

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELİNDE İNSAN  
UMBİLİKAL KORDON KANINDAN ELDE EDİLMİŞ KÖK  
HÜCRE NAKLİNİN VE NİMODİPİNİN BERABER  
KULLANIMININ SEREBRAL DOKU İYİLEŞMESİ VE  
NÖROLOJİK FONKSİYONLARA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. ENGİN DÜZ**

**DANIŞMAN**

**DOÇ. DR. BAYRAM ÇIRAK**

**DENİZLİ-2011**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELİNDE İNSAN  
UMBİLİKAL KORDON KANINDAN ELDE EDİLMİŞ KÖK  
HÜCRE NAKLİNİN VE NİMODİPİNİN BERABER  
KULLANIMININ SEREBRAL DOKU İYİLEŞMESİ VE  
NÖROLOJİK FONKSİYONLARA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. ENGİN DÜZ**

**DANIŞMAN**

**DOÇ. DR. BAYRAM ÇIRAK**

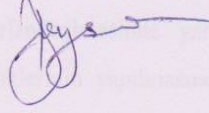
**DENİZLİ-2011**

## ONAY SAYFASI

Doç. Dr. Bayram ÇIRAK danışmanlığında Dr. Engin DÜZ tarafından yapılan "Deneysel Kafa Travması Modelinde İnsan Umbilikal Kordon Kanından Elde Edilmiş Kök Hücre Naklinin ve Nimodipinin Beraber Kullanımının Serebral Doku İyileşmesi ve Nörolojik Fonksiyonlara Etkisi" başlıklı tez çalışması .. /.. /2011 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**BAŞKAN**

**Doç. Dr. Bayram ÇIRAK**



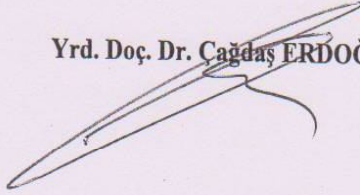
**ÜYE**

**Doç. Dr. Feridun ACAR**



**ÜYE**

**Yrd. Doç. Dr. Çağdaş ERDOĞAN**



**Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.**



.../.../....

**Prof. Dr. Mustafa KILIÇ**

**Pamukkale Üniversitesi**

**Tıp Fakültesi Dekanı**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her konuda, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tez çalışmalarım boyunca destek ve katkılarını esirgemeyen tez danışman hocam Doç. Dr. Bayram Çırak'a, değerli hocam Prof. Dr. M. Erdal Coşkun'a, Doç. Dr. Feridun Acar'a, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarımdan Dr. Tarık Akman, Dr. Zahir Kızılay, Dr. Elif Bolat, Dr. İlkey Sitti, Dr. Ali Yılmaz, Dr. Abdullah Topçu, Dr. Özkan Çeliker, Dr. Muhammet İbrahimoglu, Dr. Eyüp Baykara'ya, kordon kanının toplanmasına yardımcı olan Doç. Dr. Başak Yıldırım'a ve Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde görevli tüm asistan arkadaşlarıma, kök hücrenin ayrıştırılmasında yol gösteren Prof. Dr. Gülçin Abban'a, dokuların histolojik kesitlerinin değerlendirilmesinde yardımcı olan Doç. Dr. Nagehan Yalçın'a, çalışmanın istatistiklerinin yapılmasında emeği geçen Doç. Dr. Beyza Akdağ'a, deneysel çalışmalarımda yardımcı olan veteriner hekim Barbaros Şahin ve Melek Tunç'a, benim bu günlere gelmemde büyük emeği olan öğretmenlerim Veli Aylar ve Özcan Kardeş'e, ayrıca maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili ailem ve eşim Özlem Düz'e teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	V
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XV
ÖZET.....	XV
SUMMARY.....	XVI
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
TARİHÇE.....	4
EPİDEMİYOLOJİ.....	6
ETİYOLOJİ.....	7
KAFA TRAVMALARININ SINIFLANDIRILMASI.....	8
KAFA TRAVMALARININ MEKANİZMASI.....	8
KAFA TRAVMALARININ PATOFİZYOLOJİSİ.....	10
Birincil Hasarlar.....	11
Skalp Yaralanmaları.....	11
Kalvaryum Yaralanmaları.....	11
Kafaiçi Yaralanmalar.....	12
Fokal Kafaiçi Lezyonlar.....	12
Yaygın Kafaiçi Lezyonlar.....	14
Diğer Tip Birincil Hasarlar.....	14
İkincil Hasarlar.....	16

Sistemik Nedenler.....	16
İntrakraniyal Nedenler.....	17
Sekonder Hücre Hasarında Biyokimyasal Mekanizmalar.....	20
Oksidatif Hasar ve Serbest Radikaller.....	20
Eksitotoksisite.....	21
Nitröz Oksid.....	23
Apoptozis.....	23
İyonik Akışlara Bağımlı Hücre Hasarı.....	24
İmmünolojik Hasar.....	25
<b>NÖRAL PLASTİSİTE VE REJENERASYON.....</b>	<b>28</b>
Nöral Plastisite.....	28
Nöral Rejenerasyon.....	28
<b>KÖK HÜCRE TERAPİSİ.....</b>	<b>30</b>
Kök Hücre Çeşitleri ve Kaynakları.....	31
Embriyonik Kök Hücreler.....	31
Embriyonik Olmayan Kök Hücreler.....	32
Erişkin Kök Hücreleri.....	33
Hematopoietik Kök Hücreler.....	33
Stromal (Mezenkimal) Kök Hücreler.....	34
Diğer Erişkin Kök Hücreler.....	36
Fetal Kök Hücreler.....	36
Kadavradan Elde Edilen Kök Hücreler.....	37
Partenogenez.....	37
<b>DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELLERİ.....</b>	<b>37</b>
Perküsyon Modelleri.....	38
Akselerasyon Modelleri.....	39
Enjeksiyon Modelleri.....	39
<b>GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>40</b>
<b>DENEY HAYVANLARININ HAZIRLANIŞI.....</b>	<b>40</b>
<b>DENEYİN YAPILIŞI.....</b>	<b>40</b>

YENİDOĞAN UMBİLİKAL KORDON KANININ ALINMASI.....	45
KORDON KANINDAN CD34+ KÖK HÜCRE ELDE EDİLMESİ.....	45
ELDE EDİLEN CD34+ KÖK HÜCRELERİN SAYIMI.....	47
REZEKSİYON ALANINA CD34+ HÜCRELERİNİN EKİMİ.....	48
ROTAROD PERFORMANS TESTİ.....	48
RİVLİN VE TATOR'UN EĞİK DÜZLEM TESTİ.....	49
PATOLOJİK İNCELEME.....	50
İSTATİKSEL ANALİZ.....	50
BULGULAR.....	51
ROTAROD PERFORMANS TESTİ BULGULARI.....	52
ÇİFT YÖNLÜ EĞİK DÜZLEM TESTİ BULGULARI.....	54
PATOLOJİK İNCELEME BULGULARI.....	57
TARTIŞMA.....	68
SONUÇLAR.....	97
KAYNAKLAR.....	99

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

**AA:** Araşidonik Asit

**AMPA:** Amino-3-Hidroksil- 5-Metil-4-İsoksazole Propionate

**ATP:** Adenozin Trifosfat

**BOS:** Beyin Omurilik Sıvısı

**BT:** Bilgisayarlı Tomografi

**Ca +2:** Kalsiyum

**CAM:** Sellüler Adezyon Molekülleri

**CSPG:** Kondoritin Sülfat Proteoglikan

**DI:** Diabetes İnsipidus

**DNA:** Deoksiribonükleik asit

**EH:** Endotel Hücresi

**eNOS:** Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

**GAP-43:** Büyüme ile İlişkili Protein

**GFAP:** Glial asidik Fibriller Protein

**GKS:** Glaskow Koma Skalası

**GVH:** Greft Versus Host

**H&E:** Hemotoksilen Eozin

**ICAM:** İnter Selüler Adezyon Molekülü

**IL:** İnterlökin

**iNOS:** İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz



**KBB:** Kan Beyin Bariyeri

**KİB:** Kafa İçi Basınç

**KSPG:** Keratan Sülfat Proteoglikan

**LT:** Lökotrien

**MAP:** Mikrotübülle İlişkili Protein

**Na/K ATPaz:** Sodyum /Potasyum Adenozin Trifosfaz

**NSE:** Nöron Spesifik Enolaz

**NMDA:** N-Metil-D-Aspartat

**NO:** Nitroz Oksit

**NOS:** Nitrik Oksit Sentaz

**nNOS:** Nöronal Nitrik Oksit Sentaz

**O<sub>2</sub>:** Oksijen

**oMgp:** Oligodontrosit-Myelin Glikoprotein

**PAF:** Platelet Aktive Edici Faktör

**PG:** Prostaglandinler

**PMNL:** Polimorfonükleer Lökosit

**PSS:** Periferik Sinir Sistemi

**RNA:** Ribonükleik Asit

**SKA:** Serebral Kan Akımı

**SOD:** Süperoksit Distumaz

**SOR:** Süper Oksit Radikalleri

**SSS:** Santral Sinir Sistemi

**TGF:** Tumor Growth Faktör

**TNF:** Tumor Nekroz Faktör

**TX A2:** Tromboksan A2

**VCAM:** Vasküler Selüler Adezyon Molekülü

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

<b>Şekil 1:</b> Ratlara perikraniyumun disseksiyonu sonrası frontoparyetal kemiğin ortaya konulması.....	42
<b>Şekil 2:</b> Ratlarda kraniektomiye takiben dura materin ortaya konulması.....	42
<b>Şekil 3:</b> Ratlarda kraniektomi ve duranın açılmasını takiben sol serebral hemisferin ortaya konulması.....	43
<b>Şekil 4:</b> Ratlarda sol serebral hemisferde rezeksiyon yapılması ve hemostaz.....	43
<b>Şekil 5:</b> Deneysel modelde kullanılan nimodipin.....	44
<b>Şekil 6:</b> Umbilikal kordon kanının santrifüjü sonrası oluşan bulutsu kısım.....	46
<b>Şekil 7:</b> Elde edilen CD34+ kök hücrelerinin biriktirilmesi.....	47
<b>Şekil 8:</b> Pozitif seleksiyon ile seçilen hücrelerin ışık mikroskopunda sayılması.....	48
<b>Şekil 9:</b> Elde edilen CD34+ kök hücrelerinin steril pipetle transplantasyonu.....	48
<b>Şekil 10:</b> Rotarod performans cihazı.....	49
<b>Şekil 11:</b> Rivlin ve Tatorun eğik düzlemi.....	50
<b>Şekil 12:</b> Exitus yapılan deneğin bütün olarak çıkarılmış beyin dokusu.....	51
<b>Şekil 13:</b> Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (H&E 10’luk büyütme).....	58

<b>Şekil 14:</b> Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (H&E 40’luk büyütme).....	58
<b>Şekil 15:</b> Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (GFAP 40’lık büyütme).....	59
<b>Şekil 16:</b> Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (S100 40’lık büyütme).....	59
<b>Şekil 17:</b> Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (MAP 40’lık büyütme).....	60
<b>Şekil 18:</b> Grup 2’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (H&E 10’luk büyütme ).....	60
<b>Şekil 19:</b> Grup 2’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (H&E 40’lık büyütme ).....	61
<b>Şekil 20:</b> Grup 2’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (GFAP 40’lık büyütme) .....	61
<b>Şekil 21:</b> Grup 2’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (S100 40’lık büyütme ) .....	62
<b>Şekil 22:</b> Grup 2’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (MAP 40’lık büyütme) .....	62
<b>Şekil 23:</b> Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (H&E 10’luk büyütme) .....	63
<b>Şekil 24:</b> Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (H&E 40’lık büyütme) .....	63

<b>Şekil 25:</b> Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (GFAP 40’lık büyütme) .....	64
<b>Şekil 26:</b> Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (S100 40’lık büyütme) .....	64
<b>Şekil 27:</b> Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(MAP 40’lık büyütme ) .....	65
<b>Şekil 28:</b> Grup 4’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(H&E 10’luk büyütme) .....	65
<b>Şekil 29:</b> Grup 4’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(H&E 40’lık büyütme) .....	66
<b>Şekil 30:</b> Grup 4’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(GFAP 40’lık büyütme) .....	66
<b>Şekil 31:</b> Grup 4’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(S100 40’lık büyütme) .....	67
<b>Şekil 32:</b> Grup 4’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(MAP 40’lık büyütme) .....	67

## TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

<b>Tablo 1:</b> Dört grupta yer alan ratların sekiz hafta süresince haftalık elde edilen rotarod performans testi değerleri(saniye).....	52
<b>Tablo 2:</b> Her hafta sonunda her bir grup için elde edilen rotarod performans testi ortalama değerleri (saniye).....	53
<b>Tablo 3:</b> Grup1 ve Grup 2’de yer alan ratların sekiz hafta süresince haftalık elde edilen çift yönlü eğik düzlem açısı değerleri (derece).....	55
<b>Tablo 4:</b> Grup3 ve Grup 4’de yer alan ratların sekiz hafta süresince haftalık elde edilen çift yönlü eğik düzlem açısı değerleri (derece).....	55
<b>Tablo 5:</b> Her hafta sonunda her bir grup için elde edilen çift yönlü eğik düzlem açısı ortalama değerleri (derece).....	56

## ÖZET

### **Deneyisel Kafa Travması Modelinde İnsan Umbilikal Kordon Kanından Elde Edilmiş Kök Hücre Naklinin ve Nimodipinin Beraber Kullanımının Serebral Doku İyileşmesi ve Nörolojik Fonksiyonlara Etkisi**

Dr. Engin Düz

Travmatik beyin yaralanması sonrasında, sekonder yaralanma süreci ile beraber gelişen yıkım sürecinin durdurulması yada minimize edilebilmesi için birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda insanda standart bir tedavi protokolü ortaya konamamıştır. Kullanılan farmakolojik ajanların tedavi konusunda yetersiz kalması nedeniyle, travmatik beyin hasarlanmasında sekonder yaralanma sürecinin olumlu yönde atlatılması ve santral sinir sisteminin yeniden restorasyonu için hücresel tedavi yöntemleri gündeme gelmiştir. Biz de çalışmamızda, kök hücre yönünden zengin ve GVH hastalığı gelişme riski düşük, insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücreleri ve sekonder hasar üzerinde etkisi konusunda ortak bir sonuca varılmamış ve literatürde tartışmalı olarak duran nimodipini kullandık.

Çalışmamızda ratlar 4 gruba ayrıldı ve her grupta denek sayısı 6 rattan oluşmaktaydı (n=6). Grup 1'e sadece kraniektomi ve sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapıldı. Grup 2'ye kraniektomi ve sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapıldıktan hemen sonra, rezeksiyon alanına umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu enjekte edildi. Grup 3'e kraniektomi ve sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapıldıktan yarım saat sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal nimodipin verildi. Dördüncü gruptaki ratlara kraniektomi ve sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapılarak rezeksiyondan hemen sonra rezeksiyon alanına umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu enjekte edilerek rezeksiyondan yarım saat sonra 0,1 mg/kg

intraperitoneal nimodipin verildi. Grupların sekiz haftalık takipleri sürecinde haftalık olarak lokomotor sistem muayeneleri rotarod performans testi, çift yönlü eğik düzlem testi ile yapıldı. Sekizinci haftanın sonunda tüm gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Sekizinci hafta sonunda tüm gruptaki ratlar sakrifiye edilerek ilgili serebral alanlar histopatolojik inceleme için çıkarıldı. Gruptaki ratların histopatolojik incelemesi hematoksilin eosin, GFAP, MAP ve S 100 boyaları ile yapıldı.

Çalışmamızın fonksiyonel iyileşme sonuçları, insan umblikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre ile birlikte nimodipin kullanılan grubun (Grup 4) diğer gruplardan üstün olduğunu, grup 2'nin Grup 3 ve 1'den, Grup 3'ünde Grup 1'den üstün olduğunu göstermiştir.

Histopatolojik olarak yapılan incelemede tüm gruplarda hasarlanmış alanda işçi hücre (fibroblast) proliferasyonu, bazıları lipofuksin pigmenti içeren makrofaj kümelenmeleri, ödem saptanmıştır. Kök hücre ekimi yapılan Grup 2 ve Grup 4' de hasarlanan bölgede gelişen skar dokusunda MAP pozitif olarak, tüm gruplarda ise aynı alanlarda GFAP ve S100 pozitif izlenmiştir.

İnsan umblikal kordon kanından elde edilen kök hücre ile birlikte nimodipinin kullanılması bizim çalışmamızda, travmatik beyin hasarında fonksiyonel iyileşme bağlamında en iyi sonuçları sağlamış ve insan umblikal kordon kanından elde edilen kök hücrenin nöronal diferansiyasyon kapasitesinin olduğu ve fonksiyonel iyileşme üzerinde olumlu etki sağladığı çalışmamızda gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Travmatik beyin hasarı, Nimodipin, Umblikal kordon kanı, Kök hücre



## SUMMARY

**The effect of stem cell transferring derived from human umbilical cord blood alone and the usage of Nimodipin together with it on cerebral tissue healing and neurologic functions in experimental head trauma model**

Dr. Engin Düz

A lot of studies have been performed in order to stop or minimize the destruction period develops together with seconder injury after traumatic brain injury. A standart treatment schedule couldn't be found after many studies. As the pharmacologic agents are insufficient, cellular treatment modalities have become a current issue for saving from the seconder injury process in traumatic brain injury positively and restoring the central nervous system. We used CD34+ stem cells obtained from human umbilical cord blood which are rich of stem cells and have very low risk of GVH disease and Nimodipin that doesn't have a common result on its effect on seconder injury in our study.

In our study, the rats were divided into 4 groups and each group was formed of 6 rats (n=6). Only craniectomy and left frontoparietal cortical resection were performed in group 1. Stem cell suspension including CD34+ stem cells derived from human umbilical cord blood was injected rapidly after craniectomy and left frontoparietal cortical resection in group 2. 0,1 mg/ kg Nimodipin was administred intraperitoneally, 30 minutes after craniectomy and left frontoparietal cortical resection in group 3. In group 4, stem cell suspension including CD34+ stem cells derived from human umbilical cord blood was injected rapidly after craniectomy and left frontoparietal cortical resection site and 0,1 mg/ kg Nimodipin was administred intraperitoneally, 30 minutes after this process. The locomotor system assessments of the groups were made using rotarod performance test and incling plane test during the eight weeks follow-up. All groups were compared with the control group after

eight weeks. All rats were sacrificed after eight weeks and related cerebral sites were excised for histopathologic examination. Histopathologic assessment was made using hematoxylin eosin, GFAP, MAP and S 100 stains.

Functional healing results of our study have shown that the results of the group in which stem cells derived from human umbilical cord blood and Nimodipin were used together (group 4) were better than other groups, the results of group 2 were better than group 3 and 1, the results of group 3 were better than group 1.

In histopathologic examinations, spindle like cell (fibroblast) proliferation, macrophage accumulation some of which include lipofuscin pigment and eudema were seen in all groups. In stem cell injected groups, group 2 and 4, MAP was positive in the scar tissue formed in the injured site and GFAP and S100 were positive in all groups.

Usage of stem cell derived from human umbilical cord blood together with Nimodipin has provided the best results on functional healing in traumatic brain injury and it was shown in our study that stem cell has the capacity of neuronal differentiation and has positive effects on functional healing.

Key words: Traumatic brain injury, Nimodipin, umbilical cord blood, stem cell.

## GİRİŞ

Medeniyetin ilerlemesi ve teknolojideki hızlı gelişmeler yaşamın daha konforlu ve sağlıklı olmasını sağlamakla birlikte, çağın gereklerini yerine getirebilmek için zamanın kullanımının verimliliğini artırmak amacıyla iletişim ve taşıma araçlarının hızının artırılmasını gündeme getirmiştir. Artan hızın olumlu yönleri ile birlikte önlenmesi için büyük mücadele verilen olumsuz tarafları da bulunmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde artan trafik ve iş kazaları bu olumsuz taraflara birer örnektir. Genel olarak bu ülkelere baktığımızda trafik kazaları, damarsal hastalıklar ve kansere bağlı olarak ortaya çıkan ölümlerden sonra en sık üçüncü ölüm nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Trafik kazaları batılı ülkelerde ise 45 yaş altındaki ölümlerin önde gelen nedenlerindedir (1,2). Trafik kazalarının mortalitesinin ve morbiditesinin artmasında kafa travmalarının oldukça etkin olduğu önemli bir gerçektir.

Bu bağlamda insanlık tarihi kadar eski olan, dış mekanik kuvvetlerin serebral yapılara etkisi sonucu oluşan bilinç değişikliklerinin eşlik ettiği, kalıcı veya geçici, kognitif, fiziksel ve psikososyal fonksiyon yitimine neden olan dejeneratif ve konjenital olmayan patolojik durumları tarif eden kafa travması tüm dünyada önemli bir sorundur.

Kafa travmasındaki serebral hasar ya nöral yada vasküler yaralanma sonucudur ve doğrudan travma kuvvetleri nedeniyle (primer hasar) veya dolaylı olarak yer kaplayan oluşum, iskemi, diğer sekonder komplikasyonlar sonucu (sekonder hasar) oluşabilir. Fokal lezyonlar yapısal olarak belirli bir bölgede ortaya çıkar ve travmanın direkt etkisi nedeniyle gelişir; sekonder hasar ise fokal ya da diffüz beyin lezyonlarının neden olduğu beyindeki dinamik değişikliklerden kaynaklanır ki genellikle iskemik özelliktedir (3, 4).

Primer mekanik hasar ile tetiklenen sekonder hasar hemoraji iskemi ve reperfüzyonu içeren vasküler problemler, eksitoksisite,  $Ca^{+2}$  (kalsiyum) ile ilişkili sekonder hasar, sıvı elektrolit dengesizliği, immünolojik hasar, apoptozis ve mitokondrial disfonksiyonu içermektedir (4, 5).

Travma sonrası  $Ca^{+2}$ 'un hücre içine girmesi üç yolla olmaktadır. Bunlar hasar görmüş hücre membranı, voltaja duyarlı  $Ca^{+2}$  kanalları ve glutamat ile aktive olan  $Ca^{+2}$  kanallarıdır. Hücre içine aşırı kalsiyum birikimi sonucunda; serbest yağ asitlerinin salınımı, fosfolipaz A2 aktivasyonu,  $Ca^{+2}$  bağımlı adenozin 5- trifosfataz aktivasyonuna bağlı enerji rezervlerinin tükenmesi, toksik eikosanoid sentezi, serbest radikal oluşumu, reseptör proteinlerin kovalent modifikasyonunun bozulması, hücre iskeletinin mikrotubuler ve nöroflamentkomponentlerinin modifikasyonunun bozulması, mitokondrial oksidatif fosforilasyonun bozulması, aksonal dejenerasyon, proteaz, fosfataz, endonükleaz gibi litik enzimlerin aktivasyonu meydana gelir. Özellikle  $Ca^{+2}$  iyonunun nükleaz aktivasyonu DNA (Deoksiribonükleik asit) yapımını bozarak apoptozise neden olduğu bilinmektedir. Sonuç olarak hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonu artışı birçok mekanizma ile sekonder hasarın şiddetlenmesine neden olur ve  $Ca^{+2}$  iyonunun aşırı miktarda hücre içi kompartmana geçişi toksik hücre ölümünün son ortak yolu olarak karşımıza çıkmaktadır. Sekonder hasarın önlenmesine yönelik  $Ca^{+2}$  blokörleri denenmiş ve serebral kan akımını arttırarak iyileşmeyi olumlu yönde etkilediğine dair çalışmalar yapılmıştır (5, 6, 7, 8).

Travmatik beyin hasarlarından sonra efektif olmayan klinik tedaviler nedeniyle deneysel çalışmalar yeni müdahalelerin keşfini gündeme getirmiştir. Kafa travmalarına sekonder gelişen travmatik beyin hasarı için nörorestoratif iki yol mevcut olup bunlar hücre sel ve farmakolojik tedavilerdir (9). Hücre sel terapi deneysel çalışmalarla gündeme gelen yeni müdahalelerden biridir. Son zamanlara kadar merkezi sinir sisteminde rejenerasyonun olmadığı kabul ediliyordu. Son 10-15 yılda nöron ve astrositlerde rejenerasyonun olduğu ispatlanmıştır. Bunun sonucunda travmatik beyin hasarı ve merkezi sinir sisteminin diğer hastalıklarında umut verici

gelişmeler meydana gelmiştir. Kök hücre her türlü hücreyi oluşturabilen, farklılaşmamış ve karmaşık bir hücredir. Kendini yenileyebilir ve hasarlı dokuları ve organları tamir edebilme kapasitesine sahiptir. Kök hücrelerin nöron, astrosit ve oligodendrositlere dönüşme yeteneğinin olması nedeniyle kullanımları umut vaat etmektedir (10, 11, 12, 13).

Bu çalışmada, kafa travması sonrası serebral hasar gelişmiş hastaların nörolojik, psikolojik ve sosyal sorunlarının çözümüne umut olmak adına, akut deneysel kafa travması yapılan ratlarda insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücrenin ve farmakolojik ajan olarak nimodipinin tek tek ve birlikte kullanımının serebral doku iyileşmesi ve nörolojik fonksiyonları üzerinde klinik, morfolojik ve patolojik olarak yararlılığının araştırılmasını amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### TARİHÇE

Kafa travmaları çok eskiden beri hem medikal hem de sosyal yönleriyle hekimleri uğraştıran bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Bir anlamda nöroşirurji kafa travmalarının tedavisi ile başlamıştır denilebilir.

Avusturya ve Fransa'da cilalı taş devrine ait mezarlarda bulunan kafataslarının % 10'unda trepanasyon belirtileri görülmüştür (14).

Kafa travmaları ile ilgili ilk bilimsel rapor milattan önce 2800 yıllarında yaşayan Mısırlı hekim İmhotep'e aittir. İlk bilimsel yazının milattan önce 1600 yıllarında yazıldığı, papirüslerden yapılan çeviri sonucunda anlaşılmıştır. Thabes şehri yakınlarında bir mezardan çıkarılan ve milattan önce 1700 yıllarına ait olan bir papirusta İmhotep'e ait olan travmaların muayene tanı ve tedavi prensipleri belirtilmiştir. Bu papirusta yazılan 48 travma vakasının 15'i kafa travması ile ilgilidir. İmhotep kafa travmalarını tedavi edilir, edilebilir, edilemez olarak üç gruba ayırmıştır. Yüzyıllar sonra bugünde, bu gruplandırma geçerlidir, ancak tedavi edilemez kafa travmaları oranı çok daha aza inmiştir (15).

Anadolu'da erken bronz çağında İkiztepe-Samsun yöresinde trepanasyon yapıldığı, bronz çağında Kültepe yöresinde yaşamış Asurların trepanasyon 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 dallarını çaprazlayan, frontalden oksipitale uzanan lineer fraktüre sahip bir hastada, muhtemelen epidural bir hematomu boşaltmak için 11x6 cm boyutlarında serbest fleb kraniotomi gerçekleştirilmiştir. 13 tane burr hole açılmış ve bunlar bir keski yardımıyla birleştirilerek kemik kaldırılmış ve işlem sonrası tekrar yerine konulmuştur (14).

Eski İnkâ imparatorluğu mezarlarında bulunan kafataslarının incelenmesi, kafadaki trepanasyonların başlangıçta batıl nedenler daha sonra tedavi amaçlı kullanıldığını düşündürmektedir (14).

Hipokrat, kafa travmalarını sınıflandırmış ve bazılarında trepanasyonu önermiştir. Hiçbir kafa travmasının önemsenmeyecek kadar önemsiz veya ümitsizlik uyandıracak kadar ciddi olmadığını söylemiştir (15). M.Ö 7.yüzyılda Knidos (Datça)'da kurulan ilk tıp okulunda pek çok ünlü tıp adamı yetiştirilmiştir. Cos (İstanköy) adasındaki M.Ö. 460 yılında doğmuş olan Hipokrat'da bu bölgedendir. Hippokrat'ın yazıları trepanasyonun kaydedilmiş ilk tariflerini içerir. Avrupada tedavi amacı ile ilk trepanasyonlar Hipokrat (M.Ö.460- 355), Cornecius Celcus (M.S.1.yüzyıl), Galen (M.S.131-201) gibi eski Roma tıbbi doktorlarınca kullanılmıştır (14).

İbni Sina (Avicenna) M.S. 9.yüzyılda trepanasyonu önermiştir.(14). Büyük Arap cerrahı Abulcasis M.S. 11. yüzyılda özellikle çökme kırıkları ve birleşik kırıklarını trepanasyonla tedavi etmiştir (14). Zamanında papaların doktoru olan Guy de Chauliac (M.S. 1300- 1386) kafatası çökme kırıklarında cerrahi tedaviyi önermiş ve uygulamıştır (14). Ambroise Pare, 1510'da Fransa kralı 2.Henri'nin travmatik orbita üstü kafa içi hematoma ameliyatını yapmıştır (14). Berengorius Bologna Üniversitesi'nde bir profesör olan Capri'li Jacop, 1518'de kafa travmaları üzerine ilk kitabını yazmıştır. Bu kitap sadece nöroşirurji konuları üzerine yazılmış ilk kitaptır (14). 16. yüzyılda Fransız Jean L. Petit kompresyon, kontüzyon ve kompresyon ayırımı yaparken, İngiliz Pervical Pott kranioserebral travmalarda kap değil onun içinin önemli olduğunu yani kafatasının değil beynin önemini vurgulamıştır (14,15). 1870'lerde Macewen, seçilmiş intrakraniyal cerrahiye öncülük etmiştir. Tonnis ve Loew 19.yüzyılda kafa travması sonucu oluşan anatomik ve fizyolojik bozukluklara dikkat çekmişler, Russel, Symond ve Cairns ise travmalardan sonra kafa içi basıncının arttığını gözleyerek tedavi amacıyla dekompresyon fikrini ortaya atmışlardır (15).

Yirminci yüzyılda Tuebber ve Luine gibi nörofizyologlar travma sonrası ortaya çıkan beyin fonksiyon bozukluklarının anlaşılmasına yardımcı olmuşlardır.

Nihayet Teasdale ve Jenneth, travma mekanizmaları ile bilinç seviyesi takip etmede kullanılan GKS'yi (Gloskow Koma Skalası) tanımlamışlardır (15).

Savaşlar cerrahların travma hakkında daha çok şey öğrenmelerine neden olmuştur. II. Dünya Savaşı'ndan beri, kafa travmalarının tedavisinde iki ana gelişme olmuştur; 1958 yılında yoğun bakımın ne kadar önemli olduğu ortaya konmuştur. Kafa travmalı hastaların (hafif veya ciddi olsun) çok az bir bölümünde cerrahi gerektiği netleşmiştir. Önemli bir diğer gelişme ise, 1970'lerde BT'nin (Bilgisayarlı Tomografi) kullanım alanına girmesidir (15).

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

Kafa travmaları sonrası efektif olmayan tedaviler nedeniyle ve nöral travma ile ilgili yapılan çok çeşitli hayvan deneyleri travma sonrasında çok fazla sayıda nöroprotektif ajanın keşfi sağlamıştır. Nöroprotektif araştırmaların sonuçlarının umut kırıcı olması fetal doku ve kök hücre nakli gibi nöral rejenerasyon araştırmalarının öne çıkmasına ve hız kazanmasına sebep olmuştur (17).

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Kafa travmaları toplumda sık görülen önemli sağlık ve sosyo-ekonomik problemlere neden olan bir konudur (18, 19, 20).

Genel travmaya bağlı ölümlerin %50'si kafa travmasıyla bağlantılıdır. Spinal kord hasarına göre 10-40 kat daha fazla görülürler. Amerika Birleşik Devletleri'nde her sene yaklaşık 2 milyon kafa travması meydana gelmekte ve her 100 bin kişiden 175-200'ünde ağır kafa travması görülmektedir. Her yıl en az 75 bin kişi bu nedenle hayatını kaybetmektedir (21,22). Ülkemizde ise kafa travmalarına sekonder mortalite



oranı ise 100000 de 10 dur. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırmada genç yaş populasyonundaki ölümlerde travma birinci neden olarak gösterilmiştir. Tüm yaş gruplarında ise; kardiyovasküler hastalıklar ve kanserden sonra ölüm nedenleri içinde üçüncü sırada yer almaktadır (23,24).

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 düşme eğilimine girmekte, 60 yaşından sonra ise tekrar yükselmektedir. Kadın/erkek oranı ise 1/2-1/2,8 oranında değişmektedir. Sosyo-ekonomik seviyesi düşük toplumlarda kafa travması görülme oranı daha siktir (25).

Kafa travmasına bağlı ölümlerin %50'si hastaneye ulaşmadan gelişmekte hastanedeki ölümlerin 2/3'ü ise ilk 24 saat içinde olmaktadır. Bu ölümlerin 1/3'ü primer beyin hasarına bağlı iken, sekonder beyin hasarına bağlı ölümlerin %90'ı kontrol edilemeyen kafa içi basınç artışı ile ilgilidir (26).

Son yıllarda, kafa travmalarının fizyopatolojisi hakkındaki bilgilerde artış, yoğun bakımdaki hasta izleme ve bakım tekniklerindeki gelişmelere bağlı olarak mortalite oranı %20 düzeylerine kadar azalmış ve prognozda belirgin düzelmeler gözlenmiştir (24).

## **ETİYOLOJİ**

Kraniyoserebral kafa travmaları doğumla başlar. Her yaş ve cinsten insan herhangi bir nedenden dolayı kafa travmasına maruz kalabilir. Yeni doğanlarda vakum ve forseps uygulamaları, beşikten veya kucaktan düşmeler en sık nedendir. Çocukluk döneminde ise düşme, trafik kazaları, oyuncakların başa çarpması ve darp travma nedeni olabilir (27).

Bütün travmaların %20-50'sini motorlu araç kazaları oluşturur ve kafa travmalarının %70'inden sorumlu olup kazalarda ölenlerin %60'ında esas ölüm

nedenini teşkil eder (27). ABD’de kapalı kafa travmalarının en sık nedeni trafik kazalarıdır (motor yaralanmaları). Bunu ikinci sırada düşmeler ve üçüncü sırada darp izler. Savaşlarda ölümlerin büyük yüzdesini kafa travmaları oluşturur (28).

### **KAFA TRAVMALARININ SINIFLANDIRILMASI**

Kafa travmaları genel olarak; 1) mekanizması, 2) şiddeti, 3) morfolojisine göre üçe ayrılır (29).

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

Şiddeti: Nörolojik bulguları değerlendirmek için GKS kullanılır. En yüksek skor 15 iken, en düşük skor da 3’tür. GKS 8 veya altı koma olarak değerlendirilir. Buna göre travmanın düzeyi hafif (GKS 13-15), orta (9-12), ciddi (3-8) travma olarak ayrılabilir.

Morfoloji: Morfolojik olarak kafa travmaları 2 gruba ayrılabilir; 1) kafatası kırıkları, 2) kafa içi lezyonlar ( 29).

### **KAFA TRAVMALARININ MEKANİZMASI**

Kafadaki mekanik etki tipleri statik veya dinamik olarak sınıflandırılır (30).

Statik etki, 200 ms’den daha uzun sürede meydana gelen yavaş etkileri kapsar. Genellikle kafa tabanı veya kafatasında meydana gelen kırıklar ile sonuçlanır.

Dinamik etki daha sık görülür. 50 ms.den daha kısa sürede ve hızlı kuvvetler hasara neden olur. Dinamik etkinin 2 tipi vardır: çarpma ve itme. İtici etki, başın

hareketlenmesi veya hareket eden başın çarpmadan durması ile meydana gelir (31). Burada meydana gelen yaygın beyin hasarı ve serebral konküzyon azdır. Çarpma, dinamik etkinin en sık görülen tipidir ve genellikle bağlantılı, hareketsiz güçlerin bir birleşimi sonucunda olur. Çarpma enerjisinin çoğu, başa kontakt güç olarak iletilir ve bunun sonucunda “kontakt fenomeni” olarak bilinen bir etki kompleksi oluşur. Kontakt fenomeni, çarpma noktasının yanında veya uzağında meydana gelen mekanik olaylar grubudur. Bu fenomenin önemi, çarpan aletin boyutuna ve kontakt noktasına iletilen gücün büyüklüğüne göre değişir. İletilen güç, kitle, yüzey alanı, hız ve çarpan cismin sertliği ile saptanır. Eğer lokal kafatası deformitesinin derecesi kafatası toleransını aşarsa, kırık meydana gelir. Objenin yüzey alanı 10 cm den küçükse penetrasyon, perforasyon veya lokalize çökme kırığı daha olasıdır. Ek olarak, çarpma noktasından kafatası boyunca ve direkt beyin içinde şok dalgaları yayılır. Şok dalgaları doku basıncında lokal değişikliklere neden olur. Eğer bu değişiklikler yeterli beyin distorsiyonu ile sonuçlanırsa, küçük hemoraji formunda lokal intraparakimial beyin hasarı oluşur. Doku hasarının nedeni baskıdır; sıkıştırıcı, gerici, kesici olabilir (30,31).

Kafa travmasında etkilenen 3 önemli doku; kemik, vasküler doku ve beyin dokusudur. Bu dokular sıkışma, gerilme ve yırtılmaya olan toleranslarına göre etkilenirler (31).

Kafa travmalarının çoğunda iki temel mekanizma vardır; 1) bağlantılı hasarlar, 2) hareketsiz hasarlar. Bağlantılı hasarlar başın hareketi veya akselerasyonu olmadan meydana gelirler. Kontakt güçler 2 tiptir; çarpmanın hemen yanında meydana gelen lokal etkiler (lineer ve çökme kafatası kırıklarının çoğu, bazı kafatabanı kırıkları, epidural kanamalar ve kup kontüzyonlar), çarpma alanına uzak meydana gelen etkiler (kafatası kırıkları, kafa tabanı kırığı, kontrkup veya ara kup kontüzyonlar). Her iki durumda da kontakt güçler fokal hasara neden olurken, yaygın beyin hasarı oluşturmazlar. Hareketsiz hasarlar (başın hareketine bağlı) sıklıkla akselerasyon ve deselerasyon hasarları olarak adlandırılırlar. Mekanik açıdan bakıldığında akselerasyon ve deselerasyon aynı fiziksel fenomene sahiptir, sadece yönleri farklıdır. Akselerasyonda başın sagittal planda hareketi arkadan öne doğru

iken, deselerasyonda önden arkaya doğrudur. Bu iyi bilinen fenomende; kafatası içinde beyin bir dereceye kadar serbest hareket edebilmesi ve bu nispi hareketsizliğin bir sonucu olarak beyin kafatası hareketinin gerisinde kalması nedeniyle meydana gelir. Beynin kafatası ve duraya göre rölatif olarak az hareketi sonucunda beyin yüzeyinde ve özellikle subdural köprü venlerinde gerginlik oluşur. Bu birçok subdural kanamanın mekanizmasıdır. Ayrıca beyinin kafatasındaki hareketi kontrkup lezyonların oluşmasına neden olur. Başın bu hareketinin ikinci zararı; beyin parankiminde konküzyon, diffüz aksonal hasar ve buna bağlı derin peteşiyal kanamalarının olmasıdır. Bu hasarın şiddeti ve uzanımı travmanın büyüklüğüne, oranına, süresine, yönüne ve tipine bağlıdır. Akselerasyonun üç tipi vardır; translasyonel, rotasyonel, anguler. Translasyonel akselerasyon beyinin ağırlık merkezi (yaklaşık olarak; pineal bölge) düz bir hatta hareket ettiğinde meydana gelir. Yaygın beyin hasarı yapmaz ama kontrkup lezyon, intraserebral ve subdural kanama gibi çeşitli fokal hasarlar yapabilir. Rotasyonel akselerasyon beyin ağırlık merkezi hareket etmeden rotasyonu ile meydana gelir. Anguler akselerasyon translasyonel ve rotasyonel akselerasyonun birleşiminden meydana gelir. Beynin merkezi anguler olarak hareket eder. Baş boyun anatomisine bakıldığında en sık anguler akselerasyon görülür. Angulasyon merkezi üst servikal seviyeye çıktıkça rotasyonel komponent çoğunlukta iken, merkez alt seviyelere indikçe translasyonel komponent ön plana geçer. Translasyonel ve rotasyonel hareket mekanizmalarının birleşimi olduğu için, anguler akselerasyon en zararlı beyin hasarı mekanizmasıdır. Kafatası kırığı ve epidural kanama dışında kafa travmasının bilinen her tipi anguler akselerasyon ile meydana gelebilir (30,31)

## **KAFA TRAVMALARININ PATOFİZYOLOJİSİ**

Kafa travmalarının patofizyolojisi birincil ve ikincil hasar olmak üzere ikiye ayrılır. Birincil hasarlar çarpma sırasında meydana gelen hasarlar olup ikincil hasarlar, bu sürecin sonucunda ortaya çıkan hasarlardır. Birincil hasarlar, beyin metabolizmasında, iyon dengesinde, intrakraniyal hemodinamikte, beyin sıvı bölümlerinde ardarda ikincil değişikliklerin oluşmasını tetikler (32).

## **Birincil Hasarlar**

### **Skalp Yaralanmaları**

Ufak kontüzyonlardan tüm skalp hasarına kadar değişik derecelerde olabilir. Skalpte geniş laserasyonlar şoka neden olabilen ciddi hemorajiler ile sonuçlanabilir. Skalp travması, kranyal ve beyin hasarının yeri, kafaiçi enfeksiyonların giriş yerini göstermesi açısından önemli bir ipucu sağlar. Ciddi görünen birçok skalp yarası önemsiz olabilirken, önemsiz görünenler ciddi olabilir (33).

### **Kalvaryum Yaralanmaları**

**Lineer Kırık:** Çarpma sırasında kontakt etkiler sonucunda lineer kırıklar meydana gelir. Kafatası kırıklarının %80'ini meydana getirir. Çarpma bölgesinde veya uzak bir yerde gelişebilir. En önemli komplikasyonu epidural kanamadır (36). Ciddi kafa travmalı hastaların %62'sinde lineer kırık saptanmıştır. En önemli geç komplikasyonu ise leptomeningeal kistlerdir. Diyastatik kırıklar, lineer kırıklar olup sütürler boyunca uzanarak, sütürlerde ayrılmaya neden olurlar (34).

**Çökme Kırığı:** Kalvaryumun iç tabulasındaki parçalar, en azından diploenin kalınlığı kadar içeriye yer değiştirirse bu kırık çökme kırığı olarak adlandırılır. Hastaların %11'inde görülür. Basit çökme kırıklarında skalp ve dura sağlam, beyin dokusuna kompresyon fazla yoktur. Açık çökme kırıklarında çökme gösteren bölümün üzerindeki skalpte yaralanma vardır, ancak dura sağlamdır. Komplike çökme kırıklarında ise çökme gösteren bölümün üzerindeki skalp yaralanmış, dura zedelenmiş, durayı delerek beyin dokusuna penetre olmuştur (34).

**Kaide Kırıkları:** Kaide kırıkları genellikle, kalvaryal çatıda oluşan bir kırığın uzanımı sonucunda oluşur. Perinazal sinüsleri ve mastoid hava hücrelerini kapsayan bu kırıklarda dural yırtığının olması hastalarda menenjit ve beyin absesi riski yaratır. Rinore, otere ve travmatik pnömosefali oluşturabilir. Bu kırıklar genellikle 2 grup altında toplanır. Kırık, petröz piramidi yatay geçerse yatay kırık, uzun eksene paralel ise uzunlamasına kırık olarak adlandırılır. Yatay kırıklarda sıklıkla 7. ve 8. kraniyal sinirlerde hasar ortaya çıkarken, bu vakalarda hemotimpanyumda sık rastlanır. Ön fossa tabanı ile ilişkili kırıklarda sıklıkla olfaktör sinir yaralanması görülür. Kırık

optik kanalı da kapsıyorsa, optik sinir yaralanması da gelişebilir. Klivustaki kırıklar 6. kranyal sinir hasarı yapabilirken, nadiren kaide kırıkları trigeminal ganglion hasarı meydana getirebilirler. Kaide kırıkları, travmatik karotikokavernöz fistül, petröz ve kavernöz karotid arterin travmatik anevrizması ve nadiren kafaiçi karotid arter tıkanması ile ilişkilidir. Önemli bulgulardan biri de BOS fistülleridir (33, 34, 35).

### **Kafaiçi Yaralanmalar**

#### **Fokal Kafaiçi Lezyonlar**

**Kommosyo (Konküzyo) Serebri:** Travmadan hemen sonra, kısa bir süre için şuur kaybı ile karakterize olan klinik tablodur. Kommosyo serebri, beyinde patolojik bir değişiklik olmadan kısa süreli bilincin kaybolması anlamına gelir. patofizyolojik olarak beyin sapındaki uyanıklık durumunu idare eden retiküler formasyondaki geri dönüşümlü fonksiyon bozukluğu ile izah edilmektedir (28).

**Kontüzyo ve Laserasyo Serebri:** Kontüzyon, beyin yüzeyi ile kafa tabanındaki kemik çıkıntıların etkileşimi sonucu meydana gelen hasarlardır. Kontüzyonda yüzeydeki pia-araknoid sağlam iken, laserasyonda yırtılmıştır (33,34). Sıklıkla bir girusun üst kısmını içerir ve kama şeklindedir, apeksi nöral parankime doğru uzanır (33). Genellikle frontal polter, orbital giruslar, sylvian fissür üzerindeki ve altındaki korteks, temporal polter, temporal lobların dış ve alt yüzleri etkilenir (34). Travmaya veya spesifik anatomik yapılara göre 6 tipi vardır: kup, kontr-kup, ara-kup, süzülme (gliding), herniasyon ve kırık kontüzyonlar (33). Çarpma noktasının altında, kırık olmadan meydana gelen kontüzyonlar kup kontüzyonlar, eğer kafatasında kırık varsa kırık kontüzyonlar, çarpma noktasının karşı tarafında meydana gelenler ise kontr-kup kontüzyonlar olarak isimlendirilirler. Gliding kontüzyonlar, serebral hemisferin üst kenarı boyunca uzanan fokal kanama alanlarını içerir. Sıklıkla simetriktir ve kortekse komşu beyaz cevheri tutar. Ara kontüzyonlar beyinin daha derin yapılarını (korpus kallozum, bazal ganglia, hipotalamus, beyin sapı) etkileyen hemorajik kontüzyonlardır. Herniasyon kontüzyonları, parahipokampal giruslar ve tonsillerdeki hasarı tanımlamak için kullanılan bir terimdir (33,34). Kontüzyonda doku ve damar sistemi sağlamdır, kapiller staz meydana gelir, BOS (Beyin Omurilik Sıvısı) Emilimi azalır ve ödem oluşur. Yer yer

peteşial kanamalar da meydana gelebilir. Hücre seviyesindeki değişiklikler kısmen geri dönüşümsüzdür. Laserasyonda, damarlar yırtılmış ve beyin dokusunun bütünlüğü bozulmuştur. Sinir dokusu lezyonu geri dönüşümsüzdür ve glial nedbe dokusu ile iyileşme gösterir (28).

**Epidural Kanama:** Çoğunluğu travma sonrası oluşan, dura ve kalvaryaya arasında kan birikmesi sonucunda oluşur. Genellikle akut lezyonlar olarak karşılaşılsa da kronik olarak da meydana gelebilir. Tüm hasar tipleri arasında görülme oranı %2'dir. Erişkin hastaların %85'inde eşlik eden bir kafatası kırığı vardır. Sıklıkla temporal bölgede meydana gelir. Meningeal vasküler yapıların yırtılması sonucunda oluşur. Sıklıkla arteriyel kanamaya bağlı olmakla beraber, venlerin hasarı (temporal bölge dışında, diploik ve dural venlerden, venöz sinüslerden veya bu iki yapıyı birleştiren oluşumlardan kaynaklanan venöz kanamalar) görülebilir. Kanama büyüdükçe kalvaryumdan durayı ayırarak oval bir kitle oluşturur (33,34).

**Subdural Kanama:** Kanın dura ile araknoid zar arasındaki subdural mesafede toplanması sonucunda oluşur. Epidural kanamalardan daha siktir ve daha az sıklıkla kafa travması sonucunda olur (37). Bu kanamalar genellikle, köprü venlerin yırtılması sonucunda meydana gelir (38). Subdural köprü venlerinin hassas olması, yüzeysel yerleşimi ve kısa süreli yüksek gerginlik yaratan başın akselerasyonu buradaki nedendir. Sıklıkla, beyin hasarı (sıklıkla yaygın aksonal hasar) ile birliktedirler (33). Subdural kanamalar akut, subdural ve kronik olarak tanımlanırlar. Kanama pıhtı ve kandan oluşuyorsa (travma sonrası ilk 48 saatte) akut, pıhtılı ve sıvı kan karışımı varsa (travma sonrası 2-14.günler arası) subakut, sıvı ise (travma sonrası 14.günden sonra) kronik olarak sınıflandırılmaktadır. Kanama bazen ksantokromik sıvıdan oluşan kan pıhtısı içerebilir. Bu durum "subdural higroma" olarak isimlendirilir (34).

**Subaraknoid Kanama:** Kapalı kafa travmalarında sık görülen, subaraknoid alana olan kanamalardır. Kortikal kontüzyon ve laserasyon olmadan da bulunabileceği gibi, hemen her zaman kortikal kontüzyon ile ilişkilidir. Yırtılan

damarların büyüklüğüne ve tipine göre subaraknoid alanda kanın birikimi kitle etkisi yaratabilir. Sıklıkla, ventriküler sistemden BOS çıkışını veya beyin verteksteki pacchionian granülasyonlarını tıkararak BOS emilimini engelleyerek, normal BOS akışını bozabilir. BOS geçişi ve emiliminin engellenmesi beyin herniasyonuna neden olan KİB (Kafa İçi Basınç) artışına ve ikincil beyin lezyonlarına neden olabilir (33,34).

**Intraserebral Kanama:** Sıklıkla frontal-temporal loblardaki beyaz cevherde yerleşirler, sıklıkla kontüzyon ve subdural kanamayla ilişkilidirler. Travma sırasında beyin içi damarların direkt yırtılması sonucunda oluşur (33,34).

### **Yaygın Kafaiçi Lezyonlar (Yaygın Aksonal Hasar)**

Ciddi kafa travmalı hastaların yaklaşık %50'sinde görülürler. Kitle etkisi oluşturan bir lezyonun eşlik etmediği ciddi yaygın aksonal hasar vardır ve kafa travması sonrası ölümlerin %35'ine neden olur. Yapısal anormallikler sıvı perküsyonuna bağlı, KİB artışı veya hipoksi/iskeminin olmadığı anguler akselerasyonu sonucu oluşur (34). Şiddetli olmayan kafa travmalarında bile kısa sürede ortaya çıkan bilinç kaybı ve koma ile karakterlidir (36).

Aksonal hasarı olan hastalarda 3 farklı özellik vardır. Bunlar; 1) Korpus kallozumdaki fokal bir lezyon 2) Üst serebellar pedinküle komşu, arka beyin sapının arka yan bölümünde çeşitli boyutlarda odaksal lezyonlar 3) Aksonların yaygın hasarının mikroskopik olarak gösterilmesi (33,34).

### **Diğer Tip Birincil Hasarlar**

**Damarsal Lezyonlar:** Travmadan sonra ölen hastalarda sıklıkla beyin hemisferlerinde ve beyin sapında çok sayıda peteşiyal kanamalar vardır. Bu tip bir yaralanma yaygın damarsal hasar olarak adlandırılır (34,37). Bunlar, arteryel, venöz veya kapiller kanamalardır. Karotikokavernöz fistül kafa travmalarının sık olmayan başka bir sonucudur. Kavernöz sinüsü yatay olarak geçen kaide kırıkları ile ilişkilidir. Sık olmamakla birlikte kafaiçi arterlerin travmatik anevrizması da görülebilmektedir. Travmatik anevrizmaların çoğu orta serebral arterin yüzeysel



dallarında meydana gelir. İkinci sıklıkla ön serebral arterlerin periferal dallarında görülür (34).

**Beyin Sapı Yaralanması:** Buradaki birincil hasarın bir tipi; pons ve medulla arasındaki bileşkenin yırtılması sonucu oluşan, beyin sapının birincil hasarıdır (34). Beyin sapı travmalarının bir diğer tipi; mezensefalon-pons bileşkesindeki fokal veya masif yırtılmalarıdır (34). Direkt fokal hasarların üçüncü tipi; klivus kırıkları ile ilişkili olan, bazen ponsun striat parçasının, odaksal, yüzeysel yırtılması ile birlikte olan direkt kontüzyonlardır. Dördüncü tip ise; medullanın travmatik yırtılması veya üst servikal kordan tam ayrılmasıdır (34).

**Kraniyal Sinir Hasarları:** En sık rastlanan defisit koku duyusunun kaybıdır. Frontal lobların alt yüzünü etkileyen kontüzyonların sonucudur (34). Orbita ve ön kranyal fossa kırıkları optik sinir hasarı ile ilişkili olabilir. Temporal kemiğin petröz parçasını içeren kırıklarda 7. ve 8. kranyal sinir hasarı görülebilir (34). Heinze, 3. kranyal sinir yırtılmasını ve kısmi avulsiyonunu tanımlamıştır. Kaide kırıkları ile ilişkili olarak 4. 5. 6. kranyal sinirlerin yırtılması ve avulsiyonları da bildirilmiştir. Oksipitosfenoid sinkondrozin ayrılması ile 6.kranyal sinir hasarı da görülmüştür (34).

**Hipotalamik Yaralanma:** Kapalı kafa travmalarında hipofiz ve hipotalamusun travmatik lezyonlarına sık rastlanılır. Bu bölgedeki hemorajik ve iskemik nekroz oranı %40-60'dır (33). Travma ile hipofiz stalkı yırtılabilir ve buna bağlı hipofiz bezi ön lobunda yaygın infarkt meydana gelebilir. DI (Diabetes İnsipidus) veya hipopitüitarizm gibi ciddi panhipopitüitarizm ile tek bir hipofiz hormonunun eksikliği görülebilir. Vücut ısısındaki değişiklikler hipotalamus hasarını gösterebilir. Supraoptik ve paraventriküler nukleuslarda ve mamiller cisimlerde peteşiyal kanamalar görülebilir (33,34).

**Korpus Kallozum Yaralanması:** Korpus kallozum lezyonları sık olarak meydana gelir (34). Buradaki lezyonlar, akut damarsal yaralanma, beyin yağ embolisi ve suprakallosal herniasyona bağlı perikallosal arterlerin beslediği bölgenin infarktı gibi nedenlere bağlıdır.

## **İkincil Hasarlar**

Sekonder yaralanma primer yaralanmaya yanıt olarak dakikalar, saatler veya günler sonra gelişebilir. Nöronal harabiyet ve hücre ölümüne yol açarak klinik kötüleşme oluşturur. Sekonder beyin hasarı oluşturduğu bilinen durumlar sistemik ve kafa içi nedenler olarak ikiye ayrılabilir (33).

## **Sistemik Nedenler**

Ciddi kafa travması sonrası sık olarak ortaya çıkan, mortalite ve morbidite üzerinde oldukça etkili olan sistemik nedenlere bağlı beyin hasarlarından korunmak mümkündür. Deneysel çalışmalar ile erken dönemde ortaya çıkan hipoksi ve hipotansiyonun serebral perfüzyon ve oksijenasyonun kritik sınırların altına inmesine sebep olarak kötü çıkış tablosu oluşumunu arttırdığı doğrulanmıştır (33,38).

Hipoksi: Kafa travmalarında hipoksi mevcudiyetinin mortalite oranını %24 ile 50 arasında artırdığı gösterilmiştir (39).

Hipotansiyon: Acil servislere veya yoğun bakım ünitelerine getirilen travmalı olguların yaklaşık %35'inde sistemik hipotansiyon saptanmıştır. Erken dönemdeki hipotansiyonun mortalite oranını iki katına çıkardığı gösterilmiştir (39).

Hiperkapni: Serebrovasküler dilatasyon oluşturarak, kafa içi basıncını ve kitle etkisini artırır. Travma sonrası metabolik beyin asidozu ile birliktelik gösterir. Birçok araştırmacı bu etkinin nörolojik iyileşmeyi kötü yönde etkilediğinde birleşmektedir (40). Bununla birlikte son yapılan çalışmalarda, sıklıkla tedavi amacı için uygulanan kontrollü hiperventilasyona bağlı ileri derecede hipokapninin de eşit düzeyde zararlı olduğu gösterilmiştir.

Hipokapni: Vazokonstriksiyon, serebral kan volümünde ve serebral kan akımında azalmaya neden olmaktadır. Serebral kan akımındaki uzun süreli azalma beyin yaralanmış bölgelerinde iskemi riskini arttırmaktadır. Aşırı hipokapni anaerobik metabolizmanın olduğu yerlerde vazokonstriksiyona yol açarak laktik asidozun artmasına neden olur (41,42).

Hipertermi: İskemi çalışmalarındaki hipertermi (39°C'nin üzerinde), eksitotoksik nörotransmitterlerin salınımının artması, proteinkinaz C aktivite değişikliği ve iskemik beyin hasarının fizyopatolojik etkilerinin artması ile görülmektedir. Deneysel travma çalışmalarında hipoterminin nöroprotektif etkisi ortaya konulmuştur (43,44).

Diğer Sistemik Nedenler: Hipoglisemi, hiperglisemi

### **İntrakraniyal Nedenler**

Beyin şişmesi: Kapalı kafa travması sonrası yaygın beyin şişmesinin 20 ila 30 dakika gibi kısa bir sürede oluştuğu bildirilmektedir. Bu şişmenin nedeni vasküler dilatasyon, serebral ödem veya her ikisinin birlikteliğidir (45).

Beyin ödemi beyin dokusunun, su içeriğinin artması sonucunda total kitlesinin artması ile karakterizedir. Ciddi kafa travmaları sonrası çıkış durumunun belirlenmesindeki önemli faktörlerden biridir (46). Beyin, KBB (kan-beyin bariyeri) tarafından anatomik ve fonksiyonel yönden, vasküler (arterler, kapillerler ve venler), hücre içi ve dışı beyin omurilik sıvısı ve intertisyel sıvı olmak üzere üç kompartmana ayrılmıştır. Son 25 yıl içinde beyin ödemi sınıflandırmaları ortaya konmuştur. Patogenezine göre beyin ödemi sınıflandırması 5 gruba ayrılarak yapılmaktadır (47). Vazojenik ödemde KBB açıktır, öncelikle damar dışı hücre dışı bölümlerde olacak şekilde, net bir su artışı vardır. KBB'deki açıklık nedeniyle su ve solutler beyin dokusuna girer. Buradaki sıkı bileşkeler nedeniyle sadece yağda çözünebilen maddeler hücre membranını serbestçe yaygın olarak geçebilirler. Glukoz gibi polar maddeler için taşıyıcı sistemler gerekir. KBB bütünlüğü bozulduğunda iyonlar beyine girebilirler ve bu da beyine su çeken ozmotik güçlerin oluşmasına neden olur (48). Hücrel (sitotoksik) ödem sıklıkla metaboliktir, KBB bozulmadan hücre şişmesi meydana gelir (48). Birincil neden iskemi sonrası oluşan hipoksi (kan akımı < 12 mL/100gm/dk) ve buna bağlı Na/K ATPaz (Sodyum/Potasyum Adenozin Trifosfaz) pompasının bozulmasıdır. Hücre içine sodyum girişi, hücre dışına potasyum çıkışı olur ve bunu pasif difüzyonla hücre içine su girişi izler (49). Bullock ve ark., masif astrositik şişmenin (sitotoksik ödemin) hasardan 3 saat-3 gün sonra

görüldüğünü, damar çevresindeki ayaksı çıkıntılarda en fazla olduğunu ve alttaki bazı kapillerlere bası yaptığını bildirmiştir. Sıkı bağlantılarda (tight junction) hasar yoktur. Nöronal hasar en fazla, travmadan 3-11 gün sonra bildirilmiştir (48). İnterstisyel ödem drenaj kanallarının bloke olmasının bir sonucu olarak gelişir. Hücre dışı sıvı boşluğunda sıvı birikimi ve proksimal dokuların genişlemesi ile meydana gelir. Hızla ilerleyen ventriküler genişleme sırasında yüksek basınçlı BOS ependim eşliğini geçerek ventrikül çevresi beyaz cevher aralıklarına sızar. En karakteristik şekilde obstrüktif hidrosefalide görülür (50,51). Hidrostatik ödem yaygın beyin hasarı sonrası beyin otoregülasyonunun kaybolması beyin kapiller yatakta hidrostatik basıncın anormal artışına ve sıvının damar yatağından interstisyel mesafeye geçmesine neden olur (49). Hipoozmolar ödem beyin hasarı sonrası oluşan hiponatremiye ( $Na < 120 \text{mEq/L}$ ) ikincil olarak gelişir (49).

Serebral hiperemi, travmatik vazoparalizi ve serebral hipervoleminin serebrovasküler genişlemeye yol açarak beyin şişmesi ve KİB artışı oluşturduğu klinik ve deneysel olarak gösterilmiştir. Ciddi kafa travmalarında, hipotalamus ve beyin sapındaki yaralanmaya bağlı oluşan serebral vazoparalizi, serebral kan akımının volüm artışını tetikler. Sonuçta, serebral şişme oluşmakta, kafa içi basınç artmakta, serebral perfüzyon basıncı azalmakta ve venöz dönüş engellenmektedir (52,53).

Beyin herniasyonları: Herhangi bir nedene bağlı kafa içi kitle artışı (hematom, abse veya beyin ödemi) beyin herniasyonuna yol açabilir. Bu durum ikincil olarak sıkışmış beyinde iskemi oluşturarak, tüm elektriksel, metabolik ve biyokimyasal olayların bozulmasına yol açabilir (54).

Artmış kafa içi basınç: Ciddi kafa travması sonrasında olguların %72'den fazlasında KİB artar (54). Kafa travması sonrası artmış KİB ile kötü çıkış durumu arasındaki ilişki çok net olarak ortaya konmuştur. Artmış KİB ile nörolojik kötüleşme arasındaki ilişki ise net değildir. Fakat serebral kan akımındaki azalma ile ilişkisi açıktır (55). Genel olarak, KİB'de artma, yer kaplayan lezyon veya BOS akımında tıkanıklık olması sonucunda ortaya çıkar. Travmatik beyin

yaralanmasından sonra, parankimal kompartman farklı mekanizmalar ile artabilir. En sık görülen mekanizma serebral ödemdir. Travma sonrasında, fizyolojik, iskemik veya eksitotoksik mekanizmalarla, genellikle aynı anda vazojenik ve sitotoksik ödem oluşur. Beyin ödemi yalnız kitle etkisi ile KİB'i artırmaz, burada parankimin viskoelastik durumu ve kompliyansıda önemlidir. Ciddi kafa travması sonrası olguların %31'inden fazlasında basınç otoregülasyonu büyük oranda bozulmuş olabilir (56). Deneysel travmatik beyin yaralanması çalışmalarında akut dönemde glikolitik mekanizmanın belirgin olarak arttığı gösterilmiş, oysa oksidatif metabolizmada değişiklik saptanmamıştır. Bu dönemi takiben nörolojik fonksiyonların geri gelmesine kadar olan sürede yaygın serebral metabolik azalma oluşmaktadır. Artmış glikolitik dönem ilk 4 ila 5 güne uzamakta, takiben oluşan azalmış glikolizis dönemi 6 ayda sonlanmaktadır. Erken travma sonrası dönemde serebral glikolizis ile SKA (serebral kan akımı) arasındaki anlamlı ilişki, oksijenin metabolizma oranı ile karşılaştırıldığında görülmemektedir. Mevcut bilgiler kafa travması sonrası SKA ile metabolizma arasındaki ilişkiyi açıklamak için yeterli değildir. Bu durumun açıklanması için daha ileri çalışmalar gerekmektedir. SKA metabolik ihtiyaç için yetersiz ise iskemi oluşur. Bu nedenle kafa travmasına bağlı ölümlerde, beyinde iskemik nekrozu gösteren nöropatolojik bulgular sıklıkla mevcuttur. (53)

**Travma Sonrası Oluşan Nöbetler:** Travma sonrası ortaya çıkan nöbetler, ikincil hasarı tetikleyen önemli nedenlerdendir (57).

**Kafa İçi Enfeksiyonlar:** BOS fistülleri, açık ve penetran kafa yaralanmaları, KİB monitörlerinin uygulanması ve cerrahi girişimler kafa travmaları sonrası kafa içi enfeksiyon için risk faktörüdür.

**Yağ Embolisi:** Ciddi kafa travması geçiren hastalarda sıklıkla ekstremitte kırıkları da bulunur ve bu durum sistemik yağ embolisi oluşumu açısından bir risk faktörüdür. Embolilerin çoğu beyaz cevherde görülür, çünkü damarların çoğu zayıf kollateral dolaşımın olduğu son arterlerdir (57).

## **Sekonder Hücre Hasarında Biyokimyasal Mekanizmalar**

### **Oksidatif Hasar ve Serbest Radikaller**

Beyinde travma sonrası oluşan iskemik dokunun reperfüzyonu sırasında gerçekleşen reoksijenasyon bir yandan nöronal canlılığın devamını sağlarken diğer yandan da reaktif oksidanların oluşumuna yol açan sayısız enzimatik oksidasyon reaksiyonu için substrat olarak gerekli olan oksijeni ortama getirmektedir. Oksijenin indirgenmesini izleyen dönemden süperoksit, hidroperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalının dahil olduğu birçok reaktif oksijen türü oluşmaya başlar. Hidroksil radikalleri son derece aktif oksidanlardır. Bu radikaller hücrede lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarını başlatırlar. Oksijen kaynaklı radikallerin, özellikle membranlardaki lipid yapılarında bulunan doymamış yağ asitlerinin reaktif metilen gruplarından allilik bir hidrojen atomunu koparmaları ile başlayan lipid peroksidasyonu reperfüzyon hasarının en önemli nedenidir. Beyinde iskeminin derinliği süresi ve reperfüzyonda oluşan reaktif oksidan miktarı ile ilişkili olarak hücrenin temel makromoleküler yapılarında meydana gelen değişiklikler nedeniyle farklı derecelerde fonksiyonel ve morfolojik doku hasarı ortaya çıkmaktadır. Serbest radikaller, bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron bulunduran, kimyasal olarak reaktiviteleri yüksek moleküller ya da bileşiklerdir. Bunlar, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötr durumda bulunabilirler. Reaktivitelerinin yüksek olması nedeniyle hücrede protein, lipid ve nükleik asit yapılarında hasar oluştururlar (58,59). Akut SSS (Santral Sinir Sistemi) ve travmatik beyin yaralanmalarında SOR'a (Süper Oksit Radikalleri) bağımlı lipid peroksidasyonunun fizyopatoloji üzerinde kilit rol oynadığına dair birçok yayın vardır (60). Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden meydana gelen serbest radikallerdir (46). Bu reaktif oksijen maddelerinin oluşumunu ve bu maddelerin yarattığı hasarı önlemek için oluşan savunma sistemlerine antioksidanlar denir (61). Serbest radikaller kimyasal olarak güçlü reaktif moleküllerdir. İki yoldan hücre hasarı meydana getirir; 1) lipidlerin peroksidasyonu ile hücre zarının geçirgenliği bozulur 2) oluşan serbest radikaller çevrelerdeki zincirleme reaksiyonun yayılmasıyla daha uzaklardaki biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek hasar oluşturur (62). Tüm bu reaksiyonlar ikincil hasardan sorumludurlar. Deneysel

kafa travmasında lipid peroksidasyonunun yayılmasının endotelial hücrelerde hasar yaparak, travma sonrası KBB'in yıkılması ile ödeme neden olduğu gösterilmiştir (63).

Antioksidan Savunma Sistemleri: Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların ortaya çıkardığı hasarı önlemek amacıyla geliştirilmiş endojen ya da ekzojen kaynaklı sistemlerdir. Peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijenleri toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar iki sınıfta incelenir. Endojen (doğal) enzimatik antioksidanlardan mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksidi detoksifiye ederken, SOD (süperoksid dismutaz) süperoksidin hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Glutasyon peroksidaz hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu sitozolik bir enzimdir (64). Katalaz dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir ve peroksidomlarda bulunur. Fonksiyonu hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalamaktır. Glutasyon-S-transferaz, Hidroperoksidaz diğer endojen enzimatik antioksidanlardandır. Endojen non-enzimatik antioksidanlar alfa-tokoferol(vitamin-E) bütün hücrel membranlarda bulunur. Lipid peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturarak zincir kırıcı etki gösterir. Beta-karoten, C Vitamini (Askorbik asit), Melatonin, 5-Ürat, Sistein, Seruloplazmin, Glutasyon, Albumin, Transferin, Laktoferrin, Myoglobin, Hemoglobin, Ferritin, Metiyonin, Bilirubin diğer non-enzimatik antioksidanlardır (64).

Ekzojen antioksidanlar ksantin oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksid dismutaz, Trolox-C, demir redoks döngüsü inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, demir şelatörleri'dir (64).

### **Eksitotoksisite**

SSS'de bazı aminoasitlerin, metabolik fonksiyonlarının yanında nörotransmitter görevlerinin de olduğu bilinmektedir. Deneysel beyin travma modellerinde glutamat ve aspartat gibi eksitatör transmitterlerin hücre dışı konsantrasyonlarında artış görülmüştür (65).

Glutamat santral sinir sisteminin en önemli eksitatör nörotransmitteridir (66). Spesifik membran reseptörleri ile etkileşerek duysal enformasyonun iletilmesi, motor aktivite, spinal reflekslerin düzenlenmesi, hafıza ve öğrenme gibi birçok fonksiyonda önemli rol oynar (67).

Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun nöronal hasara yol açtığı Olney ve ark. tarafından tanımlanmış ve eksitotoksisite olarak isimlendirilmiştir. Bu eksitotoksisitenin, travma, beyin iskemisi gibi birçok nörolojik hastalıkta doku hasarını arttırdığı düşünülmektedir (66).

Eksitatör aminoasitlerin nörotoksik etkilerini açıklamak amacıyla birçok mekanizma ileri sürülmüştür (65). Eksitotoksinler tarafından tetiklenen hücre ölümü; akut nöronal şişmeye öncülük eden sodyum ve klorun ve daha sonra gecikmiş hasara neden olan kalsiyumun hücre içine girmesini sağlayan özel reseptörler tarafından yönetilir. Bu reseptörler 3 ana gruba ayrılır. Bunlardan biri voltaja bağlı olarak çalışan NMDA (N-Metil-D-Aspartat) reseptörleri olup glutamik asit bağlanması sonrasında sodyum ve kalsiyumun hücre içine girişine, potasyumun hücre dışına çıkışına neden olur. Diğer bir reseptör ise; AMPA (amino-3-hydroxyl- 5-methyl-4-isoxazole propionate) olup voltaj bağımsız olarak çalışır. Bunun aktivasyonu ile sodyum hücre içine, potasyum hücre dışına doğru çıkar. Üçüncü grup reseptörler ise; metabotropik reseptörlerdir. Bunlar, aktive olduklarında fosfolipaz-C'yi aktif hale getirerek hücre içinde bağlı olarak bulunan kalsiyumun serbest hale getirilmesini sağlarlar (65). Glutamat reseptör aktivasyonu erken evrede hücre içi sodyumun artışına, bu ise sitotoksik ödem, hücreseliçi asidoz ve lizise yol açar. Na-K ATPaz mekanizmasındaki yetmezlik ise sodyum ve suyun hücre içi birikimini artırır. Bir sonraki aşamada kalsiyumun hücre içine akımı artar, bu ise kalsiyum bağımlı proteaz ve lipazların aktivasyonuna yol açarak hücre membranının ve nöroflamanların hasarına neden olur. Sonuçta; hücre içi kalsiyum birikimi santral sinir sistemindeki toksik hücre ölümünün son ortak yolu olarak belirtilmektedir. Glutamat nörotoksisitesi ayrıca lipid peroksidasyonunun başlaması, Na-K ATPaz aktivitesinin engellenmesi, mitokondrial solunum enzimlerinin engellenmesi, gliseraldehit-3 fosfat dehidrogenaz engellenmesi gibi mekanizmalarla nöronal ölümü şiddetlendiren,



reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin meydana gelmesi ile sonuçlanan birtakım olaylar zincirini başlatır (66).

### **Nitröz Oksid**

NO (Nitröz Oksit) diğer klasik inflamatuvar mediatörlerden farklı olarak yeni tanımlanan suda ve lipitte çözünebilir bir gazdır. Nitrik oksit, üç farklı NOS (Nitrik Oksit Sentaz) tarafından arjininden sentezlenir. eNOS (Endotelial NOS) ve nNOS (Nöronal NOS) kalsiyum/kalmodilin bağımlı olarak NO sentezlerler. Fakat iNOS (İndüklenebilir NOS) birçok patolojik durumda kalsiyumdan bağımsız olarak NO sentezler. nNOS, özellikle arteria serebri medianın beslediği alanlarda bulunur ve iskemi ve travmada uyarılır. eNOS endotel hücrelerinde bulunur ve iskemide vazodilatasyona yol açtığı için diğerlerinden farklı olarak nöroprotektif etkilidir (68). NO'nun aktivitesi, redoks fazına bağlıdır. NO ve O<sub>2</sub> birbirleri ile reaksiyona girerler ve nitrojendioksit ve peroksinitrit gibi daha güçlü oksidan moleküller meydana getirirler. Bu oksidanlar NO'dan daha toksiktir. Küçük miktarda NO oluştuğunda heme'e bağlanırken, daha büyük miktarlarda salındığında tiollere bağlanabilir veya hücresel proteinler, lipidler veya DNA ile nitrasyon reaksiyonu yoluyla oksidatif hasara neden olur. Nitrik oksit sentetaz (NOS), bazı hücre tiplerinde TNF(Tümör Nekroz Faktör), IL-1, IL-2 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerle indüklenir ve TGF (Tümör Growht Faktör), IL-4, IL-8, IL-10 gibi antienflamatuvar sitokinlerle baskılanır (69).

### **Apoptozis**

Apoptozis ve hücre ölümünün programlanmasına olan ilgi güncelliğini korumakla birlikte, apoptozis histolojik olarak hücreyi nekroz aşamasından ayıran en önemli faktördür. Plazma membranı ile çevrili apoptotik cisimlerin tanınması, hücrenin büzülmesi, kromatinin yoğunlaşması, nükleusun piknotik hal alıp internükleozomal DNA'nın parçalanması, terminal deoksinükleotid transferazın aracılık ettiği deoksiüridin trifosfatın bozulması, apoptoz için DNA hasarını gösteren primer standartlardır. Nekroz ve apoptoz arasındaki evreye etki eden ajanlar mevcuttur. Kafa travması sonrası apoptozisi belirleyici mekanizmaların varlığı

gösterebilmek için çalışmalar devam etmekte olup, bunu engelleyecek farklı tedavilerin olabileceği ve hücre ölümünün durdurulabileceği düşünülmektedir (70).

### **İyonik Akıslara Bağımlı Hücre Hasarı**

Travmatik beyin hasarını izleyerek ortaya çıkan nöronal membran iyon geçirgenliğindeki değişimler hücresel enerji ihtiyacını değiştirir ve böylelikle metabolik süreci etkiler. Akut metabolik değişikliklere ek olarak ekstraselluler-intraselluler iyonik dengedeki bozulmalarla nöronal hücrelere hasar veren veya onları öldüren çeşitli mekanizmalar bulunur. Bu zararlı metabolik ve biyokimyasal süreçlerin derecesini ve boyutunu anlamak için travma sonrası iyon akışın temel kavramı anlaşılmalıdır.

Kalsiyum: Beyaz ve gri cevherdeki sekonder hasarın ilerlemesinde, anormal kalsiyum dengesi önemli rol oynamakla birlikte, sinir hücre hasarında eksitotoksik hücre ölümü, apoptozisin 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 şişmeye neden olur (71). Mitokondri tarafından fazla kalsiyum tutulması kendi membranında depolarizasyona, membran permeabilite geçiş porlarının açılmasına ve programlanmış hücre ölümü faktörlerinin salınımına başlamasına neden olur (72). Mitokondriyal fonksiyonun kaybolması yalnız kalsiyum tamponlama kapasitesini elimine etmez, aynı zamanda ATP (Adenozin Trifosfat) bağımlı iyon pompalarının bozulması ile sonuçlanan kalsiyum akışına katkıda bulunur. 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 özellikle kalpain proteolizisi ile zarar görür. Tüm bu olaylar taşınmış proteinlerin birikimine, aksonal ödeme ve sonunda iletimin bozulmasına neden olur (73). Hücre ölüm sürecindeki kalsiyumun oynadığı merkezi ve çoklu taraf rollerinden dolayı, hücreseliçi kalsiyumdaki patolojik artışlar çeşitli hasarlardan sonra nöronal ölüme yol açan temel “son ortak yol” olarak gösterilmiştir. Böylece,

bu kalsiyum akışını direkt olarak azaltmak için çabalar sarf edilmektedir. Moleküler biyolojideki yeni gelişmeler, her biri depolarizasyona karakteristik tepkisi olan çeşitli sayıda farklı kalsiyum kanal alt tiplerini ayırmayı mümkün kılmıştır. Bu yeni seçici kalsiyum kanal antagonistlerinin gelişimine teşvik etmiştir. Nimodipin ve nikardipin, ciddi kafa hasarının kliniksel denemelerinde kullanılan L-tipi kalsiyum kanal kapatıcılarıdır (74).

**Magnezyum:** Beyinde glikoliz ve oksidatif fosforilasyon, DNA ve RNA (Ribonükleik Asit) sentezi, hücre solunum ve ATP gerektiren bütün enzim tepkimeleinde yer alır. Magnezyum intrasellular sodyumun devamını ve potasyum düzeyini düzenler ve kalsiyumun “fizyolojik antogonisti” olarak adlandırılmıştır. Magnezyumun NMDA reseptörleri üzerinde nöro-modüle edici etkisi vardır ve NMDA-aracılı eksitotoksiteyi bloke edebilir (75).

**Potasyum:** Travmalı beyin hasarını takip ederek, intraserebral mikrodializ ile extrasellular boşluk içine hasarlı nörondan büyük potasyum çıkışı olduğu gösterilmiştir. Bu birçok muhtemel mekanizmalarla açıklanabilir; 1) beyinin özellikle kontüzyonlara veya kanamalara maruz kalan bölgelerine, mekaniksel hasara ikincil plazma membranlarının belirgin olmayan bozulmaları 2) nöral dokunun kendisi içinde deformasyonu nöronal ateşlenmeyle sonuçlanabildiğinden, nöronal boşalmalarla ilişkili olan voltaj-kapılı potasyum kanalları boyunca potasyum akışı; ve 3) eksitator amino asit reseptörlerinin yönlendirdiği ligand-kapılı iyon kanallarının açılışı nedeniyledir. Bu da, yayılan depresyona, bilinç kaybına ya da şiddetli kafa travması sonrası görülen otonomik disfonksiyonlara katkıda bulunur (75).

### **İmmünolojik Hasar**

İmmünolojik hasar EH (Endotel Hücre) hasarı ile tetiklenen patolojik bir süreç olup ikincil hasarlanmada büyük bir öneme sahiptir. Bu nedenle immünolojik hasarın fizyopatolojisinin iyi anlaşılması gerekir.

**Travma Sonrası EH Hasarı:** Normal EH'ler damarsal yapıların bütünlüğünü sağlamak ve damar içi pıhtılaşmayı engellemek için önemlidir. Bir kez hasarlanan

EH'ler, enflamasyonda aktif rol alırlar ve kendi hasarlarına neden olurlar. Hasarlanan EH'ler ICAM (İnter Selüler Adezyon Molekülü) ile lökositleri ve trombositleri bu alana çekerek PMNL (Polimorfonükleer Lökosit) ve trombosit uyarımına neden olabilirler ve pıhtılaşma yolunu aktif hale getirebilirler (76).

**Travma Sonrası PMNL Geçişi:** Akut enflamasyonun göstergesi PMNL'lerin geçiştir. Bu geçiş, hücre yapışma moleküllerinin salınımı, yüzey antikoagülan mekanizmasının bozulması ile meydana gelen EH hasarı ve enflamatuar mediatörlerin meydana gelmesi ile tetiklenir. Akut enflamasyonda doku yıkımı, serbest radikalleri meydana getiren ve proteazların salınımına neden olan PMNL'lerin etkilerine bağlanır. Hem serbest radikaller hem de proteazlar, PMNL-EH içeri hareketine destek olan damar hasarına neden olabilir. PMNL'lerin, hasarlı spinal kord ve travmatize beyin alanına geçişi morfolojik ve enzimatik çalışmalarla gösterilmiştir (76).

**Travma Sonrası Trombosit Birikimi:** İskemik beyinde trombosit birikimi bildirilmiştir. Endotelial hasarda trombositlerin açığa çıkması; yapışma, daha sonra kümeleşme, şekil değişikliği, degranülasyon ve araşidonik asidin açığa çıkması ile sonuçlanır. Degranülasyon yangı mediatörlerini ve proteolitik enzimleri serbest bırakır. Bunlar, sırayla, endotelin parçalanmasına ve PMNL aktivasyonuna neden olur. PMNL'ler aynı zamanda trombosit aktivasyonunun güçlü tetikleyicisidir (76).

**Mononükleer Hücre Yanıtı:** Mikroglia, NMDA antagonistleri ile engellenebilen, çözünebilen nörotoksik faktörlerin salınımı ile nöronal dejenerasyona neden olabilir. Bıçakla yaralanma sonrası beyinde IL-1 düzeyi artmıştır ve bunun ameboid mikroglialar ile meydana geldiği gösterilmiştir. Mikroglia aynı zamanda travmatik beyin hasarı sonrasında, astrogliosis ve damar yapımını destekleyerek, yara iyileşmesine de katkıda bulunabilir. Mikroglia'nın nörotoksik ve nörotrofik etkileri, travma sonrası farklı mekanizmaları içeren, farklı evrelerde kullanılabilir (76).

Enflamasyon Mediatorleri: Enflamasyon hücreleri arasındaki ilişkiyi sağlayan mediatorlerdir. CAM (Hücrel Adezyon Molekülleri) dolaşımdaki lökositler ile sunulan ve EH'ler ile sunulanlar olarak ayrılırlar. Lökositler ile sunulan CAM 'ların iki tipi vardır; lökosit integrinler ve L-selektin. L-selektin esas olarak dolaşımdaki lökositlerde sunulur ve lökositlerin endotele geçici ve geri dönüşümlü bağlanmasını sağlar. EH ile Sunulan CAM'lar endotelial selektinler ve immunglobulin süper ailesine ait olan CAM'leri olarak ayrılırlar. Endotelial selektinler, E-selektin ve P-selektin ile belirtilirler. E-selektin ve P-selektinin her ikisi de PMNL'ler, makrofajlar ve T-lenfositlerin alt grubu için hücrel yapışma molekülleridir. EH'ler benzer immunglobulin sırasını paylaşan 3 CAM sunar; ICAM-1, ICAM-2 ve VCAM-1. ICAM hücre içi ve VCAM (Vasküler Selüler Adezyon Molekülü) damarsal yapışma moleküllerini gösterir. ICAM-1, nötrofillerin beyin damarlarından beyin parankimine göçünü sağlayan bir endotelial proteindir (76, 77, 78).

Sitokinler enflamatuvar süreci kolaylaştırmak ve devamını sağlamak için hücreler arasındaki bağlantıya aracılık eder. Sitokinlerin çoğunun kan hücreleri ve damar endotelinde güçlü etkileri vardır. Sitokinlerin salınımı ve yangı hücrelerince salınmasının tüm etkisi pro-trombotik ve pro-inflamatuvardır. Beyin travmasından sonra IL-1, IL-2, IL-6, TNF düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (76). Lipid enflamatuvar mediatorler akut enflamasyonda hücrel etkileşimde rol alırlar. Enflamasyonda AA (Araşidonik Asit) metabolizmasının harekete geçmesi anahtar olaydır. AA'dan oluşan yangı mediatorleri; PG (prostoglandinler), tromboksan A<sub>2</sub>(TX A<sub>2</sub>) ve eikasonoidler olarak adlandırılan LT (lökotrienler)'dir. PG'ler, özellikle PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> damar geçirgenliğini arttırlar. TXA<sub>2</sub> trombositlerden salınan major eikazonoiddir. Trombositlerin ve PMNL'lerin endotele yapışmasını ve kümeleşmesini sağlarlar. LTB<sub>4</sub> yangıda kemotaksiyi sağlar. LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> damar geçirgenliğini arttırlar. Yangının düzenlenmesinde bir diğer yol PAF (Platelet Aktive Edici Faktör)'dir. Hücre membranından salınır. Trombositlerin kümeleşmesi, EH'lere PMNL yapışmasını ve damar geçirgenliğini arttırır. Aynı zamanda AA metabolizmasını uyarır (76).

## **NÖRAL PLASTİSİTE VE REJENERASYON**

Son elli yıl öncesine kadar hasarlanmış insan sinir dokusunun kendisini tamir etme kapasitesinin hiç olmadığına ve herhangi bir nedenle hasarlanan sinir dokusuna bağlı olarak kaybolan fonksiyonların irreversibl olduğuna inanılırdı. Bunun aksine son yarım yüzyılda yapılan çalışmalarla nöral plastisite ve rejenerasyon ile bunun mümkün olabileceğini görülmüştür.

### **Nöral Plastisite**

Nöral plastisite, sinir sisteminin kendi içerisinde veya içinde bulunduğu ortama uyum yeteneğini ifade eder. Sinir dokusunda meydana gelen hasarın etkisinin azaltılması ve iyileşmesinde rol oynar. Santral sinir sisteminde ki nöral hücrelerin kısmi veya tam olarak hasarlanması kortikal ve subkortikal alanlarda işlevsel değişiklikler ile sonuçlanır. Burada plastisite kendisini akson sayısındaki artış ve çeşitlilik ile dentritik gelişim ve sinaptik bağlantılardaki değişikliklerle de gösterir. Bu dentritik ve sinaptik bağlantılardaki gelişim nöronlarda yapısal reorganizasyon olarak isimlendirilir (79).

### **Nöral Rejenerasyon**

Hasarlı ve aksotomize nöronların yaşamlarına devam etmeleri, kesilmiş aksonların uzaması, lezyon bölgesini geçmesi, uygun hedeflere uzanması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması ile nörolojik ve klinik iyileşme rejenerasyon olarak adlandırılmaktadır.

PSS'de Periferik Sinir Sistemi) spontan aksonal rejenerasyon olurken bunun SSS'de olmamasının mekanizmalarını anlamak için birçok çalışma yapılmıştır. Bu araştırmalar sonrasında trunksesksiyon sırasında bile primer sütüre edilmiş bir periferik sinirde güçlü bir aksonal rejenerasyon olmasına karşın spinal kord yaralanmasından sonra oldukça zayıf bir aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme gözlemlenmiştir. Bunun nedeni periferik sinirde hasar sonrası aksonal gelişim için gerekli genetik kodlama hızla işlevini yerine getirmekte ve Schwann hücreleri ise bu süreç için uygun ortam hazırlamaktadır. Buna karşın SSS'de ki bir nöron, inhibitör mekanizmalarla yarışmasının sonucu olarak genetik kodlamayı

işleme sokmakta başarısız olmakta ve bu inhibitör ortamlara yeni aksonlar uzatmak zorunda kalmaktadır. Bu nedenle SSS de fonksiyonel iyileşme ya hiç olmamakta ya da yetersiz kalmaktadır (80).

Nöral gelişimin erken safhalarında gerek PSS'de, gerekse SSS'de ekstraselüler matriksi aksonal büyüme için destekleyen glikoproteinler içermektedir. Laminektin ve fibronektin bu tipte proteinler olup, yetişkin PSS'de bulunmasına rağmen, SSS'de bulunmamaktadır. Böylelikle memeli santral sisteminde kritik öneme sahip bu moleküllerin bulunmaması, aksonal rejenerasyonu mümkün kılmaz. Bunun yanı sıra gelişmekte olan aksonlarda aktif büyüme ile birlikte görülen intraselüler proteinler taşır. Bunlardan GAP-43 (Büyüme ile İlişkili Protein) pek çok erişkin SSS yapısında genel olarak bulunmamakla birlikte, hasara karşı bir miktar cevap verebilme yeteneğine sahip hipokampus gibi santral yapıların nöronlarında varlığı gösterilmiştir.

Son yirmi yılda aksonal gelişim için spinal kordu, periferik sinirlerden daha uygun ortam haline getiren birçok molekül tanımlanmıştır. Rejenerasyon için hasar bölgesindeki myelinin ve glial skar dokusunun önemli iki engel olduğu kanıtlandı. Myelinin aksonal gelişimi hangi mekanizmalar ile engellediği tam olarak açığa kavuşmamıştır. Myelinin iyi tanımlanmış üç adet protein yapısındaki inhibitör içeriği Nogo, MAG (Myelinle İlişkili Glikoprotein) ve oMgp (Oligodentrosit-Myelin Glikoprotein)'dir. Özellikle Nogo, MAG ve oMgp ile etkileştiği ve bu moleküllerin bazı inhibitör etkilerine aracılık ettiği gösterildi. Bu sebeple Nogo reseptörü üzerindeki ilgi daha da arttı. Kompakt bir yapı olan glial skar içerisinde astrositler, oligodentrosit öncüleri, meningeal hücreler ve mikroglialar yer alır. Bu reaktif astrositler glial skar içerisindeki en belirgin hücre grubu olup, fiziksel bariyer oluşturduğu gibi inhibitör etkilere sahip olan bir seri CSPG (Kondroitin Sülfat Proteoglikan) ve KSPG (Keratan Sülfat Proteoglikan) üretirler. CSPG nin etkisine karşın en iddialı terapi yöntemi enzimatik olarak yıkılmasıdır. Bu nedenle chondroitinase ABC enzimi giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Bu enzimin parsiyel spinal kord hasarında intratekal uygulandığında kortikospinal yolda akson gelişimini ve fonksiyonel iyileşmeyi desteklediği rapor edilmiş ve hücre transplantasyonu ile

glial skar gelişiminin engellendiği ve bu şekilde akson gelişimini hızlandırdığı gösterildi. Bu anlatılan mekanizmalar, santral nöronların neden rejenerasyon kapasitelerini kaybettiklerini açıklayabilmektedir (80, 81, 82).

Serebral yaralanmalarda birinci hasar mekanik çarpmanın etkisi ile pek çok şekilde gerçekleşse de, mekanik yaralanmanın tetiklediği sekonder hasar, beyindeki hasarın zaman içerisinde artmasına neden olur. Bu hasarın artması klinik kötüleşmeyle sonuçlanır. Primer yaralanma sonrası ortaya çıkan sekonder yaralanma kaskadının durdurulması veya yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacını oluşturdu. SSS'de ikincil yaralanmanın etkisinin azaltılması ya da durdurulmasına yönelik birçok farmakolojik ajan denenmiştir. Bu ajanlardan bir tanesi kalsiyum kanal blokörü nimodipindir. Nimodipinin vazotropik etkileri ile serebral dolaşımın restorasyonunda etkin olması yanında iskemi sonrasında sinir hücrelerine kalsiyum girişini azaltarak ya da hücre içi kalsiyumu antagonize ederek hücrel proteolizisi ve lipid yıkımını önlediği, böylece yağ asitlerinin ve serbest oksijen radikallerinin oluşmasını engelleyerek sinir hücrelerini sekonder hasardan koruduğunu ileri süren yayınlar bulunmaktadır (83). Yapılan bu araştırmaların çoğunda deneysel hayvan modelleri yapılarak insan modeli oluşturulmaya çalışılmıştır. Araştırmalardan çıkan sonuçlar olumlu olsada insanlar için standart bir tedavi şekline gelecek herhangi bir farmakoterapi bulunmamıştır. Bu da araştırmacıların farklı tedavi seçenekleri aramaya yönelmesine neden olmuştur. Son yıllarda hücrel tedavi yöntemlerinin rejeneratif santral sinir sistemi çalışmalarında deneysel kullanımı gündeme gelmiştir. Özellikle son kırk yıldır bilim dünyasının dikkatini çeken kök hücre, rejenerasyon amaçlı kullanılan hücrel tedavi şeklidir. Hayvan çalışmalarında oldukça iyi sonuçlar alınmasına karşın insanlarda kullanımı konusunda yeterli veri ve çalışma yoktur.

## **KÖK HÜCRE TERAPİSİ**

Canlı vücudunda çok uzun süre bölünerek kendisini yenileyen ve aynı zamanda vücudun ihtiyacına göre farklılaşarak doku hücrelerine dönüşen hücre tipine kök hücre denir. Bir hücreyi kök hücre olarak tanımlamak için beş temel özelliğe sahip olması gerekir;



- 1) Uzun zaman dilimleri boyunca bölünebilme ve yenilenebilme yeteneği.
- 2) Özelleşmemiş olması.
- 3) Kök hücreden elde edilen yavru hücre özelleşmiş hücrelere kaynaklık edebilmesi(farklılaşma).
- 4) Hasar gören alıcıya nakil sonrasında kaynak dokuyu işlevsel olarak tekrardan çoğaltabilmesi.
- 5) İn vivo ortamda doku hasarının olmadığı durumlarda bile farklılaşmış kuşaklara katkı sağlaması (84).

### **Kök Hücre Çeşitleri ve Kaynakları**

Kök hücreleri esas olarak iki farklı kaynaktan elde edilirler; Embriyonik gelişim sürecinin erken dönemlerinde blastosistin iç hücre kitlesinden elde edilen embriyonik kök hücreler ve embriyonik olmayan kaynaklardan elde edilen kök hücreler (84).

### **Embriyonik Kök Hücreler**

Embriyonik kök hücreler erken dönemdeki memeli embriyosundaki kök hücrelerden elde edilen ve invitro ortamda sınırsız ve farklılaşmamış çoğalma kapasitesine sahip pluripotent hücrelerdir. İlk olarak 1981 yılında 3,5 günlük blastosistlerin iç hücre kitlesinden sürekli olarak çoğalan fare embriyonik kök hücreleri elde edildi. Daha sonra 1988 yılında Thomson ve arkadaşları insan embriyonik kök hücre serilerinden yüksek düzeyde telomeraz aktivitesi eksprese ettiler ve her üç germ tabakasına ait türevleri oluşturma potansiyellerini sürdürdüler. Elde edilen embriyonik kök hücre serileri ciddi kombine bağışıklık yetmezliği olan 4 haftalık erkek farelere enjekte edildikten 7-8 hf sonra teratoma oluşturduğu gözlemlendi. Bu teratomlarda bağırsak epitel(endoderm), kıkırdak, kemik, düz kas (mezoderm) ve

sinir epiteli, embriyonik ganglion hücreleri vardı. Bunlara bağlı olarak Thomson ve arkadaşları embriyonik kök hücrelerinin mutlak özelliklerini üç maddede sıraladılar:

- 1) Bu hücreler preimplantasyon evresinde embriyondan elde edilme özelliği.
- 2) Uzun dönemde farklılaşmadan çoğalabilme özelliği.
- 3) Uzun dönemler boyunca kültürde tutulduktan sonra bile her üç germ tabakasının türevlerini oluşturabilme potansiyeli özelliği.

İnsan embriyonik kök hücrelerinin en önemli potansiyel kullanım sahası hücrelerin ve dokuların üretilmesidir. Kemiricilerdeki diyabet, parkinson, miyokart enfarkti, omurilik zedelenmesi gibi hastalık modellerini tedavi etmek için bu kök hücrelerinin kullanımına ilişkin artık geniş çaplı görüş birliği mevcuttur. Oliver Brüstle ve arkadaşlarının yaptığı çalışma, embriyonik kök hücre kaynaklı nöral prekürsörlerin fetal sıçanın ventriküllerine implante edilmesi sonrası transplante edilen hücrelerin intraventriküler nöroepitelyal yapıları oluşturdukları ve oligodendrosit, astrosit ve nöronlara farklılaştığını gösterdi.

İnsan embriyosunun hücre kaynağı olarak kullanılması ve terapötik klonlama çalışmaları etik ve yasal açıdan tartışmalara neden olduğu için bilim adamları alternatif kök hücre kaynaklarına yönelmiştir (84).

### **Embriyonik Olmayan Kök Hücreler**

Etik ve yasal olarak tartışmalara neden olan embriyonik kök hücre çalışmaları bilim adamlarını alternatif kök hücre kaynaklarına yönlendirmiş olup, bu amaçla yapılan tüm çalışmaları ‘‘non-embriyonik kök hücreler’’ başlığı altında toplayabiliriz (84).

## **Erişkin Kök Hücreleri**

Bir doku yada organdaki farklılaşmış hücreler arasındaki farklılaşmamış hücreler olup, kendisini yenileyebilen ve bulunduğu doku, organın özelleşmiş hücre tipine dönüşebilen hücrelerdir. Yaşayan organizmada bu hücrelerin asıl görevi buldukları dokuyu tamir etmek ve dokunun devamlılığını sağlamaktır. Özellikle hematopoietik kök hücrelerinin farklı embriyonik kökenli hücrelere kaynaklık edebileceğinin ortaya çıkmasıyla erişkin kök hücrelerine yönelik araştırmalar büyük ivme kazanmıştır (84).

## **Hematopoietik Kök Hücreler**

Bu hücreler erişkin insanlardan izole edilebilen az sayıdaki kök hücrelerden biridir. Esas olarak kemik iliğinde yerleşik olan hematopoietik kök hücreleri normalde fetüsün karaciğerinde, dalağında, göbek kordonunda, plasentada ve erişkin periferik kanına bulunurlar. Bazı çalışmalarda retroviral işaretleme yöntemi kullanılarak tek bir hematopoietik kök hücrenin in vitro ortamda mezodermal, nöroektodermal, endodermal hücre serilerine farklılaştığı gösterilmiştir. Özellikle sinir sisteminde bu hücrelerin nöronlara ve glial hücrelere farklılaşabildiği gösterilmiştir. Priller ve arkadaşlarının yaptığı bir retroviral aracılıklı çalışmada hematopoietik kök hücreleri alıcı farelere naklettikten 4 hafta sonra verici kaynaklı tamamen gelişmiş serebellar purkinje nöronları kaydedilmiştir. Bu sonuçlar gelecekte travmada, enfarkta ve nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesinin engellenmesi için hematopoietik kök hücrelerinin kullanılabilirliğini göstermektedir (84).

**Kemik iliği kök hücreleri:** Bu hücreler son 30-40 yılın konusunu oluşturmuş olup önceleri başta lösemiler olmak üzere çeşitli hastalık durumlarında kan sistemini tekrar elde etmek amacıyla yapıldı. Bu gün ise; solit organ tümörlerinde, doğumsal genetik hastalıklarda ve edinsel kan hastalıklarında kullanılmaktadır. Kemik iliği hücrelerinin sadece kan hücrelerine dönüşmediği kas, beyin, karaciğer ve böbrek hücrelerine dönüşebildiği gösterilmiştir. Günümüzde büyük ve karışık bir hücre

grubu içinde az sayıda bulunabilen kök hücrelerin tanınması için floresanla aktive hücre ayırma yöntemi ortaya konmuş olup, insan hematopoetik kök hücreleri için tanımlanmış ve klinik çalışmalarda temel olarak kullanılan CD34 belirteçidir (84) .

Periferik kan kök hücreleri: Özellikle aferez tekniklerindeki gelişmeler ve hematopoietik büyüme faktörlerinin, mobilizasyon tekniklerine girmesiyle periferik kandaki kök hücrelerinin oranını arttırmak ve yeteri kadar kök hücre elde etmek mümkün hale geldiği için klinik nakillerde kullanılan hematopoietik hücrelerin birincil kaynakları arasına periferik kan kök hücreleri girmiştir. Genel anestezi riskinin olmaması, invaziv işlem gerektirmemesi, morbiditenin düşük olması bu grup kök hücre kaynaklarını cazip hale getirmiştir (84).

Göbek kordonu kök hücreleri: 1980 yılının başlarında bilim adamları göbek kordon kanında da kemik iliğindeki benzer hücrelerin bulunduğunu fark etmeleri ile birlikte belirli hastalıkların tedavisinde bu hücrelerin kullanılabileceği fikrini ortaya atmış ve 1988 yılından beri tedavi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Bu hücreler ile ilgili yapılmış çalışmalar, kemik iliği hücrelerine oranla 10 kat kuvvetli olduğunu ve laboratuvar şartlarında 100 katına çıkarılabildiklerini raporlamışlardır. Aynı zamanda kordon kanındaki hücrelerin olgunlaşmamış ve bağışıklık yönünden zayıf olması nedeniyle hücrelerin nakil sırasında GVH (Graft Versus Host) reaksiyonunu tetikleme olasılığı düşüktür. Kordon kanından elde edilen kök hücrelerin kullanıldığı hastalıklar arasında Fanconi aplastik anemisi, lösemi, meme kanseri, aplastik anemi sayılabilir (84).

### **Stromal (mezenkimal) Kök Hücreler**

Erişkinlerde mezenkimal kök hücre için en iyi kaynak kemik iliğidir. Kemik iliğini incelediğimizde iki ayrı sistemden oluştuğunu görmekteyiz; 1) Hematopoietik doku 2) Stroma. Kemik iliği hücreleri kültür kaplarında kültüre edildiklerinde hızla plastik kültür kabına yapışan hücrelerin kemik iliği stromal hücreleri olduğu,

yapışmayan hücrelerin hematopoietik hücreler olduğu 1966'lı yıllardan beri bilinmektedir. Önceleri kemik iliği stromal hücrelerin, özellikle mezenkimal kök hücreler hematopoezi indüklemek amacıyla kullanıma girerken daha sonraları invivo ve invitro çalışmalarla aralarında kas, sinir kemik, kalp, böbrek gibi hematopoetik olmayan dokuların parankimal hücrelerine farklılaştığı gösterilmiştir. İlk kez fetal buzağı serumu içeren kemik iliğinin ortama yayılması sonrasında kemik hücrelerine ve adipositlere farklılaşan ve fibroblastlara benzeyen yapışkan hücre kolonilerinin geliştiğini gösteren Fridenshtein tarafından tanımlandı. Sonraki çalışmalar bu hücreleri multipotent kök hücre kaynağı olarak belirledi ve bu bağlamda hücreleri temsilen birçok isimlendirme kullanıldı. Son olarak bu hücreleri "multipotent erişkin progenitör hücreler" olarak isimlendirildi. Mezenkimal kök hücrelerin çeşitli merkezi sinir sistemi hastalıklarında nakillerden sonra beyin dokusunda nöral farklılaşmaya karşın, bazı terapatik moleküller de üreterek yararlı etkilerinin olduğu izlenmiştir (84).

Mezenkimal kök hücreler için ana kaynak kemik iliği olmakla birlikte birçok dokudan izole edilebileceği bilinmektedir. Bu dokuların başlıcaları; kas, kemik, kıkırdak, tendon, yağ, fetal kemik iliği, karaciğer, kordon kanı ve matriksi, damar ve periferel kan dokularıdır (84).

Mezenkimal kök hücreler için diğer bir kaynak Wharton jeli olup, bu göbek kordonundaki müköz bir bağ dokusudur. Wharton jelini ilkel kök hücre kaynağı olarak görmenin nedeni embriyogenezde primordial germ ve hematopoietik kök hücrelerinin embriyon ve fetüsteki hedef dokuları oluşturmak amacıyla vitellüs kesesinden bu bölge aracılığıyla göç etmeleridir. Kültür ortamında bu hücreler uyarıldıklarında birkaç saat içinde nörit benzeri çıkıntılara sahip yuvarlak hücre gövdelerinin oluştuğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu hücrelerinNSE (Nöron Spesifik Enolaz) eksprese ettiği görülmüştür. Wharton jelinden elde edilen çok sayıda hücre olması, kolay elde edilebilmesi, kültür ortamlarında uzun süre yaşaması, etik yönden tartışmalı olmaması bu kaynağı cazip hale getirmektedir (84).

## **Diğer Erişkin Kök Hücreleri**

Son yıllarda, erişkin insan ve hayvanların beyin, kas, deri, sindirim sistemi, kornea, retina, diş, karaciğer ve pankreas gibi diğer organlarındaki ve yağ dokularındaki, kök hücrelere ilişkin olarak yayınlanan raporlar vücudun kendi dokularını yenileyebilme kabiliyeti konusuna yeni bir ışık tutmuştur. Erişkin dokularındaki kök hücrelerin varlığı niye bazı organların diğerlerine göre daha fazla yenilenebilme kabiliyetlerinin olduğuna ilişkin uzun zamandır çözülmemeyen bulmacaya potansiyel çözümler üretmek için bir ilk adım önermektedir. Erişkin kök hücrelerini çeşitli tedavilerde kullanma fikri bazı nedenlerle gündeme gelmiştir. Bunlardan birincisi; bu hücrelerin bazı hücre tiplerini içeren özgün bir dokuya kaynaklık etmesidir. İkincisi; bazı hücre tiplerinin hasarlı dokuya yada farklı bölgelere göç etmesidir. Üçüncü olarak; bu hücrelerin nakil sonrası diğer hücreleri hareketlendiren büyüme unsurlarını salgılamalarıdır. Örnek olarak sinir kök hücreleri kemirgen beynindeki tümörün bulunduğu bölgelere göç ederler. Bunun yanında nöral kök hücrelerin, nöron, astrosit, oligodendrositlere; adipoz dokudan elde edilen kök hücrelerin nöron ve glial öncül hücrelere; diş pulpasından elde edilen hücrelerin nöral benzeri hücrelere; nazal kök hücrelerin ve sklera kök hücrelerinin sinir hücrelerine farklılaştığı bilinmektedir (84).

## **Fetal Kök Hücreler**

Spontan sonlanmış veya ebeveynlerin izniyle hekimlerce yasal ve sistemli olarak sonlandırılmış olan gebeliklerin sonucu fetüsten elde edilmektedir. Fetüsten elde edilen kök hücreler nöral kök hücreler, hematopoietik kök hücreler, kardiyomiyositler ve pankreas adacık öncül hücreleri ile sınırlıdır.

Fetal nöral kök hücre nakli ile ilgili yapılmış olan çalışmalar nakledilen hücrelerin hayvanların beynindeki normal sinyallere cevap verdiğini, hasarlı beyin hücrelerinin yerini aldıklarını ve yeni genlerle çoğaldıklarını göstermiştir. 2001 yılında Dr.Curt Freed ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada insan fetüsünden elde

edilen dopaminerjik nöronları 40 parkinson hastasının putamenine bilateral olarak nakletti ve klinik olarak olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir (84).

Fetal karaciğer ve kan, hematopoietik kök hücrelerinin zengin kaynağıdır. Fetal hücreleri içeren tedaviler kök hücre tedavi yöntemlerinin en fazla tartışılan kısmıdır.

### **Kadavradan Elde Edilen Kök Hücreler**

Kadavradan elde edilen kemik iliği kök hücrelerinin allojenik transplantasyonlar için uygun olabileceğini savunanlar olmakla birlikte Frade Gage ve ekibi değişik yaşlarda ölmüş insan kadavralarından alınan 23 doku örneğinden nöron üretebildiklerini açıklamıştır. Araştırmacılar yeni hücrelerin çoğalma hızının ölen kişinin yaşıyla ters orantılı olduğunu bildirmişlerdir (84).

### **Partenogenez**

İnsan olamayan primatlarda yapılan araştırmalarda yumurta hücresinin hiç döllenenmeden bölünmesi sağlandı. Partenogenez (aseksüel üreme) denen bu olay sonrası oluşan hücreler partenot olup bunlar atalarının kopyasıdır. Bu araştırmalar ile maymun yumurtaları blastosist evresine kadar invitro partenogenetik gelişimlerini sağladılar ve pluripotent kök hücre serisi oluşturdular. Elde edilen hücreler invitro dopaminerjik ve serotonerjik nöronlara, düz kas ve adipozitlere farklılaştırıldı. Ancak bu konuda da etik ve yasal olarak tartışmalar devam etmektedir (84).

### **DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELLERİ**

Kafa travmasının kesin mekanizmalarının bilinmesi sekonder beyin hasarından korunmada önemlilik arz etmektedir. Türler arasındaki farklılıklar kabul edilebilecek kadar az ise ihmal edilebilir.

Deneysel kafa travması ilk defa Galen tarafından domuzlarda yapılmasına rağmen deneysel beyin hasarının modern modelleri Denny-Brown ve Russell'in çalışmalarıyla oluşturulmuştur (85).

### **Perküsyon Modelleri**

Sıvı perküsyon modelleri: Bu modeller, az miktarda sıvının subdural mesafeye verilmesiyle oluşturulan, Denny-Brown ve Russell'in perküsyon - konküzyon modellerinin modern versiyonudur. Sıvının çarpmasıyla veya hızlı pompa infüzyonuyla travma oluşur. Hem santral hem de lateral sıvı perküsyon modelleri kısa süren komaya, BOS'da metabolik değişikliklere ve kan-beyin bariyerinin bozulmasına neden olur. Motor değişiklikler ve hafıza değişiklikleri her iki modelde oluşur (86,87). Santral sıvı perküsyon modeli lateral sıvı perküsyon modelinden daha az kontüzyon oluşturmakla birlikte kedi ve ratlarda beyin sapı hücrelerinde aksonal hasar oluşturduğu gösterilmiştir (87). Lateral sıvı perküsyon modelinde değişik derecelerde kontüzyon oluşur. Genellikle doğrudan darbeye göre daha az hasar meydana getirmekle birlikte hasar genellikle tek taraflıdır. Tek taraflı hipokampal hasar bu model için karakteristiktir (88).

Rijit perküsyon modelleri: Bu modeller duraya farklı şiddet ve uzunluktaki kuvvetlerin hızlıca uygulanması ile oluşturulur. Santral rijit perküsyon modelinde darbenin olduğu tarafta parasagittal kortekste değişik derecelerde kontüzyon oluşturulabilir ve farklı sürelerde koma geliştirilebilir. Lateral rijit perküsyon modelinde hasar darbenin periferindedir. Darbenin olduğu hemisferde değişik şiddetlerde kontüzyona neden olur. Hemisferlerde az miktarda aksonal hasar ortaya çıkması nedeniyle göreceli olarak kısa süreli koma gelişir. Kontralateral dural açıklıkla birlikte olan lateral rijit perküsyon modelinde darbenin yapıldığı tarafta gelişen kontüzyonel hasar miktarı karşı taraftaki bölgede gelişen hasardan fazla olmaktadır. Bunun sonucunda geri dönüşü olmayan aksonal hasara yol açarak koma tablosu oluşturulur (88).



### **Akselerasyon Modelleri**

Bu travma modelleri Denny-Brown ve Russell'in akselerasyon konküzyon modellerinin modern versiyonudur. Hareketsiz akselerasyon modelleri darbe etkisi olmadan beyinde akselerasyon etkisi oluşturur. Oluşturulan akselerasyon modeline bağlı olarak akut subdural hematom, kısa süreli şuur kaybı veya uzamış komaya ve diffüz aksonal yaralanmaya neden olur. Darbeli akselerasyon modelleri darbenin karakterine göre değişen derecelerde kontüzyona neden olurken aynı zamanda kafatası kırıklarına da yol açabilir (89).

### **Enjeksiyon Modelleri**

Kafa içine kan veya diğer sıvıların enjeksiyonu hematomların değişik tiplerinin oluşturulmasında kullanılmıştır. Subdural mesafeye kan enjeksiyonu akut subdural hematomu taklit eder. Buna benzer şekilde beyin içine kan enjeksiyonu yapılarak intraserebral hematom oluşturulmuş ve beyin metabolizması ile kafa içi hemodinamik dengeler arasında ilişkiler üzerine çalışılmıştır (90).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızın deneysel bölümü Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Laboratuvarı'nda, histolojik incelemeler Patoloji Anabilim Dalı'nda, göbek kordon kanının alınması ve saklanması Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği tarafından yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun onayı alındı. İnsan umbilikal kordon kanı vericisi olarak çalışmaya katılacak olan yeni doğum yapacak gebeden ve eşinden çalışmaya katılmak için gönüllü onam formu alındı. Tüm çalışma boyunca hayvan çalışma etiğine sadık kalındı.

### DENEY HAYVANLARININ HAZIRLANIŞI

Çalışmada deney hayvanı olarak aynı yaş grubundan ortalama ağırlığı 200 gram olan 6 aylık, dişi, 24 adet erişkin *sprague dawley* cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar altları plastik, üst kısımları tel olan, su ve besinlere kolaylıkla ulaşabilecek şekilde düzenlenmiş kafesler içerisine konuldu. Kafeslerin içine talaş serpildi. Kafesler haftada 4 kez temizlendi. Hayvanlara süt-pelet adı verilen yem ve su olarak şehir şebeke suyu verildi. Yem ve su kapları sürekli kontrol edilerek hayvanların yeterli miktarda su ve yem almaları sağlandı. Hayvanların tamamı çalışma süresi boyunca oda ısısında (ortalama 22 derece) %50 nem ortamında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklusu bulunan odalarda bakıma alındı. Hayvanlara yapılan tüm işlemler hijyenik kurallara uygun olarak veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirildi.

### DENEYİN YAPILIŞI

Operasyon öncesi deneye katılacak olan tüm deney hayvanları rotarod performans testi üzerinde yürümeye alıştırmak amaçlı bir hafta boyunca günde iki defa, üç dakika süreyle yürütüldü. Gruplardaki tüm ratlar rotarod sistemi üzerinde üç dakika süreyle yürümeyi öğrendikten hemen sonra deney hayvanları altışar tane *sprague dawley* cinsi sıçandan oluşan dört gruba ayrıldı.

Grup 1: Sadece kraniektomi ve sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapılan kontrol grubu.

Grup 2: Kraniektomi+ fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapılan, rezeksiyondan hemen sonra rezeksiyon alanına umblikal kordon kanından elde edilmiş 2 mikrolitresinde  $3 \times 10^4$  CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu verilen grup.

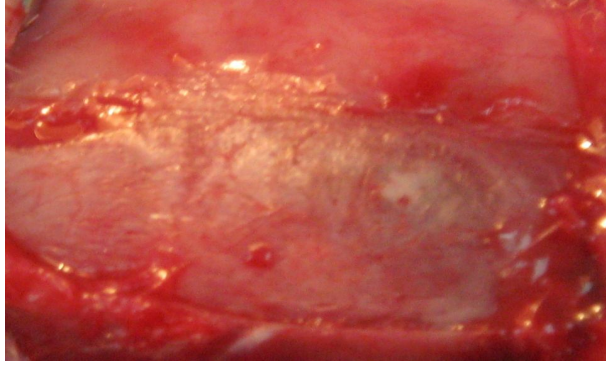
Grup 3: Kraniektomi+ fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapılan, rezeksiyondan yarım saat sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal nimodipin (NİMOTOP, 50 ml, Bayer, Bayer Türk Kimya Sanayi Ltd. Şti. İstanbul) verilen grup.

Grup 4: Kraniektomi+fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapılan, rezeksiyondan hemen sonra, rezeksiyon alanına umblikal kordon kanından elde edilmiş 2 mikrolitresinde  $3 \times 10^4$  CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu verilip, rezeksiyondan yarım saat sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal nimodipin (NİMOTOP, 50 ml, Bayer, Bayer Türk Kimya Sanayi Ltd. Şti. İstanbul) verilen grup.

Çalışmaya alınan tüm sıçanlara profilaksi amacıyla operasyondan 30 dakika önce tek doz 25 mg/kg Sefazolin sodyum (Cefozin, Bilim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş, Türkiye) intraperitoneal olarak verildi.

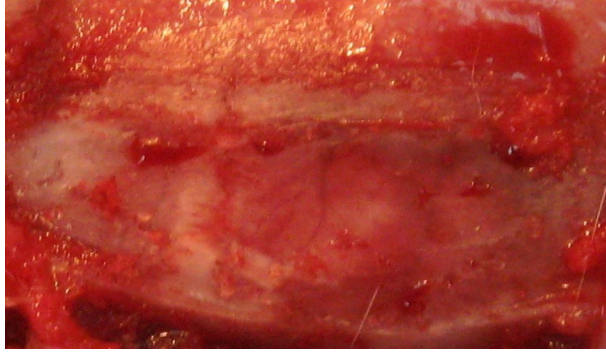
Çalışmamızda tüm sıçanlara anestezi olarak intramuskuler 5 mg/kg Xylazine hidroklorür (Rhompun %2 enjektabl flakon, Bayer Türk Kimya Sanayi Ltd.Şti. İstanbul) ve 100 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar flakon, 50 mg/ml, Eczacıbaşı İlaç ve Ticaret A.Ş. İstanbul) kullandık. İlaçlar tek enjektörde steril karıştırılıp, intramuskuler olarak sağ quadriseps femoris kası içine enjeksiyon ile yapıldı. Sıçanlar 4-5 dakika içinde derin anesteziye girdi. Daha sonra sıçanlar, *prone* pozisyonda operasyon tablasına alınarak tespit edildi. Deneklerin skalpleri jiletle tamamen traş edildi ve bu bölgedeki kıllar temizlendi. Traş edilen bölge *Polyvinyl Pyrolidone İod* kompleksi (Batticon % 10, Adeka İlaç ve Kimyasal Ürünler San. ve Tic. A.Ş. Samsun) ile temizlendi.

Cerrahi Loop (UNIVET, MKU35, İtaly) eşliğinde orta hatta frontal bölgeden oksipital bölgeye kadar uzanan medyan vertikal insizyon yapıldı. Perikranium künt disseksiyon ile sıyrılarak her iki fronto-parietal bölge açığa çıkarıldı (Şekil-1).



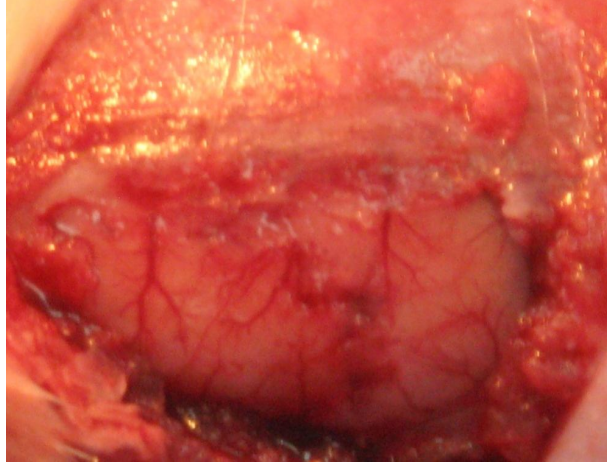
**Şekil-1:** Ratlara perikraniumun disseksiyonu sonrası frontoparyetal kemiğin ortaya konulması

Daha sonra yüksek devirli drill kullanılarak sol frontoparyetal bölgeye 2 cm çapında kraniektomi yapılarak dura mater ortaya konuldu (Şekil-2).



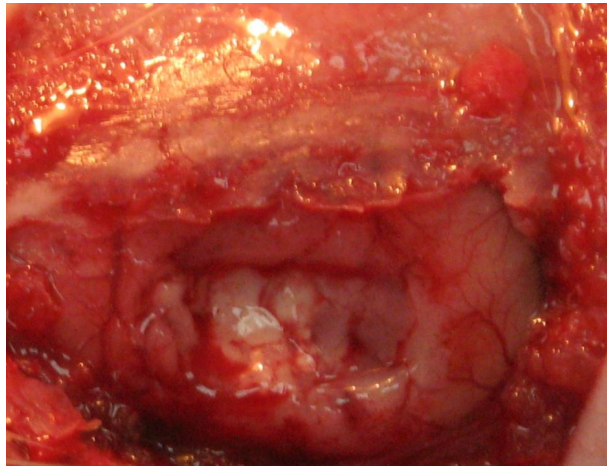
**Şekil-2:** Ratlarda kraniektomiye takiben dura materin ortaya konulması

Açığa çıkarılan *dura mater*'in insizyonu sonrası sol serebral frontoparyetal korteks ortaya konuldu (Şekil-3).



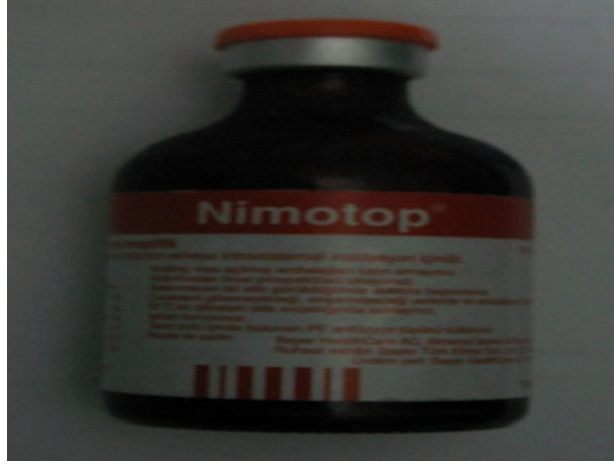
**Şekil-3:** Ratlarda kraniektomi ve duranın açılmasını takiben sol serebral hemisferin ortaya konulması

Operasyon bölgesinin hemostazını takiben sol fronto-parietal kortekse rezeksiyon yapılarak, rezeke edilen serebral kortikal doku operasyon alanından uzaklaştırıldı. Daha sonra rezeke edilen alanın hemostazı sağlandı. Rezeksiyon sahasında rat kaynaklı kan olmamasına dikkat edildi (Şekil-4).



**Şekil-4:** Ratlarda sol serebral hemisferde rezeksiyon yapılması ve hemostaz

Birinci gruptaki ratlara sadece kraniektomi ve fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapıldı. İkinci gruptaki ratlara kraniektomi+ fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapıldıktan sonra aynı seansta, rezeksiyondan hemen sonra, rezeksiyon alanına umbilikal kordon kanından elde edilmiş 2 mikrolitresinde  $3 \times 10^4$  CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu enjekte edildi. Özellikle ekim sırasında ekilen hücreden hariç operasyon lojunda kan olmamasına özenle dikkat edildi.



**Şekil-5:** Deneysel modelde kullanılan nimodipin

Üçüncü gruptaki ratlara kraniektomi + fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapıldıktan sonra, aynı seansta rezeksiyondan yarım saat sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal nimodipin (NİMOTOP, 50 ml, Bayer, Bayer Türk Kimya Sanayi Ltd. Şti. İstanbul) verildi (Şekil-5).

Dördüncü gruptaki ratlara kraniektomi +fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapılarak rezeksiyondan hemen sonra rezeksiyon alanına umbilikal kordon kanından elde edilmiş 2 mikrolitresinde  $3 \times 10^4$  CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu enjekte edilerek rezeksiyondan yarım saat sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal nimodipin (NİMOTOP, 50 ml, Bayer, Bayer Türk Kimya Sanayi Ltd. Şti. İstanbul) verildi. Daha sonra tüm gruptaki ratların insizyonları hemostaz yapılarak anatomiye uygun olarak kapatıldı. Çalışma süresi sekiz hafta olarak belirlendi. Sekiz hafta boyunca ratların beslenmesine, kafes bakımın, insizyon yerlerinin antisepsisine özenle devam edildi. Yara yeri enfeksiyonundan korunmak amacıyla günde bir kez 25 mg/kg Sefazolin sodyum (Cefozin, Bilim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş, Türkiye) intraperitoneal olarak verildi ve beş gün boyunca yara yerleri *batticon* ile silindi.

Haftalık değerlendirmede aynı gün içerisinde her gruptaki sıçanların lokomotor fonksiyonuna yönelik rotarod performans testi yapıldı. Bu testte sıçanların rotarod sistemi üzerinde kalabildiği en uzun süre rotarod performans değeri olarak kaydedildi. Çalışmamızda üç dakika rotarod sistemi üzerinde kalabilen sıçan normal olarak kabul edildi. Rotarod sistemi ile birlikte bacakların kuvvetini ölçmek için

diğer bir test olan Rivlin ve Totor'un çift yönlü eğik düzlem testi yapıldı. Bu test sırasında sıçanların yanında açılışer bulunan, üst kısmı açılı olarak yükselebilen tablanın yer aldığı zemin üzerinde baş yukarı ve baş aşağı yönde 5 sn süreyle kalabildiği en yüksek açılarak toplanarak ortalaması alındı. Ölçülen aç değeri çift yönlü eğik düzlem skoru olarak kaydedildi.

Dört hafta sonunda tüm sıçanlara yüksek doz intraperitoneal anestezi verilerek ötanazi yapıldı. Daha sonra operasyon loju açılarak ratların sol serebral hemisferleri bütün olarak çıkarıldı ve tüm sol serebral hemisferler %10'luk formalin solüsyonu içerisine yatırılarak iki gün boyunca fikse edildi.

### **YENİDOĞAN UMBİLİKAL KORDON KANININ ALINMASI**

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine doğum amaçlı yatırılan bir gebeye ve eşine doğum öncesi göbek bağı kesildikten sonra bebeği ve plesenta arasında bulunan kordon bağından, yapacağımız tıbbi araştırma nedeniyle kan alınacağı ve bu alınan kanın deneysel kafa travması yapılan sıçanlarda kullanılacağı, yapılacak bu işlemin doğum sonrasında bebeğe ve kendisine herhangi bir zararı olmayacağı, alınan kan örneğinin başka bir çalışma ya da herhangi bir amaçla kullanılmayacağı anlatılıp gönüllü onam formu alındı. Onamın alınmasını takiben, gebenin doğumu sonrası bebeğin göbek kordonu kesilip plesentaya yakın olan kısmından heparinize edilmiş 20 cc lik enjektör yardımıyla umbilikal venden yaklaşık 50 cc umbilikal kordon kanı alındı.

### **KORDON KANINDAN CD34+ KÖK HÜCRE ELDE EDİLMESİ**

Alınmış olan kordon kanı soğuk zincirde Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'na getirildikten sonra umbilikal kordon kanından CD34+ hematopoetik kök hücre elde edilmesi yedi basamakta gerçekleştirildi.

1.BASAMAK: 5 ml kordon kanı direk olarak 5ml *ficolle* yayılarak 3000 rpm de 20 dk süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrası ficolle plazma arasında kalan bulut

kısım (Şekil-6) 5 ml kapasiteli 12X75 ml boyutundaki *polystyrene* içeren tüpe toplandı (Falcon 5ml, Becton Dickinson, Catolog 352058).



**Şekil-6:** Umbilikal kordon kanının santrifüjü sonrası oluşan bulutsu kısım

2.BASAMAK: Tüpe konulan hücre süspansiyonu üzerine steril otomatik pipet ile her 1ml hücre için 100 mikrolitre CD34+ seleksiyon kokteyli ilave edildi (Easysep CD34+ Selection Coctail, StemCell Technologies, Catolog number 18056). İyice karıştırılmış olan karışım oda ısısında 15 dk süre ile inkübe edildi.

3.BASAMAK: Hücre-monoklonal antikor karışımı üzerine magnetik nanopartiküler(EasySep Magnetik Nanoparticles 1ml, StemCell Tecnologies, Catolog number 18056) steril otomatik pipet ile her 1ml hücre için 50 mikrolitre ilave edildi ve karışım iyice karıştırılarak oda ısısında on dakika süre ile inkübe edildi.

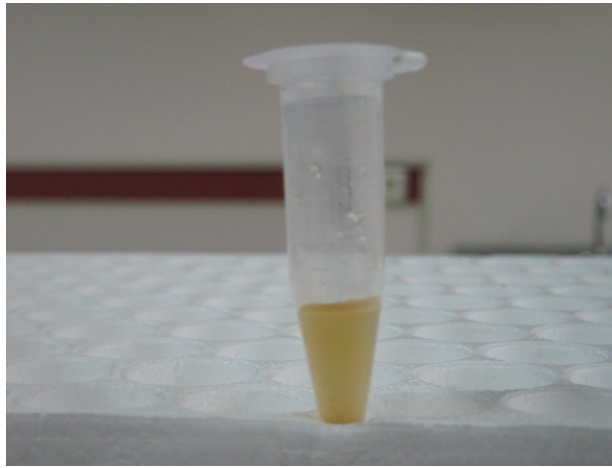
4.BASAMAK: Tüp içindeki miks süspansiyon *recomend medium* ile 2.5 ml tamamlanarak karışım steril bir pipet ile yukarı aşağı doğru hareketlendirilerek karıştırıldı. StemCell Tecnologies,Catolog number 18000) içerisine yerleştirilerek beş dakika süreyle bekletildi.

5.BASAMAK: Tüp magnetin içerisinden çıkarılmadan süpernatant kısım bir kerede atıldı. Böylece tüpte yalnızca seleksiyonu istenen hücreler kaldı. Bu işlem 3-4 sn'de yapıldı. Daha sonra tüp ve mıknatıs tekrar düz pozisyona getirildi.



6.BASAMAK: Tüp mıkmatıstan çıkarıldı ve 2,5 ml kültür medium ilave edildi. Elde edilen karışım pipetle 3-4 kez karıştırıldı. Tp mıkmatısa tekrar konu ve 5 dakika süreyle beklendi.

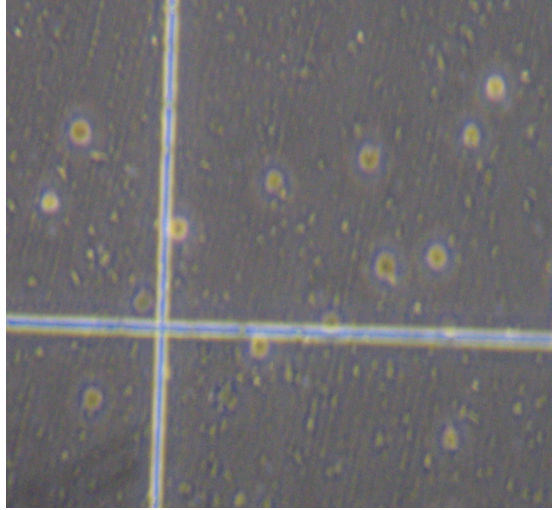
7.BASAMAK: 4. ,5. ,6. basamaklar tekrar edildi ve 5.basamak bir kez daha tekrar edildi. Böylece tüpte kalan hücreler en az iki kez kültür solüsyonu ile yıkanarak uygun hücre süspansiyonu elde edildi. Bu işlem sonrası pozitif seleksiyonla elde edilmiş hücreler kullanıma hazırlanmış oldular.(şekil -7)



**şekil -7:** Hücre sayımı öncesi elde edilen CD34+ kök hücrelerinin biriktirilmesi

### **ELDE EDİLEN CD34+ KÖK HÜCRELERİN SAYIMI**

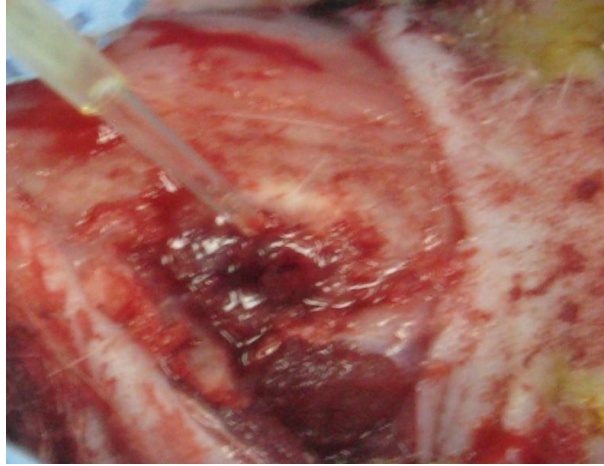
Pozitif seleksiyon ile seçilmiş olan hücreler tripan blue ile muamele edilerek ışık mikroskobu altında hemostometri ile sayıldı. Hücre süspansiyonunun 2 mikrolitresinde  $3 \times 10^4$  hücre olduğu gözlendi.(şekil-8)



**Şekil-8:** Pozitif seleksiyon ile seçilen hücrelerin ışık mikroskopunda sayılması

### **KORTİKAL REZEKSİYON ALANINA CD34+ HÜCRE EKİMİ**

Sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon sonrası rezeksiyon alanındaki boşluğa seleksiyonu yapılan hücreler steril otomatik pipetler ile transplante edildi. (Şekil-9) Her transplantasyon sonrası otomatik pipet uçları sterilite nedeniyle değiştirildi. Transplant alanına 2 mikrolitresinde  $3 \times 10^4$  hücre olan hücre süspansiyonu ekildi.

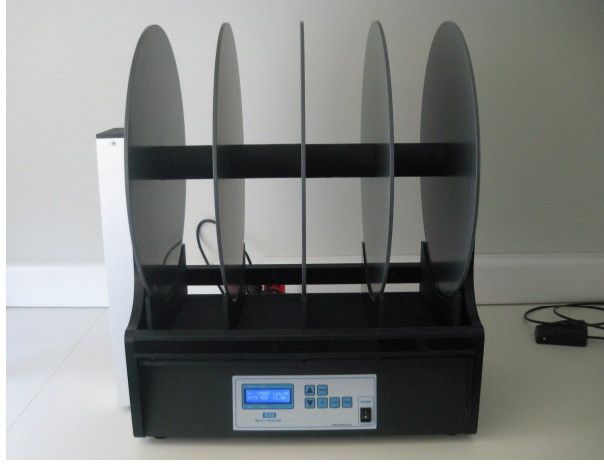


**Şekil-9:** Elde edilen CD34+ kök hücrelerinin steril otomatik pipet ile transplantasyonu

### **ROTAROD PERFORMANS TESTİ**

Rotarod performans testi, hayvanların motor koordinasyon ve performanslarının değerlendirildiği davranışsal bir testtir. Test cihazının çalışma prensibi hayvanları belirli bir yükseklikte (15 cm, belirli bir hızda (10 devir/dk)

elektrik enerjisiyle dönen bir mil üzerinde belirli bir süre içerisinde yürüyebilmesi ve aşağıya düşmemesi esasına dayanır.(Şekil-10)



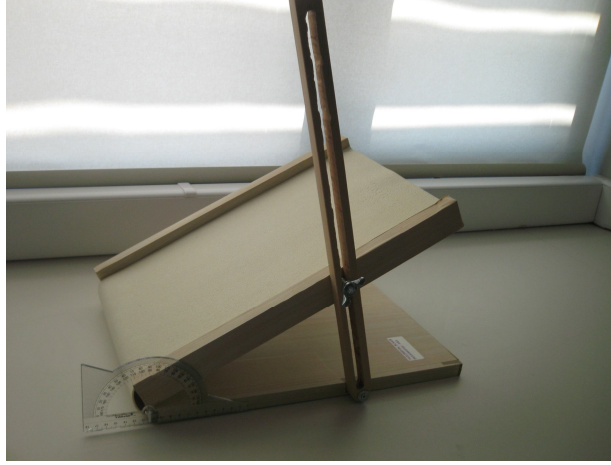
Şekil -10: Rotarod performans cihazı

Bu testte kullanılan cihazda birbirine bitişik dört kabin bulunmaktadır. Bu kabinlerin genişliği 15 cm, derinliği 30 cm ve duvar yüksekliği 50 cm dir. Hayvan aşağıya düşmemek için milin döndüğü yönün tersi yönünde yürümeye çalışır. Bizim çalışmamızda çalışma grupları çalıştırılmadan önce 10 devir/dk hızda dönen mil üzerinde üç dakika ve üzerinde kalan sağlıklı ratlar seçilerek çalışma gruplarına ayrıldı. Daha sonra bir hafta boyunca ratlara günde bir defa üç dakikanın üzerinde mil üzerinde yürütülerek yürüme egzersizleri yaptırıldı. Hayvanlarda motor koordinasyonun bozulması durumunda hayvanın yürüyemediği ve mil üzerinden düştüğü gözlemlendi. Aşağıya düşen ratlar tekrar dönen mil üzerine konuldu. Grupları oluşturulan tüm ratlara beş defa yürüme şansı verildi ve ratların yere düştüğü anda süre durduruldu. Mil üzerinde kalabildiği en uzun süre rotarod performans değeri olarak kaydedildi. Rotarod performans testi dört hafta boyunca haftalık olarak yapıldı ve kaydedildi.

### **RİVLİN VE TATOR'UN EĞİK DÜZLEM TESTİ**

Hayvanların motor kuvvetinin ve performansının değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir test olan çift yönlü eğik düzlem testidir. Test cihazı yanında açölçer bulunan üst kısmı açılı olarak yükseltilebilen bir tabladan oluşmaktadır. Çalışmamızda dört hafta boyunca deneklerin baş aşağı ve baş yukarı pozisyonda eğik

düzlemde beş saniye süreyle kalabildikleri açılar toplanarak elde edilen değerlerin ikiye bölünmesi ile ortaya çıkan değer test edilen ratın çift yönlü eğik düzlem açısı performansı olarak kaydedildi (Şekil-11).



**Şekil-11:** Rivlin ve Tatorun eğik düzlemi

## **PATOLOJİK İNCELEME**

Dört haftanın sonunda gruplardaki ratların tamamına intraperitoneal yüksek doz anestezik verilerek yaşamları sonlandırıldı. Daha sonra ratların eski operasyon bölgelerindeki kıllar traş edilerek cilt insizyon için hazırlandı. Cilt açılarak ciltaltı dokularda gelişmiş yapışıklıklar disseke edildi ve kraniektomi sahası ile birlikte serebral yapı ortaya konuldu. Cerrahi olarak kraniektomi sahası genişletilerek bütün olarak serebral hemisferler çıkarıldı. Alınan materyaller iki gün süreyle %10'luk formaldehit çözeltisi içerisinde bırakılarak fixe edildi. İki gün sonra serebral dokular 16 saat doku takip cihazında bekletildikten sonra 56 derecelik parafinle bloklanarak kesime hazırlandı. Daha sonra materyaller 2,5µ kalınlığında sagittal planda kesilerek GFAP(Glial Fibriller Asit Protein), S100 protein, MAP (Mikrotübülle İlişkili Protein) ve H&E(hemotoksilen eozin) ile boyanarak incelendi. Daha sonra kesitlerin geçtiği alanlardan fotoğraf çekildi.

## **İSTATİKSEL ANALİZ**

DeneySEL olarak sol serebral rezeksiyon yapılan yapılan ratlarda performans testleri olarak kullanılan rotarod sistemi ile eğik düzlem testindeki veriler Kruskal-Wallis Varyans Analizi ve Benferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile yapıldı.

## BULGULAR

Sekiz haftalık çalışma süresince gruplarda yer alan deneklerin rotarod performans değerleri, çift yönlü eğik düzlem performans değerlerinin ortalaması haftalık olarak kaydedildi. Sekizinci haftada gruplardaki deneklere yüksek doz intraperitoneal anestezi verilerek exitus yapılarak beyinleri incelenmek üzere bir bütün olarak çıkarıldı. (Şekil-12)



**Şekil-12:** Exitus yapılan deneğin bütün olarak çıkarılmış beyin dokusu.

**Cerrahi Bulgular:** Sekizinci hafta sonrasında deneklerin önceki insizyon yerleri açıldığında operasyon bölgesinde tüm gruplarda yapışıklığın olduğu gözlemlendi. Genel olarak kraniektomi sahası üzerinde fibrozisin geliştiği ve bu fibrotik dokunun parankime yapışık olduğu gözlemlendi. Bu yapışıklık kontrol grubunda daha fazla iken Grup 2 ve Grup 4 'de daha az olduğu izlendi. Kraniektomi sonrasında bütün halinde beyinleri çıkarılan deneklerin kortikal rezeksiyon saha alanları arasında farklılıklar bulunmaktaydı. Bu sahalardan denekler değerlendirildiğinde Grup 1 de rezeksiyon sahası en geniş olarak kalmakla birlikte, Grup 2 ve Grup 4'ün rezeksiyon sahaları birbirine yakındı ve Grup 3 ile Grup 1'e göre rezeksiyon sahaları daha küçüktü.

## ROTAROD PERFORMANS TESTİ BULGULARI

Sekiz haftalık çalışma süresince deneklerin lokomotor sistemlerinin değerlendirilmesine yönelik, haftalık olarak her gruba rotarod performans testi yapıldı. Deneklerin rotarod performans değerleri aşağıdaki tabloda (Tablo-1) özetlenmiştir. Sekizinci hafta sonunda elde edilen saniye cinsinden rotarod performans verileri gruplar arasında Kruskal-Wallis Varyans Analizi ile karşılaştırıldı (Tablo-2).

**Tablo-1:**Dört grupta yer alan ratların sekiz hafta süresince haftalık elde edilen rotarod performans testi değerleri(saniye)

HAFTALAR		1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	4.HAFTA	5.HAFTA	6.HAFTA	7.HAFTA	8.HAFTA
GRUPLAR									
GRUP1	1/1	1,75	2,65	2,70	2,41	2,43	2,40	2,45	2,44
	1/2	1,80	3,10	3,05	3,10	3,15	3,16	3,10	3,18
	1/3	2,15	2,40	2,55	2,60	2,55	2,60	2,65	2,55
	1/4	1,35	2,10	2,05	2,15	2,20	2,15	2,20	2,15
	1/5	1,55	2,05	2,35	2,45	2,35	2,40	2,35	2,36
	1/6	1,20	2,00	2,10	2,12	2,18	2,14	2,18	2,22
GRUP2	2/1	1,45	6,05	20,05	31,50	62,25	62,15	70,55	75,40
	2/2	1,15	3,40	15,65	20,35	25,35	30,46	40,50	55,45
	2/3	1,85	4,30	21,50	25,45	60,55	70,36	78,65	80,30
	2/4	2,05	5,15	35,50	38,43	85,12	90,16	94,75	95,00
	2/5	1,60	3,60	18,32	26,30	71,25	86,25	93,40	94,50
	2/6	1,65	4,80	30,65	37,80	83,38	91,18	96,85	97,00
GRUP3	3/1	1,06	2,70	5,05	8,20	9,15	10,45	13,20	16,42
	3/2	1,45	2,85	5,65	8,25	9,35	11,35	16,40	18,13
	3/3	1,36	2,90	6,15	8,75	11,45	13,60	15,50	20,4
	3/4	1,12	3,15	4,30	7,45	10,56	14,00	16,22	22,35
	3/5	1,44	2,75	3,55	9,05	14,30	16,67	18,34	25,8
	3/6	1,95	3,25	6,05	9,30	13,20	15,13	17,24	21,30
GRUP4	4/1	1,85	5,45	28,35	36,35	70,50	76,85	95,10	110,4
	4/2	2,30	6,14	38,7	40,15	75,45	80,30	100,30	125,80
	4/3	1,76	7,15	35,5	41,30	78,60	85,80	112,80	140,30
	4/4	1,96	6,50	30,80	41,74	79,50	86,00	120,60	160,40
	4/5	1,12	5,12	29,56	39,80	84,56	93,45	140,50	170,30
	4/6	2,15	7,50	38,00	43,1	90,30	98,25	153,45	177,8

**Tablo-2:** Her hafta sonunda her bir grup için elde edilen rotarod performans testi ortalama değerleri (saniye).

	HAFTALIK GRUPLARDAKİ ORTALAMA DEğER (saniye)							
	1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	4.HAFTA	5.HAFTA	6.HAFTA	7.HAFTA	8.HAFTA
GRUP1	1,63	2,38	2,46	2,47	2,47	2,47	2,48	2,48
GRUP2	1,62	4,55	23,61	29,97	64,65	71,7	79,11	82,94
GRUP3	1,39	2,93	5,12	8,50	11,33	13,53	16,15	20,73
GRUP4	1,85	6,31	33,48	40,40	79,81	86,77	120,45	147,50

Birinci haftanın sonunda elde edilen rotarod performans testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 1,63 saniye, Grup 2’de 1,62 saniye, Grup 3’te ise 1,39 saniye, Grup 4’te 1,85 saniye olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $P>0,05$ ). İkinci haftanın sonunda elde edilen rotarod performans testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 2,38 saniye, Grup 2’de 4,55 saniye, Grup 3’te ise 2,93 saniye, Grup 4’te 6,31 saniye olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $P=0,0001$ ). Üçüncü haftanın sonunda elde edilen rotarod performans testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 2,46 saniye, Grup 2’de 23,61 saniye, Grup 3’te ise 5,12 saniye, Grup 4’te 33,48 saniye olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $P=0,0001$ ). Dördüncü haftanın sonunda elde edilen rotarod performans testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 2,47 saniye, Grup 2’de 29,97 saniye, Grup 3’te ise 8,50 saniye, Grup 4’te 40,40 saniye olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $P=0,0001$ ). Beşinci haftanın sonunda elde edilen rotarod performans testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 2,47 saniye, Grup 2’de 64,65 saniye, Grup 3’te ise 11,33 saniye, Grup 4’te 79,81 saniye olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $P=0,0001$ ). Altıncı haftanın sonunda elde edilen rotarod performans testi verileri kullanılarak yapılan

değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 2,47 saniye, Grup 2’de 71,7 saniye, Grup 3’te ise 13,53 saniye, Grup 4’te 86,77 saniye olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (P=0,0001). Yedinci haftanın sonunda elde edilen rotarod performans testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 2,48 saniye, Grup 2’de 79,11 saniye, Grup 3’te ise 16,15 saniye, Grup 4’te 120,45 saniye olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (P=0,0001). Sekizinci haftanın sonunda elde edilen rotarod performans testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 2,48 saniye, Grup 2’de 82,94 saniye, Grup 3’te ise 20,73 saniye, Grup 4’te 147,50 saniye olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (P=0,0001).

### **ÇİFT YÖNLÜ EĞİK DÜZLEM TESTİ BULGULARI**

Çalışmamızda çift yönlü Eğik düzlem testi kullanılarak sekiz hafta boyunca deneklerin baş aşağı ve baş yukarı pozisyonda eğik düzlemde beş saniye süreyle kalabildikleri açı toplanarak değer ikiye bölündü ve böylelikle elde edilen değer o ratın çift yönlü eğik düzlem açı performansı olarak kaydedildi. Grupların sekiz hafta boyunca haftalık ölçüm değerleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo-3, Tablo 4). Sekizinci haftanın sonunda ratların çift yönlü eğik düzlem açı değerlerinin ortalaması Kruskal Wallis varyans analizi ile değerlendirildi (Tablo 5).



**Tablo-3:** Grup 1ve Grup 2’de yer alan ratların sekiz hafta süresince haftalık elde edilen çift yönlü eğik düzlem açı değerleri(derece)

HAFTALAR		1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	4.HAFTA	5.HAFTA	6.HAFTA	7.HAFTA	8.HAFTA
GRUPLAR									
GRUP1	1/1	44,00	45,00	48,50	51,50	54,00	55,00	54,50	54,00
	1/2	46,00	48,50	49,00	51,00	55,00	56,50	56,00	55,30
	1/3	49,00	50,00	51,00	52,00	54,50	54,00	55,50	55,00
	1/4	42,00	46,50	47,50	49,00	53,50	54,00	55,00	55,50
	1/5	47,50	48,50	49,50	50,00	55,50	55,00	55,50	56,00
	1/6	48,00	49,00	50,00	51,50	53,00	54,50	55,00	54,00
GRUP2	2/1	43,00	57,00	65,00	66,50	69,00	69,00	69,50	69,50
	2/2	47,50	56,50	63,50	67,00	68,00	69,50	70,00	71,00
	2/3	48,50	57,50	64,50	68,50	69,50	70,00	70,00	69,00
	2/4	49,50	59,00	63,00	69,00	69,00	70,50	70,50	71,00
	2/5	48,00	58,50	67,00	70,00	69,00	69,00	69,00	70,50
	2/6	44,50	56,00	67,50	69,50	69,50	69,00	69,50	70,00

**Tablo-4:** Grup 3 ve Grup 4’de yer alan ratların sekiz hafta süresince haftalık elde edilen çift yönlü eğik düzlem açı değerleri(derece)

HAFTALAR		1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	4.HAFTA	5.HAFTA	6.HAFTA	7.HAFTA	8.HAFTA
GRUPLAR									
GRUP3	3/1	44,00	52,00	54,00	56,00	58,00	59,50	60,00	59,50
	3/2	46,00	54,00	55,00	56,50	57,50	61,00	61,00	61,50
	3/3	47,50	53,50	56,00	57,00	58,50	59,00	59,50	60,00
	3/4	48,00	54,50	56,50	57,50	59,00	60,50	60,50	62,00
	3/5	45,50	51,50	55,50	59,50	59,50	60,00	60,00	61,50
	3/6	47,00	53,00	54,50	55,50	59,50	61,50	61,00	62,50
GRUP4	4/1	42,00	58,50	66,50	69,50	69,50	72,00	72,00	73,50
	4/2	45,00	58,00	68,00	69,00	70,50	71,00	72,50	73,00
	4/3	46,50	57,50	68,50	71,00	71,50	71,50	71,00	72,50
	4/4	46,00	60,50	69,50	71,50	71,00	72,50	72,50	73,50
	4/5	48,00	62,50	69,00	71,00	70,00	70,50	72,00	72,50
	4/6	47,50	59,50	67,50	70,50	70,50	72,50	72,50	73,00

**Tablo-5:** Her hafta sonunda her bir grup için elde edilen çift yönlü eğik düzlem açısı ortalama değerleri (derece).

	HAFTALIK GRUPLARDAKİ ORTALAMA DEĞER (derece)							
	1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	4.HAFTA	5.HAFTA	6.HAFTA	7.HAFTA	8.HAFTA
GRUP1	46,08	47,91	49,25	50,83	54,25	54,83	55,25	54,96
GRUP2	46,83	57,41	65,08	68,41	69,00	69,50	69,75	70,16
GRUP3	46,33	53,08	55,25	57,00	58,66	60,25	60,33	61,16
GRUP4	45,83	59,41	68,16	70,41	70,50	71,66	72,08	73,00

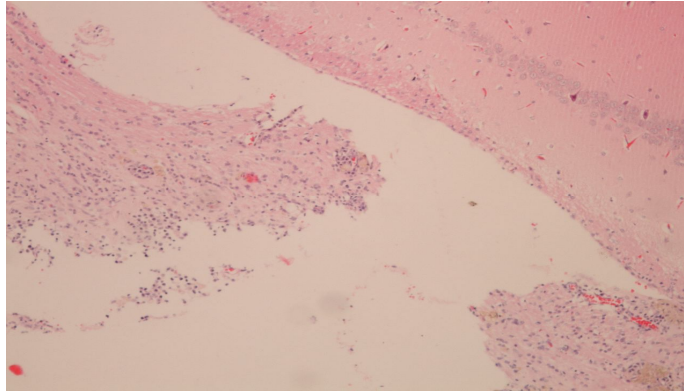
Birinci haftanın sonunda elde edilen çift yönlü eğik düzlem testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede birinci hafta sonunda ortalama değer Grup 1’de 46,08 derece, Grup 2’de 46,83 derece, Grup 3’te ise 46,33 derece, Grup 4’te 45,83 derece olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $P>0,05$ ). İkinci haftanın sonunda elde edilen çift yönlü eğik düzlem testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 47,91 derece, Grup 2’de 57,41 derece, Grup 3’te ise 53,08 derece, Grup 4’te 59,41 derece olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $P=0,0001$ ). Üçüncü haftanın sonunda elde edilen çift yönlü eğik düzlem testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 49,25 derece, Grup 2’de 65,08 derece, Grup 3’te ise 55,25 derece, Grup 4’te 68,16 derece olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $P=0,0001$ ). Dördüncü haftanın sonunda elde edilen çift yönlü eğik düzlem testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 50,83 derece, Grup 2’de 68,41 derece, Grup 3’te ise 57,00 derece, Grup 4’te 70,41 derece olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $P=0,0001$ ). Beşinci haftanın sonunda elde edilen çift yönlü eğik düzlem testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 54,25 derece, Grup 2’de 69,00 derece, Grup 3’te ise 58,66 derece, Grup 4’te 70,50 derece olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $P=0,0001$ ). Altıncı haftanın sonunda elde edilen çift yönlü eğik düzlem testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 54,83 derece, Grup 2’de 69,50 derece, Grup 3’te ise 60,25 derece, Grup 4’te 71,66 derece olarak

bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (P=0,0001). Yedinci haftanın sonunda elde edilen çift yönlü eğik düzlem testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 55,25 derece, Grup 2’de 69,75 derece, Grup 3’te ise 60,33 derece, Grup 4’te 72,08 derece olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (P=0,0001). Sekizinci haftanın sonunda elde edilen çift yönlü eğik düzlem testi verileri kullanılarak yapılan değerlendirmede ortalama değer Grup 1’de 54,96 derece, Grup 2’de 70,16 derece, Grup 3’te ise 61,16 derece, Grup 4’te 73,00 derece olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (P=0,0001).

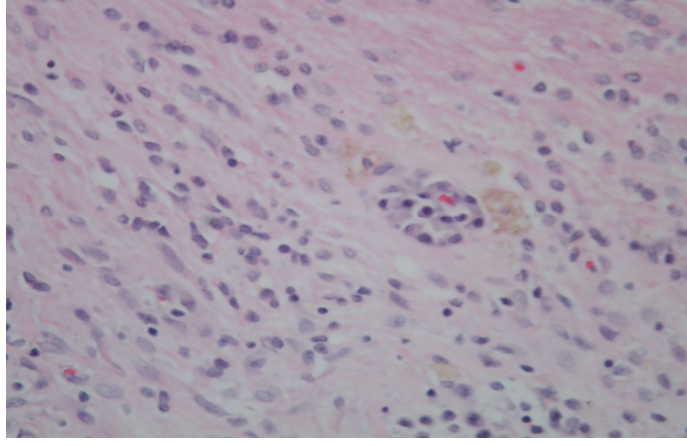
### **PATOLOJİK İNCELEME BULGULARI**

Sakrifiye edilen herbir deneğin çıkarılan beyin dokularından, rezeksiyon sahasını içine alacak şekilde coronal kesitler alınarak patolojik inceleme için uygun olarak hazırlandı ve daha sonra hemotoksilen eozin, GFAP, S100, MAP ile immünohistokimyasal analiz için boyandı.

Grup 1’ de yer alan sıçanların H&E ile boyanmış histolojik kesitlerinde işçi hücrelerde (fibroblast) proliferasyon, bazılarında lipofuksin pigmenti içeren makrofaj toplanmaları, lenfoplazmositik mononükleer enflamatuvar hücre toplulukları izlendi.

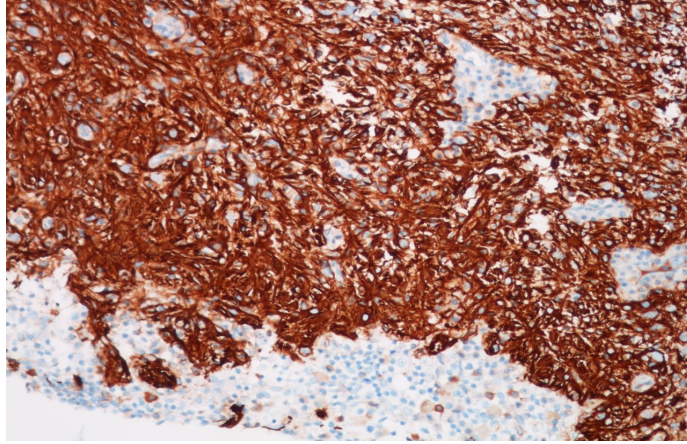


**Şekil-13:** Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (H&E 10’luk büyütme)



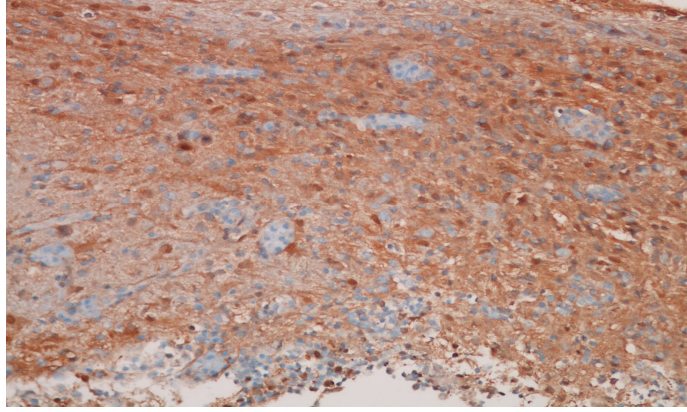
**Şekil-14:** Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (H&E 40’lık büyütme)

Grup 1’de yer alan sıçanların GFAP ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon alanı ve sınırlarında gelişen skar dokusunda GFAP pozitif olarak tespit edildi.



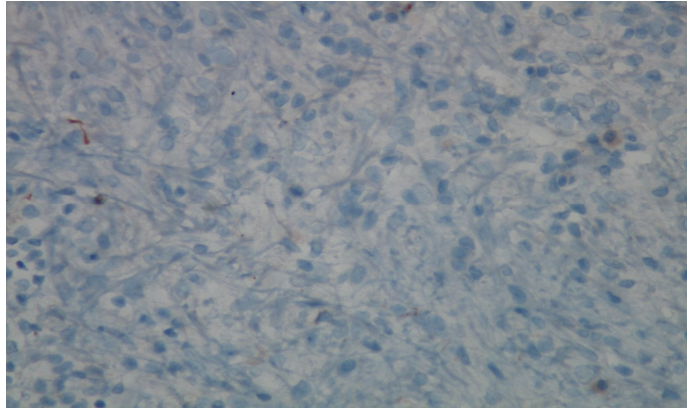
**Şekil-15:** Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (GFAP 40’lık büyütme)

Grup 1’de yer alan sıçanların S100 ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon alanı ve sınırlarında gelişen skar dokusunda S100 pozitif olarak tespit edildi.



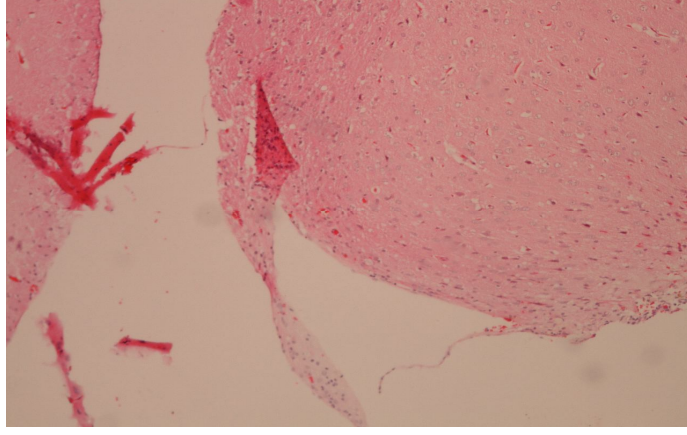
**Şekil-16:** Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(S100 40’lık büyütme)

Grup 1’de yer alan sıçanların MAP ile boyanmış histolojik kesitlerinde, rezeksiyon alanı ve sınırlarında gelişen skar dokusu içinde MAP negatif olarak izlendi.

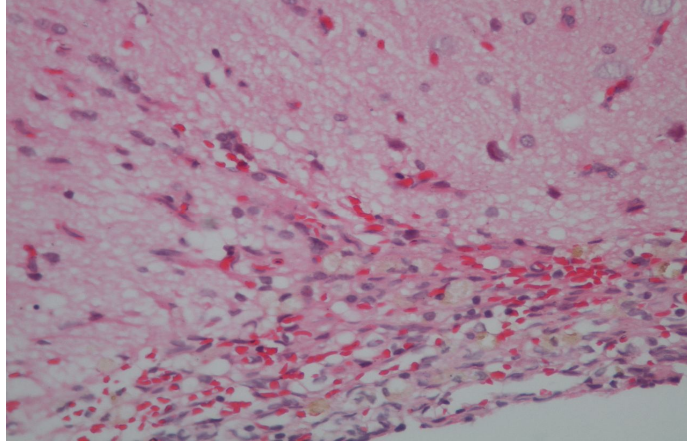


**Şekil-17:** Grup 1’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (MAP 40’lık büyütme)

Grup 2’ de yer alan sıçanların H&E ile boyanmış histolojik kesitlerinde iğsi hücrelerde (fibroblast) proliferasyon, bazılarında lipofuksin pigmenti içeren makrofaj toplanmaları izlendi.

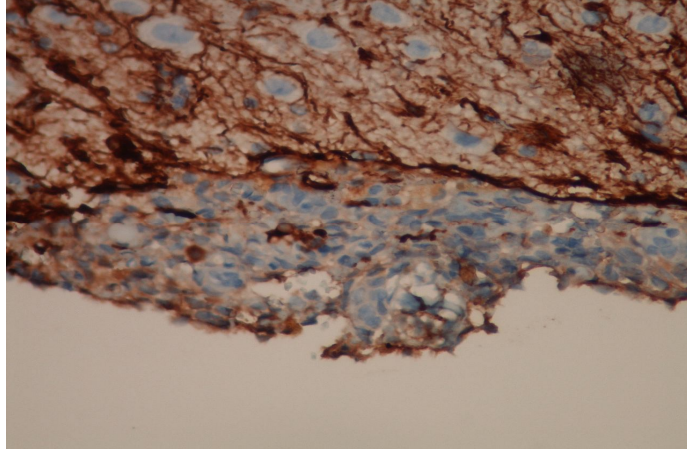


**Şekil-18:** Grup 2’de yer alan bir rat beyninin sagittal planda histolojik kesiti (H&E 10’luk büyütme)



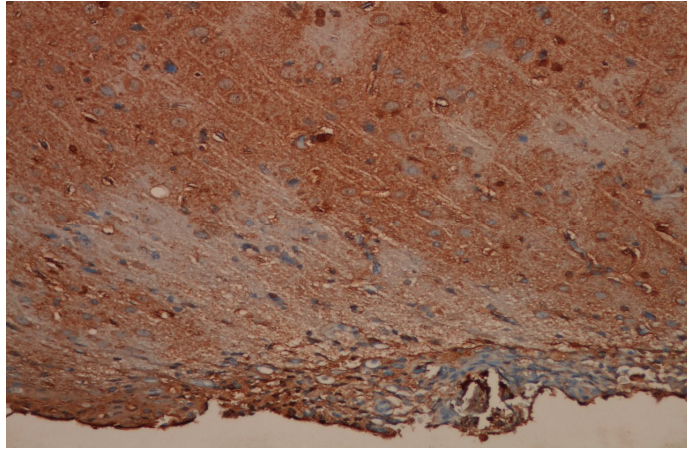
**Şekil-19:** Grup 2’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti (H&E 40’lık büyütme)

Grup 2’de yer alan sıçanların GFAP ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon alanı ve sınırlarında gelişen skar dokusunda GFAP pozitif izlendi.



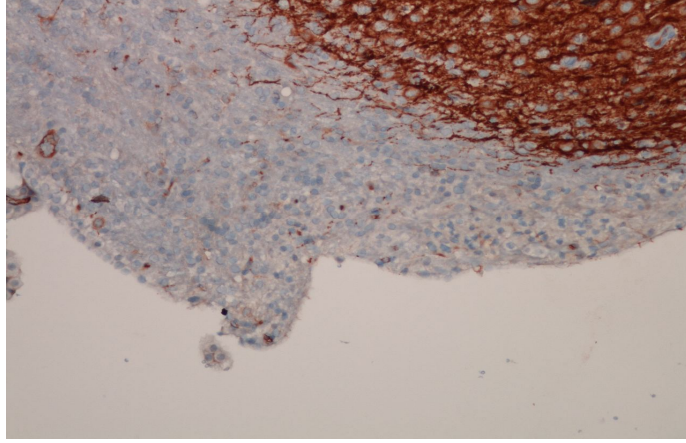
**Şekil-20:** Grup 2’de yer alan bir rat beyninin sagittal planda histolojik kesiti(GFAP 40’lık büyütme)

Grup 2’de yer alan sıçanların S100 ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon alanı ve sınırlarında gelişen skar dokusunda S100 pozitif izlendi.



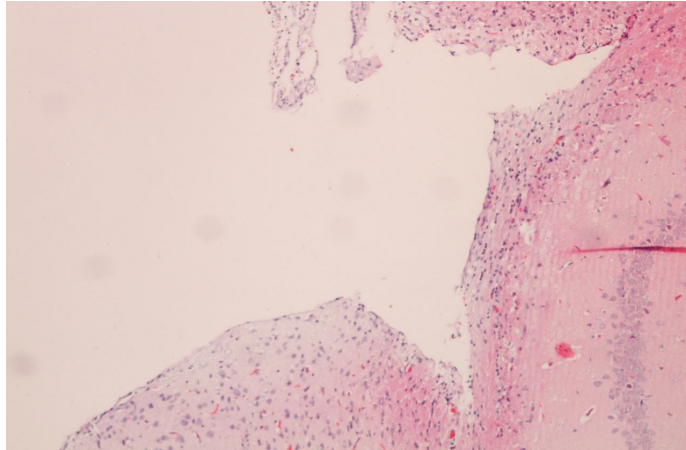
**Şekil-21:** Grup 2’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(S100 40’lık büyütme)

Grup 2’de yer alan sıçanların MAP ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon alanı ve sınırlarında gelişen skar dokusunda MAP bir alanda pozitif olarak izlendi.



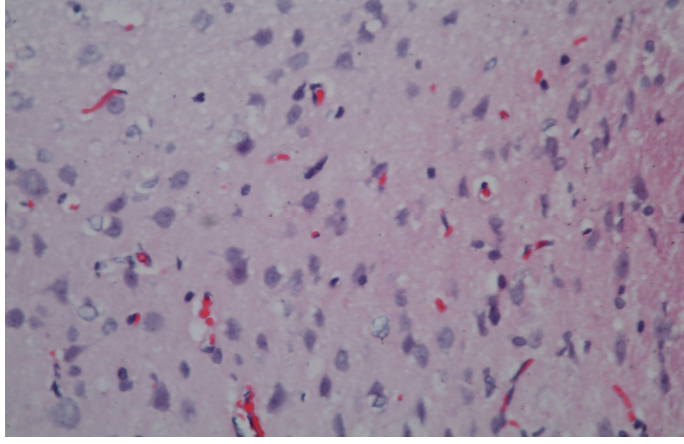
**Şekil-22:** Grup 2’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(MAP 40’lık büyütme)

Grup 3’de yer alan sıçanların H&E ile boyanmış histolojik kesitlerinde işçi hücrelerde (fibroblast) proliferasyon, bazılarında lipofuksin pigmenti içeren makrofaj toplanmaları izlendi.



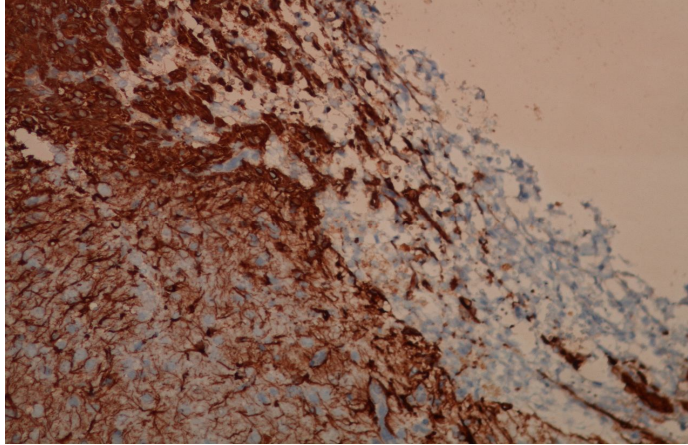
**Şekil-23:** Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(H&E 10’luk büyütme)





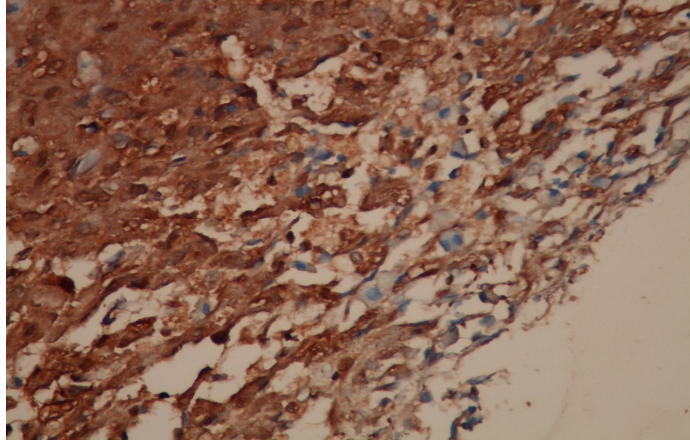
**Şekil-24:** Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(H&E 40’lık büyütme)

Grup 3’de yer alan sıçanların GFAP ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon alanı ve sınırlarında gelişen skar dokusunda GFAP pozitif izlendi.



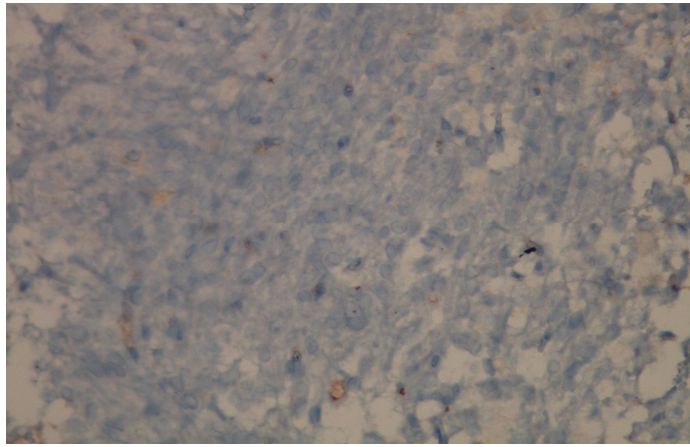
**Şekil-25:** Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(GFAP 40’lık büyütme)

Grup 3’de yer alan sıçanların S100 ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon alanı ve sınırlarında gelişen skar dokusunda S100 fokal pozitif izlendi.



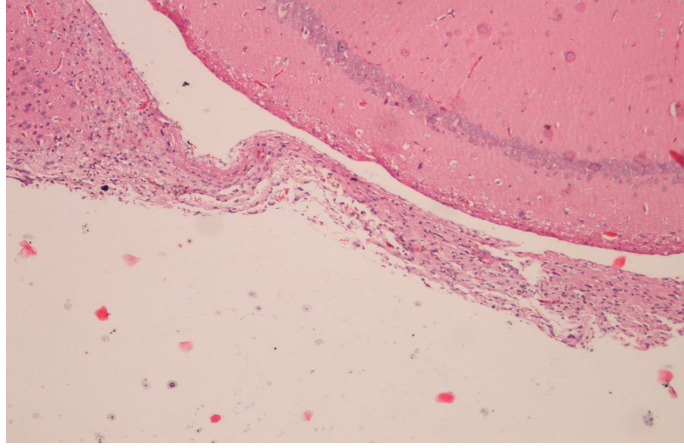
**Şekil-26:** Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(S100 40’lık büyütme)

Grup 3’de yer alan sıçanların MAP ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon alanı ve sınırlarında gelişen skar dokusunda MAP negatif izlendi.

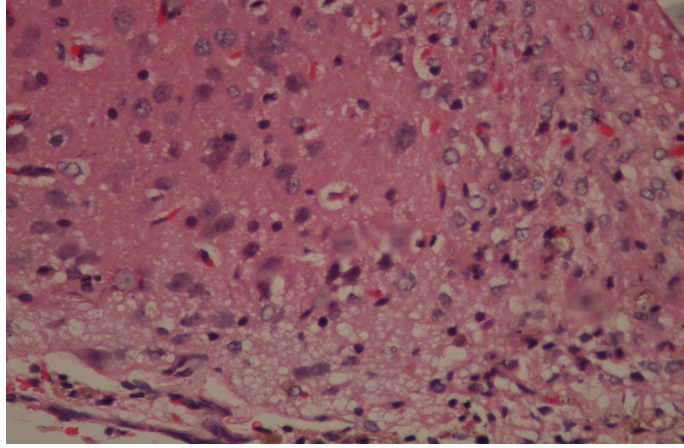


**Şekil-27:** Grup 3’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(MAP 40’lık büyütme)

Grup 4’de yer alan sıçanların H&E ile boyanmış histolojik kesitlerinde mononükleer enflamatuar hücreler daha belirgin olup, iğsi hücre proliferasyonu ve bazılarında lipofuksin pigmenti içeren makrofaj toplulukları izlendi.

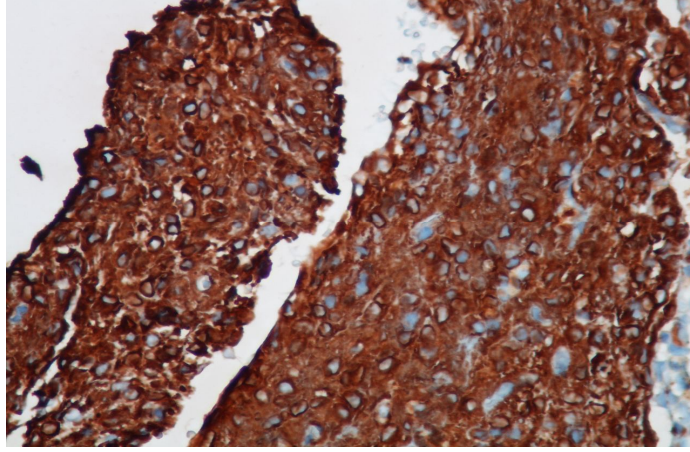


**Şekil-28:** Grup 4’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(H&E 10’luk büyütme)



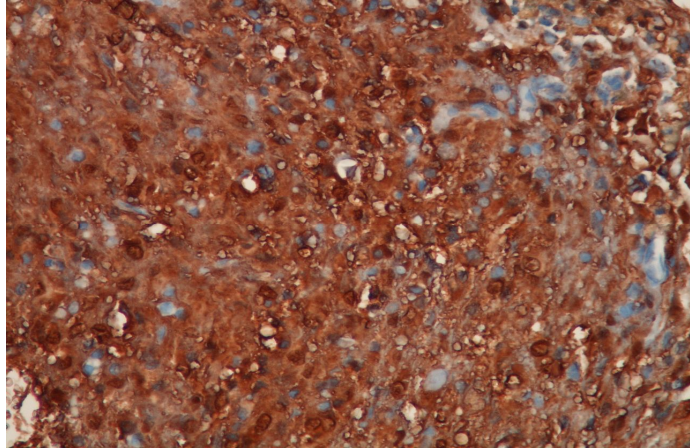
**Şekil-29:** Grup 4’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(H&E 40’lık büyütme)

Grup 4’de yer alan sıçanların GFAP ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon sahası ve sınırlarında GFAP pozitif izlendi.



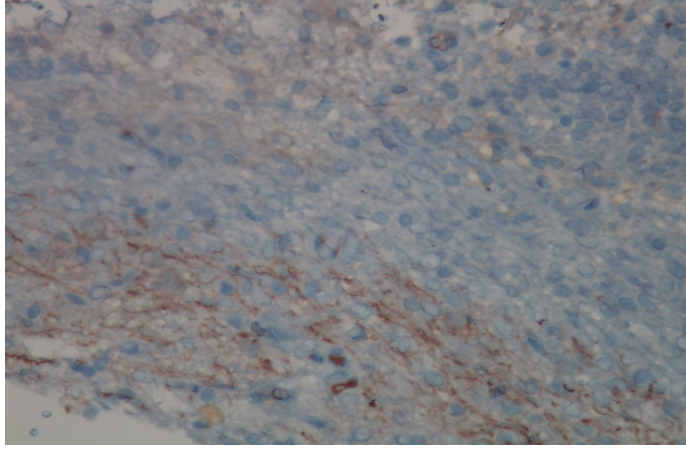
**Şekil-30:** Grup 4’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(GFAP 40’lık büyütme)

Grup 4’de yer alan sıçanların S100 ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon sahası ve sınırlarında S100 pozitif izlendi.



**Şekil-31:** Grup 4’de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(S100 40’lık büyütme)

Grup 4’de yer alan sıçanların MAP ile boyanmış histolojik kesitlerinde rezeksiyon sahası ve sınırlarında MAP bir alanda pozitif izlendi.



**Şekil-32:** Grup 4'de yer alan bir rat beyninin koronal planda histolojik kesiti(MAP 40'lık büyütme)

## TARTIŞMA

İnsan nüfusundaki artış ile birlikte motorlu araç kazaları, iş kazaları, darp, düşme gibi mekanik travmalara bağlı gelişen kafa travmaları sonrası oluşmuş travmatik beyin hasarı öldürücü, sakat bırakıcı, uzun süre bakım ve tedavi gerektiren bir patoloji olarak yaşadığımız yüzyılda, önemli kişisel ve sosyo- ekonomik sonuçları nedeniyle mutlaka çözülmesi gereken bir sorun olarak bilim dünyasının karşısında çözümlenmeyi beklemektedir (1,19).

Yapılan epidemiyolojik ve etiyolojiye yönelik çalışmalarda 45 yaş altı genç popülasyonda önde gelen ölüm nedenleri arasında trafik kazaları olduğu, genel travmaya bağlı ölümlerin ve sakatlıkların yarısının kafa travmaları nedeniyle geliştiği göz önünde bulundurulduğunda, toplumun en dinamik fraksiyonunda gelişen blok, iş kaybını ve tedavi masraflarını daha da arttırmaktadır (2,23). Gelişmiş ülkeler ciddi sosyoekonomik problemler ile sonuçlanan bu sorunları aşabilmek için birincil korumayı desteklemek amaçlı ciddi çalışmalar yapmakla birlikte, travmatik beyin hasarı ile ortaya çıkan morbiditenin sağaltımına yönelik yapılan bilimsel çalışmalara da destek vermektedir.

Travmatik beyin hasarını tamamiyle önleyebilecek ya da tedavi edilebilecek bir yöntem, yapılan tüm araştırmalara rağmen, hala mevcut değildir. Ancak sonuçlanan çalışmalar ve devam etmekte olan çalışmalar bu büyük problemin çözümünde insanlığa umut vaat etmektedir.

Mevcut sorunun çözümü, sorunun iyi analiz edilebilmesinden geçmektedir. Bu nedenle travmatik beyin hasarının patofizyolojisinin çok iyi analiz edilmesi gerekmektedir ki çözüme gidebilecek tüm alternatif yollar kullanılabilinsin. Bundan

dolayıdır ki patofizyolojiyi anlamaya yönelik, insana yakın deneysel modeller oluşturulmaya çalışılarak, birçok deneysel çalışma yapılmıştır.

Yapılan deneysel çalışmalar göstermiştir ki travmatik beyin hasarı sonrası oluşan patofizyoloji iki süreçte gerçekleşmektedir. Bu süreçlerden primer hasar, kaza anında başlamakta olup ve daha sonra yerini günler, haftalar boyunca sürececek olan moleküler ve hücresel değişim kaskadını içeren ikincil hasarın tetikleyicisi olarak karşımıza çıkmaktadır (32). Travmatik beyin yaralanmasında birincil hasarlanmaya neden olan cerrahi endikasyonlu faktörlerin cerrahi işlemler ile ortadan kaldırılması, daha sonra gelişecek olan ikincil hasarın şiddetini en aza indirmek açısından önemlidir. Ancak ikincil hasarlanma sürecinde, travma sonrası hasarlanan ve canlılığını korumak için mücadele veren nöronların etkilenmesinin devam etmesi nedeniyle bu nöronlara nörorestoratif destek verilmesi açısından bilimsel çalışmalar özellikle ikincil hasarlanma sürecine yoğunlaşmıştır.

Travmatik beyin hasarında primer hasarlanma incelendiğinde statik ve dinamik mekanik etki tipleri ile geliştiği gözlenmiştir(30). Bu mekanik etkiler sonrası skalpte değişik derecelerde yaralanmalardan yaygın aksonal hasara kadar varan kemik, vasküler ve serebral dokunun etkilendiği geniş yelpazede hasarlanmalar olduğu bilinmektedir(31, 33, 34). Çarpma sırasında kontakt etkiler kalvaryumda, en önemli komplikasyonu epidural hematoma olan lineer kırıklara, beyin penetrasyonu gelişebilen komplike çökme kırıklarına ve kranial sinir yaralanması meydana gelebilen kaide kırıklarına neden olabilmektedir(34,35). Mekanik etkiler sadece skalp ve kalvaryal düzeyde primer hasara neden olmamaktadır. Bunun yanında özellikle translasyonel ve rotasyonel hareketlerin birleşimi ile oluşan anguler akselerasyon en zararlı beyin hasarlanması mekanizması olarak karşımıza çıkmaktadır (30,31). Mekanik etkinin morfolojisi değiştiğinde ve şiddetlendiğinde oluşan primer hasar başka boyutlara evrilmektedir. Travma sonrası gelişen fokal ve yaygın kafa içi lezyonlar mekanik etkinin morfolojisinin değişimi sonucudur. Fokal kafaiçi lezyonlardan kontüzyonlar serebral yüzey ile kafa tabanındaki kemik

çıkıntılar arasındaki travma esnasında oluşan etkileşim sonucu ortaya çıkar. Bu lezyonlarda doku ve vasküler yapı sağlamdır, kapiller staz meydana gelir, BOS emilimi azalır ve ödem gelişir. Laserasyonda ise vasküler ve serebral doku bütünlüğü bozulur. Sinir dokusunda gelişen lezyon geri dönüşümsüz olup, glial nedbe dokusu ile iyileşme gösterir (28, 33, 34). Bunların dışında özellikle orta meningeal arterin yırtılması ile oluşan epidural hematoma, özellikle başın akselerasyonu ile köprü venlerde gelişen yırtıklar sonucu oluşan sıklıkla parankimal zedelenmenin eşlik ettiği subdural hematoma, travma esnasında direkt vasküler yapıların yırtılması ile oluşan intraserebral hematoma, BOS emilimini engelleyerek KİB artışına neden olup ikincil hasarlanmayı arttıran subaraknoid kanama diğer odaksal kafa içi lezyonlar olarak sıralanabilir(33,34). Özellikle anguler akselerasyon sonucu oluşan, kitle etkisi yapan bir lezyonun eşlik etmediği, postravmatik ölümlerin %35' inden sorumlu, daha çok gri ve beyaz cevher birleşim alanlarında oluşan, şiddetli olmayan kafa travmalarında bile ortaya çıkabilen koma ile karakterize yaygın aksonal hasar yaygın kafa içi lezyonları arasında sayılabilir (36).

Bütün bu primer hasar mekanizmaları travmayı takip eden saatler boyunca serebral dokunun metabolizması ve iyon dengesinde, kafa içi hemodinamik dengelerde ve BOS kompartmanlarında bir takım sekonder değişiklikleri başlatır. Dengelerde meydana gelen bu değişiklikler zaten beyinde gelişmiş olan primer hasarın düzelmesini zorlaştırır ve katastrofik bir hal almasına neden olur (27). Varolan primer hasarın katastrofik hal almasına yol açan sekonder hasarın nedenleri sistemik ve intrakranial nedenler olarak ayırmak mümkündür (33). Sistemik travmaya bağlı gelişen hipoksi ve hipotansiyonun serebral perfüzyon ve oksijenizasyonu kritik sınırlar altına indirerek mortalite oranlarını yükselttiği yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (33, 38, 39). Diğer sistemik nedenlerden hiperkapninin serebrovasküler dilatasyon oluşturarak KİB artışına neden olduğu, aşırı hipokapninin de serebrovasküler vasokonstriksiyon yaparak hasarlanmış bölgelerde iskemiye arttırdığı bilinmektedir (40, 41, 42). Hiperterminin ise yapılan iskemi çalışmalarında eksitoksisiteyi arttırdığı, hipotermimin ise nöroprotektif etkinliğinin olduğu ortaya konulmuştur (43,44). Sistemik nedenlerin dışında



intrakranial nedenler olarak, vasküler dilatasyon ve serebral ödemin neden olduğu beyin şişmesi gösterilmektedir. KBB' nin açık olması nedeniyle gelişen vazojenik ödem, sıklıkla metabolik nedenlerle gelişen sitotoksik ödem, drenaj kanallarının bloke olması nedeniyle oluşan interstisyel ödem, beynin vasküler otonöregülasyonun bozulması ile oluşan hidrostatik ödem ve hiperozmolar ödem serebral ödemin nedenleridir (48, 49). Ayrıca deneysel çalışmalarla, beyin sapı yaralanmasına bağlı gelişen vazoparalizi, serebral hiperemi ve serebral hipervoleminin beyin şişmesini arttırdığı gösterilmiştir (52,53).

Sekonder hasara neden olan bu faktörlerin ortak sonucu KİB artışı olarak karşımıza çıkmaktadır. Artan KİB serebral perfüzyonu kısıtlamakta ve bunun sonucu olarak KİB artışı ile sekonder hasarlanma nedenleri arasında bir kısır döngü oluşmaktadır. Bu kısır döngü nöronal dokuya oksijen sunumunu azaltıp hücrel hipoksiyi tetiklemektedir. Hipoksiyi takiben, sekonder hasarın hücrel boyutunda bugün bilim dünyasının üzerinde oldukça çok durduğu moleküler ve biyokimyasal mekanizmalar devreye girmektedir.

Oksidatif hasar ve serbest oksijen radikallerinin oluşumu bu moleküler ve biyokimyasal mekanizmalardan bir tanesidir. Postravmatik beyinde gelişen iskemik doku, reperfüzyon sırasında reoksijenizasyona uğramaktadır. Ortama gelen oksijen birçok enzimatik oksidasyon reaksiyonuna katılarak reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır. Oluşan serbest oksijen radikalleri DNA hasarını, lipid peroksidasyonunu, protein oksidasyonunu başlatmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin başlattığı lipid peroksidasyonu hasarın en önemli nedenidir ki endotel hücrelerinde hasar yaparak KBB'nin bozulmasına neden olur. Serebral iskemi süresi ve serbest oksijen radikali üretim miktarı fonksiyonel kaybı ve doku kaybı miktarını belirlemektedir (58, 59). Bu kadar zararlı radikallerin yapmış olduğu hasarı engellemek amacıyla geliştirilmiş endojen ve ekzojen antioksidan savunma sistemleri vardır. Peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijenleri toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (64). Akut SSS ve

travmatik beyin yaralanmalarında serbest oksijen radikallerine bağımlı lipid peroksidasyonunun fizyopatoloji üzerinde kilit rol oynadığına dair birçok yayın vardır (60).

Kontos ve ark (91), kranial pencere açıldıktan sonra sıvı perküsyon modelini uygulayarak travma sonrası süperoksit radikali üretiminin arttığını göstermişlerdir. Süperoksit radikalının ve ondan türeyen diğer radikallerin beyin damarlarında oluşturdukları fonksiyonel değişikliklerin uygun radikal koruyucu ajanlarla tedavi edilerek geri döndürülebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Ikeda ve ark (92) anestezi uygulanmış kedilerde peritümöral beyin ödemi ve soğuk uygulama yöntemiyle vazojenik beyin ödemi oluşturmuşlardır. Her iki beyin ödemi oluşturma metodunda da beyinde serbest oksijen radikallerinin arttığını göstermişlerdir.

Willmore ve Rubin(93) ratlarda lipid peroksidasyon ürünü olan malonildialdehit doku seviyesi ile fokal ödemin orantılı olduğunu göstermişlerdir.

Hall ve ark (94) 1993 yılında yaptıkları çalışmada ratlarda deneysel kafa travması oluşturmuşlar ve hidroksil radikali seviyesini spektrofotometrik yöntemle ölçmüşlerdir. Hidroksil radikallerinin travmadan hemen sonra artmaya başladığını ve 1 saat sonra ciddi en üst düzeye ulaştığını göstermişlerdir. Hidroksil radikallerinin vasküler endotelde hasar oluşturdukları ve sonuçta KBB'ni bozarak beyin membranlarında lipid peroksidasyonunu başlattıklarını belirtmişlerdir.

Smith ve ark (95) ratlarda oluşturdukları deneysel kafa travması çalışmasında KBB bozulmasını Evans Blue boyası ile göstermişler. Aynı çalışmada travmadan sonra verilen trilazad mesylate'nin KBB geçirgenliğini %52 azalttığını ve hidroksil radikalleri konsantrasyonunu azaltarak membran lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Kaptanoğlu ve ark (96) deneysel omurilik travmasında tiyopental ve propofolün antioksidan etkileri ve mikro yapısal bulgularını araştırmışlar. Tiyopental ve propofolün lipid peroksidasyonunu azalttığını ancak propofolün mikro yapıyı düzeltmediğini göstermiştir.

Öztürk ve ark (97) ratlarda kapalı kafa travması sonrası propofol ve eritropoetin antioksidan özellikleri araştırmışlar. Çalışmanın sonuçlarına göre akut dönemde propofol ve eritropoetin uygulanmasının, travma sonrası oluşan oksidatif stres metabolitlerinde anlamlı azalmalara neden olduğu belirtilmiştir.

Serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ile oksidatif hasarın kaldırılması için verilen literatür çalışma örnekleri daha da arttırılabilir. Mevcut çalışmalar tam anlamıyla bu sorunu çözmekle birlikte sorunun çözümlüne yönelik çalışmalar devam etmektedir.

Sekonder hasarlanmanın moleküler ve biyokimyasal yolağında gelişen diğer bir süreç eksitator aminoasitlerin yapmış olduğu eksitotoksitedir. Glutamat ve aspartat SSS'nin majör eksitator nörotransmitterleridir. Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun nöronal hasara yol açtığı Olney ve ark. tarafından tanımlanmış ve eksitotoksikite olarak isimlendirilmiştir. Bu eksitotoksitenin, travma, beyin iskemisi gibi birçok nörolojik hastalıkta doku hasarını arttırdığı düşünölmektedir (66). Eksitator aminoasitlerin nörotoksik etkilerini açıklamak amacıyla birçok mekanizma ileri sürölmüştür. Travmayla birlikte sinaptik aralıktan boşalan aşırı miktarda glutamat, NMDA reseptörlerine bağlanarak sodyum ve kalsiyumun hücre içine girmesine, potasyumun hücre dışına çıkmasına, AMPA reseptörlerine bağlanarak sodyumun hücre içine, potasyumun hücre dışına çıkmasına neden olmaktadır (65). Diğer bir reseptör grubu olan metabotropik reseptörler ise fosfolipaz-C' yi aktive ederek hücre içi bağlı kalsiyumun serbestleştirilmesini sağlar. Tüm bu olaylar sonrası artan hücre sodyum miktarı ile sitotoksik ödem, hücreliçi asidoz ve lizis gelişir. Na-K ATPaz mekanizmasındaki yetmezlik ise sodyum ve suyun hücre içi birikimini arttırır. Daha sonra hücre içine kalsiyum akımı; kalsiyuma bağımlı lipaz ve proteazların aktifleşmesine, mitokondrial solunum enzimlerinin engellenmesi,

gliseraldehit-3 fosfat dehidrogenaz engellenmesi gibi mekanizmalarla nöronal ölümü şiddetlendiren, reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin meydana gelmesi ile sonuçlanan birtakım olaylar zincirini başlatır (66). Kafa travmasını takiben oluşan sekonder nöron hasarı, beyin ödemi ve eksitatör aminoasitler arası ilişki birçok çalışma ile ortaya konulmuştur.

Deneysel kafa travma modelleri üzerindeki çalışmalar hasarlı dokuda glutamat seviyelerinin çok yükseldiğini göstermektedir. Sıçanlarda travmatik kortikal lezyon sonrası doku nekrozunun 24 saatte % 150 oranında genişlediği, bu periferik bölgede yapılan mikrodializ çalışması ile aspartat ve glutamat seviyelerinin ileri derecede arttığı gösterilmiştir (98). Elde edilen veriler ışığında kafa travması modellerinde eksitatör aminoasit antagonistleriyle yapılan tedavi çalışmalarına da hız kazandırmıştır.

Baker ve ark, (99) ciddi kafa travmalı olguların serebrospinal sıvılarından alınan örneklerde glutamat miktarının arttığını göstermişlerdir.

Tanaka ve ark, (100) yaptığı bir çalışmada ise kontüze beyin dokusunun merkez ve periferinden alınan örneklerde glutamat miktarının arttığını bildirmişlerdir.

Kanthan ve Shuaib, (101) ciddi kafa travmalı bir grup olguda intraserebral invivo mikrodializ yöntemi ile 3 saat boyunca sürekli aminoasid tayini yapmıştır. Bu çalışmada da glutamatın çok yüksek seviyelere ulaştığı bildirilmektedir.

Non-kompetitif EAA antagonisti dizocilpine kafa travma modellerinde de üzerinde en çok çalışılan ilaçlardan birisi olmuştur. Dizocilpine sıvı perküsyon modelinde travma sonrası 15. dakikada uygulandığı zaman lezyon yerindeki beyin ödemi azaltmış, nörolojik fonksiyon bozukluklarını düzeltmiştir. Ayrıca travma sonrası lokal olarak azalan kan akımını arttırdığı, travmanın şiddetiyle orantılı olarak azaldığı bilinen serbest ve total beyin  $Mg^{++}$ 'unu yükselttiği bildirilmektedir (102, 103).

Nonkompetitif eksitatör aminoasit antagonisti dextrorphan ve kompetitif EAA antagonisti CGS 19755'in (Selfotel) travma öncesi uygulanması ekstrasüresel glutamatin posttravmatik artışını azaltmıştır (104).

Yapılan başka bir çalışmada; deneysel kafa travması modelinde travma sonrası 15. dakikada uygulanan memantin'in nekroz volümünü ve lezyon periferindeki beyin ödemi azalttığı ortaya konulmuştur (105).

Sonuç olarak NMDA antagonistleri ile kafa travması modellerinde yapılan çalışmalarda bu ilaçların beyin ödemi ve aşırı glukoz kullanımını azalttığı, enerji dengesini ve nörolojik tabloyu düzelttiği, beyin dokusu sodyum ve kalsiyumdaki artışı düşürdüğü, magnezyum ve potasyumdaki azalmayı kısıtladığı gösterilmiştir.

Sekonder hasarın oluşmasında ve şiddetlenmesinde etkili olan diğer bir faktör nitroz oksit olup, suda ve lipitte çözünebilen bir gazdır. Sinir sisteminde fizyolojik ve patolojik rolleri vardır. Sinir sistemi morfogenezinde ve sinapsların şekillenmesinde rol oynar, nörotransmitter salınımı ve gen oluşumunu düzenler. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Aşırı üretilmesi halinde, çeşitli sinir sistemi hastalıklarında önemli bir nörotoksin olarak karşımıza çıkar. Nitrik oksit, üç farklı NOS tarafından arjininden sentezlenir bunlar eNOS, nNOS ve iNOS'dur. eNOS endotel hücrelerinde bulunur ve iskemide vazodilatasyona yol açtığı için diğerlerinden farklı olarak nöroprotektif etkilidir. NO'nun oksitlenmesi ile nitrojendioksid ve peroksinitrit gibi güçlü oksidan moleküller ortaya çıkar ki bunlar proteinler, lipidler veya DNA ile nitrasyon reaksiyonu yoluyla oksidatif hasara neden olur (68,69).

1990 yılında yapılmış olan bir çalışmada ratlarda kalıcı fokal serebral iske mi ile indüklenen kortikal infarkt hacminin N-6-nitro-L-arginine metil esteri tarafından azaltıldığını gösteren ilk raporun yayınlanmasından günümüze dek NOS inhibitörlerinin tedavi edici potansiyelleri vurgulanmıştır(106).

Wada ve ark, (107) sıvı perküsyon hasarı sonrası yapısal NOS aktivitesinde başlangıçta bir artış olduğunu tespit ettiler ve spesifik olmayan NOS inhibitörleri dışındaki spesifik inhibitörler kullanılarak beyin hasarında gözlenen bu artışın iyileştirilebileceğini ortaya koymuşlardır.

Wada ve ark, (108) aminoguanidin tedavisinin sıçanlardaki travmatik beyin hasarı sonrası iNOS aktivitesi ve total nekrotik nöron sayısını azalttığını ve sitokin salınımı, prostoglandin, lökotrien sentezi gibi sekonder hasar süreçlerini azaltarak sinir sisteminin koruyucu bir etki gösterebileceğini bildirmişlerdir.

Bazı araştırmacılar, endojenöz opioid sistemlerin travmatik kafa hasarını izleyen ikincil hasarın patofizyolojisine katkıda bulunabileceğini varsaymıştır. Dinorfin, beta-endorfin ve enkefalinler merkezi sinir sistemde görülen endojenöz opioidlerin bazılarıdır. Hayvan modellerinde, travmadan sonra beyin dinorfin seviyelerindeki belirgin artış dikkat çekmiştir ve bu endojenöz opioidin artış bölgelerinin fokal histopatolojik doku hasarı ve serebral kan akış dağılımı ile ilişkili olduğu bulunmuştur (109). Opiatlar özellikle SSS'de monoamin ve seratonerjik nörotransmitter seviyelerini hızla değiştirirler. NMDA reseptör blokerlerinin intratekal uygulanan dinorfinin hasar verici etkisini önlemesi ile opioidlerin eksitotoksik aminoasit salınımını arttırdığını ve zararlı etkilerini eksitatör aminoasitler üzerinden yaptığını göstermiştir. Farmakolojik çalışmalarda yüksek doz naloksanın, kafa travması ile ilişkili sistemik ve nörolojik hasarları iyileştirdiği görülmüştür (106).

Travmatik beyin hasarında hücre ölümünün bir başka nedeni de apoptosiz olup eksitoksisite, serbest oksijen radikal hasarı, inflamatuvar süreç ile tetiklenebilmektedir. Histolojik olarak apoptotik cisimlerin tanınması, kromatinin yoğunlaşması, nükleusun piknotik hal alıp internükleozomal DNA'nın parçalanması, deoksiüridin trifosfatın bozulması, apoptoz için DNA hasarını gösteren primer standartlardır. Kafa travmalarında apoptotik mekanizmayı belirlemek ve sonrasında bunun engellenmesi için çalışmalar yapılmıştır (70).

Cernak ve ark, (110) yaptığı bir çalışmada diffüz travmatik beyin yaralanması sonrası 4 saat kadar erken bir dönemde artmış caspase-3 protein ekspresyonunu ve diffüz travmatik beyin hasarından sonra apoptozisin erken aktive olduğu, travma sonrası en azından 5 gün sürdüğü göstermişlerdir.

Bazı caspase' lar apoptozisle ilişkili olmayan bazı durumlarda da aktive olmakla birlikte, caspase-3 aktivitesi apoptoz için spesifik bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Caspase-3 aktivitesinin deneysel çalışmalarda ve travmatik klinik beyin yaralanmasında olduğu gibi iskemik olaylar sonrası da arttığı gösterilmiştir (111, 112).

Tiryaki ve ark, (113) yaptığı bir çalışmada travma sonrası ortaya çıkan caspase-3 immunoraktivite artışının, N-asetil sistein tedavisini takiben belirgin olarak azaldığı, dolayısıyla N-asetil sisteinin apoptozisde nöroprotektif olduğu sonucuna varılmıştır.

Travmatik beyin hasarında endotel hücre hasarı ile tetiklenen diğer bir sekonder hasarlanma mekanizması immünolojik hasarlanmadır. Damar yapıların bütünlüğünü sağlamak ve intravasküler pıhtılaşmayı önlemek için önemli rollere sahip olan endotel hücrelerinin hasarlanması ile birlikte enflamasyon süreci başlar ki; bu enflamasyon süreci hücrelerarası adezyon moleküllerinin aktivasyonuna ve aktive olan ICAM'ların lökosit ve trombositlerin bu alana migrasyonuna, aktivasyonuna neden olur. PMNL'lerin travma sonrası geçisi akut enflamasyonun göstergesi olup bunlar serbest radikal oluşumu, proteazların aktivasyonuna neden olan kaskadı başlatır. PMNL'lerin, hasarlı spinal kord ve travmatize beyin alanına geçişi morfolojik ve enzimatik çalışmalarla da gösterilmiştir. Endotelial hasarda trombositlerin açığa çıkması ile birlikte yapışma, daha sonra kümeleşme, şekil değişikliği, degranülasyon ve araşidonik asidin açığa çıkması ile sonuçlanır. Degranülasyon yangı mediatörlerini ve proteolitik enzimleri serbest bırakır. Bunlar, sırayla, endotelin parçalanmasına ve PMNL aktivasyonuna neden olup PMNL'lerinde trombosit aktivasyonunun güçlü bir şekilde tetiklemesine neden olmaktadır. Nöroenflamasyonun mononükleer hücre yanıtı ayağına bakıldığında

mikrogliaların NMDA antagonistleri ile bloke olan nörotoksik faktörlerin salınımını yaparak nöral dejenerasyona neden olduğu bilinmektedir. Bıçakla yaralanma sonrası beyinde IL-1 düzeyi artmıştır ve bunun ameboid mikroglialar ile meydana geldiği gösterilmiştir. Ama şu da bilinmektedir ki mikroglialar aynı zamanda astrogliazisi ve damar yapımını destekleyerek nörotrofik etkiler de göstermektedir. Enflamasyon hücreleri arasındaki ilişkiyi sağlayan enflamasyon mediatörlerinden hücresel adezyon moleküllerinin bir çok alt grubu olmakla beraber, ICAM-1, nötrofillerin beyin damarlarından beyin parankimine göçünü sağlayan bir endotelial proteindir. Sitokinler ise enflamatuvar süreci kolaylaştırmak ve devamını sağlamak için hücreler arasındaki bağlantıya aracılık eder. Sitokinlerin salınımının tüm etkisi pro-trombotik ve pro-inflamatuvardır. Beyin travmasından sonra IL-1, IL-2, IL-6, TNF düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (76, 77, 78)

Chao ve ark, (114) kafa travmasında serebral iskeminin ardından yangısal sürecin başladığını göstermişlerdir.

Hazel ve ark, (115) yangı ve enfeksiyon bölgesinde sitokinler, kemokinler ve SOR'in bulunduğunu ve yangı sürecinde SOR'nin etkilerini bir çalışmada göstermişlerdir. SOR'nin damar endotelindeki etkisi birçok faktöre bağlanmıştır. 2 önemli sonuç; endotelial bariyer bozukluğu ve lökositler için yapışmanın artmasıdır.

Isaksson ve ark, (116) rat spinal korduna yaptıkları hasar sonrasında ICAM-1 düzeylerinde artış olduğunu immunohistokimyasal bir çalışma ile göstermişler ve bunların travma sonrasında önemli bir rol oynadıklarını belirtmişlerdir.

Wayne M ve ark, (117) yaptığı bir çalışmada, reperfüzyon modelinde ICAM antikoları ile yapılan tedavinin santral sinir sistemi iskemik hasarını azalttığı görülmüştür.

Travmatik beyin hasarında nöronal membranın iyonik akışlarında meydana gelen değişiklikler nöronal enerji gereksinimini değiştirerek metabolik sürecin değişmesine neden olur. Patolojik bir sürece evrilen bu iyonik dengeler nöronal hasar



ve nöronal ölümle sonuçlanması nedeniyle bu sürecin tamamen engellenmesi veya minimize edilebilmesi için sürecin iyi anlaşılması gerekmektedir. Postravmatik erken dönemde oksijen ve ATP azalır. Enerji sağlanmasındaki bu yetmezlik serebral dokuda transmembran iyon gradientinde önemli değişikliklere neden olur. Sodyum-potasyum ve kalsiyum pompaları ATP'ye bağlı çalışan primer aktif transport sistemleridir. Ayrıca birçok iyon ve substratın hücre içine alınması ve çıkarılması sodyum-potasyum pompası tarafından sağlanan iyon gradientine bağlıdır (118, 119). Postravmatik sodyum- potasyum pompasında gelişen yetmezlik iyon değişimlerinde ilerleyici engellemelere neden olur. Hücre membranı depolarize olarak sodyum ve klor hücre içine girerek potasyum hücre dışına çıkar. Potasyum artışı ve buna bağlı voltaj değişimine duyarlı kalsiyum kanalları açılır ve hücre içine kalsiyum akışı başlar. Bu esnada hücre içinde birikmeye başlayan kalsiyum iyonları dışarı atılmaya çalışılır. Bu sırada dışarı atılan her bir kalsiyum iyonu için içeriye iki hidrojen iyonu alınır. Bu olay ile birlikte hücre içi gelişen anaerobik solunum, hücre içi asidozu giderek arttırır. Sodyum ile birlikte hücre içine giren su ve asidozun gelişmesi ile oluşan su hücre içi ozmolariteyi arttırarak sitotoksik ödemin oluşmasına neden olur (119, 120). Postravmatik dönemde sinaptik aralığa boşalan glutamat ve aspartat postsinaptik NMDA reseptörlerini uyarır (121). Bu uyarım hücre membranında bulunan G proteinini aktive ederek reseptör bağımlı kalsiyum kanallarını açar ve hücre içine kalsiyum akışı gelişir. Aynı zamanda G proteini fosfolipaz-C enzimini aktive ederek fosfotidil inozitol difosfat'ı parçalayarak inozitol trifosfat ve diaçil gliserol'ü oluşturur. İnozitol trifosfat endoplazmik retikulumdaki kalsiyumun sitoplazmaya geçişine neden olur (122). Ayrıca hücre membranına travma ile uygulanan basınç ve makaslama etkilerine duyarlı kalsiyum geçişine izin veren iyon kanalları olduğu da düşünülmektedir (123). Artan hücre içi kalsiyum miktarı ornitin dekarboksilaz enzim aktivasyonuna neden olur. Bozulan ornitin metabolizmasıyla oluşan aşırı putresin reseptör bağımlı kanallardan hücre içine kalsiyum akışını arttırır.

Voltaja duyarlı kalsiyum kanalları incelendiğinde serebral vasküler yapılarda, nöronlarda ve iskelet kaslarında üç farklı kalsiyum kanalının olduğu görülmektedir. Bunlar L, N, T tipi kanallar olup N tipi kanallar presinaptik nörotransmitter

salınımından sorumlu kalsiyum girişinde rol oynarlar. L tipi kanallar serebrovasküler yapılarda ve presinaptik nöronlarda yerleşmiş olup, T tipi kanallar ise sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımını kontrol eden kanallardır (124). Sonuç olarak bütün bu yollarla artan hücre içi kalsiyum hücre içinde inaktif olarak bulunan fosfolipaz, endonükleaz ve proteinazların aktivasyonuna neden olup, nöronal ölüme yol açan son ortak yol olarak karşımıza çıkar. Bu son patolojik ortak yolun travmatik beyin hasarı sonrası gelişen sekonder hasarlanma sürecinde etkinliğini azaltmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır.

Nimodipin ve nikardipin ciddi travmatik beyin hasarının olduğu kliniksel ve deneysel çalışmalarda en çok kullanılan L-tipi kalsiyum kanal kapatıcılarıdır (74). Nimodipin serebral özgüllüğü yüksek olan dihidropiridin grubu bir kalsiyum antagonistidir. Kimyasal formülü: İsopropil' 2 - methoksithil' -1,4 - dihidro -2,6 - dimethyl-4-'3- Nitrophenil'-3,5- piridindikarboksilat olan nimodipin Meyer ve ark. tarafından Almanya' da Wapperta Bayer araştırma merkezinde üretilmiştir. Serebral özgüllüğünün yüksek olmasının nedeni, lipofilik özelliğinden dolayı KBB' yi iyi geçmesindedir. Eliminasyon yarı ömrü intravenöz uygulamayı takiben 0,9-1,5 saattir (125). Damar düz kas hücrelerinde kalsiyumun depolarizasyondan sorumlu katyon olduğu, beynin mikrovasküler tonusunun kontrolünde kalsiyum iyonlarının rol oynadığı ve artmış hücre içi kalsiyumun serebral vazospazma yol açtığı bilinmektedir. Burdan yola çıkarak nimodipinin, damar düz kas hücrelerine kalsiyum girişini engelleyerek vazospazmı önlediği ve böylece serebral kan akımını ve iskemiye karşı olan toleransı arttırdığı düşünülmektedir (126, 127). Nimodipinin, vazotropik etkileri yanısıra iskemi sonrası sinir hücrelerine kalsiyum girişini azaltarak yada hücre içi kalsiyumu antagonize ederek hücre proteolizi ve lipid yıkımını önlediği ve buna bağlı olarak da, yağ asitlerinin ve serbest oksijen radikallerinin oluşmalarını engelleyerek sinir hücrelerinin erken morfolojik ve fonksiyonel hasardan koruduğunu ileri süren görüşler de vardır (128).

Son yıllarda yapılan çalışmalarla kalsiyum kanal blokerlerinin travma sonrası ortaya çıkan vasküler direnci inhibe etmeleri, bölgesel kan akımını arttırmaları, kalsiyumun hücre içine girişini önleme ve hücre duvarının yıkımını önlemesinden

dolayı iskemik beyin hasarını azalttığı saptanması üzerine nimodipin iskemik serebrovasküler hastalık, subaraknoid kanamalar ve ağır kafa travmalarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (129,126). Travmatik beyin hasarlanmalarında nimodipinin kullanımı hâlâ tartışmaya açık olup, karşıt görüşler de vardır.

Nimodipinin geç iskemik defisit profilaksisindeki başarı oranı % 40 ile % 86 arasında değişirken, vazospazma bağlı mortaliteyi klinik ve istatistiksel olarak belirgin biçimde azalttığı ortaya konulmuştur (130). Yapılan prospektif randomize, çift kör klinik çalışmalarda nimodipinin başarılı bulunması, nimodipinin birçok klinikte vazospazmın rutin tedavi protokolüne girmesini sağlamıştır. Sonuç olarak Barker'in nimodipin kullanımıyla ilgili randomize klinik çalışmaları da bu başarıyı doğrulamıştır (131). Pek çok progressif nonrandomize çalışmada intravenöz kalsiyum kanal antogonisti kullanımından sonra vazospazma bağlı olarak gelişen ölüm ve kalıcı defisitlerde % 1'den % 10'a varan düzeylerde azalma bildirilmiştir (126). Bütün bu çalışmalar, travmatik subaraknoid kanamalı hastaların tedavisinde, nimodipinin vazospazmı azaltarak yararlı olup olamayacağı sorusunu akla getirmiştir.

Vergouwen ve ark, (132) bunun aksine, nimodipinin anjiyografik vazospazma etkisi olmadığı görüşü de ileri sürmüştür.

Arslan ve ark, (129) yaptıkları klinik çalışmada, Glasgow Koma Skoru 8 ve altında olan hastalarda, çekilen beyin tomografilerinde yaygın beyin ödemi saptanmış olup, ameliyat edilmeyen ağır kafa travmalı hastalarda verdikleri intravenöz nimodipinin serebral metabolizmayı düzelterek glasgow çıkış skorlarında iyileşme sağladığını öne sürmüşlerdir. Çalışmadaki hasta sayısı 10 olup, istatistiksel açıdan az sayıdadır.

Yang Shu ve ark, (133) ratlarda yaptıkları kafa travması çalışması sonrası, verdikleri nimodipinin bir seri kalsiyum kanallarını bloke ederek beyin damarlarındaki spazmı azaltıp, kan akımını düzelterek koruyucu etkisinin olduğunu savunmuştur.

Kostran ve ark, (134) yaptığı klinik çalışmada, Glasgow Koma Skoru 3-7 arasındaki 17 ağır kafa travmalı hastanın 10'unda angiografik vazospazm saptamış ve tüm hastalara konvansiyonel tedavinin yanında 14 gün perfüzyon şeklinde nimodipin tedavisi vermiştir. Sonuç olarak bu hastalarda mortalite ve morbiditenin derecesinin iyi yönde olduğunu savunmuştur.

Teasdale ve ark, (135) nimodipinin kafa travmalarının üzerindeki etkisini araştırmak için yaptıkları plasebo kontrollü bir klinik çalışmada, 350 hastaya 7 gün verdikleri intravenöz nimodipin sonrası altıncı aydaki sonuçlarında kontrol grubuna göre nimodipin verilen grupta orta yada iyi derecede sonuçlar almıştır. Ancak bu olumlu sonuçlardaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu düşünceye destek Langham ve arkadaşlarından gelmiştir (128). Yaptıkları klinik çalışma sonrası kalsiyum kanal blokörlerinin akut kafa travmasının prognozunda iyi yönde etkili olacağını belirtmişlerdir.

Pillai ve ark, (136) diffüz kafa travması ve subaraknoid kanaması olan hastalarda yaptıkları çift kör çalışmada, 3 hafta oral olarak verdikleri nimodipin tedavisi ile nimodipin tedavisi vermedikleri hastaların prognozu açısından fark bulamadıklarını savunmuştur.

Thomas ve ark, (137) yaptıkları deneysel çalışmada, kafa travması ve subaraknoid kanama oluşturup ratlarda nimodipinin verilmesinin mortaliteyi etkilemediğini belirtmiştir.

Üstün ve ark, (138) yaptığı deneysel çalışmada verdiği nimodipinin, şiddetli kafa travması sonrası artan doku laktat ve malonaldehit düzeylerini azaltan bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Böylece nimodipinin şiddetli kafa travmasında verilmesinin bir yarar sağlamayacağını öne sürmüştür.

Vergouwen ve ark, (132) travmatik subaraknoid kanamalı hastalarda, nimodipinle yaptıkları klinik çalışmada, nimodipin tedavisi verilen ve verilmeyen hastaların mortalite oranlarında bir fark olmadığını, nimodipinin kafa travması sonrası prognozu etkilemediğini savunmuşlardır.

Conti, (130) tam tersine, travmatik subaraknoid kanama sonrası vazospazm gelişen bir hastada, verdiği intraarteriel nimodipinin hastanın kliniğini düzelttiğini makalesinde belirtmiştir.

Michenfelder JD ve ark. (139) iskemi sonrası nimodipinle tedavi edilen hayvanlarda beyindeki metabolik iyileşme oranını araştırmışlardır. Köpeklerin 16 tanesinde 11 dakikalık komplet serebral iskemi oluşturup beyin biyopsilerinde laktat seviyelerini belirlemişlerdir. Beyin laktat seviyesinin 70. dakikada normale yakın seviyelere dönmüş olduğunu görmüşlerdir. Ancak bu azalma oranları gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Bu sonuçlara göre otörler nimodipinin serebral iskemide laktat üzerine etkili olmadığını öne sürmüşlerdir.

Yapılan bütün bu literatür çalışma sonuçlarıyla, travmatik beyin hasarlanmasında nimodipinin vazospastik süreci engellemesi ve sinir hücrelerini erken morfolojik ve fonksiyonel hasardan koruduğuna dair görüşler birçok klinikte nimodipinin rutin tedavi protokolüne girmesini sağlamıştır. Ancak travmatik beyin hasarında nimodipinin etkileri ile ilgili karşıt görüşlerin de varolması bu konuyu tartışmaya açık hale getirmektedir. Bu tartışma konusunun kesin bir sonuca

varabilmesi için daha fazla sayıda deneysel ve klinik çalışmaya gereksinim vardır. Bu gereksinimi karşılamak ve bilim dünyasına bu konuda ışık tutabilmek için yaptığımız deneysel kombine tedavi çalışmamızda nimodipini kullandık.

Travmatik beyin hasarlanması sonrası gelişen sekonder hasarlanma süreci çok karmaşık bir süreç olup, bu sürecin olumlu yönde aşılabilmesi için yeni tedavi seçenekleri ve özellikle kombine tedavi seçeneklerinin araştırılması gündeme gelmiştir.

İkincil hasarlanma ile nöral rejenerasyon süreci başlar ve bu sürecin anlaşılabilmesi için travmatik beyin hasarlanması sonrası oluşan rejeneratif çabanın ve bunun sonuçlarının iyi bilinmesi gerekir. Travmatik beyin hasarlanmasından hemen sonra bu süreç başlar ve günler, haftalar, hatta aylar sonrasına kadar devam eder. Nöral rejenerasyonun anlaşılabilmesi için ilk adım bu süreci tanımlamaktan geçer. Nöral rejenerasyon, hasarlı ve aksotomize nöronların yaşamlarını ettirmesi, kesilmiş aksonların uzaması, lezyon bölgesini geçmesi, uygun hedeflere uzanması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması ile klinik iyileşme sağlanması olarak tanımlanabilir.

Nöral plastisite ise sinir sisteminin kendi içerisinde veya içinde bulunduğu ortama uyum yeteneğini ifade eder. Sinir dokusunda meydana gelen hasarın etkisinin azaltılması ve iyileşmesinde rol oynar. Santral sinir sisteminde ki nöral hücrelerin kısmi veya tam olarak hasarlanması kortikal ve subkortikal alanlarda işlevsel değişiklikler ile sonuçlanır. Burada plastisite kendisini akson sayısındaki artış ve çeşitlilik ile dentritik gelişim ve sinaptik bağlantılardaki değişikliklerle de gösterir. Bu dentritik ve sinaptik bağlantılardaki gelişim nöralarda yapısal reorganizasyon olarak isimlendirilir (79).

Nöral doku yaralanmasında, sinir doku koruyucu ajanların kullanımı ve rejenerasyon çalışmalarını iki başlık şeklinde tedavi şemasına oturttuğumuzda SSS

rejenerasyonu sınırlayan etkenlerden bahsetmek gerekir. Bu etkenler genel olarak post travmatik olaylar, yeterli trofik desteğin olmaması, büyüme inhibitör proteinlerinin varlığı olarak sıralanabilir (140). Travmatik beyin hasarlanmasında SSS'nin major hücre tipi astrositler reaktif hale gelirler ve intermediate filament proteinlerinin üretimi buna bağlı olarak artar ve bunun sonucunda hasarlanan alanda glial skar gelişir ki, bu skar dokusu aksonal rejenerasyonu ve fonksiyonel sonuçların iyileşmesi önünde büyük bir engeldir. Bu glial skar bariyeri ayrıca büyümeyi negatif yönde etkileyen moleküllerin sentezini arttırır (141). SSS skarlarında en önemli hücre tipi astrosit olsada buna mikrogial hücrelerin, makrofajların, meningeal hücrelerin de katkısı büyüktür (142). Ayrıca travmatik beyin hasarlanması sonrası nörit uzamasının inhibe edilmesinden memeli SSS myelininde tanımlanan moleküller de sorumlu tutulmaktadır.

Ng ve ark, (143) insan SSS miyelinin nöritik büyümeyi kuvvetli bir şekilde inhibe ettiğini göstermişler, ancak insan gri cevherinin de daha düşük etkinlikte inhibitor aktivitesinin tanımlamışlardır.

Schwab ve ark, (144) bu büyüme inhibitörü faktörlerinin, periferel aksonlarla değil, oligodendrositlerle ve merkezi myelin ile ilişkili olduklarını göstermişlerdir.

Sonuç olarak SSS'de rejenerasyon yukarıda anlatılan sınırlayıcı etkenler nedeniyle sinir kökleri, inen ve çıkan yollar veya hipokampusda gerçekleşen sınırlı bir rejenerasyondan ibarettir. Bu nedenle SSS'de rejenerasyonu arttırıcı, ya da rejenerasyonu engelleyen ajanları bloke edici çalışmalar üzerine yoğunlaşmış ve rejenerasyon stratejileri belirlenmeye çalışılmıştır.

Bu stratejilerden bir tanesi skarın küçültülmesidir. SSS skarının inhibitor etkisinin üstesinden gelmek için çeşitli manuplasyonlar denenmiştir. Atılımlar, lezyon skarının ekzisyonu, skarın hücresel veya hücresel olmayan greftlerle köprülenmesi (by-pass) ve skarın gliotik yada bazal membran komponentlerinin farmakolojik ajanlar ile modifikasyonunu içermektedir. İkinci bir rejenerasyon stratejisi nörotrofik faktörlerle rejenerasyonun sağlanmasıdır. Viral vektörler veya

genetik olarak modifiye edilmiş fibroblastların implantasyonu ile, intraserebroventriküler Nöral Growth Faktörün füzyonu yapılarak global serebral iskemide nöroprotektif etkisi gösterilmiştir. Endojen GF seviyesinin yükseltilmesi için, growth faktör sentezinin arttırılması ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Clembuterol Selegiline'nin, in vitro olarak Nöral Growth Faktörün sentezini arttırdığı ve iskemik beyin hasarında nöroprotektif etkisi olduğu belirtilmiştir. Klasik nörotropik faktörlerin yanında nörotropik aktivitesi olan yeni faktörler tespit edilmiştir. Örnek olarak; pitüiter adenilat siklaz aktive eden peptid, nöronal prekürsörlerin proliferasyonunda ve çok çeşitli nöronlardaki diferansiasyon ve hayatta kalmalarında rol oynamaktadır. İskemik hayvan modellerinde nöroprotektif etkisi gösterilmiştir (145).

Diğer bir rejenerasyon stratejisi nörit büyüme inhibitörlerinin nötralizasyonu için yapılan çalışmalardır. Myelin ile ilişkili akson büyüme inhibitörleri erişkin memeli SSS'de akson rejenerasyonunun başarısızlığında önemli bir rol oynayabilir. NI 35-250 myelin fraksiyonlarındaki proteinler omurilik yaralanması sonrasında aksonal uzamayı sınırlarlar. Güçlü büyüme konisi kollapsı yapan ve büyüme inhibitor etkileri olan membran bağımlı proteinler SSS myelininde bulunmuştur. Bu nörit büyüme inhibitorlerinden bazılarının bu proteinlere karşı oluşturulan bir antikor (IN-1) ile nötralizasyonu, hasarlı SSS'de aksonal büyümeyi arttırmasına rağmen, aksonların rejenerasyonu sınırlı ve tam değildir. İnhibitor moleküllerin aktivitesinin tek bir ajanla blokajı, uzun mesafeli rejenerasyon için yeterli olmayabilir. Büyümeyi uyaran faktörlerin eklenmesi ile tüm inhibitörleri hedefleyen kombinasyon stratejileri, hasarlı SSS'nin zayıf rejeneratif kapasitesini yenmeye yardımcı olabilir (144).

Hasarlanmış SSS'nin rejenerasyonunu teşvik etmek için diğer bir strateji ise, lezyonlu nöronların yakın çevresine büyüme destekleyici materyalin implantasyonudur. Greftleme, lezyonlu sahadaki kaybedilen hücrelerin yerine konması için faydalı olabilir. Glial hücreler, makrofajlar ve schwann hücreleri skar formasyonunun oluşmasını engelleyerek ya da büyüme desteğinin tekrar kurulması ile geçişe izin vermeyen skar dokusunu atlamak için köprü vazifesi görerek lezyon



bölgesine etki ederler. İmplantlar aynı zamanda trofik faktör kaynağı olarak da kullanılmaktadırlar. Farklılaşmış SSS nöronlarının periferik sinire rejenere olabildiğini gösteren ilk yayınlar 1911'de F. Tello tarafından yapılmıştır. Elde edilen verilerden iki sonuç çıkarılmıştır: 1) SSS nöronları periferik sinir ortamında liflerini rejenere edebilirler, 2) Bu rejenerasyon denervasyona cevap olarak periferik schwann hücreleri tarafından kemotrofik ve norotrofik faktörlerin sentezine bağlı olabilir.

Aguayo ve ark, (146) çok çeşitli SSS aksonlarının eğer aksonları periferik sinir greftine yeniden yönlendirilirse ve büyümesine izin verilirse kapsamlı şekilde rejenerasyon gösterebileceğini, ancak greftler SSS'ye rekonnekte edildiğinde genellikle aksonal uzamanın PSS/SSS bileşkesinde, greftin distal ucunda durduğunu ve aynı grup birkaç yüz lifin greft icine girdiğini göstermiştir.

Ünlü A. ve ark, (147) 12 sıçanda optik sinir kesilip aksonal hasar oluşturularak ve siyatik sinir anastomozu yapılarak yaptığı çalışmada, retinal gangliyon hücrelerinin %1.02'sinin optik sinir kesilmesinden sonra rejenere olarak greftin içerisinde 15 mm kadar ilerlediğini göstermiştir.

Uzun yıllar boyunca SSS' nin rejenerasyon kapasitesinin olmadığı görüşü, yapılan çalışmalar sonrasında sınırlı olsa bu rejenerasyonun, nörit inhibisyon faktörlerinin inhibisyonu, nörotrofik ajanların kullanımı ve aksonların destek ortamının değiştirilmesi ile olabileceğini göstermiştir. Fakat rejenerasyonun daha efektif bir şekilde nasıl desteklenebileceği sorusu, rejenerasyon alanındaki çalışmaları daha dinamik bir durum haline getirmiştir. Bu dinamik durumun sonucu olarakta bu alanda kök hücre çalışmaları gündeme gelmiştir.

Reynold ve Weiss' in 1992 yılında yetişkin beyninde nöral kök hücreyi keşfetmesi ile bu alandaki çalışmalar hız kazanmaya başlamıştır. Lateral ventriküllerin subependiması içinde prekürsör hücre topluluğunun mevcudiyeti belirlenmiştir (148). Bu çalışmalardan sonra SSS'de Parkinson hastalığında, hungtington hastalığında, amyotrofik lateral sklerozda, alzheimer hastalığında, iskemide, spinal kord yaralanmasında, multipl skleroz gibi hastalıkların deneysel

modellerinde nöral kök hücreler ve diğer kök hücreler kullanılmaya başlanmıştır. (149).

Curt Freed ve ark, (84) yaptığı bir çalışmada insan fetüsünden elde edilen dopaminerjik nöronları 40 parkinson hastasının putamenine bilateral olarak nakletmiş ve klinik olarak olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir.

Lepore ve ark, (150) nöral prekürsör hücrelerin SSS yaralanmasında ümit verici olduğunu, olası klinik uygulamada doğrudan parankim enjeksiyonuna alternatif bir yol bulmayı amaçladıklarını bildirmişlerdir. Bu amaçla servikal omurilik yaralanmasında lomber ponksiyon ile nöral prekürsör hücreler intratekal olarak uygulanmıştır. Sonuçlar bu hücrelerin servikal kesi bölgesine ulaştıklarını ve uç matür SSS hücresine (nöron, astrosit ve oligodentrosit) dönüştüğü gösterilmiştir.

Kendini yenileyebilme kabiliyeti ve özel fonksiyonlara sahip hücrelere dönüşebilme yeteneği olan kök hücrelerin genel olarak kaynaklarını embriyonik ve embriyonik olmayan kaynaklar diye ayırmak doğru olur (84).

Embriyonik kök hücreler memeli embriyosunda epiblasttan elde edilen pluripotent hücrelerdir. İnsan embriyosunun hücre kaynağı olarak kullanılması ve terapötik klonlama çalışmaları etik ve yasal açıdan tartışmalara neden olduğu için bilim adamları alternatif kök hücre kaynaklarına yönelmiştir (84).

Reubinoff BE ve ark, (151) yaptığı bir çalışmada erken dönem insan embriyolarından elde edilen kök hücreleri laboratuvar ortamında prekürsör nöral hücrelere yönlendirebileceğini göstermiş ve bu hücreleri bebek farelerin beyinlerine naklettiklerinde nöronlara ve astrositlere farklılaştığını görmüşlerdir.

Kerr DA ve ark, (152) insan embriyonik kök hücrelerini virüs teşvikli motor nöropatili paralize sıçanlara transplante ettiler. Nakil sonrası 24 hafta sonra motor

fonksiyonların kısmen iyileştiğini saptadılar. Bu iyileşmeyi yeni nöron oluşumuna bağladılar.

Brüstle O ve ark, (153) yaptığı çalışmada, embriyonik kök hücre kaynaklı nöral prekürsörlerin fetal sıçanın ventriküllerine implante edilmesi sonrası transplante edilen hücrelerin intraventriküler nöroepitelyal yapıları oluşturdukları ve oligodendrosit, astrosit ve nöronlara farklılaştığını gösterdi.

Embriyonik kök hücrelerle ilgili etik sorunlar nedeniyle kök hücre çalışmaları embriyonik olmayan kaynakların eksenine kaymıştır. Embriyonik olmayan kök hücreler hematopoetik ve mezenkimal kök hücreleri içeren erişkin kök hücreleri, fetüsten, kadavradan, partenogenez ile elde edilen kök hücreler ve göbek kordonu, plasentadan elde edilen kök hücreler olarak ayrılabilir. Erişkin periferik kan kökenli ve kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin transplantasyonu esnasında konakçıya ait hastalıkların taşınması, ek işlemler gerektirmesi ve GVH hastalığı gelişme riski hematopoietik kök hücre elde edilmesi yolunda göbek kordon kanının kullanılmasını gündeme getirmiştir (84).

İnsan göbek kordon kanından elde edilen kök hücrelerin genç hücreler olması, hayatta kalabilme yetenekleri yüksek, fazla sayıda elde edilebilir olması, alıcıya kolay uyum sağlaması ve GVH hastalığı riskinin düşük olması bu hücreleri ideal kılmaktadır. İlk kez 1988 yılında Fanconi aplastik anemisi olan bir çocuk kordon kanı ile tedavi edilmesinden bu yana göbek kordon kanından elde edilmiş hematopoietik kök hücrelerle ilgili birçok çalışma yapılmıştır (84). Bu çalışmalardan bir kısmı da deneysel travmatik beyin hasarlanması ve iskemi sonrası kök hücrelerin nörolojik fonksiyonlar ve nöral plastisite üzerindeki çalışmalardır.

Guo X ve ark, (154) travmatik beyin hasarı sonrası CD 34 + hematopoietik progenitör hücrelerin periferik dolaşıma ve beyin parakimine mobilizasyon hipotezini test etmek için yaptıkları rat modelli çalışmada ratlarda sıvı perküsyon modeli ile serebral travma oluşturmuş ve travma öncesi, sonrası periferik dolaşımdaki, hasarlı serebral dokudaki CD34+ hücreleri immünohistokimyasal olarak analiz etmişlerdir. Kontrol grubuna göre travma oluşturulan grupta periferik dolaşımdaki ve hasarlanmış serebral dokudaki CD34+ hücrelerin artışı ile korelasyon gösteren hasarlı alandaki mikroanjioenez, CD34+ progenitör hücrelerinin travmatik beyin hasarında teröpatik bir yol olabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır.

Lu D ve ark, (155) yapmış olduğu çalışmada insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş hematopoietik kök hücreler intravenöz yol ile verilerek ratlarda travmatik beyin hasarı tedavi edilmeye çalışılmıştır. Travmatik beyin hasarından 24 saat sonra kuyruk veninden umbilikal kordon kanından elde edilmiş hematopoietik kök hücreler verilmiş ve ratlar tedaviden 48 gün sonra sakrifiye edilmiştir. Nörolojik fonksiyonlar rotarod performans testi ve nörolojik şiddet skalası ile değerlendirilmiş. İmmünohistokimyasal boyamalar ve laser konfokal mikroskopisi kullanılarak alıcı ratların serebral dokularına dağılım gösteren donör hücreleri analiz edilmiş. Tedaviden 28 gün sonra kontrol grubu ve intravenöz umbilikal kordon kanından elde edilmiş hematopoietik kök hücreler verilen grup karşılaştırıldığında kök hücre verilen grupta önemli ölçüde motor ve nörolojik defisitlerin azaldığı gözlenmiştir. Hücrelerin önemli ölçüde serebral dokuya girdiği ve hasarlı beyin parankimine migre olduğu gözlenmiştir. Bu hücrelerin MAP-2, GFAP, ve astrositik markerlar ekspres ettiği gözlenmiştir. Bazı hücrelerin hasarlanan alanın sınırları içindeki vasküler yapıların duvarlarına entegre oldukları gözlenmiştir. Elde ettikleri verilerle travmatik beyin hasarlanmasında intravenöz olarak umbilikal kordon kanından elde edilmiş hematopoietik kök hücrelerin verilmesinin faydalı olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Xia G ve ark, (156) yenidoğan ratlarda hipoksik iskemik beyin hasarlanması yapmış ve insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş mezenkimal kök hücreleri

intraserebral transplante ederek, nörolojik fonksiyonları nörolojik şiddet skalası ile değerlendirmiştir. Yapılan immünohistokimyasal çalışmalar transplante edilen hücrelerin hipokampusu göç ettiğini göstermiş ve kontrol grubuna göre kök hücre transplantasyonunun yapılan grupta nörolojik fonksiyonların daha fazla düzeldiği gözlenmiştir. Ayrıca histokimyasal çalışmalar kök hücre tedavisi sonrası hasarlanmış serebral dokunun azaldığını, hücrelerin astrositlere dönüştüğü ancak nöronlara dönüşmediği gözlenmiş ve bu sonuçlarla hipoksik iskemik beyin hasarlı yenidoğan ratlarda intraserebral olarak verilen umbilikal kordon kanından elde edilmiş mezenkimal kök hücrelerin fonksiyonel iyileşmede faydalı etkiler ortaya koyduğu sonucuna varılmıştır.

Paula S. ve ark, (157) yenidoğan ratlarda hipoksik beyin hasarlanmasının tedavisinde insan umbilikal kordon kanı hücrelerinin motor performans, uzaysal öğrenme ve beyinde morfolojik değişiklikler üzerinde yaptığı etkileri araştırmak için 7 günlük ratlara carotid arter oklüzyonu uygulamış ve 2 saat süreyle %8 'lik oksijen inhalasyonu yapmıştır. Birinci grup ratlara hipoksik beyin hasarlanmasından 24 saat sonra intravenöz olarak insan umbilikal kordon kanı hücreleri ve ikinci gruba salın solusyonu verilmiş, ratlara 3 hafta süreyle Morris Water Maze ve motor değerlendirme testlerine tabi tutulmuş. 3 hafta sonunda immünohistokimyasal, polimeraz zincir reaksiyonu ve histolojik inceleme için sakrifiye edilmiş. Kök hücre verilen grupta yapılan polimeraz zincir reaksiyonu ve immünofloresan çalışmalarda az miktarda kök hücrenin rat serebral dokusuna geçtiğini göstermiştir. Fonksiyonel olarak kök hücre grubunda uzaysal hafıza ve motor defisitlerin azaldığı gözlenmiştir.

Zanier ER ve ark, (158) farelerde kontrollü kortikal hasar yaparak serebral travma oluşturmuşlar. travmatik hasardan 24 saat sonra fareler iki gruba ayrılmış ve kontrol grubuna salın solüsyonu, diğer gruba ise umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre, travmanın olduğu tarafın karşısından intraserebroventriküler alana infüze edilmiş. İmmünsupresyon yapacak ajan olarak siklosporin a intraperitoneal olarak verilmiş. Travmadan bir ay sonra kontrol grubu ve kök hücre verilen grup

karşılaştırıldığında kök hücre verilen grupta öğrenme disfonksiyonlarında ve serebral kontüzyon völümünde azalma olduğu gözlenmiş. İşaretlenmiş hücrelerin %68 farede hasarlanmış sahaya 1 hafta kadar erken sürede yerleştiği gösterilmiş ve hasarlanmış sahada nörotrofik faktörlerin artmış olduğu izlenmiştir. Yapılan çalışmanın verileri ışığında umblikal kordon kanından elde edilen kök hücrelerin transplantasyonu ile nörolojik fonksiyonları iyileştirdiği, bu progenitör hücrelerin mikroglia ve makrofaj tipine dönüşebildiği ve glial skar dokusunun inhibisyonunu sağlayarak serebral dokunun yapılanmasında nörotrofik faktörlerin artırılması ile serebral dokunun yapılanmasını sağladığı sonucuna varılmıştır.

Kızılay Z. ve ark, (159) yaptığı bir çalışmada, ratlara T9-11 arası total laminektomi ve spinal kord tam kesisi yapılmış ve Grup 2'ye spinal kord kesisinden hemen sonra insan umblikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücre ekimi, Grup 3'e spinal kord kesisinden yarım saat sonra intraperitoneal 150 IU/ kg eritropoietin alfa uygulanmış. Grup 4'e ise spinal kord kesisinden hemen sonra insan umblikal kordon kanından elde edilen CD34+ kök hücre ekimi ve spinal kord kesisinden yarım saat sonra eritropoietin alfa 150 IU/kg dozda uygulanmış. Çalışmanın süresi altı hafta olarak belirlenmiş. Denek gruplarının lokomotor sistem muayeneleri BBB(Basso- Beattie- Bresnehan) skorlaması, rotarod performans testi ve çift yönlü eğik düzlem testi ile; histopatolojik inceleme ise hematoksilin eosin, GFAP, MAP boyaları ile yapılmış. Çalışmanın sonucunda fonksiyonel olarak Grup 2, Grup 3, Grup 4'ün kontrol grubu olan Grup 1'e üstün olduğu tespit edilmiş. Fakat insan umblikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre ekimi yapılan grubun (Grup 2) diğer gruplara üstün olduğu görülmüştür. Histopatolojik incelemede ise tüm gruplarda glial skar dokusunun geliştiği kesitlerin subakut dönemle uyumlu olduğu görülmüştür.

Karadağ OT. ve ark, (160) yaptığı bir çalışmada ratların bir grubunda sadece torakal laminektomi (Grup 1), diğer gruba torakal laminektomi ve torakal spinal korda sağ yarım kesisi, başka bir gruba yarı kesisi oluşturulmuş alana, sıfırıncı günde

insan umbilikal kordon kanı (Grup 3), diğer gruba ise yarı kesi oluşturulmuş alana dördüncü günde insan umbilikal kordon kanı implante edilmiş (Grup 4). Ratların motor fonksiyonları rotarod performans testi ve eğik düzlem testi ile değerlendirilmiştir. İnsan umbilikal kordon kanı transplante edilen gruplar, transplante edilmeyen gruplarla karşılaştırıldığında hem klinik hemde nörofizyolojik olarak düzelme tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda denek gruplarından Grup 1'e sadece kraniektomi ve sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapıldı. Grup 2'ye kraniektomi+sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapıldıktan sonra aynı seansta, rezeksiyondan hemen sonra, rezeksiyon alanına umbilikal kordon kanından elde edilmiş 2 mikrolitresinde  $3 \times 10^4$  CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu enjekte edildi. Grup 3'e kraniektomi + sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapıldıktan sonra, aynı seansta rezeksiyondan yarım saat sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal nimodipin verildi. Dördüncü gruptaki ratlara kraniektomi +sol fronto-parietal kortikal rezeksiyon yapılarak rezeksiyondan hemen sonra rezeksiyon alanına umbilikal kordon kanından elde edilmiş 2 mikrolitresinde  $3 \times 10^4$  CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu enjekte edilerek rezeksiyondan yarım saat sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal nimodipin verildi. Grupların sekiz haftalık takipleri haftalık olarak, lokomotor sistem muayeneleri rotarod performans testi, çift yönlü eğik düzlem testi ile yapıldı.

Gruplardaki rotarod performans testi sonuçları uygun istatistiksel analiz yöntemi kullanılarak değerlendirildiğinde birinci hafta sonunda ortalama değerler Grup 1'de 1,63 saniye, Grup 2'de 1,62 saniye, Grup 3'te ise 1,39 saniye, Grup 4'te 1,85 saniye olarak bulundu. Bu veriler ışığında birinci hafta sonunda gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $P > 0,05$ ). Sekizinci haftanın sonunda ortalama değerler Grup 1'de 2,48 saniye, Grup 2'de 82,94 saniye, Grup 3'te ise 20,73 saniye, Grup 4'te 147,50 saniye olarak bulunarak Grup 1 ve 2; Grup 1 ve 3; Grup 1 ve 4; Grup 2 ve 3; Grup 2 ve 4; Grup 3 ve 4 arasında anlamlı farklılıklar olduğu tespit edildi ( $P < 0,05$ ). Grup 2, 3 ve 4'ün rotarod performans değerlerinin Grup 1'in değerlerinden; Grup 2 ve 4'ün değerlerinin Grup 3'ün rotarod performans

değerlerinden; Grup 4'ün ortalama değerlerinin Grup 2'nin değerlerinden yüksek olduğu görüldü. Sekizinci haftanın sonunda Grup 4'ün değerlerinin diğer bütün grupların değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

Gruplardaki çift yönlü eğik düzlem testi açı sonuçları istatistiksel analiz yöntemi kullanılarak değerlendirildiğinde birinci hafta sonunda ortalama değer Grup 1'de 46,08 derece, Grup 2'de 46,83 derece, Grup 3'te ise 46,33 derece, Grup 4'te 45,83 derece olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $P>0,05$ ). Sekizinci haftanın sonunda ortalama değer Grup 1'de 54,96 derece, Grup 2'de 70,16 derece, Grup 3'te ise 61,16 derece, Grup 4'te 73,00 derece olarak bulundu ve Grup 1 ve 2; Grup 1 ve 3; Grup 1 ve 4; Grup 2 ve 3; Grup 2 ve 4; Grup 3 ve 4 arasında anlamlı farklılıklar olduğu tespit edildi ( $P<0,05$ ). Grup 4'ün ortalama değerlerinin Grup 2'nin değerlerinden yüksek olduğu, sekizinci haftanın sonunda da Grup 4'ün değerlerinin diğer bütün grupların değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

Literatür incelendiğinde insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücrelerin travmatik beyin hasarlanması sonrası hasarlanan alana ekilmesi ve nimodipinin birlikte kullanılmasının nörolojik fonksiyonlara etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle çalışmamız bilime ışık tutacak öncü bir çalışma niteliğindedir. Çalışmamız, birinci hafta sonunda grupların fonksiyonel durumlarında anlamlı bir farklılığın olmadığını göstermiştir. Ancak sekizinci hafta sonrası elde edilen veriler istatistiksel olarak gruplar arasında fonksiyonel düzleme açısından anlamlı farklılıkların olduğunu göstermiştir. Kraniektomi ve sol frontoparyetal kortikal rezeksiyon yapılan kontrol grubuna göre diğer gruplarda fonksiyonel iyileşmenin anlamlı olduğu gözlenmiştir. Kraniektomi, sol frontoparyetal kortikal rezeksiyon yapıp nimodipin verilen Grup 3'ün sekizinci haftanın sonunda kontrol grubuna göre gerek rotarod performans test sonuçları gerekse çift yönlü eğik düzlem test sonuçları bazında fonksiyonel iyileşmede üstünlük sağladığı gözlenmiştir. Kraniektomi, sol frontoparyetal kortikal rezeksiyon yapıp, rezeksiyon sahasına kök hücre ekimi yapılan Grup 2'nin fonksiyonel iyileşmesinin Grup 3'e üstünlük sağladığı, kök hücre ile birlikte nimodipinin



kullanıldığı Grup 4'ünde Grup 3'e fonksiyonel iyileşme sonuçları itibariyle üstünlük sağladığı gözlenmiştir.

Bu sonuçlarımız, literatürle karşılaştırıldığında nimodipinin travmatik beyin hasarlanmasında kullanılmasının fonksiyonel sonuçları olumlu yönde etkilediğini savunan çalışmaları destekler niteliktedir. Aynı zamanda sonuçlarımız, travmatik beyin hasarlanmasında umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücrelerin direkt hasarlı alana akut dönemde ekiminin fonksiyonel iyileşme süreci üzerinde anlamlı olarak olumlu yönde etki yaptığını göstermiş ve bu konuda yapılan literatür çalışmalarıyla uyumlu olduğu gözlenmiştir. Sadece kök hücre ekimi yapılan grubun fonksiyonel iyileşme düzeylerinin, sadece nimodipin kullanılan gruba göre üstün olması, travmatik beyin hasarlanmasında tek başına farmakolojik nöroprotektif tedavinin yeterli olamayacağı sonucunu ortaya çıkarmıştır. Travmatik beyin hasarlanmasında kombine tedavi yöntemlerinin daha efektif fonksiyonel düzelmeler sağlayabileceği, çalışmamızda kök hücre ve nimodipin kullanılan grubun fonksiyonel iyileşmesinin diğer tüm gruplardan daha üstün olması ile doğrulanmıştır.

Çalışmamızda, grupların patolojik kesitlerinde yapılan immünohistokimyasal analizlerde, insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücre ekiminin yapıldığı Grup2 ve Grup 4'de, hasarlanmış bölgede ve sınırlarında gelişen skar dokusu içinde MAP pozitifliğinin saptanması, bu bölgelerde ekilen kök hücrelerin nöronal diferansiyasyon göstermiş olabileceğini düşündürmüştür. Aynı zamanda bu grupların fonksiyonel iyileşme bazında, Grup 3 ve Grup 1'e göre üstünlük sağlaması, nöronal diferansiyasyon gelişmiş olduğu düşüncemizi desteklemektedir. Literatürde nöronal diferansiyasyonun geliştiği kök hücre çalışmalarında, kök hücre ekiminin yapıldığı gruplardaki fonksiyonel sonuçlar ile çalışmamızdaki sonuçlar uyumludur. Aynı zamanda çalışmamızda, tüm gruplarda, hasarlanmış alanda gelişen skar dokusu içinde GFAP ve S100 pozitifliği dikkat çekmiştir. Kök hücre ekiminin yapılmadığı Grup 3 ve 1'de astrositik belirteçlerin pozitifliği, bu alanlarda astrositik diferansiyasyonun nasıl ve nereden geliştiği sorusunu çalışmamız için gündeme getirmiştir. Yaptığımız literatür çalışmalarında bu sonuçların elde edildiği bir

çalışmaya rastlamadık. Bu nedenle bu sonucun açıklığa kavuşturulabilmesi için daha fazla deneysel çalışmaya ihtiyaç vardır.

Daha önce yapılan literatür çalışmalarında, travmatik beyin hasarlanmasında farklı tipte hücre kaynaklarından elde edilen kök hücrelerin, farklı sayıda ve farklı yollarla verildiğini görmekteyiz. Veriliş yolu olarak intraperitoneal, intravenöz, intraarteriyel ve intraventriküler yollar literatürdeki çalışmalarda kullanılmış olup biz, çalışmamızda insan umbilikal kordon kanından elde ettiğimiz CD34+ kök hücreyi travmatik beyin hasarlanmasında hasarlanan bölgeye direkt olarak travmadan hemen transplante ettik. Ekilen hücre sayısı olarak literatürde değişik değerler kullanılmış olup bizde çalışmamızda  $3 \times 10^4$  adet hücre kullandık. Sonuç olarak çalışmamız aynı zamanda, kaynak olarak seçtiğimiz umbilikal kordon kanından elde edilen CD34+ kök hücrelerin veriliş yolunun, sayısının, zamanlamasının travmatik beyin hasarında fonksiyonel kayıpların düzelmesi üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermiştir.

## SONUÇLAR

Her dört gruba ait ratlara uygulanan cerrahi prosedürler sonrası fonksiyonel değerlendirmeler sekiz hafta boyunca haftalık olarak rotarod performans testi ve çift yönlü eğik düzlem testi ile, histopatolojik olarak nöronal ve astrositik diferansiyasyon değerlendirmeleri ise deneklerin beyinlerinden hazırlanan preparatların GFAP, MAP, S100 ve hemotoksilen eozin boyaması sonrası incelemesi ile gerçekleştirildi.

Deneklerin rotarod performans testi sonuçları uygun istatistiksel analiz yöntemi kullanılarak değerlendirildiğinde sekizinci hafta sonunda, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı. Grup 4 (Kraniektomi ve sol frontoparyetal kortikal rezeksiyon yapıldıktan hemen sonra rezeksiyon sahasına  $3 \times 10^4$  insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre ekiminin yapıldığı ve intraperitoneal 0,1 mg/kg nimodipin uygulandığı grup)'de rotarod performans değerleri en yüksekken, Grup 2 (Kraniektomi ve sol frontoparyetal kortikal rezeksiyon yapıldıktan hemen sonra rezeksiyon sahasına  $3 \times 10^4$  insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre ekiminin yapıldığı grup)'nin değerlerinin Grup 3(Kraniektomi ve sol frontoparyetal kortikal rezeksiyon yapıldıktan hemen sonra intraperitoneal 0,1 mg/kg nimodipin uygulandığı grup)'den, Grup 3'ün değerlerindeki kontrol grubu olan Grup 1 (Kraniektomi ve sol frontoparyetal kortikal rezeksiyon yapılan grup)'den yüksek olduğu tespit edildi.

Denekler çift yönlü eğik düzlem testi sonuçları açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. Grup 4'deki açı değerlerinin en yüksekken, Grup 2'nin açı değerlerinin Grup 3'den, Grup 3'ün açı değerlerinin Grup 1'den yüksek olduğu tespit edildi.

Histopatolojik olarak gruplar incelendiğinde insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücrelerin transplante edildiği Grup 2 ve Grup 4 'de, hasarlanmış bölgede gelişen skar dokusunda MAP pozitif olarak saptandı. Bunun yanında tüm gruplarda GFAP ve S100 pozitifliği saptandı.

Sonuç olarak insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücrelerin direkt transplante edilerek, nimodipinin verilmesi, deneysel travmatik beyin hasarı oluşturulmuş ratlarda akut olarak uygulanmış ve fonksiyonel düzelmede en iyi sonuçlar alınmıştır. Kök hücre uygulanan gruplarda histopatolojik olarak ise nöral diferansiyasyonu gösteren bulgular tespit edilmiş ve transplantasyon sonrası nöronal restorasyona ve fonksiyonel kayıpların yeniden kazanılmasına katkı sağladığı gözlenmiştir.

## KAYNAKLAR

1-Dawodu ST. Traumatic Brain Injury: Definition, Epidemiology, Pathophysiology. Medicine Journal 2002; 359:417-25.

2-Ökten Aİ, Ergün R, Beşkonaklı E, Akdemir G, Bostancı U, Gezici AR, Ergünger F, Taşkın Y. Kafa travmasında prognozu ve ölüm oranını etkileyen unsurlar. Türk Nöroşirurji Dergisi 1997;7:51-59.

3-Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. Neurosurgery 1999; 44

4- Li GL, Farooque M, Holtz A, Olssay Y. Apoptosis of oligodendrocytes occurs for long distances away from the primary injury after compression trauma for at spinal cord injury. Neuroscience 2000; 99: 333-342

5-Diana A, Setzu M, Sirigu S, Diaz G. Nuclear patterns of apoptotic and developing neurons of superior cervical ganglion of newborn rat. Int J Dev Neurosci. 1993; 11: 773-780

6-Faden AI, Chan PH, Longar S: Alterations in lipid metabolism. Neurochem. 1987; 48: 1809-1816

7-Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ. Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. Clin. Neuropharmacology 2001; 24(5): 265-279

8) Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J. Acute spinal cord injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. Clin. Neuropharmacology 2001; 24(5): 254-264

9-Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the mammalian central nervous system. *Science* 1992;255:1707-10.

10-Hess DC, Hill WD, Carroll JE, Borlongan CV. Do bone marrow cells generate neurons. *Arch Neurol* 2004;61:483-5.

11-Haas S, Weidner N, Winkler J. Adult stem cell therapy in stroke. *Curr Opin Neurol* 2005; 18: 59-64.

12-Asim M, Donyue L, Changsheng Q, Anton G, Michael C Treatment of Traumatic Brain Injury With a Combination Therapy of Marrow Stromal Cells and Atorvastatin in Rats. *Neurosurgery* 2007; 60: 546–554.

13-Matthew T, James E, Laura L, Adrian P, Charles S. Cell therapies for traumatic brain injury. *Neurosurg Focus*. 2008; 24 (3&4): E17.

14-Erbengi A. History and development of neurosurgery in Anatolia (part one). *Turkish Neurosurgery*. 1993; 3: 1-5.

15-Jennett B. Historical perspective on head injury. *Neurotrauma*. 1996; pp3-11.

16-Rakunt C. Kafa Travmaları. Yoğun bakım sorunları ve tedavileri. *Türkiye Klinikleri*.1992; 336-354.

17-Anderberg L, Aldskogius H, Holtz A. Spinal cord injury-scientific challenges for the unknown future. *Uppsala J Med Sci* 2007;112:259-88

18-Alexander RH, Proctor HJ. Head Trauma in Advanced Trauma Life Support. 3 Edition. American College of Surgeons. Chicago. 1993; 159-183.

19-Jess FK, David LM, Terry AS, Madhangi J. Epidemiology of brain injury, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). Neurotrauma. McGraw-Hill. 1996. pp 13- 30,

20-Görgülü A, Palaoğlu S, İsmailoğlu Ö, Tuncel M, Sürücü MT, Erbil M, Kılınç K. Effect of melatonin on cerebral edema in rats. Neurosurgery, vol 49. 2001; 6: 1434-1442.

21-Gökalp HZ, Erongun U. Kafa Travmaları. Nöroşirürji ders kitabı. Gökalp HZ, Erongun U (ed). Mars Matbacılık. Ankara, s.202-221,1988.

22-Jagger J, Levine J, Jane J, et al. Epidemiologic features of head injury a predominantly rural population. J Trauma 1984; 24: 40-44.

23-Kraus JF, McArthur DL. Epidemiologic aspects of brain injury. Neurol Clin 1996; 14: 435-450.

24-Lacoangeli M, Roselli R, Pompucci A, Scerrati M. Acute management of head injury. Contemp Neurosurg 2000; 22:1-8.

25-Kraus JF, McArthur DL, Silverman TA, Jayarama M. Epidemiology of brain injury. Narayan RK(eds), Neurotrauma. McGraw Hill Company, New York. 1996; pp:16-17.

26-Jennett B, Bond M. Assessment of outcome after severe brain damage. A practical scale. Lancet 1975; 1: 480-484.

27-Rakunt C. Kafa Travmaları.Yoğun Bakım Sorunları ve Tedavileri. Türkiye Klinikleri, 1992, 354-388.

28-Gökalp HZ, Erongun U. Kafa Travmaları. Nöroşirürji ders kitabı. Gökalp HZ, Erongun U (ed). Ankara, s.221-251,1988

29-Valadka AB, Narayan RK: Emergency room management of the head-injured patient, In Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). Neurotrauma. 1996; pp119-135.

30-Gennarelli TA, Meaney DF: Mechanisms of primary Head Injury, In: Wilkins RH, Rengachary SS (eds). Neurosurg. 2 nd ed. New York: McGraw-Hill, pp:2611-2621, 1996.

31-Gennarelli TA: Mechanisms of cerebral concussion, contusion, and other effects of head injury, In Youmans, J.R. ed. Neurological Surgery, third edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1990; pp. 1953-1964.

32-Miller JD, Piper IR, Jones PA: Pathophysiology of head injury, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). Neurotrauma. Mc Graw Hill Companies. 1996; pp61-69.

33-Gade GF, Becker DP, Miller JD, Dwan PS: Pathology and pathophysiology of head injury, In Youmans, J.R. ed. Neurological Surgery, third edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1990; pp.1965-2016.

34-Graham DI: Neuropathology of head injury, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). Neurotrauma. Mc Graw Hill Companies, 1996; pp43-59.

35-Kerman M, Dağtekin A, Aydın V, Kara NN, Kaymaz H. Evaluation of clinical results in 40 patient with skull fracture. Turkish Neurosurgery. 1999; 9: 113-122.

36-Teasdale GM, Graham DI. Craniocerebral trauma: Protection and retrieval of the neuronal population after injury fundamental problems. Neurosurgery. 1998;43: 723-738.



37-Adams JH. Brain damage in fatal non-missile head injury in man, in Brakkman R (ed): Handbook of clinical Neurology, vol 13: Head injury. Amsterdam: Elsevier, 1990; 43-63.

38-Ishige N, Pitts LH, Hashimoto T, Nishimura MC, Bartkowski HM. Effect of hypoxia on traumatic brain injury in rats. Part 1. Neurosurgery 1987;20: 848-53.

39-Becker DP, Miller JD, Ward JD, Greenberg RP, Young HF, Sakalas R. The outcome from severe head injury with early diagnosis and intensive management. J Neurosurg 1977;47: 491-02.

40-DeSalles AF, Kontos HA, Becker DP, Yang MS, Ward JD, Moulton R. Prognostic significance of ventricular CSF lactic acidosis in severe head injury. J Neurosurg 1986; 65: 615-24.

41-Muizelaar JP, Marmarou A, Ward JD, Kontos HA, Choi SC, Becker DP. Adverse effects of prolonged hyperventilation in patients with severe head injury: a randomized clinical trial. J Neurosurg 1991;75: 731-9.

42-Yoshida K, Marmarou A. Effects of tromethamine and hyperventilation on brain injury in the cat. J Neurosurg 1991;74: 87-96.

43-Jiang JY, Lyeth BG, Clifton GL, Jenkins LW, Hamm RJ, Hayes RL. Relationship between body and brain temperature in traumatically brain-injured rodents. J Neurosurg 1991;74: 492-6.

44-Pomeranz S, Safar P, Radovsky A, Tisherman SA, Alexander H, Stezoski W. The effect of resuscitative moderate hypothermia following epidural brain compression on cerebral damage in a canine outcome model. J Neurosurg 1993;79: 241-51.

45-Tornheim PA, McLaurin RL. Acute changes in regional brain water content following experimental closed head injury. J Neurosurg 1981;55: 407-13.

46-Van den Brink WA, Marmarou A, Avezaat CJ. Trauma and Brain Oedema (I). Brain oedema in experimental closed head injury in the rat. Acta Neurochir 1990;51 Suppl:261-2.

47-Pollay M. Blood-brain Barrier; Cerebral edema. In: Wilkins RH, Rengachary SS (Eds): Neurosurgery. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 335-44.

48-Popp AJ, Feustel PJ, Kimelberg HK, Pathophysiology of traumatic brain injury, In: Wilkins RH, Rengachary SS (eds). Neurosurg.2 nd ed. New York: McGraw-Hill,1996; pp:2623-2637.

49-Oruçkaptan H, Benli K: Serebral kan akımı, iskemi ve fizyopatolojisi, serebral korunma: Temel Nöroşirürji, Benli K (ed), Birinci basım 2004, Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi Ankara.2004; 3: 25-48.

50-Özkan N: Beyin Ödemi, Aksoy K (ed) Temel Nöroşirürji, 1. Baskı. Ankara.2005; 2.cilt, s:924-929.

51-Kumral K, Özdamar N, Kafa içi basınç artması sendromu, Nöroloji Nöroşirürji, Kumral K, Özdamar N(ed), Ege Üniversitesi basım evi,1992; s:19-31.

52-Yoshino E, Yamaki T, Higuchi T, Horikava Y, Hirakawa K. Acute brain edema in fatal head injury: analysis by dynamic CT scanning. J Neurosurg 1985;63: 830-9.

53-Obrist WD, Langfitt TW, Jaggi JL, Cruz J, Gennarelli TA. Cerebral blood flow and metabolism in comatose patients with acute head injury: Relationship to intracranial hypertension. J Neurosurg 1984;61: 241-53.

54-Nitta M, Tsutsui T, Ueda Y, Ladds A, Symon L. The effects of an extradural expanding lesion on regional intracranial pressure, blood flow, somatosensory conduction and brain herniation: an experimental study in baboons. *Acta Neurochir* 1990;104: 30-7.

55-Unterberg A, Kiening K, Schmiedek P, Lanksch W. Long-term observations of intracranial pressure after severe head injury: The phenomenon of secondary rise of intracranial pressure. *Neurosurgery* 1993; 32:17-24.

56-Bouma GJ, Muizelaar JP, Bando K, Marmarou A. Blood pressure and intracranial pressure-volume dynamics in severe head injury: relationship with cerebral blood flow. *J Neurosurg* 1992;77: 15-9.

57-Bullock R, Kuroda Y, Teasdale GM, Mc Culloch J. Prevention of post-traumatic excitotoxic brain damage with NMDA antagonist drugs: A new strategy for the nineties. *Acta Neurochir* 1992; 55: 49-55.

58-Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya, Mimoza Yayınları, 1995; 21-38

59-Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human diseases: where are we now? *J Lab Clin Med.* ,1992;119:598-620.

60-Hall ED. Lipid antioxidants in acute central nervous system injury. *Annals of Emergency Med.* 1993; 22: 1022-1027.

61-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.

62-Schmidley JW. Free radicals in central nervous system ischemia. *Stroke.* 1990; 21(7):1086- 1090,.

63-Youmans Neurological Surgery (monograph on CD-ROM). Folio Bound views, Copyright Folio Corp, Version 3. 1a,1992-1994.

64-Bast A, Haenen GRMM, Doelman CJA. Oxidants and antioxidants: state of the art. *The Am J of Med* 91: 1991;Suppl 3C-2S.

65-Agrawal SK, Fehlings MG. Role of NMDA and non NMDA ionotropic glutamate receptors in traumatic spinal cord axonal injury. *J Neurosci.* ,1997; 17: 1055-1063.

66-Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J. Acute spinal cord injury, Part I:Pathophysiology mechanisms. *Clin Neuropharmacology*.2001; 24(5):254-264.

67-Cooper J, Bloom Froth R: The biochemical basis of neuropharmacology,7th edition. New York Oxford University Press, 1996.

68-Iadecola C. Bright and dark sides of nitric oxide in ischemic brain injury. *Trends Neurosci* 1997;20: 132–139.

69-Corbett JA, McDaniel ML: Reversibility of interleukin-1 beta-induced islet destruction and dysfunction by the inhibition of nitric oxide synthase. *Biochem J*. 1994; 299:719-724.

70-Huang PP, Esquenazi S, Le Roux PD. Cerebral cortical neuron apoptosis after mild excitotoxic injury in vitro: Different roles of mesencephalic and cortical astrocytes. *Neurosurgery* 1999;45: 1413.

71-Wolf JA, Stys PK, Lusardi T, Meaney D, Smith DH. Traumatic axonal injury induces calcium influx modulated by tetrodotoxin-sensitive sodium channels. *J Neurosci* 2001;21: 1923–1930.

72-Maxwell WL, Povlishock JT, Graham DL. A mechanistic analysis of nondisruptive axonal injury: a review. *J Neurotrauma* 1997;14: 419–440.

73-Huang Y, Wang KK. The calpain family and human disease. *Trends Mol Med* 2001;7: 355–362.

74-Teasdale G. A randomized trial of nimodipine in severe head injury. *J Neurotrauma*. 1992; 9 (2): 545-50.

75-Katayama Y, Becker DP, Tamura T. Massive increases in extracellular potassium and the indiscriminate release of glutamate following concussive brain injury. *J. Neurosurg.*1990 73(6): 889-900.

76-Hsu CY, Hu ZY, Doster SK. Cell mediated injury. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). *Neurotrauma*. Mc Graw Hill Companies.1996; pp1433-1444.

77-Knoblach SM, and Faden AI.: Administration of either anti-intercellular adhesion molecule-1 or a nonspecific control antibody improves recovery after traumatic brain injury in the rat. *Journal of Neurotrauma*,Vol 19, Number 9,2002.

78-Tsakadze NL, Sen U, Zhao Z,Sithu SD, English W R. Signals mediating cleavage of intercellular adhesion molecule-1. *Am J Physiol Cell Physiol* 287: 55-63,2004.

79-Kontogeorgakos VA, Voulgaris S, Korompilias AV, Vekris M, Polyzoidis KS, Bourantas K, Beris AE. The efficacy of erythropoietin on acute spinal cord injury an experimental study on a rat model. *Arch Orthop Trauma Surg* 2009;129:189–194.

80-Kwon BK, Fisher CG, Dvorak MF, Tetzlaff W. Strategies to promote neural repair and regeneration after spinal cord injury. *Spine* 2005;30: 3–13.

81-Yiu G, He Z. Glial inhibition of CNS axon regeneration. *Nat Rev Neurosci* 2006;7: 617–27.

82-Willerth SM, Sakiyama-Elbert SE. Cell therapy for spinal cord regeneration. *Adv Drug Deliv Rev* 2008;60: 263–76.

83-Lazerewicz WJ, Pluta R, Puka M, Salinsca E. Diverse mechanisms of neural protection by nimodipine in experimental rabbit brain ischemia. *Stroke* 1990;21: 108-110

84-Karagöz E, Ovalı E, Kök Hücreler, Celepler Matbacılık. Trabzon 2004; 975-8053-53-1

85-Graham DI, Genaralli TA. Trauma: In Graham DI, Kontos PL. Editors. *Greenfield's Neuropathology*. New York: Oxford University Press 1997;197-262

86-Marmarou A, Shima K. Comparative studies of edema produced by fluid percussion injury with lateral and central models of injury in cats. *Adv Neurol* 1990;52: 233-6.

87-Schmidt RH, Grady MS. Regional patterns of blood-brain barrier breakdown following central and lateral fluid percussion injury in rodents. *J Neurotrauma* 1993;10:415-30

88-Ross DT, Brasko J, Graham DI et al. Axonal injury produced by moderate (2.2 ATM) lateral fluid percussion in adult rats. I. Comparison of silver

staining and neurofilament labelling patterns of damaged axons. *J Neurotrauma* 1994; 11: 124

89-Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT et al. Responses to cortical injury. I. Methodology and local effects of contusions in rat. *Brain Res* 1981; 211:67-77.

90-Jenkins A, Maxwell WL, Graham DI. Experimental intracerebral haematoma in the rat. Sequential light microscopical changes. *Neuropath Appl Neurobiol* 1989;15: 477-86.

91-Hermes AK, Enoch PW. Süperokside production in experimental brain injury. *J Neurosurg* 1986; 64: 803-7.

92-Ikeda Y, Anderson JH, Long DM. Oxygen free radicals in the genesis of traumatic and peritumoral brain edema. *Neurosurgery* 1989; 24: 679-685.

93-Wilmore LJ, Rubin JJ. Effect of antiperoxidants on FeCl<sub>2</sub> induced lipid peroxidation and focal edema in rat brain. *Exp Neurol* 1984; 83: 62-70.

94-Hall ED, Andrus PK, Yonkers PA. Brain hydroxyl radical generation in acute experimental head injury. *J Neurosurg* 1993; 60: 588-594.

95-Smith SL, Andrus PK, Zhang JR, Hall ED. Direct measurement of hydroxyl radicals, lipid peroxidation and blood brain barrier disruption following unilateral cortical impact head injury in the rat. *J Neurotrauma* 1994; 1: 393-403.

96-Kaptanoglu E, Sen S, Beskonakli E, et al. Antioxidant actions and early ultrastructural findings of thiopental and propofol in experimental spinal cord injury: *J Neurosurg Anesthesiol.* 2002; 14: 114-22

97-Öztürk E, Demirbilek S, Kadir But A, et al. Antioxidant properties of propofol and erythropoietin after closed head injury in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biol Psychiatry* 2005; 29: 922 – 927

98-Stoffel M, Eriskat J, Plesnila M, Aggarwal N, Baethmann A: The penumbra zone of a traumatic cortical lesion: a microdialysis study of excitatory amino acid release. *Acta Neurochir* 70: 91-93, 1997

99-Baker AJ, Moulton RJ, MacMillan VH, Shedden PM: Excitatory aminoacids in cerebrospinal fluid following traumatic brain injury in humans. *J Neurosurg* 79: 369-372, 1993

100-Tanaka H, Katayama Y, Kawamata T, Tsubobawa T: Excitatory amino acid release from contused brain tissue into surrounding brain areas. *Acta Neurochir* 60: 524-527, 1994

101-Kanthan R, Shuaib A: Clinical evaluation of extracellular aminoacids in severe head trauma by intracerebral in vivo microdialysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 59: 326-32, 1995

102-McIntosh TK, Vink R, Soares H, Hayes R, Simon R: Effects of the N-methyl-D-aspartate receptor blocker MK-801 on neurologic function after experimental brain injury. *J Neurotrauma* 6: 247-259, 1984

103-McIntosh TK, Vink R, Soares H, Hayes R, Simon R: Effect of noncompetitive blockade of N-methyl-D-aspartate receptors on the neurochemical sequelae of experimental brain injury. *J Neurochem* 55: 1170-1179, 1990



104-Panter SS, Yum SW, Faden AI: Alteration in extracellular amino acids after traumatic spinal cord injury. *Ann Neurol* 27: 96-99, 1990

105-Şimşek O. Deneysel künt kafa travmasında nonkompetitif eksitatör aminoasid reseptör antagonisti Memantin'in etkileri. (Uzmanlık tezi), Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2001, 50

106-Hayes RL, Lyeth BG, Jenkins LW. Possible protective effect of endogenous opioids in traumatic brain injury. *J. Neurosurg* 72(2): 252-61, 1990.

107-Chatzipanteli K, Wada K, Busto R, Dietrich WD. Effects of Moderate Hypothermia on Constitutive and Inducible Nitric Oxide Synthase Activities After Traumatic Brain Injury in the Rat. *Journal of Neurochemistry* 72(5): 2047-2052, 1999.

108-Wada K, Chatzipanteli K, Kraydich S, Busto R, Dietrich WD. Inducible nitric oxide synthase expression after traumatic brain injury and neuroprotection with aminoguanidine treatment in rats. *Neurosurgery* 43 (6): 1427-1436, 1998.

109-McIntosh TK. Novel pharmacologic therapies in the treatment of experimental traumatic brain injury: A review. *J. Neurotrauma* 10(3): 215-61, 1993.

110-Cernak I, Chapman SM, Hamlin GP, Vink R. Temporal characterisation of pro- and anti-apoptotic mechanisms following diffuse traumatic brain injury in rats. *J Clin Neurosci* 2002;9: 565-72.

111-Yakovlev AG, Knoblach SM, Fan L, Fox GB, Goodnight R, Faden AI. Activation of CPP32-like caspases contributes to neuronal apoptosis and neurological dysfunction after traumatic brain injury. *J Neurosci* 1997; 17: 7415-24.

112-Clark RS, Kochanek PM, Watkins SC, Chen M, Dixon CE, Seidberg NA, Melick J, Loeffert JE, Nathaniel PD, Jin KL, Graham SH. Caspase-3 mediated neuronal death after traumatic brain injury in rats. *J Neurochem* 2000;74: 740-53.

113-Tiryaki M: Deneysel künt kafa travmasında N-asetilsisteinin sekonder beyin hasarı üzerine etkisi.(Uzmanlık Tezi), Edirne, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2006

114-Gong C, Hoff JT, Keep RF. Acute inflammatory reaction following experimental intracerebral hemorrhage in rat, *Brain Res* 871, 2000;57-65.

115-Lum H.L., Roebuck K.A. Oxidant stres and endothelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol.*2001; 280:C719-C741.

116-Isaksson J. Inflammatory mechanisms in experimental CNS trauma. *Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine.*2000; 906. pp.45.

117-Clark WM, Madden KP, Rohtlein R,Zivin JA. Reduction of central nervous system ischemic injury by monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule. *J Neurosurg.*1991; 75: 623-627.

118-Nedergaard M. Intracellular Ca<sup>+2</sup> transients evoked by lactic in cultured mammalian neurons. *Am J Physiol* 1995; 268: 506-513

119-Peters T. Calcium in physiological and pathological cell function. *Eu Neurol* 1986; 25: 27-44

120-David JT. Calcium antagonist history and perspective. *Stroke* 1990;21: 49-58

121-Rogan RF, Choi DW. The effect of NMDA, AMPA/Kainate and calcium channel antagonist on traumatic cortical neuronal injury in culture. *Brain Res* 1994; 633:236-42.

122-Choi D, Rothman SM. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Ann Rev Neurosci* 1990; 13: 171-82

123-Bowman CL, Ding JP, Sachs F, Sokabe M. Mechanotransducing ion channels in astrocytes. *Brain Res* 1992;584:272-286

124-Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Calcium Antagonists. *Pharmacology*. London 1996;296-300

125-Scriabine A. Pharmacology of Nimodipine. A review. *Advances in Neurosurgery* 1990; 18: 238-52.

126-Fleckenstein A, Fleckenstein G. Prevention of cerebrovascular spasms with nimodipine. *Stroke* 1990; 21: 64-71.

127-Godfraind T, Morel N, Ressayre CH. Calcium antagonist and vasoconstrictor effects in intracerebral microarterioles. *Stroke* 1990; 21: 59-63.

128-Langham J, Goldfrad C, Teasdale G, Shaw D, Rowan K. Calcium channel blockers for acute traumatic brain injury. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; 4:CD000565.

129-Aslan A, Gurelik M, Cemek M, Goksel HM, Buyukokuroglu ME. Nimodipine can improve cerebral metabolism and outcome in patients with severe head trauma. *Pharmacol Res* 2009; 59: 120-4.

130-Conti A, Angileri FF, Longo M, Pitrone A, Granata F, Rosa G. Intra-arterial nimodipine to treat symptomatic cerebral vasospasm following traumatic

subarachnoid haemorrhage. Technical case report. *Acta Neurochir (Wien)* 2008; 150:1197-202.

131-Barker FG, Heros RC. Clinical aspects of vasospasm. *Neurosurg Clin N Am* 1990; 1(2):277-88.

132-Vergouwen MD, Vermeulen M, Roos YB. Effect of nimodipine on outcome inpatients with traumatic subarachnoid haemorrhage: a systematic review. *Lancet Neurol* 2006; 5: 1029-32.

133-Yang SY, Wang ZG. Therapeutic effect of nimodipine on experimental brain injury. *Chin J Traumatol* 2003; 6: 326-31.

134- Kostran H, Grunert V. Calcium entry bloker effect on ischemic brain damage after severe head injury; *Advances in Neurology* 1990; 52: 552.

135-Teasdale G, Bailey I, Bell A, Gray J, Gullan R, Heiskanen U, et al. The effect of nimodipine on outcome after head injury: a prospective randomised control trial, The British/Finnish Co-operative Head Injury Trial Group. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 1990; 51: 315-6.

136-Pillai SV, Kolluri VR, Mohanty A, Chandramouli BA. Evaluation of nimodipine in the treatment of severe diffuse head injury: A double-blind placebo-controlled trial. *Neurology India* 2003; 51: 361-3.

137-Thomas S, Herrmann B, Samii M, Brinker T. Experimental subarachnoid hemorrhage in the rat: influences of nimodipine. *Acta Neurochir* 2008; 102:377-9

138-Üstün ME, Duman A, Ogun CO, Vatansev H, Ak A. Effects of nimodipine and magnesium sulfate on endogenous antioxidant levels in brain tissue after experimental head trauma. *J Neurosurg Anesthesiol* 2001; 13: 227-32.

139-Michenfelder JD, Milde JH. Nimodipine does not effect cerebral lactat levels fallowing complete ischemia in dogs. *J Cereb Blood Flow metab.* 1987; 7: 619- 24.

140-Bavbek M. SSS rejenerasyonunda kök hücre ve inhibitör moleküllerinin yeri. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 2006, Cilt: 16, Sayı: 1, 22

141-Su Z, Yuan Y, Chen J, Cao L, Zhu Y, Gao L, et al. Reactive astrocytes in glial scar attract olfactory ensheathing cells migration by secreted TNF-alpha in spinal cord lesion of rat. *PLoS One* 2009;4:e8141.

142-Smith GM, Miller RH, Silver J. Changing role of forebrain astrocytes during development, regenerative failure, and induced regeneration upon transplantation. *J Comp Neurol* 1986;251: 23-43.

143-Ng WP, Cartel N, Roder J, Roach A, Lozano A. Human central nervous system myelin inhibits neurite outgrowth. *Brain Res* 1996;720: 17-24.

144-Schwab ME, Kapfhammer JP, Bandtlow CE. Inhibitors of neurite growth. *Annu Rev Neurosci* 1993;16: 565-95

145-Onteniente B, Rasika S, Benchoua A. Moleküler pathways in cerebral ischemia: cues to novel therapeutic strategies. *Mol Neurobiol* 2003; 27(1):33-72.

146-David S, Aguayo AJ. Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" after central nervous system injury in adult rats. *Science Wash DC* 1981;214:931-3.

147-Ünlü A, Bademci G, Aydın Z, İskandar B. Optik sinir rejenerasyonu. *Türk Noroşirurji Dergisi*. 2001; 11: 83 – 86.

148-Lois C, Alveraz-Buylla A. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90: 2074-77.

149-Zietlow R, Lane EL, Dunett SB, Rosser AE. Human stem cell for CNS repair. *Cell Tissue Res* 2008;331:301–322.

150-Lepore AC, Bakshi A, Swanger SA, Rao MS, Fischer I. Neural precursor cells can be delivered into the injured cervical spinal cord by intratechal injection at the lumbar cord. *Brain Res* 2005;1045:206-16.

151-Reubinooff BE, Itsykson P, Turetsky T, Pera MF, Reinhartz E, Itzik A, Ben –Hur T. Neural progenitors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*. 2001;19(12): 1117-8.

152-Kerr DA, Llado J, Shablott MJ, Maragakis NJ, Irani DN, Crawford TO. Human embryonic germ cell derivatives facilitate motor recovery of rats with diffuse motor neuron injury. *J Neurosci*. 2003; 23(12): 5131- 40.

153-Brüstle O, Spiro AC, Karram K, Choudhary K, Okobe S, McKay RDG. In vitro generated neural precursors participate in mammalian brain development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94: 14809-14814.

154- Guo X, Liu L, Zhang M, Bergeron A, Cui Z, Dong JF, Zhang J. Correlation of CD34+ cells with tissue angiogenesis after traumatic brain injury in a rat model. *J Neurotrauma*. 2009 Aug;26(8):1337-44.

155-Lu D, Sanberg PR, Mahmood A, Li Y, Wang L, Sanchez-Ramos J, Chopp M. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces neurological deficit in the rat after traumatic brain injury. *Cell Transplant*. 2002;11(3):275-81.

156-Xia G, Hong X, Chen X, Lan F, Zhang G, Liao L. Intracerebral transplantation of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord blood alleviates hypoxic ischemic brain injury in rat neonates. *J Perinat Med*. 2010; 38(2):215-21.

157-Paula S, Vitola AS, Greggio S, de Paula D, Mello PB, Lubianca JM, Xavier LL, Fiori HH, Dacosta JC. Hemispheric brain injury and behavioral deficits induced by severe neonatal hypoxia-ischemia in rats are not attenuated by intravenous administration of human umbilical cord blood cells. *Pediatr Res*. 2009;65(6):631-5.

158-Zanier ER, Montinaro M, Vigano M, Villa P, Fumagalli S, Pischiutta F, Longhi L, Leoni ML, Rebulli P, Stocchetti N, Lazzari L, Simoni MG. Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells protect mice brain after trauma. *Crit Care Med*. 2011; 68(5):631-6.

159- Kızılay Z. Deneysel omurilik yaralanmasında insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre naklinin ve eritropoietininin spinal kord iyileşmesi ve nörolojik fonksiyonlara etkisi.( Uzmanlık tezi). Denizli. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2010.

160- Karadağ OT. Deneysel omurilik yaralanması oluşturulan sıçanlarda insan umbilikal kord kanı transplantasyonunun etkisinin incelenmesi.(Uzmanlık tezi). Denizli. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2006.