T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

DENEYSEL HAYVAN MODELİNDE AĞIR KAFA TRAVMASI SONRASI SİLDENAFİL'İN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

DR. BİLAL KILIÇARSLAN

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2016

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

DENEYSEL HAYVAN MODELİNDE AĞIR KAFA TRAVMASI SONRASI SİLDENAFİL'İN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. BİLAL KILIÇARSLAN

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. HAMİT SELİM KARABEKİR

İZMİR-2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her konuda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Nuri Arda, Prof. Dr. Serhat Erbayraktar, Prof. Dr. Ercan Özer, Prof. Dr. Burak Sade, Yrd. Doç. Dr. Orhan Kalemci, Doç. Dr. Hülagü Kaptan, Doç. Dr. Murat Yılmaz, Uzm. Dr. Ceren Kızmazoğlu'na; emekli hocalarım Prof. Dr. Emre Metin Güner, Prof. Dr. Kemal Yücesoy ve rahmetli hocamız Prof. Dr. Ümit Acar'a, katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Ayça Erşen Danyeli ve Yrd. Doç. Dr. Hasan Emre Aydın'a;

Bu çalışmanın oluşmasında büyük emeği olan, bunun yanında nöroşirurjide sahip olduğum bilgi ve becerilere katkısıyla tecrübelerini her ihtiyacım olduğunda paylaşan her konuda sayısız fırsat veren değerli hocam Doç. Dr. Hamit Selim Karabekir'e;

Birlikte zor ama güzel zamanlar geçirdiğimiz tüm asistan arkadaşlarıma;

Bugünlere gelebilmemin yegane sebebi olan ve haklarını ödeyemeyeceğim aileme, en önemlisi asistanlığım ve tez hazırlama sürecim boyunca benden hiç bir zaman desteğini esirgemeyen nişanlım Dr. Emel Karpuzoğlu'na

Teşekkür Ederim.

Dr. Bilal KILIÇARSLAN

İZMİR-2016

İÇİNCEKİLER

Teşekkür ……...……..…… I

İçindekiler ……..…… II

Tablo Listesi ……..……..…… IV

Şekil Listesi ……... IV

Resim Listesi ……...…….. IV

Kısaltmalar ……. V

Özet …… 1

Abstract ……..……..…… 2

1. GİRİŞ VE AMAÇ ……..…… 3

2. GENEL BİLGİLER ……...…… 5

2.1 Kafa Travması ……..…… 5

2.1.1 Tanım, epidemiyoloji ……..…… 5

2.1.2 Kafa travmalarının tarihçesi ……..…… 6

2.1.3 Kafa travmasının değerlendirilmesi ……..……..…… 7

2.2 Kafa Travmasının Patofizyolojisi ……..…… 8

2.2.1 Primer beyin hasarı ……..……...…… 11

2.2.1.1 Skalp yaralanmaları ……..……...…..… 11

2.2.1.2 Kranyum fraktürleri ……..……....…… 12

2.2.1.3 Kafa içi hasarlanmalar ……..……..…… 12

2.2.2 Sekonder beyin hasarı ……..……...…… 14

2.2.3 Sekonder hücre hasarında temel biyolojik mekanizmalar ……..… 15

2.2.3.1 Kalsiyuma bağımlı hücre hasarı ……..……...…… 16

2.2.3.2 Eksitotoksisite ……..……...……....…… 17

2.2.3.3 İnflamasyon ……...……...……..…...… 19

2.2.3.4 Oksidatif hasar ……...……...……..…...… 22

2.3 Mannitol ……...……...……..…...……..…...… 24

2.3.1 Mannitolün kafa içi basıncını düşürücü etkisini açıklayabilecek olası mekanizmalar ……...……..…...……..…...… 26

2.3.2 Mannitolün yan etkileri …..……..…...……..…...… 28

2.4 Sildenafil Sitrat …...……..…...……..…...……..…...… 28

3. GEREÇ VE YÖNTEM 30
3.1 Deney Hayvanları 30
3.2 Çalışma Grupları 30
3.3 Sıçanlara Anestezi Uygulanması 30
3.4 Travma Aleti 30
3.5 Sıçanların Hazırlanması 32
3.6 Kafa Travmasının Oluşturulması 37
3.7 Grupların Oluşturulması Ve Çalışmanın Yürütülmesi 37
3.8 Histopatolojik İnceleme 40
3.8.1 Işık mikroskobik doku takip protokolü 40
3.8.2 Kresil violet boyaması 41
3.8.3 Histomorfometrik ölçümler 41
3.9 Verilerin istatistiksel analizi 41
4. BULGULAR 43
4.1 Histopatolojik Sonuçlar 43
5. TARTIŞMA 51
6. SONUÇ 54
7. KAYNAKLAR 55

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Glasgow Koma Skalası 7
Tablo 2: Işık mikroskobik doku takip protokolü 40
Tablo 3: Grupların sağ prefrontal bölgeden yapılan ölçüm, sayım değerleri ve ortalamaları 43
Tablo 4: Grupların sağ hipokampustan yapılan ölçüm, sayım değerleri ve ortalamaları 44
Tablo 5: Grup 1 (sham) ve grup 2 (kontrol)'nin karşılaştırılması 45
Tablo 6: Grup 2 (kontrol) ve grup 3 (mannitol)'ün karşılaştırılması 47
Tablo 7: Grup 2 (kontrol) ve grup 4 (sildenafil)'ün karşılaştırılması 48
Tablo 8: Grup 3 (mannitol) ve grup 4 (sildenafil)'ün karşılaştırılması 49

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Sekonder hücre hasarında gelişen biyolojik mekanizmalar 16
Şekil 2: TBH'dan sonra oksidatif hasar mekanizmaları 23
Şekil 3: Travma aleti 32

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Travma aleti 31
Resim 2: Ratlara inraperitoneal anestezik madde uygulanması 33
Resim 3: Ratların tartılması 34
Resim 4: Ratların kranium perisostunun sıyrılıp travmaya hazırlanması 35
Resim 5: Ratların travma tahtasına sabitlenmesi 36
Resim 6: Ratların verteksine metal disk yerleştirilmesi 37
Resim 7: Travma sonrası kraniektomi yapılması 38
Resim 8: Travma yapılmış rat beyninin çıkarılmış hali 39
Resim 9: 4X büyütmede ilgili alan seçimi 42
Resim10: 40X büyütmede normal ve piknotik nöronların görünümü 42
Resim 11: 40X büyütmede sham grubuna ait prefrontal kortex kesit örneği 46
Resim 12: 40X büyütmede kontrol grubuna ait prefrontal kortex kesit örneği 46
Resim 13: 40X büyütmede mannitol grubuna ait hipokampus kesit örneği 50
Resim 14: 40X büyütmede sildenafil grubuna ait hipokampus kesit örneği 50

KISALTMALAR

AKT: Ağır kafa travması

AMPA: Amino 3-Hidroksi 5-Metil 4-Isoxazole Propioynik Asid

ark: arkadaşları

ATP: Adenozintrifosfat

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

cGMP: siklik 3',5'-guanozin monofosfat

DAH: Diffüz Aksonal Hasar

DEÜTFDHAL: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuarı

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

EAA: Eksitatör Amino Asit

eNOS: endotelyal kaynaklı Nitrik Oksit Sentetaz

GKS: Glasgow Koma Skalası

H2O2: hidrojen peroksit

iNOS: inflamatuar Nitrik Oksit Sentetaz

IL-1: İnterlökin-1

IL-6: İnterlökin-6

IL-10: İnterlökin-10

KBB: Kan Beyin Bariyeri

KİB: Kafa İçi Basınç

MDA: Malondialdehid

NMDA: N-Metil D-Aspartat

nNOS: nöronal kaynaklı Nitrik Oksit Sentetaz

NO: Nitrik Oksit

O2-: süperoksit

OH-: hidroksil radikali

ROT: Reaktif oksijen türleri

RNA: Ribo Nükleik Asit

pCO2: parsiyel karbandioksit basıncı

PDE-5: Fosfodiesteraz tip 5

pO2: parsiyel oksijen basıncı

SAK: subaraknoid kanama

SOR: Serbest Oksijen Radikali

SSS: Santral Sinir Sistemi

TBH: Travmatik Beyin Hasarı

TGF-β: Transforming Growth Faktör beta

TNF-α: Tümör Nekrozis Faktör alfa

ÖZET

DENEYSEL HAYVAN MODELİNDE AĞIR KAFA TRAVMASI SONRASI SİLDENAFİL'İN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Bilal Kılıçarslan, Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Balçova/İzmir, drkilicarslan@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada ağır kafa travmasında sildenafil sitratın etkinliğinin araştırılması ve sildenafil sitratın etkinliğinin kafa travmalarında sıklıkla kullanılan osmotik bir ajan olan mannitolün etkinliğiyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereçler ve yöntem: 28 adet Wistar türü Albino suşu dişi sıçanın oluşturduğu dört grup çalışmaya alındı. Gruplar şu şekilde oluşturuldu: Grup 1, Sham: Anestezi uygulanıp travma yapılmayan; Grup 2: Travma yapılıp, tedavi uygulanmayan; Grup 3: Travma yapılıp, tedavide mannitol %20'lik 1 gr/kg intraperitoneal uygulanan; Grup 4: Travma yapılıp, tedavide sildenafil sitrat 10 mg/kg intraperitonal uygulanan gruplardı. Kafa travması yapıldıktan bir saat sonra 3. ve 4. gruplara belirtilen tedaviler uygulandı. Travma sonrası 4. saatte sakrifikasyon sonrası alınan beyin doku örneklerinin rutin histolojik doku takibi sonrası sağ prefrontal korteks ve hipokampustan hazırlanan kesitleri Stereoinvestigator Software programında (MicroBrightField) canlı ve ölü nöron sayımı yapılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Sadece travma uygulanan gruptaki piknotik nöron sayısı ve piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranı sham grubuna göre hem prefrontal bölgede hem de hipokampusta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Travma sonrası tedavide mannitol (grup 3) ve sildenafil (grup 4) uygulanan gruplardaki piknotik nöron sayısı ve piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranının sadece travma uygulanıp tedavi uygulanmayan gruba (grup 2) göre anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Travma sonrası tedavide sildenafil (grup 4) ve mannitol uygulanan (grup 3) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Sonuç: Sonuç olarak; akut travmatik beyin hasarının tedavisinde sildenafil sitratın, eskiden beri kullanılan osmotik bir ajan olan mannitol gibi nöroprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir. Sildenafil sitratın insanlarda akut travmatik beyin hasarına bağlı gelişen özellikle sekonder beyin hasarının tedavisinde yararlı bir seçenek olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Ağır kafa travması, sildenafil, mannitol

ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFECT OF SILDENAFIL AFTER SEVERE HEAD TRAUMA IN EXPERIMENTAL RAT MODEL

Dr. Bilal Kılıçarslan, Dokuz Eylul University Faculty of Medicine Department of Neurosurgery Balçova/İzmir, drkilicarslan@gmail.com

Objective: The aim of this study is to investigate the effects of sildenafil citrate in rats with severe head trauma and to compare the effects of sildenafil citrate and mannitol which is widely used in head trauma management.

Materials and methods: In this study 28 Wistar Albino type female rats divided into four groups. The groups were like this: Group 1, Sham: rats anesthetized but not induced to trauma, Group 2: rats induced to trauma, no treatment has given. Group 3: rats induced to trauma, intraperitoneal %20 mannitol 1 gr/kg has given as treatment, Group 4: rats induced to trauma, intraperitoneal sildenafil citrate 10 mg/kg has given as treatment. One hour after trauma, the treatments were given to group 3 and 4. Four hours after trauma the rats were sacrified. Then the tissues resembling prefrontal cortex and hippocampus were sampled from the right hemisphere of each brain. The tissue samples were submitted for routine histological processing. Dead neurons and neurons with normal morphology were the cells of interest. Fractionator method via the StereoInvestigator software program (MicroBrightField) is used to count the cells of interest.

Results: Number of pycnotic neurons and the ratio of pycnotic neurons/ all of neurons in both prefrontal cortex and hippocampus were significantly increased in trauma group compared to sham group. Number of pycnotic neurons and the ratio of pycnotic neurons/ all of neurons in both prefrontal cortex and hippocampus significantly decreased in mannitol (group 3) and sildenafil citrate (group 4) treated groups compared to trauma group. However, there was no significant difference between group 3 and group 4 histopathologically.

Conclusion: As a result, we demonstrated mannitol and sildenafil citrate had similar neuroprotective effects. We think sildenafil citrate may be a useful option in the treatment of secondary brain injury due to acute traumatic brain injury.

Keywords: severe head trauma, sildenafil, mannitol

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kafa travması öldürücü, sakat bırakıcı, uzun süre tedavi ve bakım gerektiren bir patoloji olup, ölüm nedenleri arasında ön sıralarda yer almaktadır. Her gün biraz daha hızlanan sosyal ve teknolojik yaşam koşullarında kafa travmalarının insidansı ve buna bağlı mortalite ve morbidite riski giderek artmaktadır (1).

Günümüzde kafa travmasından sonra ortaya çıkan travmatik beyin hasarı (TBH) medikal ve cerrahi tedavideki gelişmelere karşın hala önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Travma sonucu santral sinir sisteminde (SSS) ilk olarak primer beyin hasarı meydana gelmektedir. Primer beyin hasarı skalp yaralanması, kafatası kırığı, kontüzyon, beyin laserasyonu, diffüz aksonal hasar (DAH) ve intrakraniyal kanamaları içermektedir. Ancak kafa travması sonucu oluşan hasardan sadece primer hasar sorumlu değildir. Primer beyin hasarını takiben ortaya çıkan birçok karmaşık fizyopatolojik olaylara bağlı olarak saatler veya günler sonra sekonder beyin hasarı oluşmaktadır. Sekonder hasarda rol alan mekanizmalar arasında nörotransmitter salınımı, reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu, kalsiyum bağımlı hücre hasarı, gen aktivasyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve inflamasyon yer almaktadır (2). Beyin hasarında rol oynayan sekonder doku hasarının prognozu önemli ölçüde kötü yönde etkilediği gösterilmiştir. Bu nedenlerin bir kısmı önlenebilir ve ortaya çıkan hasar azaltılabilir (3, 4). Böylece mortalite ve morbiditenin azaltılması mümkün olabilir.

Sekonder beyin hasarının önemli bir kısmını travma sonucu beyinde antioksidan mekanizmalar arasında dengelerin bozulmasıyla açığa çıkan serbest oksijen radikalleri ile meydana gelen lipid peroksidasyonu oluşturmaktadır. Serbest oksijen radikal önleyicilerinin, tedavi edici etkileri ile SSS'de travma veya iskemi sonrası oluşan klinik ve histopatolojik olayları iyi yönde etkilediği bildirilmiştir. Travma sonrası normal fizyolojisi bozulan beyinde oluşan oksidatif metabolitlerin ortamdan uzaklaştırılması, otoregülasyonun da bozulması nedeniyle güçleşmektedir. Ayrıca, beynin oksidatif streslere karşı savunma mekanizmasının diğer organlara göre daha az olduğu bilinmektedir. Bu nedenle beynin antioksidan mekanizmalarının desteklenmesi gerekmektedir. Travmaya maruz kalan beyin, oksidanlara bağlı oluşan ikincil hasardan korunduğu oranda normal fizyolojisine dönebilir (4). Travma ile oluşan iskemi sonrası nöronal hasarı önlemek ve kötü nörolojik sonuçları düzeltmek için, serbest oksijen radikallerinin üretimini veya dağılımını azaltmak gerekmektedir. Serbest

oksijen radikallerini inhibe eden ajanların, tedavi edici etkileri ile SSS'de travma veya iskemi sonrası oluşan kötü nörolojik tabloyu olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (5).

Beyin ödemi klinikte kafa travması sonrası karşımıza çıkan en önemli sorunlardan biridir. Osmoterapi, travmatik beyin hasarında nöroloji ve nöroşirürji yoğun bakımlarında serebral ödem ve intrakranial hipertansiyon tedavisinde en çok kullanılan yöntemdir. Klinik uygulamada birçok osmotik ajan kullanılır. Mannitol, salin, gliserol, üre ve sorbital örnek olarak verilebilir. Bunlar içerisinde mannitol 1960'tan itibaren en çok kullanılan ajandır (6). Osmotik ajanların antiödem aktivitesini, sıvıyı interstisyel ve intrasellüler boşluklardan intravasküler kompartmana çekerek gösterdiği bilinir. Yine travmatik beyin hasarında nörojenik inflamasyonun ödem gelişimi ile ilişkili olduğu ratlarla yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (7).

Erektil disfonksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) enzim inhibitörü olan sildenafil sitratın santral sinir sistemi üzerine etkisinin incelendiği pek çok çalışma yapılmıştır. Diomedi ve ark. (arkadaşları) sildenafil ile yaptıkları çalışmada PDE 5 inhibitörlerinin subaraknoid kanamanın indüklediği vazospazmda tedavi amaçlı kullanılabileceğini belirtmişlerdir (8).

Li Zhang ve ark. ratlarda embolik atak sonrası fonksiyonel geri dönüş üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada inme sonrası farelerde sildenafil sitratın nörolojik fonksiyon iyileşmesini hızlandıracağını göstermişlerdir. Sildenafil sitrat verilmesi ile kortikal cGMP (siklik 3',5'-guanozin monofosfat) seviyesi artırılmış; anjiogenez ve sinaptogenez artması ile nörolojik iyileşmede ilerleme kaydedilmiştir (9).

Serarslan ve ark. ise deneysel spinal kord yaralanma modelinde antioksidan enzim aktiviteleri, nitrik oksit ve MDA seviyelerine bakarak başka bir PDE-5 (fosfodiesteraz tip 5) inhibitörü olan tadalafil'i metilprednizolon ile karşılaştırmış ve tadalafil'in nöroprotektif etkileri olduğunu göstermişlerdir (10).

Fakat literatüre bakıldığında akut kafa travmasında sildenafil sitratın beyindeki antiödem ve nöroprotektif etkinliğinin araştırıldığı yeterli çalışma olmadığı görülmüştür.

Bu çalışmada akut kafa travmasında sildenafil sitratın etkinliğinin araştırılması ve kafa travmalarında klinik uygulamalarda sıklıkla kullanılan osmotik bir ajan olan mannitolün etkinliğiyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 KAFA TRAVMASI

2.1.1 Tanım, Epidemiyoloji

Kafa travması öldürücü, sakat bırakıcı, uzun süre tedavi ve bakım gerektiren patolojik bir durumdur. Her gün biraz daha hızlanan yaşam koşullarında kafa travmalarının insidansı ve buna bağlı mortalite ve morbidite riski giderek artmaktadır. Mekanik kafa travmasının etkileri kontüzyondan ağır koma ve ölüme kadar değişmektedir. Eğer hasta koma halinde (Glaskow koma skalası ≤ 8) (GKS) gelirse ağır travmatik beyin hasarı (TBH) düşünülmektedir. Bu hastalardaki mortalite oranı yaşlı hastalarda daha yüksek olmak üzere %30-50 arasında değişmektedir. TBH'na bağlı gelişen ölümlerin yaklaşık %90'ı ilk 48 saat içinde gerçekleşmekte ve genellikle beyin sapı herniasyonuna ve kontrolsüz intrakraniyal basınç artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (11). TBH; direkt darbe, hızlı yavaşlama veya hızlanma, delici bir alet (silah) veya bir patlamadan kaynaklanan dalgalar sonucu oluşan dış etkinin neden olduğu beyin hasarını içeren heterojen bir hastalıktır. Bu etkilerin kaynağı, yoğunluğu, yönü ve süresi hasarın şeklini ve sonuçlarını belirler (2).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre yılda 100.000'de 83,7 oranında tüm travmalara bağlı ölüm bildirilmiştir. Bu yaralanmaların büyük çoğunluğu az gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerde meydana gelmektedir. Bu oran bizim ülkemizde 100.000'de 120'dir. Tüm travmalara bağlı yaralanmaların ise yaklaşık üçte biri SSS yaralanmalarını içerir. Amerika'da yılda her 100.000 kişiden 200'ü ağır kafa travmasına maruz kalmakta ve ölüm oranının 100.000'de 25 olduğu bilinmektedir (2).

Kafa travmalarının epidemiyolojisi sosyo-ekonomik seviye farklılıklarına, yaş, ırk ve cinsiyete göre değişim göstermektedir. Yapılan araştırmalarda kafa travmalarında 15-25 yaş grubunun risk yüzdesinin fazla olduğu görülürken, kafa travması insidansı 25-60 yaş grubunda düşmekte, 60 yaşından sonra ise tekrar yükselmektedir. Kadın/erkek oranı ise yaklaşık 1/2 oranındadır. Sosyo-ekonomik seviyesi düşük toplumlarda kafa travması görülme oranı daha sıktır. En sık nedenler; trafik kazaları, düşme, darp, iş, ev ve spor kazalarıdır. Alkol çoğunda hazırlayıcı faktördür. Kırsal kesimlerde ve sosyoekonomik seviyesi düşük toplumlarda ateşli silah yaralanmaları daha sık görülmektedir (12).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, 2006 yılı boyunca acil servise kafa travması nedeniyle başvuran 1787 olgudan kliniğe yatırılan 430 olgu değerlendirilmiş, travmatik beyin

hasarının en sık iki nedeninin yüksekten düşme (%40) ve motorlu taşıt kazaları (%37) olduğu görülmüştür (13).

Nörotravmaya klinik yaklaşım günümüzde modern acil servislerin en kalıcı ve en kapsamlı problemlerinden biridir. Her sene yaralanan çok sayıda hastaya verilen tıbbi hizmetlerin mali yükü oldukça büyüktür. Özellikle son iki dekatta kafa travmalarının fizyopatolojisi hakkındaki bilgilerin artması, travmatik beyin hasarından sonra gelişen sekonder nöronal hasarın fizyolojisinin anlaşılması ile uygun tedavi yöntemlerinin uygulanması ve yoğun bakımdaki hasta bakım tekniklerindeki gelişmeler mortalite oranlarını azaltmış, prognozda belirgin iyileşme sağlamıştır (14).

2.1.2 Kafa travmalarının tarihçesi

Kafa travmaları ile ilgili ilk rapor M.Ö. 2800 yıllarında yaşayan Mısırlı hekim Imhotep'e aittir. Thabes şehri yakınlarında bir mezardan çıkarılan ve M.Ö. 1700 yıllarına ait olan bir papirusta Imhotep'e ait olan travmaların muayene, tanı ve tedavi prensipleri belirtilmiştir. Bu papirusta yazılan 48 travma vakasının 15'i kafa travması ile ilgilidir. Imhotep kafa travmalarını tedavi edilir, edilebilir, edilemez olarak üç gruba ayırmıştır. Yüzyıllar sonra bugün de, bu gruplandırma geçerlidir, ancak tedavi edilemez kafa travmaları oranı çok daha aza inmiştir. Avusturya ve Fransa'da cilalı taş devrine ait mezarda bulunan kafataslarının % 10'unda burr hole belirtileri görülmüştür. Avrupa'da tedavi amacı ile burr hole Hippocrates (M.Ö.460-355), Cornecius Celcus (M.S. l. yy), Galen (M.S.131-201) gibi eski Roma tıp doktorlarınca kullanılmıştır.

Zamanında papaların doktoru olan Guy de Chauliac (M.S. 1300-1386) kafatası çökme kırıklarında cerrahi tedavi uygulamıştır. Ambroise Pare, 1510'da Fransa kralı II.Henry'de travmatik orbita üstü kafa içi hematom ameliyatını yapmıştır. Berengorius Bologna Üniversitesi'nde bir profesör olan Caprrli Jacop, 1518'de kafa travmaları üzerine ilk kitabını yazmıştır. Bu kitap sadece nöroşirürji konuları üzerine yazılmış ilk kitaptır. Anadolu'da erken bronz çağında İkiztepe-Samsun yöresinde burr hole yapıldığı, bronz çağında Kültepe yöresinde yaşamış Asurların burr hole yaptıkları, arkeolojik çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır. Arkeolojik çalışmalardaki en çarpıcı bulgu Urartu dönemine (M.Ö. 800) ait Dilkaya-Van yöresinde bulunan kafatasıdır. Kafa travması geçirmiş, orta meningeal arter dallarını çaprazlayan, frontalden oksipitale uzanan lineer fraktüre sahip bir hastada, muhtemelen epidural bir hematomu boşaltmak için 11x6 cm boyutlarında serbest flep kraniotomi

gerçekleştirilmiştir. 13 tane burr hole açılmış ve bunlar bir keski yardımıyla birleştirilerek kemik kaldırılmış ve işlem sonrası tekrar yerine konulmuştur. M.Ö. 7. yüzyılda Knidos (Datça)'da kurulan ilk tıp okulunda pek çok ünlü tıp adamı yetiştirilmiştir. Kos (İstanköy) adasındaki M.Ö. 460 yılında doğmuş olan Hippokrat da bu bölgedendir.

Travmatik intrakranyal lezyonların tedavisinde, 19. yüzyıl sonunda ve 20. yüzyıl başlarında nöroşirürjinin öncülerinden Victor Horsley, Harvey Cushing, W.H. Jacobson, Hugh Cairns ve Walter Dandy'nin katkıları sayesinde ilerleme elde edilmiştir. 1970'li yıllarda Hounsfield tarafından Bilgisayarlı Tomografinin geliştirilmesi ve klinik kullanıma girmesi ile kranial patolojilerin değerlendirilmesinde bir devrim gerçekleştirilmiştir (15, 16).

2.1.3 Kafa travmasının değerlendirilmesi

Bugün pek çok nöroşirürji kliniğinde beyin harabiyetinin şiddetini pratik olarak en iyi gösterdiği kabul edilen Glasgow Koma Skalası (GKS) kullanılmaktadır (Tablo 1). GKS canlılık ve serebral korteksin fonksiyonlarını belirler.

Tablo 1: Glasgow Koma Skalası (Teasdale ve Jennet 1974)

Göz açma (G)	**Skor**	**Motor cevap (M)**	**Skor**	**Sözel cevap (S)**	**Skor**
Kendiliğinden	4	Emirlere uyar	6	Oryante	5
Sesli uyarıyla	3	Ağrıyı lokalize eder	5	Konfüze	4
Ağrılı uyarıyla	2	Ağrı ile çeker	4	Uygunsuz cevap	3
Cevap yok	1	Fleksör cevap	3	Anlaşılmaz ses	2
		Ekstansör cevap	2	Cevap yok	1
		Cevap yok	1		

G+M+S= 15

GKS; hastaların hafif, orta ve ağır olarak sınıflandırılmasına olanak verir.

13-15 puan: Minör kafa travması

9-12 puan: Orta siddette kafa travması

8 puan ve altı: Ağır kafa travması

Kortikal yüzeyden başlayarak subkortikal, diensefalik ve sonunda rostral beyin sapı, mezensefalik retiküler formasyona kadar etkili olan bir darbenin meydana getirdiği enerji sonucunda, basit konküzyondan derin komaya kadar değişen şuur seviyeleri gelişebilir (17).

2.2 KAFA TRAVMASININ PATOFİZYOLOJİSİ

Kafa travmalarında ortaya çıkan dokulardaki patofizyolojik değişiklikleri şu şekilde sınıflayarak değerlendirebiliriz.

A. Nöronal dokuda oluşan süreç

a.Akson

b.Sinaptik aralık

B. Vasküler dokuda oluşan süreç

C. Kan-beyin bariyerinde oluşan süreç ve beyin ödemi

D. İnflamatuar süreç

Travmatik beyin yaralanmalarına bağlı klinik tablo; beyin dokusu, beyindeki vasküler yapıların ve kafatası kemiklerinin mekanik olarak distorsiyonu ile başlar. Travmanın tipi bu mekanik distorsiyonun lokalizasyonu ve şiddeti ile belirlenir. Buna göre travma fokal veya diffüz olabilir. Travmada etkilenen yapılara bağlı olarak primer travmatik etkiler beynin nöral dokusu, vasküler dokusu veya her ikisini de içerir. Bu etkiler daha geç ortaya çıkan sekonder olaylar ile etkilenebilirler. Bu geç ortaya çıkan ikincil etkiler afferent sinir impulslarında kesilme ve eliminasyon olup gecikmiş hücre ölümü ile sonuçlanabilir.

Direkt travmanın etkisiyle oluşmayan sekonder olaylar iskemi, beyin ödemi, artmış kafa içi basıncıdır.

Fokal beyin yaralanmasına sebep olan olayların fizyopatolojik kaskadı diffüz beyin yaralanmalarında farklılık gösterir. Fokal beyin yaralanmalarında travmatik kontüzyon veya hematomlar lokal kitle etkisi oluşturur. Bu da beyinde şifte, herniasyonlara ve beyin sapı basılarına sebep olur (17, 18).

A. Nöronal dokuda oluşan süreç:

a.Akson: Son yıllarda yapılan çalışmalar eskiden kabul görmüş olan, diffüz aksonal yaralanma sırasında aksonların darbenin olduğu sırada tamamen yırtılması teorisinde önemli değişiklikler yapmıştır. Bu çalışmalara göre aksonların tamamen yırtılması çok az olup daha çok aksonlarda kısmi hasarlanmalar olmaktadır. Darbenin etkisi ile aksonlarda oluşan

gerilmeler temel olarak Ranvier nodunda olmaktadır. Bu nodal gerilme hızlı bir aksonal hasarlanma ile sonuçlanabilirken çoğunlukla tam bir hasarlanma ile sonuçlanmaz ve gelişen diğer fizyopatolojik olaylar sonucu ya ikincil olarak aksotomiye dönüşür veya iyileşerek normal fonksiyonel yapıya geçer.

b.Sinaptik aralık: Direkt travmanın etkisiyle aksonların Ranvier nodları üzerinde bu değişiklikler olurken aynı zamanda travma sinapslar üzerinde de değişik patolojilere sebep olabilmektedir. Deneysel olarak yapılan kafa travması çalışmalarında direkt travmanın etkisiyle birçok nörotransmitter seviyesinde değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda özellikle eksitatör aminoasitlerin (EAA) ve ekstrasellüler potasyumun 3-4 kat fazla oranlarda bu bölgede olduğu gösterilmiştir. Bir de travma üzerine iskemik olaylar eklendiğinde bu eksitatör aminoasitlerdeki artış 50-60 kat seviyelere ulaşmaktadır. Ayrıca ekstrasellüler bölgede K (potasyum) artışı EAA'lerin salınımını tek başına da arttırabilmektedir. Bu artan EAA'ler postsinaptik aralıkta birtakım reseptörlere bağlanarak etkilerini göstermektedirler. Bu reseptörlerden olan NMDA (N-Metil D-Aspartat) reseptörleri EAA'lerin kendisine bağlanması ile nöronda depolarizasyona sebep olarak hücre içerisine kalsiyum ve sodyum girişine sebep olur. Bir diğer reseptör olan AMPA'nın (Amino 3-Hidroksi 5-Metil 4-Isoxazole Propiyonik Asid) etkisi ise sadece hücre içine sodyum girişi ve hücre dışına potasyum çıkışının sağlanmasıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar metabotropik EAA reseptörleri adında değişik bir reseptör çeşidinin varlığını ortaya koymuştur. Kalsiyum iyonları yaşamın temel mesajcıları olarak kabul edilir; hücre için temel fonksiyonlar olan mitozun başlaması, regülasyonu, motilite, büyüme, sekresyon gibi işlevleri düzenler. Ancak özellikle nöronlar için kontrolden çıktığında ölümcül olur. Travmadan sonra oluşan hücre içindeki kalsiyum miktarlarındaki artış hücre içinde bulunan, fosfolipaz, proteaz ve lipazları aktive ederek hücre proteinlerinin, lipidlerinin ve DNA (Deoksiribo Nükleik Asit)'nın sindirilip parçalanmasına sebep olur (19, 20).

Posttravmatik EAA'lerin artışı hidroksil yapımını artırmaktadır. Ayrıca artmış hücre içi kalsiyumda sebep olduğu artmış fosfolipaz aktivitesi sebebiyle araşidonik asitlerin yıkılmasına ve bunun sonucunda oluşan serbest radikaller lipid peroksidayonuna neden olarak kalıcı nöronal hasarlanmaya sebep olur.

B. Vasküler dokuda oluşan süreç:

Primer travma ile mekanik hasarlanma nöral, glial dokuda olabileceği gibi doğal olarak vasküler yapılarda da olabilir. Bu yaralanmalar sonucu gelişen kontüzyon ve intraserebral kanamaların etrafındaki dokuda ciddi boyutlarda beyin kan akımında azalma olmaktadır. Bu akım 18 ml/100 gr/dk'nın altına düştüğünde iyonik homeostazisi sağlayacak olan enzimler çalışamamakta ve bu noktadan itibaren enerji üretimi anaerobik glikoliz ile sağlanmakta ve bu da aşırı derecede laktat üretimine sebep olmaktadır. Laktatın artması hücrede asidoza ve kalsiyum üzerinden hücrenin yıkımına kadar uzanmaktadır. Aslında, travmanın direkt etkisi ile oluşan iyonik dengenin bozulması ve bunun sonucunda meydana gelen anarşik ortamın düzeltilmesi için posttravmatik erken dönemlerde hasarlanan hücrelerde aşırı derecede enerji isteği olmaktadır. Bir de bölgesel kan akımında azalma oluşursa bu dokudaki hasarlanma artan enerji isteğinin karşılanamaması veya anaerobik glikoliz ile karşılanabilmesi sonucunda daha fazla hasarlanacaktır.

C. Kan-beyin bariyerinde oluşan süreç ve beyin ödemi:

Beyin ödemi ağır kafa travmalı olguların hemen hepsinde oluşur. Posttravmatik ilk 30 dakika içerisinde ekstrasellüler volümde artış olur. Bu artışın kaynağı travmanın oluşturduğu mekanik etkiye bağlı olarak kan-beyin bariyerindeki orta ağırlıklı moleküller için olan geçici açılmadır. Posttravmatik 1. saatten sonra ekstrasellüler mesafe hızlı bir sekilde küçülerek su molekülleri hücre içerisinde artmaya başlar. Genel olarak beyin ödemi değerlendirildiğinde; posttravmatik ilk günde görülen beyin ödemi ister genel isterse de fokal orjin olarak vazojenikten daha fazla sitotoksik olarak kabul edilir. Vazojenik ödem genellikle posttravmatik 10-15. günlerde fokal kontüzyon alanlarının etrafında belirgin oluşmaya başlamaktadır (17, 18).

D. İnflamatuar süreç:

Kafa travmalarında travma sonrası hemen ortaya çıkan fiziksel hasarlanmayı takiben devam eden ikincil doku hasarlarına sebep olan bu olaylar zincirinin bir halkasını da posttravmatik inflamatuar yanıt oluşturur. Bu yanıtın ana kaynağı primer travmanın yol açtığı doku hasarlarının ortamdan uzaklaştırılma isteğidir. Bu işlem sırasındaki en önemli nokta nötrofillerin dokuya infiltrasyonudur. Bu infiltrasyonda sellüler adheziv moleküllerin salgılanması, inflamatuar mediyatörlerin üretimi, yüzeyel antikoagülan mekanizmaların

bozulması ile oluşan endotel hücre hasarlanması ile tetiklenir. Nötrofillerin aktive olmaları sonucunda serbest radikaller salgılanır ve proteazlar açığa çıkar. Bunlarda vasküler yapılarda hasarlanmalara sebep olarak kan-beyin bariyeri (KBB)'ni bozup beyin ödemine sebep olur. Bu oluşum içerisinde aslında nöronlar arasında iletişimi sağlayan ve pıhtı oluşumu ile nötrofiller üzerinde toplayıcı etkisi olan nitrik oksid (NO) yer alır. Kafa travmaları sonrası ortamda oluşan nitrik oksidi sentezleyen enzimlerden olan endotelyal kaynaklı nitrik oksit sentetaz (eNOS) serebral mikrosirkülasyonda vazodilatatör etki ile prognozu iyileştirici etki yaparken, nöronal kaynaklı olan (nNOS) ve inflamatuar olaylarda indüklenen (iNOS) formları ile serbest radikaller oluşturarak mitokondrial fonksiyonları bozmakta ve DNA yıkımı ile direkt hücre ölümlerine sebep olmaktadır (19, 20)

2.2.1 Primer beyin hasarı

Primer beyin hasarında makroskopik düzeyde bakıldığında beyaz madde yollarında kopma, fokal kontüzyonlar, intraserebral veya ekstraserebral hematomlar ve diffüz ödem görülebilir. Hücresel düzeyde ise, ilk hasardan dakikalar ya da saatler sonra, membranlarda küçük deliklerin oluşması, iyon kanallarından sızıntılar ve proteinlerde yapısal değişiklikler gibi erken sinir hasarı bulguları ortaya çıkar. Şiddetli yırtılmalar mikrohemorajilere neden olabilir.

Patofizyolojik olarak primer beyin hasarı, fokal ve diffüz olarak ikiye ayrılmaktadır. Fokal beyin hasarında kubbe ve kaide kırıkları gibi kafatası kırıkları, kontüzyon ve hematomlar görülür (2).

Fokal travmalar esas olarak uygulanılan lokasyona ve şiddete bağlı olarak morbidite ve mortaliteyi etkilerler. Diffüz aksonal hasarlar ise sıklıkla motorlu araç yaralanmalarından sonra ortaya çıkar. Beyin ve beyin sapı boyunca aksonlarda morfolojik ve fonksiyonel hasarla karakterizedir ve beyaz cevherde diffüz dejenerasyona yol açar. Klinik pratikte diffüz aksonal hasar ve fokal hasarlar çoğunlukla birlikte görülürler (21, 22).

2.2.1.1 Skalp yaralanmaları

Künt travmalarda ezilme ve sıyrılma şeklinde yaralanma olabileceği gibi şiddetli travmalarda parçalanma ve hatta kranyum üzerinden tamamen sıyrılma şeklinde ciddi yaralanmalar olabilir. En sık görülen skalp yaralanması laserasyon veya avülsiyon şeklinde olmaktadır (23).

2.2.1.2 Kranyum fraktürleri

Kafatası fraktürleri lineer, kommunike veya depresyon fraktürleri şeklinde olabilir. Fraktürlerin; üstünde uzanan bir laserasyonun varlığına veya fraktürlerin paranazal sinüslere ya da orta kulağa uzanışına göre, açık veya kapalı fraktürler olarak daha ileri bir sınıflaması yapılabilir (23).

2.2.1.3 Kafa içi hasarlanmalar

1.Kommosyo Serebri: Travmadan hemen sonra kısa bir süre için şuur kaybıyla karakterize klinik tabloya kommosyo serebri denir. Bu, beyinde patolojik bir değişiklik olmadan, fizyopatolojik olarak beyin sapındaki uyanıklık durumunu idare eden retiküler formasyonun reversibl fonksiyon bozukluğu ile açıklanmaktadır.

2.Kontüzyon ve Laserasyon: Serebral kontüzyon ile laserasyon deyimleri arasında kesin bir sınır olmasa da, kontüzyon denilince; beyinde, sıyrıklar ve eziklerin yaygın olarak bulunduğu anlaşılır. Doku ve vasküler sistem yırtılmamıştır. Fakat kapiller staz oluşmuş, BOS (Beyin Omurilik Sıvısı) emilimi azalmış ve ödem meydana gelmiştir. Yer yer peteşiyel kanamalar görülebilir. Laserasyonda ise olay daha lokalize ve daha ciddidir. Damarlar yırtılmış ve beyin dokusunun bütünlüğü bozulmuştur. Beyin laserasyonunda sinir dokusu lezyonu geri dönüşümsüzdür ve hemen daima glial bağ dokusu oluşumu ile iyileşir (22, 23).

3.Epidural Hematom: Epidural hematomlar nispeten daha az sıklıkta görülmektedir ve genellikle düşük hızlı künt travmalara bağlıdır. Epidural hematomda hastaların travma sonrası bilincini tamamen kaybetmeyen kısa süreli komaya giren ve toparlanan veya hasardan sonra devam eden komatöz halleri olur. Epidural hematomun yarısından fazlası serebral hemisferin konveksitesinde arteriya meningea media ve dallarının beslediği bölgelerde görülür. Epidural hematomlar sıklıkla temporal veya temporoparietal bölgede yer alırlar. %10'u frontal bölgede veya posteriyor fossada ortaya çıkar. Hematomun klinik tablosu klasik olarak; kısa süreli bir şuur kaybı periyodu, bunu takiben bir lusid interval ve daha sonra şuur kaybı ile fokal bulguların ortaya çıkmasıdır. En erken bulgular, ipsilateral pupilin dilate olmaya başlaması, bunu takiben internal ve eksternal okülomotor sinir paralizisi ve şuur düzeyindeki hızlı bozulmadır.

4.Subdural Hematom: Subdural hematom, kanın duramater ile araknoid membran arasındaki subdural mesafede toplanmasıdır. Subdural hematomların büyük çoğunluğu venöz orjinlidir. Akut subdural hematomlar, kural olarak posttravmatiktir ve beynin hareketi ile

bağlantılı lezyonlardır. Duranın iç yüzeyi ile beynin yüzeyi arasında bir köprü yapan bir venin rüptürü veya beynin yüzeyindeki küçük bir arterin rüptürü ile oluşabilir.

5.İntraserebral Hematom: İntrakraniyal hemoraji hafif veya şiddetli kafa travmalarından sonra oluşur ve genellikle kitle lezyonu oluştururlar. Parankim içerisindeki kan, bilgisayarlı tomografide hiperdens gözlenir. İntraparankimal hematomların bazıları travmadan ancak 24 saat sonra görünür hale gelir. Bu nedenle klinik kötüleşme veya progresif kontrol edilemeyen intrakraniyal hipertansiyon durumlarında yeniden görüntüleme çalışmaları yapılmalıdır. Büyük intraserebral hematomlar, beynin frontal ve temporal bölgelerinde bulunur. İntraserebral hematomlar, kurşun yaralanmaları, perfore yaralanmalar ve depresyon fraktürleri gibi darbenin, kafanın nispeten küçük bir bölgesine isabet ettiği vakalarda görülür.

Kontüzyon, beynin derin yapılarının deformasyonu olup komaya kadar varabilen bilinç kaybı ile seyreden yaygın nörolojik hasara yol açar ve diffüz aksonal hasar (DAH)'ın daha hafif bir formu olarak kabul edilir. Kup kontüzyon, kafatasına direk olarak gelen darbeye bağlı bir kuvvetin etkili olduğu bölgede; kontrakup kontüzyon ise darbeye bağlı kuvvetin etkili olduğu bölgenin zıt tarafında, beynin deforme olup tekrar eski şeklini alması sürecinde meydana gelen negatif basınç sonucu oluşur (22, 23).

Travmatik intrakraniyal kanamalar, ağır TBH bulunan hastaların %25-35'inde, orta TBH olan hastaların %5-10'unda görülebilmektedir (2).

DAH, genellikle motorlu araç kazalarından sonra fokal ve diffüz beyin travmasında travmanın şiddetinden bağımsız olarak oluştuğu gibi iskemi sonucu da ortaya çıkabilir. Beyin ve beyin sapı boyunca aksonlarda morfolojik ve fonksiyonel hasarla karakterizedir ve beyaz cevherde diffüz dejenerasyona yol açar. DAH'nın kötü prognoz için gerçekçi bir gösterge olduğu kanıtlanmıştır ancak hala tanı koymada güçlükler vardır. DAH'a yol açan, ilk travmanın etkisi ile oluşan yırtılma kuvvetlerinin dışında gecikmiş başka mekanizmaların olduğu görülmüştür. Travmayı takiben gelişen primer beyin hasarında DAH'ın karakteristik özellikleri olarak, şişen aksoplazmaya ait amorf, belirgin bir şekle sahip olmayan ve retraksiyon topları olarak adlandırılan, beyaz cevher içerisine dağılmış aksonal parçalanmalar görülür.

Aksonal hasar için özgül immunohistokimyasal belirteçler, gelişmiş görüntüleme teknikleri ve serum biyobelirteçlerinin kullanılması ile beyaz cevher hasarının ilerleyen ve gecikmiş dejeneratif bir süreç olduğu orta ve şiddetli TBH'nda oluşabileceği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar, beyaz cevher hasarının aktif ilerleyen bir süreç olduğunu göstermiştir.

Travmayı takiben inflamasyonun neden olduğu aktif lezyonlar görülür, hücre iskeletinde kırılmalar olur ve sonuçta aksonal iletim bozulur. Beyaz cevher lezyonlarının daha önce düşünülenden daha fazla olarak birçok semptomdan sorumlu olabileceği ve hafif TBH'ndan sonra hastaları etkileyen ilerleyen nörokognitif sorunların kaynağı olabileceği artık kabul edilmektedir (24-26).

2.2.2 Sekonder beyin hasarı

Primer beyin hasarı, travma sırasında direkt olarak mekanik kuvvetlerin etkisiyle oluşmaktadır. Sekonder beyin hasarı ise travmadan bir süre sonra ortaya çıkan ve başlangıçtaki darbeye karşı vücudun sistemik fizyolojik cevabı sonucunda oluşan nöronal hasardır. Beyin travmasını takiben nöronal hasarın yayılmasında rol oynadığı düşünülen birçok biyokimyasal madde mevcuttur. Bu maddelerin salınımı hücrelerin membran bütünlüğünü bozarak ve iyon değişikliklerine yol açarak hasar görmüş olan beynin daha da kötüleşmesine yol açacak bir süreci başlatmaktadır. Bu maddeler glutamat ve aspartat gibi eksitatör aminoasitler, sitokinler ve serbest radikallerdir (27, 28).

Hipoksi ve hipotansiyon sekonder beyin hasarının oluşmasında temel rol oynamaktadır. Travmadan sonraki ilk 24 saat içinde serebral kan akımı, normal bireylerdekinin yarısına kadar inmekte ve iskemik sınırlara varmaktadır. Yapılan otopsilerde %80 oranında posttravmatik iskemik lezyonlara rastlanmıştır (22). Kafa travması sürecindeki olaylar genellikle aynı anda gerçekleşir ve intrakraniyal olarak birbirlerine karşı etkileri karmaşık olabilmektedir. Beyin perfüzyon basıncındaki düşüş, intrakraniyal basıncın artması veya sistemik arteriyel basıncın azalmasına bağlıdır. Sonuçta serebral dolaşım zarar görebilmektedir. Eğer sistemik hipoksi mevcutsa beyin oksijenasyonunun daha fazla tehlike altında olduğu söylenebilir (29).

Serebral kan akımı, 100 gram beyin dokusundan 1 dk'da geçen mililitre cinsinden kan miktarıdır ve beyinde bölgesel olarak değişmekle beraber, ortalama 50 mL/100 g/dk'dır. Serebral kan akımı 18 mL/100 g/dk'nın altına düşerse geri dönüşümsüz nöronal hasar ortaya çıkar. Serebral perfüzyon basıncı, kanı beyine iten güç olup, ortalama arteryel kan basıncı ve kafa içi basıncı arasındaki farktan oluşur [Serebral perfüzyon basıncı = ortalama arteryel kan basıncı - kafa içi basınç (KİB)]. Serebral vasküler direnç ise, kanın serebral arterlerden venlere doğru akımına karşı koyan güçtür. Bu da başlıca kan viskozitesine ve vasküler faktörlere bağlıdır (22). Serebral kan akımı değişikliklerinde serebral arterler, kapillerler,

venüller ve venler önemli rol oynarlar. Serebral kan akımı değerleri serebral vasküler direnç ile değişir. Direnci azaltan; kan Ph'ının düşmesi, serebral metabolizmanın artması, pCO2'nin artması ve pO2'nin 50 mmHg'nın altına inmesi gibi faktörler serebral vazodilatasyona neden olarak serebral kan akımını artırır. Direnci artıran; kan pH'ının yükselmesi, serebral metabolizmanın azalması ve pCO2'nin azalması gibi faktörler de serebral vazokonstrüksiyona neden olarak serebral kan akımını azaltır (30).

Akut kafa travmasında KİB'nın artması serebral kan akımını azaltır. Bunun sonucu olarak beyine gitmek üzere arkus aorta ve karotid arterlerden geçen kan miktarı azalır ve aortik ark ve karotid sinüste bulunan baroreseptörlerden kalkan impulslar bulbusta bulunan vazomotor refleksi uyararak kalpten pompalanan kanı artırır. Böylece sistemik arteryel kan basıncını artırarak serebral kan akımının artmasına neden olur ve beyin dokusunun beslenmesi için gerekli olan perfüzyon basıncını sağlamaya çalışır. 'Cushing refleksi cevabı' olarak bilinen bu koruyucu mekanizma klinikte ani tansiyon yükselmesi ile kendini gösterir.

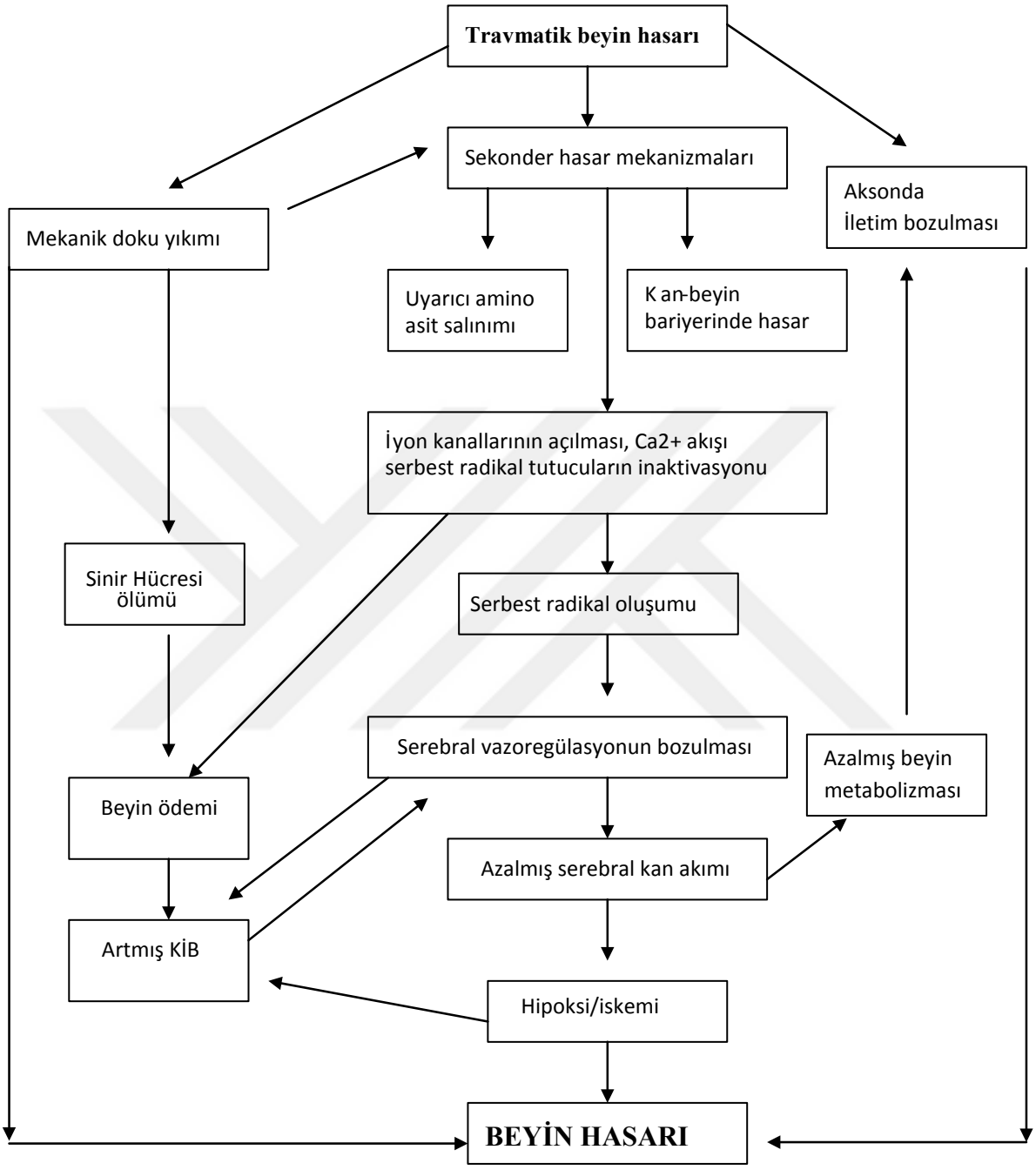
Akut kafa travmalı hastalarda, serebral dokuların kanlanması için gerekli olan perfüzyon basıncı 70 mm Hg'nın üzerinde olmalıdır. 50 mm Hg'nın altına indiğinde hipoksi, 40 mm Hg'nın altına indiğinde iskemi oluşur ve beyinde otoregülasyon bozularak irreversibl değişiklikler başlar (22, 31, 32).

Kafa travmasında prognozu etkileyen faktörlerden birisi de KİB'tır. KİB'ın normal değerleri erişkinlerde 0–15 mm Hg'dır. Erişkinlerde 20 mm Hg (1 mm Hg = 1.36 cm H2O) üzeri basıncın 5 dakikadan uzun sürmesi patolojik olarak kabul edilir. KİB arttığında herniasyon tabloları oluşur. KİB'ın normal sınırlarda tutulması, kafa travmalarında mortalite ve morbiditeyi düşürmektedir ve tüm tedavilerde KİB'ı azaltmak amaçlanmalıdır (22).

2.2.3 Sekonder hücre hasarında temel biyolojik mekanizmalar

Bütün kafa travmaları değişik süreç ve sonuçlara yol açabilecek birçok farklı patofizyolojik mekanizmaları başlatabilir (Şekil 1). Sekonder hasar saatler veya günler sonra gelişir ve kalsiyuma bağımlı hücre hasarı, nörotransmitter salınımı, ROT oluşumu, gen aktivasyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve inflamatuar yanıtı içerir (2).

Şekil 1: Sekonder hücre hasarında gelişen biyolojik mekanizmalar (33)



2.2.3.1 Kalsiyuma bağımlı hücre hasarı

Beyaz ve gri cevherdeki sekonder hasarın ilerlemesinde, anormal kalsiyum dengesi önemli rol oynamaktadır. Sinir hücre hasarında eksitotoksik hücre ölümü, programlanmış hücre ölümünün başlaması ve postsinaptik reseptör modifikasyonları ile ilişkilidir. Aksonal hasarda kalsiyum, aksonlar arasındaki bağlantının kesilmesi ile sonuçlanan olaylar kaskadını

başlatır. Hem sinir hem de aksonal hasarda fazla kalsiyum erken mitokondriyal şişme ile ilişkilidir. Mitokondri tarafından fazla kalsiyum tutulması kendi membranında depolarizasyona, membran permeabilite geçiş porlarının açılmasına ve programlanmış hücre ölümü faktörlerinin salınışının başlamasına neden olur. Mitokondriyal fonksiyonun kaybolması yalnız kalsiyum tamponlama kapasitesini elimine etmez, aynı zamanda ATP (Adenozintrifosfat) bağımlı iyon pompalarının bozulması ile sonuçlanan kalsiyum akışına katkıda bulunur. İmmünsupresif ve mitokondriyal membran permeabilite porlarının inhibitörü bir ilaç olan siklosporin A'nın aksonal patoloji ve nöronal hücre kaybını azaltması bu durumun önemini açıklayan bir örnek olarak verilebilir (34-36).

Beyaz cevherin sekonder hasarında önemli diğer mekanizma aksonal membranın sızdırır yani hücre dışı kalsiyumun geçişine izin verir hale gelmesidir. Aksonda kalsiyumun artması sonucu, ana yapısal proteinleri indirgeyen enzimler uyarılır ve aksonun şeklinin korunmasından ve transporttan sorumlu proteinler zarar görür. Tüm bu olaylar taşınmış proteinlerin birikimine, aksonal ödeme ve sonunda iletimin bozulmasına neden olur. Bir enzim ailesi olan kalpainler aksonal hasarın ana mediatörleri olarak oldukça ilgi görmektedirler. Bu enzimlerin farmakolojik antagonistleri hayvan modellerinde güçlü bir koruma sağladıkları için beyaz cevher hasarında potansiyel tedavi hedefi olabilirler. Kalpainler hücre içi kalsiyum düzeyinin düşük olması gibi normal fizyolojik durumlarda birçok düzenleyici fonksiyonu yerine getirirler. Patofizyolojik durumlarda ise yapı ve transporttan sorumlu aksonal proteinleri hedef alırlar (37-39)

2.2.3.2 Eksitotoksisite

Beyin travmasını takiben uyarıcı nörotransmitter glutamatın hücre dışı konsantrasyonu artar. Presinaptik membrana bağlı iyon pompalarının bozulması ve kalsiyum aracılı ekzositoz, nöronlardan depolarizasyona bağlı glutamat salınımına neden olur (40). Bu fazla nörotransmisyonun hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun toksik düzeyde artışına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Glutamat reseptörleri kimyasal agonistlerine duyarlılıklarına göre AMPA (α–amino–3–hidroksi–5–metil–4–isoksazolepropionik asit) veya NMDA (N–metil–D–aspartik asit) reseptörleri olarak sınıflandırılır.

AMPA reseptör iletiminde gerilmeye bağlı değişiklikler tanımlanmıştır. Benzer olarak kortikal nöronlara travmatik hasar AMPA reseptör agonistlerine artmış iletim cevabına yol

açar. Hasarlı nöronlarda daha fazla AMPA reseptör iyon iletimi, güçlü hipereksitabilite, hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonlarında artış görülür ve diğer toksik olmayan konsantrasyonlardaki sentetik glutamat reseptör analoglarına duyarlılık gösterirler (41). AMPA reseptör duyarsızlaşmasında azalma veya fazla duyarlılık olduğunda, travmadan sonra sinaptik glutamatın kısa süreli artışına bağlı nörotoksisite hipereksitabiliteye, epileptik aktiviteye veya kalsiyuma bağlı hücre şişmesine, hücre hasarı ve ölümüne yol açabilir.

AMPA reseptörleri 4 alt birime sahiptir (GluR1–4). GluR2 alt birimi eksik reseptörler kalsiyuma fazla geçirgendir (42). TBH'nı takiben hasar alanını infiltre ettiği bilinen proinflamatuar bir sitokin olan tümör nekrozis faktör alfa (TNF-α) belirgin olarak hücre kültüründe nöronlardaki sinaptik GluR2 düzeylerini azaltır ve GluR2 alt birimi eksik AMPA reseptörlerinin yüzey ekspresyonunu arttırır (43). Sinaptik glutamat ile birleştiğinde, hasarlı glia ve inflamatuar hücrelerden salınan TNF-α tarafından kompozisyonu yeniden düzenlenen AMPA reseptörleri, hasar sonrası kalsiyumun aşırı yüklenmesine yol açar. Bir inflamatuar mediatör ve glutamaterjik sinir iletimi arasındaki bu ilişki, AMPA reseptörlerine bağlı gecikmiş eksitotoksisite için yeni bir ışık tutmaktadır.

GluR2 alt birimi eksik AMPA reseptörleri çinkoya da fazla geçirgendir (44). Serbest çinko, çinko dengesini korumak için mitokondri tarafından alınır. Mitokondriye fazla kalsiyum alımına benzer olarak, mitokondriyal disfonksiyona, uzamış mitokondriyal membran potansiyel kaybına ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna yol açar. Bu etkiler GluR2 kaybının nöronal hücre hasarı ve ölümünde önemli bir basamak olduğunu gösterir.

AMPA reseptörlerine bağlı hipereksitabiliteye ek olarak, birçok TBH çalışmasında artmış NMDA reseptör aktivitesine dikkat çekilmiştir. Hücre içi NMDA reseptörünün reaktif oksijen ve nitrojen parçacıkları ile birleşmesi glutamaterjik uyarıdan sonra, başta kalsiyum iyonları olamak üzere ölümcül bir iyon akışına neden olur. Örneğin, nöronlarda nitrik oksit oluşumu NMDA reseptör aktivitesine bağlıdır. Eksitotoksisite boyunca mitokondri fazla serbest kalsiyumu tutup hücre içi kalsiyum dengesini korumaya çalışır. Mitokondrideki artmış kalsiyum düzeyleri süperoksit iyonunu içeren ROT'nin üretimini arttırır. Mitokondride oluşan süperoksit iyonlarının NMDA hiperaktivitesi sonucu oluşan NO ile reaksiyonu oldukça reaktif nitratlayıcı türler olan peroksinitritleri oluşturur. Deneysel TBH'nda artmış peroksinitritler ölümcül hücresel süreçler olan aminoasitlerin aromatik halkalarının nitratlanmasına, lipid peroksidasyonuna, ve DNA kırılmalarına neden olur (45, 46).

Travma sonrası NMDA reseptörleri ve nöronal NO oluşumu arasındaki fiziksel ilişkideki düzensizlik beyin hasarının tedavi girişimlerine ümit vermiştir. Reseptör kompleksi ve yapısal proteinler arasındaki etkileşim engellenerek, travmanın uyardığı peroksinitrit ve NO oluşumu in vitro olarak başarıyla azaltılmıştır (47).

2.2.3.3 İnflamasyon

SSS'nin dış uyarılara karşı yanıt verebildiği son 20 yıldır düşünülmektedir. Bu zamana kadar beyin dokusu, lenfatik sistemi olmadığı ve kan beyin bariyeri hücreler ve çözünmüş maddelere karşı geçirgen olmadığı için "immünolojik açıdan ayrıcalıklı" olarak değerlendirilmekteydi. Yapılan çalışmalar, TBH'ndan sonra KBB'den immün hücrelerin özellikle de lökositlerin göçü olduğunu göstermiştir. "İmmünolojik açıdan ayrıcalıklı" olma teorisinin temelinde olan KBB'nin geçirimsizliğinin bozulması, artık travmadan sonraki immünolojik olaylarda kolaylaştırıcı faktör olarak düşünülmekte ve günümüzde iç doku bileşenleri ile devam eden nöroinflamasyon olarak adlandırılmaktadır. SSS'nin kalıcı hücreleri olan astrosit ve mikroglia, düşük düzeyde klas 1 ve 2 majör histokompatibilite kompleksleri eksprese etmenin yanında sitokin, kemokin ve onların reseptörlerini de sentezleyebilir (48, 49).

TBH, son zamanlarda SSS'nin nöroinflamatuar bir hastalığı olarak değerlendirilmektedir. Beyinde erken inflamasyonun göstergesi aktive mikrogliaların, nötrofillerin ve ödemin bulunmasıdır. Mikroglia, immün reaktif denetleyici bir hücre gibi davranır ve patojenlerin tutulması, konakçı savunması ve doku onarımı için gereklidir (50). Travmayı takiben mikroglia periferik makrofajdan morfolojik ve immunolojik olarak ayırt edilemez hale gelir. Sık kullanılan nöroinflamasyon modellerinde mikroglianın interlökinler ve ROT gibi proinflamatuar moleküllerin ana kaynağı olduğu bildirilmiştir (51). Buna karşılık astrositlerin, anjiogeneze yardım eden büyüme faktörlerini salgılayarak, enerji kaynağı azalmış nörona glutamin ve laktat gibi alternatif enerji kaynakları sağlayarak ve yeni oluşan nöronların farklılaşmasını destekleyerek yardımcı rolü olduğu kabul edilmiştir. Ne tamamıyla nörotrofik ne de nörotoksik bir hücre olan mikroglianın sinir büyüme faktörü ailesinin nörotrofinlerinin de kaynağı olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda astrositlerin glial skar oluşumunda rolü olduğu bilinmektedir ve nöronların canlılığı ve aksonal rejenerasyonda tartışmalı bir faktördür (52, 53).

Deneysel fokal hasarda immün sistemin serebral cevabı tanımlanmışsa da, TBH sonrası ilk 24 saatte nötrofilik infiltrasyon ve 3-5 günde makrofajlarla takviye edilen inflamatuar sürecin gerçekleşmesi aslında beyin kontüzyonuna bağlıdır (54). Buna karşılık deneysel diffüz aksonal hasarda, sistemik dolaşımdan akut nötrofil cevabı olmadan astrosit ve mikroglianın immünaktivasyonu ve periferik makrofajların infiltrasyonu gösterilmiştir. Bu immün reaksiyonlardaki farklılık KBB'deki değişik derecelerdeki bozulmalardan ya da kişinin gösterdiği immün yanıttan kaynaklanabilir. Birçok deneysel TBH araştırması fokal hasar modellerine odaklanmakla birlikte DAH'daki immün yanıt son yıllarda aydınlanmaya başlamıştır (55).

Çeşitli immün ve immün olmayan hücrelerden sistemik ve intratekal üretilen sitokinler, periferden hematojen hücrelerin takviyesi, serebrovasküler geçirgenliğin artması ve SSS'deki kalıcı hücrelerin aktivasyonunun devam etmesi ile nöroinflamasyona aracılık ederler (56). Bu mediatörler yalnızca nöroinflamatuar yanıtın yayılmasından sorumlu değil aynı zamanda onun varlığının bir göstergesidir. Sitokinler hasarla eş anlamlı değildir. Nöroprotektif ve nörotrofik etkileri gösterilmiş olmakla beraber sinir gelişimi ve normal SSS fonksiyonlarının sürdürülmesi için gerekli oldukları da iyi bilinmektedir (48).

İnterlökin 1 (IL–1)'in zararlı etkileri, fokal hasarda mikroglialardan, diffüz hasarda nöronlar ve travmanın erken dönemlerinde açığa çıkan reaktif astrositlerden eksprese edilen IL–1 reseptörü aracılığı iledir (55, 57). IL–1'den kaynaklanan hasar, yalnız sitokinin kendisine bağlı değil daha çok TNF-α, siklooksijenaz 2, fosfolipaz A2 ve prostaglandinleri içeren diğer proinflamatuar sitokinleri aktive etmesi, onlarla sinerjistik etki göstermesi ve glutamat aracılı eksitotoksisiteyi artırmasına bağlıdır. TBH'nda IL–1 başlıca proinflamatuar ve nörotoksik molekül olsa da astrositlerdeki nöron büyüme faktörünü uyarması ile nöroprotektif özelliğe de sahiptir (58). IL–1 ile devam eden nöroinflamasyonun kötü prognoz ile ilişkili olduğu deneysel olarak gösterilmiştir. TBH olan hastalardan serebrospinal sıvılarında yüksek IL–1 düzeylerine sahip olanlarda Glaskow Koma Skalası daha düşük bulunmuştur (59). TNF-α, IL–1 gibi, TBH çalışmalarında sadece proinflamatuar bir sitokin olarak düşünülürken, son yıllarda olası nöroprotektif özellikleri ortaya çıkmaya başlamıştır. TNF-α'nın mikrogliaların üretimini ve hipertrofiye olmalarını arttırdığı, bu hücresel kaynaklardan parakrin etki ile kendi üretimini attırdığı bilinmektedir. Ayrıca özellikle diffüz hasarda önemli olan periferik dolaşımdan lökosit toplanmasını, KBB'nin bozulmasına yol açan proteolitik enzimlerin salınımını ve astrositik yeniden yapılanmanın ve nöronal

rejenerasyonun inhibisyonunu destekler. Fokal hasar modelleri, TNF-α'nın etkilerinin yayılan özelliğini göstermektedir. Örneğin TNF-α ekspresyonu fokal hasarlı farede kontralateral korteks ve hipokampusta artmış olarak bulunmuştur; kontrollü kortikal çarpma modellerinde ise pik serebral ödem olmadan önce en yüksek düzeyde saptanmıştır. Buna karşılık diffüz hasar modelleri beyin dokusunda ekspresyon olmadan 24 saat içinde serum TNF-α düzeylerinin arttığını göstermiştir. Bu da diffüz hasarın çok farklı immün yanıtlara neden olduğu tartışmasına yol açmıştır (60, 61).

İnterlökin 6 (IL-6), nöroinflamasyonda sitokinlerin 'dual rol'üne prototiptir. Periferik ve santral olarak akut faz reaksiyonundaki rolü iyi bilinmektedir ve endotelden nöronlara kadar geniş bir kaynağa sahiptir. Spesifik antiinflamatuar özellikleri, TNF-α'nın baskılanması ve IL-1 (İnterlökin-1) reseptörlerinin indüksiyonunu içerir. Fakat nöroprotektif özellikleri nöron büyüme faktörünün üretiminin uyarılmasına, oksidatif stres ve glutamat aracılı toksisiteye karşı savunmayı ve revaskülarizasyonu arttırmasına bağlıdır. Nöronlardan, astrositlerden ve mikroglialardan IL-6 üretimi SSS'de akut faz reaktanlarının ana kaynağıdır ve astrositlerin aktivasyonları IL-6'ya bağımlıdır. Reaktif astrogliosis, glial fibriler asidik protein eksprese eden astrositlerle belirlenir ve TBH'nın hücresel yanıtında tartışmalı bir konudur. Literatürde glial skar oluşumunu ve proinflamatuar sitokin salınımını sürdürdüğü veya bozulmuş KBB'nin onarımına yardım ettiği kabul edilmektedir. DAH modelinde reaktif astrogliosis, IL-6 mRNA upregülasyonu ile birlikte ilk 2 saat içinde başlar ve travmadan sonra 2 hafta devam eder (62-64). İnterlökin-10 (IL-10) ve transforme edici (dönüştürücü) büyüme faktörü beta (TGF-β), immünsüpresif etkileri olan antiinflamatuar sitokinlerdir ve etkilerini TNF-α, IL-1 ve interferon-γ gibi proinflamatuar sitokinleri inhibe ederek gösterirler. IL-10, santral nöroinflamasyonu azaltırken politravmalı hastalarda periferik olarak immunosüpresyona yol açar. Multitravmalı hastalarda bu çok önemlidir, çünkü sistemik antiinflamatuar yanıtlar klinik olarak enfeksiyona yatkınlığı arttırmak gibi sekonder beyin hasarına katkı sağlayabilir. Bunun dışında antiinflamatuar sitokinin kendisi nöroinflamasyona bağlı sekonder beyin hasarını azaltabilir. Sitokinlerin üretiminin beyin dokusunda artması lokal sonucu iyileştirirken, sistemik olarak üretilmesi genel sonucu kötü etkileyebilmektedir. Bu da intraserebral ve periferal immunolojik olaylar arasındaki ilişkinin dikkat çekici bir özelliğidir. Lökosit iletişimi ve göçündeki rolleri ile bilinen kemokinler, TBH'dan sonra periferik lökositlerin göçünü başlatırlar. Yapılan çalışmalarda kemokinlerin intraserebral üretimi gösterilmiştir (49, 65).

Kemirgenlerde makrofaj inflamatuar protein-2 olarak bilinen IL-8, nötrofiller için güçlü bir kemotaktik faktördür ve proteazları indükleyerek sekonder hasara aracılık etiği bildirilmiştir. Şiddetli kafa travması geçiren hastalarda ilk 6 saat içinde serebrospinal sıvıda IL-8'in üretiminin arttığı gösterilmiştir. IL-8'in, kemotaksis dışında, KBB disfonksiyonunu ve nöron büyüme faktörünün üretimini uyarmak gibi etkileri de vardır (66).

Monosit kemoatraktan protein–1 kan kaynaklı monositlerin göçü için çok önemlidir. Diffüz hasar modelinde monosit kemoatraktan protein-1 proteininin artışı, hasardan sonra 4-16 saat içinde gösterilmiş, ancak immünhistokimyasal inceleme ile monosit/makrofajların perivasküler görünümüne benzer olarak makrofaj inflamatuar protein-2 ve akut nötrofilik infiltrasyon görülmemiştir (55). Bu nedenle kemokin salınım şekli nöroinflamasyonun bir yönüdür ve farklı tip primer beyin hasarı ile ilgili hücresel yanıtları düzenlediği düşünülmektedir.

Günümüzde artık SSS'nin periferik immün infiltrasyona reaktif bir yapı olmadığı ve santral immünoaktivasyonun periferik immünolojik olayları etkilediği düşünülmektedir.

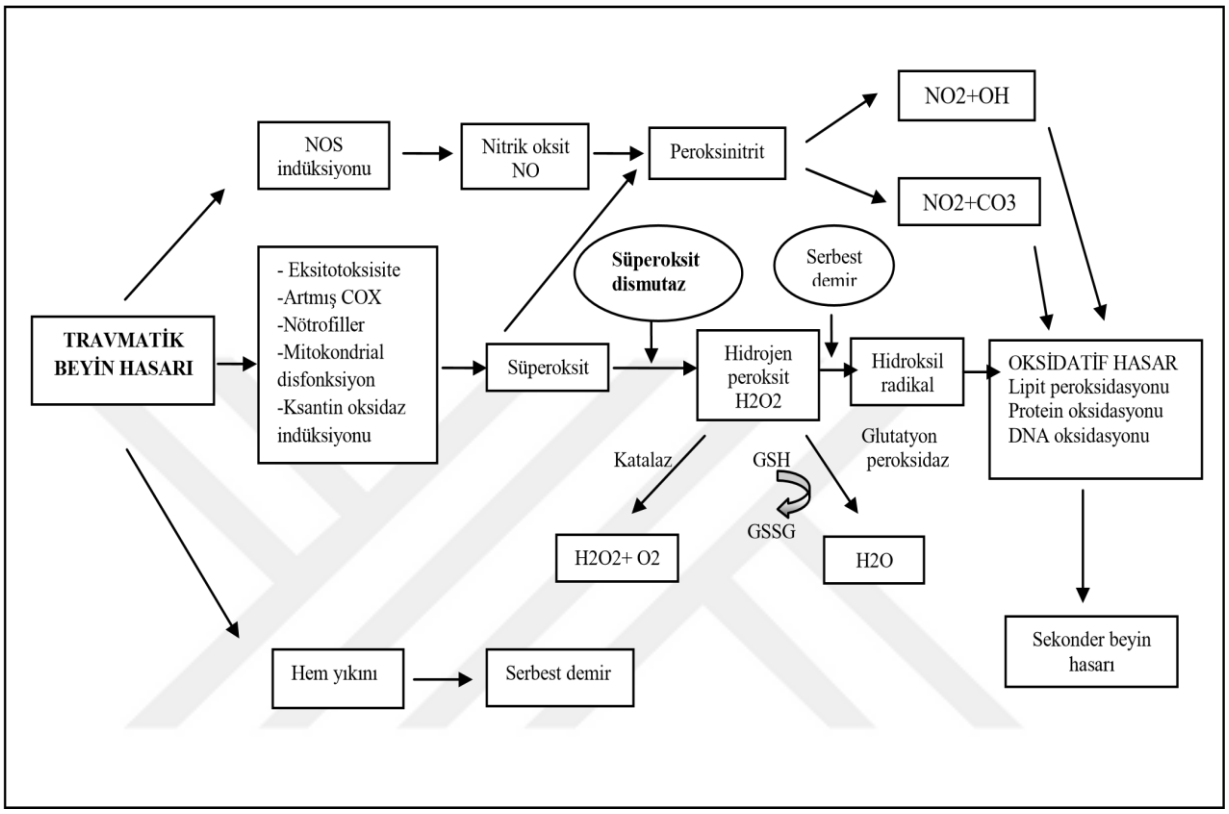
2.2.3.4 Oksidatif hasar

Oksidatif hasar TBH'da gelişen sekonder hasarın önemli bir bileşenidir (Şekil 2). Beyin dokusu aşağıda sıralanan birçok özelliği nedeni ile oksidatif hasara daha duyarlıdır.

1. Beyin dokusunu oluşturan hücrelerin membranları lipid bakımından diğer organların hücrelerinden daha zengindir.
2. Nöronların membran/stoplazma oranları diğer hücrelere göre daha büyüktür, yani oran membran yönüne doğru kaymıştır.
3. Oksidatif metabolik aktivite oldukça yüksektir.
4. Oksidan stresten koruyucu enzimler olan antioksidan enzim aktiviteleri düşüktür.
5. Spesifik nörokimyasal reaksiyonlarla endojen olarak fazla miktarda ROT üretilmektedir. Bunun en iyi örneği dopamin oksidasyonudur.
6. Periferal hasara yatkın olan uzamış akson morfolojisi ile uyumlu nöronlara özgü özellikleri vardır.
7. Nöronların son bölünmesini tamamlamış olması ve dolayısıyla bölünememesi hasara uğrayan hücrenin yerine yenisinin gelememesi sonucunu doğurmaktadır, bu da dokunun hasara daha yatkın hale gelmesine neden olmaktadır.

Bütün bu özellikleri dolayısıyla oksidatif strese diğer doku ve organlardan daha yatkın olan beyin dokusunun korunma ihtiyacı diğer dokulardan daha fazladır (67).

Şekil 2: TBH'dan sonra oksidatif hasar mekanizmaları (68).



Serbest radikaller, atomların ve moleküllerin yapısında elektronlar çiftler halinde bulunurlar. Her çift, nukleus etrafındaki boşlukta hareket eder. Serbest radikal, bir ya da daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren yapılar olarak tanımlanır. Çiftleşmemiş elektronlar atom veya molekülün kimyasal reaktivitesini değiştirir ve onu daha reaktif hale getirirler. Reaktif serbest radikaller, radikal olmayan pek çok molekül ile de reaksiyona girebilirler. Böylece serbest radikal zincir reaksiyonu yoluyla yeni radikallerin ortaya çıkmasına neden olurlar (Ör: Lipid peroksidasyonu) (69, 70).

Normal şartlar altında serbest oksijen radikal (SOR) üretimi ve yıkımı arasında bir denge vardır. İskemi yaratan olaylarda (ödem, damar hasarı, damar oklüzyonu) SOR'ların üretimi artmaktadır. Serebral iskemide rol oynayan SOR'lar arasında; süperoksit (O2-), nitrik oksit (NO), hidrojen peroksit (H2O2) ve hidroksil radikali (OH-) sayılabilir.

Serbest radikallerin patolojik etkisiyle iki yoldan hücre hasarı gelişir:

1. Lipidlerin peroksidasyonu ile hücre zarının geçirgenliği bozulur.
2. Oluşan serbest radikaller çevrelerindeki zincirleme reaksiyonun yayılmasıyla daha uzaklardaki biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek hasar oluşturur.

Serbest radikallerin oluşturduğu patolojik süreç; lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre membranının geçirgenliğinin bozulmasına yol açar. Bu sürece bağımlı ve bağımsız oluşan zincirleme reaksiyonlar ile hücrenin diğer organelleri içerisinde bulunan doymamış yağ asitleri, bazı enzimlerin yapısına giren proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler de hasar oluştururlar (71, 72).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile sona erer. Peroksidasyon, membranın lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile zar işlevinin bozulması, oluşan serbest oksijen radikallerinin hücrenin diğer bileşenlerine etkisi ile vasküler geçirgenlikte artma, enflamasyon, ödem, kemotaksis ile sekonder hücre hasarına yol açar. Lipid peroksidasyonunun son ürünü malondialdehid (MDA)'dir (71, 73).

2.3 MANNİTOL

Hipertonik ve hiperosmolar bir ajan olan mannitolün molekül ağırlığı 182 dalton olup, altı karbonlu ve altı hidroksil içeren basit bir şekerdir. Mannitol 1940'larda glomerüler filtrasyon hızını ölçmek için kullanılmış, 1962'de ise kafa içi basıncının azaltıcı etkisinin en az hipertonik üre kadar olduğu gösterildikten sonra nöroşirürjide kullanımı yaygınlaşmıştır. Mannitol vücutta metabolize edilmez ve plazma proteinlerine bağlanmaz. Travmatik beyin ödeminin tedavisinde en fazla kullanılan ajandır. Kafa içi basıncı azaltmak için kullanılır. Plazma ve beyin arasında bir ozmotik basınç farkı oluşturarak ödem sıvısının beyinden plazmaya geçişini sağlar. Kafaiçi basıncı düşürücü etkisinin başlaması 1-5 dakika arasındadır. Maksimum etkisi 20-60 dakikadır. Mannitolün 0,25 gr/kg dozunun bazı hastalarda kafaiçi basıncı (KİB) azaltmada yeterli olduğu gösterilmiştir. Ancak doz 1 gr/ kg'a kadar çıkılabilir. Önceki yüksek doz daha sonraki dozun etkinliğini azaltır (74, 75).Bunun için en ufak etkin dozu kullanmak gerekir. Mannitolun etkinliği lup üzerinden etki eden diüretiklerin kullanımı ile birleştiği zaman sinerjik olarak artar. Serum ozmolaritesi 320 mOsm/L olduğu sürece etkilidir. Bu düzeyin üzerinde böbrek yetmezliği ve sistemik asidoz meydana gelebilir (76, 77).

Mannitol diüretik etki mekanizması şu şekildedir: Mannitol glomerülerden süzüldükten sonra proksimal tübüllerden geçerken reabsorbe edilmez, filtratın osmolaritesinin

yükselmesine ve sodyum konsantrasyonunun düşmesine neden olur, böylece suyun reabsorpsiyonunu azaltır; su ile birlikte Na ve Cl iyonlarının reabsorpsiyonu da azalır. Ancak mannitolün proksimal tübülden henle kıvrımının inen koluna geçen su ve Na miktarında az bir artışa yol açtığı bulunmuştur. Bu gözlem, ozmotik diüretiklerin primer etki yerinin proksimal tübul olduğu iddiasını doğrulamaz. Mannitol, lümende henle kıvrımının çıkan kalın kolunun ötesine geçen sodyum ve klor miktarında belirgin artma yapar; ayrıca büyük kısmı bu segmentte absorbe edilen Magnezyumun atılımını arttırır. Bu durum, ozmotik diüretiklerin bilinmeyen bir mekanizma ile henle kıvrımının çıkan kalın kolunu etkilediğini ve primer etki yerinin orası olduğunu düşündürmektedir. Diüretik etkiden sorumlu diğer bir olay, böbrek medullasında interstisyumun hipertonikliğinin ozmotik diüretikler tarafından azaltılmasıdır; bunun nedeni osmotik diüretiklerin böbrek kan akımını artırmaları olabilir. Söz konusu olan medullanın hipertonikliğini düşürüp osmotik gradiyenti azalttığı için henle kıvrımının inen kolunda ve toplayıcı tübüllerde su reabsorpsiyonunu yavaşlatır. Osmotik diüretikler dokularda, intrasellüler kompartmandan ekstrasellüler aralığa ve oradan dolaşım içine su çekilmesine neden olurlar; bu durum hipervolemiye, plazma proteinlerinin dilüsyonuna ve kanın viskozitesinin düşmesine yol açar. Bu nedenle ve hipervolemi sonucu kalp debisini artırmalarına bağlı olarak renal kan akımını artırdıkları için glomerüler filtrasyon hızını artırırlar. Öte yandan hipervolemi, kalp yetmezliğine eğilimi bulunan olgularda sorun yaratabilir. Bazen akut akciğer ödemi oluşturdukları bildirilmiştir.

Osmotik diüretikler her ne kadar sodyum reabsorpsiyonunu ikincil olarak ve belirgin şekilde bozarlarsa da sodyum klorür atılımında yaptıkları artma fazla olmaz. Fraksiyonel sodyum atılımını ancak % 2'ye çıkarabilirler. Bu ilaçlar vücuttan, tuzdan ziyade suyun atılmasını artırırlar.

Osmotik diüretikler böbrek dışı yollardan aşırı sıvı kaybına bağlı olarak gelişen oligüriyi başarılı bir şekilde düzeltebilirler. Ancak oligüri, akut veya kronik böbrek yetmezliğine ve özellikle akut tübüler nekrozda olduğu gibi glomerül ve tübüllerin lezyonuna bağlı ise etkinlikleri düşüktür; bu durumda ilk tercih olan furosemid ile birlikte uygulanmaları gerekebilir (75).

2.3.1 Mannitolün kafa içi basıncını düşürücü etkisini açıklayabilecek olası mekanizmalar

a) BOS yapımını azaltıp, reabsorpsiyonunu arttırıp, intraventiküler volümü azaltarak.

b) Ekstravasküler aralıktan intravasküler aralığa su çekerek beyin su içeriğini azaltarak.

c) Kan viskozitesinin azalmasıyla vazokonstrüksiyon oluşturup, beyin kan volümünü azaltarak.

d) Beyin arter ve venlerindeki vasküler basıncı değiştirerek.

e) Hemodinamik açıdan vazodilatatör bir ajan olduğundan beyin kan akımında otoregülasyonla hem direkt hem de indirekt değişikliğe yol açarak (78, 79).

İntrakraniyal basıncın yükseldiği durumlarda, mannitol uygulanması beyin interstisyel sıvısı ve BOS'a pek dokunmadan plazmanın osmotik basıncını yükseltir. Böylece bu ortamlar arasında yükseltilmiş olan osmolalite farkı intrakraniyal alandan dolaşıma su çekilmesine yol açar. Bunun için serum osmolalitesinde 5-10 miliosmol/kg'lik bir artma yapmanın yeterli olduğu bulunmuştur. Beyin ödemini düzeltirken, plazma osmolalitesini yükseltmelerine ilave olarak diüretik etkileri ve ayrıca hemodilüsyon sonucu kanın akışkanlığını (reolojisini) artırarak beyine oksijen sağlanmasını artırmaları ve kompansatuvar (oksijen gelişinin artmasına bağlı) vazokonstrüksiyon yapmaları da rol oynayabilir. Kandan elimine edilmelerinin ardından BOS'taki konsantrasyonları bir süre plazmadakinden fazla olabileceği için paradoksik intrakraniyal basınç yükselmesi yapabilirler. Ancak BOS'a pek geçmediklerinden oradaki konsantrasyonları fazla olmaz. Dozlarının yinelenmesi diüretik etkilerini azaltır (75).

Mannitolün osmotik gradient oluşturabilmesi için kan beyin bariyerinin intakt olması gereklidir. Eğer beyin dokusunda küçük lokalize bir bölgede kan beyin bariyeri bozulsa bile, buradan uzaktaki sağlam kan beyin bariyerinde ödem sıvısının azalmasına ve kafa içi basıncının düşmesine yardımcı olabilmektedir. Kafa travmalı olgularda otoregülasyonun sağlam olduğu durumda mannitolün kafa içi basıncını düşürdüğü, otoregülasyonun bozuk olduğu durumda kafa içi basıncında az bir düşüşe neden olduğu belirtilmektedir (80).

Mannitolün veriliş hızı da oldukça önemlidir ve 10-15 dakikadan daha kısa sürede verilmesi önerilmemektedir. Mannitolün hızlı verilmesi sonucunda ortalama arteryel basınçta %7'lik bir düşme olduğu, başka bir çalışmada ise klinik dozlarda %20 mannitolün veriliş hızı ve dozuna göre ortalama arteriyal basınçta %23, total periferik dirençde ise %38 azalma

yaptığı gösterilmiştir ve neden olarak da hiperosmotik solusyonların iskelet kaslarında yaptığı vazodilatasyon ileri sürülmüştür (81).

%20 mannitol 0,5-2 gr/kg yükleme dozuyla intrevenöz olarak verilir. Bolus uygulama ile kafa içi basıncı düşürücü etkisinin başlaması 1-5 dakikada ortaya çıkar; en yüksek etki 20-60. dakikalar arasındadır. %20 mannitolün idame tedavisinde doz 0,25-1 gr/kg arasında değişir ve 2 gr/kg'dan yüksek dozlarda önerilmez. İdame tedavisinde genel olarak sürekli verilmekten ziyade küçük boluslar şeklinde verilir. Total doz 6 saatlik intervallerle verilir. Yüksek dozda mannitol kafa içi basıncında üniform bir düşüş sağlamayacağı gibi, intravasküler ve kardiyak yüklenmeye, elektrolit ve asit baz bozukluğunun yanı sıra, pontin hemoraji ve myelin bozulmasına neden olabilir. Ayrıca yine yüksek dozlarda kullanıldığında kan beyin bariyerini bozarak ya da bozulmuş olan kan beyin bariyerini geçerek beyinde konsantrasyon gradienti oluşturup, kafa içi basıncında rebound artışa yol açabileceği belirtilmektedir (75, 82, 83).

Beyin ödeminin azaltılmasında mannitol kullanımının yararı büyüktür. Mannitol vazojenik, sitotoksik ve intertisyel ödemden kaynaklanan ödem sıvısını azaltmada etkindir. Tek veya muhtelif dozda mannitol uygulamasının geç etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, mannitol infüzyonundan sonra beyin dokusunda mannitolün birikebildiğini ve bu birikimin travmatize ve ödemli beyinde daha fazla olabileceği gösterilmiştir. Dolayısı ile kafa içi basıncında rebound artış olabileceği, bu nedenle tekrarlanan doz uygulamasında dozun düşük tutulması ve bolus uygulamalarda da etkiyi oluşturabilecek en düşük doz önerilmektedir (74, 82, 83).

Mannitolün güçlü diüretik özelliğinden dolayı intravasküler hacimde azalma ve hipotansiyon görülebilir. Hipotansiyona bağlı sekonder iskemik hasar gelişebileceğinden hipovolemiden kaçınacak sıvı replasmanı yapılmalıdır. Mayi kısıtlaması ile birlikte uzun süre mannitol kullanılması elektrolit kaybı ve hiperosmolalite ile sonuçlanabilmektedir. %20 mannitol sudaki solusyonunda; her 100 ml'sinde 20 gr mannitol ve 100 ml enjeksiyonluk su içerir. Kardiyovasküler sistemin durumu, mannitol uygulanımından önce mutlaka dikkatlice değerlendirilmelidir. Mannitol uygulanımı sırasında ise renal fonksiyon, idrar akımı, sıvı dengesi, serum sodyum ve potasyum düzeyleri izlenmelidir. Uygulama bölgesinde lokal ödem ve cilt nekrozuna neden olabilir. Elektrolit içermeyen mannitol solüsyonları kanla birlikte aynı anda verilmemelidir. Hastaya mannitolle birlikte aynı anda kan da vermek gerekiyorsa, psödoaglütinasyondan kaçınmak için her 1 litre mannitol solüsyonuna en az 20 mEq sodyum

eklenmelidir. Solüsyonun gebelik ve laktasyonda kullanımı ile ilgili bilinen herhangi bir özel uygulama bildirilmemiştir. Çok gerekli durumlar dışında gebelik sırasında kullanılmamalıdır. Anne sütüne geçişi ile ilgili yeterli bilgi yoktur (74, 82, 83).

2.3.2 Mannitolün yan etkileri

Mannitol tedavisi sırasında görülen en önemli yan etkiler, sıvı ve elektrolit düzensizlikleridir. Özellikle yetersiz idrar çıkışı ya da yüksek dozların hızla verilmesi mannitol birikimine neden olur. Dolaşımdaki aşırı yüklenme sonucu pulmoner ödem, konjestif kalp yetmezliği, akut renal yetersizlik, su intoksikasyonu, kardiyak rezervi düşük hastalarda yetmezlik oluşabilir. Mannitol ile oluşturan diürez sonucunda, bazı hastalarda asit baz dengesinin bozulması ve solunum depresyonu oluşabilir.

Santral sinir sistemi: Özellikle asidozlu vakalara yüksek doz mannitol uygulanması sonucu, ilaç kan-beyin engelini aşar ve beyin omurilik sıvısının pH'sının idame ettirebilmesini engelleyebilir. Rebound olarak kafa içi basıncı artmasına neden olabilir.

Diğer yan etkiler: Asidoz, ağız kuruluğu, susama, başağrısı, bulanık görme, ürikozüri, bulantı, titreme, kusma, kan basıncı değişiklikleri, taşikardi, allerjik reaksiyonlar (ürtiker, anaflaksi), anjina benzeri göğüs ağrıları gibi yan etkiler oluşabilir (75).

2.4 SİLDENAFİL SİTRAT

Sildenafil sitrat, fosfodiesteraz tip 5 enzim inhibitörüdür ve cGMP'yi artırır. 1980'li yıllarda antianjinal olarak denenirken ereksiyon yan etkisi nedeniyle dikkati çekmiş ve erektil disfonksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Cinsel uyarı nitrik oksitin lokal seviyede artışına neden olmaktadır. Sildenafil sitrat PDE-5'i inhibe ederek korpus kavernozumdaki cGMP düzeyini arttırır ve bu da vazodilatasyona ve kan akımında artmaya neden olur. PDE-5 aynı zamanda düşük seviyede diğer dokularda da bulunmaktadır. Trombositlerin trombus oluşturmasını inhibe eder ve arter ile venlerin dilatasyonuna neden olur. Bu etkilerine bağlı olarak sildenafil çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. En yaygın kullanıldığı yerlerden biri vazodilatasyon amacıyla pulmoner hipertansiyondur. Antianjinal ve vazodilatatör etkisi olduğu kadar kardiyovasküler yan etkisi de bulunmaktadır. Etkin vazodilatatör etkisine rağmen insanlarda miyokardiyal kontraktilitede artış veya aritmi gibi yan etkilerinde artış saptanmamıştır. Sildenafil sitrat kullananlarda miyokardiyal infarktüs oranında değişiklik rapor edilmemiştir. Bununla birlikte klinik kullanımda hipotansif etkisine

bağlı olarak oksijenasyonda azalma ve sistemik hipotansiyon, hayvan deneylerinde ise sistemik aortik kan basıncında artma, sağ karotid ve segmental renal arterlerde maksimal velosite azalması görülmüştür. Sildenafil sitrat fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) enzim inhibitörü olup flep yaşayabilirliğini arttırabilmek amacı ile deneysel olarak kullanılmıştır (84).

Erektil disfonksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) enzim inhibitörü olan sildenafil sitratın santral sinir sistemi üzerine etkisinin incelendiği pek çok çalışma yapılmıştır. Diomedi ve arkadaşları sildenafil ile yaptıkları çalışmada PDE-5 inhibitörlerinin subaraknoid kanamanın indüklediği vazospazmda tedavi amaçlı kullanılabileceğini belirtmişlerdir (8).

Li Zhang ve arkadaşları ratlarda embolik atak sonrası fonksiyonel geri dönüş üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada felç sonrası farelerde sildenafil sitratın nörolojik fonksiyon iyileşmesini hızlandıracağını göstermişlerdir. Sildenafil sitrat verilmesi ile kortikal cGMP seviyesi arttırılmış; anjiogenez ve sinaptogenez artması ile nörolojik iyileşmede ilerleme kaydedilmiştir (9).

Serarslan ve arkadaşları ise deneysel spinal kord yaralanma modelinde antioksidan enzim aktiviteleri, nitrik oksit ve MDA seviyelerine bakarak başka bir PDE-5 inhibitörü olan Tadalafil'i metilprednizolon ile karşılaştırmış ve nöroprotektif etkileri olduğunu göstermişlerdir (10).

Kıymaz ve arkadaşları geçici spinal kord iskemi modelinde sildenafilin nörolojik hasarı azalttığını ve koruyucu etkilerinin olduğunu göstermişlerdir (85).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 DENEY HAYVANLARI

Hepsi altı-sekiz haftalık, ortalama ağırlıkları 300 - 400 gram olan, daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış 28 adet Wistar türü Albino suşu dişi sıçan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarından (DEÜTFDHAL) temin edildi. Sıçanlar deney öncesinde ve deney esnasında oda sıcaklığında (20 ± 2 ºC) ve 12'şer saatlik aydınlık / karanlık ortamlarda 1 hafta süreyle suya serbestçe ulaşmaları sağlanarak, standart pelet sıçan yemi ile beslenerek izlendi ve ortama uyum sağladıkları gözlendi.

Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 12.01.2016 tarih ve 59/2015 protokol nolu etik kurul onayı alındı.

3.2 ÇALIŞMA GRUPLARI

Sıçanlar rastgele seçilerek, her biri 7 (yedi) sıçan içeren dört grup oluşturuldu.

Grup I, Sham (n: 7): Anestezi uygulanıp travma yapılmayan grup.

Grup II (n: 7): Travma yapılıp, tedavi uygulanmayan grup.

Grup III (n: 7): Travma yapılıp, tedavide mannitol %20'lik 1 gr/kg, intraperitonal uygulanılan grup.

Grup IV (n: 7): Travma yapılıp, tedavide sildenafil sitrat 10 mg/kg, intraperitonal uygulanılan grup.

3.3 SIÇANLARA ANESTEZİ UYGULANMASI

Anestezi için Xysilazine HCL (Rompun®-Bayer İlaç San. Türkiye) 5-10 mg/kg intraperitoneal ve Ketamin 50 mg/kg (Ketalar®-Eczacıbaşı İlaç San. Türkiye) intraperitoneal kullanıldı. İşlemin 30 dakikayı aştığı durumlarda ketamin enjeksiyonu 5 mg/kg intraperitoneal olarak tekrarlanması planlandı fakat çalışma sırasında bu uygulamaya gerek olmadı.

3.4 TRAVMA ALETİ

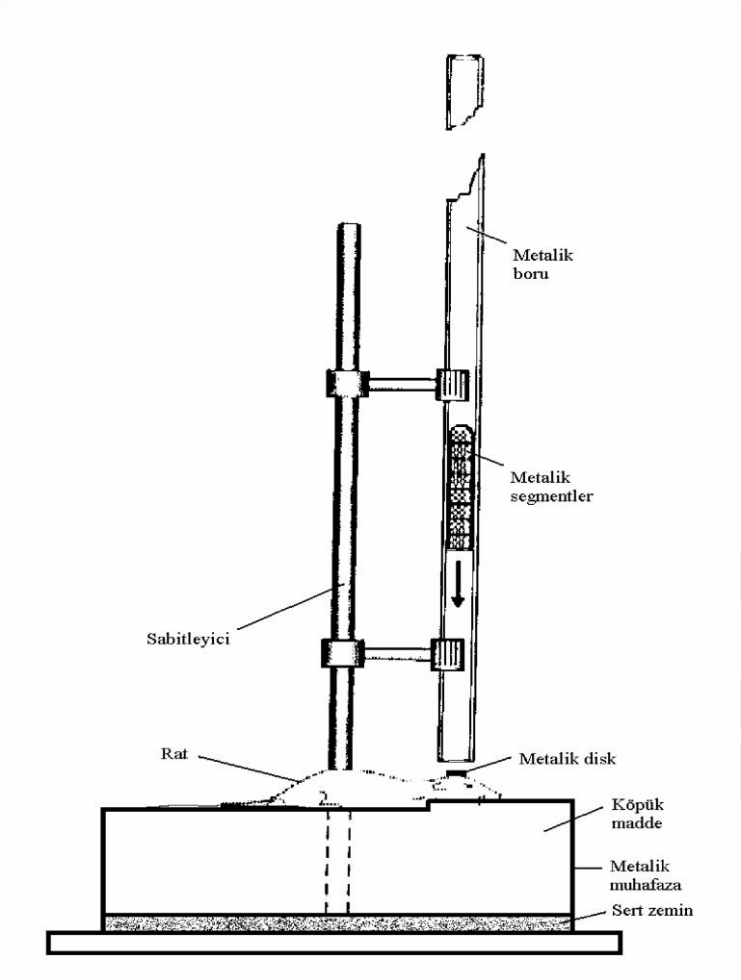
Deney esnasında ratlarda ağır kafa travması oluşturulurken Marmarou ve arkadaşlarının 1994 yılında geliştirdiği travma modeli kullanılmıştır (86). Travma aletinin ana prensibi metallerden yapılmış 450 gram ağırlığın yer çekiminin etkisi ile metal boru

içerisinden minimum sürtünmeyle ratların kafatasındaki metal diske düşürülmesi şeklindedir. Travma aleti 2.15 m boyunda, iç çapı 19 mm, dış çapı 25 mm olan metal bir boru, bu boruya ait vertikal bir sabitleyici, ratların yerleştirildiği 12x12x43 cm ebatlarında metal muhafaza ile korunmuş köpük madde, 3 mm yüksekliğinde, 10 mm çapında paslanmaz çelikten metal disk ve 50 gram ağırlığında 18 mm çapında 9 adet metalik segment içermektedir (Resim 1) , (Şekil 3).

Resim 1: Travma aleti



Şekil 3: Travma aleti



3.5 SIÇANLARIN HAZIRLANMASI

Sıçanlarlara Xysilazine HCL (Rompun®-Bayer İlaç San. Türkiye) 5-10 mg/kg intraperitoneal ve Ketamin 50 mg/kg (Ketalar®-Eczacıbaşı İlaç San. Türkiye) intraperitoneal uygulanılarak anestezi sağlandı (Resim 2). Anestezinin derinleşmesi için ratlar bir süre daha kafeslerinde gözlendi. Daha sonra kafeslerinden alınan ratlar hassas terazi ile tek tek tartıldı (Resim 3). Sıçanların kafasındaki tüyler traş edildi. Steriliteye dikkat edilerek orta hat skalp insizyonu yapıldı. İnsizyon sahasındaki periost dissektör ile sıyrıldı (Resim 4). Ratlar travma aletinin altına yerleştirilen köpük madde üzerine dört ekstremitesinden flasterle sabitlendi (Resim 5). Travmanın diffüz kranial hasar oluşturması ve daha geniş kranial temas yüzeyi oluşturmak için ratın verteksine koronal ve lombdoid sütürler arasına 3 mm yüksekliğinde, 10 mm çapında paslanmaz çelikten metal disk yerleştirildi (Resim 6).

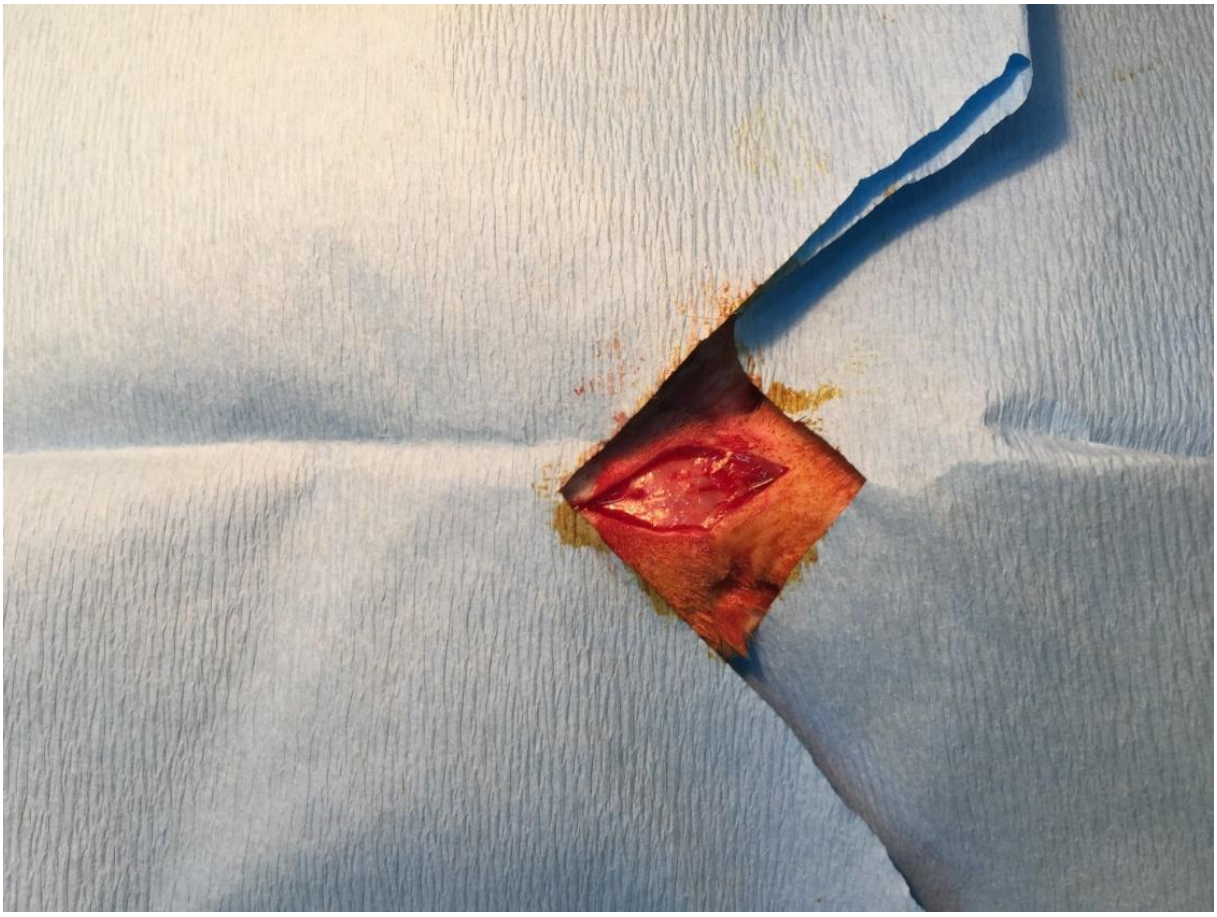
Resim 2: Ratlara inraperitoneal anestezik madde uygulanması



Resim 3: Ratların tartılması



Resim 4: Ratların kranium perisostunun sıyrılıp travmaya hazırlanması



Resim 5: Ratların travma tahtasına sabitlenmesi



Resim 6: Ratların verteksine metal disk yerleştirilmesi



3.6 KAFA TRAVMASININ OLUŞTURULMASI

Ratlar travmaya hazır olduklarında yüzükoyun pozisyonda köpük yatağın üzerine yerleştirildi ve travma esnasında kaymamaları için ekstremitelerinden flasterlerle sabitlendi. Rat verteksleri üzerine metal disk yerleştirildi ve travma aletinin metal tüpünün alt ucuna denk gelecek şekilde sabitlendi. 2 metre yükseklikten 450 gram ağırlığın bırakılmasıyla ağır kafa travması (AKT) oluşturuldu. Rat ilk çarpmanın hemen ardından tekrar çarpmayı önlemek için köpük yatak ile birlikte tüpün alt ucundan uzaklaştırıldı. Daha sonra ratın kafatasındaki metal disk çıkarılıp, rat birkaç dakika spontan solunumlarının devam ettiğine emin olmak için gözlendi. Yaraya antiseptik solüsyon (%10 povidone) uygulandı. Skalp steril şartlarda stapler ile kapatıldı.

3.7 GRUPLARIN OLUŞTURULMASI VE ÇALIŞMANIN YÜRÜTÜLMESİ

28 deney hayvanı eşit sayıda ve rastgele seçilerek 4 gruba ayrıldı:

Grup I, Sham (n: 7): Anestezi uygulanıp travma yapılmayan grup.

Ratlara sadece anestezi uygulandı ve kafeslerinde dört saat takip edildi. Anestezi etkisi kaybolan hayvanlara tekrar uygun dozda anestezi uygulandı daha sonra ratların sternumu makas yardımıyla açıldı ve kalp ortaya koyuldu. Sağ atriuma küçük bir insizyon yapılarak bir

taraftan kan boşaltılırken diğer taraftan sol ventrikülden SF perfüzyonu yapılmaya başlandı. Kanın tamamı boşaltıldıktan sonra yine sol ventrikülden formaldehit infüzyonu yapılarak tüm beyin dokusu fikse edildi. Solunumları duran ve pupil refleksleri alınamayan ratlar ex kabul edildi. Kafa servikal vertebradan kesilerek ayrıldı. Foramen magnumdan her iki temporal bölgeye doğru skalp kesildi. Aynı hattan kemikler kaldırıldı, beyin dokusu serbestleştirildi. Daha sonra beyin dokuları zedelenmeden çıkarıldı formol içine alındı.

Grup II (n: 7): Travma uygulanıp, tedavi yapılmayan grup.

Ratlara anestezi uygulandı ve anestezi etkisinin derinleşmesi için 5-10 dk kadar beklendi. Daha sonra yukarıda belirtildiği şekilde travma uygulandı. Ratlar kafeslerinde dört saat takip edildi. Anestezi etkisi kaybolan hayvanlara tekrar uygun dozda anestezi uygulandı daha sonra ratların sternumu makas yardımıyla açıldı ve kalp ortaya koyuldu. Sağ atriuma küçük bir insizyon yapılarak bir taraftan kan boşaltılırken diğer taraftan sol ventrikülden SF perfüzyonu yapılmaya başlandı. Kanın tamamı boşaltıldıktan sonra yine sol ventrikülden formaldehit infüzyonu yapılarak tüm beyin dokusu fikse edildi. Solunumları duran ve pupil refleksleri alınamayan ratlar ex kabul edildi. Kafa servikal vertebradan kesilerek ayrıldı. Foramen magnumdan her iki temporal bölgeye doğru skalp kesildi. Aynı hattan kemikler kaldırıldı, beyin dokusu serbestleştirildi (Resim 7,8). Daha sonra beyin dokuları zedelenmeden çıkarıldı formol içine alındı.

Resim 7: Travma sonrası kraniektomi yapılması



Resim 8: Travma yapılmış rat beyninin çıkarılmış hali



Grup III (n: 7): Travma uygulanıp, tedavide mannitol %20'lik 1 gr/kg, intraperitonal uygulanılan grup.

Ratlara anestezi uygulandı ve anestezi etkisinin derinleşmesi için 5-10 dk kadar beklendi. Daha sonra yukarıda belirtildiği şekilde travma uygulandı. Kafeslerine alınan ratlara travmanın birinci saatinde intraperitonal yolla mannitol %20'lik 1 gr/kg dozda uygulandı. Ratlar kafeslerinde travmanın dördüncü saatine kadar takip edildi. Anestezi etkisi kaybolan hayvanlara tekrar uygun dozda anestezi uygulandı daha sonra ratların beyinleri yukarıda belirtilen işlemler sırasıyla uygulanılarak zedelenmeden çıkarıldı ve formol içine alındı.

Grup IV (n: 7): Travma uygulanıp, tedavide sildenafil sitrat 10 mg/kg, intraperitonal uygulanılan grup.

Ratlara anestezi uygulandı ve anestezi etkisinin derinleşmesi için 5-10 dk kadar beklendi. Daha sonra yukarıda belirtildiği şekilde travma uygulandı. Kafeslerine alınan ratlara

travmanın birinci saatinde intraperitonal yolla sildenafil sitrat 10 mg/kg dozda uygulandı. Ratlar kafeslerinde travmanın dördüncü saatine kadar takip edildi. Anestezi etkisi kaybolan hayvanlara tekrar uygun dozda anestezi uygulandı daha sonra ratların beyinleri yukarıda belirtilen işlemler sırasıyla uygulanılarak zedelenmeden çıkarıldı ve formol içine alındı.

3.8 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

3.8.1 Işık mikroskobik doku takip protokolü

%10'luk formaldehit ile tespit edilen doku örnekleri dehidratasyon amacıyla 60'ar dakika %80'den %96'ya artan etil alkol serilerinden geçirildi. Ardından 60'ar dakika isopropil alkol ve ksilol solüsyonlarından geçirildi. Bunun ardından da 60˚C'lik etüv içerisinde 2 değişim parafin uygulanıp birer saat parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü. Parafin bloklardan inceleme yapmak amacıyla mikrotom aracılığı ile 4µm'lik kesitler alındı (Tablo 2).

Tablo 2: Işık mikroskobik doku takip protokolü

İşlem	**Madde**	**Süre**
Tespit	%10 formalin,	1 hafta
Dehidratasyon	% 80 etil alkol	60 dk
	% 90 etil alkol	60 dk
	% 96 etil alkol	60 dk
	% 96 etil alkol	60 dk
	% 96 etil alkol	60 dk
	İsopropil alkol	60 dk
Şeffaflaştırma	Ksilol	60 dk
	Ksilol	60 dk
Emdirme %60 °C etüv	Parafin	60 dk
	Parafin	60 dk
Gömme	Parafin	

3.8.2 Kresil violet boyaması

Bloklarından alınan 4µm'lik sağ prefrontal korteks ve sağ hipokampus kesitleri histolojik olarak nöron sayımı için kresil violet ile boyandı. Deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemlerinden sonra kesitler 45 dakika kresil violet ile boyandı ve %96'lık alkolde dehidratasyon ve 30 dk ksilen ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı.

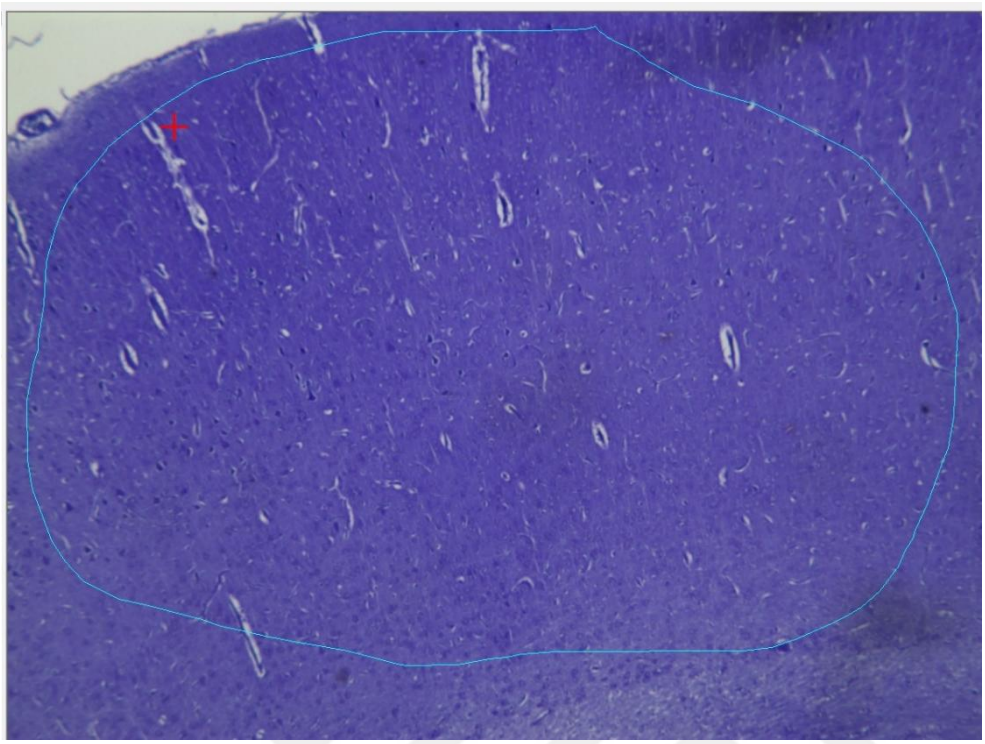
3.8.3 Histomorfometrik ölçümler

Sağ prefrontal korteks ve sağ hipokampal bölgeden alınan örneklerin rutin doku takibi sonrası hazırlanan kristal viyolet boyalı 4 µm'lik kesitleri Stereoinvestigator Software programı (MicroBrightField) kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu metod ilgili alanların tümünde önyargısız sanal sayım alanları oluşturarak x-y eksenlerinde otomatik olarak dolaşarak "fractionator" yöntemi ile sayım işlemini gerçekleştirmektedir. Hazırlanan her kesitte, 4x büyütmede ilgili alan seçimi yapılmıştır (Resim 9). Sayım işlemi ise belirlenen bu alanda cihazın rastgele belirlediği 20 adet 253x176 µm'lik sayım çerçevesinde, 40x büyütmede yapılmıştır (Resim10). Küçük, dens, düzensiz şekilli piknotik nukleuslar ve normal nöronlar farklı belirleyiciler ile işaretlenerek sayım sonrası her bir ratın hem prefrontal hem hipokampal bölgesine ait piknotik, normal ve toplam nöron sayısı elde edilmiştir.

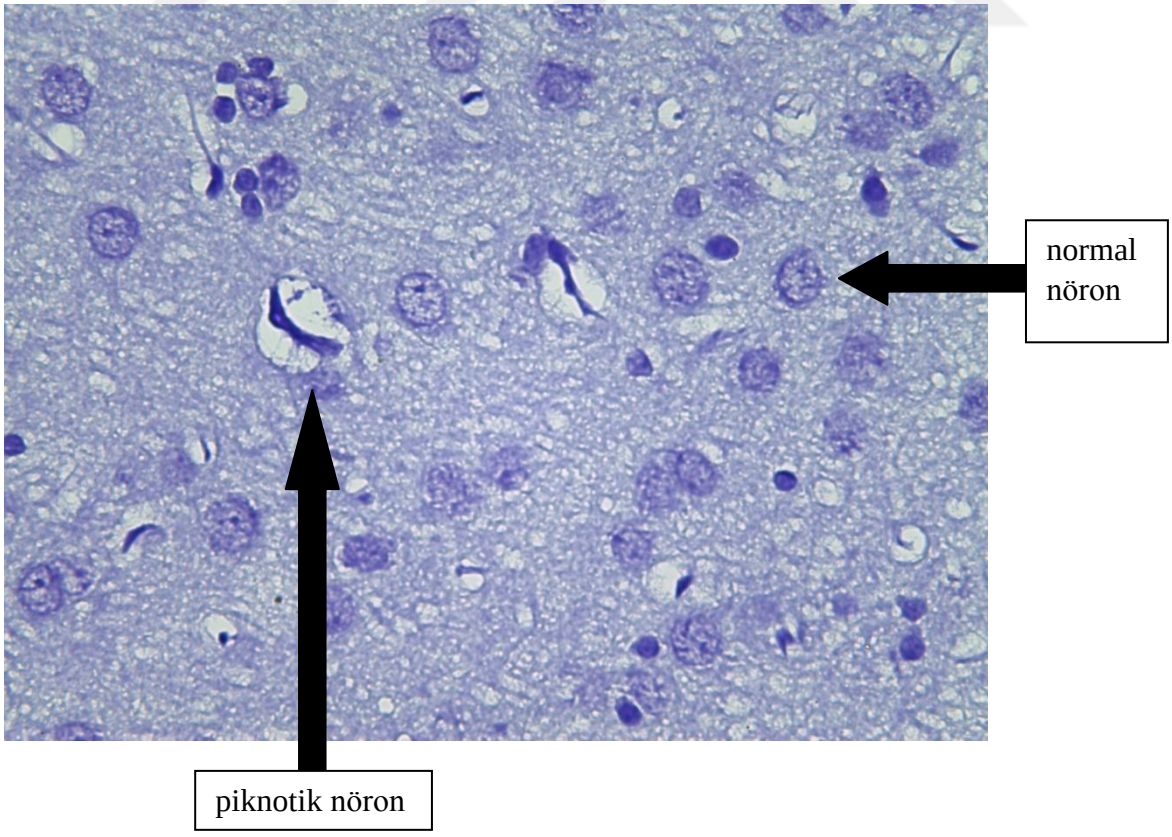
3.9 Verilerin istatistiksel analizi

Çalışmada elde edilen veriler ortalama ± standart sapma biçiminde verildi. Araştırma sonuçlarının istatistik analizi, SPSS için Windows istatistik programının 15.0 versiyonu kullanılarak $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde incelendi. İkili grupların karşılaştırılması ise Mann Whitney U testi ile yapıldı.

Resim 9: 4X büyütmede ilgili alan seçimi



Resim10: 40X büyütmede normal ve piknotik nöronların görünümü



4. BULGULAR

4.1 HİSTOPATOLOJİK SONUÇLAR

Daha önce bahsedildiği şekilde;

Grup I, Sham (n: 7): Anestezi uygulanıp travma yapılmayan grup.

Grup II, Kontrol (n: 7): Travma yapılıp, tedavi uygulanmayan grup.

Grup III, Mannitol (n: 7): Travma yapılıp, tedavide mannitol %20'lik 1 gr/kg, intraperitonal uygulanılan grup.

Grup IV, Sildenafil (n: 7): Travma yapılıp, tedavide sildenafil sitrat 10 mg/kg, intraperitonal uygulanılan grup; olmak üzere 4 çalışma grubu mevcuttu.

Histolojik ölçüm ve sayımların verileri Tablo 3 ve Tablo 4'de verildi.

Tablo 3: Grupların sağ prefrontal bölgeden yapılan ölçüm, sayım değerleri ve ortalamaları

Grup		Prefrontal piknotik nukleus sayısı	Prefrontal normal nukleus sayısı	Prefrontal toplam nukleus sayısı	Piknotik nukleus / normal nukleus oranı	Prefrontal toplam ölçüm alanı
1	Mean	46,2857	328,1429	374,4286	,1254286	2050522,8571
	N	7	7	7	7	7
	Std. Deviation	12,90626	78,97347	86,42117	,02957959	357292,04034
2	Mean	116,0000	284,4286	400,4286	,3065714	2480398,5714
	N	7	7	7	7	7
	Std. Deviation	30,50137	130,81011	152,81237	,08096678	445431,24750
3	Mean	68,5714	311,8571	380,4286	,1785714	2051244,2857
	N	7	7	7	7	7
	Std. Deviation	21,96859	39,10426	44,89565	,05312205	328575,07650
4	Mean	80,0000	289,0000	369,0000	,2171429	2868950,0000
	N	7	7	7	7	7
	Std. Deviation	19,47648	69,49340	84,01389	,02863814	281475,27576

Tablo 4: Grupların sağ hipokampustan yapılan ölçüm, sayım değerleri ve ortalamaları

Grup		Hipokampus piknotik nukleus sayısı	Hipokampus normal nukleus sayısı	Hipokampus toplam nukleus sayısı	Piknotik nukleus / normal nukleus oranı	Hipokampus toplam ölçüm alanı
1	Mean	32,0000	317,5714	349,5714	,0981429	1249415,4286
	N	7	7	7	7	7
	Std. Deviation	14,13035	147,12903	154,47638	,03385965	409275,53152
2	Mean	71,1429	193,5714	264,7143	,2638571	1032509,4286
	N	7	7	7	7	7
	Std. Deviation	39,57452	76,19461	109,51669	,08221198	270553,04614
3	Mean	24,2857	207,1429	231,4286	,1028571	768854,7143
	N	7	7	7	7	7
	Std. Deviation	10,11129	51,72501	59,88561	,02369549	191852,65442
4	Mean	26,4286	243,4286	269,8571	,1020000	767153,0000
	N	7	7	7	7	7
	Std. Deviation	6,07885	67,89663	69,20604	,03206244	131385,10674

İkili gruplar arasındaki farklılık non-parametrik Mann Whitney U testi ile değerlendirildi.

Tablo 5'te Grup 1 (sham) ve grup 2 (kontrol)'nin sağ prefrontal bölgeden yapılan ölçümlerdeki piknotik nöron sayısı, piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranı ve sağ hipokampustan yapılan ölçümlerdeki piknotik nöron sayısı, piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranlarının Mann Whitney U testi ile istatistiksel analizi gösterilmektedir. Grup 1 (sham) ve grup 2 (kontrol)'nin kıyaslandığı tabloda tüm p değerleri <0,05 olduğu için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır.

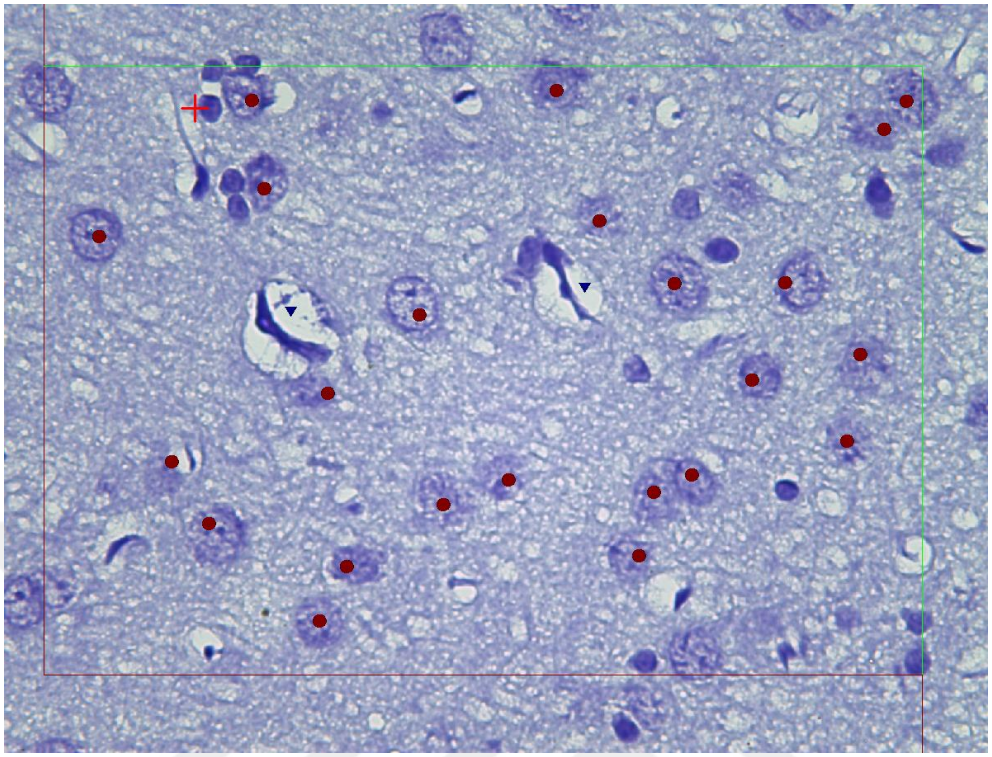
Yani sadece travma uygulanan gruptaki piknotik nöron sayısının ve piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranının sham grubuna göre hem prefrontal bölgede hem de hipokampusta anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. Bu da deneyde seçtiğimiz travma modelinin başarılı bir şekilde uygulandığını göstermektedir.

Tablo 5: Grup 1 (sham) ve grup 2 (kontrol)'nin karşılaştırılması

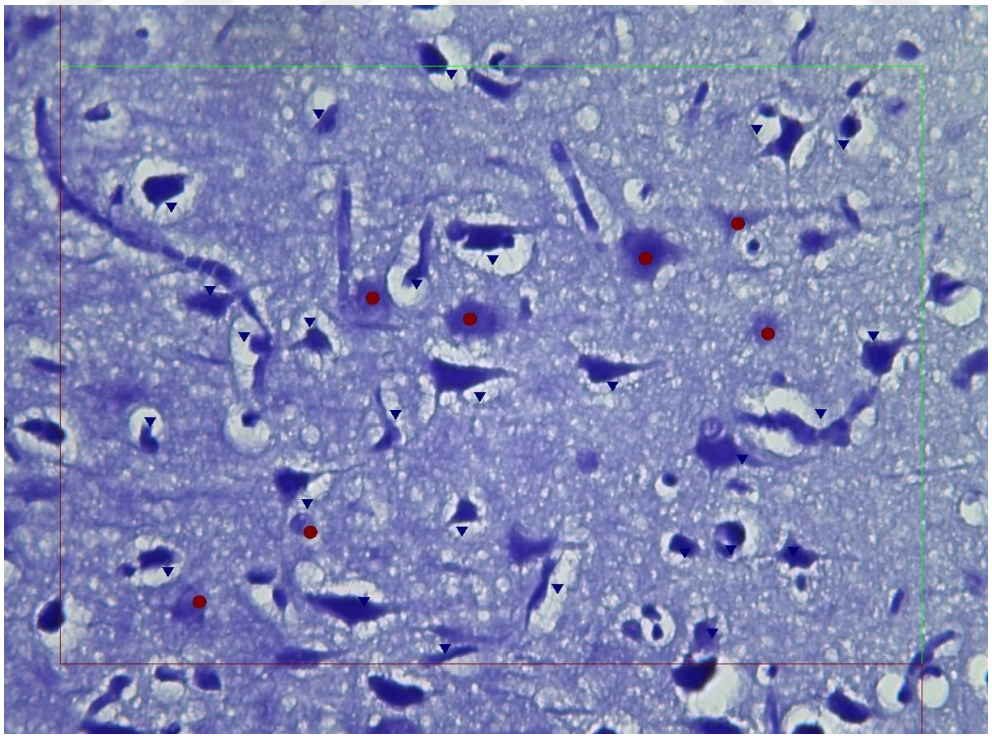
	Prefrontal piknotik nukleus sayisi	**Prefrontal piknotik nükleus / normal nükleus orani**	**Hipokampus piknotik nukleus sayisi**	**Hipokampus piknotik nükleus / normal nükleus orani**
Mann-Whitney U	1,000	,000	6,500	,000
Wilcoxon W	29,000	28,000	34,500	28,000
Z	-3,006	-3,130	-2,302	-3,134
Asymp. Sig. (2-tailed) - p degeri	,003	,002	,021	,002

Grup 1 (sham) ve grup 2 (kontrol)'nin prefrontal korteks kesitlerine ait resimler aşağıdaki gibidir. Buna göre kırmızı daire ile işaretli nöronlar normal nöronu, mavi üçgenle işaretli olanlar ise piknotik nöronu temsil etmektedir (Resim 11, 12).

Resim 11: 40X büyütmede sham grubuna ait prefrontal kortex kesit örneği



Resim 12: 40X büyütmede kontrol grubuna ait prefrontal kortex kesit örneği



Tablo 6'te Grup 2 (kontrol) ve grup 3 (mannitol)'ün sağ prefrontal bölgeden yapılan ölçümlerdeki piknotik nöron sayısı, piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranı ve sağ hipokampustan yapılan ölçümlerdeki piknotik nöron sayısı, piknotik nöron/toplam nöron sayılası oranlarının Mann Whitney U testi ile istatistiksel analizi gösterilmektedir. Grup 2 (kontrol) ve grup 3 (mannitol)'ün kıyaslandığı tabloda tüm p değerleri <0,05 olduğu için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır.

Yani travma sonrası tedavide mannitol uygulanan gruptaki (grup 3) piknotik nöron sayısının ve piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranının sadece travma uygulanıp tedavi uygulanmayan gruba (grup 2) göre hem prefrontal bölgede hem de hipokampusta anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Bu da yaptığımız deneyde mannitolün kafa travması sonrası nöron ölümünü azalttığını ve nöroprotektif etkisini göstermektedir.

Tablo 6: Grup 2 (kontrol) ve grup 3 (mannitol)'ün karşılaştırılması

	Prefrontal piknotik nukleus sayısı	**Prefrontal piknotik nukleus / normal nukleus oranı**	**Hipokampus piknotik nukleus sayısı**	**Hipokampus piknotik nukleus / normal nukleus oranı**
Mann-Whitney U	6,000	3,000	2,500	,000
Wilcoxon W	34,000	31,000	30,500	28,000
Z	-2,366	-2,747	-2,827	-3,137
Asymp. Sig. (2-tailed) - p degeri	,018	,006	,005	,002

Tablo 7'da Grup 2 (kontrol) ve grup 4 (sildenafil)'ün sağ prefrontal bölgeden yapılan ölçümlerdeki piknotik nöron sayısı, piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranı ve sağ hipokampustan yapılan ölçümlerdeki piknotik nöron sayısı, piknotik nöron/toplam nöron sayılası oranlarının Mann Whitney U testi ile istatistiksel analizi gösterilmektedir. Grup 2 (kontrol) ve grup 4 (sildenafil)'ün kıyaslandığı tabloda tüm p değerleri <0,05 olduğu için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır.

Yani travma sonrası tedavide sildenafil uygulanan gruptaki (grup 4) piknotik nöron sayısının ve piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranının sadece travma uygulanıp tedavi uygulanmayan gruba (grup 2) göre hem prefrontal bölgede hem de hipokampusta anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Bu da yaptığımız deneyde sildenafilin de mannitol gibi kafa

travması sonrası nöron ölümünü azalttığını ve nöroprotektif etkisini açık şekilde ortaya koymaktadır.

Tablo 7: Grup 2 (kontrol) ve grup 4 (sildenafil)'ün karşılaştırılması

	Prefrontal piknotik nukleus sayısı	**Prefrontal piknotik nukleus / normal nukleus oranı**	**Hipokampus piknotik nukleus sayısı**	**Hipokampus piknotik nukleus / normal nukleus oranı**
Mann-Whitney U	7,000	6,000	2,000	,000
Wilcoxon W	35,000	34,000	30,000	28,000
Z	-2,241	-2,366	-2,875	-3,134
Asymp. Sig. (2-tailed) - p degeri	,025	,018	,004	,002

Tablo 8'de Grup 3 (mannitol) ve grup 4 (sildenafil)'ün sağ prefrontal bölgeden yapılan ölçümlerdeki piknotik nöron sayısı, piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranı ve sağ hipokampustan yapılan ölçümlerdeki piknotik nöron sayısı, piknotik nöron/toplam nöron sayılası oranlarının Mann Whitney U testi ile istatistiksel analizi gösterilmektedir. Grup 3 (mannitol) ve grup 4 (sildenafil)'ün kıyaslandığı tabloda tüm p değerleri >0,05 olduğu için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

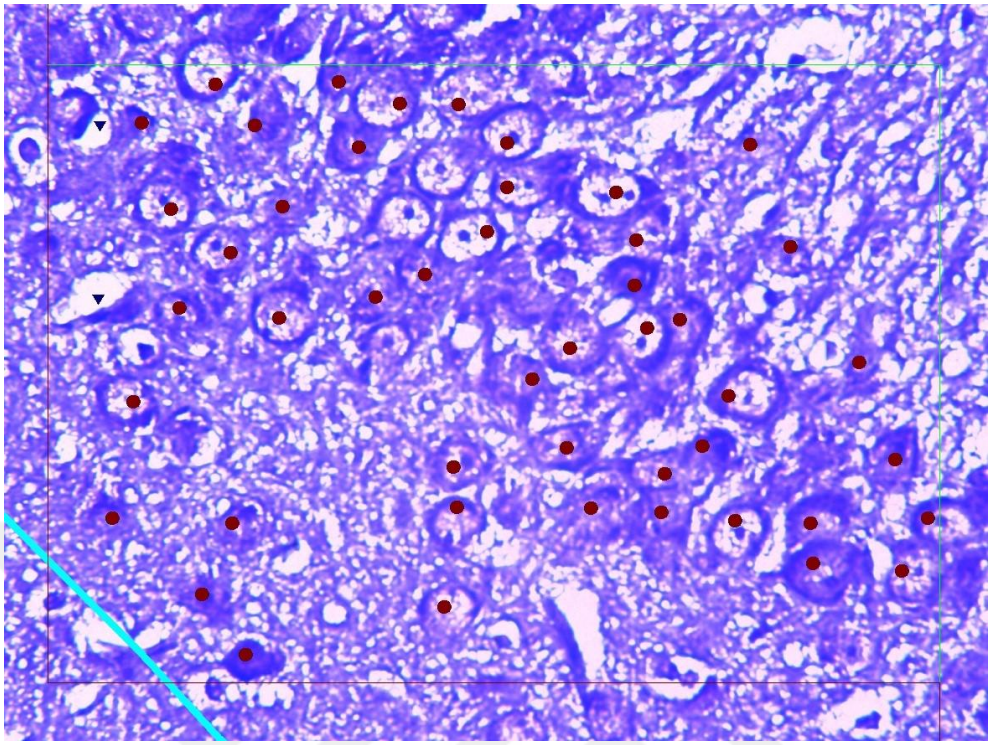
Yani travma sonrası tedavide sildenafil uygulanan gruptaki (grup 4) piknotik nöron sayısının ve piknotik nöron/toplam nöron sayısı oranının travma sonrası tedavide mannitol uygulanan gruba (grup 3) göre hem prefrontal bölgede hem de hipokampusta anlamlı değişmeler göstermediği görülmüştür. Bu da yaptığımız deneyde sildenafilin kafa travmasındaki nöroprotektif rolününü mannitolle kıyaslandığında anlamlı farkının olmadığını sonuçların benzer bulunduğunu göstermektedir.

Tablo 8: Grup 3 (mannitol) ve grup 4 (sildenafil)'ün karşılaştırılması

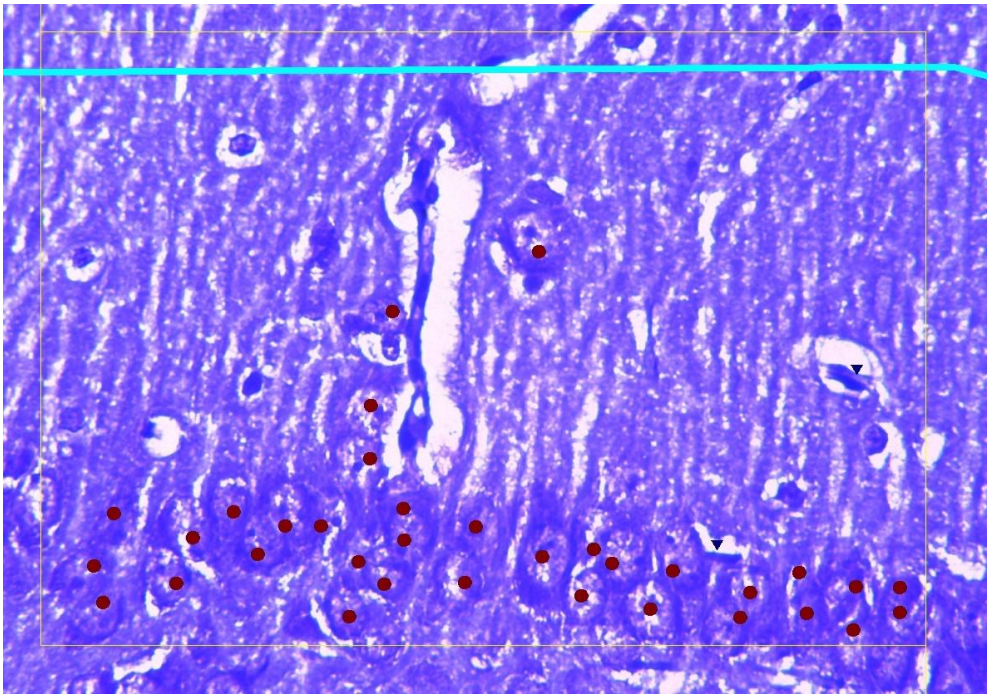
	Prefrontal piknotik nukleus sayısı	**Prefrontal piknotik nukleus / normal nukleus oranı**	**Hipokampus piknotik nukleus sayısı**	**Hipokampus piknotik nukleus / normal nukleus oranı**
Mann-Whitney U	14,000	11,000	18,000	19,500
Wilcoxon W	42,000	39,000	46,000	47,500
Z	-1,343	-1,727	-,834	-,640
Asymp. Sig. (2-tailed) - p degeri	,179	,084	,404	,522

Grup 3 (mannitol) ve grup 4 (sildenafil)'ün hipokampus kesitlerine ait resimler aşağıdaki gibidir. Buna göre kırmızı daire ile işaretli nöronlar normal nöronu, mavi üçgenle işaretli olanlar ise piknotik nöronu temsil etmektedir (Resim 13, 14).

Resim 13: 40X büyütmede mannitol grubuna ait hipokampus kesit örneği



Resim 14: 40X büyütmede sildenafil grubuna ait hipokampus kesit örneği



5. TARTIŞMA

Günümüzün en önemli sağlık problemlerinden biri haline gelmiş olan kafa travmalarına bağlı olarak oluşan TBH, öldürücü, sakat bırakıcı, uzun süre tedavi ve bakım gerektiren patolojik bir durumdur. Travma nedeniyle oluşan primer beyin hasarını takiben ilerleyen dakikalar, hatta günler içinde ortaya çıkan sekonder beyin hasarının fizyopatolojik mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, son yılllarda bazı hücresel ve biyokimyasal faktörler üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Sekonder hasara neden olan başlıca mekanizmalar arasında kalsiyuma bağımlı hücre hasarı, nörotransmitter salınımı, serbest radikal oluşumu, gen aktivasyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve inflamatuar yanıt yer almaktadır. Travmatik beyin hasarında prognozu önemli ölçüde olumsuz etkilediği gösterilen sekonder beyin hasarına neden olan faktörlerin bir kısmı tedaviyle ortadan kaldırılarak mortalite ve morbiditenin azaltılması sağlanabilir (2).

İnsanlarda sık görülen, en çok motorlu taşıt kazalarına bağlı olarak meydana gelen diffüz kafa travması ile benzerliği nedeniyle, çalışmamızda Marmarou ve arkadaşlarının tanımladığı kafatasının sağlam kaldığı kapalı kafa travması modeli uygulandı (86).

Travmatik beyin hasarında, sekonder biyokimyasal hasarı ve hücre ölümünü sınırlayabilmek için çeşitli farmakolojik ajanların etkileri birçok hayvan modelinde çalışılmıştır. Bu çalışmada deneysel kafa travması oluşturulan ratlara, travmanın oluşturacağı hasara karşı olası koruyucu etkilerini araştırmak amacı ile akut dönemde mannitol ve sildenafil verilerek hem etkileri araştırılmış hem de birbiriyle kıyaslanmıştır.

Hipertonik ve hiperosmolar bir ajan olan mannitol, beyin ödeminin tedavisinde en fazla kullanılan ajanlardandır. Kafa içi basıncı azaltmak için kullanılır. Mannitol, vazojenik, sitotoksik ve interstisyel ödemden kaynaklanan ödem sıvısını azaltmada etkindir. Ayrıca mannitolün serbest oksijen radikallerini azaltarak antioksidan etki gösterdiği öne sürülmüştür (74). Literatürde mannitolun serbest radikal temizleyici ve güçlü antioksidan etkisini öne süren yayınlar çoğunluktadır. Fakat mannitolün etkisinin çok anlamlı olmadığını söyleyen yayınlar da bulunmaktadır. Stratford tarafından intravenöz tedavi sıvılarının antioksidan güçleri ile ilgili yapılan bir çalışmada mannitol solusyonunun antioksidan etkisinin olmadığı öne sürülmüştür. Bu sonuç, mannitolun reaktif oksijen türevleri tüketimini gerçekleştirdiği ancak oluşan radikalin çok ve aktif olması nedeni ile oksidatif stresi arttırdığı şeklinde açıklanmıştır (87).

Erektil disfonksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) enzim inhibitörü olan sildenafil sitratın santral sinir sistemi üzerine etkisinin incelendiği de pek çok çalışma yapılmıştır.

Özdeğirmenci ve ark. fetal rat beyinlerinde iskemik perfüzyon hasarı sonrası PDE 5 inhibitörlerinden sildenafil ve tadalafilin ortamda oluşan oksijen radikalerini azaltma etkisini inceledikleri çalışmada sonuçları PDE 5 inhibitörleri lehine oldukça yararlı bulmuşlardır (88).

Kara ve ark. tavşanlarda spinal kord hasarı sonrası nöroprotektif ajanlardan olduğu düşünülen metilprednizolon ve sildenafilin etkisini BOS ve plazmadaki gelsolin ve kaspaz 3 seviyelerini karşılaştırarak incelemişler ve sildenafilin, metilprednizolondan daha etkili olduğunu göstermişlerdir (89).

Chen ve ark. ratlarda oluşturdukları deneysel akut inme sonrası sildenafilin etkisini incelemiştir. Tedavide sildenafil uygulamasının hem nöron ölümünü önemli miktarda azalttığını hem de nöronlar arasındaki sinaps yapılarını koruduğunu söylemişlerdir (90).

Li Zhang ve ark. ratlarda embolik atak sonrası fonksiyonel geri dönüş üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada inme sonrası farelerde sildenafil sitratın nörolojik fonksiyon iyileşmesini hızlandıracağını göstermişlerdir. Sildenafil sitrat verilmesi ile kortikal cGMP seviyesi artırılmış; anjiogenez ve sinaptogenez artması ile nörolojik iyileşmede ilerleme kaydedilmiştir (9).

Sildenafil sitratın santral ve periferik sinir sitemine çeşitli mekanizmalarla oluşturulan hasarlarda nöroprotektif ve antioksidan etkisinin araştırıldığı çokça çalışma olmasına rağmen literatüre bakıldığında akut kafa travmasında sildenafil sitratın beyindeki nöroprotektif etkinliğinin araştırıldığı yeterli çalışma olmadığı görülmüştür. Yine benzer çalışmalarda sonuçların çoğunlukla kandan veya beyin dokusundan bakılan lipid peroksidasyonu ürünleri ve inflamasyona cevap olarak oluşan akut faz reaktanları ölçümleri ile değerlendirildiği görülmüştür. Bu değerlendirmeler kanımızca asıl merak edilen nöron canlılığı ve ölümünü değerlendirmek için non-spesifiktir. Bu ölçümlerin beyin dokusundaki genel hasarlanma konusunda bilgi verdiğini kabul etmekle birlikte, travma bölgesinden alınan doku örneklerinden direkt ölü ve canlı nöron sayımı yapılarak daha sağlıklı sonuca ulaşılabileceğini düşünmekteyiz. Literatürde histolojik incelemede prefrontal ve hipokampus bölgelerinin her ikisinden de alınan kesitlerde Stereoinvestigator Software programı (MicroBrightField) kullanılarak canlı ve ölü nöron sayımının yapıldığı çalışma sayısı sınırlıdır. Bu metod ilgili

alanların tümünde önyargısız sanal sayım alanları oluşturarak x-y eksenlerinde otomatik olarak dolaşarak "fractionator" yöntemi ile sayım işlemini gerçekleştirmektedir.

Çalışmamızdaki tüm sayımlar hem sağ prefrontal bölgeden hem de sağ hipokampustan yapılmıştır. Her iki bölgeden yapılan sayımların karşılaştırılmasında istatistiksel olarak aynı anlamlı sonuçlar bulunması çalışmamızın güvenilirliğini artırmaktadır.

Sonuçlarımızı hem gruplarlardaki piknotik nöron sayıları üzerinden hem de daha anlamlı olduğunu düşündüğümüz piknotik nöron sayısı/toplam nöron sayısı (canlı+piknotik) oranı üzerinden karşılaştırdık ve her iki parametre için de istatistiksel olarak benzer sonuçlarla karşılaştık.

Sadece travma uyguladığımız ve tedavi uygulamadığımız grupta, sham grubuna göre piknotik nöron sayısı ve piknotik nöron sayısının toplam nöron sayısına (canlı+piknotik) oranı anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Zaten rat beyinleri dikkatlice çıkarıldığında da makroskopik olarak travma grubu beyinlerinin sham grubu beyinlerine nazaran oldukça hiperemik olduğu ve yer yer SAK odakları içerdiği gözlenmişti. Bu da seçtiğimiz travma modeli ile ratlara uygun travmayı uyguladığımızı gösterdi.

Yine hem grup 3 (mannitol)'ün hem de grup 4 (sildenafil)'ün beyinleri grup 2 (kontrol) grubu ile kıyaslandığında piknotik nöron sayısı ve piknotik nöron sayısı/toplam nöron sayışı (canlı+piknotik) oranının anlamlı olarak düşük olduğu görüldü ($p<0,05$). Bu da tedavide verdiğimiz her iki ilacında nöron ölümünü azalttığını, yani nöroprotektif etkilerini açık bir şekilde göstermiş oldu.

Grup 3 (mannitol) ve grup 4 (sildenafil) kıyaslandığında ise özellikle hipokampus düzeyinden alınan kesitlerde neredeyse aynı sonuçlar izlenirken, prefrontal bölge kesitlerinde ise mannitolün nöroprotektif etkisinin sildenafile göre bir miktar daha iyi olduğu gözlendi. Fakat bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Son dönemde erektil disfonksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) enzim inhibitörü olan sildenafil sitratın santral sinir sistemi üzerine etkisinin incelendiği de pek çok çalışma yapılmıştır. Çoğu çalışmada sonuçlar sildenafilin nöroprotektif ve antioksidan etkinliğini açık şekilde göstermiştir. Bu çalışmaların sayısı ve çeşitliliğinin artırılması neticesinde sildenafil sitratın kafa travması da başta olmak üzere klinik kullanımı artacaktır.

6. SONUÇ

Çalışmamızda deneysel kafa travması sonrasında oluşan diffüz beyin hasarını sınırlayabilmek amacıyla, akut dönemde verilen sildenafil sitrat ve mannitol tedavisinin nöroprotektif etkisi araştırıldı ve bu etkinlik yönünden birbirleriyle kıyaslaması yapıldı. Grup 3'teki ratlara travmadan bir saat sonra tedavide mannitol %20'lik 1 gr/kg verilirken, grup 4'teki ratlara yine travmadan bir saat sonra 10 mg/kg sildenafil sitrat intraperitoneal uygulandı. Travmanın dördüncü saatinde sakrifiye edilen ratların beyin dokularının sağ prefrontal ve sağ hipokampuslarından alınan kesitler uygun şekilde histolojik doku takip prosedüründen geçirilip değerlendirildiğinde tedavide kullandığımız her iki ilacın da nöroprotektif etkileri histopatolojik olarak gösterilip, istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Tedavide belirtilen dozlarda kullanılan mannitol ve sildenafil sitratın nöroprotektif etkileri kıyaslandığında ise hipokampus kesitlerinde fark gözlenmezken, prefrontal kesitlerde mannitol etkinliğinin daha yüksek olduğu izlendi. Fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Çalışmamızın sonuçları; akut travmatik beyin hasarında sildenafil sitratın nöroprotektif etkisinin olduğunu göstermektedir. Nöroprotektif etkinliğinin araştırılması için bundan sonraki çalışmalarda sildenafil sitrat tedavisi farklı doz ve sürelerde denenebilir. Sonuç olarak sildenafil sitratın insanlarda akut travmatik beyin hasarına bağlı gelişen özellikle sekonder beyin hasarının tedavisinde yararlı bir seçenek olabileceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Baldo V, Marcolongo A, Floreani A, Majori S, Cristofolettil M, Dal Zotto A, et al. Epidemiological aspect of traumatic brain injury in Northeast Italy. European journal of epidemiology. 2003;18(11):1059-63.

2. Maas AI, Stocchetti N, Bullock R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. The Lancet Neurology. 2008;7(8):728-41.

3. Dohi K, Satoh K, Nakamachi T, Yofu S, Hiratsuka K, Nakamura S, et al. Does edaravone (MCI- 186) act as an antioxidant and a neuroprotector in experimental traumatic brain injury? Antioxidants & redox signaling. 2007;9(2):281-7.

4. Wilson JX, Gelb AW. Free radicals, antioxidants, and neurologic injury: possible relationship to cerebral protection by anesthetics. Journal of neurosurgical anesthesiology. 2002;14(1):66-79.

5. Huh PW, Belayev L, Zhao W, Clemens JA, Panetta JA, Busto R, et al. Neuroprotection by LY341122, a novel inhibitor of lipid peroxidation, against focal ischemic brain damage in rats. European journal of pharmacology. 2000;389(1):79-88.

6. Holmin S, Mathiesen T. Biphasic edema development after experimental brain contusion in rat. Neuroscience letters. 1995;194(1-2):97-100.

7. Biros MH, Nordness R. Effects of chemical pretreatment on posttraumatic cortical edema in the rat. The American journal of emergency medicine. 1996;14(1):27-32.

8. Diomedi M, Sallustio F, Rizzato B, Ferrante F, Leone G, Spera E, et al. Sildenafil increases cerebrovascular reactivity: a transcranial Doppler study. Neurology. 2005;65(6):919-21.

9. Zhang L, Zhang RL, Wang Y, Zhang C, Zhang ZG, Meng H, et al. Functional recovery in aged and young rats after embolic stroke: treatment with a phosphodiesterase type 5 inhibitor. Stroke; a journal of cerebral circulation. 2005;36(4):847-52.

10. Serarslan Y, Yonden Z, Ozgiray E, Oktar S, Guven EO, Sogut S, et al. Protective effects of tadalafil on experimental spinal cord injury in rats. Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia. 2010;17(3):349-52.

11. Park E, Bell JD, Baker AJ. Traumatic brain injury: can the consequences be stopped? Canadian Medical Association Journal. 2008;178(9):1163-70.

12. Jennett B. Epidemiology of head injury. Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry. 1996;60(4):362-9.

13. Karasu A, Sabanci PA, Cansever T, Hepgül KT, İmer M, Dolaş İ, et al. [Epidemiological study in head injury patients]. Ulusal travma ve acil cerrahi dergisi= Turkish journal of trauma & emergency surgery: TJTES. 2009;15(2):159-63.

14. Iacoangeli M, Roselli R, Pompucci A, Scerrati M. Acute Management of Head Injury: Part I: Medical Management. Contemporary neurosurgery. 2000;22(11):1-8.

15. Erbengi A. History and development of neurosurgery in Anatolia (part one). Turk Neurosurg. 1993;3:1-5.

16. Hamit GZ. Nöroşirürji Ders Kitabı. Mars Matbaası, Ankara. 1998.

17. Thomas L, Hodgson V, Gurdjian E. Skull fracture and management of open head injury. Neurological surgery. 1973;2:969-77.

18. Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness: a practical scale. The Lancet. 1974;304(7872):81-4.

19. Tuzgen S, Tanriover N, Uzan M, Tureci E, Tanriverdi T, Gumustas K, et al. Nitric oxide levels in rat cortex, hippocampus, cerebellum, and brainstem after impact acceleration head injury. Neurological research. 2003;25(1):31-4.

20. Uzan M, Tanriover N, Bozkus H, Gumustas K, Guzel O, Kuday C. Nitric oxide (NO) metabolism in the cerebrospinal fluid of patients with severe head injury: inflammation as a possible cause of elevated NO metabolites. Surgical neurology. 2001;56(6):350-6.

21. Cernak I. Animal models of head trauma. NeuroRx. 2005;2(3):410-22.

22. Marik PE, Varon J, Trask T. Management of head trauma. CHEST Journal. 2002;122(2):699-711.

23. Ergüngör M. Kafa travmalarında patofizyoloji, Temel Nöroşirürji. Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları Ankara. 2005;27:298-305.

24. Adams JH, Doyle D, Ford I, Gennarelli T, Graham D, McLellan D. Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading. Histopathology. 1989;15(1):49-59.

25. Fork M, Bartels C, Ebert AD, Grubich C, Synowitz H, Wallesch C-W. Neuropsychological sequelae of diffuse traumatic brain injury. Brain injury. 2005;19(2):101-8.

26. Povlishock JT. Pathobiology of traumatically induced axonal injury in animals and man. Annals of emergency medicine. 1993;22(6):980-6.

27. Gourin CG, Shackford SR. Production of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta by human cerebral microvascular endothelium after percussive trauma. The Journal of trauma. 1997;42(6):1101-7.

28. Shohami E, Gallily R, Mechoulam R, Bass R, Ben-Hur T. Cytokine production in the brain following closed head injury: dexanabinol (HU-211) is a novel TNF-α inhibitor and an effective neuroprotectant. Journal of neuroimmunology. 1997;72(2):169-77.

29. Hatton J. Pharmacological treatment of traumatic brain injury. CNS drugs. 2001;15(7):553-81.

30. Bouma GJ, Muizelaar JP, Choi SC, Newlon PG, Young HF. Cerebral circulation and metabolism after severe traumatic brain injury: the elusive role of ischemia. Journal of neurosurgery. 1991;75(5):685-93.

31. Kocsis B, Fedina L, Pasztor E. Effect of preexisting brain ischemia on sympathetic nerve response to intracranial hypertension. Journal of Applied Physiology. 1991;70(5):2181-7.

32. Marmarou A, Anderson RL, Ward JD, Choi SC, Young HF, Eisenberg HM, et al. Impact of ICP instability and hypotension on outcome in patients with severe head trauma. Special Supplements. 1991;75(1S):S59-S66.

33. Jain KK. Neuroprotection in traumatic brain injury. Drug discovery today. 2008;13(23-24):1082-9.

34. Buki A, Okonkwo DO, Povlishock JT. Postinjury cyclosporin A administration limits axonal damage and disconnection in traumatic brain injury. J Neurotrauma. 1999;16(6):511-21.

35. Büki A, Povlishock J. All roads lead to disconnection?–Traumatic axonal injury revisited. Acta neurochirurgica. 2006;148(2):181-94.

36. Saelens X, Festjens N, Walle LV, Van Gurp M, van Loo G, Vandenabeele P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. Oncogene. 2004;23(16):2861-74.

37. Huang Y, Wang KK. The calpain family and human disease. Trends in molecular medicine. 2001;7(8):355-62.

38. Maxwell WL, Povlishock JT, Graham DL. A mechanistic analysis of nondisruptive axonal injury: a review. J Neurotrauma. 1997;14(7):419-40.

39. Wolf JA, Stys PK, Lusardi T, Meaney D, Smith DH. Traumatic axonal injury induces calcium influx modulated by tetrodotoxin-sensitive sodium channels. The Journal of Neuroscience. 2001;21(6):1923-30.

40. Yi J-H, Hazell AS. Excitotoxic mechanisms and the role of astrocytic glutamate transporters in traumatic brain injury. Neurochemistry international. 2006;48(5):394-403.

41. Goforth PB, Ellis EF, Satin LS. Enhancement of AMPA-mediated current after traumatic injury in cortical neurons. The Journal of neuroscience. 1999;19(17):7367-74.

42. Isaac JT, Ashby MC, McBain CJ. The role of the GluR2 subunit in AMPA receptor function and synaptic plasticity. Neuron. 2007;54(6):859-71.

43. Stellwagen D, Beattie EC, Seo JY, Malenka RC. Differential regulation of AMPA receptor and GABA receptor trafficking by tumor necrosis factor-α. The Journal of Neuroscience. 2005;25(12):3219-28.

44. Sensi S, Jeng J-M. Rethinking the excitotoxic ionic milieu: the emerging role of Zn 2+ in ischemic neuronal injury. Current molecular medicine. 2004;4(2):87-111.

45. Koppenol W, Moreno J, Pryor WA, Ischiropoulos H, Beckman J. Peroxynitrite, a cloaked oxidant formed by nitric oxide and superoxide. Chemical research in toxicology. 1992;5(6):834-42.

46. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. Archives of biochemistry and biophysics. 1991;288(2):481-7.

47. Arundine M, Aarts M, Lau A, Tymianski M. Vulnerability of central neurons to secondary insults after in vitro mechanical stretch. The Journal of neuroscience. 2004;24(37):8106-23.

48. Benveniste EN. Cytokine actions in the central nervous system. Cytokine & growth factor reviews. 1998;9(3):259-75.

49. Morganti-Kossmann MC, Rancan M, Otto VI, Stahel PF, Kossmann T. Role of cerebral inflammation after traumatic brain injury: a revisited concept. Shock. 2001;16(3):165-77.

50. Kreutzberg GW. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. Trends in neurosciences. 1996;19(8):312-8.

51. Nakajima K, Kohsaka S. Microglia: neuroprotective and neurotrophic cells in the central nervous system. Current Drug Targets-Cardiovascular & Hematological Disorders. 2004;4(1):65-84.

52. Dong Y, Benveniste EN. Immune function of astrocytes. Glia. 2001;36(2):180-90.

53. Rostworowski M, Balasingam V, Chabot S, Owens T, Yong VW. Astrogliosis in the neonatal and adult murine brain post-trauma: elevation of inflammatory cytokines and the

lack of requirement for endogenous interferon-γ. The Journal of neuroscience. 1997;17(10):3664-74.

54. Clark RS, Schiding JK, Kaczorowski SL, Marion DW, Kochanek PM. Neutrophil accumulation after traumatic brain injury in rats: comparison of weight drop and controlled cortical impact models. J Neurotrauma. 1994;11(5):499-506.

55. Csuka E, Hans VH, Ammann E, Trentz O, Kossmann T, Morganti-Kossmann MC. Cell activation and inflammatory response following traumatic axonal injury in the rat. Neuroreport. 2000;11(11):2587-90.

56. Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM. The role of inflammation in CNS injury and disease. British journal of pharmacology. 2006;147(S1):S232-S40.

57. Lu K-T, Wang Y-W, Yang J-T, Yang Y-L, Chen H-I. Effect of interleukin-1 on traumatic brain injury-induced damage to hippocampal neurons. Journal of neurotrauma. 2005;22(8):885-95.

58. Rothwell N. Interleukin-1 and neuronal injury: mechanisms, modification, and therapeutic potential. Brain, behavior, and immunity. 2003;17(3):152-7.

59. Shiozaki T, Hayakata T, Tasaki O, Hosotubo H, Fuijita K, Mouri T, et al. Cerebrospinal fluid concentrations of anti-inflammatory mediators in early-phase severe traumatic brain injury. Shock. 2005;23(5):406-10.

60. Kita T, Liu L, Tanaka N, Kinoshita Y. The expression of tumor necrosis factor-α in the rat brain after fluid percussive injury. International journal of legal medicine. 1997;110(6):305-11.

61. Shohami E, Ginis I, Hallenbeck JM. Dual role of tumor necrosis factor alpha in brain injury. Cytokine & growth factor reviews. 1999;10(2):119-30.

62. Hans VH, Kossmann T, Joller H, Otto V, Morganti-Kossmann M-C. Interleukin-6 and its soluble receptor in serum and cerebrospinal fluid after cerebral trauma. Neuroreport. 1999;10(2):409-12.

63. Penkowa M, Giralt M, Carrasco J, Hadberg H, Hidalgo J. Impaired inflammatory response and increased oxidative stress and neurodegeneration after brain injury in interleukin-6-deficient mice. Glia. 2000;32(3):271-85.

64. Romano M, Sironi M, Toniatti C, Polentarutti N, Fruscella P, Ghezzi P, et al. Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. Immunity. 1997;6(3):315-25.

65. Kremlev SG, Palmer C. Interleukin-10 inhibits endotoxin-induced pro-inflammatory cytokines in microglial cell cultures. Journal of neuroimmunology. 2005;162(1):71-80.

66. Sherwood ER, Prough DS. Interleukin-8, neuroinflammation, and secondary brain injury. Critical care medicine. 2000;28(4):1221-3.

67. Stamatovic SM, Shakui P, Keep RF, Moore BB, Kunkel SL, Van Rooijen N, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 regulation of blood–brain barrier permeability. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2005;25(5):593-606.

68. Potts MB, Koh S-E, Whetstone WD, Walker BA, Yoneyama T, Claus CP, et al. Traumatic injury to the immature brain: inflammation, oxidative injury, and iron-mediated damage as potential therapeutic targets. NeuroRx. 2006;3(2):143-53.

69. Epstein FH, McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. New England Journal of Medicine. 1985;312(3):159-63.

70. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? The lancet. 1994;344(8924):721-4.

71. Ikeda Y, Long DM. The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals. Neurosurgery. 1990;27(1):1-11.

72. Siesjö BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology.(1992). Journal of neurosurgery. 2008;108(3):616-31.

73. Siesjö BK, Zhao Q, Pahlmark K, Siesjö P, Katsura K-i, Folbergrová J. Glutamate, calcium, and free radicals as mediators of ischemic brain damage. The Annals of thoracic surgery. 1995;59(5):1316-20.

74. Kaufmann AM, Cardoso ER. Aggravation of vasogenic cerebral edema by multiple-dose mannitol. Journal of neurosurgery. 1992;77(4):584-9.

75. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Fermakoloji: Hacettepe Taş Yayınları. S; 2005.

76. Hartwell RC, Sutton LN. Mannitol, intracranial pressure, and vasogenic edema. Neurosurgery. 1993;32(3):444-50.

77. Raslan A, Bhardwaj A. Medical management of cerebral edema. Neurosurgical focus. 2007;22(5):1-12.

78. Nath F, Galbraith S. The effect of mannitol on cerebral white matter water content. Journal of neurosurgery. 1986;65(1):41-3.

79. Silver P, Nimkoff L, Siddiqi Z, Estrada R, Sagy M. The effect of mannitol on intracranial pressure in relation to serum osmolality in a cat model of cerebral edema. Intensive care medicine. 1996;22(5):434-8.

80. Muizelaar JP, Lutz III HA, Becker DP. Effect of mannitol on ICP and CBF and correlation with pressure autoregulation in severely head-injured patients. Journal of neurosurgery. 1984;61(4):700-6.

81. Ravussin P, Archer D, Meyer E, Abou-Madi M, Yamamoto L, Trop D. The effects of rapid infusions of saline and mannitol on cerebral blood volume and intracranial pressure in dogs. Canadian Anaesthetists' Society Journal. 1985;32(5):506-15.

82. Artrra A. CSF Dynamics. Cerebral Edema, and intrracranial pressure, Ablin MS (ED), Textbook of Neuroanesthesia Mc Graw Hill Companies. 1997:61-115.

83. Pollay M. Blood-brain barrier, cerebral edema. Neurosurgery. 1996;1:335-44.

84. Ayyildiz A, Uysal A, Koçer U, Karaaslan Ö, Huri E, Germiyanoglu C, et al. Effect of sildenafil citrate on viability of flaps: an experimental study in rats. Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery. 2005;39(4):204-8.

85. Kıymaz N, Yılmaz N, Mumcu Ç, Anlar Ö, Özen S, Kayaoğlu C. Protective effect of sildenafil (Viagra) in transient spinal cord ischemia. Pediatric neurosurgery. 2007;44(1):22-8.

86. Marmarou A, Foda MAA-E, Brink Wvd, Campbell J, Kita H, Demetriadou K. A new model of diffuse brain injury in rats: Part I: Pathophysiology and biomechanics. Journal of neurosurgery. 1994;80(2):291-300.

87. Stratford N. Antioxidant potential of iv fluids. British journal of anaesthesia. 1997;78(6):757-9.

88. Ozdegirmenci O, Kucukozkan T, Akdag E, Topal T, Haberal A, Kayir H, et al. Effects of sildenafil and tadalafil on ischemia/reperfusion injury in fetal rat brain. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2011;24(2):317-23.

89. Kara H, Degirmenci S, Ak A, Bayir A, Kayis SA, Uyar M, et al. Neuroprotective effects of sildenafil in experimental spinal cord injury in rabbits. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences. 2015;15(1):38.

90. Chen XM, Wang NN, Zhang TY, Wang F, Wu CF, Yang JY. Neuroprotection by sildenafil: neuronal networks potentiation in acute experimental stroke. CNS neuroscience & therapeutics. 2014;20(1):40-9.