
Şekil 4.18. Kontrol (A), 40 µg/kg DEX (B) ve 200 µg/kg DEX (C) verilen farelerin beyin dokularında yapılan H-E boyaması (40X büyütme).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada serbest ağırlık düşürme yöntemiyle farelerde oluşturulan kafa travması sonrası antiinflamatuvar (40 µg/kg) ve minimum sedatif dozlarda (200 µg/kg) verilen intraperitoneal DEX'in, 3. günde inflamasyon üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Travma anında oluşan primer beyin hasarını takiben aylar veya yıllar süren kronik inflamatuvar süreçlerin olaya eklenmesi, hücre ölümüne, nörodejenerasyona ve nörolojik disfonksiyona neden olur. Travmaya yanıtta, doku hasarı sonucu ortaya çıkan iritanların ve debrisin temizlenmesi ve yara iyileşmesinin sağlanması immün sistem tarafından gerçekleştirilir. Doku hasarı sonucu oluşan DAMPs (ısı şok proteinleri, ürik asit, ATP, potasyum ve nükleik asitler) ve alarminler (IL-1α, IL-33, HMGB1), reseptörler tarafından algılanıp önce hasarlı bölgede lokal sitokin ve kemokin üretimini ardından da immün sistem hücrelerinin aktive olup sahaya gelmesini tetikler. Travmatik beyin hasarında doku hasarı iki aşamada gerçekleşir. İlk aşamada beyne mekanik temas sonucu direkt hasar meydana gelir. TBH'ye karşı oluşan immün yanıt nöroproteksiyonu ve doku tamirini sağlar ancak immün sistemde disregülasyon gerçekleşirse uygunsuz yanıt oluşur. Sonuçta doku tamiri veya aksine yıkımın ilerlemesi, immün yanıtın *yapısına, süresine ve büyüklüğüne* bağlıdır. İmmün sistemin uygun kontrol edilmemesi, doku hasarında ikinci aşamanın başlaması ve nöroinflamasyon ile sonuçlanır. Primer hasarın aksine sekonder hasar diffüz ve uzun sürelidir. Hastaların hastaneye başvurusu, tanı konması ve tedavisinin başlanmasına kadar geçen süre göz önünde bulundurularak DEX, farelere travmadan yarım saat sonra verilmiştir.

Travma sonrası, DAMPs ve alarminler ekstraselüler mesafeye salınır ve SSS'deki hücrelerde bulunan patern tanıma reseptörleri (PRPs) ve sitokin reseptörleri tarafından tanınır. Böylece sitokin ve kemokin üretimi ve sonrasında hasarlı bölgeye immün sistem hücrelerinin göçü ile sonuçlanır. Travmaya inflamatuvar yanıtta beyne sistemik dolaşımdan gelen ilk immün hücreler nötrofillerdir (136, 137). Saatler içinde ilk olarak subaraknoid mesafede ve vasküler boşluklarda görülürler ve travma sonrası ilk 24 saatte beyin parankimine infiltre olurlar (138). 3.-5. günlerde sayıca azalarak yerlerini diğer periferik immün sistem hücrelerine ve mikrogliya ve astrositlere bırakırlar. 3.-5. günler arasında esas görev alan hücreler monositler olmasına rağmen ilerleyen günlerde hasarlı bölgede T lenfositler, doğal öldürücü (NK) ve dendritik hücreler görülmeye başlar (139) (Şekil 5.1.).



Şekil 5.1. Travmatik beyin hasarında immün yanıtta yer alan moleküllerin ve hücrelerin zamansal dağılımı (140)

IL-1, potent proinflatuar bir sitokindir ve aşırı üretimi nöroinflamasyon ve nörodejenerasyonla sonuçlanır. IL-1 α 'nın aksine IL-1 β biyolojik inaktif formda bulunur ve aktive olmasında inflamazom protein komplekslerinde bulunan kaspaz-1'in aktifleşmesi esas rol oynar (141, 142). Travma sonrası nöroinflamasyonda IL-1 β erken dönemde ilk artan mediatördür, kan beyin bariyeri geçirgenliğini artırır, glial hücreleri aktive eder ve immün sistem hücrelerinin hasarlı bölgeye migre olmasını sağlar (143). Yapılan çalışmalarda IL-1 β 'nın nötralize edilmesiyle özellikle travma sonrası ilk 7 günde nötrofil, makrofaj/mikroglia ve T lenfosit sayısında azalma olduğu gösterilmiştir (144, 145). TBH sonrası IL-1 üretiminde major rol oynayan inflamazomlar (NLRP1, NLRP2, NLRP3 ve AIM2), mikroglialarda, nöronlarda ve astrositlerde eksprese olur (146, 147). Son yapılan TBH çalışmaları, inflamazom ve komponentlerinin travma sonrası ilk 24 saatte arttığını ve 7 güne kadar bu artışın devam ettiğini göstermektedir (119, 148). IL-1 β piki ise travma sonrası yaklaşık 6. saatte olmaktadır ve IL-18'e göre daha hızlı düşerek 7. güne kadar devam etmektedir.

Literatürde çeşitli deneysel hayvan modellerinde farklı dozlarda verilen DEX, inflamazom aracılı IL-1 β üretimini azaltarak antiinflamatuvar etki göstermektedir (16, 130, 149). Ancak bu çalışma deneysel kafa travması modelinde DEX'in inflamazom ve IL-1 β üzerindeki etkilerinin gösterilmesi açısından ilktir.

Yapılan çalışmalarda daha düşük dozlarda antiinflamatuvar etki gösteren DEX, bu çalışmada klinikte minimum sedasyon dozu olarak kullanılan 200 µg/kg ile IL-1β salınımını azaltmıştır. NLRP3 inflamazom kompleksi değerlendirildiğinde antiinflamatuvar etki hem literatürdekine benzer şekilde gösteren 40 µg/kg hem de 200 µg/kg dozunda görülmüştür. DEX verilmeyen kontrol grubunda ise aksine IL-1β ve NLRP3'ün arttığı görülmektedir.

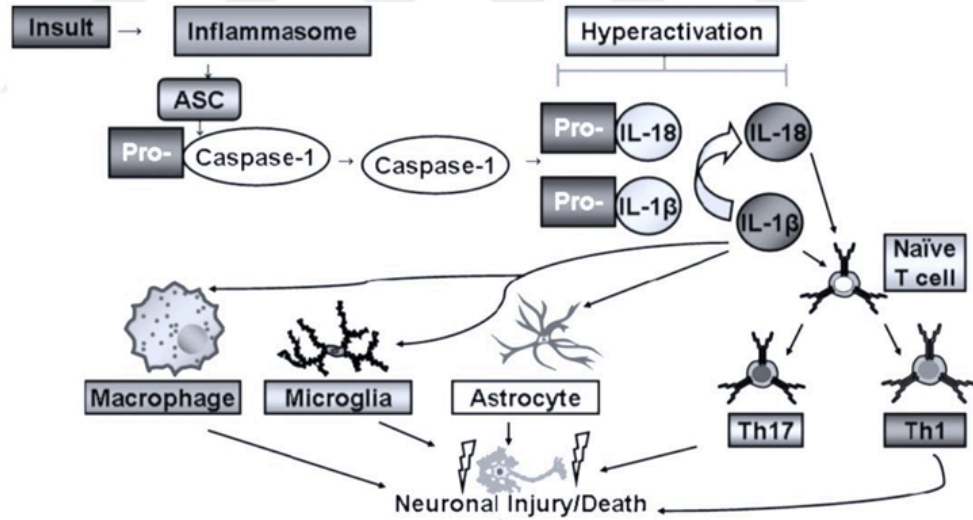
TBH sonrası nöroinflamasyonda, inflamazomların aktive olmasıyla IL-1β ve IL-18 artışının yanı sıra hasarlı bölgeye mikroglia, astrosit ve T lenfositler gibi nöroinflamatuvar hücrelerin migrasyonu da görülür. Göç eden mikrogliaların aktive olmasıyla travmaya inflamatuvar yanıt tetiklenir veya çözülür. Bu mikroglialar M1 veya M2 fenotipindedir. Wang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, travma sonrası 3.-7. günler arasında Iba-1 ile pozitif boyanan mikrogliaların sıklıkla M1 fenotipinde olduğu, 5. günden itibaren nörotrofik faktörler salgılayarak doku yapımını artıran M2 fenotipindeki mikrogliaların baskın hale geldiği görülmüştür (150). Aynı zamanda beyaz cevher-myelin hasarında da 3.-7. günlerde pik yapan M1 fenotipindeki mikroglialar yer almaktadır. Bu çalışmada olduğu gibi birçok çalışmada CD11b, CD45, CX3CR1, Iba-1 gibi makrofaj/mikroglia belirteci kullandığı için makrofaj ve mikroglialar birlikte değerlendirilmektedir. Ancak sonraki çalışmalarda daha spesifik belirteçler kullanılarak inflamatuvar süreçte farklı görevleri olan makrofaj ve mikroglia ayrımının yanı sıra M1 ve M2 fenotipindeki mikrogliaların ayrımı da yapılabilir (140).

DEX'in çeşitli yolları kullanarak mikroglialar aracılığıyla inflamasyonu engellediği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (149). Bu çalışmada kafa travması oluşturulduktan 72 saat sonra sakrifiye edilen farelerin beyin dokularında Iba-1 immünreaktivitesi gösteren mikroglial hücreler ve morfolojilerine göre aktif mikroglialar değerlendirildiğinde ilaç verilen deney gruplarında mikroglial göçün ve aktivasyonun azaldığı görülmüştür.

İnflamatuvar yanıtta görev alan diğer hücre grubu ise geç dönemde görülen ve kazanılmış bağışıklık sisteminin bir parçası olan T lenfositlerdir. Kan-beyin bariyerinin bozulmasıyla inflamatuvar sinyal moleküller kapiller yataklara ekstravaze olur ve başta T lenfositler olmak üzere diğer lökositlerin de mikroglial aktiviteninin olduğu hasarlı bölgeye migre olmasını sağlar (151). Bu göç travma sonrası 1. günde başlar, 4.-10. günlerde en yüksek seviyeye ulaşır (152).

Bu çalışmada travma oluşturulan gruptaki beyin dokuları incelendiğinde sayıca daha az CD3+ T lenfosit görülmektedir. Bu durum daha önce de bahsedildiği gibi T lenfositlerin geç dönemde hasarlı bölgeye ulaşmaları ile açıklanabilir. 40 µg/kg DEX verilen grupta T lenfositlerin anlamlı olarak azaldığı görülmektedir.

Çalışmamızda farelerde kafa travması modeli oluşturulduktan yarım saat sonra 2 farklı dozda verilen DEX (40 ve 200 µg/kg), 3. günde beyindeki hasar nöroinflamasyon için çeşitli belirteçlerle değerlendirildiğinde antiinflamatuvar etki göstermektedir. İnflamasyonun erken döneminde (1. gün) etkin olan inflamazomlar ve özellikle IL-1 β , yüksek doz (200 µg/kg) DEX ile; daha geç dönemde dokuda görülen T lenfositler ise düşük doz (40 µg/kg) DEX ile baskılanmaktadır. Bu durumda travmanın erken döneminde IL-1 β salınımı azaltmak için 200 µg/kg dozunda yükleme yapıp sonrasında T lenfositlerin inflamasyonda yer aldığı geç dönemde 40 µg/kg DEX ile idame edilebilir. Ancak hipotansiyon, bradikardi gibi mevcut yan etkiler nedeniyle vital bulguların monitorizasyonu ve sıkı izlemi önem taşımaktadır.



Şekil 5.2. TBH'de primer hasar sonrası oluşan nöroinflamasyon kaskadı (9). İnflamazomların aktive olmasıyla inaktif formda bulunan IL-1 β ve IL-18, kaspaz-1 aktivitesiyle matür hale gelir. Bu proinflamatuvar sitokinler hem SSS'de hem de periferde bulunan immün hücrelerin hasarlı bölgeye göç etmesini sağlar. Sonuçta nöronal hasar ve ölüm meydana gelir.

Sonuç olarak TBH sonrası nörodejenerasyon ve nörolojik fonksiyon kaybının oluşumunda nöroinflamasyon ve mikrogliyal aktivasyon önemli sekonder hasar mekanizmalarıdır. Nöroinflamatuvar yanıt aynı zamanda doku tamirinde de rol alır. Nörotoksik etkiler azaltılırken nörotrofik etkilerin desteklenmesi travma sonrası rejenerasyon ve doku yapımı için uygun ortamın oluşturulması için önemlidir. Yeni nöroprotektif tedavi modaliteleri, posttravmatik nöroinflamasyon ve mikrogliyal aktivasyonu hedef almaktadır. Sekonder hasar mekanizmalarının patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve hedefe yönelik etkin tedavi seçeneklerinin belirlenebilmesi için yeni deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



6. SONUÇ

Bu çalışmada Swiss albino farelerde ağırlık düşürme metoduyla oluşturulan kafa travması modelinde iki farklı dozda verilen DEX'in inflamasyon üzerindeki etkileri incelenmiştir.

- 1) DEX, travmatik beyin hasarında inflamasyonu çeşitli yollarla azaltmaktadır.
- 2) 40 µg/kg DEX ile nörolojik olarak anlamlı bir iyileşme sağlandığı ($p=0,024$, $n=5/\text{grup}$), 200 µg/kg DEX verildiğinde ise iyileşmenin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p=0,06$, $n=5/\text{grup}$).
- 3) 200 µg/kg DEX verilen grupta IL-1 β salınımı anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,028$, $n=5/\text{grup}$).
- 4) Iba-1 ile mikrogial hücreler değerlendirildiğinde, 200 µg/kg DEX ile mikrogial göçün anlamlı olarak daha az olduğu görülmektedir ($p=0,031$, $n=5/\text{grup}$).
- 5) 40 ve 200 µg/kg DEX verilen gruplarda kontrol grubuna göre aktif mikrogia sayısı anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,0357$ ve $p=0,0357$, $n=5/\text{grup}$).
- 6) CD3+ T lenfositler, 40 µg/kg DEX ile anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,05$, $n=5/\text{grup}$).
- 7) NLRP3 inflamazom kompleksi ise hem 40 µg/kg hem de 200 µg/kg DEX verildiğinde anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,031$ ve $p=0,031$, $n=5/\text{grup}$).
- 8) Histopatolojik incelemelerde, DEX verilen deney gruplarında sitotoksik ödemin azaldığı görülmüştür.
- 9) Literatürde DEX daha düşük dozlarda antiinflamatuvar etki gösterirken bu çalışmada klinikte minimum sedasyon dozu olarak kullanılan 200 µg/kg'nin travmatik beyin hasarının erken döneminde antiinflamatuvar etkisi gösterilmiştir.

Sonuç olarak, kafa travmasında DEX nöroinflamasyon ve mikrogial aktivasyonu inhibe ederek nörolojik fonksiyonlarda düzelmeye katkı sağlamaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Menon DK, Schwab K, Wright DW, Maas AI, Demographics, Clinical Assessment Working Group of the I, et al. Position statement: definition of traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 2010;91(11):1637-40.
2. Andelic N. The epidemiology of traumatic brain injury. *The Lancet Neurology.* 2013;12(1):28-9.
3. Nizamutdinov D, Shapiro LA. Overview of Traumatic Brain Injury: An Immunological Context. *Brain Sci.* 2017;7(1).
4. Ghajar J. Traumatic brain injury. *The Lancet.* 2000;356(9233):923-9.
5. Bruns J, Jr., Hauser WA. The epidemiology of traumatic brain injury: a review. *Epilepsia.* 2003;44 Suppl 10:2-10.
6. Chiu CC, Liao YE, Yang LY, Wang JY, Tweedie D, Karnati HK, et al. Neuroinflammation in animal models of traumatic brain injury. *J Neurosci Methods.* 2016;272:38-49.
7. Song L, Pei L, Yao S, Wu Y, Shang Y. NLRP3 Inflammasome in Neurological Diseases, from Functions to Therapies. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:63.
8. Adamczak S, Dale G, de Rivero Vaccari JP, Bullock MR, Dietrich WD, Keane RW. Inflammasome proteins in cerebrospinal fluid of brain-injured patients as biomarkers of functional outcome: clinical article. *J Neurosurg.* 2012;117(6):1119-25.
9. Freeman LC, Ting JP. The pathogenic role of the inflammasome in neurodegenerative diseases. *J Neurochem.* 2016;136 Suppl 1:29-38.
10. Dilmen OK, Akcil EF, Tunali Y. Intensive Care Treatment in Traumatic Brain Injury. *Turk J Anaesthesiol Reanim.* 2015;43(1):1-6.
11. Wang L, Liu H, Zhang L, Wang G, Zhang M, Yu Y. Neuroprotection of Dexmedetomidine against Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats: Involved in Inhibition of NF-kappaB and Inflammation Response. *Biomol Ther (Seoul).* 2017;25(4):383-9.
12. Luo C, Ouyang MW, Fang YY, Li SJ, Zhou Q, Fan J, et al. Dexmedetomidine Protects Mouse Brain from Ischemia-Reperfusion Injury via Inhibiting Neuronal Autophagy through Up-Regulating HIF-1alpha. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:197.
13. Liu Z, Wang Y, Wang Y, Ning Q, Zhang Y, Gong C, et al. Dexmedetomidine attenuates inflammatory reaction in the lung tissues of septic mice by activating cholinergic anti-inflammatory pathway. *Int Immunopharmacol.* 2016;35:210-6.
14. Liu W, Yu W, Weng Y, Wang Y, Sheng M. Dexmedetomidine ameliorates the inflammatory immune response in rats with acute kidney damage. *Exp Ther Med.* 2017;14(4):3602-8.
15. Sun Y, Jiang C, Jiang J, Qiu L. Dexmedetomidine protects mice against myocardium ischaemic/reperfusion injury by activating an AMPK/PI3K/Akt/eNOS pathway. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017;44(9):946-53.
16. Chen Z, Ding T, Ma CG. Dexmedetomidine (DEX) protects against hepatic ischemia/reperfusion (I/R) injury by suppressing inflammation and oxidative stress in NLRP5 deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;493(2):1143-50.
17. Coronado VG, McGuire LC, Sarmiento K, Bell J, Lionbarger MR, Jones CD, et al. Trends in Traumatic Brain Injury in the U.S. and the public health response: 1995-2009. *J Safety Res.* 2012;43(4):299-307.

18. Peeters W, van den Brande R, Polinder S, Brazinova A, Steyerberg EW, Lingsma HF, et al. Epidemiology of traumatic brain injury in Europe. *Acta Neurochir (Wien)*. 2015;157(10):1683-96.
19. Mauritz W, Wilbacher I, Majdan M, Leitgeb J, Janciak I, Brazinova A, et al. Epidemiology, treatment and outcome of patients after severe traumatic brain injury in European regions with different economic status. *Eur J Public Health*. 2008;18(6):575-80.
20. Styrke J, Stalnacke BM, Sojka P, Bjornstig U. Traumatic brain injuries in a well-defined population: epidemiological aspects and severity. *J Neurotrauma*. 2007;24(9):1425-36.
21. Rutland-Brown W, Langlois JA, Thomas KE, Xi YL. Incidence of traumatic brain injury in the United States, 2003. *J Head Trauma Rehabil*. 2006;21(6):544-8.
22. Koskinen S, Alaranta H. Traumatic brain injury in Finland 1991-2005: a nationwide register study of hospitalized and fatal TBI. *Brain Inj*. 2008;22(3):205-14.
23. Maegele M, Engel D, Bouillon B, Lefering R, Fach H, Raum M, et al. Incidence and outcome of traumatic brain injury in an urban area in Western Europe over 10 years. *Eur Surg Res*. 2007;39(6):372-9.
24. Puljula J, Makinen E, Cygnel H, Kortelainen ML, Hillbom M. Incidence of moderate-to-severe traumatic brain injuries after reduction in alcohol prices. *Acta Neurol Scand*. 2013;127(3):192-7.
25. Mushkudiani NA, Engel DC, Steyerberg EW, Butcher I, Lu J, Marmarou A, et al. Prognostic value of demographic characteristics in traumatic brain injury: results from the IMPACT study. *J Neurotrauma*. 2007;24(2):259-69.
26. Numminen HJ. The incidence of traumatic brain injury in an adult population-how to classify mild cases? *Eur J Neurol*. 2011;18(3):460-4.
27. Hyder AA, Wunderlich CA, Puvanachandra P, Gururaj G, Kobusingye OC. The impact of traumatic brain injuries: a global perspective. *NeuroRehabilitation*. 2007;22(5):341-53.
28. Butcher I, McHugh GS, Lu J, Steyerberg EW, Hernandez AV, Mushkudiani N, et al. Prognostic value of cause of injury in traumatic brain injury: results from the IMPACT study. *J Neurotrauma*. 2007;24(2):281-6.
29. Thurman DJ, Alverson C, Dunn KA, Guerrero J, Sniezek JE. Traumatic brain injury in the United States: A public health perspective. *J Head Trauma Rehabil*. 1999;14(6):602-15.
30. Summers CR, Ivins B, Schwab KA. Traumatic brain injury in the United States: an epidemiologic overview. *Mt Sinai J Med*. 2009;76(2):105-10.
31. Maas AI, Stocchetti N, Bullock R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *Lancet Neurol*. 2008;7(8):728-41.
32. McKee AC, Daneshvar DH. The neuropathology of traumatic brain injury. *Handb Clin Neurol*. 2015;127:45-66.
33. Forde CT, Karri SK, Young AM, Ogilvy CS. Predictive markers in traumatic brain injury: opportunities for a serum biosignature. *Br J Neurosurg*. 2014;28(1):8-15.
34. Marshall LF, Marshall SB, Klauber MR, Van Berkum Clark M, Eisenberg H, Jane JA, et al. The diagnosis of head injury requires a classification based on computed axial tomography. *J Neurotrauma*. 1992;9 Suppl 1:S287-92.

35. Maas AI, Hukkelhoven CW, Marshall LF, Steyerberg EW. Prediction of outcome in traumatic brain injury with computed tomographic characteristics: a comparison between the computed tomographic classification and combinations of computed tomographic predictors. *Neurosurgery*. 2005;57(6):1173-82; discussion - 82.
36. Lobato RD, Cordobes F, Rivas JJ, de la Fuente M, Montero A, Barcena A, et al. Outcome from severe head injury related to the type of intracranial lesion. A computerized tomography study. *J Neurosurg*. 1983;59(5):762-74.
37. Teasdale G, Bartlett J, Pickard J, Mendelow AD. Intensive care of severely head injured patients. National research is needed. *BMJ*. 1996;313(7052):296; author reply 7.
38. Adams JH, Doyle D, Ford I, Gennarelli TA, Graham DI, McLellan DR. Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading. *Histopathology*. 1989;15(1):49-59.
39. Warburton AL, Shepherd JP. Development, utilisation, and importance of accident and emergency department derived assault data in violence management. *Emerg Med J*. 2004;21(4):473-7.
40. Zimmerman RA, Bilaniuk LT. Computed tomographic staging of traumatic epidural bleeding. *Radiology*. 1982;144(4):809-12.
41. van den Brink WA, Zwienenberg M, Zandee SM, van der Meer L, Maas AI, Avezaat CJ. The prognostic importance of the volume of traumatic epidural and subdural haematomas revisited. *Acta Neurochir (Wien)*. 1999;141(5):509-14.
42. Haselsberger K, Pucher R, Auer LM. Prognosis after acute subdural or epidural haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)*. 1988;90(3-4):111-6.
43. Cepeda S, Gomez PA, Castano-Leon AM, Martinez-Perez R, Munarriz PM, Lagares A. Traumatic Intracerebral Hemorrhage: Risk Factors Associated with Progression. *J Neurotrauma*. 2015;32(16):1246-53.
44. Signoretti S, Lazzarino G, Tavazzi B, Vagnozzi R. The pathophysiology of concussion. *PM R*. 2011;3(10 Suppl 2):S359-68.
45. Shaw NA. The neurophysiology of concussion. *Prog Neurobiol*. 2002;67(4):281-344.
46. Laker SR. Epidemiology of concussion and mild traumatic brain injury. *PM R*. 2011;3(10 Suppl 2):S354-8.
47. Kutcher JS, Giza CC. Sports concussion diagnosis and management. *Continuum (Minneapolis Minn)*. 2014;20(6 Sports Neurology):1552-69.
48. Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Axonal pathology in traumatic brain injury. *Exp Neurol*. 2013;246:35-43.
49. Smith DH, Meaney DF, Shull WH. Diffuse axonal injury in head trauma. *J Head Trauma Rehabil*. 2003;18(4):307-16.
50. Jenkins LW, Moszynski K, Lyeth BG, Lewelt W, DeWitt DS, Allen A, et al. Increased vulnerability of the mildly traumatized rat brain to cerebral ischemia: the use of controlled secondary ischemia as a research tool to identify common or different mechanisms contributing to mechanical and ischemic brain injury. *Brain Res*. 1989;477(1-2):211-24.

51. Finnie JW, Blumbergs PC. Traumatic brain injury. *Vet Pathol.* 2002;39(6):679-89.
52. Werner C, Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *BJA: British Journal of Anaesthesia.* 2007;99(1):4-9.
53. Chesnut RM, Marshall LF, Klauber MR, Blunt BA, Baldwin N, Eisenberg HM, et al. The role of secondary brain injury in determining outcome from severe head injury. *J Trauma.* 1993;34(2):216-22.
54. Coles JP, Fryer TD, Smielewski P, Rice K, Clark JC, Pickard JD, et al. Defining ischemic burden after traumatic brain injury using 15O PET imaging of cerebral physiology. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004;24(2):191-201.
55. Bouma GJ, Muizelaar JP, Stringer WA, Choi SC, Fatouros P, Young HF. Ultra-early evaluation of regional cerebral blood flow in severely head-injured patients using xenon-enhanced computerized tomography. *J Neurosurg.* 1992;77(3):360-8.
56. Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004;24(2):133-50.
57. Kelly DF, Martin NA, Kordestani R, Counelis G, Hovda DA, Bergsneider M, et al. Cerebral blood flow as a predictor of outcome following traumatic brain injury. *J Neurosurg.* 1997;86(4):633-41.
58. Martin NA, Patwardhan RV, Alexander MJ, Africk CZ, Lee JH, Shalmon E, et al. Characterization of cerebral hemodynamic phases following severe head trauma: hypoperfusion, hyperemia, and vasospasm. *J Neurosurg.* 1997;87(1):9-19.
59. Diringer MN, Videen TO, Yundt K, Zazulia AR, Aiyagari V, Dacey RG, Jr., et al. Regional cerebrovascular and metabolic effects of hyperventilation after severe traumatic brain injury. *J Neurosurg.* 2002;96(1):103-8.
60. Sobey CG. Cerebrovascular dysfunction after subarachnoid haemorrhage: novel mechanisms and directions for therapy. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2001;28(11):926-9.
61. Zuccarello M, Boccaletti R, Romano A, Rapoport RM. Endothelin B receptor antagonists attenuate subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *Stroke.* 1998;29(9):1924-9.
62. Todo H, Ohta S, Wang J, Ichikawa H, Ohue S, Kumon Y, et al. Impairment in biochemical level of arterial dilative capability of a cyclic nucleotides-dependent pathway by induced vasospasm in the canine basilar artery. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1998;18(7):808-17.
63. Armstead WM. Differential activation of ERK, p38, and JNK MAPK by nociceptin/orphanin FQ in the potentiation of prostaglandin cerebrovasoconstriction after brain injury. *Eur J Pharmacol.* 2006;529(1-3):129-35.
64. DeWitt DS, Prough DS. Traumatic cerebral vascular injury: the effects of concussive brain injury on the cerebral vasculature. *J Neurotrauma.* 2003;20(9):795-825.
65. McLaughlin MR, Marion DW. Cerebral blood flow and vasoresponsivity within and around cerebral contusions. *J Neurosurg.* 1996;85(5):871-6.
66. Cunningham AS, Salvador R, Coles JP, Chatfield DA, Bradley PG, Johnston AJ, et al. Physiological thresholds for irreversible tissue damage in contusional regions following traumatic brain injury. *Brain.* 2005;128(Pt 8):1931-42.

67. Schmidt EA, Czosnyka M, Steiner LA, Balestreri M, Smielewski P, Piechnik SK, et al. Asymmetry of pressure autoregulation after traumatic brain injury. *J Neurosurg.* 2003;99(6):991-8.
68. Enevoldsen EM, Jensen FT. Autoregulation and CO₂ responses of cerebral blood flow in patients with acute severe head injury. *J Neurosurg.* 1978;48(5):689-703.
69. Rose JC, Neill TA, Hemphill JC, 3rd. Continuous monitoring of the microcirculation in neurocritical care: an update on brain tissue oxygenation. *Curr Opin Crit Care.* 2006;12(2):97-102.
70. Bullock R, Zauner A, Woodward JJ, Myseros J, Choi SC, Ward JD, et al. Factors affecting excitatory amino acid release following severe human head injury. *J Neurosurg.* 1998;89(4):507-18.
71. Floyd CL, Gorin FA, Lyeth BG. Mechanical strain injury increases intracellular sodium and reverses Na⁺/Ca²⁺ exchange in cortical astrocytes. *Glia.* 2005;51(1):35-46.
72. Chong ZZ, Li F, Maiese K. Oxidative stress in the brain: novel cellular targets that govern survival during neurodegenerative disease. *Prog Neurobiol.* 2005;75(3):207-46.
73. Shao C, Roberts KN, Markesbery WR, Scheff SW, Lovell MA. Oxidative stress in head trauma in aging. *Free Radic Biol Med.* 2006;41(1):77-85.
74. Unterberg AW, Stover J, Kress B, Kiening KL. Edema and brain trauma. *Neuroscience.* 2004;129(4):1021-9.
75. Stiefel MF, Udoetuk JD, Spiotta AM, Gracias VH, Goldberg A, Maloney-Wilensky E, et al. Conventional neurocritical care and cerebral oxygenation after traumatic brain injury. *J Neurosurg.* 2006;105(4):568-75.
76. Stiefel MF, Tomita Y, Marmarou A. Secondary ischemia impairing the restoration of ion homeostasis following traumatic brain injury. *J Neurosurg.* 2005;103(4):707-14.
77. Marmarou A, Fatouros PP, Barzo P, Portella G, Yoshihara M, Tsuji O, et al. Contribution of edema and cerebral blood volume to traumatic brain swelling in head-injured patients. *J Neurosurg.* 2000;93(2):183-93.
78. Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM. The role of inflammation in CNS injury and disease. *Br J Pharmacol.* 2006;147 Suppl 1:S232-40.
79. Zhang Z, Artelt M, Burnet M, Trautmann K, Schluesener HJ. Early infiltration of CD8⁺ macrophages/microglia to lesions of rat traumatic brain injury. *Neuroscience.* 2006;141(2):637-44.
80. Fabricius M, Fuhr S, Bhatia R, Boutelle M, Hashemi P, Strong AJ, et al. Cortical spreading depression and peri-infarct depolarization in acutely injured human cerebral cortex. *Brain.* 2006;129(Pt 3):778-90.
81. Choi DW. Ischemia-induced neuronal apoptosis. *Curr Opin Neurobiol.* 1996;6(5):667-72.
82. Eldadah BA, Faden AI. Caspase pathways, neuronal apoptosis, and CNS injury. *J Neurotrauma.* 2000;17(10):811-29.

83. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell*. 2002;10(2):417-26.
84. Compan V, Martin-Sanchez F, Baroja-Mazo A, Lopez-Castejon G, Gomez AI, Verkhratsky A, et al. Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD forms specks but does not activate caspase-1 in the absence of NLRP3 during macrophage swelling. *J Immunol*. 2015;194(3):1261-73.
85. Liu L, Chan C. The role of inflammasome in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*. 2014;15:6-15.
86. Heneka MT. Inflammasome activation and innate immunity in Alzheimer's disease. *Brain Pathol*. 2017;27(2):220-2.
87. Heneka MT, Kummer MP, Stutz A, Delekate A, Schwartz S, Vieira-Saecker A, et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. *Nature*. 2013;493(7434):674-8.
88. Gold M, El Khoury J. beta-amyloid, microglia, and the inflammasome in Alzheimer's disease. *Semin Immunopathol*. 2015;37(6):607-11.
89. Barclay W, Shinohara ML. Inflammasome activation in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Brain Pathol*. 2017;27(2):213-9.
90. Noroozi S, Meimand HAE, Arababadi MK, Nakhaee N, Asadikaram G. The Effects of IFN-beta 1a on the Expression of Inflammasomes and Apoptosis-Associated Speck-Like Proteins in Multiple Sclerosis Patients. *Mol Neurobiol*. 2017;54(4):3031-7.
91. Inoue M, Shinohara ML. The role of interferon-beta in the treatment of multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis - in the perspective of inflammasomes. *Immunology*. 2013;139(1):11-8.
92. Rainero I, Pinessi L, Tsuda T, Vignocchi MG, Vaula G, Calvi L, et al. SOD1 missense mutation in an Italian family with ALS. *Neurology*. 1994;44(2):347-9.
93. Ioannides ZA, Henderson RD, Robertson T, Davis M, McCombe PA. When does ALS start? A novel SOD-1 p.Gly142Arg mutation causing motor neurone disease with prominent premorbid cramps and spasms. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016;87(9):1031-2.
94. Arai T, Hasegawa M, Nonaka T, Kametani F, Yamashita M, Hosokawa M, et al. Phosphorylated and cleaved TDP-43 in ALS, FTLD and other neurodegenerative disorders and in cellular models of TDP-43 proteinopathy. *Neuropathology*. 2010;30(2):170-81.
95. Zhao W, Beers DR, Bell S, Wang J, Wen S, Baloh RH, et al. TDP-43 activates microglia through NF-kappaB and NLRP3 inflammasome. *Exp Neurol*. 2015;273:24-35.
96. Debye B, Schmulling L, Zhou L, Rune G, Beyer C, Johann S. Neurodegeneration and NLRP3 inflammasome expression in the anterior thalamus of SOD1(G93A) ALS mice. *Brain Pathol*. 2016.
97. Johann S, Heitzer M, Kanagaratnam M, Goswami A, Rizo T, Weis J, et al. NLRP3 inflammasome is expressed by astrocytes in the SOD1 mouse model of ALS and in human sporadic ALS patients. *Glia*. 2015;63(12):2260-73.
98. Hoegen T, Tremel N, Klein M, Angele B, Wagner H, Kirschning C, et al. The NLRP3 inflammasome contributes to brain injury in pneumococcal meningitis and is

activated through ATP-dependent lysosomal cathepsin B release. *J Immunol.* 2011;187(10):5440-51.

99. Geldhoff M, Mook-Kanamori BB, Brouwer MC, Troost D, Leemans JC, Flavell RA, et al. Inflammasome activation mediates inflammation and outcome in humans and mice with pneumococcal meningitis. *BMC Infect Dis.* 2013;13:358.

100. Kim JY, Paton JC, Briles DE, Rhee DK, Pyo S. *Streptococcus pneumoniae* induces pyroptosis through the regulation of autophagy in murine microglia. *Oncotarget.* 2015;6(42):44161-78.

101. Hanamsagar R, Torres V, Kielian T. Inflammasome activation and IL-1 β /IL-18 processing are influenced by distinct pathways in microglia. *J Neurochem.* 2011;119(4):736-48.

102. Rajan JV, Warren SE, Miao EA, Aderem A. Activation of the NLRP3 inflammasome by intracellular poly I:C. *FEBS Lett.* 2010;584(22):4627-32.

103. Harari OA, Liao JK. NF- κ B and innate immunity in ischemic stroke. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1207:32-40.

104. Lammerding L, Slowik A, Johann S, Beyer C, Zendedel A. Poststroke Inflammasome Expression and Regulation in the Peri-Infarct Area by Gonadal Steroids after Transient Focal Ischemia in the Rat Brain. *Neuroendocrinology.* 2016;103(5):460-75.

105. Yang F, Wang Z, Wei X, Han H, Meng X, Zhang Y, et al. NLRP3 deficiency ameliorates neurovascular damage in experimental ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014;34(4):660-7.

106. Wang J, Dore S. Inflammation after intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27(5):894-908.

107. Ma Q, Chen S, Hu Q, Feng H, Zhang JH, Tang J. NLRP3 inflammasome contributes to inflammation after intracerebral hemorrhage. *Ann Neurol.* 2014;75(2):209-19.

108. Sehba FA, Hou J, Pluta RM, Zhang JH. The importance of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Prog Neurobiol.* 2012;97(1):14-37.

109. Shao A, Wu H, Hong Y, Tu S, Sun X, Wu Q, et al. Hydrogen-Rich Saline Attenuated Subarachnoid Hemorrhage-Induced Early Brain Injury in Rats by Suppressing Inflammatory Response: Possible Involvement of NF- κ B Pathway and NLRP3 Inflammasome. *Mol Neurobiol.* 2016;53(5):3462-76.

110. Kumar A, Loane DJ. Neuroinflammation after traumatic brain injury: opportunities for therapeutic intervention. *Brain Behav Immun.* 2012;26(8):1191-201.

111. Corps KN, Roth TL, McGavern DB. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury. *JAMA Neurol.* 2015;72(3):355-62.

112. Balu R. Inflammation and immune system activation after traumatic brain injury. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2014;14(10):484.

113. Ott L, Young B, McClain C. The metabolic response to brain injury. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1987;11(5):488-93.

114. Holmin S, Mathiesen T. Long-term intracerebral inflammatory response after experimental focal brain injury in rat. *Neuroreport.* 1999;10(9):1889-91.

115. Donat CK, Scott G, Gentleman SM, Sastre M. Microglial Activation in Traumatic Brain Injury. *Front Aging Neurosci.* 2017;9:208.
116. Lozano D, Gonzales-Portillo GS, Acosta S, de la Pena I, Tajiri N, Kaneko Y, et al. Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: etiology, clinical consequences, and therapeutic opportunities. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2015;11:97-106.
117. Beschorner R, Engel S, Mittelbronn M, Adjodah D, Dietz K, Schluesener HJ, et al. Differential regulation of the monocytic calcium-binding peptides macrophage-inhibiting factor related protein-8 (MRP8/S100A8) and allograft inflammatory factor-1 (AIF-1) following human traumatic brain injury. *Acta Neuropathol.* 2000;100(6):627-34.
118. Mortezaee K, Khanlarkhani N, Beyer C, Zendedel A. Inflammasome: its role in traumatic brain and spinal cord injury. *J Cell Physiol.* 2017.
119. Liu HD, Li W, Chen ZR, Hu YC, Zhang DD, Shen W, et al. Expression of the NLRP3 inflammasome in cerebral cortex after traumatic brain injury in a rat model. *Neurochem Res.* 2013;38(10):2072-83.
120. Irrera N, Pizzino G, Calo M, Pallio G, Mannino F, Fama F, et al. Lack of the Nlrp3 Inflammasome Improves Mice Recovery Following Traumatic Brain Injury. *Front Pharmacol.* 2017;8:459.
121. Kigerl KA, McGaughy VM, Popovich PG. Comparative analysis of lesion development and intraspinal inflammation in four strains of mice following spinal contusion injury. *J Comp Neurol.* 2006;494(4):578-94.
122. Arcangeli A, D'Alo C, Gaspari R. Dexmedetomidine use in general anaesthesia. *Curr Drug Targets.* 2009;10(8):687-95.
123. Chiu TH, Chen MJ, Yang YR, Yang JJ, Tang FI. Action of dexmedetomidine on rat locus coeruleus neurones: intracellular recording in vitro. *Eur J Pharmacol.* 1995;285(3):261-8.
124. Cortinez LI, Hsu YW, Sum-Ping ST, Young C, Keifer JC, Macleod D, et al. Dexmedetomidine pharmacodynamics: Part II: Crossover comparison of the analgesic effect of dexmedetomidine and remifentanyl in healthy volunteers. *Anesthesiology.* 2004;101(5):1077-83.
125. Ma D, Rajakumaraswamy N, Maze M. alpha2-Adrenoceptor agonists: shedding light on neuroprotection? *Br Med Bull.* 2004;71:77-92.
126. Zhang Y, Kimelberg HK. Neuroprotection by alpha 2-adrenergic agonists in cerebral ischemia. *Curr Neuropharmacol.* 2005;3(4):317-23.
127. Talke P, Bickler PE. Effects of dexmedetomidine on hypoxia-evoked glutamate release and glutamate receptor activity in hippocampal slices. *Anesthesiology.* 1996;85(3):551-7.
128. Yan M, Dai H, Ding T, Dai A, Zhang F, Yu L, et al. Effects of dexmedetomidine on the release of glial cell line-derived neurotrophic factor from rat astrocyte cells. *Neurochem Int.* 2011;58(5):549-57.
129. Zhang F, Ding T, Yu L, Zhong Y, Dai H, Yan M. Dexmedetomidine protects against oxygen-glucose deprivation-induced injury through the I2 imidazoline receptor-PI3K/AKT pathway in rat C6 glioma cells. *J Pharm Pharmacol.* 2012;64(1):120-7.

130. Tanabe K, Matsushima-Nishiwaki R, Kozawa O, Iida H. Dexmedetomidine suppresses interleukin-1 β -induced interleukin-6 synthesis in rat glial cells. *Int J Mol Med*. 2014;34(4):1032-8.
131. Si Y, Zhang Y, Han L, Chen L, Xu Y, Sun F, et al. Dexmedetomidine Acts via the JAK2/STAT3 Pathway to Attenuate Isoflurane-Induced Neurocognitive Deficits in Senile Mice. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164763.
132. Huang Y, Lu Y, Zhang L, Yan J, Jiang J, Jiang H. Perineural dexmedetomidine attenuates inflammation in rat sciatic nerve via the NF- κ B pathway. *Int J Mol Sci*. 2014;15(3):4049-59.
133. Ma J, Zhang XL, Wang CY, Lin Z, Tao JR, Liu HC. Dexmedetomidine alleviates the spinal cord ischemia-reperfusion injury through blocking mast cell degranulation. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(9):14741-9.
134. Li Y, Chen J, Chen XG, Wang L, Gautam SC, Xu YX, et al. Human marrow stromal cell therapy for stroke in rat: neurotrophins and functional recovery. *Neurology*. 2002;59(4):514-23.
135. Ohsawa K, Imai Y, Sasaki Y, Kohsaka S. Microglia/macrophage-specific protein Iba1 binds to fimbrin and enhances its actin-bundling activity. *J Neurochem*. 2004;88(4):844-56.
136. Soares HD, Hicks RR, Smith D, McIntosh TK. Inflammatory leukocytic recruitment and diffuse neuronal degeneration are separate pathological processes resulting from traumatic brain injury. *J Neurosci*. 1995;15(12):8223-33.
137. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(3):159-75.
138. Carlos TM, Clark RS, Francica-Higgins D, Schiding JK, Kochanek PM. Expression of endothelial adhesion molecules and recruitment of neutrophils after traumatic brain injury in rats. *J Leukoc Biol*. 1997;61(3):279-85.
139. Schwarzmaier SM, Plesnila N. Contributions of the immune system to the pathophysiology of traumatic brain injury - evidence by intravital microscopy. *Front Cell Neurosci*. 2014;8:358.
140. McKee CA, Lukens JR. Emerging Roles for the Immune System in Traumatic Brain Injury. *Front Immunol*. 2016;7:556.
141. Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(6):397-411.
142. de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, Keane RW. Activation and regulation of cellular inflammasomes: gaps in our knowledge for central nervous system injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014;34(3):369-75.
143. Shaftel SS, Griffin WS, O'Banion MK. The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: an evolving perspective. *J Neuroinflammation*. 2008;5:7.
144. Clausen F, Hanell A, Bjork M, Hillered L, Mir AK, Gram H, et al. Neutralization of interleukin-1 β modifies the inflammatory response and improves histological and cognitive outcome following traumatic brain injury in mice. *Eur J Neurosci*. 2009;30(3):385-96.
145. Clausen F, Hanell A, Israelsson C, Hedin J, Ebendal T, Mir AK, et al. Neutralization of interleukin-1 β reduces cerebral edema and tissue loss and

- improves late cognitive outcome following traumatic brain injury in mice. *Eur J Neurosci*. 2011;34(1):110-23.
146. Gustin A, Kirchmeyer M, Koncina E, Felten P, Losciuto S, Heurtaux T, et al. NLRP3 Inflammasome Is Expressed and Functional in Mouse Brain Microglia but Not in Astrocytes. *PLoS One*. 2015;10(6):e0130624.
 147. Silverman WR, de Rivero Vaccari JP, Locovei S, Qiu F, Carlsson SK, Scemes E, et al. The pannexin 1 channel activates the inflammasome in neurons and astrocytes. *J Biol Chem*. 2009;284(27):18143-51.
 148. de Rivero Vaccari JP, Lotocki G, Alonso OF, Bramlett HM, Dietrich WD, Keane RW. Therapeutic neutralization of the NLRP1 inflammasome reduces the innate immune response and improves histopathology after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009;29(7):1251-61.
 149. Li H, Zhang X, Chen M, Chen J, Gao T, Yao S. Dexmedetomidine inhibits inflammation in microglia cells under stimulation of LPS and ATP by c-Fos/NLRP3/caspase-1 cascades. *EXCLI J*. 2018;17:302-11.
 150. Wang G, Zhang J, Hu X, Zhang L, Mao L, Jiang X, et al. Microglia/macrophage polarization dynamics in white matter after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013;33(12):1864-74.
 151. Garden GA, Moller T. Microglia biology in health and disease. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2006;1(2):127-37.
 152. Filiano AJ, Gadani SP, Kipnis J. How and why do T cells and their derived cytokines affect the injured and healthy brain? *Nat Rev Neurosci*. 2017;18(6):375-84.