



**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**RADYOTERAPİNİN SIÇAN BEYNİNDE OLUŞTURDUĞU HASARI
ÖNLEMEDE DEKSMEDETOMİDİN ETKİLİ OLABİLİR Mİ?**

Dr. Seda ÇINAR

UZMANLIK TEZİ

Rize-2019



**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RADYOTERAPİNİN SIÇAN BEYNİNDE OLUŞTURDUĞU HASARI
ÖNLEMEDE DEKSMEDETOMİDİN ETKİLİ OLABİLİR Mİ?**

Dr. Seda ÇINAR

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Levent TÜMKAYA

Rize-2019

EK-1

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Seda GÜNÖR.....'a ait "Önemli Doksoredetonin Etkili Olabilir mi?" adlı çalışma jürimiz tarafından ^{Radoterapinin Sıçan Beyinde Oluşturduğu Hasarı} Histoloji ve Embryoloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 25.06/2019

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Levent TÜMKAYA

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Levent TÜMKAYA

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embryoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Gülşen KERİMOĞLU
Kardiyoloji Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Deniz SETİCİ AKATAN
Kardiyoloji Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Gülname Fındık ASUENDİ
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ömer ŞATIROĞLU

Dekan

ÖN SÖZ

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlı Tezi olarak hazırlanmıştır.

'Radyoterapinin Sıçan Beyninde Oluşturduğu Hasarı Önlemede Deksmetomidin Etkili Olabilir mi?' adlı tez çalışmasını öneren ve gerek tez çalışması sürecinde gerekse Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda eğitime başladığım süreçten itibaren gerekli bilgi ve beceri düzeyine erişmem için birçok imkan tanıyan, maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim her zaman saygı duyduğum değerli danışman hocam Doç. Dr. Levent TÜMKAYA'a teşekkürlerimi sunarım.

Bilimsel yönden gelişmem ve çalışmam için desteklerini esirgemeyen, her zaman özverili bir şekilde çalışmalarda ve eğitim sürecinde desteleyen saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Tolga Mercantepe'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasında ve eğitim hayatım boyunca katkıda bulununan hocalarımız, çalışma arkadaşlarım, aileme ve emeği geçen herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

TU-2018-934 nolu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan ‘**Radyoterapinin sıçan beyninde oluşturduğu hasarı önlemede deksmedetomidin etkili olabilir mi?**’ başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemleri kabul ettiğimi beyan ederim.

Dr. Seda ÇINAR

***Uyarı:** Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.*

ÖZET

RADYOTERAPİNİN SIÇAN BEYNİNDE OLUŞTURDUĞU HASARI ÖNLEMEDE DEKSMEDETOMİDİN ETKİLİ OLABİLİR Mİ?

Seda ÇINAR

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı
Tıpta Uzmanlık Tezi
Danışmanı: Doç. Dr. Levent TÜMKAYA

Amaç: Dünya genelinde yaklaşık 7 milyon hastanın radyoterapi tedavisi aldığı tahmin edilmektedir. Radyoterapinin uygulanan hedef organın yanında ikincil organlar üzerine olan olumsuz etkilerinin önüne geçilememiştir. Bu kapsamda çalışmamızda beyin dokusunda radyoterapi ile oluşması muhtemel bilişsel, histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikleri saptamak ve oluşabilecek olası olumsuz değişikliklere karşı deksmedetomidinin etkisini incelemek amaçlandı.

Yöntem: Sprague Dawley cinsi erkek sıçanların kullanıldığı bu çalışma kontrol grubu, radyoterapi grubu, radyoterapi+deksmedetomidin-100 ve radyoterapi+deksmedetomidin-200 grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Bütün gruplara pasif sakinme testi uygulandı. Radyoterapi uygulanan gruplar tüm vücut etkilenecek şekilde tek doz 8 Gy X-ışınına maruz bırakıldı. X-ışınına maruz bırakılan gruplar, 24 saat sonra pasif sakinme testi uygulanmasının ardından histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler için örnekler alındıktan sonra sakrifiye edildi. Alınan kesitler histopatolojik olarak değerlendirme için hematoksilin&eoizin ile boyanmış, ayrıca özel boyama yöntemleri ile TUNEL, anti-TNF α , Anti-8-OHdG, Anti-nNOS ile işaretlendi. Biyokimyasal değerlendirme için doku örneklerinden MDA ve GSH tayini yapıldı.

Bulgular: Uygulanan pasif sakinme testinde kontrol ve radyoterapi grupları arasında ve 8-OHdG pozitifitesinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Bunun aksine, doku MDA ve GSH seviyelerinde, TUNEL, TNF- α , nNOS pozitifitesinde kontrol grubuna kıyasla radyoterapi grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu tespit edildi. Deksmetomidin uygulanan gruplarda bu seviyelerin belirgin bir farkla azalmamış olduğu tespit edildi. Bunun yanında GSH seviyesinin kontrol grubuna kıyasla sırasıyla; radyoterapi, radyoterapi+deksmedetomidin-100, radyoterapi+deksmedetomidin-200 grubunda artan seviyelerde olduğu tespit edildi.

Sonuç: Malignite tedavisinde uygulanan radyoterapi sonrasında serebral korteks ve hipokampal bölgede oluşan oksidatif stres ve doku hasarına karşı deksmedetomidin tedavi amacıyla uygulanan iyonize radyasyonun yan etkilerini önlemede umut vadeci bir ajan olabilir.

2019, 105 sayfa

Anahtar Kelimeler: Deksmetomidin, Radyoterapi, Beyin



ABSTRACT

CAN DEXMEDETOMIDINE BE EFFECTIVE TO PROTECT ON RAT BRAIN DAMAGE OF RADIOTHERAPY?

Seda ÇINAR

Recep Tayyip Erdoğan University
Faculty of Medicine
Department of Histology and Embryology
Ph.D./Master's Thesis Supervisor: Doç. Dr. Levent TÜMKAYA

Purpose: Approximately 7 million people are reported to be undergoing radiotherapy at any one time. However, it is still not possible to prevent damage to secondary organs outside the targeted organ. This study therefore investigated the potential adverse effects of radiotherapy on the brain, using cognitive, histopathological and biochemical methods, and the effect of therapy with the α_2 -adrenergic receptor agonist dexmedetomidine.

Materials and Methods: Thirty-two male Sprague Dawley rats aged 5-6 months were randomly allocated into four groups, untreated control, radiotherapy, radiotherapy+dexmedetomidine-100, and radiotherapy+dexmedetomidine-200. The passive avoidance test was applied to all groups. The radiotherapy groups received total body X-ray irradiation as a single dose of 8 Gy. The rats were sacrificed 24 hours after X-ray irradiation, and following the application of the passive avoidance test. The brain tissues were then subjected to histological and biochemical evaluation.

Results: No statistically significant difference was determined between the control and radiotherapy groups in terms of passive avoidance test outcomes and 8-OHdG positivity. In contrast, a significant increase in tissue MDA and GSH levels and positivity for TUNEL, TNF- α , and nNOS was observed between the control and the irradiation groups ($p=0.007$, $p=0.029$, $p=0.000$, $p=0.000$, and $p=0.000$, respectively). A significant decrease in these values was observed in the groups receiving dexmedetomidine. Compared to the control group, gradual elevation was determined in GSH levels in the radiotherapy group, followed by the radiotherapy+dexmedetomidine-100, and radiotherapy+dexmedetomidine-200 groups.

Conclusions: Dexmedetomidine may be beneficial in countering the adverse effects of radiotherapy in the cerebral and hippocampal regions.

2019, 105 pages

Keywords: Dexmedetomidine, Radiotherapy, Brain



KISALTMALAR DİZİNİ

8-OHdG	: 8-hidroksi-2'- deoksiguanozin
ATP	: Adenozin Trifosfat
BCA	: Bikinkoninik asit
BCL2	: B-cell Lymphoma 2
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CA	: Cornu Ammonis
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
DAB	: 3,3'-Diaminobenzidin
DG	: Dentat Girus
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DTNB	: 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)
ERK	: Extracellular Regulated Kinase
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotit
FDA	: Food and Drug Administration
FMN	: Flavin Mononükleotit
GSH	: Glutasyon
KBB	: Kan-Beyin Bariyeri
KBGZ	: Karanlık Bölgeye Geçiş Zamanı
LET	: Lineer Enerji Transferi
LTD	: Long-Term Depression
MDA	: Malondialdehit
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NA	: Noradrenalin
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NMDA	: N-metil-D-aspartat
n-NOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NO	: Nitrik Oksit
PST	: Pasif Sakınma Testi

RNA	: Ribonükleik Asit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SGZ	: Subgranüler Zon
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
SVZ	: Subventriküler Zon
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TNF- α	: Tümör Nekrozis Faktör-Alfa
TNFR	: Tümör Nekrozis Faktör Reseptör
TUNEL	: Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) dUTP Nick-End Labeling

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	Beyin dokularına ait histolojik doku takip aşamaları.....	51
Tablo 2.	Hematoksilen eozin boyama prosedürü.....	53
Tablo 3.	Histopatolojik skorlama (HPS) metodu.....	54
Tablo 4.	İmmünohistokimyasal boyama prosedürü.....	56
Tablo 5.	İmmunohistokimyasal Boyamaların Değerlendirme Skorlaması.....	57
Tablo 6.	TUNEL Boyama Prosedürü.....	58
Tablo 7.	TUNEL Boyamaların Değerlendirme Skorlaması.....	58
Tablo 8.	Histopatolojik skorlama (HPS) sonuçları (median±standart sapma).....	61
Tablo 9.	Özel boyama yöntemleri uygulanmış preparatların skorlama sonuçları..	79
Tablo 10.	Grupların birinci gün sonunda KBGZ (ortalama±standart sapma) değerleri (saniye).....	80
Tablo 11.	Grupların ikinci gün sonunda KBGZ (ortalama±standart sapma) değerleri (saniye).....	80
Tablo 12.	Sağ hemisfer dokusuna ait MDA ve GSH seviyeleri	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	İyonize radyasyonun oluşturduğu doğrudan ve dolaylı DNA hasarı etkileri.....	8
Şekil 2.	Neokorteksin sito-farklılaşması ve laminasyonu.....	17
Şekil 3.	Serebral korteks.....	21
Şekil 4.	Sıçan beyinde hipokampal trisinaptik döngü.....	29
Şekil 5.	Deksmetomidin hidroklorür'ün kimyasal yapısı.....	30
Şekil 6.	TNF- α 'nın biyolojisi.....	37
Şekil 7.	Kontrol grubuna uygulanan aşamalar.....	45
Şekil 8.	Radyoterapi grubuna uygulanan aşamalar.....	45
Şekil 9.	Radyoterapi + Deksmetomidin 100 grubuna uygulanan aşamalar.....	46
Şekil 10.	Radyoterapi + Deksmetomidin 200 grubuna uygulanan aşamalar.....	47
Şekil 11.	Sıçanlara radyoterapi işleminin uygulanması.....	47
Şekil 12.	Pasif sakınma testi düzeneği.....	50
Şekil 13.	Rutin doku takip cihazı.....	50
Şekil 14.	Parafin bloklama cihazı.....	51
Şekil 15.	Rotary mikrotom cihazı.....	52
Şekil 16.	Birinci gün sonunda deneklerin karanlık bölmeye geçme zamanları.....	80
Şekil 17.	İkinci gün sonunda deneklerin karanlık bölmeye geçme zamanları.....	81

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kontrol grubuna ait serebral korteks dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E)	62
Resim 2. Kontrol grubuna ait hipokampus dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E).....	63
Resim 3. Radyoterapi grubuna ait beyin dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E).....	64
Resim 4. Radyoterapi grubuna ait hipokampus dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E).....	64
Resim 5. RT+D100 tedavi grubuna ait serebral korteks dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E).....	65
Resim 6. RT+D100 tedavi grubuna ait hipokampus dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E).....	66
Resim 7. RT+D200 tedavi grubuna ait serebral korteks dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E).....	67
Resim 8. RT+D200 tedavi grubuna ait hipokampus dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E).....	67
Resim 9. Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TUNEL boyama görüntüleri.....	68
Resim 10. Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TUNEL boyama görüntüleri.....	69
Resim 11. RT+D100 grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TUNEL boyama görüntüleri.....	70
Resim 12. RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TUNEL boyama görüntüleri.....	70
Resim 13 Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TNF- α boyama görüntüleri.....	71
Resim 14. Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TNF- α boyama görüntüleri.....	72
Resim 15. RT+D100 grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TNF- α boyama görüntüleri.....	72
Resim 16. RT+D200 grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TNF- α boyama görüntüleri.....	73
Resim 17. Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait nNOS boyama görüntüleri.....	73
Resim 18. Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait nNOS boyama görüntüleri.....	74
Resim 19. RT+D100 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait nNOS boyama görüntüleri.....	75

Resim 20. RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait nNOS boyama görüntüleri.....	75
Resim 21. Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait 8-OHdG boyama görüntüleri.	76
Resim 22. Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait 8-OHdG boyama görüntüleri.....	76
Resim 23. RT+D100 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait 8-OHdG boyama görüntüleri.....	77
Resim 24. RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait 8-OHdG boyama görüntüleri.....	77



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET.....	III-VI
KISALTMALAR DİZİNİ	VII- VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
RESİMLER DİZİNİ.....	XI-XII
1.GİRİŞ.....	1-3
2.GENEL BİLGİLER.....	4-41
2.1. Kanser.....	4-5
2.2. Radyoterapi ve Radyasyon.....	5-9
2.2.1. Radyoterapi Tarihçesi.....	5-6
2.2.2. Radyasyonun Etkileri.....	6
2.2.3. Radyasyonun Etki Evreleri.....	6-7
2.2.4. Radyoterapide Biyolojik Etkiler.....	7-8
2.2.5. Radyoterapi ve Koruyucu Ajanlar.....	8-9
2.2.6. Deneysel Hayvan Modelleri.....	9
2.2.7. Nöronlar ve Radyasyon.....	9
2.3. Öğrenme ve Bellek.....	10-11
2.3.1. Bellek Biçimleri.....	10
2.3.2. Belleğin Sinirsel Temeli.....	10
2.3.3. Zamana Göre Belleğin Alt Sınıflara Ayrılması.....	11
2.4. Pasif sakınma testi.....	11
2.5. Beyin Yapısı.....	11
2.5.1. Embriyoloji.....	11-17
2.5.2. Beyin Histolojisi.....	17-29
2.6. Deksmetomidin.....	29-31
2.6.1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	30
2.6.2. Farmakodinamik Etkisi.....	30
2.6.3. Farmakokinetik Etkisi.....	31
2.6.4. Deksmetomidinin Sinir Sistemine Etkisi.....	31-32

2.6.5. Etki Mekanizması.....	32-33
2.6.6. Deksmetomidinin Etkileri.....	33
2.7. Beyinde Metabolizma ve Hasar.....	33-34
2.7.1. Beyin Metabolizması.....	33-34
2.7.2. Beyin Hasarı.....	34
2.8. Oksidatif Stres ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri.....	34-35
2.8.1. Oksidatif stres.....	34-35
2.8.2. Malondialdehit (MDA)	35
2.8.3. Glutasyon (GSH)	35-36
2.9. Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF alfa)	36-37
2.10. Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS)	39-43
2.10.1. Nitrik Oksit Sentazın Fizyolojik İşlevleri.....	39
2.10.2. Merkezi Sinir Sisteminde Nitrik Oksitin Rolü.....	39
2.10.3. Nöronal Nitrik Oksit Sentazın Patofizyolojideki Rolü.....	39-40
2.10.4. nNOS Histolojik Dağılımı.....	40
2.10.5. nNOS'un Fizyolojik İşlevleri.....	41
2.10.6. nNOS'un Nörogenezis Üzerine Etkisi.....	41-43
2.11. 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)	43
2.12. Apoptoz.....	43
3.MATERYAL VE METOD.....	44-60
3.1. Deney Hayvanları.....	44
3.2. Çalışma Grupları.....	44-47
3.2.1. Kontrol Grubu.....	44-45
3.2.2. Radyoterapi Grubu.....	45
3.2.3. Radyoterapi ve Deksmetomidin 100 (100 µg/kg) Grubu.....	46
3.2.4. Radyoterapi ve Deksmetomidin 200 Grubu (200 µg/kg)....	46-47
3.3. Radyoterapi Uygulanması.....	47
3.4. Deksmetomidin Enjeksiyonu.....	48
3.5. Pasif Sakınma Testi.....	48-50
3.6. Histolojik Analizler.....	50-58
3.6.1. Histolojik Doku Takip İşlemleri.....	50-52
3.6.2. Hematoksilen–Eozin Boyama Yöntemi.....	52-53
3.6.3 Histopatolojik Analiz.....	53-54

3.6.4. Özel Boyama Yöntemleri.....	54-58
3.7. Biyokimyasal Analiz.....	59-60
3.7.1. Doku homojenizasyonu.....	59
3.7.2. MDA tayini.....	59
3.7.3. GSH tayini.....	59
3.7.4. Protein Tayini.....	59-60
3.8. İstatiksel Analiz.....	60
4.BULGULAR.....	61-91
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	61-67
4.2. Özel Boyamalar.....	68-79
4.3. Davranış Testi Bulguları.....	79-81
4.4. Biyokimyasal Bulgular.....	81-82
5.TARTIŞMA.....	82-91
6.SONUÇLAR.....	92
KAYNAKLAR.....	93-104
EKLER.....	105

1. GİRİŞ

Kanser; hücrelerde meydana gelen DNA (Deoksiribonükleik asit) hasarı sonucu ilgili hücrelerin kontrolsüz çoğalması veya büyümesi olarak tanımlanır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2014 yılında yayınladığı rapora göre dünya çapında yaklaşık 14 milyon kişiye kanser teşhisi koyulduğu ve bu bağlamda 8 milyon kişinin kanserden öldüğü bildirilmiştir (1). Radyoterapi tüm kanser hastalarının yarısından fazlasında tedavi modalitesinde yer almaktadır (2). Bu noktada bu yöntem son dönemlerde kanser tedavi yönetiminde bir kilit taşı özelliği taşımaktadır (3). Malign dokuların maruz kaldığı radyasyon, çevre bölgedeki normal dokulara da ulaşmaktadır ve buna bağlı olarak olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır (3). Ancak kanser tedavi yöntemleri arasında radyoterapi, invaziv olmama ve nispeten organ koruyucu olma avantajına sahiptir (3).

Radyoterapi alan hastanın kanser hücreleri normal dokulara göre daha radyosensitif olmasına rağmen, radyasyon normal doku hasarı da oluşturmaktadır (4). Uygulanan tedavi yöntemleri ile yaşam süresi uzamasına rağmen oluşan olumsuz etkilerin önemli bir klinik sorun olmaya devam etmesi önemli bir sorun teşkil etmektedir (5). Özellikle de bilişsel fonksiyonların etkilenmesi hem hasta hem doktor hem de hasta yakınları açısından zorlayıcı bir etken olarak ortaya çıkmaktadır (6–9). Bilişsel fonksiyonların önemli olduğu, düşüncenin tedaviyi etkilediği plasebo ve nosebo etkilerden anlaşılmaktadır (10,11). Bu nedenle düşüncenin üretildiği ana kaynak olan beyin fonksiyonlarının korunması ve hatta daha da iyileştirilmesi tedavi modaliteleri için kilit nokta oluşturmaktadır.

Radyasyon DNA sarmallarında DNA hasarını ya doğrudan DNA'yı iyonize ederek ya da dolaylı olarak DNA'ya zarar veren serbest oksijen radikalleri oluşturarak hasara neden olabilmektedir (12). Tüm vücuttaki oksijen tüketiminin yaklaşık %20'sinin beyin dokusunda olması (13), radyoterapi sonucu serbest radikal oluşumunu ve sonrasında meydana gelen hasarı önemli kılmaktadır.

Radyasyon maruziyetine bağlı nöronal hasar başta apoptozis olmak üzere birçok faktör ile ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır (14). Apoptozisin başlangıcında inflamatuvar süreç ve oksidatif stres gibi birçok neden düşünülebilir (15,16). Radyasyonun sağlıklı dokulara hatta hücrelere verdiği hasarı önlemek veya en aza

indirmek için inflamasyonu ve serbest oksijen radikallerini azaltıcı veya engelleyici uygulamalar birçok araştırmanın konusu olmuştur. Araştırmalarda radyasyonun merkezi sinir sisteminde (MSS) doku düzeyinde oluşturduğu etkileri inflamasyon, oksidatif stres, apoptozis ve diğer bilişsel fonksiyonların değerlendirildiği belirteçlerle ortaya koyarak oluşan hasarı gözler önüne sermenin çok yönlü bir bakış açısı sağlayacağı yadsınamaz.

Radyasyona bağlı beyin hasarı sürekli ve dinamik bir süreçtir. Bu süreç; nörolojik komplikasyonlar, kan-beyin bariyerinde bozulmalar, geçici demiyelinizasyon süreçleri gibi farklı fazlara ayrılarak kategorilendirilebilir. Bilimsel literatür incelendiğinde, radyasyonun potansiyel olarak nöroinflamasyonu tetiklediği gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda radyasyona bağlı apoptozis ve çeşitli histopatolojik değişiklikler de gösterilmiştir (17).

İyonize radyasyonun kontrolsüz oksidatif stres kaynaklı lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve bunun sonucunda malondialdehit (MDA) seviyelerinin yükseldiği bilinmektedir (18). Ayrıca radyoterapi üzerine yapılan çalışmalarda oksidatif stresi baskılamaya yönelik oluşturulan savunma sisteminde indirgenmiş glutatyon seviyelerinin azaldığı raporlanmıştır (19).

İyonize radyasyonun bu etkene maruz bırakılan sıçanlarda öğrenme ve bellek üzerine olan etkisini değerlendirmek için çeşitli bilişsel testler uygulanmaktadır. Bu açıdan kemirgenlerde pasif sakınma testi bilişsel fonksiyonları değerlendirmede sıklıkla tercih edilen önemli bir yöntemdir (20).

Radyasyon maruziyetinin olumsuz etkilerine karşı kullanılan ajanlar önleyici, azaltıcı ve tedavi edici olarak gruplandırılabilir (21).

Etkili bir radyoprotektif ajan olmasına rağmen sınırlı klinik kullanım alanı olan amifostin Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından onaylanmış tek radyoprotektif ajandır (22). Amifostininin radyoterapi sonucu artan oksidatif stres kaynaklı DNA hasarının önemli bir belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)'i azalttığı, inflamasyonu baskıladığı ve apoptotik hücre

sayısını düşürdüğü gösterilmiştir (23,24). MSS'yi korumaya yönelik klinik kullanımı onaylanmış bir ilaç bulunmamaktadır.

Nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS), öğrenme, hafıza ve nörogenez gibi fizyolojik fonksiyonların modüle edilmesinde önemli bir yere sahiptir. MSS'de nNOS, sinaptik iletimin uzun süreli düzenlemesine aracılık eder (25). Ayrıca anormal nitrik oksit (NO) seviyelerinin çeşitli nörodejeneratif patolojilere katkıda bulunma olasılığı yüksektir (25).

MSS; daha öncede belirtildiği gibi oksijen tüketiminin fazla olması, antioksidan mekanizmaların zayıf olması ve nörogenezin kısıtlı olması nedeniyle oluşan oksidatif hasara karşı hassastır. Bu nedenle antioksidan mekanizmaları güçlendirmek oluşan iyonize radyasyon hasarını en aza indirmek için uygulanabilecek çok etkili bir yöntemdir (26).

Seçici alfa-2 adrenerjik reseptör agonisti olan deksmedetomidin ilk olarak 1999 yılında yetişkinlerde yoğun bakım ünitelerinde kullanım ve prosedürel sedasyon endikasyonu için FDA tarafından onaylanmıştır (27). Bilimsel literatür incelendiğinde, deksmedetomidinin çeşitli çalışmalarda antioksidan, nöroprotektif, antiinflamatuvar, antiapoptotik etkisi olduğu saptanmıştır (28–31).

Yapılan bu çalışmada beyin dokusunda radyoterapi ile oluşması muhtemel bilişsel, histolojik ve biyokimyasal değişiklikleri detaylı bir şekilde incelemek ve oluşabilecek olası olumsuz değişiklikleri önlemek için radyoterapi öncesi verilmiş olan deksmedetomidin ile bu değişikliklerin nasıl etkilendiği araştırılmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Dünya genelinde 2018 yılında, 18.1 milyon yeni kanser teşhisi konulmuş ve 9.6 milyon kanser kaynaklı ölüm meydana gelmiştir (32). Kanser çeşitleri tipik olarak dokudaki kökenine, anatomik bölgesine göre sınıflandırılmasına rağmen bütün kanser türleri aynı biyolojik özelliği paylaşmaktadırlar. Neoplazi oluşum süreci hücredeki fonksiyonlarda kademeli değişimlerin sonucudur. Bu fenotipik değişiklikler kanserin ayırt edici özelliği olan proliferatif, invaziv ve metastatik potansiyeli ortaya koymaktadır. Hücresel ve biyokimyasal sapmaların altında yatan genetik değişikliklerin malign fenotipten sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Genetik kodu değiştiren mutasyonlara ek olarak epigenetik değişiklikler hücresel ve biyokimyasal değişimlerin altında yatar. Epigenetik fenomenler, gen ekspresyonunu ve hücre davranışını etkiler ve bir kez elde edilmelerine rağmen, hücre bölünmesi olan yeni hücrelerde genetik değişikliklere neden olmazlar (33).

Hücre çoğalması ve yaşamını sürdürme, sinyal iletimi, adezyon ve göçteki anomalilere ek olarak tümör hücreleri artan metabolik gereksinimlerini karşılamak için metabolik yollarda değişikliklere neden olurlar. Tümörlü dokularda oksijen basıncında azalma olmaktadır ve tümör hipoksisi sonucu, hipoksik ortama adaptasyon için gen ekspresyonunda bir takım değişiklikler baş gösterir (33).

Kanser hücrelerinin kümeleri, doğrudan difüzyonla oksijen ve besin elde ederek 60-100 µm'ye kadar büyüyebilir, ancak bu boyutu aşmak için bir tümörün özel bir kan desteği alması gerekir. Kanser hücreleri boyutunu artırmak için anjiyogenezis lehine olacak şekilde çeşitli faktörlerin salınımını düzenlemektedir (34).

Kanserojenlerin 10 temel özellikten en az birine sahip olduğu bildirilmiştir:

- a. Elektrofilik veya elektrofilleri metabolik olarak aktive edebilen
- b. Genotoksik
- c. DNA onarımında değişiklik veya genomik kararsızlığa neden olabilen

- d. Epigenetik değişimleri başlatabilen
- e. Oksidatif stresi başlatabilen
- f. Kronik inflamasyonu başlatan
- g. İmmüsupresif etkiye sahip olan
- h. Reseptör düzenleyici etkileri modüle edebilen
- i. İmmortalizasyona neden olan
- j. Hücre proliferasyonunu, hücre ölümünü veya besin desteğini değiştirebilen (35).

Kanserin tipine ve ilerlemesine göre tedavi seçeneklerine karar verilen birçok kanser tedavi yöntemi bulunmaktadır. Bazı insanlar sadece bir çeşit tedavi yöntemi ile iyileştirilmeye çalışılırken, çoğu hastaların tedavileri kombinasyon şeklinde olmaktadır. Tedavi çeşitleri; cerrahi, kemoterapi, radyoterapi şeklinde yalnız veya birbirleri ile kombine edilerek uygulanır. Bunlara ek olarak; immunoterapi, hedeflenmiş tedavi veya hormonal tedavi yöntemleri de uygulanmaktadır (36).

2.2. Radyoterapi ve Radyasyon

2.2.1. Radyoterapi Tarihçesi

1895 yılında, Alman fizikçi Wilhelm Conrad Röntgen, ışık geçirmez kaplarda yayılan “yeni bir ışın” keşfetmiştir. Bu ışınları, ilk defa X’in bilinmeyenini temsil ettiği “X-ışınları” adında 1895'te duyurmuştur. Bir konferansta X-ışınlarının özelliklerini ortaya koyan Röntgen, önde gelen İsviçreli bir anatomi profesörü olan Rudolf Albert von Kölliker'in elini ışınlara koymasını ve ilk defa alınan radyografiyi üretmesini istemiştir (37).

X-ışınlarının ilk tıbbi kullanımını 23 Ocak 1896'daki Lancet'te bildirildi. Yeni teknoloji, Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri aracılığıyla hızla yayıldı ve tanı amaçlı radyoloji alanı doğdu. İlk olarak X-ışınlarının tedavi edici olarak kullanıldığını ileri süren bazı tartışmalar vardır. Ancak 1896'da, Avusturyalı bir cerrah olan Leopold Freund, X-ışınları ile tedaviyi takiben tüylü bir nevüsün ortadan kalktığını gösterdi. Antoine Henri Becquerel, 1896'da uranyum bileşikleri tarafından yayılan radyoaktiviteyi keşfetti ve 2 yıl sonra, Pierre ve Marie Curie radyoaktif elementler olan

polonyum ve radyumu izole etti. Birkaç yıl içinde, kanser tedavisi için radyum kullanılmaya başlandı (37).

Radyasyonun ilk kaydedilen biyolojik etkisi, yelek cebinde yanlışlıkla bir radyum kabı bırakan Becquerel'e dayanmaktadır. 2 hafta sonra ortaya çıkan cilt erimesinin gelişmesini ve iyileşmesi için birkaç hafta gereken ülserasyonu tanımladı. Pierre Curie'nin 1901'de kendi ön koluna bir “yanık” oluşturarak bu deneyimi tekrarladığı söylenir. Bu erken başlangıçlardan, yüzyılın başında radyobiyo­loji çalışmaları başladı. Radyobiyo­loji, canlılara iyonlaştırıcı radyasyonların etkisinin incelenmesidir. Bu nedenle, kaçınılmaz olarak belli miktarda radyasyon fiziğini içerir (37).

2.2.2. Radyasyonun Etkileri

İyonlaştırıcı radyasyonun etkilerinin bilinmesi tedavi yönetiminde ve radyasyonun istenmeyen etkilerinden korunma açısından önem arz etmektedir (38). Bu bağlamda, radyasyon tedavisi farklı alanlarda geniş çapta kullanılan bir yöntemdir.

2.2.3. Radyasyonun Etki Evreleri

Biyolojik ortamdaki iyonlaştırıcı radyasyonun etkisi dört evrede gruplandırılabilir:

-Fiziksel evre: İyonlaştırıcı radyasyonun geçtiği ortam içinde yakınındaki atomun elektronlarıyla etkileşerek iyonlaşma veya uyarılma oluşturmasını içerir.

-Fizikokimyasal evre: İyonizasyon ve uyarılma, canlı dokularda yoğun olarak mevcut olan su ve farklı moleküllerle etkileşerek hidroksil (OH^-) radikali gibi serbest radikaller oluşturarak DNA hasarına neden olur.

-Biyokimyasal evre: Serbest radikallerdeki eşlenmemiş elektronlar diğer moleküllerin elektronları ile etkileşerek yeni kararlı moleküller oluşturur. Serbest radikallerle oluşan DNA zincir hasarı bazı enzimlerle tamir edilebilir. Bu durumun

gerçekleşmediği durumlarda hücre çoğalmasının durması, mutasyon ve ölüm gibi önemli durumlar meydana gelir.

-Biyolojik evre: Hücre ölümü, mutasyonlar, normal dokularda erken ve geç etkilerin oluşumu, radyoterapi ile tümör kontrolü ve sekonder kanser oluşumu gibi etkilerin olduğu evredir (38).

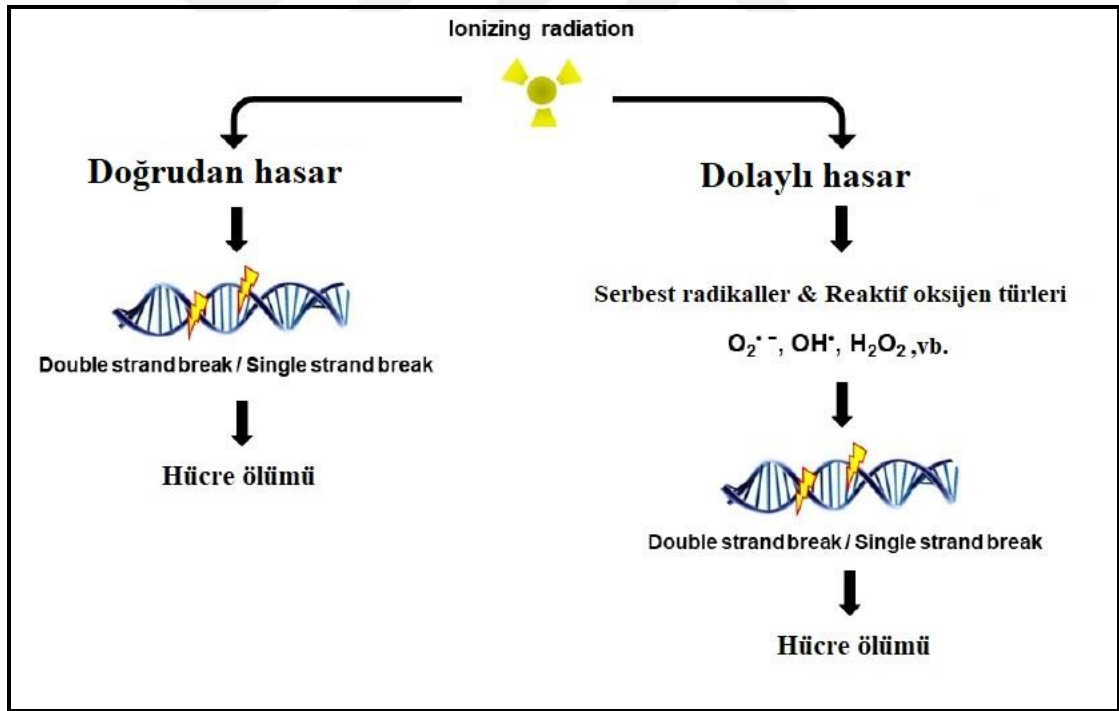
2.2.4. Radyoterapide Biyolojik Etkiler

Radyasyon maruziyetinden etkilenen hücrelerde, bölünme yeteneği kaybının sonucu olarak nekroz, otofaji, yaşlanma ve apoptozis olaylarından biri veya birkaçı oluşarak hücre ölümü gerçekleşir (38). Bu nedenle, radyasyonun hücre çoğalmasını baskılaması hücre bazındaki en göze çarpan etkilerinden biridir.

Radyasyon DNA zincirlerinde DNA hasarını ya doğrudan DNA'yı iyonize ederek ya da dolaylı olarak DNA'ya zarar veren serbest radikaller oluşturarak hasara neden olabilmektedir (Şekil 1). DNA'da çift zincir kopmaları; replikasyon veya reaktif oksijen türevleri (ROT) sırasında endojen olarak üretilen biyolojik olarak önemli hasarlardır. DNA'da meydana gelen tek zincir kırılmaları hücrelerin onarım sistemi tarafından kolayca onarıldığından nadiren normal hücrelerde hücre ölümüne neden olur. Hasarlı normal hücreler düzgün bir şekilde tamir edildiğinde, DNA çift zincir kırıklarına bağlı olarak yan etkileri olmadan hücreler hayatta kalabilir. Bununla birlikte, yetersiz veya yanlış DNA çift zincir onarımı, tümör oluşumuna katkıda bulunabilen genomik varyasyon gösteren hücrenin hayatta kalmasına neden olabilir (12).

Radyasyon tedavisinin biyolojik etkileri tümörlerde toplam doz, fraksiyonasyon oranı, radyosensitivite ve lineer enerji transferine (LET) bağlıdır. Yüksek LET radyasyonu (nötronlar ve α -partiküller) kararlı serbest radikaller oluşturur ve DNA, RNA (Ribonükleik asit), lipitler ve proteinler dahil olmak üzere hücresel makromoleküllerin doğrudan iyonlaşması hücresel hasara neden olur. Yüksek LET radyasyonu, DNA molekülünün sarmal dönüşleri içinde iki veya daha fazla lezyon içeren bir DNA lezyonları sınıfı olan kompleks DNA hasarı oluşturur. Bu olaylara "doğrudan etki" denir. Tersine, düşük LET radyasyonu (X-ışınları, γ -ışınları ve β

partikülleri), süperoksit radikali, hidroksil radikali olduğu kadar hidrojen peroksit ve singlet oksijen gibi serbest radikaller ve ROT üretir. Hücre içi ROT; düşük LET radyasyon (X-ışınları, γ -ışınları ve β partikülleri) oksidasyonu, serbest radikaller, biyolojik makromoleküller ve hücre içi sinyal yollarının aktivasyonu gibi pek çok etkiye sahiptir. Bu etki “dolaylı etki” olarak adlandırılmaktadır. Dolaylı etkiler, apoptoz ve hücre döngüsü arrestini arttıran fenomeni içerir. Tümör hücrelerinde DNA sarmallarında tek veya çift zincir kırıkları dolaylı etki olarak adlandırılır. Bu dolaylı etki ayrıca ‘bystander etkisi’ olan fenomeni içermektedir. Ayrıca, ışınlanmış hücrelerin, komşu hücreyi etkileyen faktörleri serbest bıraktığı gösterilmiştir ki bu ‘dolaylı etki’ olarak adlandırılır. Dolaylı etkiler ayrıca, radyasyona maruz kalmayan, genomik dengesizliğe, stres yanıtına ve ‘bystander etkisi’ gibi değişime neden olan fenomen hücrelerini de içerir. Işınlanmış hücrelerin apoptozu veya hücre çoğalmasını etkileyen faktörleri serbest bıraktığı gösterilmiştir (12).



Şekil 1. İyonize radyasyonun oluşturduğu doğrudan ve dolaylı DNA hasarı etkileri (12).

2.2.5. Radyoterapi ve Koruyucu Ajanlar

Radyasyon maruziyetinin olumsuz etkilerine karşı kullanılan ajanlar önleyici, azaltıcı ve tedavi edici olarak gruplandırılabilir (21).

Radyoterapide FDA tarafından klinik kullanımı onay almış tek radyoprotektif ajan amifostindir (WR-2721) (22). Amifostinin, baş ve boyun kanseri olan hastalarda radyasyon indüklü kserestomi riskini anlamlı derece azalttığı randomize kontrollü çalışmalarda açıkça gösterilmiştir. Radyoprotektif mekanizma; radikal süpürücü, hidrojen verici ve hipoksi indüksiyonu ile tanımlanmaktadır. Amifostin membran bağımlı alkalın fosfataz tarafından WR-1065'e dönüşen bir ön ilaçtır. Normal hücrelerde damar yapıları normal morfolojide olduğu için, tümörlere kıyasla alkalın fosfataz daha yüksek konsantrasyonda bulunur ve poliamin taşıyıcı tarafından kolaylaştırılmış transport ile ilaç daha iyi dağılmaktadır (39).

2.2.6. Deneysel Hayvan Modelleri

Radyoterapiye dayalı ortaya konulmuş bilimsel çalışmalarda radyoterapinin vücut üzerindeki etkileri ve olumsuz etkilerine karşı koruyucu yöntemler geliştirme konusunda bir arayış mevcuttur. Literatürde sadece baş bölgesi ve tüm vücudun etkilenmesi ile ilgili çalışmalar çok sayıda yer almasına karşın, tüm vücut etkilenip santral sinir sistemine yönelik etkilerin incelendiği çalışmalar kısıtlıdır. Bu çalışmalarda beyinde farklı alanlarla birlikte hipokampusun etkilendiği gözlemlenmiştir (15,40,41). Radyoterapi sonrası ortaya çıkan erken ve geç dönem etkiler yapılan çalışmalarda incelenmiş olup, radyoterapi sonrası oluşan hasara yönelik değerlendirmeler çok sayıda yapılmıştır (17,42).

2.2.7. Nöronlar ve Radyasyon

Radyorezistan bir popülasyon düşünüldüğünde, artık bölünemeyecekleri için, nöronların radyasyona olumsuz tepki verdiği gösterilmiştir. Çalışmalar, hipokampal hücrel aktivitede, sinaptik diken üretiminde ve nöronal gen ekspresyonunda radyasyon kaynaklı değişiklikler ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmalar, nöronlarda ince hücrel ve/veya moleküler değişiklikler ya da nöronlar ve astrositler arasındaki bağlantıdaki ince değişiklikler nedeniyle, geç radyasyona bağlı kognitif bozuklukta henüz tanımlanmamış bir rol oynadığını düşündürmektedir (43).

2.3. Öğrenme ve Bellek

Hayvanlarda ve özellikle de insanlarda davranışlarını deneyimlere göre değiştirebilme yeteneği vardır. Öğrenme bu durumu gerçekleştirmek için bilgi edinmedir. Bellek ise edinilen bilgiyi koruma ve depolamadır (44).

2.3.1. Bellek Biçimleri

Fizyolojik bakış açısı olarak bellek; deklaratif ve örtük olarak iki tipe ayrılır. Deklaratif bellek uyanıklık ile birlikte, hipokampus ve beynin mediyal temporal loblarının diğer bölümleri ile bağlantılıdır. Örtük veya deklaratif belleğin korunmasında genellikle hipokampustaki süreçler rol almaz. Deklaratif bellek; insanlar, yerler ve eşyalara dair gerçek bilgilerdir. Motor veya algı becerilerinin eğitimi için örtük bellek önem arz eder (44).

2.3.2. Belleğin Sinirsel Temeli

Sinaptik bağlantıların gücündeki değişiklik bellekte ana noktadır. İkinci haberci sistemleri öğrenme ve bellek için nöral ağda değişikliklere neden olur.

Hayvanlarda her eğitim oturumunu izleyen beş dakika içinde ikinci haberci sistemleri uzun süreli öğrenilmiş bilgilerin kazanılmasını engeller. Bu girişimler eğitim oturumlarında dört saat sonra yapılırsa kazanım üzerine herhangi bir etki görülmez. Uygulanan girişimlerden sonra önceden gerçekleşen olaylara ait bilginin kaybı retrograd amnezi olarak adlandırılır. Bu amnezi, deney hayvanlarındakinden daha uzun dönemleri (bazen birçok gün) kapsarsa uzak bellekler etkilenmemiş olarak kalır (44).

2.3.3. Zamana Göre Belleğin Alt Sınıflara Ayrılması

2.3.3.1. Çok Kısa Süreli Bellek (Duyusal Bellek)

Duyusal girdilerin göreceli olarak kaydedilmemiş veya işlenmemiş bir biçimde zihinsel temsiller olarak da mevcut olabileceği kabul edilmektedir. "Duyusal bellek"

gibi terimler genellikle bu içsel temsil biçimine uygulanır ve çoğu bilgi işleme şemasında, duyuşal girdinin uyarının çıkarılmasından kısa bir süre sonra kodlanmamış bir biçimde mevcut olduğu belirtilir. En azından görsel, işitsel ve dokunsal girdiler için bu şekilde olduğu kabul edilmektedir (45). Duyusal bellekte bilgi, milisaniyeler içinde depolanmaktadır (46).

2.3.3.2. Kısa Süreli Bellek (Çalışma Belleği)

Kısa süreli bellek, bilginin uzun süreli belleğe depolanmadan önce pasif şekilde saklandığı bellek biçimidir. Spesifik kısa süreli bellek modelleri, tekrarlama, kodlama, organizasyon ve geri çağırma stratejileri gibi birçok önemli kontrol süreci ile ilişkilendirmiştir (47). Kısa süreli bellek, pariyetal korteks ve dorsolateral prefrontal korteks ile ilgilidir (46).

2.3.3.3. Uzun Süreli Bellek

Kısa süreli bellekten gelen bilginin daha uzun süre için depolanmasında uzun süreli bellek devreye girer. Uzun süreli bellek öğrenilen bilginin yapısal değişikliklerle ilgili olayları kapsamaktadır. Bilgi bu bellek türünde dakikalar ile dekatlar boyunca saklanabilmektedir (48).

2.4. Pasif sakınma testi

Pasif sakınma testi, sıçanların normal fizyolojik davranışına istinaden uygulanmaktadır. Öğrenme ve bellek işlevlerini değerlendirmenin esas amaç olduğu düzenekte sıçanlar normal davranış olarak aydınlatılmış alandan daha karanlık alana geçme eğilimindedirler. Düzenek eşit hacimde aydınlık ve karanlık bölmeden oluşmaktadır. Elektrik akımını ileten tel ızgara ile döşelidir. İçgüdüsel olarak aydınlık alana koyulan sıçan karanlık alana geçmektedir. Karanlık alana geçtiğinde ızgaralar vasıtasıyla elektrik akımına maruz kalır ve karanlık alana tekrar geçtiğinde elektrik şoku ile karşılaşacağını öğrenmiş olur. 24 saat sonra deney tekrarlandığında sıçanlar aydınlık alanda kalmaya devam ederler. Karanlık alana geçmekten kaçınırlar (49).

2.5. Beyin Yapısı

2.5.1. Embriyoloji

MSS, gelişimin 3. haftasında nöral plak gelişiminin meydana geldiği dönemde ortaya çıkar. Nöral plaktaki hücreler tarafından nöroektoderm oluşturulur ve daha sonra beyin ve medulla spinalisi oluşturan nöral tüpe dönüşür (50).

Nöroepitelyal hücrelerden köken alan nöroblastlar gelişim aşamalarıyla nöron haline gelirler (50,51). Nöroektodermal hücrelerden köken alan glioblastlar ise ileriki aşamalarda astrositlere, oligodendrositlere, ependimositlere dönüşmektedirler (50). Mikroglialar ise vasküler mezensefalden köken almaktadır (51). Beyni çevreleyen bağ doku tabakalarından araknoid mater mezoderm ve nöral krista kökenlidir (52). Pia materin de genel olarak mezoderm ve nöral krista kökenli olduğu düşünülmektedir (52). Dura materin ise mezoderm kökenli olduğu bilinmektedir (52).

Nöral plağın geniş kranial bölümünden köken alan beyin, on dokuzuncu günde, nöral plağın fleksürlerinin oluşmasından önce; beyin-prosencefalon (ön beyin), mezensefalon (orta beyin) ve rombensefalon (arka beyin) olarak üç ana bölüm şeklinde nöral plaktaki girintiye ayrılır (53).

2.5.1.1. Nöral Tüpün Gelişimi

Notokord üst kısmındaki ektodermin nöroektoderme farklılaşmasında rol olarak nöral plağı oluşturur. Yaklaşık 18. günde, nöral plak merkez ekseninde uzunlamasına etrafı nöral kıvrımlardan oluşan nöral oluğu meydana getirir. Nöral kıvrımlar kranial bölümde daha geniştir ve burası beyin gelişiminin ilk görüldüğü bölgedir. Üçüncü haftanın sonunda nöral kıvrımlar, ilk seviyesi beşinci somit hizasında birbirine yaklaşmaya başlayarak nöral tüpü oluşturur. Nöral tüpün oluşması sırasında kranial ucu anterior nöropor ve kaudal ucu posterior nöropor ile amniyon boşluğuyla ilişki halindedir. Yaklaşık olarak anterior nöropor 25. günde, posterior nöropor 27. günde kapanmaktadır. MSS’de nöral tüpün rostral kısmı; beyine, kaudal kısmı; medulla

spinalise, lümeni; beynin ventriküler sistemi ve medulla spinalisin santral kanalına dönüşür (50,54).

2.5.1.2. Nöral Tüpün Hücresel Farklılaşması

Nöral tüpün hücresel farklılaşması rombensefalik bölgede başlar, hemen sonra oksipitoservikal bölgedeki nöral katlantıların birleşmesiyle devam eder. Nöral tüpün dönüşümünde bu seviyelerde kranial ve kaudalden nöral oluşun kapanması ilerler. Gelecekte MSS'nin hücre tiplerinden olan nöronları, bazı glial hücre tiplerini, beyin ventrikülleri ve medulla spinalisin santral kanalını döşeyen endodermal hücrelerini oluşturacak prekürsörler, doğrudan çevredeki tabakadan nöroepitelyal hücrelerinin proliferasyonu ile üretilir. Erken dönemde nöroepitelyal hücreler bazı glia özelliklerini paylaşır ve sıklıkla erken nöral tüpün duvarını örttüğünde *radial hücre* olarak adlandırılır. Bu hücreler hem nöronal hem de glial hücre progenitörlerine dönüşen proliferasyona uğrarlar. Prolifere olan nöroepitelyal hücreler luminal yüzeyde meydana gelen mitoz ile farklılaşan nöral tüpün ventriküler tabakayı içerir. Postmitotik genç nöronlardan oluşan ventriküler tabakada üretilen hücrelerin birinci dalgası, eksternal ventriküler tabakada manto tabakası denilen hücre gövdeleri içeren ikinci bir tabaka oluşturmak için periferik olarak göç eder. Bu nöron içeren tabaka, MSS'nin gri cevherine dönüşür. Manto tabakası nöronlarından gelişen nöronal uzantılar (aksonlar) periferik olarak büyür ve üçüncü bir tabaka, nöronal hücre gövdesi içermeyen marjinal tabaka ve MSS'nin beyaz cevheri haline gelir. Aksonların çoğunu saran lipit içerikli miyelin kılıflarının sağladığı beyazımsı renk nedeniyle bu kısım beyaz cevher olarak adlandırılır. MSS'de bu kılıflar oligodendrositler tarafından oluşturulur. Marjinal tabaka, MSS'ye giren ve çıkan aksonların yanı sıra, MSS'de daha yüksek veya daha düşük seviyelere akan akson yollarını içerir (53).

Nöron üretimi ventriküler tabakada azaldıktan sonra, bu tabakada nöroepitelyal hücreler tarafından yeni bir hücre tipi olan glioblast üretilmeye başlanır. Bu hücreler, MSS'nin glia hücrelerinden astrosit ve oligodendrositlere farklılaşır. Ventriküler tabaka tarafından üretilen son hücreler, endodermal hücrelerdir; bunlar beyin ventriküllerini ve medulla spinalisin santral kanalını çevreler. Endodermal hücreleri, beyin ventriküllerini, medulla spinalisin santral kanalını ve MSS'yi saran subaraknoid boşluğu dolduran beyin

omurilik sıvısının (BOS) üretilmesinden sorumludur. BOS beyni koruyan ve destekleyen sıvı bir kılıf sağlar (53). Gelişimin diğer safhasında damar gelişiminin olduğu safhada vasküler mezenşim kökenli MSS'nin destek hücrelerinden olan mikroglia hücreleri üretilmeye başlanır (51).

2.5.1.3. Telensefalonun Gelişimi

Serebral hemisferler ilk olarak otuz ikinci günde telensefalonun bir çift kabarcık benzeri çıkıntı olarak ortaya çıkar. On altı haftaya kadar, hızla büyüyen hemisferler ovaldir ve diensefalonu kaplayacak şekilde genişler. Her hemisferin ince çatısı ve yan duvarları gelecekteki beyin korteksini oluşturur. Taban daha kalın ve bazal ganglionlara (corpus striatum ve globus pallidus) dönüşen ganglionik tümsekler (eminens) adı verilen nöronal agregatlar içermektedir. Büyüyen hemisferler diensefalonun duvarlarına baskı yaptıklarında, başlangıçta iki yapıyı ayıran meningeal tabakalar ortadan kalkar, böylece talamusun nöral dokusu serebral hemisferlerin tabanı ile sürekli hale gelir. Bu eski sınır nihayetinde beyin ve medulla spinalisin alt bölgelerine serebral korteks korpus striatumdan geçen (şeritli görünümü veren) ve talamustan serebral kortekse (ve tersi) akson taşıyan kapsula interna adı verilen büyük bir akson demeti ile geçilir (53).

Beyin hemisferleri başlangıçta düz yüzeylidir. Bununla birlikte, serebellar korteks gibi, serebral korteks hemisferleri büyüdükçe giderek daha karmaşık bir girus ve sulkus biçiminde katlanır. Bu işlem dördüncü ayda, her yarım kürenin lateral duvarında lateral serebral fossa adı verilen küçük bir girinti oluşumu ile başlar. Her bir uzayan yarım kürenin kaudal ucu ventral olarak kıvrılır ve daha sonra serebral yarım kürenin temporal lobunu yaratan ve fossayı lateral serebral sulkus adı verilen derin bir yarığa dönüştüren bu fossa boyunca ilerler. Aslen fossa'nın medial tabanını oluşturan serebral korteksin kısmı, temporal lob tarafından kaplanır ve insula olarak adlandırılır (53).

Altıncı aya kadar, başka birçok serebral sulkus oluşur. Bunlar arasında frontal ve pariyetal lobları ayıran merkezi sulkus ve oksipital lobu sınırlayan oksipital sulkus

bulunur. Sonunda serebral hemisfer üzerinde oluşan ayrıntılı girus kalıbı, kişiden kişiye değişebilir. Girus ve sulkus, beynin yüzey alanını etkin bir şekilde artırır (53).

Her serebral hemisfer, lateral ventrikül adı verilen telensefalik primitif ventrikülün divertikülünü içerir. Lateral ventrikül başlangıçta hemisferin hacminin çoğunu kaplar ancak korteksin kalınlaşmasıyla aşamalı olarak daraltılır. Bununla birlikte, taban ile hemisferin orta duvarı arasındaki çizgi boyunca, korteks kalınlaşmaz, bunun yerine ince ve epitelyal kalıntı kalır. Bu bölge ventrikülde uzunlamasına bir oluk oluşturur; bu oluk koroid fissürü olarak adlandırılır. Koroid fissürü boyunca bir koroid pleksus gelişir. Lateral ventrikül, her hemisferin tüm uzunluğu boyunca uzanır, ön lobun içine anterior'a uzanır ve arka ucunda geçici lobu işgal etmek için kıvrılır. Her bir lateral ventrikül ile üçüncü ventrikül arasındaki açıklık, interventriküler foramen (foramen Monro) olarak devam eder (53).

Beyin hemisferlerinin nöroepitelleri başlangıçta nöral tüpün diğer kısımlarına çok benzer. Bununla birlikte, serebral histogenez üzerine yapılan bilimsel çalışmalar, olgun korteksin üretildiği proliferasyon, göç ve farklılaşma sürecinin benzersiz olduğunu göstermiştir. Baskın neokortekste filogenetik olarak en eski kısımlarda üçten altıya kadar değişebilir. Serebral korteks, birkaç hücre katmanından (veya laminadan) oluşur. Serebral korteks, baskın neokortekste filogenetik olarak en eski kısımlarda üçten altıya kadar değişebilen birkaç hücre katmanından oluşur. MSS'nin diğer bölgelerinde, beyaz madde (aksonlar) gri maddenin dışında oluşur (nöronal hücre gövdeleri); bu durum beyin korteksinde tersine çevrilir. Burada aksonlar, gri maddeye derinlemesine uzanan ve böylece beynin dış yüzeyini oluşturan bir ara bölgeye girip çıkarlar. Gri ve beyaz maddenin bu iç-dış düzenlemesinin nasıl geliştiğinin ayrıntıları karmaşıktır ve hala tam olarak anlaşılammıştır. Özetlemek gerekirse, ventriküler tabakanın proliferatif hücreleri, periferik olarak göç eden ve korteksin nöronal tabakalarını oluşturan nöron dalgaları üretmek için bir dizi düzenlenmiş bölünmeye maruz kalır. Aksonlar, bu hücrelerden nöronal tabakaların iç veya derin yüzeylerinde, aralarında ve ventriküler zonda uzanır. Ayrıca, kortikal katmanlar derinden yüzeysel bir diziye dizilir, yani her dalganın nöronları daha yüzeysel bir katman oluşturmak için önceki katmanlardan geçer (Şekil 2). Nöronların üretimi azaldıkça, ventriküler tabaka çeşitli glia türlerine ve sonra da ependim hücrelerini oluşturur (53).

Sağ ve sol serebral hemisferleri birbirine bağlayan kommissürler, son nöropor kapanma bölgesini temsil eden telensefalonun kranial ucundaki kalınlaşmadan oluşur. Bu alan lamina terminalise bölünebilir (53).

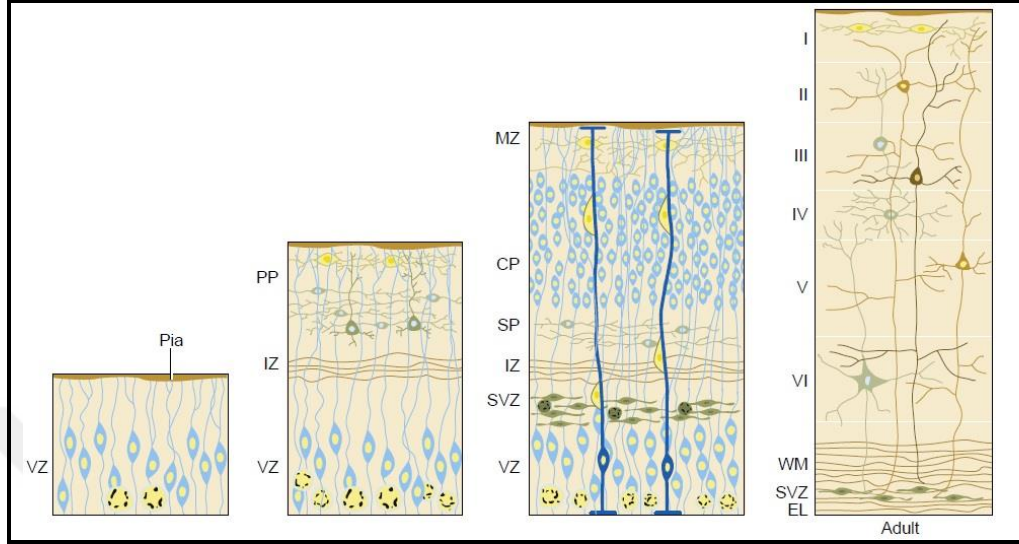
Komissural plakta gelişen ilk akson yolu, yedinci haftada oluşan ve iki yarım kürenin olfaktor bulbuslarını ve olfaktor merkezleri birbirine bağlayan anterior kommissurdur. Dokuzuncu haftada, hipokampal veya forniks kommissur, sağ ve sol hipokampus arasında oluşur. Birkaç gün sonra, sağ ve sol neokorteksleri bütün uzunlukları boyunca birbirine bağlayan masif, kemerli korpus kallosum oluşmaya başlar. Korpus kallosumun en ön kısmı ilk önce görünür ve arka uzaması daha sonra fetal yaşamda oluşur (53).

2.5.1.4. Hipokampus Embriyolojisi

Hipokampus, beyin hemisferinin medial yüzeyindeki beyin beşinci limbik lobunun bir parçası olarak izokorteksten köken almaktadır ve ayrıca olfaktor korteksinin bir parçası olduğu düşünülmektedir. Hipokampusun kompleks şekli ve yeri için üç önemli değişim ile meydana geldiği bildirilmiştir. Gelişmekte olan telensefalonun yan kısımlarının dorsokaudal, sonra ventral ve rostral olarak dönmesi, parietal, oksipital ve temporal lobları oluşturur. Hipokampal sulkus daha sonra temporal lobun medial duvarına girer. Son olarak, hipokampal sulkus, hipokampusun uzunlamasına bir eksen boyunca dönerek temporal lobun medial kısmında görülebilecek kompleks bir yapı oluşturur (55).

13 ila 14. gebelik haftalarında, temporal lobun medial yüzeyindeki katlanmamış hipokampus, açık bir hipokampal sulkusu çevreler. 15 ila 16. haftalarda, dentat girus ve CA katlanmaya başlar. Hipokampal sulkus bu dönemde açıktır. Parahipokampal girus daha büyük ve daha ortada konumlanmıştır. CA'nın CA1, CA2 ve CA3 alanları doğrusal olarak düzenlenmiştir. Dentat girus dar bir U şekline sahiptir. 18 ila 20. hafta, hipokampus erişkin hipokampusuna benzemeye başlamıştır. Dentat girus ve CA, temporal lob içine katlanmıştır. Hipokampus ve subikulum, birbirlerini dar hipokampal

sulkus boyunca yaklaştırır. CA1-CA3 alanları bir yay oluşturur ve CA4 alanının, dentat girusun genişletilmiş yayı içinde büyüklüğü artar (56).



Şekil 2. Neokorteksin cito-farklılaşması ve laminasyonu (53).

2.5.2. Beyin Histolojisi

Beyin yüzey alanı sulkus ve giruslar ile genişletilen en büyük MSS organıdır.

Merkezi sinir sisteminde temel olarak iki tip hücre bulunmaktadır:

2.5.2.1. Nöronlar:

MSS ve PSS’de fonksiyonel birim nöron veya sinir hücresidir. Çoğu nöron temel olarak üç bölümden oluşmaktadır:

Hücre gövdesi veya perikaryon, çekirdek ve organellerin bulunduğu sitoplazmayı kapsamaktadır. Histolojik olarak yoğun granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve diğer polizomların bulunduğu bu alanlar, kromatofilik madde (veya Nissl maddesi, Nissl cisimciği) adı verilen bazofilik kümeler olarak görünmektedir (57).

Dendritler, perikaryondan çıkan ince uzun uzantılardır. Üzerlerinde çok sayıda sinaps bağlantıları olan dendritler nöronlardaki impuls alımı ve işlenmesinde görev alır. Dendritlerdeki dinamik membran çıkıntısı olan dendrit dikenleri, sinaptik impulsların

ilk işleme bölgesidir. Dendrit dikenleri, sinaptik bağlantılar yeniden organize olduklarında sürekli değişirler. Değişen dendrit dikenleri beyin gelişimi sırasında oluşan nöral plastisitedeki değişimlerde önemli role sahiptir (57).

Akson, perikaryonla bağlantılı olan tek ve uzun bir uzantıdır. Perikaryon ile bağlantılı akson tepeciğinden sinaptik terminale doğru impulsların iletilmesini sağlar. Akson tepeciğinin hemen ilerisinde, başlangıç parçasında eksitatör ve inhibitör uyarıların aritmetik ortalaması toplanarak sinir uyarısının iletilip ileilmeyeceğine karar verilir. Aksonların distal ucunda son dallanma (terminal dallanma) bulunmaktadır. Her dal sinaps yapan terminal genişleme (terminal buton) ile sonlanmaktadır (57).

2.5.2.2. Nöroglial Hücreler:

1846'da Virchow tarafından, ilk olarak, nöroglia (*neuron glue*) olarak adlandırdığı nöronlardan morfolojik olarak farklı, yıldızsı veya iğ şeklindeki hücrelerden oluşan, kırılğan, nöronal olmayan, interstisyel bir bileşenin MSS'de varlığı fark edilmiştir (58).

Astrositler, MSS'de en büyük nöroglial hücredir. "Astrosit" terimi, sadece özel boyalar ile gösterilen, çok sayıda radyal olarak düzenlenmiş sitoplazmik uzantı nedeniyle "yıldız hücresi" anlamına gelir. Astrositler, kan-beyin bariyerinin bütünlüğünün korunması, glutamat ve GABA'nın alınması ve geri dönüştürülmesi, hücre dışı iyonik ortamın (nöronal aktivite sırasında salınan K^+ iyonlarının alınması yoluyla) ve nöronal metabolik desteğin sağlanması dahil olmak üzere çoklu rollere sahiptir (59). Destekleyici rollerinin yanında sinaptik iletimin düzenlenmesi ve nörogenез için nörotrofik faktörlerin salgılanması dahil olmak üzere çeşitli işlevleri yerine getirmektedir. Astrositlerin endotelial hücreleri ve nöronları oksidatif hasara karşı koruduğu gösterilmiştir. Yaralanmalara yanıt olarak, astrositler proliferasyona uğrarlar, hipertrofik çekirdek/hücre gövdeleri sergilerler ve glial fibrillar asidik proteinin artan ifadesini gösterirler (43). Çeşitli hayati rollerini yerine getirmek için, astrositler, nöronun anatomisinin tüm ana bölgelerinin (yani hücre gövdeleri, aksonlar, dendritler ve sinapslar) yüzeylerine temas eden sitoplazmik uzantılara sahiptirler ve aynı zamanda glia limitans (glial sınırlayıcı membran) oluşturmak üzere beyin pial yüzeyine

uzanırlar. Glia limitans beynin yüzeyini kapatır ve ayrıca perivasküler (Virchow-Robin) boşlukları boyunca beyin dokusuna dalar. Astrosit ayak uzantıları ayrıca beyin kılcal damarlarını çevreler ve gelişim sırasında sıkı bağlantılar oluşturmak için endotel hücreleri indükler (59). Ayrıca, astrositler ve endotelyal hücreler arasındaki jukstakrin, kandan taşınan elementlerin beyne girmesini kısıtlayan vasküler yapı olan fonksiyonel bir kan-beyin bariyeri (KBB)'nin üretimi ve sürdürülmesi için kritik öneme sahiptir (43).

Oligodendrositler, yalnızca MSS'de yer almakta olup miyelin kılıf yapımında rol alır. Miyelin kılıfın oluşumu elektriksel iletimde yalıtım sağlamaktadır ve böylece iletimin daha hızlı olması gerçekleşmektedir. MSS'de beyaz cevherde yoğun olarak bulunmaktadır (57).

Mikroglia, diğer nöroglia hücrelerinden daha az yaygın olsa da nöronlar kadar yoğun bulunur. Kısa ve düzensiz şekilde uzantıları olan küçük boyutlu hücrelerdir. Kemik iliğinde mononükleer fagositler hücrelerden köken almaktadırlar (57). Kesin mekanizmasını açıklamak için çalışmalar devam etse de, aktif mikroglıadan elde edilen artan proinflamatuvar sitokinlerle karakterize nöroinflamasyonun, akut sistemik inflamasyon kaynaklı bilişsel işlev bozukluğunun gelişiminde önemli bir rol oynadığına dair artan kanıtlar vardır (60). Aktif mikroglia, MSS'deki aşırı de novo üretimi ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımı yoluyla nöroinflamasyonun ana düzenleyicisidir. Mikroglıadan aşırı sitokin salınımının engellenmesi şu anda bilişsel eksikliklerin azaltılması için potansiyel bir terapötik strateji olarak değerlendirilmektedir. Yapılan bir çalışmada, lipopolisakkarit kaynaklı proinflamatuvar sitokin salınımını izole hipokampal mikroglıadan konsantrasyona bağlı bir şekilde engelleyebildiği belirtilmiştir (60). Serebral hasardan sonra, mikroglia aktive edilir ve çevredeki nöronların çevresine çeşitli sitokinler salınır. IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi bu faktörlerin bazıları, çevredeki nöronlara toksisite geliştirir (61).

Ependim hücreleri, nöroepitelyumdan köken alan beyin ventriküllerini ve medulla spinalisin santral kanalını döşeyen tek katlı prizmatik veya kübik hücrelerdir. Salgı yapan hücelere dönüşen ependimal hücreler meningeal kan damarları ile birlikte koroid pleksus hücrelerini oluşturur (57,62).

2.5.2.3. Serebral Korteksin Yapısı

Korteks embriyolojik gelişim, filogenez ve histolojik yapı farklılıkları göz önüne alınarak allokorteks ve neokorteks olmak üzere iki tipe ayrılır (63).

Allokorteks heterojen korteks olarak da bilinir. Paleokorteks, archiokorteks ve periallokorteks olarak da alt tiplere ayrılır (63).

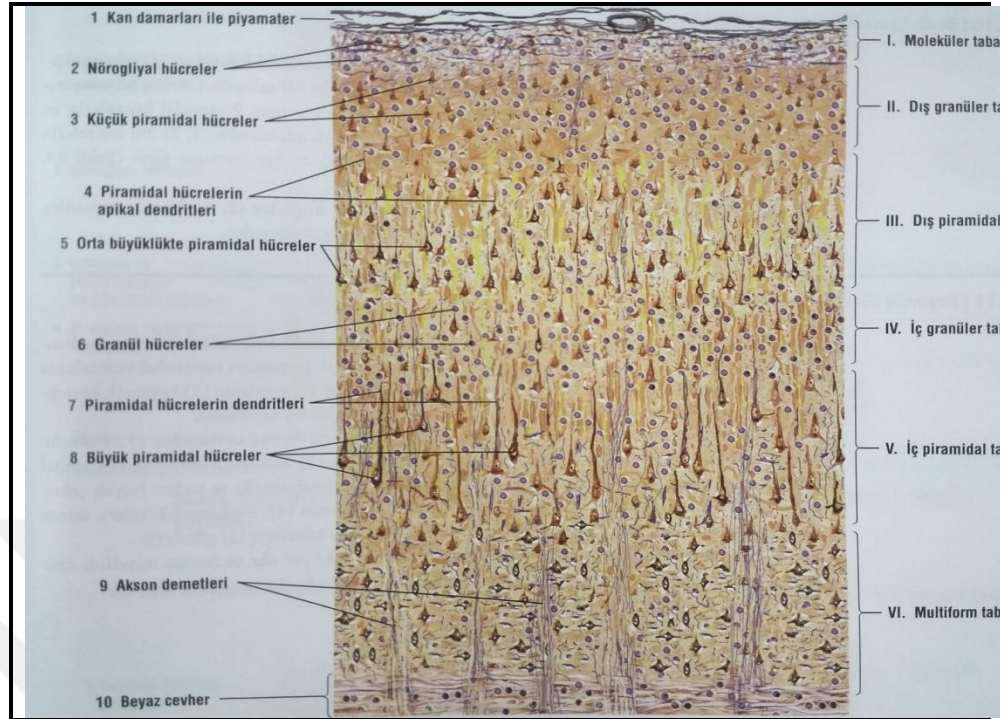
İnsan beyin hemisferlerinin en büyük kısmını kaplayan neokorteks, 6 tabakalı bir yapıdır (Şekil 3). Bu tabakalaşma embriyonik ve postnatal dönemlerde içten dışa doğru gelişir. Neokorteks de proizokorteks ve izokorteks olarak iki tipe ayrılır. Proizokorteks, neokorteks'in periallokorteks ile geçiş bölgelerinde yer alır (63).

2.5.2.4. Serebral Korteks Histolojisi

Beyinde (cerebrum) gri cevher (substantia grisea) ve beyaz cevher (substantia alba) olmak üzere iki farklı bölüm izlenir. Gri cevherde nöron gövdeleri, dendrit, aksonları, glia hücrelerinin gövdeleri ve uzantılarının başlangıç bölümleri bulunur. Gri cevher yüzeye yakın dış bölümde yer alır. Beyaz cevherin ana bileşeni miyelinli aksonlar ve glia hücreleridir. Bu bölümde nöron gövdeleri bulunmaz (64).

Beyin frontal, pariyetal, temporal ve oksipital loblardan oluşur. Organizmanın ana yönetici merkezidir. Hareketleri, konuşmayı, düşünceleri, hafızayı kontrol eder. Duyu organları ile gelen bilgileri tanır, anlamlandırır ve uygun cevaplar oluşmasını sağlar (64).

Beyin hemisferlerinin dışta kalan bölümü korteksi oluşturur. Korteks dokusu dışa doğru girus denilen katlantılar yaparken, içe doğru kıvrılarak sulkusları oluşturur. Korteks (substantia grisea), sinir hücrelerini, sinir liflerini, nöroglia dokusunu ve kan damarlarını içerir. Kortekste astrosit, oligodendrosit ve mikroglia gibi glia hücreleri bulunur. Ventriküllerin duvarını ise ependim hücreleri döşer. Korteksin altında beyaz cevher (substantia alba) uzanır. Bu bölge nöron gövdesi içermez. Miyelinli sinir lifleri, kan damarları ve glia hücrelerinden oluşur (64).



Şekil 3. Serebral korteks (65).

2.5.2.4.1. Serebral Korteks Nöron Tipleri

Piramidal nöronlar, granül hücrelerine göre daha büyük boyuttaki piramidal hücreler; değişken miktarlarda sitoplazma, ince kromatin ve belirgin nukleolus içeren merkezi bir yuvarlak çekirdek, kortikal yüzeye doğru uzanan belirgin apikal dendritler ve birçok dendritik dikenden oluşan üçgen bir yapıdır. Piramidal hücrelerin aksonları, kortikokortikal elastik maddeler veya subkortikal yapılara efferentler olarak uzun mesafelere uzanır (66). Bazal ve apikal dendritlere sahip olan bu hücreler hücre gövdelerindeki şekilden dolayı bu ismi almaktadır (58). Apikal dendritleri öğrenme ve dikkat ile etkileşimlerde önem kazanmaktadır (64).

Granül veya yıldız hücreleri, granül hücreleri tipik olarak, girintili çekirdekleri olan ve dikenleri olmayan küçük profillere sahiptir ve intrakortikal internöron olarak işlev görürler (66).

2.5.2.4.2. Serebral Korteksin Tabakaları

2.5.2.4.2.1. Moleküler Tabaka (Pleksiform Tabaka)

Pia materin hemen altında yerleşim gösterir. Bu tabakada hücre gövdesi diğer tabakalara nazaran daha az bulunmaktadır. Çoğunluğu piramidal nöronların apikal dendritlerinin ve çeşitli horizontal uzanan hücrelerin aksonlarının yüzeye uzanan paralel sinir liflerinden oluşmaktadır. Bazı yerlerde Cajal'ın horizontal hücreleri ve granüler hücreler ve glia hücreleri bulunmaktadır (64).

2.5.2.4.2.2. Dış Granüler Tabaka (Küçük Piramidal Hücre Tabakası)

Bu tabakada baskın olan hücre tipi granüler hücrelerdir. Ayrıca küçük piramidal hücreler, glia hücresi ve çeşitli sinir sonlanmaları da mevcuttur (64).

2.5.2.4.2.3. Dış Piramidal Tabaka (Orta Büyüklükte Piramidal Hücre Tabakası)

Burada bulunan piramidal nöronların perikaryonları dış granüler tabakadaki nöronlardan daha büyüktür. Bir miktar küçük granüler nöronları içerirler. Afferent uzun bağlantı lifleri bu tabakada horizontal Bechterev çizgisini oluşturur. Glia hücreleri bulunmaktadır (64).

2.5.2.4.2.4. İç Granüler Tabaka

Yıldız şekilli küçük granüler hücreler ve yoğun olarak glia hücresi içermektedir. Baillarger'in dış çizgisi talamustan gelen afferent liflerle bu tabakada oluşturulur (64).

2.5.2.4.2.5. İç Piramidal Tabaka (Gangliyoner Tabaka)

Bu tabakada dış piramidal tabakadan daha küçük piramidal nöronlar bulunmaktadır. Motor merkezlerde ise büyük piramidal nöronlar olan Betz hücreleri yer

almaktadır. Baillarger iç çizgisi bu tabakada afferent kısa bağlantı lifleri ile oluşturulur (64).

2.5.2.4.2.6. Multiform Tabaka

Bu tabakada en çok fuziform nöronlar bulunmaktadır. Ayrıca granül hücresi de yer almaktadır (64).

2.5.2.4.3. Hipokampus

İnsanda hipokampusun deniz atına benzemesi nedeniyle (Yunanca: *ἵππος*, *hippos* = at, *κάμπος*, *kampos* = deniz) bu isim verilmiştir (67,68). Fakat, kemirgenlerde muz şeklinde görünen beyin yapısıdır. Teknik olarak, hipokampus terimi CA1, CA2, CA3, CA4 alt bölümlerinden oluşan hipokampal formasyonun bir kısmı için ayrılmıştır. CA açılımı ‘cornu ammonis’ olarak ifade edilmektedir. Bu kısım koç boynuzuna benzediği için, eski koç başlı Mısır tanrısının ismi olan ammon terimi bu ifade içinde yer almıştır (67,68).

1957 yılında sinir bilim konusunda en fazla tanınmaya sebep olan HM olarak bilinen hasta ile hipokampusun işlevi açığa çıkmıştır. Epilepsi nöbetlerinden dolayı hastaya uygulanan bilateral temporal lobektomi ile anterograd amnezi tanımlanmış ve hipokampusun işlevi fark edilmiştir (69).

Duygu, hafıza ve davranış; limbik sistemin ilgili bölgelerinin koordineli faaliyetleri sonucu meydana gelmektedir (70). Hipokampus, hafızanın organizasyonunda önemli rol oynamaktadır (71). Hipokampal bölgede oluşan hasar farklı klinik tabloların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (72).

Hipokampus, lateral ventrikülün inferior temporal boynuzu içindeki parahipokampal girusta dış bükey kıvrılmış gri cevher parçasıdır (55). Medial temporal lobda yerleşmiş hipokampus, kısa süreli deklaratif hafıza ve spasyal bilgilerin işleme merkezidir (73). Hipokampus asosiyatif yeni anıları oluşturmak, birbirinden bağımsız olarak yeni anıları depolamak, kısmi ipuçları ile hafızaya almak ve depolanmış anıları

yeni durumlara uygulamakla ilişkilendirilir (74). Sözel ve sembolik düşünceyi karar verme için ihtiyaç duyulduğunda erişilebilecek bilgilerle birleştirme mekanizmasına sahiptir (55). Hipotalamus ve beynin diğer bölgelerinde yoğun bir nöral ağ bulunmaktadır. Bu bağlamda; hipokampal bölge bulundurduğu nöronal ağ yoğunluğu ve içerdiği nöron tipleri sebebiyle en çok araştırma yapılan bölgedir (75–77). Stratum pyramidalis tabakasında bulunan piramidal nöronların dizilim şekli hipokampusa asıl şeklini verir. Bu tabakada yosunsu (mossy) lifler ile yapılan sinapslar ile birçok internöronun gövdesi bulunur (78).

Hipokampus histolojik olarak, ventrikül yüzeyinden dış yüzeye doğru şu şekilde tabakalara ayrılır (79):

1- *Alveus*: Subikulum ve hipokampus bölgesindeki piramidal nöronların aksonları mevcuttur. Özellikle entorinal korteksten gelen liflerin CA1 bölgesindeki hedeflere ulaşmada kullandığı ana yoldur (80).

2- *Stratum oriens*: Piramidal nöronlara ait bazal dendritleri ve internöronları bulunduran tabakadır (81,82).

3- *Stratum pyramidalis*: Karakteristik olarak bu tabakada büyük piramidal ve Golgi tip II hücreleri çoğunluktadır. Piramidal hücrelerin tabanı hipokampusun ventriküler yüzeyine dönüktür ve bazal-apikal dendritleri komşu tabakalara kadar uzanır. Aksonları ise stratum oriens'ten geçerek alveus liflerine katılırlar. Hipokampusa asıl şeklini veren buradaki piramidal hücrelerin dizilimidir (79).

4- *Stratum lucidum*: CA3 alanındaki piramidal hücreler ile bağlantı sağlayan yosunsu lifler içerir. Diğer primatlara göre insanlarda daha belirgin olup CA1 ile CA2 alanlarında bulunmaz (79).

5- *Stratum radiatum*: Komissural ve septal lifler ile Schaffer kollateral liflerini içerir.

6- *Stratum lacunosum*: İnce bir tabakadır, Schaffer kollateral liflerini içerir.

7- *Stratum moleculare*: Piramidal nöronların apikal dentritik uzantıları ve perforan lifleri içerir.

Hipokampus klasik olarak trisinaptik bir döngüdür (Şekil 4). Entorinal korteksin yüzeyel tabakasından bilgiler gelir. Entorinal korteksin ikinci tabakasındaki hücreler dentat girus ve CA3 bölgesine projekte olur. Bu yolak aksonlar entorinal korteks ve dentat girus arasındaki subikulumu deldiği için perforan yol olarak adlandırılır. Dentat girustaki hücreler CA3 piramidal hücrelere; çıkıntılı aksonlar yosunsu lifleri oluşturur. CA3'teki piramidal hücreler CA3'teki diğer piramidal hücrelere tekrarlayan bağlantılar oluşturur ve CA1'e ulaştırır. Bu yola Schaffer kollateralleri denir. CA1'deki piramidal hücreler alt sınıfa ve entorinal korteksin derin katmanlarına ulaşır (67).

Dentat girus CA3 bölgesini içine alır. Granül hücre katmanının CA3 ve CA1 arasında bulunan kısmına suprapiramidal katman denir; diğer bölüme infrapiramidal katman denir. Hipokampusun kendisi CA1, CA2 ve CA3 alt alanlarına ayrılmıştır. CA2, CA1 ve CA3 arasında küçük ama farklı bir alt alandır. Subikulum, presubikulum ve parasubikulum, subiküler kompleks terimi tarafından kapsanır. Üç ana lif demeti hipokampal oluşumun bir parçasıdır. İlk olarak, açısız demet hipokampusu entorinal kortekse bağlar. İkincisi, fimbria-forniks yolu, hipokampusu bazal ön beyin, hipotalamus ve beyin sapına bağlar. Üçüncüsü, iki hemisferin hipokampusu dorsal ve ventral komissuralarla bağlanır (67).

2.5.2.4.3.1. Dentat Girus

Dentat girus, üç tabakalı bir yapıdır. Dışarıdan, moleküler tabaka adı verilen nispeten hücre içermeyen bir tabaka, bunu takiben, granül hücrelerle yoğun bir şekilde paketlenmiş olan asıl hücre (veya granül hücre) tabakası izler ve en derininde polimorfik hücre katmanı bulunur. Granül hücreleri, dendritik ağaçlarını moleküler tabakaya gönderen eliptik somalı küçük hücrelerdir. Granül hücreleri, MSS'de erişkin nörogenez geçiren az sayıdaki hücre tipinden biridir ve yetişkinlikte bile yeni nöronlar oluşur. Granül hücrelerinin aksonları hipokampal CA3 nöronlarına bağlanır. Granül hücre katmanının hemen altında çok sayıda farklı türde internöron vardır. Hem

moleküler katman hem de polimorfik hücre katmanı, birden fazla nöron tipi sınıfları tarafından işgal edilir. Dentat girus girişini entorinal korteksten alır (ağırlıklı olarak tabaka II'den); bu aksonlar, moleküler katmandaki granül hücrelerinin dendritleri üzerinde sinaps olur. Dentate girus da CA3 ve CA2'ye yansır. Granül hücrelerinden çıkan aksonlara yosunsu lifler denir ve CA3 ve CA2'de sonlanır. Yosunsu lifler, CA3 nöronları üzerinde postsinaptik uzmanlıklara sahiptir (67).

2.5.2.4.3.2. Hipokampal Alan: CA1, CA2 ve CA3

Hipokampusta, ana hücre katmanı, piramidal hücre katmanıdır. Bu katmanda CA2 ve CA3'e nazaran en yoğun şekilde CA1 bulunmaktadır (67).

Piramidal hücre tabakasının üstünde, piramidal hücrelerin bazal dendritlerine ve çoklu internöron tiplerine ev sahipliği yapan stratum oriens, CA2 nöronlarından girdilerin birincil bölgesidir. CA3 ve CA2'de, dentat girustan gelen yosunsu liflerin bulunduğu piramidal hücre katmanına bitişik ince bir katman vardır, bu katmanda stratum lusidum piramidal hücre katmanı (ve CA3'teki stratum lusidum) bu sırada CA3 içindeki tekrarlayan (birleşme) bağlantılar ve CA1'e (*Schaffer kollateralleri*) olan bağlantılar bulunur. Stratum radiatumun altında, entorinal korteksten girdi alan zon stratum lakunosum-molecularedir. Hem stratum radiatum hem de stratum lakunosum-moleculare, farklı tipteki internöronlara ev sahipliği yapar. CA3'teki piramidal hücreler boyutlarında oldukça değişkenken, CA1'deki piramidal hücreler CA3'teki hücrelerden daha küçüktür ve boyut olarak tek düzedir (67).

2.5.2.4.3.3. CA1 Piramidal Hücreler

CA1 piramidal nöronlar, memeli sinir sistemindeki en iyi çalışılmış nöronlar arasındadır. Kemirgenlerde, bu nöronlara hem hücre içi hem de hücre dışı kayıtlara kolayca erişilebilir ve aktif hale getirilmesi ve yorumlanması basit olan Schaffer kollaterallerinin afferent bir yoluna sahiptir. Diğer bir avantajı, dendritik küme kayıtları kullanılarak büyük apikal dendritlerden kayıt yapmanın mümkün olmasıdır. CA1 piramidal hücrelerin dendritleri, apikal ve bazal dendritlerde düzenlenir. Bazal

dendritler, stratum oriense yerleştirilir ve apikal dendritler, stratum radiatumuna ve stratum lakunosum molekülerine yerleştirilir (67).

Her CA1 piramidal hücre, uyarıcı girdi alan yaklaşık 30.000 diken sergiler. Entorinal korteksin III. katmanından doğrudan girdi (perforan yol), stratum lakunosum-molekülerindeki distal apikal dendritleri hedef alır. Buna karşılık, CA3'ten (*Schaffer kollateralleri*) gelen girdi, stratum radiatumdaki apikal dendritler üzerinde ve striatum oriensteeki bazal dendritlerde sinapslar oluşturur. Tabaka yönleri, CA2'den gelen projeksiyonların ana hedefidir. Ayrıca CA1 piramidal hücreler, çeşitli inhibitör internöronlar tarafından hedeflenir. CA1 piramidal hücrelerin aksonları, alveustaki striatum oriens boyunca uzanır. CA3'ün aksine, diğer CA1 piramidal nöronların neredeyse hiç kollateralleri oluşmaz (67).

Hipokampus içindeki CA1 piramidal hücre aksonlarının en önemli hedefi, subikulumdaki piramidal hücrelerdir. CA1 piramidal hücreler ayrıca, medial frontal korteks ve olfaktor bulbus gibi hipokampusun ötesindeki beyin alanlarına da yansır (67).

CA1 piramidal hücrelerin nispeten büyük ve karmaşık morfolojisi, sinyal yayılımı için benzersiz zorluklar yaratır (58). Özellikle, dendritik ağacın uzun ve ayrıntılı yapısı göz önüne alındığında, distal sinaptik girdi somaya ulaşmakta başarısız olabilir (67).

2.5.2.4.3.4. CA3 Piramidal nöronlar

CA3'teki piramidal hücreler, genel morfolojideki CA1 piramidal hücrelere benzer. Ancak CA1'in aksine, CA3 bölgesi, CA3 içindeki önde gelen lateral akson kollateralleri vasıtasıyla bağlanan yüksek derece eksitator bir ağıdır. CA3'teki piramidal hücreler, üç ana eksitator girdi sınıfını alır. İlk olarak, CA3 piramidal hücreler, stratum lakunosum-molekularedeki distal apikal dendritleri hedef alan delik yolu yoluyla entorinal korteksten (tabaka II) girdi alır. İkincisi, dentat granül hücrelerinden gelen girdi, apikal dendritin (stratum lucidumda) en proksimal kısmına lokalizedir. Üçüncüsü, komissural girdi, hem stratum radiatum hem de stratum orienslerde sinaps oluşturan

diğer CA3 piramidal hücrelerinin aksonal kollateralleri tarafından sağlanır. CA3 piramidal hücreler CA3, CA2 ve CA1'e ve ayrıca lateral septal çekirdeğe bağlanır (67).

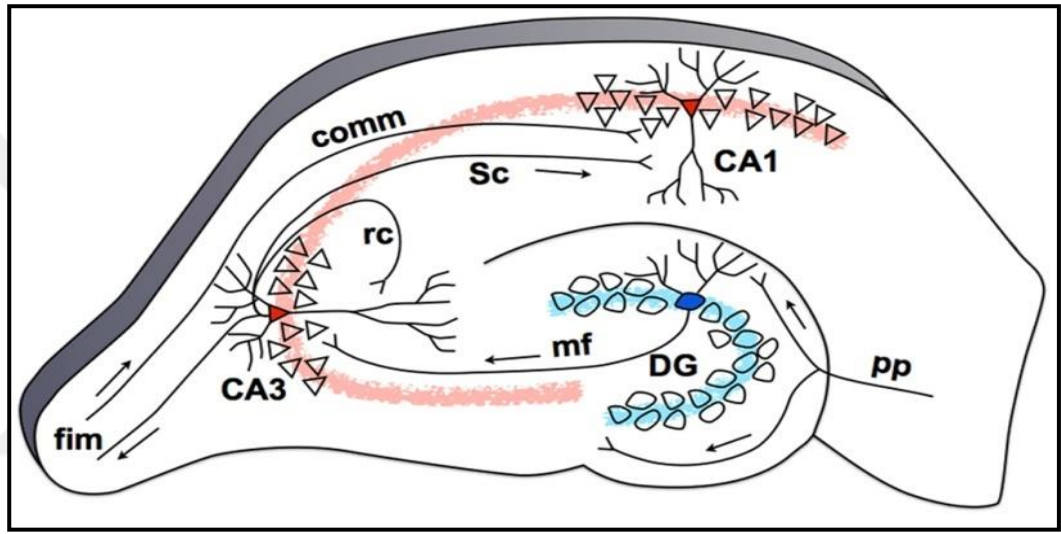
2.5.2.4.3.5. Subikulum

Subikulum, hipokampusun ana çıktısını temsil eder. Sırasıyla, subikulum entorinal korteksin ve CA1'in yüzeysel katmanlarından girdi alır. Bu nedenle, subikuler nöronlar (çoğunlukla piramidal hücreler), her iki bölgeden de aksonlardan sinaptik girdi alırlar, entorinal korteksten çıkıntılar daha distal dendritlerle sınırlıdır. Alt program aynı zamanda entorinal kortekse yansıyan birçok beyin yapısından girdi almaktadır. Subikulumdaki piramidal hücreler hem lokal kollateralleri hem de entorinal korteksin V. tabakasını ve ayrıca ön ve parasubikulumu hedefleyen kollaterallere uzatır. Subikulum ayrıca, medial prefrontal korteks ve diğer birçok (alt) kortikal yapı da dahil olmak üzere diğer birçok beyin alanına da yansır (67).

2.5.2.4.3.6. Entorinal Korteks

Entorinal korteks, hipokampusa giden ve buradan açılan bir kapıdır. Temelde Cajal'a göre hücreleri (II., III., V, VI. tabaka olarak adlandırılan; hücreler mümkün olduğunca neokorteksle eşleşecek şekilde işaretlenmiş) etiketler ve hücreler içermeyen iki tabaka (I ve IV, ikincisi lamina dissecans olarak adlandırılır) vardır. Yüzeysel, hücre içeren katmanlar, stellat hücreleri ve daha küçük piramidal hücreler içerir. Derin katmanlar piramidal hücreler (tabaka V) ve çeşitli morfolojilere sahip hücreler (tabaka VI) içerir. II. tabakadaki stellat hücreleri yıldız benzeri bir görünüme sahiptir, dendritler somadan hem tabaka I hem de tabaka III'e doğru yayılmaktadır. Aksonları dentat girustaki ve CA3'teki her iki granül hücrelerini de hedefler. Tabaka II stellat hücreleri, in vitro depolarize akım enjeksiyonlarına cevap olarak eşik salınımları sergilerler. Bu salınımın frekansı 5 ila 15 Hz arasında değişmektedir ve kemirgenlerde tanımlandığı gibi teta frekans bandına tekabül etmektedir. II. tabakadaki piramidal hücreler bu gibi eşik altı dinamikler göstermezler, ancak dentat girus ve CA3'e yansımaları yıldız hücrelere benzer. Entorinal korteksin derin katmanları hem piramidal hücreleri hem de polimorfik nöronları (heterojen nöron grubu) içerir. Bu nöronlar, çoğu kortikal korteksin yüzeysel katmanlarına yansıyan diğer kortikal bölgelere yansır. Ek olarak, bu

nöronların akson teminatları ayrıca derin tabakalardaki ve yüzeysel tabakalardaki diğer hücreleri de hedefler. Bu çıkıntılar yüzeysel tabakaların oluşturduğu halkaları hipokampusa ve hipokampal çıkıntıları entorinal korteksin derin tabakalarına geri kapatır. II. tabakadaki stellat hücrelerine benzer şekilde, derin tabakalardaki piramidal hücreler teta bandında eşik altı salınımlar sergiler. Aktive edilmiş muskarinik asetilkolin reseptörlerinin varlığında, tabaka V piramidal hücreler, depolarize edici bir akım darbesinden sonra kalıcı aktivite sergilerler. Girdi yokluğundaki bu sürekli aktivite, entorinal korteksin bellekteki rolüyle ilişkilendirilmiştir (67).



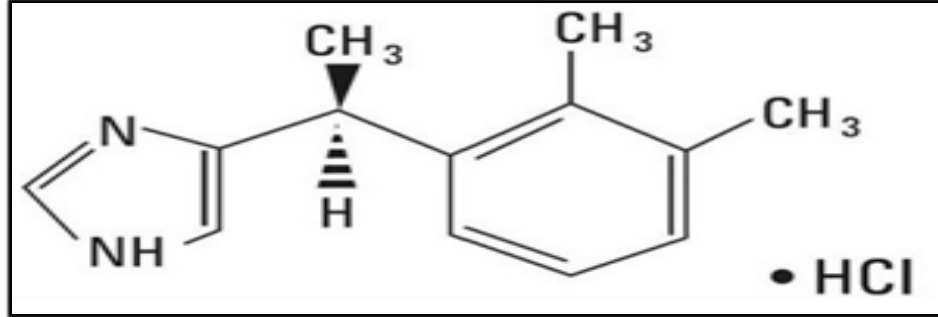
Şekil 4. Sıçan beyinde hipokampal trisinaptik döngü (74).

(pp: perforan yol; Mf: yosunsu lifler; Sc: schaffer kollateralleri; fim: fimbria/forniks; comm: kommisural girdi)

2.6. Deksmetomidin

Adrenerjik alfa-2 reseptör agonisti olan bir imidazol türevidir. Bu bileşiğin rasemik formu olan medetomidin ile yakından ilgilidir (83). Klinik kullanımda deksetomidin hidroklorik asit ile birleştirilmiş şekilde deksetomidin hidroklorür olarak kullanılmaktadır (Şekil 5). Deksetomidin hidroklorür, bir imidazol türevi ve medetomidinin aktif D-izomeri, analjezik, anksiyolitik ve sedatif aktiviteleri olan hidroklorür tuzu formudur. Deksetomidin, beyinde bulunan presinaptik alfa-2 adrenoseptörlere seçici bir şekilde bağlanır ve aktive olur, böylece norepinefrinin sinaptik veziküllerden salınmasını önler. Bu, sempatik aktiviteyi inhibe eden ve böylece

analjezi, sedasyon ve anksiyolize yol açan adrenoseptörlerin postsinaptik aktivasyonunun inhibisyonuna yol açar (83).



Şekil 5. Deksmetomidin hidroklorür'ün kimyasal yapısı (84).

2.6.1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Deksmetomidinin molekül ağırlığı 236,743 g/mol olan (+)-4-(S)-[1-(2,3-dimethylphenyl)ethyl]-1H-imidazole monohydrochloride, kimyasal formülü C₁₃H₁₆N₂HCl olan sentetik bir ajandır (85). Deksmetomidin, sedatif, anksiyolitik, analjezik ve sempatolitik özellikler kazandıran oldukça seçici bir alfa-2 adrenerjik reseptör agonistidir. Bu ilaç başlangıçta 1999 yılında entübe ve mekanik ventilasyon uygulanan hastaların kısa süreli sedasyonu için FDA tarafından onaylanmıştır (27). 2008 yılında onaylanmış uygulamaları, perioperatif dönemde ve prosedürel ortamlarda sedasyon içerecek şekilde genişletilmiştir. Deksmetomidin en sık intravenöz yolla verilir, ancak aynı zamanda koopere olmayan çocuklarda ve erişkinlerde oral, dilaltı, intranazal ve hatta kas içi premedikasyon olarak da uygulanabilir. Ayrıca periferik sinir blokları ve nöral (intratekal, epidural ve kaudal) uygulama yoluyla verilen lokal tekniklerde ek bir ilaç olarak kullanılmıştır (86).

2.6.2. Farmakodinamik Etkisi

Deksmetomidin alfa2-adrenoreseptörlere göre 8-10 kat daha seçicidir. Alfa-2 seçiciliği düşük ve orta düzeyde dozda (10-300 mcg/kg) yavaş intravenöz olarak verilmesini takiben gözlenmiştir. Yüksek dozda (>1000mcg/kg) yavaş intravenöz infüzyonu takibinde veya hayvanlarda intravenöz hızlı infüzyonunda hem alfa-1 hem de

alfa-2 reseptörleri aktive etmektedir. Bu ilaç beta adrenerjik, muskarinik, dopaminerjik ve serotonin reseptörleri için düşük bir afiniteye sahiptir. Locus ceruleus ve medulla spinalisin alfa-2 adreno reseptörlerini bağlar ve sırasıyla sedasyon ve analjeziye neden olur. Alfa-2 adreno reseptörüne daha yüksek afinite, seçici olarak kalpte bradikardik ve vazodilatasyonda vagomimetik etkiye yol açar (87).

2.6.3. Farmakokinetik Etkisi

İntravenöz uygulamanın ardından, deksmedetomidin, altı dakikalık bir dağılım yarı ömrü ve yaklaşık iki saatlik bir terminal eliminasyon yarı ömrü ($t_{1/2}$) ile hızlı bir dağılım fazı gösterir. Deksmetomidin, i.v'de 0.2-0.7 mikrogram (mcg)/kg/saat arasında doğrusal kinetik sergiler. 24 saate kadar infüzyon sağlar. Sabit durumda, dağılım hacmi yaklaşık 118 L'dir. %94'ü proteine bağlıdır (87). İdrarda (%95) ve dışkıda (%4) salınan, çok az değişmemiş deksmedetomidin ile neredeyse tamamen biyotransformasyona uğrar. Hem doğrudan glukuronasyonu hem de sitokrom P450 aracılı metabolizma ile neredeyse tamamen karaciğerde biyotransformasyona uğrar (87,88). Deksmetomidinin başlıca metabolik yolları esas olarak inaktif metabolitlere doğrudan deksmedetomidinin N-glukuronidasyon ve N-metilasyonuna aracılık eden alifatik hidroksilasyonlardır (88).

2.6.4. Deksmetomidinin Sinir Sistemine Etkisi

Deksmetomidinin ilk olarak nörolojik bozukluklara karşı koruyucu etkisi ile ilgili yapılan çalışma 1991 yılında bildirilmiştir (89). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda deksmedetomidin uygulamasıyla propofol ve izofluran ile indüklenen nöroapoptozisin azaldığı belirtilmiştir (28,90).

Deksmetomidinin, sıçanlarda, geçici bir global beyin iskemisinde ve geçici fokal beyin iskemisinde veya subaraknoid kanaması dahil (deksmedetomidin beyin ameliyatı öncesinde veya sırasında uygulandığı zaman geçici fokal beyin iskemisinde) çeşitli beyin iskemi modellerinde nöroproteksiyon sağladığı gösterilmiştir. Glutamat reseptörü agonisti ibotenatın intraserebral enjeksiyonundan önce deksmedetomidin uygulanması, yenidoğan sıçanlarda beyin hasarını da azaltmaktadır. Ek olarak,

yenidoğan beyindeki hipoksik iskemi sırasında deksmedetomidin varlığı, sıçanlarda nörolojik sonucu iyileştirdiği gösterilmiştir (31). Uzun süreli izofluran maruziyeti sırasında uygulanan deksmedetomidin, izofluran kaynaklı beyin hücre hasarını azalttığı başka bir çalışmada belirtilmiştir. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada kainik asit indüklü konvülsiyon ve nöronal hasara karşı deksmedetomidinin koruyucu etkisi bildirilmiştir (91).

Çalışmaların çoğu nöroprotektif bir etki göstermesine rağmen, bazı çalışmalar deksmedetomidinin sıçanlarda geçici ön beyin iskemisinden sonra hipokampal nöron ölümünü etkilemediğini raporlamış bazıları ise sıçanlarda geçici fokal beyin iskemi sonrası deksmedetomidinin nörolojik sonucu kötüleştirdiğini bildirilmiştir (31).

2.6.5. Etki Mekanizması

Nöroprotektif etkisine vurgu yapan çalışma modellerinde deksmedetomidinin, azaltılmış sempatik aktivite, enflamatuar süreçlerin inhibisyonu, ERK (extracellular regulated kinase), fosfoinositid 3-kinaz (PI3K)/Protein Kinaz B (Akt) ve GSK-3 β sinyal yollarında aktivasyonun etkilenmesiyle koruyucu etki gösterdiğini öne sürmektedir (31,92,93).

Deksmedetomidin, serbest radikallerin oluşumuna yol açabilecek presinaptik alfa-2 adreseptörleri aktive ederek, iskemi kaynaklı aşırı noradrenalin (NA) salımını azaltır. Ek olarak, alfa-2 adreseptör agonistlerinin koruyucu etkisi, nöronal uyarılabilirlikteki bir postsinaptik azalmaya ve/veya gerilime bağlı Ca²⁺ kanallarının ve mitojenle aktive edilmiş protein kinazın baskılanmasına bağlı glutamat salınmasındaki olası bir presinaptik azalmaya bağlı olabilir. Yapılan bir çalışmada, serebral iskemi sırasında dolaşımdaki katekolamin konsantrasyonlarındaki artışın, deksmedetomidin tarafından baskılandığını, dolayısıyla deksmedetomidinin nöroprotektif etkilerinin, dolaşımdaki NA'nın inhibisyonu ile ilişkili olduğunu fakat beyinde presinaptik NA'nın inhibe edilmediğini öne sürdüğünü göstermektedir (92).

2.6.6. Deksmetomidinin Etkileri

Deksmetomidinin inflamasyonu inhibe etmede önemli bir rol oynar. Deksmetomidinin antiinflamatuvar etkisi, böbrekte, karaciğerde ve özellikle MSS'de bulunmuştur (61). Deksmetomidinin endotoksin enjeksiyonu sonucu artan TNF-alfa ve IL-6 sekresyonunu inhibe etmektedir. Kritik hastalığı olanlarda sitokin sekresyonlarını azalttığı raporlanmıştır (92). Deksmetomidin ile yapılan tedavilerde beyinde inflamatuvar sitokinlerin seviyelerini düzenleyerek antiinflamatuvar etkisinin açığa çıktığı çalışmalarda belirtilmiştir (31,94). Deksmetomidinin, malondialdehit seviyelerini düşürür ve toplam glutasyon seviyesini artırır. Bu şekilde potansiyel bir antioksidan ajan olma potansiyeline sahiptir (31,92). Deksmetomidinin, anti-apoptotik B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) proteini arttırdığı, böylece intrinsik apoptotik kaskad aktivasyonu yoluyla apoptozun inhibe edilmesinin azalttığı bildirilmiştir (92). PI3K-Akt aktivasyonunun, deksmetomidin tarafından sitoproteksiyonu tetiklemek için aktif kalan hayatta kalma basamaklarından biri olduğunu düşünülmektedir. PI3K-Akt yolu, pro-apoptotik Bcl-2 ile ilişkili ölüm promotörünü fosforile ederek ve anti-apoptotik Bcl-2 ve B hücreli lenfomayı ekstra büyük protein ekspresyonunu düzenleyerek ve böylece kaspaz kontrollü intrinsik apoptotik yolu inhibe ederek hücre sağkalımını artırır. Yapılan çalışmalarda ayrıca deksmetomidinin apoptozisin önlemesi inflamasyonu azaltmasına bağlı olarak gerçekleştiği öne sürülmüştür (95).

2.7. Beyinde Metabolizma ve Hasar

2.7.1. Beyin Metabolizması

Beyin metabolizması sürekli oksijen ve glukoz desteğiyle devam ettirilir. Beyindeki oksijen tüketimi tüm vücudun toplam tükettiği miktarın %20'sidir. Nöronal elektriksel aktivite toplam beyin oksijen tüketiminin %60'nın kullanıldığı adenosin trifosfat (ATP) üretimi için gereklidir (13). İnsan beyni toplam vücut ağırlığının %2'sini oluşturmasına rağmen oksijen kullanımının %20'si beyinde gerçekleşir (96). MSS; yüksek oksijen tüketimi, zayıf antioksidan sistemler ve nöronların terminal farklılaşma özellikleri nedeniyle oksidatif strese karşı özellikle hassastır (26).

Beyin, hücrel membranlardaki doymamış yağ asitlerinin bolluğuna rağmen, nispeten kısıtlı bir antioksidan savunma sistemine sahiptir ve bunun sonucunda ROT'un bir sonucu olarak lipid peroksidasyonu yoluyla ışınlanmanın neden olduğu zarara karşı hassastır (97).

2.7.2. Beyin Hasarı

Radyasyon ve iskemik inme dahil olmak üzere akut beyin hasarı, KBB'ye ani hasar verebilir ve bu da hücre dışı iyonlardaki dengesizliklerin yanı sıra glukoz sunumunda bir bozulmaya yol açabilir. KBB geçirgenliğinde özellikle önemli olan, hücre dışı alandan uzaklaştırılması gereken potasyumun hücre dışında artmasıdır. Hücre dışı potasyumdaki artış, doğrudan hücrel yaralanma ve astrositler tarafından potasyum tamponlamayı tehlikeye atan ikincil mekanizmalar dahil olmak üzere birçok faktöre bağlı olabilir. Glial hücreler, hücre dışı potasyumdaki normal artışları tamponlama kabiliyetine sahip olsa da, daha ciddi yaralanma durumunda ve potasyumun aşırı yüklenmesi nöronların ölümüne neden olabilir. Hem KBB'nin başlangıçtaki bozulması hem de iyon homeostazını sürdürme ihtiyacı hızlı bir şekilde glukoz tükenmesi ve metabolik acil duruma neden olur. Hipo ve hiperglisemik koşullar, nöronlarda astrositlerden daha fazla hücre ölümü meydana getirir. Hipoglisemik koşullarda astrosit sağkalımı, astrositler içindeki glikojen depolanması, yağ asitlerinin alternatif enerji metabolizması ve artan oksidatif stresi yönetmek için antioksidan sistemlerin kullanılması gibi çeşitli faktörlere dayanabilir. *In vitro* araştırmalar ayrıca astrositlerin, laktatı astrositlerden nöronlara transfer eden ilgili monokarboksilat taşıyıcılarını yeniden düzenleyerek, glukoz bozulma durumlarında nöronal sağkalımı iyileştirebildiğini de göstermektedir (98).

2.8. Oksidatif Stres ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri

2.8.1. Oksidatif stres

Ökaryotik organizmaların hayatta kalabilmesi, normal fonksiyonların devamı ve enerji metabolizması için oksijen gerekir. Organizmada enerji metabolizmasında oksijen kullanımının yan ürünü olarak ROT oluşmaktadır. ROT seviyelerinin, canlı

organizmalarda sabit kalması antioksidan sistemlerle dengelenmiştir. Bu antioksidan sistemler hem enzimatik hem de enzimatik olmayan sistemlerdir. Dengeyi fazla ROT üretimi ve/veya antioksidanların azaltılması lehine çevirmek zararlı olabilmektedir ve oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır. Bu koşullar altında, aşırı serbest radikaller, plazma zarından serbestçe geçebilir, hücre zarına lipit peroksidasyonu yoluyla zarar verebilir, proteinleri yanlış katlanmaya ve birikmeye yol açacak şekilde modifiye edebilir ve transkripsiyonu durdurmak ve gen mutasyonuna neden olmak için RNA/DNA'yı okside edebilir (26,99).

2.8.2. Malondialdehit (MDA)

Kontrolsüz oksidatif stresin sonuçlarından biri, meydana geldiği hücre, doku ve organların hasar görmesidir. Uzun süredir serbest radikallerin veya ROT'un lipidlere doğrudan zarar verebileceği bilinmektedir (100). Lipid peroksidasyonu, oksidanların poliansatüre yağ asitlerinin yan zincirdeki bir metilen karbonundan bir hidrojen atomunu çıkarıp lipitlere oksijen eklenmesiyle lipit peroksit radikalleri ve hidroperoksitlerine dönüşmesi olarak tarif edilebilir (101). MDA, tiyobarbitürik asit (TBA) ile kolay reaksiyonu nedeniyle, doğmamış yağ asitlerinin lipit peroksidasyonu için uygun bir biyobelirteç olarak uzun yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır (99,100).

2.8.3. Glutatyon (GSH)

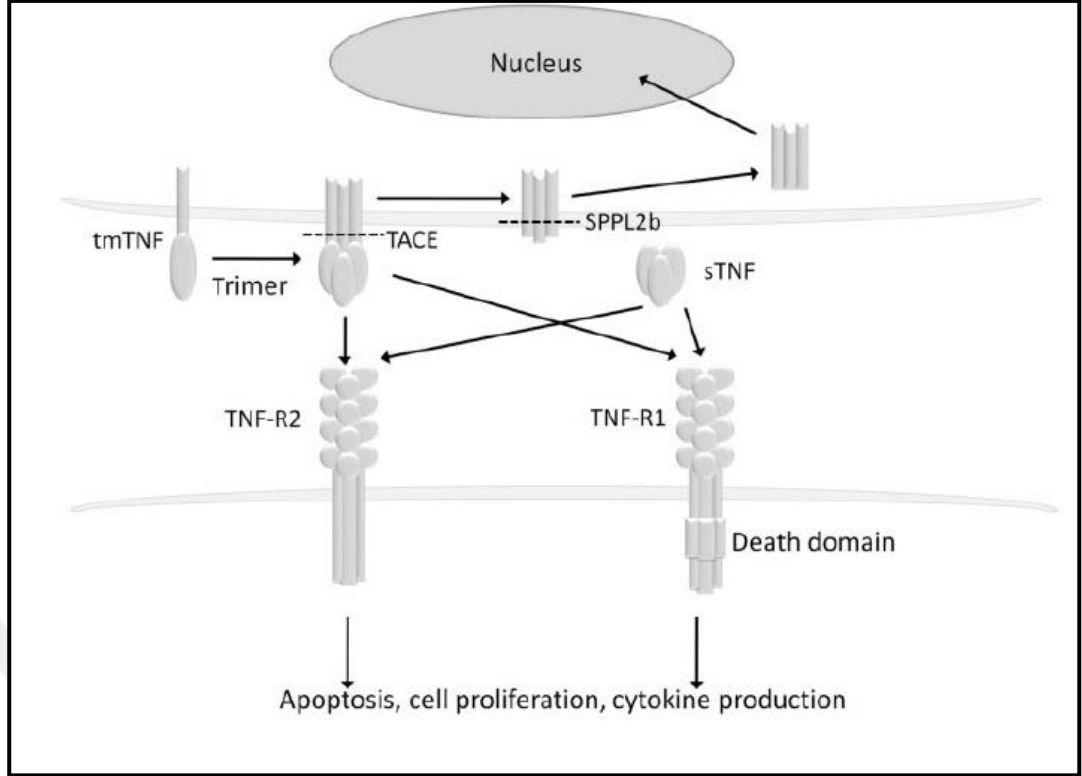
Glutatyon (GSH), glisin, sistein ve glutamattan sentezlenen bir tripeptittir. Sülfidril grupları GSH'ı reaktif yapar (102). GSH sitoplazmada, çekirdeklerde ve mitokondride oldukça bol miktarda bulunur. GSH, bir radikal ile reaksiyona girer ve kendi başına bir tiyol radikal olur. Çekirdekteki GSH, DNA onarımı ve gen ekspresyonu için kritik proteinlerin sülfhidrillerinin redoks durumunu korur (26). GSH, DNA sentezi ve onarımı, hücrel metabolik fonksiyonlar, toksik maddelerin etkisiz hale getirilmesi ve serbest radikallerin neden olduğu hasarın önlenmesinde rol oynar (92). GSH, her beyin hücresinden sentezlenebilen ve beyinde önemli enzimatik olmayan bir antioksidandır. Plazmadaki GSH beyin endotel hücrelerinin ekstraselüler yüzeyinde ve koroid pleksus hücrelerinde, gama-glutamil transpeptidaz tarafından

katabolize edilir. Astrositlerde nöronlardan daha fazla GSH bulunmaktadır (102). Yüksek hücrel GSH içeriği ve astrositlerin GSH'a bağlı detoksifikasyon süreçleri için hücrelerin korunmasına yardımcı olur, ayrıca çevredeki hücreleri oksidanların ve toksinlerin toksisitesine karşı korur (103). Oksidatif stres sonrasında beyin hücreleri tarafından GSH'un açığa çıkarılması ROT'a karşı korumada rol oynar (104).

İyonlaştırıcı radyasyon dozu bağımlı ROT üreterek oksidatif stresi indüklediği bilinmektedir. Bu reaktif oluşumlar daha sonra fonksiyonel hasara neden olabilir veya canlı hücreleri öldürebilir. Birçok çalışma, radyasyona bağlı hücre ölümünün hem apoptozu hem de nekrozu içerdiğini göstermiştir ve antioksidanların iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalan nöronal hücreleri koruduğuna inanılmaktadır (105).

2.9. Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF alfa)

Tümör nekrozis faktör (TNF), kas atrofisi bozukluğu kaşeksideki birincil rolü nedeniyle kaşektin olarak da bilinir (106). Tümör nekrozis faktör reseptör süper ailesinin (TNFR) üyeleri; proliferasyona, farklılaşmaya, hücre ölümüne neden olma veya apoptozun engelleyicileri olma yeteneğine sahiptir. TNFR1 ve TNFR2, hücre tipine veya konfigürasyonuna bağlı olarak proliferatif bir tepkiye veya sitotoksik bir tepkiye neden olabileceklerinden benzersizdir (Şekil 6) (106). TNF'nin indüklediği hücre ölümü sinyali, TNFR1 tarafından gerçekleştirilir. Özellikle kaspaz-3'ün aktivasyonu, TNF'nin indüklediği hücre ölümü için esastır (107). TNFR1 grubu reseptörler aracılığıyla beyin ödemi, nötrofil infiltrasyonu, astrositozis ve apoptotik hücre ölümü başka bir çalışmada belirtilmiştir (108). Diğer aile üyeleri ile birlikte konak savunması, inflamasyon ve immün sistemin homeostazisinin devamı için gereklidir. (109). Radyoterapi sonucu TNF alfa seviyelerinin arttığı bilinmektedir (110).



Şekil 6. TNF- α 'nın biyolojisi (111).

TNF- α mikroglia ve astrositlerde yaygın olarak ifade edilmektedir. (99). Hipokampal mikroglia'dan salınan tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interleukin-1 β (IL-1 β) nörodejeneratif hastalıkla ilişkili kognitif fonksiyon bozukluklarında patojenik bir rol oynar (60). Spesifik olarak, erken yanıt sitokinleri TNF- α ve IL-1, nöronal apoptoz ve düşük uzun süreli potansiyalizasyon ile ilişkilidir. Önceki çalışmalar hem TNF- α 'nın hem de IL-1'in bozulmuş hipokampusa bağlı bilişsel fonksiyonda önemli roller oynayabileceğini gösterilmiştir (60). Beyin mikrodamarları çok sayıda inflamatuvar protein ifade eder ve sekrete eder, birçoğu anjiyogenezde rol oynamaktadır (112).

2.10. Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS)

Moleküler ağırlığı 160,8 kDa olan ve en küçük sinyal molekülü olarak bilinen nitrik oksit (NO), NO sentazın üç izoformu tarafından üretilmektedir. Hepsi substrat olarak L-arginin ile moleküler oksijeni kullanmaktadır ve indirgenmiş nikotinamid-adenin-dinükleotit fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotit (FAD), flavin mononükleotit (FMN) ve tetrahidrobiopterin (BH4) kofaktörlerine gereksinim

duymaktadır. Tüm NOS'lar kalmodulin bağımlıdır ve hem içerir. Nöronal NOS (nNOS, NOS I), merkezi ve periferik nöronlarda ve diğer bazı hücre tiplerinde yapısal olarak eksprese edilir. İşlevleri; MSS'deki sinaptik plastisite, kan basıncının merkezi olarak düzenlenmesi, düz kas gevşemesi ve periferik nitrejik sinirler yoluyla vazodilatasyonu içerir. İndüklenebilir NOS (iNOS, NOS II), lipopolisakarit, sitokinler veya diğer ajanlara cevap olarak birçok hücre tipinde eksprese edilebilir. iNOS, parazitik hedef hücreler üzerinde sitostatik etkileri olan büyük miktarlarda NO üretir. iNOS, inflamatuvar hastalıkların patofizyolojisine ve septik şoka katkıda bulunur. Endotelial NOS (eNOS, NOS III) çoğunlukla endotel hücrelerinde ifade edilir. Kan damarlarında vazodilatasyon, kan basıncını kontrol edici ve çok sayıda başka koruyucu ve anti-aterosklerotik etkileri vardır. Birçok kardiyovasküler risk faktörü, oksidatif strese, eNOS ayrışmasına ve damar sisteminde endotel disfonksiyonuna yol açar. Farmakolojik olarak, vasküler oksidatif stres azaltılabilir ve eNOS işlevselliği, renin ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyotensin reseptör blokerleri ve statinlerle geri kazanılabilir (25,113).

nNOS, beyindeki ve periferik sinir sistemindeki farklı nöron ve sinaptik omurga popülasyonlarında temel NO kaynağını oluşturur. nNOS ifade eden internöronlar neokortikal kan akışını, uykunun homeostatik kontrolünü, yetişkin nöronlarının sinaptik entegrasyonunu ve beyinde uyarıcı ve inhibitör sinyalleme dengesini düzenleyen nörovasküler birleşim gibi fizyolojik işlemlerde rol alır (25).

nNOS, beyin spesifik nöronlarında yapısal olarak ifade edilir. Enzim aktivitesi Ca^{+2} ve kalmodulin ile düzenlenir. Beyin nNOS, hücrelerde partikül ve solübl formlarda bulunur ve nNOS'un farklı subselüler lokalizasyonu, çeşitli fonksiyonlarına katkıda bulunabilir. Beyin dokusuna ek olarak, spinal kordda, sempatik ganglionlarda ve adrenal bezde, periferik nitrejik sinirlerde, çeşitli organlarda epitel hücrelerinde, böbrekte makula densa hücrelerinde, pankreas adacık hücrelerinde ve vasküler düz kasta bulunmaktadır. Memelilerde doku kütlesi açısından en büyük nNOS kaynağı iskelet kasında bulunduğu immunohistokimyasal olarak tanımlanmıştır (25).

2.10.1. Nitrik Oksit Sentazın Fizyolojik İşlevleri

nNOS; öğrenme, hafıza ve nörogenesis gibi fizyolojik fonksiyonların modüle edilmesinde rol oynamaktadır. MSS'de nNOS, sinaptik iletimin uzun süreli düzenlenmesine aracılık eder (uzun süreli potansiyalizasyon, uzun süreli inhibisyon). Sinaptik bağlantılarda retrograd iletişimin bellek oluşumunda rol oynadığı ve hayvan modellerinde NOS inhibitörlerinin öğrenmeyi engellediği ve amnezi oluşturduğuna dair kanıtlar olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, MSS'de nNOS tarafından oluşturulan NO'nun yer aldığına dair kanıtlar vardır. Medulla ve hipotalamustaki nNOS aktivitesinin bloke edilmesi sistemik hipertansiyona neden olur (25).

Periferik olarak, birçok düz kas dokusu nitrojenik sinirler, yani nNOS içeren ve NO üreten ve salgılayan sinirler tarafından innerve edilmektedir. nNOS tarafından nitrojenik sinirlerde üretilen nitrik oksit, efektör hücrelerinde NO-duyarlı guanilil siklazı uyarır ve böylece kan damarları dahil olmak üzere çeşitli düz kas tiplerinin tonusunu azaltır, alışılmadık bir nörotransmitter olarak görülebilir. nNOS'un MSS'deki etkilerinden bağımsız olarak vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu nedenle, eNOS ve nNOS *in vivo* insan mikrovasküler tonusunun fizyolojik düzenlenmesinde farklı rollere sahip olabilir. İlginç şekilde, vasküler düz kas hücreleri, baskın eNOS olduğunda, bir miktar vasodilatasyonu koruduğu gösterilen düşük nNOS seviyelerini ifade eder. (25).

2.10.2. Merkezi Sinir Sisteminde Nitrik Oksitin Rolü

NO'lerin MSS'de rol oynadığına dair ilk kanıt, serebellar veya hipokampal eksplantlar kullanılarak yapılan deneylerden elde edilmiştir. NO'da hafızada rol oynadığı düşünülen hipokampusta uzun vadeli potansiyalizasyon uyarılmasında önemli olabileceğini göstermiştir (114).

2.10.3. Nöronal Nitrik Oksit Sentazın Patofizyolojideki Rolü

Anormal NO sinyalleşmesinin inme sonrası eksitotoksikite, multipl skleroz, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi çeşitli nörodejeneratif patolojilere katkıda

bulunma olasılığı yüksektir. NO'nun bazı mekanizmalarla eksitotoksisiteye katkıda bulunabileceği bilinmektedir. Yüksek NO seviyeleri, mitokondriyal solunum ve glikolizin inhibisyonu nedeniyle enerji tükenmesine de yol açabilir (25).

Serbest radikallerin varlığı, hücrede NO üretiminin artmasına ve salınmasına yol açabilecek sistemleri güçlendirir. Eş zamanlı mitokondriyal süperoksit ve sitoplazmik NO üretimi, peroksinitritin hızlı oluşumuna yol açar. Sürekli durumdaki süperoksit konsantrasyonunu düşürürken, peroksinitit, kendisi büyük hasarlara neden olan başlıca toksik üründür (99).

2.10.4. nNOS Histolojik Dağılımı

NO'nun ilk kez 1988'de Garthwaite ve meslektaşları tarafından önerilen sinaptik transmisyonu modüle edebileceği fikri, hipokampus, striatum, hipotalamus ve locus coeruleus gibi çeşitli beyin bölgelerinde doğrulanmıştır (115).

nNOS nöronlarda, astrositlerde, beyin kan damarlarının adventisyalında ve kardiyak miyositlerinde bulunmuştur. Beyin dokusunun yanı sıra, nNOS omurilik, sempatik ganglionlar ve adrenal bezlerde immünohistokimya, periferik nitrejik sinirler, iskelet ve kardiyak miyositleri, farklı organların epitelyal hücreleri, böbrek makula densa hücreleri, pankreatik adacık hücreleri, parasempatik gangliyonlarda, nonadrenerjik nonkolinerjik periferik otonomik sinir liflerinde ve vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde dağılım göstermektedir. Memelilerde, doku kitlesiyle ilgili en büyük nNOS kökeni iskelet kasıdır (113).

Üç NOS izoformundan nNOS, nöronlarda baskın NO kaynağını oluşturur ve sinaptik dikenlerde lokalize olur. nNOS ayrıca iskelet kası, kalp kası ve düz kasta bulunur (116). Bazı araştırmacılar nöral ve glial hücrelerin bazı kısımlarında sitoplazmik nNOS boyanması olmadan nNOS nükleer lokalizasyonunu bulmuşlardır. Bu nedenle, nNOS'un hücre içindeki farklı hücre içi lokalizasyonu, çeşitli fonksiyonlarına katkıda bulunabilir (116).

2.10.5. nNOS'un Fizyolojik İşlevleri

nNOS azot türevli NO, nöronal sinyalleşmede birçok fonksiyona sahip olsa da, fazladan NO üretildiğinde fizyolojik bir nöromodülatörden nörotoksik bir faktöre işlevi girebilir. Bu nedenle, nNOS birçok fizyolojik ve patolojik durumda önemli bir işlevi girebilir. nNOS'un nöronal fonksiyonları, öğrenme, hafıza ve nörogenez gibi fizyolojik süreçleri modüle eder. MSS'de nNOS kaynaklı NO, sinaptik iletimin uzun süreli düzenlenmesine neden olur (uzun vadeli potansiyalizasyon ve uzun vadeli inhibisyon), akut nörotransmisyonunda ise tutulum yoktur. NOS inhibitörleri öğrenmeyi azaltır ve hayvan modellerinde amnezi oluşturur, bu nedenle hafıza oluşumuna neden olur. Aynı zamanda, MSS'de, nNOS türevli NO, kan basıncının merkezi düzenlenmesinde yer almaktadır. Medulla ve hipotalamustaki nNOS aktivitesinin blokajı sistemik hipertansiyona neden olur (113).

Önemli bir nörotransmitter olarak nNOS türevli NO, nöronal plastisite (özellikle hafıza oluşumunda), ağrı sinyallerinin periferik ve merkezi iletimi, merkezi sinir sistemi kan akışının düzenlenmesi, kolinerjik sinir liflerinden nörotransmitör salınımı ve nitretrjik inervasyon organların fonksiyonel düzenlenmesinde rol oynar (113).

Dentat girusun subventriküler zonu (SVZ) ve subgranüler zonu (SGZ) yetişkin beyindeki iki ana nörogenez bölgesidir. Yetişkin fare SVZ ve olfaktor bulbusta, NO farklılaşmamış prekürsör havuzunun boyutu üzerinde negatif bir kontrole sahiptir ve nöronal farklılaşmayı arttırır, bu yüzden nörogenezin fizyolojik bir inhibitörü görevi görür (113).

2.10.6. nNOS'un Nörogenezis Üzerine Etkisi

nNOS, NO türevli NO'nun SVZ ve dentat girus (DG) üzerindeki anti-proliferatif rolü, serebral iskemide gösterilmiştir. Böylece, endojen NO türevli nNOS, SVZ nörogenezini inhibe edebilir. Bununla birlikte, hipokampal nörogenezde nNOS'un rolü tartışmalıdır. nNOS türevli NO yetişkin hayvanlarda anti-proliferatif etkiye sahipken, NO donör uygulaması nörogenezini indükler. Farklı deney protokolleri nedeniyle olabilir. NO düzeyinin yükselmesine neden olabilecek bir NO donörün intravenöz veya

hipokampal uygulaması, beyin kan akışını artırır ve dolaylı olarak nörogenezi etkiler (113).

NO, hipokampusta bellek oluşumunda önemli bir rol oynar ve NOS inhibisyonu öğrenmeyi ve/veya belleği engellerken, bazı çalışmalar öğrenme ve/veya bellek üzerinde herhangi bir etki bulunmadığı belirtilmiştir (113).

Olgun hipokampusta NO, Schaffer kollateral/CA1 sinapslarındaki LTP'yi düzenler ve retrograd bir haberci olarak görev yapar. Bu, sinaptik sonrası N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aktivasyonu, piramidal hücrelerde eksprese edilen NOS ile NO sentezi ve akson terminallerinde bulunan guanilat siklazın retrograd aktivasyonu ile gerçekleşir. Buna karşılık, serebellum NO'da paralel fiber terminallerde veya serebellar internöronlarda üretilen ve ardından cGMP'ye bağımlı bir mekanizma ile uzun süreli depresyon (Long-term depression, LTD) yaymak için sinaptik sonrası Purkinje hücrelerine yayılan bir anterograd haberci olarak hizmet eder (113).

Bulunan internöron alt tipleri arasında, nöronal nitrik oksit sentazını (nNOS) ifade eden alt popülasyonun, hipokampusteki en yaygın internöron alt popülasyonunu temsil ettiği gösterilmiştir (115).

NO, plazma membranları boyunca anterograd ve retrograd doğrultuda hızla hareket edebilen serbest radikal bir gaz olup, presinaptik, postsinaptik olarak veya üreten hücrenin içinde hareket eder. NO sentezlerinin aktivasyonundan sonra NO üretilir (115). Aşırı NO üretimi potansiyel olarak nörotoksisite oluşturmaktadır (115).

nNOS içeren nöronların büyük ölçüde, hipokampal DG subgranüler zonunda (SGZ) bulunduğu inanılmaktadır ki, bu nNOS'un düzenlenmesinde olası bir rol için morfolojik bazlar temin etmektedir. Yetişkin hipokampal nörogenezi. nNOS ifade eden internöronların, hipokampusteki en yaygın internöron alt popülasyonunu temsil ettiği gösterilmiştir (117).

Daha önce yapılan bir çalışmada, nNOS-pozitif hücrelerin, moleküler tabaka, granül hücre tabakası ve hilus dahil olmak üzere üç DG tabakasının hepsinde yer aldığı görülmüştür (117).

nNOS, nöronal hücre gövdelerinde eksprese edilir ve nNOS'tan türetilen NO, nöronal plastisite, hafıza oluşumu, merkezi sinir sistemi kan akışının düzenlenmesi, ağrı sinyallerinin iletimi ve nörotransmitter salınımı ile ilişkili önemli bir nörotransmitter görevi görür (118).

2.11. 8-hidroksi-2'- deoksiguanozin (8-OHdG)

Hidroksil radikallerinin guanin bazının C-8 pozisyonundaki çift bağ ile etkileşimi, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) üretimine yol açar. Bu kararlı oksidatif olarak modifiye edilmiş DNA ürünü, DNA'daki oksidatif hasarın derecesini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (119). Çünkü guanozin DNA nükleobazları arasında en çok oksitlenen nükleobazdır (120). Beyinde hücresel düzeyde oluşan oksidatif DNA hasarını değerlendirmeye yönelik 8-OHdG ifadesinin artışı değerlendirilmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (121,122).

2.12. Apoptoz

Apoptoz; kendi çekirdekteki DNA'larını, nüklear ve sitoplazmik proteinlerini parçalayabilen enzimlerin aktifleştirildiği, sıkı biçimde düzenlenmiş bir programla başlatılan bir hücre ölüm yoludur. Fizyolojik veya patolojik süreçlerde açığa çıkmaktadır. Apoptozun temeli kaspaz enzimlerinin aktifleşmesiyle oluşur. Mitokondriyal ve ölüm reseptörü yolak ile başlayan süreç kaspaz enzimlerinin aktifleşmesiyle tek bir yolak olarak ilerler. Büyüme faktörlerinin kesilmesi, radyasyon gibi çeşitli etkenlerin DNA hasarı oluşturması, proteinlerin hatalı katlanması gibi durumlar mitokondriyal yolağı başlatırken, Fas ve TNF reseptörünün uyarılması ölüm reseptörü yolağını başlatır (123).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deneysel Hayvanları

Deneysel çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 16.04.2018 tarihli 2018/31 sayılı etik kurul onayı ile ve deney hayvanlarının yaşam kalitesini ve refahını etkileyecek faktörler düşünülerek gerçekleştirilmiştir. RTEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi TU-2018-934 nolu proje ile bu çalışma desteklenmiştir.

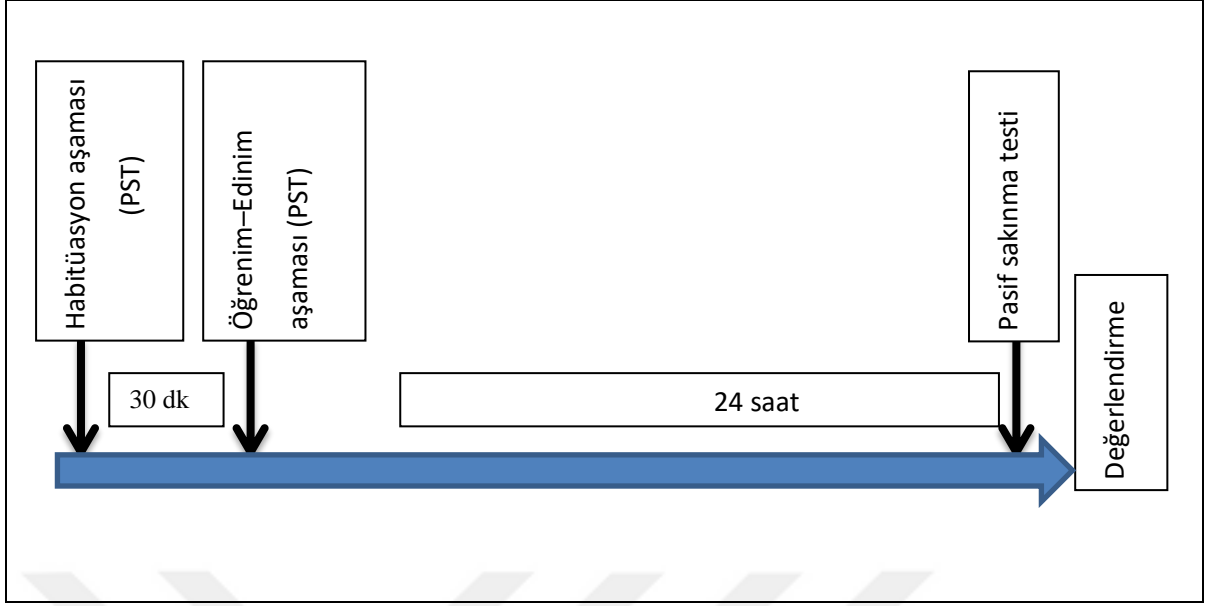
Kullanılan deney hayvanları ortalama 340 ± 60 gr ağırlığında 5-6 aylık her grupta 8 hayvan olacak şekilde toplam 32 adet *Sprague dawley* cinsi erkek sıçan olarak belirlendi. Kullanılan tüm hayvanlar deney hayvanları ünitesinde hijyenik koşullar altında 12 saat aydınlık ve karanlık döngü sağlanan ortamda, %55-60 nem oranı ve 22 ± 3 °C ortam sıcaklığında sınırsız musluk suyu ve pellet yem ile ad libitum olarak beslenmeleri ve yaşamaları sağlandı.

3.2. Çalışma Grupları

Çalışmada her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde benzer özellikteki erkek sıçanlar rastgele seçim yöntemiyle seçilerek 4 grup oluşturuldu. Oluşturulan gruplar şu şekildedir:

3.2.1. Kontrol Grubu (Kont Grubu)

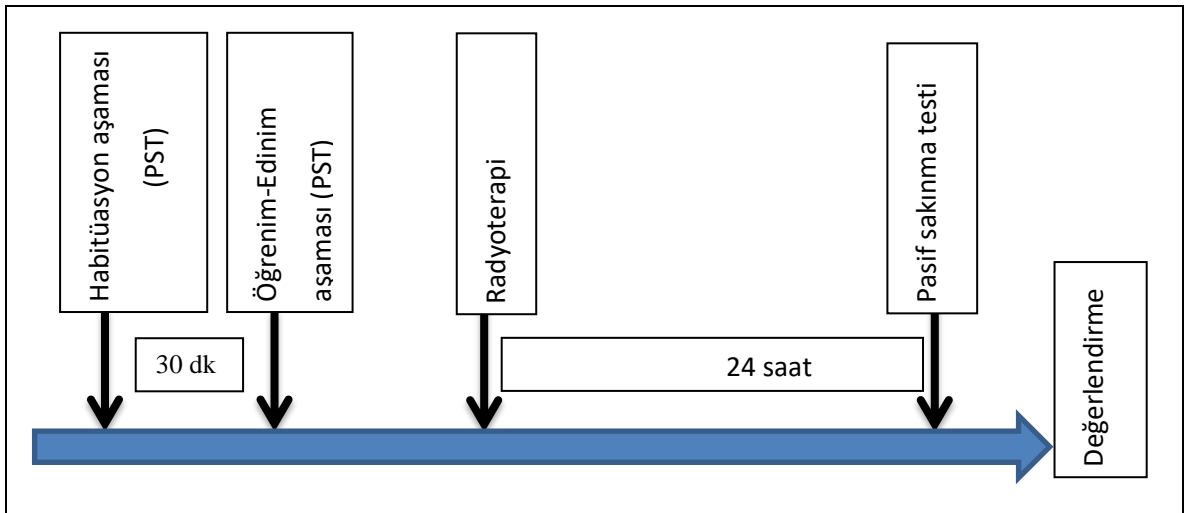
Bu grupta yer alan sıçanlara herhangi bir cerrahi ve deneysel işlem uygulanmadı. Çalışmamızdaki değerlendirmeleri etkileyecek her çeşit faktörü dışlamak için oluşturduğumuz bu grupta sıçanlar sakrifiye edilmeden önce pasif sakınma testine tabi tutuldu. Testin tamamlanmasının ardından ketamin (Ketalar®, 50 mg/kg, Pfizer İlaçları Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) ve ksilazin (Rompun®, 5 mg/kg, Bayer, ABD) kullanılarak yapılan genel anestezi altında sıçanlardan biyokimyasal analizler için beyin sağ hemisferi, histopatolojik analizler için ise beyin sol hemisfer dokusu alındı (Şekil 7).



Şekil 7. Kontrol grubuna uygulanan aşamalar.

3.2.2. Radyoterapi Grubu (RT Grubu)

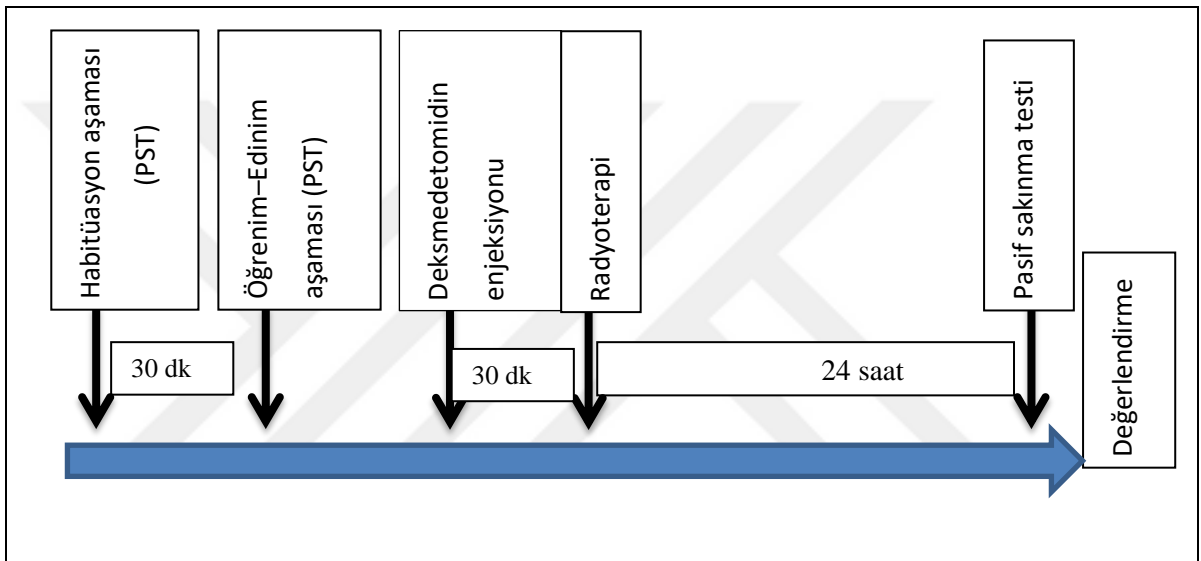
Bu grupta yer alan hayvanlara ilk önce pasif sakinme testinin habitüasyon ve öğrenim aşaması uygulandı. Bir gün sonra radyoterapi ile hasar oluşturulmaya çalışıldı. Öğrenim aşamasında depolandığını düşündüğümüz bilgiyle ilgili beyinde oluşan organizasyonu değerlendirmek için pasif sakinme testinin son aşaması uygulandı. Bilişsel test ile ilgili işlemlerin bitişini takiben anestezi altında biyokimyasal analiz için beynin sağ hemisfer dokusu, histopatolojik analiz için beynin sol hemisfer dokusu alınarak hayvanlar sakrifiye edildi (Şekil 8).



Şekil 8. Radyoterapi grubuna uygulanan aşamalar.

3.2.3. Radyoterapi ve Deksmetomidin 100 (100 µg/kg) Grubu (RT+D100 Grubu)

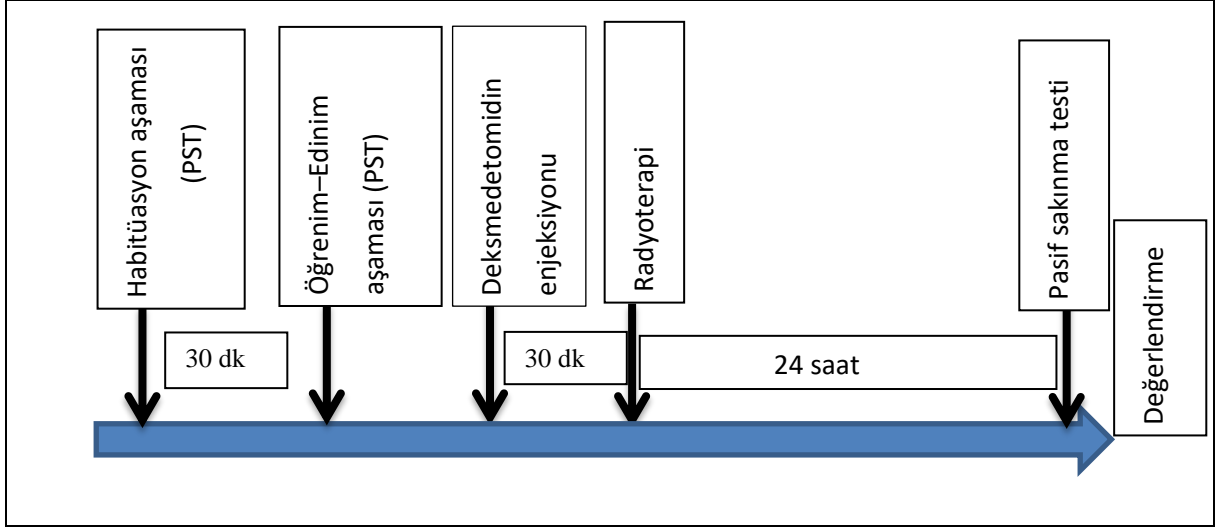
Bu gruptaki hayvanlar ilk önce habitüasyon ve öğrenim aşamasına tabi tutldu. Aşamaları başarıyla tamamlayan hayvanlara 100 µg/kg dozunda deksmedetomidin (Precedex®, Meditera, ABD) intraperitoneal olarak uygulandıktan 30 dk sonra belirtilen yöntemle radyoterapi uygulandı. Ardından pasif sakınma testi değerlendirmesine alınan sıçanlar anestezi altında biyokimyasal ve histopatolojik analiz için doku örnekleri alınarak sakrifiye edildi (Şekil 9).



Şekil 9. Radyoterapi + Deksmetomidin 100 grubuna uygulanan aşamalar.

3.2.4. Radyoterapi ve Deksmetomidin 200 Grubu (200 µg/kg) (RT+D200 Grubu)

Bu gruptaki hayvanlar ilk önce habitüasyon ve öğrenim aşamasından geçirildi. Aşamaları başarıyla tamamlayan hayvanlara 200 µg/kg dozunda deksmedetomidin intraperitoneal olarak uygulandıktan 30 dk sonra belirtilen yöntemle radyoterapi uygulandı. Ardından pasif sakınma testi değerlendirmesine alınan sıçanlardan genel anestezi altında biyokimyasal ve histopatolojik analizlerin yapılması için doku örnekleri alındı (Şekil 10).



Şekil 10. Radyoterapi + Deksmetomidin 200 grubuna uygulanan aşamalar

3.3. Radyoterapi Uygulanması

Radyasyon hasarı oluşturma modeli için sıçanlar Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda, intraperitoneal yolla verilen ketamin, ksilazin anestezisi altında yüzüstü pozisyonunda yerleştirildi. Bu noktada, radyoterapi uygulaması öncesinde sıçanlarda konformal planlama yapıldı (CMS Xio, Ver. 5.0; Elekta, Stockholm, İsveç). Lineer akselator (Elekta Synergy) ile, önden 100 cm cilt kaynağı mesafesinde sıçanların tüm vücudu etkilenecek şekilde 6 MV enerji kullanılarak tek fraksiyonda toplam 8 Gy eksternal radyoterapi uygulandı. Işınlamayı takiben 24 saat sonra (14) hayvanlar yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildi (Şekil 11).



Şekil 11. Sıçanlara radyoterapi işleminin uygulanması.

3.4. Deksmetomidin Enjeksiyonu

Radyoterapi uygulanmasından 30dk önce steril koşullar altında intraperitoneal yolla 100µg/kg ve 200µg/kg deksmedetomidin verildi (30).

3.5. Pasif Sakınma Testi

Deney Düzenegi:

Her pasif sakınma testi uygulaması için Tek Denemeli Geçisli Pasif Sakınma Düzenegi (One-Trial Step-Through Passive Avoidance Set-up, Ugo Basile model 40552, İtalya) kullanılmıştır (Şekil 12).

Cihazın bölümleri:

a) *Şoklayıcı ile programlama ve kayıt ünitesi:* Sabit bir akım sağlayan ve yüksek hassasiyetli 8 kutuplu bir şoklayıcı içermektedir. Bu bölümde veri alımı gerçekleştirilmiştir ve böylece verilerin kayıt altına alınması sağlanmıştır.

b) *Pasif Sakınma Kafesi:* Kafes aydınlık ve karanlık bölme olmak üzere iki bölmeye ayrılmıştır. Aydınlık bölme; beyaz pleksiglas duvar ile çevrelenmiştir ve beyaz ışık ile aydınlatılmıştır. Karanlık bölme ise tavan ve duvarları siyah renk ile çevrelenmiştir. Aydınlık ve karanlık bölmelerin tamamı zemini elektrik akımı geçişini sağlayan çelik ızgara ile döşenmiştir. Ayrıca; iki bölme arasında otomatik olarak çalışan sürgülü kapı vardır.

Pasif Sakınma Deneyi Uygulanışı

Pasif sakınma testi uygulaması iki kademe gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada ilk önce alıştırma ve sonrasında öğrenme-edinim periyodu gerçekleştirildi. İkinci aşamada ise öğrenilmiş durumun hatırlanmanın değerlendirilmesi için retansiyon periyodu gerçekleştirildi.

a) *Alıştırma:* Sıçanlar pasif sakınma deneyine başlamadan 1 gün önce deney yapılacak ortama getirilerek ortama alışmaları sağlanmıştır. Deney uygulamasının ilk gününde öğrenme periyodu uygulanmadan alıştırma periyodu gerçekleştirilerek ortama alışmaları sağlanmıştır. Deneyin uygulanmasında hayvanlar dikkatli bir şekilde teker teker alınarak aydınlık bölüme yerleştirilmiştir. Uygulama aşamasında sıçanlardan her biri kafese yerleştirilmeden kafesin iç yüzeyi ve alt tablası %10'luk etanol ile temizlendi. Bu periyotta karanlık alan geçtiklerinde herhangi bir elektro şok uygulanmadı. Alıştırma periyodu bitirildikten sonra sıçanlar kendi kafeslerine alındılar. Toplamda 37 adet sıçan üzerinde ilgili deney uygulandı ve 32 adet sıçanın deneyimize uygun olduğu saptandı.

b) *Öğrenme periyodu:* Sıçanlara habitüasyon periyodunun uygulandığı gün öğrenim-edinim işlemi gerçekleştirilmiştir. Karanlık alana geçen sıçanlara kafes zeminindeki tel ızgaralar yoluyla, programlama cihazı yardımıyla şiddeti ve süresi ayarlanmış (2mA, 2sn) elektro şok uygulaması yapıldı. Karanlık bölüme geçme süresi programlama ve kayıt cihazı aracılığıyla kaydedildi. Kaydedilen bu süre "Karanlık Bölüme Geçme Zamanı - Latensi (KBGZ)" olarak tanımlanmıştır. Sıçanlar 30 saniye içinde karanlık bölümden alınarak, yaşadıkları kafese tekrar yerleştirildiler. Bu aşamada karanlık bölümde maruz kaldıkları elektro şok etkisini öğrenmeleri ve öğrendikleri bu bilgiyi depolamaları için ve ertesi gün hatırlamaları için bilginin depolanması beklenmektedir.

c) *Pasif Sakınma Testi:* Bu aşama öğrenme işleminden bir gün sonra yapılmıştır. Daha önce karanlık bölümde elektroşoka maruz kalan sıçanlar ilk önce aydınlık bölüme özenle yerleştirildi. Aydınlık bölümden karanlık bölüme geçme zamanı retansiyon zamanı olarak tanımlandı ve bu süre ölçüldü. Retansiyon zamanı için 300 saniye beklendi. 300 saniye içinde karanlık bölüme geçmeyen sıçanlar normal olarak değerlendirildi.



Şekil 12. Pasif sakinme testi düzeneği.

3.6. Histolojik Analizler

3.6.1. Histolojik Doku Takip İşlemleri

Sıçanlardan çıkarılan beyin dokusu sagittal düzlemden kesi yapılarak sol hemisferleri %10'luk formalin solüsyonu içinde 48-72 saat süre ile tespit edildi. Çalışmadaki hayvanların beyinlerinin sağ hemisferleri biyokimyasal analiz için eppendorf tüplerine koyularak -80°C'de saklandı. Histolojik değerlendirme için alınan dokular kasetlere koyularak doku takip cihazında (ThermoScientific™ Citadel 2000, İngiltere) takip edilip işlemlere devam edildi (Şekil 13). Beyin dokuları %50, %60, %70, %80, %96, %100 (x2)'lük alkol solüsyonlarından geçirilerek dehidratasyon işlemi tamamlandı (Tablo 1). Ksilen serilerinden bekletilerek şeffaflaştırma işlemi ile devam edildi. Doku takip cihazının son aşamasında sıvı halinde parafin dolu haznelerde bekletilerek parafinin doku içine nüfuz etmesi sağlandı.



Şekil 13. Rutin doku takip cihazı.

Tablo 1. Beyin dokularına ait histolojik doku takip aşamaları.

İşlem	Madde	Süre
Tespit	%10'luk Formalin	48-72 saat
Dehidratasyon	%50'lik Etanol 1	180 dakika
Dehidratasyon	%50'lik Etanol 2	75 dakika
Dehidratasyon	%60'lık Etanol	90 dakika
Dehidratasyon	%70'lik Etanol	90 dakika
Dehidratasyon	%80'lik Etanol	60 dakika
Dehidratasyon	%96'lık Etanol	60 dakika
Dehidratasyon	%100'lık Etanol 1	75 dakika
Dehidratasyon	%100'lık Etanol 2	75 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 1	90 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 2	90 dakika
Parafinizasyon	Parafin 1	60 dakika
Parafinizasyon	Parafin 2	210 dakika
Bloklama		

Doku takibi işleminin ardından kasetler parafin bloklama cihazına (Leica EG 1150 H, Almanya) alındı (Şekil 14). Bloklanan dokular soğutma ünitesinde (Leica EG 1150 C, Almanya) bekletildikten sonra kesit kalitesini arttırmak için -20°C'de 3 saat bekletildi. Sonrasında parafin bloklardan kesit alma işlemine geçildi.



Şekil 14. Parafin bloklama cihazı.

Parafin bloklardan rotary mikrotom ile 4-5 µm kalınlığında seri kesitler alınarak (Leica RM2255, Almanya) ilgili kesitler 37-38°C sıcaklıktaki distile su içeren benmari havuzuna (GFL 1052, Almanya) bırakıldı ve doku kırışıklıklarının açılması beklendikten sonra lamlara (Superior Marinfield Histobond+, Almanya) alındı (Şekil 15).



Şekil 15. Rotary mikrotom cihazı.

Lama alınan kesitler ilgili boyamaların yapılmasından önce hem dokulardaki parafinin uzaklaştırılması hem de kesitlerin lama daha iyi yapışması için 60°C’de 1 saat boyunca etüvde inkübe edildi.

3.6.2. Hematoksilen–Eozin Boyama Yöntemi

Dokuların ilk olarak genel histopatolojik görüntüsünü değerlendirmek için parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler boyama cihazı (Leica ST5020, Almanya) ile Tablo 2’de belirtildiği şekilde hematoksilen-eozin ile boyandı.

Tablo 2. Hematoksilen eozin boyama prosedürü.

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60 °C'lik Etüv	60 dakika
Deparafinizasyon	Boyama cihazı fırın	5 dakika
Deparafinizasyon	Ksilen	3 dakika
Deparafinizasyon	Ksilen	3 dakika
Rehidratasyon	%100'lük etanol	1 dakika
Rehidratasyon	%96'lık etanol	2 dakika
Rehidratasyon	%90'lık etanol	2 dakika
Rehidratasyon	%80'lik etanol	2 dakika
Rehidratasyon	%70'lik etanol	2 dakika
Yıkama	Musluk suyu	5 dakika
Yıkama	Distile su	5 dakika
Boyama	Harris Hematoksilen	1dakika 10 saniye
Yıkama	Musluk Suyu	5 dakika
Boyama	Eozin yellow	8 dakika 30 saniye
Yıkama	Musluk suyu	15 saniye
Dehidratasyon	%70'lik etanol	20 saniye
Dehidratasyon	%80'lik etanol	15 saniye
Dehidratasyon	%90'lık etanol	15 saniye
Dehidratasyon	%100'lük etanol	15 saniye
Dehidratasyon	%100'lük etanol	15 saniye
Şeffaflaştırma	Ksilen	5 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen	10 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen	1 saat
Kapama	Entellan	Kapama

3.6.3 Histopatolojik Analiz

Beyin dokusu histopatolojik analizi daha önce yapılan X-ışını maruziyetinin beyin üzerine olan etkisini histopatolojik açıdan ele alan çalışmalara uygun olarak semikantitatif analiz ile sınıflandırılıp gruplar arası farklılık olup olmadığına bakılmıştır (Tablo 3). Her bir preparat 25 farklı alan çalışma grupları bakımından körleştirilmiş, iki birbirinden bağımsız histopatolog tarafından değerlendirilmiştir.

Tablo 3. Histopatolojik skorlama (HPS) metodu.

Puan	Ödematoz alanlar	Puan	Nekrotik Nöronlar	Puan	Nekrotik Oligodendrositler
0	≤%25	1	≤%25	1	≤%25
1	≤%50	2	≤%50	2	≤%50
2	>%50	3	>%50	3	>%50

3.6.4. Özel Boyama Yöntemleri

3.6.4.1. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü

Beyin dokularından 4-5 µm kalınlığında alınan kesitler doku çevresindeki parafininin uzaklaştırılması için 1 saat boyunca 60°C sıcaklıkta etüvde bekletildi. Bundan sonra yapılan aşamaların tamamı oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Parafinin dokudan tamamen uzaklaştırılması için 10'ar dakika süreyle iki kez ksilende bekletildi. Sonrasında sırasıyla %100, %96, %90, %80, %70'lik alkol serilerinde 5'er dakika bekletildi. Daha sonraki işlemlerde üretici firmanın önerdiği şekilde boyama işlemlerine devam edildi (Tablo 4).

3.6.4.1.1. Anti n-NOS

Kesitlerin üzerine %3'lük H₂O₂ blok solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika beklendi. Sonrasında protein blokajı için protein blok solüsyonu damlatıldı. Ardından Anti-nNOS (Ab3051, Abcam) primer antikoru (1/200 dilüsyon oranı) damlatılarak oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Fosfat tamponlu salin (PBS, Phosphate buffer saline, P4417, sigma) ile yıkanan kesitler üzerine biotinylated goat anti-polyvalent (Abcam) sonrasında streptavidin peroxidase (Abcam) damlatılarak 10'ar dakika beklenildi. Kesitler PBS ile yıkadıktan sonra DAB (3,3'-Diaminobenzidin, Abcam) kromojeni damlatıldı. Reaksiyon PBS ile durdurulduktan sonra Harris hematoksilende 5 dakika süreyle bekletildi. Ardından kesitler musluk suyunda bekletildikten sonra dehidratasyon amacıyla %70, %80, %90, %96, %100'lük derişimlerdeki alkol serilerinde 5'er dakika

bekletilerek geçirildi. En son olarak iki ayrı ksilende 10'ar dakika bekletildikten sonra preparatların üstü entellan kullanılarak kapatıldı.

3.6.4.1.2. Anti-8-hidroksi-2'-deguanozin (Anti 8-OHdg)

Kesitler, enzimatik olarak antijenlerin açığa çıkması için proteinaz-K'ya (ab 64220, Abcam) 37°C'de 40 dk maruz bırakıldı. Ardından kesitler üzerine %3'lük H₂O₂ blok solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika bekletildi. Sonrasında protein blokajı için protein blok solüsyonu damlatıldı. Ardından kesitler Anti-8OHdG (Ab10802, Abcam) primer antikoru (1/200 dilüsyon oranı) damlatılarak oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Ardından kesitler PBS ile yıkanarak ilk önce biotinlyated goat anti-polyvalent sonrasında steptavidin peroxidase ile muamele edildi ve 10'ar dakika beklendi. PBS ile yıkadıktan sonra DAB kromojeni damlatıldı. Reaksiyonu PBS ile durdurduktan sonra kesitler Harris hematoksilende 5 dakika süreyle bekletildi. İlgili kesitler musluk suyunda bekletildikten sonra dehidratasyon amacıyla %70, %80, %90, %96, %100'lük derişimlerde alkol serilerinden her bir derişimde 5 dakika bekletilerek geçirildi. En son olarak iki ayrı ksilende 10'ar dakika bekletildikten sonra preparatların üstü entellan kullanılarak kapatıldı.

3.6.4.1.3. Anti-Tümör Nekrozis Alfa (Anti TNF- α)

Kesitler, ısı ile antijenleri açığa çıkarmak için mikrodalga fırında 700 W'da 20 dk sitrat tamponu içinde bekletildi. Ardından kesitler üzerine %3'lük H₂O₂ blok solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika beklenildi. Sonrasında protein blokajı için protein blok solüsyonu damlatıldı. Ardından Anti-TNF- α (Ab 6671, Abcam) primer antikoru damlatılarak oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Ardından kesitler PBS ile yıkanarak ilk önce biotinlyated goat anti-polyvalent sonrasında steptavidin peroxidase ile muamele edildi ve 10'ar dakika beklendi. Kesitler PBS ile yıkadıktan sonra DAB kromojeni damlatıldı. Reaksiyonu PBS ile durdurduktan sonra Harris hematoksilende 5 dakika süreyle bekletildi. Musluk suyunda bekletildikten sonra dehidratasyon amacıyla %70, %80, %90, %96, %100'lük derişimlerde alkol serilerinden her birinde 5'er dakika bekletilerek geçirildi. En son olarak iki ksilende 10'ar dakika bekletildikten sonra preparatların üstü entellan kullanılarak kapatıldı.

Tablo 4. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü.

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60 °C'lik Etüv	60 dakika
Deparafinizasyon	Ksilen	10 dakika
Deparafinizasyon	Ksilen	10 dakika
Rehidratasyon	%100'lük etanol	5 dakika
Rehidratasyon	%96'lık etanol	5 dakika
Rehidratasyon	%90'lık etanol	5 dakika
Rehidratasyon	%80'lik etanol	5 dakika
Rehidratasyon	%70'lik etanol	5 dakika
Yıkama	Distile su	5 dakika
Endojen enzim blokajı	%3'lük Hidrojen peroksit	10 dakika
Yıkama	PBSx2	
Blokaj	Protein blok solüsyonu	10 dakika
Yıkama	PBS	15 saniye
Antikor	Primer antikor	1 saat
Yıkama	PBSx4	
Boyama	Biotilyated Goat anti-polyvalent	10 dakika
Yıkama	PBSx4	
Boyama	Steptavidin Peroxidase	10 dakika
Yıkama	PBSx4	
Boyama	DAB	5-10 dakika
Yıkama	PBSx	
Boyama	Harris hematoksilen	3 dakika
Yıkama	Musluk suyu	
Dehidratasyon	%70'lik etanol	5 dakika
Dehidratasyon	%80'lik etanol	5 dakika
Dehidratasyon	%90'lık etanol	5 dakika
Dehidratasyon	%100'lük etanol	5 dakika
Dehidratasyon	%100'lük etanol	5 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen	10 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen	10 dakika
Kapama	Entellan	Kapama

3.6.4.1.4. İmmünohistokimyasal Boyamaların Değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal boyaların değerlendirilmesi semikantitatif analiz ile pozitif olan bölgeler puanlama sistemi ile sınıflandırılıp gruplar arası farklılık olup olmadığına bakılmıştır (124) (Tablo 5). Her bir preparat 25 farklı alan çalışma grupları bakımından karşılaştırılmış iki bağımsız histopatolog tarafından değerlendirilmiştir.

Tablo 5. İmmunohistokimyasal Boyamaların Değerlendirme Skorlaması

Puanlama	Pozitivite Oranı
0	Yok (%5'ten az)
1	Az (%25'ten az)
2	Orta (%25-50)
3	Şiddetli (%51-75)
4	Çok Şiddetli (%75'ten fazla)

3.6.4.2. TUNEL Yöntemi

3.6.4.2.1. TUNEL Boyama Prosedürü

Beyin dokusundaki apoptotik hücrelerin belirlenmesi için *Terminal Transferase dUTP Nick End Labeling* (TUNEL) boyama yöntemi uygulandı. Parafin bloklardan alınan ince kesitlere standart kit (In Situ Cell Death Detection Kit, POD, Roche, Almanya) protokolüne göre TUNEL boyama metodu uygulandı (Tablo 6).

Tablo 6. TUNEL Boyama Prosedürü.

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60 °C'lik Etüv	60 dk
Deparafinizasyon	Ksilen	5 dk
Deparafinizasyon	Ksilen	5 dk
Rehidratasyon	%100'lük etanol	5 dk
Rehidratasyon	%100'lük etanol	5 dk
Rehidratasyon	%96'lık etanol	5 dk
Rehidratasyon	%70'lik etanol	5 dk
Rehidratasyon	Distile su	5 dk
Endojen enzim blokajı	%3'lük Hidrojen peroksit	15 dk
Yıkama	PBSx2	
Blokaj	Blok solüsyonu	10 dk
Boyama	TUNEL solüsyonu	60 dk (37 °C)
Yıkama	PBS	
Boyama	Converter-POD solüsyonu	30 dk (37 °C)
Yıkama	PBSx3	
Boyama	DAB kromojen	5dk
Yıkama	Distile su x2	
Boyama	Harris hematoksilen	3 dk
Yıkama	Musluk suyu	
Dehidratasyon	%70'lik etanol	5 dk
Dehidratasyon	%80'lik etanol	5 dk
Dehidratasyon	%90'lık etanol	5 dk
Dehidratasyon	%100'lük etanol	5 dk
Dehidratasyon	%100'lük etanol	5 dk
Şeffaflaştırma	Ksilen	10 dk
Şeffaflaştırma	Ksilen	10 dk
Kapama	Entellan	Kapama

3.6.4.2.2. TUNEL Metodu ile Boyanmış Preparatların Değerlendirilmesi

Apoptotik hücreler semikantitatif analiz ile alanlarda görülen pozitif hücreler puanlama yapılarak değerlendirildi (Tablo 7). Her preparatta 25 alan birbirinden bağımsız şekilde iki histolog tarafından değerlendirildi.

Tablo 7. TUNEL Boyamaların Değerlendirme Skorlaması.

Puanlama	Pozitivite Oranı
0	Yok (%5'ten az)
1	Az (%25'ten az)
2	Orta (%25-50)
3	Şiddetli (%51-75)
4	Çok Şiddetli (%75'ten fazla)

3.7. Biyokimyasal Analiz

3.7.1. Doku homojenizasyonu

20 mM 1L sodyum fosfat + 140 mM potasyum klorür hazırlandı (pH 7,4) (125). 100 mg doku üzerine 1 ml homojenizasyon çözeltisi konarak homojenize edildi ve homojenatlar 4°C de 800g 'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant ile GSH ve MDA tayini yapıldı.

3.7.2. MDA tayini

Ohkawa ve ark. yöntemine göre yapıldı. 200 µL doku süpernatantı; 50 µL 8.1% SDS (Sodyum dodesil sülfat); 375 µL % 20'lik asetik asit (v/v) pH 3.5; 375 µL % 0.8'lik thiobarbituric acid (TBA) eklendi. Karışım vortekslendi ve reaksiyon 1 saat kaynar su banyosunda inkübasyona bırakıldı (126). İnkübasyon sonrasında 5 dk buzlu suda soğutuldu ve 750G'de 10 dk santrifüj edildi. Oluşan pembe renk spektrofotometrede 532 nm'de okutuldu. Sonuçlar nmol/g doku olarak hesaplandı.

3.7.3. GSH tayini

Ellman metoduna göre Ellman ayıracı kullanılarak serbest tiyol grupları tayin edildi (127). 25 µL süpernatant üzerine 100 µL 3M Na₂HPO₄ ve 25 µL DTNB(5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid)) konuldu (4mg DTNB %1'lik 10 mL sodyum sitrat çözeltisinde hazırlandı.) ve hafif bir çalkalama sonrasında oluşan sarı renk spektrofotometrede 412 nm de okutuldu. Sonuçlar hazırlanan 1000 µM- 62,5 µM'lık redükte glutatyon standart grafiği ile belirlendi ve mmol/g doku olarak hesaplandı.

3.7.4. Protein Tayini

BCA (Bikinkoninik asit) kiti kullanılarak protein tayini yapıldı. 25 µL numune pipetlendikten sonra üzerine BCA çalışma solüsyonu ilave edildi ve 37° C de 30 dk inkübasyona bırakıldı. 562 nm' de okuma yapıldı. Sonuçlar hazırlanan BSA standart grafiği ile belirlendi ve mg/ml olarak hesaplandı.

Bulunan MDA sonuçları, dokuda bulunan protein miktarlarına bölünerek nmol/mg protein, GSH sonuçları ise yine dokuda bulunan protein miktarlarına bölünerek mmol/mg protein olarak hesaplanmış ve sonuçlar mg protein başına verilmiştir.

3.8. İstatiksel Analiz

Elde edilen veriler istatistiksel olarak SPSS 18.0 (IBM Corp, NY, A.B.D.) paket programı ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğunu değerlendirmede One Sample Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı. Tanımlayıcı istatistiksel ölçütlerin (ortalama, standart sapma) yanı sıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında One Way Anova, Kruskall Wallis testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için tip-1 hata düzeyi %5 olarak kabul edildi. Hangi gruplar arasında farklılık olup olmadığını saptamak için biyokimyasal analizlerde LSD, histopatolojik analizlerde Tamhane'nin T2'si kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

Sunulan çalışmadaki tüm grupların beyin bölgesinin histolojik incelemesinde Kont, RT, RT+D100, RT+D200 gruplarına ait kesitlerde, nöronların ve beyin genel morfolojik yapısının normal görünümde olduğu izlendi. Ayrıca ışık mikroskopik düzeyde yapılan incelemede buradaki nöronların perikaryonlarının sınırlarının belirgin olduğu saptandı. RT grubunda ise diğer gruplara göre daha yüksek oranda dejenere nöron olduğu saptandı. Bu grupta yer alan hücrelerin hücre sınırları net bir şekilde ayırt edilememesinin yanı sıra dar ve koyu boyanmış sitoplazmaya sahip ve ökromatik özelliği kaybolmuş çekirdeğe nöronların fazla sayıda olduğu gözlemlendi. Ayrıca RT+D200 grubunda yer alan sağlıklı nöronların sayısının RT grubuna kıyasla daha fazla olduğu izlendi. Bu bağlamda, kullanılan Deksmetomidinin 200 µg/kg dozda RT'nin oluşturduğu hücre kaybını önemli ölçüde azalttığını söyleyebiliriz. Diğer gruplar arasında histopatolojik olarak belirgin bir farka rastlanmadı. Hematoksilin&Eozin ile boyalı dokuların değerlendirilmesinde oluşturulan skora sonuçları Tablo 8'da belirtilmiştir.

Tablo 8. Histopatolojik skora (HPS) sonuçları (median±standart sapma).

Gruplar	Odematoz alanlar	Nekrotik Nöronlar	Nekrotik oligodendrositler	HKS
Kontrol	0.00±0.35	0.00±0.52	0.00±0.35	1.00±0.35
Radyoterapi	2.00±0.46 ^a	2.00±0.46 ^a	2.00±0.46 ^a	6.00±1.16 ^a
RT+D100	1.00±0.52 ^b	1.00±0.35 ^d	1.00±0.53 ^f	2.50±0.93 ^c
RT+D200	0.50±0.53 ^c	0.00±0.52 ^e	1.00±0.52 ^b	1.00±0.52 ^b

^ap=0.000; kontrol grubuna kıyasla,

^bp=0.003; radyoterapi grubuna kıyasla,

^cp=0.001; radyoterapi grubuna kıyasla,

^dp=0.006; radyoterapi grubuna kıyasla,

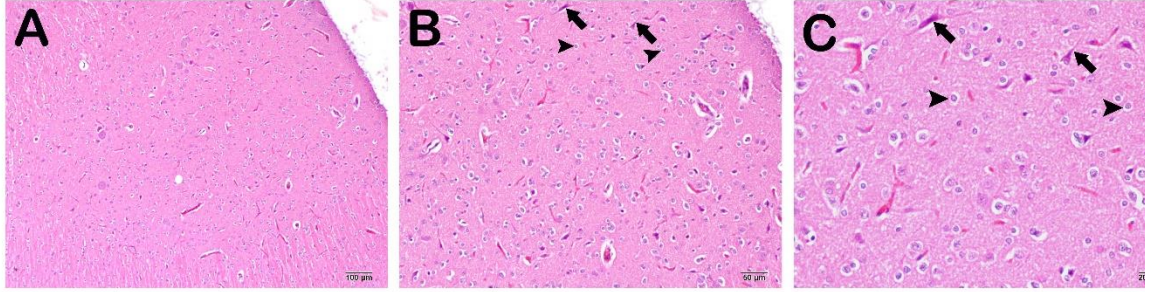
^ep=0.000; radyoterapi grubuna kıyasla,

^fp=0.057; radyoterapi grubuna kıyasla

4.2.1. Hematoksilen&Eozin Boyaması

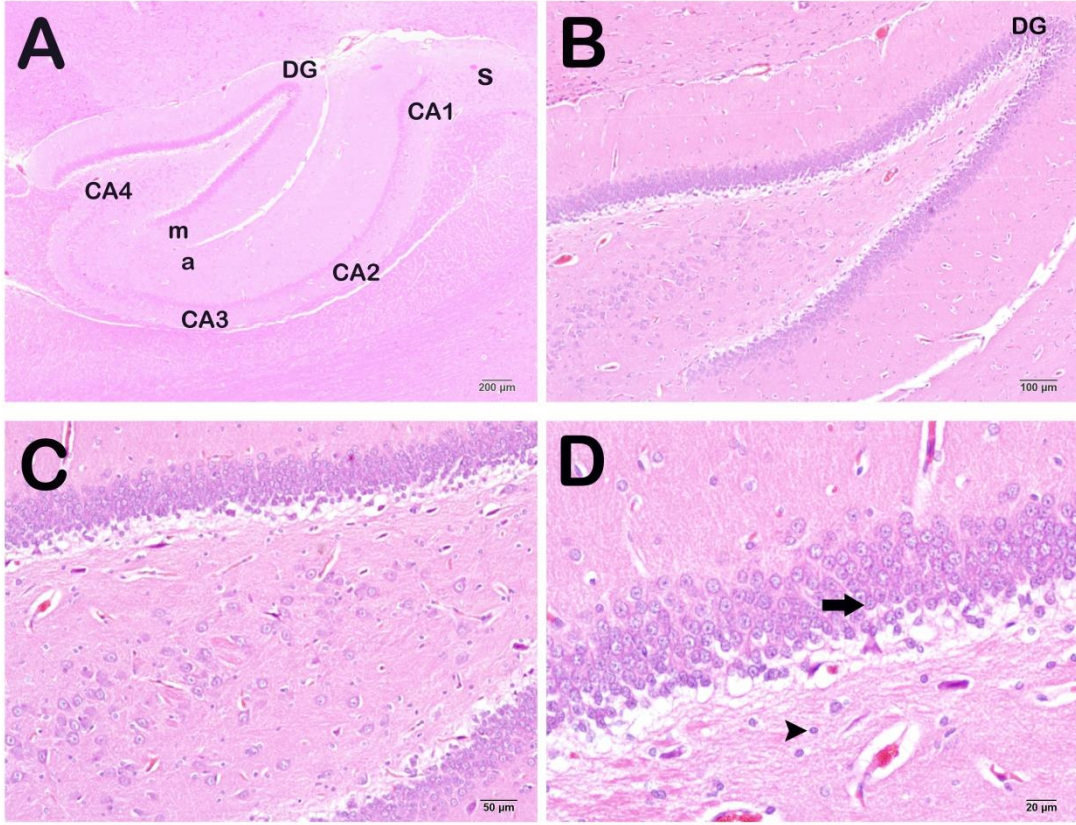
4.2.1.1. Kontrol Grubuna ait Bulgular

Kontrol grubu serebral korteks dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nöronlar ve oligodendrositlerin normal yapıda olduğu gözlemlendi (Resim 1 A-C). Bunlara ek olarak hipokampus dokusuna ait kesitleri incelediğinde benzer olarak nöronların ve oligodendrositlerin tipik yapıda olduğu saptandı (Resim 2 A-D; HPS:1.00±0.35).



Resim 1. Kontrol grubuna ait serebral korteks dokusunun ışık mikroskobik ekran görüntüsü (H&E).

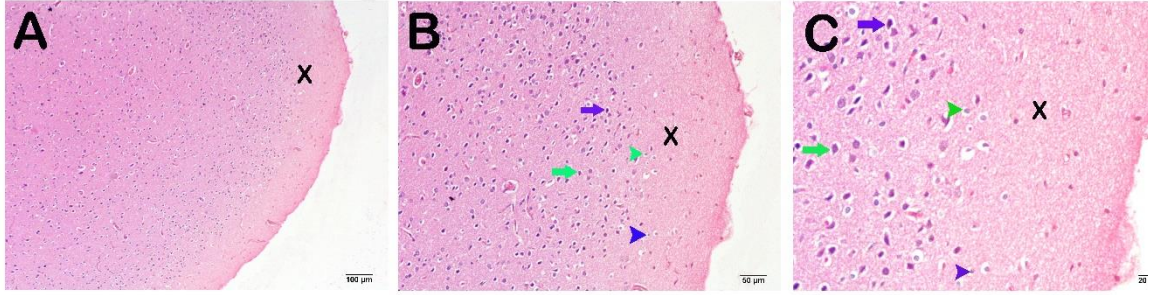
Normal yapıdaki nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmekte. **A)**x100, **B)**x200, **C)**x400.



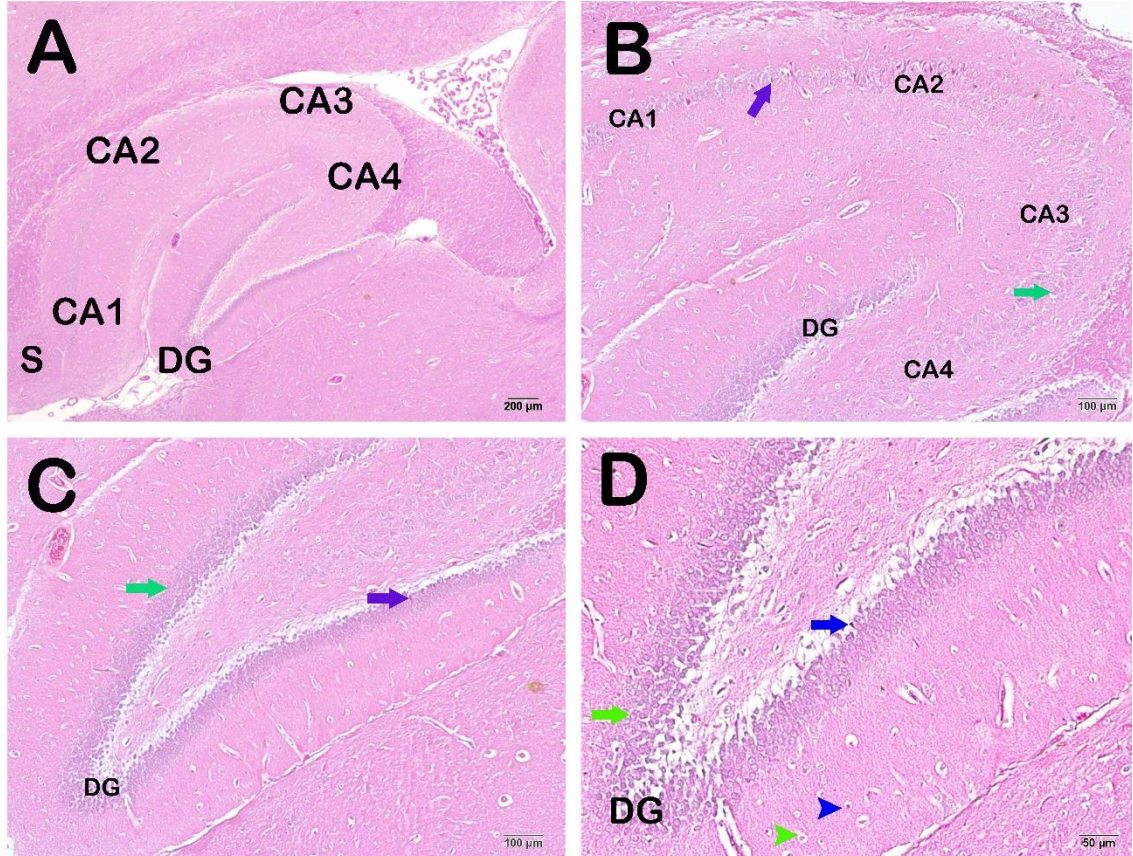
Resim 2. Kontrol grubuna ait hipokampus dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E). CA1: Cornu Ammonis 1, CA2: Cornu Ammonis 2, CA3; Cornu Ammonis 3, DG; Dentat Girus, M;Moleküler tabaka, S;Subikulum
Normal yapıdaki nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmekte (HPS:1.00±0.35)
A)x40, B)x100, C)x200, D)x400.

4.2.1.2. Radyoterapi Grubuna ait Bulgular

Radyoterapi grubunda serebral korteks dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde yaygın ödematoz alanların yanında apoptotik ve nekrotik yapıdaki çok sayıda nöronlar ve oligodendrositler gözlemlenmekteydi (Resim 3A-C). Benzer olarak hipokampus dokusuna ait ışık mikroskopik kesitlerde yanında apoptotik ve nekrotik yapıdaki çok sayıda nöronlar ve oligodendrositler mevcuttu (Resim 4 A-D) (HPS:6.00±1.16).



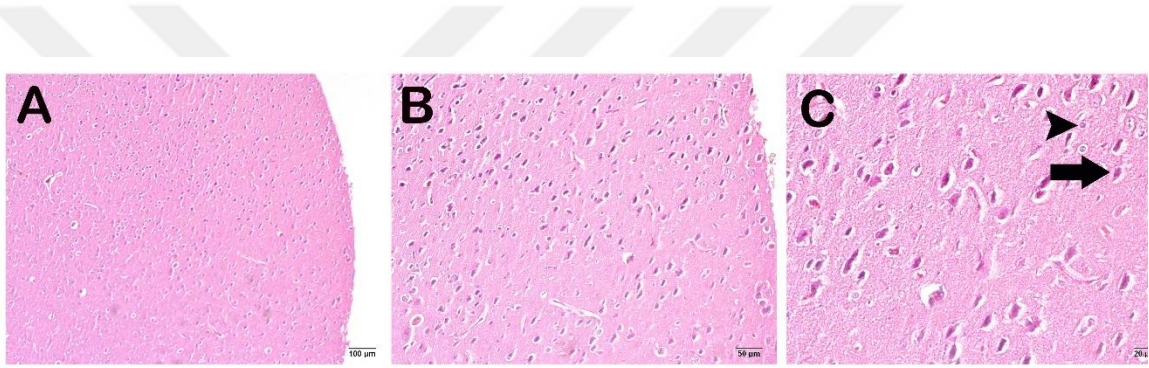
Resim 3. Radyoterapi grubuna ait beyin dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E). Beyin dokusunda yaygın ödematoz alanların (x) yanında apoptotik yapıdaki nöronlar (mavi ok) ve oligodendrositler (mavi ok başı) izlenmekte. Ek olarak nekrotik nöronlar ve (yeşil ok) ve oligodendrositler (yeşil ok başı) gözlemlenmekte. A)x100, B)x200, C)x400.



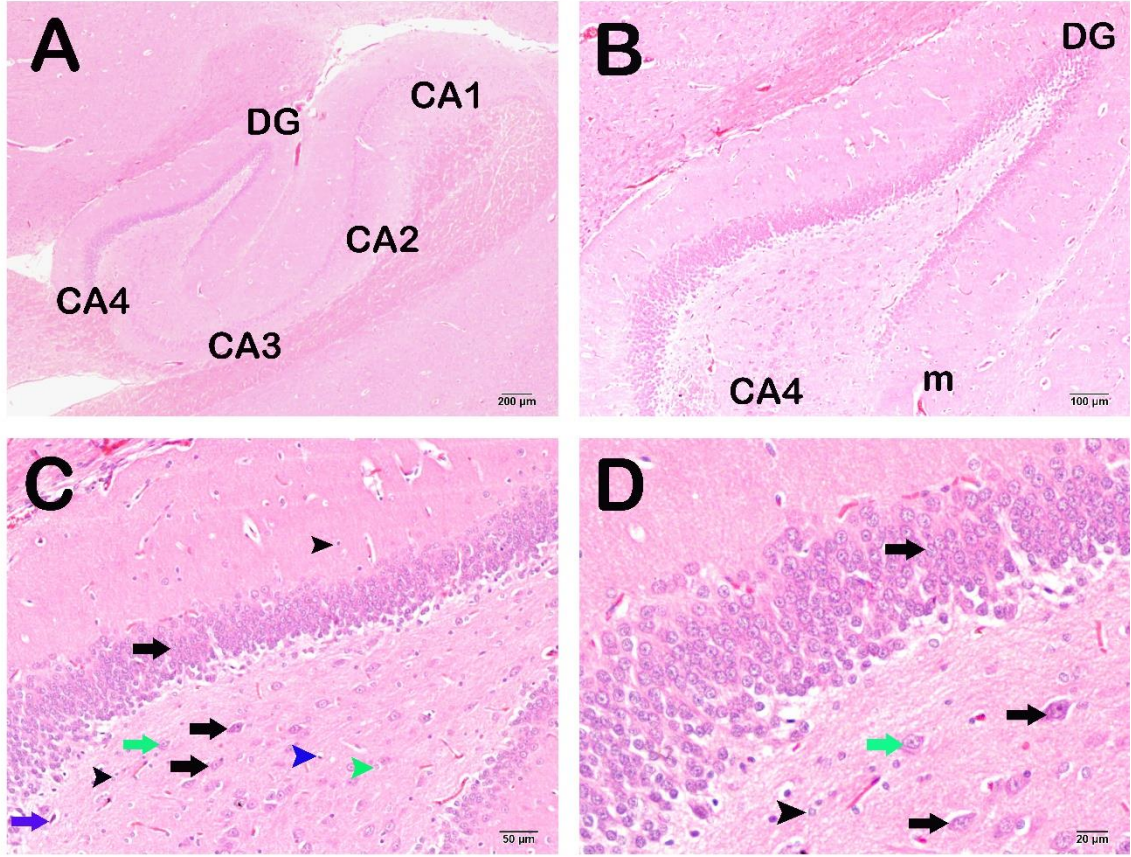
Resim 4. Radyoterapi grubuna ait hipokampus dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E). Hipokampus dokusunda apoptotik yapıdaki nöronlar (mavi ok) ve nekrotik nöronlar (yeşil ok) izlenmekte. Bununla beraber oligodendrositlerde apoptozis (mavi ok başı) ve nekrozis (yeşil ok başı) gözlemlenmekte (HPS:6.00±1.16). A)x40, B)x100, C)x200, C)x400.

4.2.1.3. RT+D100 Tedavi Grubuna ait Bulgular

Serebral korteks kesitlerinde apoptotik ve nekrotik yapıdaki nöronlarda ve yine apoptotik ve nekrotik oligodendrositler sayısında radyoterapi grubuna göre azalma olduğu izlendi. Ek olarak yer yer tipik nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) gözlemlendi (Resim 5 A-C). Benzer olarak tipik nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) gözlemlendi. Bununla beraber az da olsa hipokampus dokusuna ait kesitlerde apoptotik ve nekrotik yapıdaki nöronlarda ve yine apoptotik ve nekrotik oligodendrositler sayısında radyoterapi grubuna göre azalma olduğu izlendi (Resim 6A-D; HPS: 2.50 ± 0.93).



Resim 5. RT+D100 tedavi grubuna ait serebral korteks dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E). Serebral korteks dokusunda yaygın ödematoz alanlarda, apoptotik ve nekrotik yapıdaki nöronlar (mavi ok) ve oligodendrositler (mavi ok başı) sayısında azalma gözlenmekte. Ek olarak yer yer tipik nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) gözlemlenmekte. **A)**x100, **B)**x200, **C)**x400.



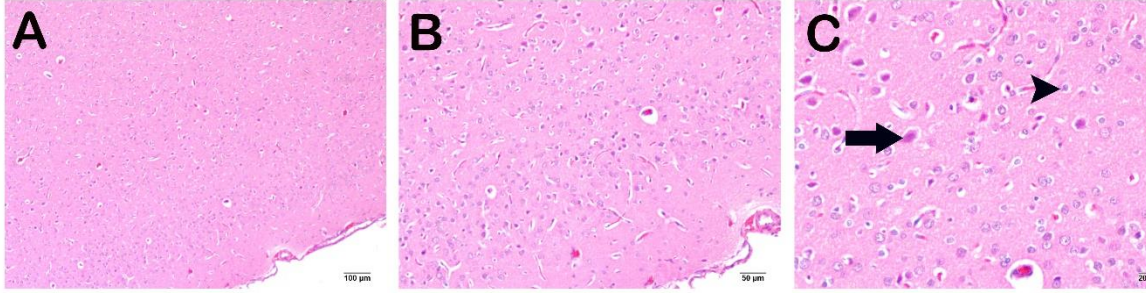
Resim 6. RT+D100 tedavi grubuna ait hipokampus dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E).

RT+D100 tedavi grubuna ait hipokampus dokusunda yaygın ödematoz alanlarda, apoptotik ve nekrotik yapıdaki nöronlar (sırası ile; mavi ok, yeşil ok) ve oligodendrositler (sırası ile; mavi ok başı ve yeşil ok başı) sayısında azalma gözlenmekte. Ek olarak yer yer tipik nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) gözlemlenmekte (HPS: 2.50 ± 0.93).

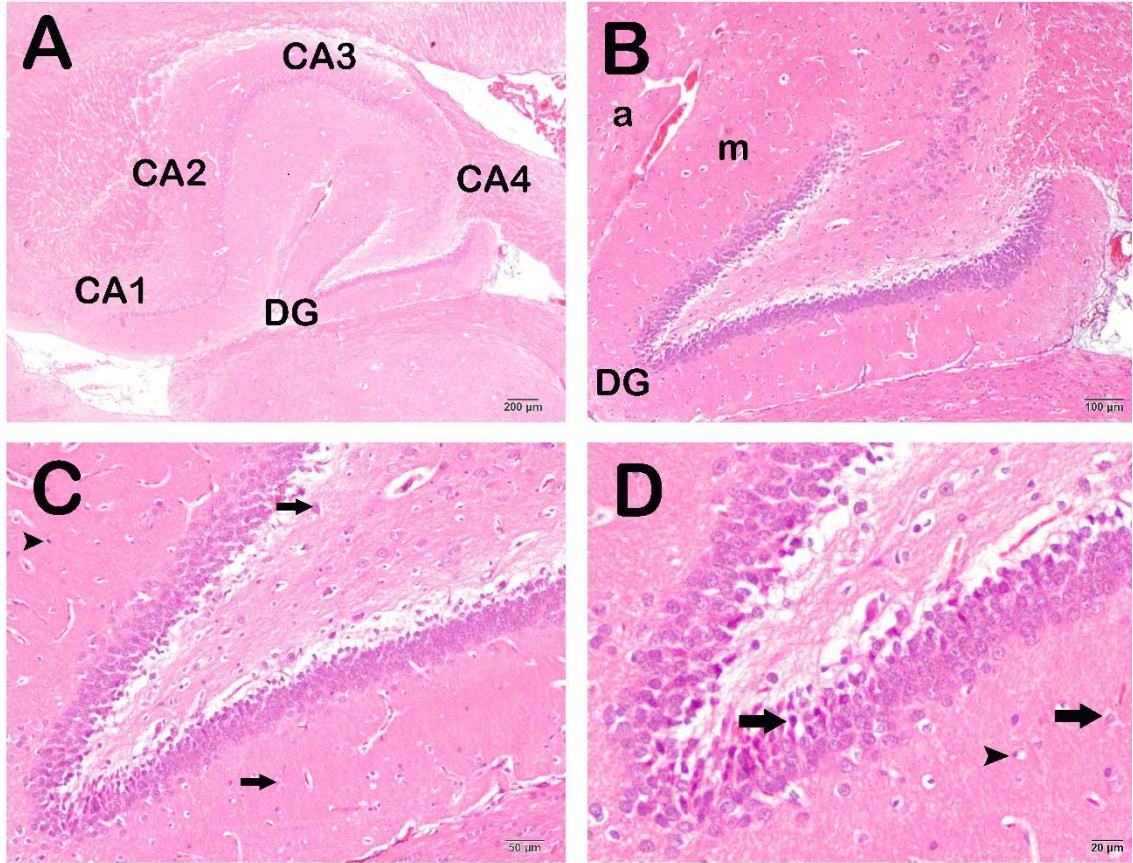
A)x40, B)x100, C)x200, D)x400.

4.2.1.4. RT+D200 Grubuna ait Bulgular

RT+D200 tedavi grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitlerde yaygın olarak tipik yapıdaki nöronlar ve oligodendrositler mevcuttu. (Resim 7 A-C ve Resim 8 A-D; HPS: 1.00 ± 0.52).



Resim 7. RT+D200 tedavi grubuna ait serebral korteks dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E). Serebral korteks dokusunda ödematoz alanlarda radyoterapi grubuna göre azalma gözlenmekle beraber tipik nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmektedir. A)x100, B)x200, C)x400.



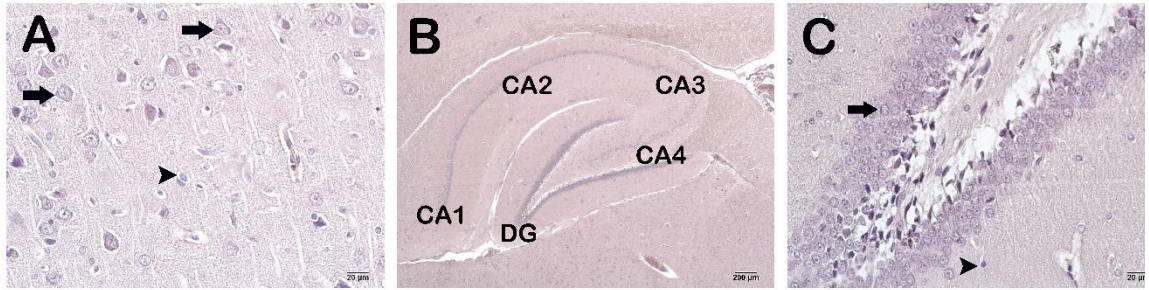
Resim 8. RT+D200 tedavi grubuna ait hipokampus dokusunun ışık mikroskopik ekran görüntüsü (H&E). Hipokampus dokusunda ödematoz alanlarda azalma gözlenmekle beraber tipik nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmekte (HPS: 1.00 ± 0.52). A)x40, B)x100, C)x200, D)x400.

4.2. Özel Boyamalar

4.2.1. TUNEL boyaması

4.2.1.1 Kontrol grubuna ait Bulgular

Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nöronlar ve oligodendrositlerin normal yapıda olduğunu gözlemlendi (Resim 9 A-C; TUNEL pozitivite skoru: 0.00 ± 0.46).



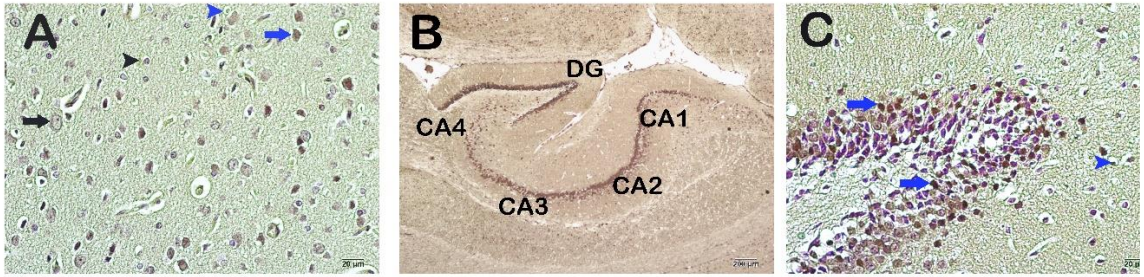
Resim 9. Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TUNEL boyama görüntüleri.

Kontrol grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda normal yapıdaki nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmekte (TUNEL metodu).

A) Serebral korteks x400, **B)** Hipokampus, x40, **C)** Hipokampus, x400.

4.2.1.2 Radyoterapi grubuna ait Bulgular

Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde hipokampusta belirgin olarak apoptotik nöronlar ve oligodendrositler izlendi (Resim 10 A-C). Serebral kortekste yer yer apoptotik nöronlar ve oligodendrositler gözlemlenmekle beraber tipik nöronlar ve oligodendrositlerde mevcuttu. (Resim 10; TUNEL pozitivite skoru: 2.00 ± 0.53).



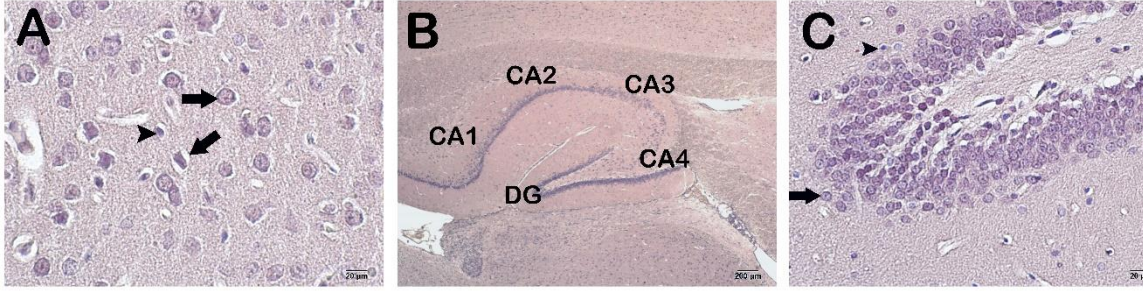
Resim 10. Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TUNEL boyama görüntüleri.

Radyoterapi grubu serebral korteks ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde tipik nöronlarında arasında yer yer apoptotik nöronlar ve oligodendrositler izlenmekte. Hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde yaygın apoptotik nöronlar ve oligodendrositler izlenmekle beraber yer yer tipik oligodendrositlerde ve nöronlar gözlenmekte.

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.1.3 RT+D100 grubuna ait Bulgular

RT+D100 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde apoptotik nöronlar ve oligodendrositlerin sayısında azalma izlendi (Resim 11 A-C; TUNEL pozitivite skoru: 1.00 ± 0.46).



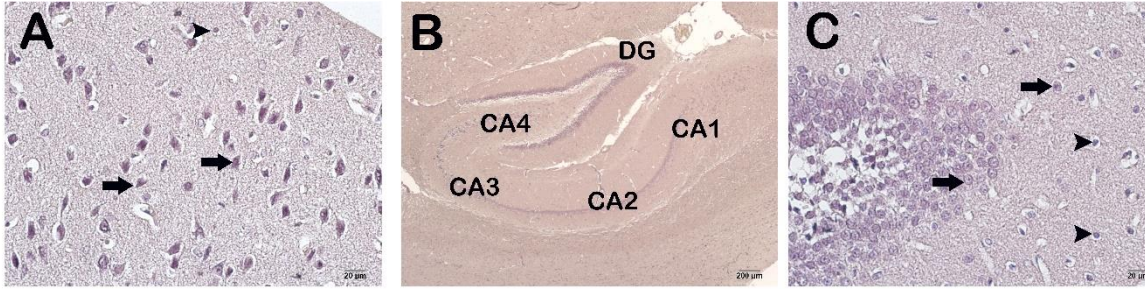
Resim 11. RT+D100 grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TUNEL boyama görüntüleri.

RT+D100 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde tipik yapıdaki gösteren nöronlar ve oligodendrositler izlenmekte.

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.1.4 RT+D200 grubuna ait Bulgular

RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde apoptotik nöronlar ve oligodendrositlerin sayısında azaldığı ve yaygın tipik nöronlar izlenmekte (Resim 12 A-C; TUNEL pozitivite skoru: 0.50 ± 0.53).



Resim 12. RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TUNEL boyama görüntüleri.

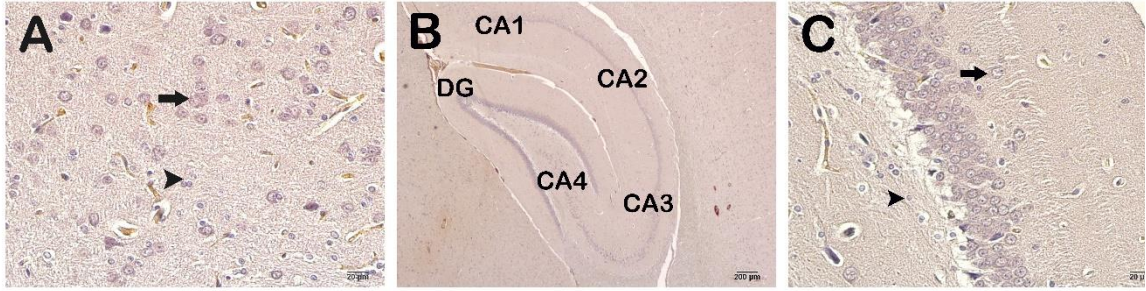
RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde tipik yapıdaki gösteren nöronlar ve oligodendrositler izlenmekte.

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.2 TNF- α boyaması

4.2.2.1 Kontrol grubuna ait Bulgular

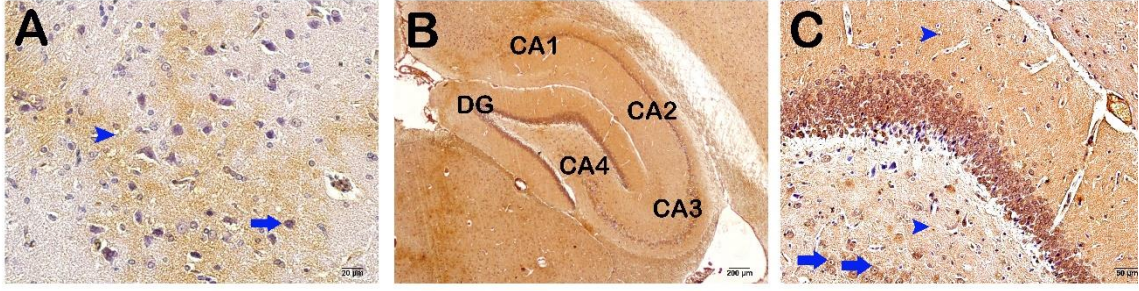
Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nöronlar ve oligodendrositlerin normal yapıda olduğunu gözlemlendi (Resim 13 A-C; TNF- α pozitivite skoru: 0.00 ± 0.35).



Resim 13. Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TNF- α boyama görüntüleri. Kontrol grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda normal yapıdaki nöronlar (siyah ok) ve oligodendrositler (siyah ok başı) izlenmekte (TNF- α) A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.3.2 Radyoterapi grubuna ait Bulgular

Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde TNF- α pozitivitesi gösteren nöronlar izlenmekle beraber oligodendrotistlerde TNF- α pozitivitesi gözlemlendi (Resim 14 A-C; TNF- α pozitivite skoru: 2.00 ± 0.46).



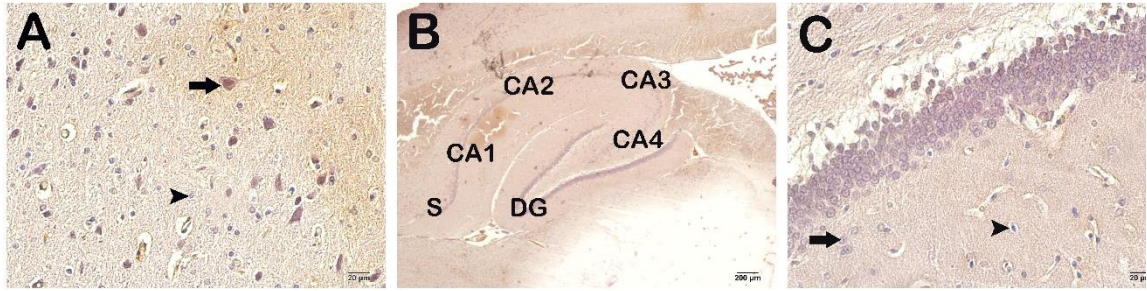
Resim 14. Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TNF- α boyama görüntüleri.

Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde TNF- α pozitifitesi gösteren nöronlar (mavi ok) izlenmekle beraber oligodendrositlerde (mavi ok başı) TNF- α pozitifitesi izlenmekte.

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.3.3 RT+D100 grubuna ait Bulgular

RT+D100 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde TNF- α pozitif nöronlar ve oligodendrositlerin sayısında azaldığı izlendi (Resim 15a-c; TNF- α pozitifite skoru: 1.00 ± 0.53).



Resim 15. RT+D100 grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TNF- α boyama görüntüleri.

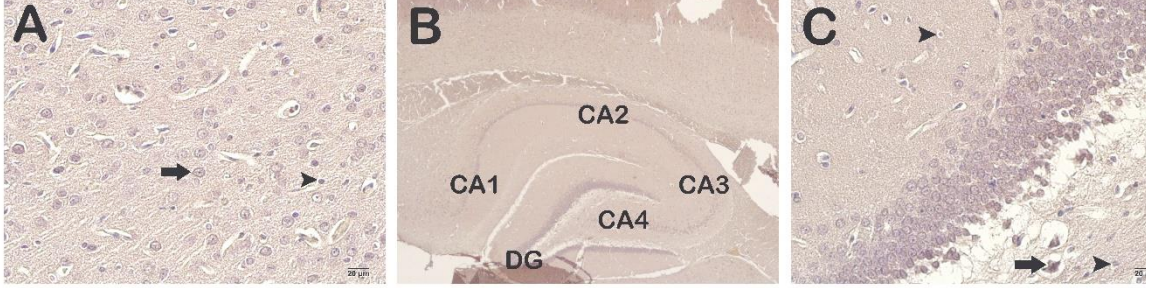
RT+D100 grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde tipik yapıdaki gösteren nöronlar (siyah ok) ve oligodendrositler (siyah ok başı) izlenmekte.

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.3.4 RT+D200 grubuna ait Bulgular

RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nöronlar ve oligodendrositlerde TNF- α

pozitivitesinin sayısında azaldığı izlenmekle beraber nöronlar ve oligodendrositlerin tipik yapıda olduğu gözlemlendi (Resim 16 A-C; TNF- α pozitivite skoru: 1.00 ± 0.46).



Resim 16. Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait TNF- α boyama görüntüleri. RT+D200 grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde tipik yapıdaki nöronlar (siyah ok) ve oligodendrositler (siyah ok başı) gözlemlenmekle beraber TNF- α pozitivitesi azalmış olduğu izlenmekte.

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.3. nNOS boyaması

4.2.3.1 Kontrol grubuna ait Bulgular

Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nöronlar ve oligodendrositlerin normal yapıda olduğu gözlemlendi (Resim 17 A-C; nNOS pozitivite skoru: 0.00 ± 0.52).

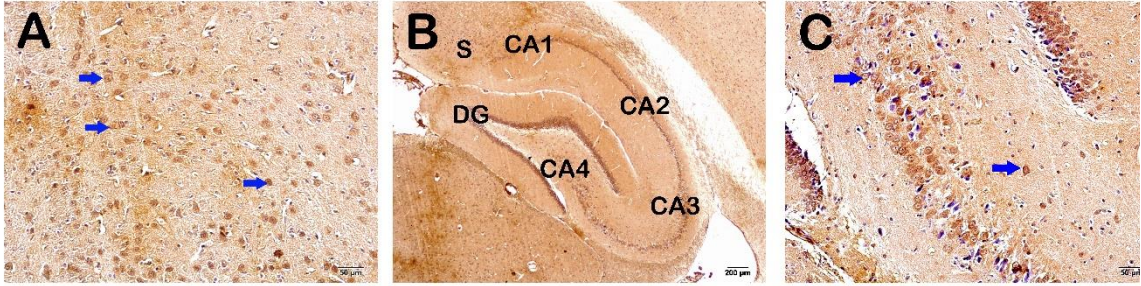


Resim 17. Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait nNOS boyama görüntüleri. Kontrol grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda normal yapıdaki nöronlar (siyah ok) ve oligodendrositler (siyah ok başı) izlenmekte (nNOS).

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.3.2 Radyoterapi grubuna ait Bulgular

Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nNOS pozitifitesi gösteren nöronlar izlenmekle beraber oligodendrotistlerde nNOS pozitifitesi gözlemlendi (Resim 18 A-C; nNOS pozitifite skoru: 2.00 ± 0.51).



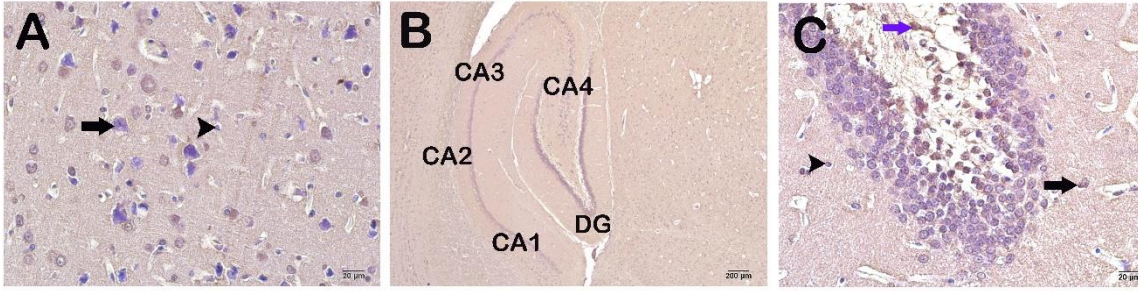
Resim 18. Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait nNOS boyama görüntüleri.

Radyoterapi grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda nNOS pozitifitesi gösteren nöronlar (mavi ok) ve oligodendrositler (mavi ok başı) izlenmekte (nNOS).

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.3.3 RT+D100 grubuna ait Bulgular

RT+D100 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nNOS pozitif nöronların sayısında azalma izlenmekle beraber hipokampus dokusunda birkaç adet nNOS pozitif nöronlar gözlemlendi. Bununla beraber serebral korteks ve hipokampus dokusunda tipik yapıda nöronlar ve oligodendrositler yaygın olarak mevcuttu (Resim 19 A-C; nNOS pozitifite skoru: 1.00 ± 0.52).



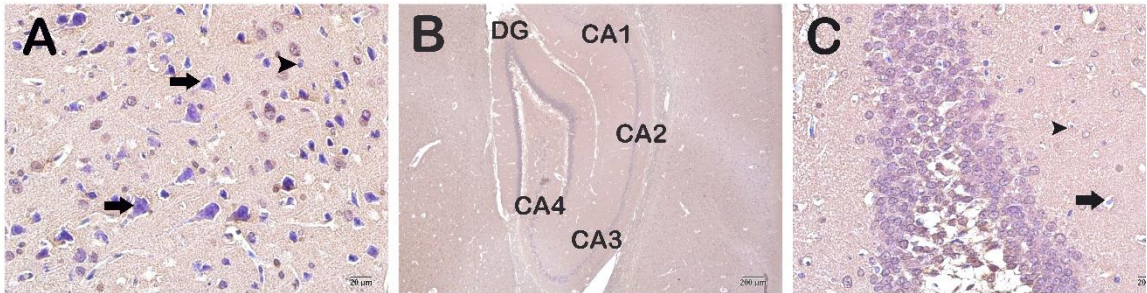
Resim 19. RT+D100 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait nNOS boyama görüntüleri.

RT+D100 tedavi grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda tipik yapıdaki nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmekte (nNOS).

A) Serebral korteks, x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.3.4 RT+D200 grubuna ait Bulgular

RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nNOS pozitif nöronların sayısında azalma izlenmekle beraber serebral korteks ve hipokampus dokusunda tipik yapıda nöronlar ve oligodendrositler yaygın olarak izlendi (Resim 20 A-C; nNOS pozitivite skoru: 1.00 ± 0.53).



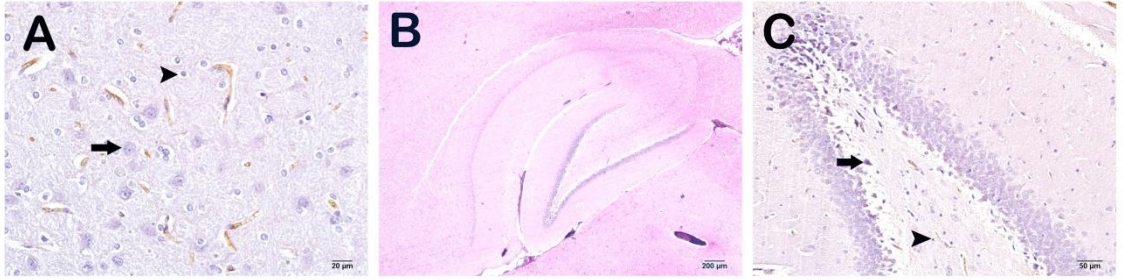
Resim 20. RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait nNOS boyama görüntüleri. RT+D200 tedavi grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda tipik yapıdaki nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmekte (nNOS)

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.5. 8-OHdG boyaması

4.2.5.1 Kontrol grubuna ait Bulgular

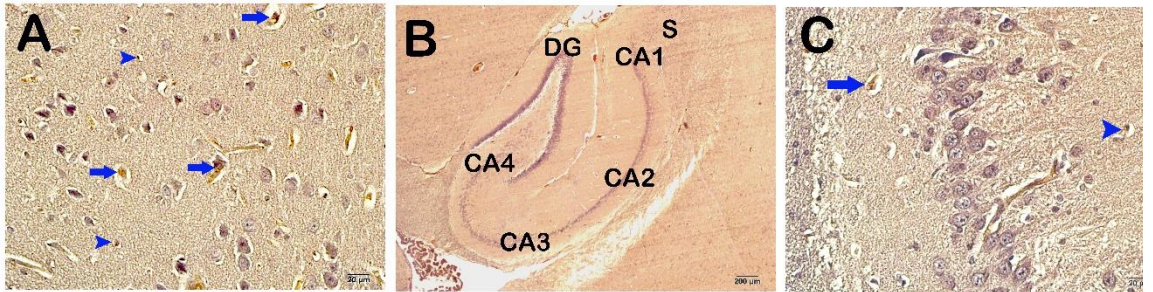
Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nöronlar ve oligodendrositlerin normal yapıda olduğu gözlemlendi (Resim 21 A-C; 8-OHdG pozitivite skoru: 0.00 ± 0.52).



Resim 21. Kontrol grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait 8-OHdG boyama görüntüleri. Kontrol grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda normal yapıdaki nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmekte (8-OHdG)
A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.5.2 Radyoterapi grubuna ait Bulgular

Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde 8-OHdG pozitivitesi gösteren nöronlar ve oligodendrositler izlenmekte (Resim 22 A-C; 8-OHdG pozitivite skoru: 1.00 ± 0.71).



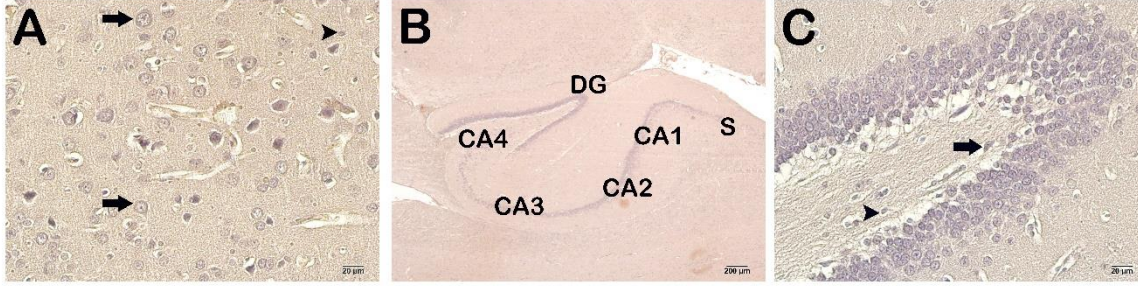
Resim 22. Radyoterapi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait 8-OHdG boyama görüntüleri.

Radyoterapi grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda 8-OHdG pozitivitesi gösteren nöronlar (mavi ok) ve oligodendrositler (mavi ok başı) izlenmekte (8-OHdG)

A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.5.3 RT+D100 tedavi grubuna ait Bulgular

RT+D100 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde tipik yapıda nöronlar ve oligodendrositler izlenmekte (Resim 23 A-C; 8-OHdG pozitivite skoru: 0.50 ± 0.46).

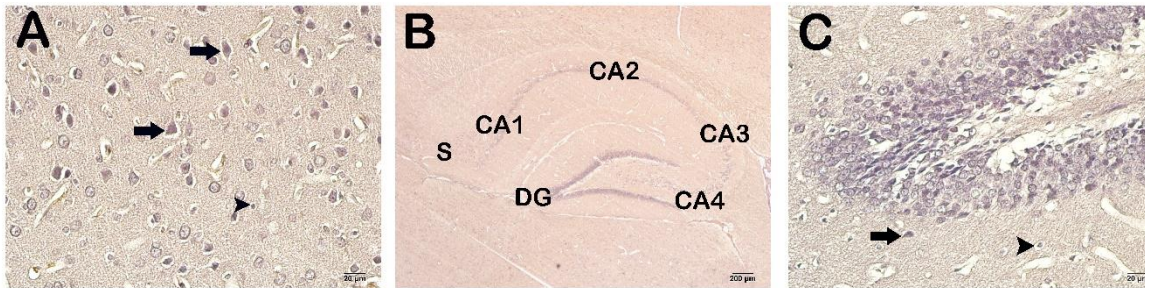


Resim 23. RT+D100 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait 8-OHdG boyama görüntüleri.

RT+D100 tedavi grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda tipik yapıdaki nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmekte (8-OHdG)
A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2.5.4 RT+200 tedavi grubuna ait Bulgular

RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nöronların ve oligodendrositler tipik yapıda olduğu gözlemlendi (Resim 24 A-C; 8-OHdG pozitivite skoru: 0.50 ± 0.52).



Resim 24. RT+D200 tedavi grubu serebral korteks ve hipokampus dokusuna ait 8-OHdG boyama görüntüleri.

RT+D200 tedavi grubuna ait serebral korteks ve hipokampus dokusunda tipik yapıdaki nöronlar (ok) ve oligodendrositler (ok başı) izlenmekte (8-OHdG).
A) Serebral korteks x400, B) Hipokampus, x40, C) Hipokampus, x400.

4.2. Semikantitatif Bulgular,

4.2.1. TUNEL pozivitite skoru

Kontrol grubunda 0.00 ± 0.46 olan TUNEL pozivitite skorunu radyoterapi grubu 2.00 ± 0.53 'e yükseltti ($p=0.000$; Tablo 9). Bunun aksine TUNEL pozivitite skorunu RT+D100 tedavi grubu ise radyoterapi grubunda 2.00 ± 0.53 olan skoru 1.00 ± 0.46 'a düşürdü ($p=0.001$; Tablo 9). Benzer olarak RT+D200 tedavi grubunda radyoterapi grubunda 2.00 ± 0.53 olarak ölçülen TUNEL pozivitite skorunu 0.50 ± 0.53 'e indirmiştir ($p=0.000$; Tablo 9). Bunun yanında RT+D100 ve RT+D200 grupları arasında herhangi bir fark gözlemlenmedi ($p=0.913$; Tablo 9).

4.2.2. TNF- α pozivitite skoru

Kontrol grubunda 0.00 ± 0.35 olan TNF- α pozivitite skorunu radyoterapi grubu 2.00 ± 0.46 'e yükseltmiştir ($p=0.000$; Tablo 9). Bunun aksine TNF- α pozivitite skorunu RT+D100 tedavi grubu ise radyoterapi grubundaki 2.00 ± 0.46 'den 1.00 ± 0.53 'e indirmiştir ($p=0.001$; Tablo 9). Benzer olarak RT+D200 tedavi grubunda radyoterapi grubunda 2.00 ± 0.46 olarak ölçülen TNF- α pozivitite skorunu 1.00 ± 0.46 'e indirmiştir ($p=0.000$; Tablo 9). Bunun yanında RT+D100 ve RT+D200 grupları arasında herhangi bir fark gözlemlendi ($p=1.000$; Tablo 9).

4.2.3. nNOS pozivitite skoru

Kontrol grubundaki 0.00 ± 0.52 olan nNOS pozivitite skorunu radyoterapi grubu 2.00 ± 0.51 'e yükseltmiştir ($p=0.000$; Tablo 9). Bunun aksine nNOS pozivitite skorunu RT+D100 tedavi grubu ise radyoterapi grubundaki 2.00 ± 0.51 olan skoru, 1.00 ± 0.52 'e indirmiştir ($p=0.01$; Tablo 9). Benzer olarak RT+D200 tedavi grubu da radyoterapi grubunda 2.00 ± 0.51 olarak ölçülen nNOS pozivitite skorunu 1.00 ± 0.53 'e indirmiştir ($p=0.001$; Tablo 9). Bunun yanında RT+D100 ve RT+D200 grupları arasında herhangi bir fark gözlenmedi ($p=0.687$; Tablo 9).

4.2.4. 8-OHdG pozitifite skoru

ROT'nin neden olduğu DNA hasarını belirlemek amacıyla kullandığımız 8-OHdG primer antikorunun pozitifite skorlaması incelendiğinde kontrol grubunda 8-OHdG pozitifite skorunu ile radyoterapi grubu 8-OHdG pozitifite skoru arasında herhangi bir fark gözlenmedi ($p=0.819$; Tablo 9).

Tablo 9. Özel boyama yöntemleri uygulanmış preparatların skorlama sonuçları.

Grup	TUNEL pozitifitesi	TNF pozitifitesi	nNOS pozitifitesi	8-OHdG pozitifitesi
Kontrol	0.00±0.46	0.00±0.35	0.00±0.52	0.00±0.52
Radyoterapi	2.00±0.53 ^a	2.00±0.46 ^a	2.00±0.51 ^a	1.00±0.71 ^h
RT+D100	1.00±0.46 ^b	1.00±0.53 ^b	1.00±0.52 ^d	0.50±0.46
RT+D200	0.50±0.53 ^{c,e}	1.00±0.46 ^{b,f}	1.00±0.53 ^{b,g}	0.50±0.52

^a $p=0.000$ Kontrol grubuna kıyasla,
^b $p=0.001$ Radyoterapi grubuna kıyasla,
^c $p=0.000$ Radyoterapi grubuna kıyasla,
^d $p=0.01$ Radyoterapi grubuna kıyasla,
^e $p=0.913$ RT+D100 grubuna kıyasla,
^f $p=1.000$ RT+D100 grubuna kıyasla,
^g $p=0.687$ RT+D100 grubuna kıyasla,
^h $p=0.819$ Kontrol grubuna kıyasla

Kruskal Wallis, Tamhane T2 test

4.3. Davranış Testi Bulguları

4.3.1. Pasif Sakınma Testi ile Retansiyon Süresinin Değerlendirilmesi

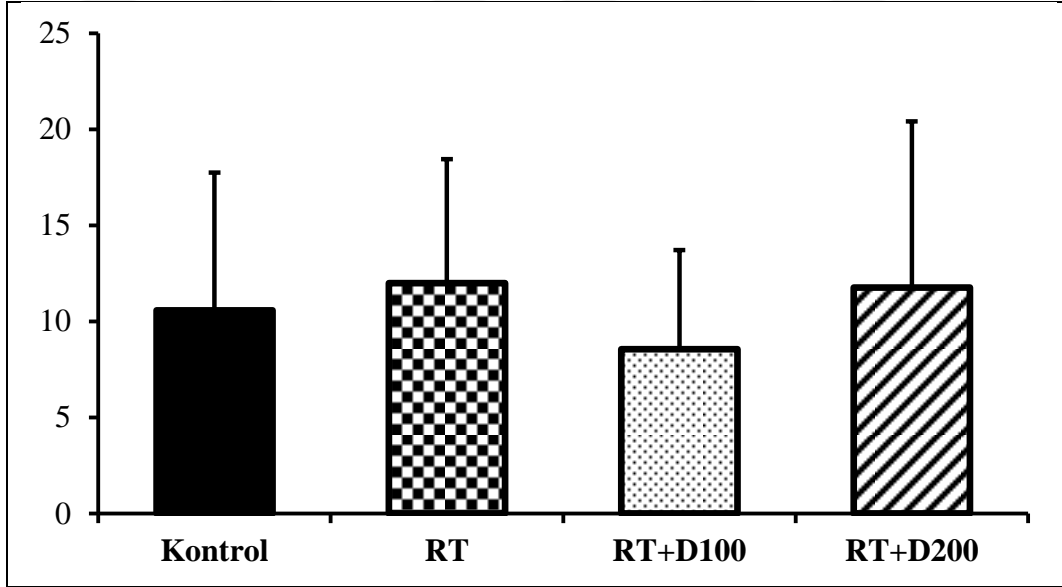
Aydınlık bölgeden karanlık bölgeye geçişi tamalayınca zeminden elektrik şoku akımına maruz bırakılan sıçanlar, karanlık bölgeye geçişle tehlikeli bir durum olduğu ile ilgili bir bağlantı kurmuş olmuştur. Bu bağlantıya istinaden öğrenilen bilginin test edilmesi için 24 saat sonra hayvanlar testin uygulandığı alana getirilmiştir ve KBGZ'leri ölçülmüştür.

4.3.2. Birinci Günde karanlık Bölgeye Geçiş Zamanının Değerlendirilmesi

Birinci gün sonunda karanlık bölgeye geçme zamanı değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($F(0,406)=31$; $p=0.750$) (Şekil 16) (Tablo 10).

Tablo 10. Grupların birinci gün sonunda KBGZ (ortalama±standart sapma) değerleri (saniye).

Gruplar	KBGZ(ortalama±standart sapma)
Kontrol	10,59±7,16
Radyoterapi	11,99±6,46
Radyoterapi+Deksmedetomidin-100	8,55±5,17
Radyoterapi+Deksmedetomidin-200	11,76±8,66



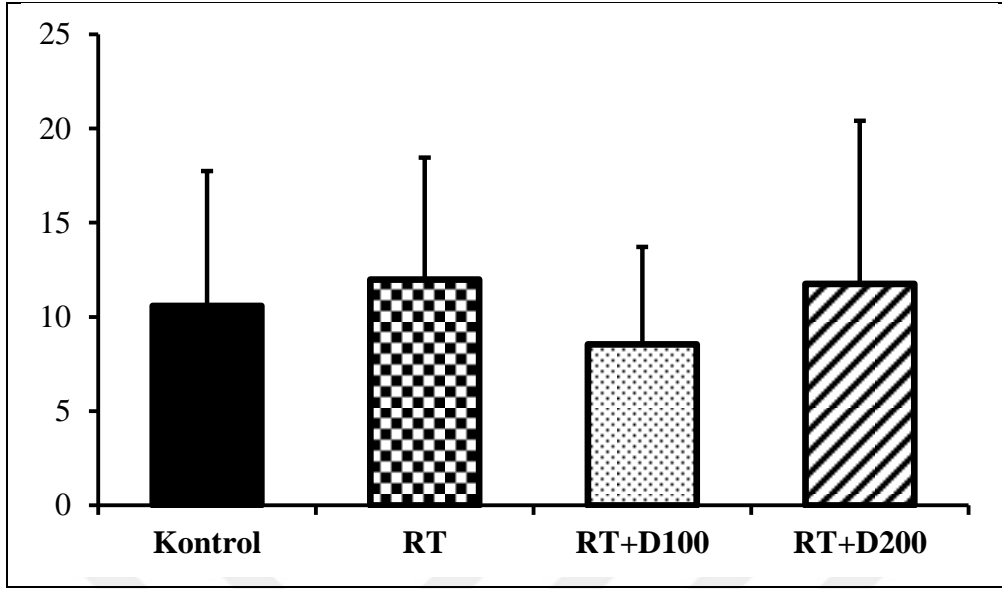
Şekil 16. Birinci gün sonunda deneklerin karanlık bölmeğe geçme zamanları

4.3.3. İkinci Günde Karanlık Bölgeye Geçiş Zamanının Değerlendirilmesi

İkinci gün sonunda karanlık bölgeye geçme zamanı değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($X^2(5,835)=3$; $p=0,120$) (Şekil 17) (Tablo 11).

Tablo 11. Grupların ikinci gün sonunda KBGZ (ortalama±standart sapma) değerleri (saniye).

Gruplar	KBGZ(ortalama±standart sapma)
Kontrol	300±0
Radyoterapi	161,05±149,06
Radyoterapi+Deksmedetomidin-100	236,46±101,26
Radyoterapi+Deksmedetomidin-200	245,16±96,42



Şekil 17. İkinci gün sonunda deneklerin karanlık bölmeğe geçme zamanları

4.4. Biyokimyasal Bulgular

Grupların Ortalama MDA ve GSH Konsantrasyonları

Çalışmamızda oluşturulan tüm gruplara ait deneklerden alınan doku örneklerinde MDA ve GSH konsantrasyonları ölçülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıdaki tablo 12’de sunulmuştur.

Tablo 12. Sağ hemisfer dokusuna ait MDA ve GSH seviyeleri.

Parametreler	Kontrol	Radyoterapi	RT+D100	RT+D200
MDA	26,95±4 ^{a,b}	32,63±3,52	30,03±2,49	31,74±5,04
GSH	1,42±0,20 ^{c,d,e}	1,65±0,11 ^f	1,79±0,18	1,86±0,28

^ap=0.007; RT ile karşılaştırıldığında

^bp=0.020; RT+D200 ile karşılaştırıldığında

^cp=0.029; RT ile karşılaştırıldığında

^dp=0.001; RT+D100 ile karşılaştırıldığında

^ep=0.000; RT+D200 ile karşılaştırıldığında

^fp=0.049; RT+D200 ile karşılaştırıldığında

5. TARTIŞMA

Radyoterapi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılan en önemli küratif tedavi seçeneklerinden biri olduğu kadar palyatif tedavi yöntemlerinde de etkin bir şekilde uygulanmaktadır (128,129). Kanser tedavisi için radyoterapi alan hastalar kanser hastalığının verdiği semptomların yanında tedaviye yönelik uygulamalarda yan etkiler oluşmaktadır (129,130). Bu durumda, yaşam kalitesinin olumsuz etkilenmesi nedeniyle tedavinin düzenlenmesinde farklı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle sinir sistemine olan etkilerde nörobilişsel eksikliklerin azaltılması için etkili müdahalelerin oluşturulması için radyoterapinin neden olduğu hasarın kapsamını ve kesin mekanizmalarını karakterize etmek zorunludur.

Daha önce yapılan çalışmalarda, radyoterapinin öğrenme ve hafızada sorunlara yol açtığı belirtilmiştir (43,130–133). Radyoterapi ile tedavi edilmeye çalışılan gerek çocuk gerekse yetişkin hastalarda bilişsel fonksiyonlarda bozukluk gözlenmiştir (134). Oluşan bilişsel bozukluklar hastanın tedaviye uyumunu etkilemektedir. Bu nedenle beyin dokusunda oluşan hasarın içeriği ve karakterizasyonu olumsuz etkileri önlemeye yönelik uygulamaların seçimi için zorunludur. Çalışmamızda akut dönemde oluşan değişiklikler farklı parametrelerle ve deksmedetomidin uygulamasının bu değişiklikler üzerindeki etkileri incelenerek değerlendirilmiştir.

Literatürdeki çalışmalar gözden geçirildiğinde beyindeki normal dokunun, tek doz ışınlamaya olumsuz yanıtının erken olduğu, ancak fraksiyone ışınlamaya yanıtının geciktiği yaygın olarak kabul edilmektedir. Enflamatuvar moleküllerin ekspresyon seviyelerinde, tekli ve fraksiyonlu dozlar arasındaki farklılıklar bildirilmiştir. Bununla beraber Ganesan ve arkadaşları çalışmalarında 6,7 Gy gamma ışınının sıçanların nörolojik işlevlerinde ve davranışlarında bozulmalar gözlemlemişlerdir (135). Radyoterapi sonrası X ışını maruziyetine bağlı olarak sıçan davranışları üzerine yapılan pasif sakınma testi çalışmaları genel olarak gözden geçirildiğinde; Kim ve arkadaşlarının fareler üzerine yaptığı çalışmada daha düşük doz ışınlamanın 24 saat sonrasında pasif sakınma testi bulgularında bozulma olduğu tespit edilmiştir. Muhtemelen nörogenezisteki bozulma ile ilgili olabileceğini düşündüklerini belirtmişlerdir (105). Benzer olarak Wallace ve arkadaşları çalışmalarında hipokampal

dentat girustaki granüler hücre sayısında azalmaya paralel olarak pasif sakınma testinde ışınlanmamış sıçanlara göre ışınlanmış sıçanlarda yanıtın azalmış olduğu gözlemlenmiştir (136). Çalışmalarda 25 Gy dozunda ışınlama maruziyetinden bir yıl sonra altı aylık erkek sıçanlar üzerinde yapılan bir pasif sakınma testi ile kognitif fonksiyonları değerlendirildiğinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuş olduğu raporlanmıştır (132). Sıçanlar üzerinde 12 ay sonra yapılan bir değerlendirmede X-ışınına maruz bırakılan grupta istatistiksel olarak anlamlı pasif sakınma testinde kognitif bozukluk meydana gelmiş olduğu belirtilmiştir (132). Raber ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sıçanlar üzerine 10 Gy tek doz uygulanan X-ışınına maruziyet sonucunda 3 ay sonra davranış testlerinde bozulma tespit edilmiştir, bu duruma paralel olarak dentat girusta proliferasyonda azalma tespit edilmiştir (137). Rola ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada 5 Gy X-ışını maruziyeti sonucunda nörogeneziste defisit tespit edilmiş bir önceki çalışmadakine benzer olarak davranış testlerinde hafızada bozulmalar tespit edilmiştir (138). Oh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 5 Gy tek doz radyasyon maruziyeti sonucunda nörogeneziste bozulma, oksidatif strese artma, bilişsel testlerde bozulma tespit edilmiştir. Bu etki antioksidan etkilerinin bulunduğu bir ajan ile tersine çevrilmiştir (20). Birkaç çalışmada kemirgenlerde uygulanan ışınlamanın değerlendirme sonucunda hipokampusta proliferasyon olan hücrelerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Hipokampal nörogenezisin sıklıkla hipokampus bağımlı öğrenme ve hafıza ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (137,138). Bununla beraber pasif sakınma testi ile hafızada bozulma meydana gelmiş olduğu belirtilmiştir. Işınlamaya bağlı gelişen hafızada bozukluğunu antioksidan etkilerinin görüldüğü flavonoid türevlerinin, bu etkiyi engellendiği belirtilmiştir (20). Neonatal sıçanlarda doğduktan sonra toplam 7 günde toplamda 13 Gy dozunda ışınlanan sıçanların 12 ay sonra hipokampal bölgelerindeki hasara paralel olarak davranış testlerinin etkilendiği bildirilmiştir (139). Olsen ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada 4 Gy tüm vücut ışınlamaya maruz bırakılmasından 13 gün sonra, davranışsal ve bilişsel değişiklikler gözlenmiştir (140). Işınlamanın nöronlar üzerine olan etkilerini ele alan başka bir çalışmada tek doz 10 Gy X ışını ile DG'deki proliferasyon olan hücrelerde azalma ve apoptotik hücre sayısının artmış olduğu raporlanmıştır (141). Kumar ve arkadaşlarının 6 aylık dişi fareler üzerinde yaptığı çalışmada 2, 5, 8 Gy tüm vücut gama ışını maruziyeti 24 saat ve 48 saat sonra davranış testlerinde bozulma meydana geldiği tespit edilmiştir (142). Bunun aksine

Yaneoka ve arkadaşları 6 aylık sıçanlara toplam 40 Gy X ışınlaması maruziyetinden 6 ve 9 ay sonra uyguladıkları pasif sakınma testi sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (143). Benzer olarak çalışmamızda öğrenme ve hafızanın nasıl işlediği ile ilgili veri toplamak için pasif sakınma testi hayvanlar sakrifiye edilmeden önce uygulanmıştır. Analizler sonucunda 8 Gy X ışınına maruz bırakılan sıçanlarda hipokampal hafıza ve öğrenme ile ilgili değişiklikleri değerlendirmek için yapılan pasif sakınma testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Merkezi kolinerjik sinyaller uzun zamandır hafıza kazanımı, konsolidasyon ve dikkat dahil olmak üzere çeşitli bilişsel süreçlere dahil olmuştur. Asetilkolin, genellikle hem hafıza hem de öğrenmeyi kolaylaştırabilen hipokampustaki ana nörotransmitter olarak bilinir (144). Kolinerjik nöronal sistemin yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili bilişsel bozukluklarda önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir (145). Bu bağlamda ortaya konulan çalışma sonuçları doğrultusunda radyoterapinin öğrenme ve hafızada önemli bir yere sahip olan kolinerjik sistem aktivitesi üzerinde herhangi bir etki etmediği düşünülebilir. Bu durum radyoterapi dozunun yetersizliği, sıçanların yaşı, radyoterapi sonrası ışığa olan hassasiyet değişikliği gibi nedenlerde dolayı kolinerjik sistem üzerindeki uyarıcı etkisini değiştirmesi ve beyindeki asetilkolin seviyesinin modülasyonunu etkilemesi şeklinde açıklanabilir. Bu bağlamda, radyoterapinin ve radyoterapi sonucu ortaya çıkabilecek muhtemel olumsuz etkileri minimize etmek için verilen deksmedetomidinin bilişsel işlev bozukluğunun yönetimindeki potansiyelini araştırmak için ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç duyulduğu kanısındayız.

Radyoterapiye bağlı ışınlama maruziyetine bağlı olarak gelişen beyin dokusu hasarını histopatolojik olarak ele alan çalışmalar çok az olmakla beraber yapılan çalışmalarda ışınlamanın etkisiyle beyinde nöronlar ve oligodendrositlerin proliferasyonunda azalma, nekroz, apoptoz ve ödematoz alanlar gözlemlenmiştir (60,146–152). Daha önce yapılan radyoterapi akut etkisini ele alan çalışmalarında 5 Gy ve üstü dozlarda ışınlamanın sıçanların beyininde vasküler konjesyon, gerek nöronlarda gerekse oligodendrositlerde nekroz ve apoptoza neden olduğu bildirilmiştir (153–156). Mansour ve arkadaşlarının günümüzde yaptığı çalışmasında ise tüm vücut 5 Gy gamma radyasyon maruziyeti sonucunda sıçanların hipokampusta nöronlarda ve striatumda nükleer piknozis, kan damarlarında konjesyon gözlenmiştir, serebral kortekste herhangi bir patoloji gözlenmemiştir (157). El-maraghi ve arkadaşları sıçanlar üzerine yaptıkları

ışınlama çalışmalarında serebral kortekste nöronlarda vakuolizasyon, nüklear piknozis ve fokal gliosis histopatolojik bulgularını raporlamıştır (158). Çalışmamızda da benzer olarak serebral kortekste nöronlarda ve glial hücrelerde apoptozis ve nekrozis gözlemledik.

Radyoterapide ışınlama maruziyetinin hipokampus üzerine olan etkilerini inceleyen çalışmalarda radyoterapi sonrası hücresel ve immun yanıtın bozulduğu (159), piknotik hücrelerin görüldüğü (160), glial hücre proliferasyonunun arttığı (161,162), perivasküler ödem (163), KBB'de değişiklikler (163,164), miyelinizasyonda değişiklikler (165) gözlemlendiği bildirilmiştir. Yan ve arkadaşlarının radyasyona bağlı hipokampus bölgesinde histopatolojik değerlendirmelerde, hücre sayısında azalış ve ödem gözlenmiştir (166). Daha önce sıçanlar üzerinde yapılan ışınlama çalışmalarında verilen doz ve süreye bağlı olarak oligodendrositlerin sayısında azalma tespit edilmiştir (167,168). Benzer olarak Cai ve arkadaşlarının çalışmasında 10 Gy X-ışınına maruz bıraktığı farelerde 2 saat sonra oligodendrosit ve astrosit gen ifadelerinde artış saptanmıştır (169). Literatürdeki çalışmalarda radyoterapiye bağlı nöronal canlılık kaybı ve nörotransmitterlerde değişiklik (170) ve nörogeneziste defisit gözlenmiştir (41). Tek doz ve fraksiyone uygulanan dozların nörogenezis üzerine farklı şekilde etki oluşturduğu bilinmektedir (171). Fareler üzerine yapılan bir çalışmada, tüm vücut 10 Gy gama ışınına maruz bırakıldığında, kısa dönemde KBB'de değişiklik görülmediği belirtilmiştir (172). Cui ve arkadaşları çalışmalarında 8,5 Gy tek doz tüm vücut ışınlamasında 24 ve 84 saat sonra nekrotik nöronlar olduğunu bildirmiştir (173). Benzer olarak çalışmamızda ödematoz alanlar, nöron ve oligodendrositlerde nekroz ve apoptoz saptadık.

Sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada tüm vücut 6,75 Gy gama ışınına maruz bırakıldıktan 24 saat sonra sakrifiye edildiğinde plazma glutatyon seviyeleri ve MDA seviyeleri radyoterapi grubunda kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur (174). Yapılan bir çalışmada, 6 Gy tek doz tüm vücut gama ışınına maruz bırakıldıktan 24 saat sonra sakrifiye edilmiştir. Oksidatif stres değerlendirmede kullanılan lipid peroksidasyon ürünü olan MDA seviyesinin ışınlanmış beyin homojenatlarında kontrol grubuna kıyasla artmış olduğu saptanmıştır (97). Swiss albino fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada 6 Gy radyoterapi uygulanmış, 1 ve 7 gün sonra beyin dokularında

MDA ve GSH tayini yapılmıştır. MDA sonuçları bu çalışmadaki sonuçlara benzer olarak ışınlanan grupta artış göstermektedir. GSH seviyesi radyoterapi alan grupta daha düşük çıkmıştır (19). El-Maraghi ve arkadaşlarının sıçanlar üzerine yaptığı çalışmada tek doz 6 Gy tüm vücut ışınlanmasından 1, 2 ve 3. hafta sonlarında bir önceki çalışmayla benzer olarak MDA seviyelerinde artış, GSH seviyelerinde düşüş tespit edilmiştir (158). Başka bir çalışmada sıçanlara tek doz 8 Gy tüm vücut ışınlama uygulanmıştır. Hayvanlar ışınlamadan 24 saat sonra sakrifiye edilmiştir. İyonize radyasyona maruz kalmış grupta lipid protein oranı anlamlı olarak artmıştır. Lipid peroksidasyonunun bir sonucu olarak lipidlerin bozulması raporlanmıştır. Ek olarak, radyasyon proteinlerin ikincil yapısını ve membran lipid yapısını değiştirdiği belirtilmiştir (175). Refaat ile arkadaşlarının yaptığı çalışmada tüm vücut 4 ve 6 Gy uygulanmış 24 saat sonra MDA seviyesini anlamlı olarak yüksek, GSH seviyesini anlamlı olarak düşük bulunmuştur (19). 7 haftalık erkek sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada tüm vücut 8 Gy gama ışınına maruz bırakılmıştır. 24 saat sonra incelendiğinde beyinde lipid peroksidasyonu lehine bulgulara rastlanıldığı belirtilmiştir (176). Cui ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, erkek farelerin 8,5 Gy doz tüm vücut ışınına maruz bırakılmasından 1 gün sonra MDA seviyelerinin sağlıklı kontrol grubuna göre artmış olduğu belirtilmiştir (173). Yan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada uygulanan doza paralel olarak MDA seviyelerinde ışınlanan gruplarda artış ve GSH konsantrasyonlarında kontrol grubuna kıyasla azalma saptanmıştır (166). Çalışmamız bünyesinde sıçanların doku örneklerinde MDA ve GSH biyokimyasal analizleri yapıldı. Radyoterapi grubunda MDA ve GSH düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi. MDA seviyelerinin artması beklenen durumken, GSH seviyelerinde hasar oluşturulan grupta artması beklenen bulguların tersi yönde idi ve çoğu literatür sonuçları ile uyumlu değildi. Bu durum, radyoterapi maruziyetine bağlı olarak artan serbest radikallerin intrinsik antioksidan korumasını inhibe ederek oksidatif stresin meydana gelmesi sonucunda yüksek düzeyde serbest radikal oluşması ve oluşan bu maddelerin zararsız hale getirilebilmesi için bu enzimlerin aktivitesinin arttığı şeklinde yorumlanabilir (104). Kojima ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada düşük doz radyasyon maruziyetinin MDA seviyelerini yükselttiği, GSH seviyelerini düşürdüğü tespit edilmiştir (177). Başka bir çalışmada düşük doz radyasyon maruziyeti sonucu glutatyon sentezinde görev alan enzimlerin aktivitelerinin arttığı saptanmıştır (178). Sharma ve arkadaşlarının düşük doz radyasyon sonrasında beyin dokusunda

GSH seviyelerinin yükselmiş olduğu saptanmıştır. Glutatyon-S-transferaz enzim aktivitesinde artış saptanmıştır. Bu bulgulara karşın, lipid peroksidasyonunun beyinde azalmış olduğu saptanırken kanda bu durumun artmış olduğu saptanmıştır (179). GSH seviyesinde tedavi gruplarında radyoterapi grubuna göre artış olması ile ileride oluşabilecek daha büyük hasarı önlemek için olumlu yönde etkiye sahip olabilir. Ayrıca tedavi gruplarında radyoterapi grubuna göre MDA seviyelerinin biyosentezinin ve indüksiyonunun azalması radyoterapiye bağlı olarak artan serbest oksijen radikallerine karşı deksmedetomidinin bu radikalleri süpürerek koruyucu etki gösterdiği şeklinde açıklanabilir. Bu bağlamda, meydana gelen bu etkilerin organizma türlerinin ve biyokimyasal parametrelerin çeşitlendirilerek detaylı bir biçimde araştırılması gerektiği düşüncesindeyiz. Kutanis ve arkadaşları tek doz 10 Gy tüm vücut ışınlamasının plazma MDA seviyesini düşürdüğü ve antioksidan enzimlerin miktarını artırdığını göstermişlerdir (30). Benzer olarak çalışmamızda 8 Gy X ışının neden olduğu oksidatif stresi MDA seviyesini azalttığını gözlemledik.

TNF-alfa beyin hasarını takiben güçlü bir şekilde indüklenebilir ve nöroinflamasyon ve nörodejenerasyonu ilerletir. Bu sitokin seviyesinin yükselmesi, çeşitli bulaşıcı, nörolojik, nörodejeneratif ve nörotoksik koşulların patolojik etkileriyle ilişkilendirilmiştir (109). Işınlama sonrası hasara karşı çeşitli inflamatuvar sitokinlerde artış saptanmaktadır (15,180). Işınlama sonrasında beyin dokusu TNF- α ekspresyonunu ve pozitivitesini ele alan çalışmalar bulunmamakla beraber çok sayıda serum TNF- α ekspresyonunu inceleyen çalışmalar mevcuttur. Serum TNF- α ekspresyonunu ele alan çalışmalardan Hwang ve arkadaşları çalışmalarında ışınlamadan birkaç saat içinde hipokampusta dentat girusta TNF- α ifadesinin arttığını bildirmiştir (161). Bununla beraber Haveman ve arkadaşlarının 8-10 haftalık dişi sıçanlar üzerine yaptıkları çalışmalarında tüm vücut ışınlama sonrası serum TNF, IL-1, IL-6 seviyelerine bakılmış, 24 saat sonra IL-6 seviyelerinde artış saptanmış fakat TNF ve IL-1 seviyelerinde artış görülmemiştir (181). 6-7 haftalık erkek farelerde yapılan çalışmada; farklı dozlarda (2, 10, 20 Gy tek doz ve 10, 20, 40 Gy fraksiyone doz) ışınlanmış hayvanlarda farklı sürelerde TNF-alfa mRNA ifadesi seviyelerine baktıklarında, 2 Gy doza maruz kalan fareler de yalnızca 2. saatte mRNA ekspresyonunda artış saptanmıştır (182). Erkek sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada 10 Gy dozunda radyasyona maruz kalmanın sitokin seviyelerinin 2-4 saat sonra pik yapmasına ve 24 saat sonra kontrol seviyelerine

yaklaşmasına neden olduğu raporlanmıştır (183). Bizim çalışmamızda ise radyoterapiye maruz bırakıldıktan 24 saat sonra sakrifiye edilen sıçanlar da inflamatuvar sitokinlerden olan beyin dokusu TNF- α seviyelerinin artmış olduğu gözlemlendi. Düşüncemiz literatürlerde vurgulanan serum TNF- α ekspresyonunun ışınlamadan birkaç saat içinde pik yapıp yükseldikten 24 saatten sonrası aniden düşmesi ve ilerleyen saatlerde tekrar yükseldiği raporlanmasına rağmen doku TNF- α pozitivitesini ilk olarak ele alan ilk çalışmamızda dokuda TNF- α ekspresyonunun bu değişime hızlıca yanıt vermemiş olabileceğidir. Yapılan bir çalışmada mRNA ekspresyonundan sonra oluşan sekresyonlar daha geç dönemde oluşmakta bu nedenle mRNA ekspresyonu ve oluşan sekresyonların seviyesindeki korelasyon geç dönemde görülmekte olduğu belirtilmiş ve düşüncemizi destekler niteliktedir (184).

Aşırı nöronal nitrik oksit sentaz ifadesinin daha önce yapılan çalışmalarda nörolojik hasara yol açtığı belirtilmiştir (185). Voevodskaya and Vanin çalışmalarında subletal doz (700 röntgen) kobalt 60 gama radyasyona 10 dakika boyunca maruziyeti sonucunda karaciğer, barsak, akciğer, böbrek, beyin, dalak, kalp dokularında NO oluşumunda artış saptanmıştır (186). Biyokimyasal analiz ile değerlendirilen NO seviyesi 4 ve 6 Gy dozundaki ışınlamalardan sonra beyin dokusunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (187). Yine Lestaevl ve arkadaşları erişkin erkek sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmalarında 2 Gy, 10 Gy, 15 Gy tüm vücut gama ışınına maruziyetinin 24 saat kortikal NO seviyelerine artış olduğunu göstermişlerdir (188). El-Maraghi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tüm vücut 6 Gy dozunda radyasyona maruz kalan yetişkin erkek sıçanlarda beyinde haftalar sonra NO seviyelerinin artmış olduğu tespit edilmiştir (158). Benzer olarak bu çalışmada nNOS seviyelerinin radyoterapi alan grupta kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

İnsanlar üzerine verilen radyoterapinin periferik kanda oluşturduğu oksidatif stres sonucu DNA hasarına neden olduğu daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir (189). Radyoterapiye bağlı olarak ışınlamanın beyin dokusu üzerine olan etkisini inceleyen çalışmalarda ROT'un neden olduğu DNA kırılımlarında 8-OHdG primer antikorunun immunohistokimyasal olarak etkisi inceleyen çalışma bulunmamakla beraber Fardid ve arkadaşları sıçanlar üzerine yapılan çalışmalarında pelvik 3 Gy gama ışınına maruz

birakıldıktan 24 saat sonra akciğer dokularında istatistiksel olarak anlamlı 8-OHdG seviyesinde artış gözlenmiştir (190). Buna ek olarak, Cui ve arkadaşları ise fareler üzerine yapılan bir çalışmada tüm vücut tek doz 8,5 Gy ışınlanma sonrasında 24 ve 84. saat sonra serebellumda 8-OHdG seviyesinde artış olduğunu bildirmiştir (173). Yan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tek doz 0.5 Gy, 1 Gy ve 2 Gy ışınına maruz bırakılan geç erişkin farelerin biyokimyasal olarak 8-OHdG konsantrasyonunun artmış olduğu saptanmış, immunfloresan incelemede CA1 lokalizasyonunda farkedilebilir pozitivite gözlenmiştir (166). Erkek fareler üzerinde yapılan çalışmada tüm vücut 1.5 Gy ışınına maruz bırakılmış. 30 gün sonra serum 8-OHdG seviyelerinin artışı saptanmıştır (133). Bizim çalışmamızda ise tüm vücudun etkilenmesi sonucunda beyin dokusunun 8-OHdG primer antikoru ile boyamada hücresel düzeyde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Mikrodamarlarda birikime bağlı pozitivite saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda radyoterapide ışınlama maruziyetinin zaman ve doza bağımlı olarak nöronlarda apoptoza neden olduğu raporlanmıştır. Li ve arkadaşları çalışmalarında, 4 Gy tüm vücut ışınlanmasında 24 saat sonra nöronlardaki Caspase-3 ve TUNEL ekspresyonunu azaltarak beyin dokusunda koruyucu etkileri olduğunu bildirmişlerdir (14). Bunun yanında Kim ve arkadaşları çalışmalarında 0 Gy, 0.5 Gy, 2 Gy, 4 Gy gama ışınlanmasının hipokampusta apoptotik hücreler TUNEL pozitivitesi 6. ve 12. saatlerde yüksek miktarda iken 24 saatten sonra kontrol grubuna yakın sayıda TUNEL pozitif hücre izlendiğini bildirmiştir (105). Bizim çalışmamızda ise X ışınlanmasında 24 saat sonra kontrol grubuna kıyasla apoptotik hücrelerin sayısının arttırdığı gözlemlendi.

Çalışmalarda deksmedetomidin nöroproteksiyon, lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, TNF- α üretimini inhibisyonu, endojen antioksidan savunma enzimlerinde artış ve doku NO oluşumunda azaltıcı etkisi olduğu raporlanmıştır. Işınlamaya karşı deksmedetominin koruyucu etkilerini ele alan sınırlı sayıda çalışma olmakla beraber deksmedetominin beyin kan akımını azaltarak etkili bir nöroproteksiyon sağladığı bildirilmiştir (191,192). Bunun yanında bazı yayınların kan akımını azaltarak nöronlara zarar verdiği söylenmiştir (192). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, beyin iskemisi sırasında uygulanan deksmedetomidin tarafından indüklenen nöroproteksiyonda hücre

dışı sinyalle düzenlenmiş kinazın dahil olduğu öne sürülmektedir (93). Deksmetomidin enflamatuvar mediatörlerin sentezini engellediğini raporlayan çalışmalar bulunmaktadır (193,194). Akpınar ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği deneysel modelde sıçanların hipokampusunda apoptoz ve oksidatif stres açısından deksmedetomidin dozunun nöroprotektif etkisini belirtmişlerdir (195). Benzer olarak Luo ve arkadaşları deksmedetomidin beyin dokusu MDA seviyesini azaltarak ve GSH seviyesini artırarak oksidatif stresi inhibe ettiği ve TNF- α üretimini azaltarak inflamasyonu engellediği ve böylece nöroprotektif etki gösterdiğini raporlamışlardır (196). Benzer olarak çalışmamızda deksmedetomidinin TNF- α üretimini azalttığı gözlemlendi.

Deksmetomidinin ROT üretimini azaltarak oksidatif stresi inhibisyonu, anti-enflamatuvar, özelliklerinin yanında ROT üretimine bağlı DNA hasarını azalttığı ve anti-apoptotik etkisini olduğu bildirilmiştir. Anti-apoptotik etkisini anti-apoptotik protein Bcl-2'nin ekspresyonunu regüle ederek, proapoptotik protein Bax ekspresyonunu inhibe ederek, sitokrom c'nin sitozol içerisine salınmasını azaltarak ve proapoptotik kaspaz 3 ve 9 aktivasyonlarını azaltarak gösterdiği bildirilmiştir. Benzer olarak çalışmamızda ışınlama sonucu nöronlarda ve oligodendrositlerde gözlemlenen TUNEL pozitivitesini azaltarak apoptozu engellediğini gözlemledik. Işınlamanın nöronlar üzerine olan etkilerini ele alan başka bir çalışmada tek doz 10 Gy X ışını ile DG'deki proliferen olan hücrelerde azalma ve apoptotik hücre sayısının artmış olduğu raporlanmıştır (141).

Çalışmamızda bir takım sınırlamalar mevcuttur. En önemlisi kolinerjik nöronal sistemin yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili bilişsel bozukluklarda önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. Bu bağlamda ortaya konulan çalışma sonuçları doğrultusunda radyoterapinin öğrenme ve hafızada önemli bir yere sahip olan kolinerjik sistem aktivitesi üzerinde herhangi bir etki etmediği düşünülebilir. Bu durum radyoterapi dozunun yetersizliği, sıçanların yaşı, radyoterapi sonrası ışığa olan hassasiyet değişikliği gibi nedenlerde dolayı kolinerjik sistem üzerindeki uyarıcı etkisini değiştirmesi ve beyindeki asetilkolin seviyesinin modülasyonunu etkilemesi şeklinde açıklanabilir. Bu bağlamda, radyoterapinin ve radyoterapi sonucu ortaya çıkabilecek muhtemel olumsuz etkileri minimize etmek için verilen deksmedetomidinin bilişsel

işlev bozukluğunun yönetimindeki potansiyelini araştırmak için ileri düzeyde çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu kanısındayız.



6. SONUÇLAR

1. Radyoterapi grubunda kontrol grubuna kıyasla histopatolojik değişiklikler saptanmış ve tedavi gruplarında bu durumun azaldığı tespit edilmiştir.
2. Radyoterapi grubunda kontrol grubuna kıyasla TUNEL, TNF- α , nNOS pozitivitesi anlamlı derecede artmış tedavi gruplarında bu durum azalmıştır.
3. Radyoterapi grubunda 8-OHdG pozitivitesi biraz artmış olmasına rağmen bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.
4. MDA seviyesi kontrol grubuna kıyasla radyoterapi grubunda artmış, RT+D100 grubunda anlamlı derecede azalmış, RT+D200 grubunda radyoterapi grubuyla anlamlı fark saptanmamıştır.
5. GSH seviyeleri sırasıyla kontrol grubuna kıyasla radyoterapi, RT+D100, RT+D200 grubunda seviyeleri artmıştır.
6. Pasif sakinme testinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.
7. Düşük doz radyoterapi maruziyeti öncesi beyinde hasarı önlemek için deksmedetomidin kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. B. W. Stewart, C. P. Wild, 2014. *World Cancer Report 2014*. International Agency for Research on Cancer, ISBN: 978-92-832-0443-5.
2. C. Allen, S. Her, D. A. Jaffray, Radiotherapy for Cancer: Present and Future. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **109**, 1–2 (2017).
3. S. M. Bentzen, Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: Radiobiology meets molecular pathology. *Nat. Rev. Cancer.* **6**, 702–713 (2006).
4. J. R. Hubenak, Q. Zhang, C. D. Branch, S. J. Kronowitz, Mechanisms of injury to normal tissue after radiotherapy: a review. *Plast. Reconstr. Surg.* **133**, 49e-56e (2014).
5. S. Ji, Y. Tian, Y. Lu, R. Sun, J. Ji, L. Zhang, S. Duan, Irradiation-induced hippocampal neurogenesis impairment is associated with epigenetic regulation of bdnf gene transcription. *Brain Res.* **1577**, 77–88 (2014).
6. M. T. Makale, C. R. McDonald, J. Hattangadi-Gluth, S. Kesari, Brain irradiation and long-term cognitive disability: Current concepts. *Nat. Rev. Neurol.* **13**, 52–64 (2017).
7. T. D. Vannorsdall, Cognitive Changes Related to Cancer Therapy. *Med. Clin. North Am.* **101**, 1115–1134 (2017).
8. J. S. Wefel, S. R. Kesler, K. R. Noll, S. B. Schagen, Clinical Characteristics, Pathophysiology, and Management of Noncentral Nervous System Cancer-Related Cognitive Impairment in Adults. *CA. Cancer J. Clin.* **65**, 123–138 (2015).
9. N. G. Burnet, R. Wurm, J. Nyman, J. H. Peacock, Normal tissue radiosensitivity - how important is it? *Clin. Oncol.* **8**, 25–34 (1996).
10. I. Požgain, Z. Požgain, D. Degmečić, Placebo And Nocebo Effect: A Mini-Review. *Psychiatr. Danub.* **26**, 100–107 (2014).
11. E. S. Lander, Placebo Effects in Medicine. *N. Engl. J. Med.* **373**, 8–9 (2015).
12. W. Hur, S. K. Yoon, Molecular pathogenesis of radiation-induced cell toxicity in stem cells. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 2749 (2017).
13. L. L. Lipp, Brain perfusion and oxygenation. *Crit. Care Nurs. Clin. North Am.* **26**, 389–398 (2014).
14. J. Li, G. Zhang, Z. Meng, L. Wang, Neuroprotective effect of acute melatonin treatment on hippocampal neurons against irradiation by inhibition of caspase - 3. *Exp. Ther. Med.* **11**, 2385–2390 (2016).
15. M. Gupta, S. K. Mishra, B. S. H. Kumar, S. Khushu, P. Rana, Early detection of whole body radiation induced microstructural and neuroinflammatory changes in hippocampus: A diffusion tensor imaging and gene expression study. *J. Neurosci. Res.* **95**, 1067–1078 (2017).
16. N. Chen, R. J. Xu, L. L. Wang, M. Zhang, S. C. Feng, J. Y. Zhou, Y. Tu, Protective Effects of Magnesium Sulfate on Radiation Induced Brain Injury in Rats. *Curr. Drug Deliv.* **15**, 1159–1166 (2018).
17. L. Yang, J. Yang, G. Li, Y. Li, R. Wu, J. Cheng, Y. Tang, Pathophysiological Responses in Rat and Mouse Models of Radiation-Induced Brain Injury. *Mol. Neurobiol.* **54**, 1022–1032 (2017).
18. A. Ayala, M. F. Muñoz, S. Argüelle, Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014**, 1–32 (2014).

19. R. Refaat, D. Sarhan, M. Kotb, E. El-Abd, E. El-Bassiouni, Post-irradiation protective effects of ectoine on brain and testicles in male mice. *Pharmacol. Reports.* **70**, 304–308 (2018).
20. S. B. Oh, H. R. Park, Y. J. Jang, S. Y. Choi, T. G. Son, J. Lee, Baicalein attenuates impaired hippocampal neurogenesis and the neurocognitive deficits induced by γ -ray radiation. *Br. J. Pharmacol.* **168**, 421–431 (2013).
21. V. K. Singh, E. J. Ducey, D. S. Brown, M. H. Whitnall, A review of radiation countermeasure work ongoing at the Armed Forces Radiobiology Research Institute. *Int. J. Radiat. Biol.* **88**, 296–310 (2012).
22. M. Z. Kamran, R. Atul, N. Kaur, S. Souvik, T. Vibha, Radioprotective Agents: Strategies and Translational Advances. *Med. Res. Rev.* **36**, 461–493 (2016).
23. F. Mercantepe, T. Mercantepe, A. Topcu, A. Yılmaz, L. Tumkaya, Protective effects of amifostine, curcumin, and melatonin against cisplatin-induced acute kidney injury. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.* **391**, 915–931 (2018).
24. T. Mercantepe, D. Unal, L. Tümüka, Z. A. Yazici, Protective effects of amifostine, curcumin and caffeic acid phenethyl ester against cisplatin-induced testis tissue damage in rats. *Exp. Ther. Med.* **15**, 3404–3412 (2018).
25. U. Förstermann, W. C. Sessa, Nitric oxide synthases: Regulation and function. *Eur. Heart J.* **33**, 829–837 (2012).
26. I. S. Magura, O. M. Rozhmanova, Oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Biopolym. Cell.* **13**, 513–515 (1997).
27. Precedex. (Erişim tarihi: 2019). https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/1999/210381bl.pdf.
28. Y. Wang, R. Han, Z. Zuo, Dexmedetomidine-induced neuroprotection: is it translational? *Transl. Perioper. Pain Med.* **1**, 15–19 (2016).
29. M. Schoeler, P. D. Loetscher, R. Rossaint, A. V Fahlenkamp, G. Eberhardt, S. Rex, J. Weis, M. Coburn, Dexmedetomidine is neuroprotective in an in vitro model for traumatic brain injury. *BMC Neurol.* **12** (2012), doi:10.1186/1471-2377-12-20.
30. D. Kutanis, E. Erturk, A. Besir, Y. Demirci, S. Kayir, A. Akdogan, B. Vanizor Kural, Z. Bahat, E. Canyilmaz, H. Kara, Dexmedetomidine acts as an oxidative damage prophylactic in rats exposed to ionizing radiation. *J. Clin. Anesth.* **34**, 577–585 (2016).
31. X. Ren, H. Ma, Z. Zuo, Dexmedetomidine Postconditioning Reduces Brain Injury after Brain Hypoxia-Ischemia in Neonatal Rats. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **11**, 238–247 (2016).
32. World Health Organisation, Global cancer data. *Int. Agency Res. cancer* (2018), pp. 1–3.
33. G. D. Hammer, S. J. McPhee, 2014. *Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine*. McGraw Hill Medical Books, 7. Baskı, ISBN: 9781260288513, 762s.
34. K. J. Harrington, The biology of cancer. *Med. (United Kingdom).* **44**, 1–5 (2016).
35. R. A. Baan, B. W. Stewart, K. Straif, 2019. *Tumour Site Concordance and Mechanisms of Carcinogenesis*.
36. Cancer Treatment. *Natl. Cancer Inst.* (Erişim tarihi: 2019) <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment>.
37. E. J. Hall, G. J. Amato, 2012. *Radiobiology for the Radiologist*. Lippincott Williams & Wilkins. 7. Baskı. ISBN: 978-1-60831-193-4, 576 s, C. V. Mitchell (Ed).

38. R. Çetingöz, M. Garipağaoğlu, C. Uzal, 2018. *Temel ve Klinik Radyoterapi*. Türk Radyasyon Onkolojisi Derneği (TROD) Yayınları. 4. Baskı. ISBN: 978-605-63913-0-9, H. Bilge, Ş. Ç. Gökçe, G. Özyiğit, O. G. Yıldız (Ed).
39. A. C. Müller, S. Pigorsch, C. Beyer, C. Lautenschläger, J. Dunst, Radioprotective effects of amifostine in vitro and in vivo measured with the comet assay. *Strahlentherapie und Onkol.* **180**, 517–525 (2004).
40. M. Gupta, P. Rana, R. Trivedi, B. S. H. Kumar, A. R. Khan, R. Soni, R. K. S. Rathore, S. Khushu, Comparative evaluation of brain neurometabolites and DTI indices following whole body and cranial irradiation: A magnetic resonance imaging and spectroscopy study. *NMR Biomed.* **26**, 1733–1741 (2013).
41. M. J. Ruitenbergh, J. Wells, P. F. Bartlett, A. R. Harvey, J. Vukovic, Enrichment increases hippocampal neurogenesis independent of blood monocyte-derived microglia presence following high-dose total body irradiation. *Brain Res. Bull.* **132**, 150–159 (2017).
42. Y. Miyachi, N. Ogawa, A. Mori, Rapid decrease in brain enkephalin content after low-dose whole-body X-irradiation of the rat. *J. Radiat. Res.* **33**, 11–15 (1992).
43. D. Greene-Schloesser, M. E. Robbins, A. M. Peiffer, E. G. Shaw, K. T. Wheeler, M. D. Chan, Radiation-induced brain injury: A review. *Front. Oncol.* **2**, 1–18 (2012).
44. K. E. Barret, S. M. Barman, S. Boitano, H. L. Brooks, 2015. *Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri. 24. Baskı. ISBN: 978-605-335-091-0, 752 s., H. Gökbel (Ed.).
45. M. Coltheart, Iconic memory and visible persistence. *Percept. Psychophys.* **27**, 183–228 (1980).
46. N. E. Özen, M. Rezakı, Prefrontal korteks : Bellek işlevi ve bunama ile ilişkisi. *Türk Psikiyatr. Derg.* **18**, 262–269 (2007).
47. N. Unsworth, R. W. Engle, On the Division of Short-Term and Working Memory: An Examination of Simple and Complex Span and Their Relation to Higher Order Abilities. *Psychol. Bull.* **133**, 1038–1066 (2007).
48. A. O. Engin, M. Calapoğlu, S. Gürbüzöğlü, Uzun Süreli Bellek ve Öğrenme. *Sos. Bilim. Enstitüsü Derg.* **2**, 251–262 (2008).
49. F. S. Hall, Y. Saber, *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays* (2014).
50. R. W. Dudek, 2016. *BRS Embriyoloji*. İstanbul Tıp Kitabevi, 1. Baskı, ISBN: 978-605-4949-42-7, T. İrez, M. Erkan (Çev. Ed.).
51. T. W. Sadler, 2017. *Langman Medikal Embriyoloji*. Palme Yayıncılık, 13. Baskı., ISBN: 978-605-355-787-6, sayfa, A. C. Başaklar (Çev. Ed.).
52. S. Webster, R. de Wreede, 2017. *Bir Bakışta Embriyoloji*. İstanbul Tıp Kitabevleri, 1. Baskı, ISBN: 978-605-9528-50-8, 114 s., E. Karaöz, H. Darıcı, A. Yaba Uçar, F. Tepeköy Özçelik (Çev. Ed.).
53. G. C. Schoenwolf, S. B. Bleyl, P. R. Brauer, P. Francis-West, *Larsen's Human Embryology* (Churchill Livingstone, Philadelphia, ed. 5, 2015).
54. K. L. Moore, T. V. N. Persaud, M. G. Torchia, 2016. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri, 10. baskı., ISBN: 978-605-335-178-8, sayfa, H. Dalgıç (Çev. Ed.).
55. L. A. Fogwe, F. B. Mesfin., Neuroanatomy, Hippocampus. *StatPearls* (2019).
56. E. L. Kier, J. H. Kim, R. K. Fulbright, R. A. Bronen, Embryology of the human fetal hippocampus: Mr imaging, anatomy, and histology. *Am. J. Neuroradiol.* **18**, 525–532 (1997).

57. A. L. Mescher, 2019. *Junqueira Temel Histoloji*. Güneş Tıp Kitabevleri, 14. Baskı, ISBN: 978-0-07-184270-5, 557s., S Solakoğlu, A. Erdoğan, H. S. Mutlu (Çev. Ed.).
58. N. Spruston, Pyramidal neurons: Dendritic structure and synaptic integration. *Nat. Rev. Neurosci.* **9**, 206–221 (2008).
59. R. H. Garman, Histology of the Central Nervous System. *Toxicol. Pathol.* **39**, 22–35 (2011).
60. D. Yamanaka, T. Kawano, A. Nishigaki, B. Aoyama, H. Tateiwa, M. Shigematsu-Locatelli, F. M. Locatelli, M. Yokoyama, Preventive effects of dexmedetomidine on the development of cognitive dysfunction following systemic inflammation in aged rats. *J. Anesth.* **31**, 25–35 (2017).
61. Z. Sun, Y. Lin, Y. Li, T. Ren, G. Du, J. Wang, X. Jin, L. C. Yang, The effect of dexmedetomidine on inflammatory inhibition and microglial polarization in BV-2 cells. *Neurol. Res.* **40**, 838–846 (2018).
62. L. P. Gartner, L. H. James, 2016. *BRS Hücre Biyolojisi ve Histolojisi*. İstanbul Tıp Kitabevi, 7. Baskı, ISBN: 978-605-4949-52-6, 422s., C. Hürdağ (Çev. Ed.).
63. R. Erzurumlu, G. Şengül, E. Ulupınar, 2018. *Nöroanatomi*. Güneş Tıp Kitabevi, 1. Baskı. ISBN: 9789752777477, 496s.
64. M. Eşrefoğlu, 2016. *Özel Histoloji*. İstanbul Tıp Kitabevi, 2. Baskı, ISBN: 9786054949502, 437s.
65. V. P. Eroschenko, 2016. *Di Fiore Histoloji Atlası*. Palme Yayıncılık, 12. Baskı, ISBN: 978-605-355-160-7. R. Demir (Çev. Ed.).
66. P. M. Treuting, S. M. Dintzis, K. S. Montine, 2012. *Comparative anatomy and histology: A mouse, rat and human atlas*. Elsevier. 1. Baskı. ISBN : 978-0-12-381361-9, 461s.
67. F. Fröhlich, in *Network Neuroscience*, F. Fröhlich, Ed. (Academic Press, San Diego, 2016), pp. 97–109.
68. Y. İzci, Y. Cem, Hipokampus: Yapısı ve Fonksiyonları. *Türk Nöroşirürji Derg.* **25**, 287–295 (2015).
69. D. Vago, G. Wallestein, L. Morris, in *Encyclopedia of the Neurological Sciences* (Academic Press, 2014), p. 566.
70. L. R. Squire, C. E. L. Stark, R. E. Clark, The Medial Temporal Lobe. *Annu. Rev. Neurosci.* **27**, 279–306 (2004).
71. H. Eichenbaum, The role of the hippocampus in navigation is memory. *J. Neurophysiol.* **117**, 1785–1796 (2017).
72. B. A. Strange, M. P. Witter, E. S. Lein, E. I. Moser, Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nat. Rev. Neurosci.* **15**, 655–669 (2014).
73. M. L. Monje, T. Palmer, Radiation injury and neurogenesis. *Curr. Opin. Neurol.* **16**, 129–134 (2003).
74. M. A. Yassa, C. E. L. Stark, Pattern separation in the hippocampus. *Trends Neurosci.* **34**, 515–525 (2011).
75. O. Deniz, S. Kaplan, M. Selçuk, M. Terzi, G. Altun, K. Yurt, K. Aslan, D. Davis, Effects of short and long term electromagnetic fields exposure on the human hippocampus. *J. Microsc. Ultrastruct.* **5**, 191 (2017).
76. O. Bas, E. Odaci, S. Kaplan, N. Acer, K. Uçok, S. Colakoglu, 900 MHz electromagnetic field exposure affects qualitative and quantitative features of hippocampal pyramidal cells in the adult female rat. *Brain Res.* **1265**, 178–185 (2009).

77. O. Bas, E. Odaci, H. Mollaoglu, K. Uçok, S. Kaplan, Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicol. Ind. Health.* **25**, 377–384 (2009).
78. G. Raisman, W. M. Cowan, T. P. S. Powell, The extrinsic afferent, commissural and association fibres of the hippocampus. *Brain.* **88**, 963–996 (1965).
79. A. Songur, O. A. Özen, Hipokampus. *Türkiye Klin. Tıp Bilim. Derg.* **21**, 427–431 (2001).
80. T. Deller, G. Adelman, R. Nitsch, M. Frotscher, The alvear pathway of the rat hippocampus. *Cell Tissue Res.* **286**, 293–303 (1996).
81. L. A. Reyes-Castro, E. Padilla-Gómez, N. J. Parga-Martínez, D. C. Castro-Rodríguez, G. L. Quirarte, S. Díaz-Cintra, P. W. Nathanielsz, E. Zambrano, Hippocampal mechanisms in impaired spatial learning and memory in male offspring of rats fed a low-protein isocaloric diet in pregnancy and/or lactation. *Hippocampus.* **28**, 18–30 (2018).
82. Y. Isomura, Y. Fujiwara-Tsukamoto, M. Takada, A network mechanism underlying hippocampal seizure-like synchronous oscillations. *Neurosci. Res.* **61**, 227–233 (2008).
83. Dexmedetomidine. *Natl. Cent. Biotechnol. Inf.* (Erişim Tarihi: 2019) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/dexmedetomidine>.
84. Precedex (dexmedetomidine hydrochloride) drug (Erişim Tarihi: 2019) <https://www.rxlist.com/precedex-drug.htm>
85. B. Öztürk. Remifentanil Ve Deksmedetomidin İnfüzyonunun Hemodinamik Parametreler Ve Tiroid Hormonları Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması (Doktora Tezi). İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim Ve Araştırma Hastanesi; 2008.
86. V. Nguyen, D. Tiemann, E. Park, A. Salehi, Alpha-2 Agonists. *Anesthesiol. Clin.* **35**, 233–245 (2017).
87. S. Naaz, E. Ozair, Dexmedetomidine in current anaesthesia practice- a review. *J. Clin. Diagnostic Res.* **8**, GE01–GE04 (2014).
88. J. C. Song, H. Gao, H. B. Qiu, Q. B. Chen, M. H. Cai, M. Z. Zhang, Z. J. Lu, The pharmacokinetics of dexmedetomidine in patients with obstructive jaundice: A clinical trial. *PLoS One.* **13**, 1–9 (2018).
89. W. E. Hoffman, E. Kochs, C. Werner, C. Thomas, R. F. Albrecht, Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. *Anesthesiology.* **75**, 328–332 (1991).
90. Y. Wang, C. Wu, B. Han, F. Xu, M. Mao, X. Guo, J. Wang, Dexmedetomidine attenuates repeated propofol exposure-induced hippocampal apoptosis, PI3K/Akt/Gsk-3 β signaling disruption, and juvenile cognitive deficits in neonatal rats. *Mol. Med. Rep.* **14**, 769–775 (2016).
91. T. Halonen, T. Kotti, J. Tuunanen, A. Toppinen, R. Miettinen, P. J. Riekkinen, α 2-Adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, protects against kainic acid-induced convulsions and neuronal damage. *Brain Res.* **693**, 217–224 (1995).
92. Y. E. Cai, H. Xu, J. Yan, L. Zhang, Y. I. Lu, Molecular targets and mechanism of action of dexmedetomidine in treatment of ischemia/reperfusion injury (Review). *Mol. Med. Rep.* **9**, 1542–1550 (2014).
93. Y. M. Zhu, C. C. Wang, L. Chen, L. B. Qian, L. L. Ma, J. Yu, M. H. Zhu, C. Y. Wen, L. N. Yu, M. Yan, Both PI3K/Akt and ERK1/2 pathways participate in the protection by dexmedetomidine against transient focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Brain Res.* **1494**, 1–8 (2013).

94. X. Zeng, H. Wang, X. Xing, Q. Wang, W. Li, Dexmedetomidine protects against transient global cerebral ischemia/reperfusion induced oxidative stress and inflammation in diabetic rats. *PLoS One*. **11**, 1–15 (2016).
95. W. Pan, L. Lin, N. Zhang, F. Yuan, X. Hua, Y. Wang, L. Mo, Neuroprotective Effects of Dexmedetomidine Against Hypoxia-Induced Nervous System Injury are Related to Inhibition of NF- κ B/COX-2 Pathways. *Cell. Mol. Neurobiol.* **36**, 1179–1188 (2016).
96. R. Dringen, J. Hirrlinger, Glutathione Pathways in the Brain. *J. Biol. Chem.* **384**, 505–516 (2003).
97. H. Ş. Erkal, K. Batçioğlu, M. Serin, B. Uyumlu, N. Yücel, The Evaluation of the Oxidant Injury as a Function of Time Following Brain Irradiation in a Rat Model. *Neurochem. Res.* **31**, 1271–1277 (2006).
98. M. A. Bylicky, G. P. Mueller, R. M. Day, Mechanisms of Endogenous Neuroprotective Effects of Astrocytes in Brain Injury. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**, 1–16 (2018).
99. O. Eser, H. Fidan, O. Sahin, M. Cosar, M. Yaman, The influence of dexmedetomidine on ischemic rat hippocampus. *Brain Res.* **8**, 250–256 (2008).
100. A. Ayala, M. F. Muñoz, S. Argüelles, Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014** (2014), doi:10.1155/2014/360438.
101. B. Halliwell, S. Chirico, Lipid peroxidation : significance and its mechanism. *Am. J. Clin. Nutr.* **57**, 715S-725S (1993).
102. B. S. P. James D. Adams, B. S. P. Lori K. Klaidman, B. S. P. Mei Ling Chang, B. S. P. Jun Yang, Brain Oxidative Stress - Analytical Chemistry and Thermodynamics of Glutathione and NADPH. *Curr. Top. Med. Chem.* **1**, 473–482 (2001).
103. R. Dringen, M. Brandmann, M. C. Hohnholt, E. M. Blumrich, Glutathione-Dependent Detoxification Processes in Astrocytes. *Neurochem. Res.* **40**, 2570–2582 (2015).
104. R. Dringen, Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog. Neurobiol.* **62**, 649–671 (2000).
105. J.-S. Kim, H.-J. Lee, J. C. Kim, S. S. Kang, C.-S. Bae, T. Shin, J.-K. Jin, S. H. Kim, H. Wang, C. Moon, Transient Impairment of Hippocampus-dependent Learning and Memory in Relatively Low-Dose of Acute Radiation Syndrome is Associated with Inhibition of Hippocampal Neurogenesis. *J. Radiat. Res.* **49**, 517–526 (2008).
106. D. J. Macewan, TNF ligands and receptors - a matter of life and death. *Br. J. Pharmacol.* **135**, 855–875 (2002).
107. L. M. Sedger, M. F. McDermott, TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. *Cytokine Growth Factor Rev.* **25**, 453–472 (2014).
108. J. J. Alexander, A. Jacob, P. Cunningham, L. Hensley, R. J. Quigg, TNF is a key mediator of septic encephalopathy acting through its receptor, TNF receptor-1. *Neurochem. Int.* **52**, 447–456 (2008).
109. F. Balkwill, TNF- α in promotion and progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev.* **25**, 409–416 (2006).
110. C. Belka, W. Budach, R. D. Kortmann, M. Bamberg, Radiation induced CNS toxicity - molecular and cellular mechanisms. *Br. J. Cancer.* **85**, 1233–1239 (2001).

111. T. Horiuchi, H. Mitoma, S. Harashima, H. Tsukamoto, Transmembrane TNF- α : structure , function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology*. **49**, 1215–1228 (2010).
112. P. Grammas, Neurovascular dysfunction , inflammation and endothelial activation: Implications for the pathogenesis of Alzheimer ' s disease. *J. Neuroinflammation*. **8**, 26 (2011).
113. K. M. Arami, B. Jameie, S. A. Moosavi, in *Nitric Oxide Synthase - Simple Enzyme-Complex Roles*, S. S. S. Saravi, Ed. (IntechOpen, 2017; <https://www.intechopen.com/books/nitric-oxide-synthase-simple-enzyme-complex-roles/neuronal-nitric-oxide-synthase>), pp. 3–22.
114. S. M. McCann, J. Licinio, M. L. Wong, W. H. Yu, S. Karanth, V. Rettorri, The nitric oxide hypothesis of aging. *Exp. Gerontol*. **33**, 813–826 (1998).
115. L. Tricoire, T. Vitalis, Neuronal nitric oxide synthase expressing neurons: a journey from birth to neuronal circuits. *Front. Neural Circuits*. **6**, 1–16 (2012).
116. L. Zhou, D. Y. Zhu, Neuronal nitric oxide synthase: Structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide - Biol. Chem*. **20**, 223–230 (2009).
117. X. Zhu, J. Dong, K. Shen, Y. Bai, J. Chao, H. Yao, Neuronal nitric oxide synthase contributes to pentylentetrazole-kindling-induced hippocampal neurogenesis. *Brain Res. Bull*. **121**, 138–147 (2016).
118. P. S. Garry, M. Ezra, M. J. Rowland, J. Westbrook, K. T. S. Pattinson, The role of the nitric oxide pathway in brain injury and its treatment — From bench to bedside. *Exp. Neurol*. **263**, 235–243 (2015).
119. L. J. Kroese, P. G. Scheffer, 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine and Cardiovascular Disease: a Systematic Review. *Curr. Atheroscler. Rep*. **16**, 1–8 (2014).
120. A. Di Minno, L. Turnu, B. Porro, I. Squellerio, V. Cavalca, E. Tremoli, M. N. D. Di Minno, 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine Levels and Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of the Literature. *Antioxidants Redox Signal*. **24**, 548–555 (2016).
121. D. Wang, H. Yu, B. Xu, H. Xu, Z. Zhang, X. Ren, J. Yuan, J. Liu, Y. Guo, P. S. Spencer, X. Yang, TRPC1 deletion causes striatal neuronal cell apoptosis and proteomic alterations in mice. *Front. Aging Neurosci*. **10**, 1–11 (2018).
122. H. Yu, X. Lin, D. Wang, Z. Zhang, Y. Guo, X. Ren, B. Xu, J. Yuan, J. Liu, P. S. Spencer, J.-Z. Wang, X. Yang, Mitochondrial Molecular Abnormalities Revealed by Proteomic Analysis of Hippocampal Organelles of Mice Triple Transgenic for Alzheimer Disease. *Front. Mol. Neurosci*. **11**, 1–13 (2018).
123. V. Kumar, A. K. Abbas, N. Fausto, R. N. Mitchell, 2007. *Robbins Temel Patoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri, 8. Baskı. ISBN: 978-975-420-655-5, 944 s., U. Çevikbaş, M. Güllüoğlu, Ö. Mete (Çev Ed).
124. A. Gunal, O. Onguru, M. Safali, M. Beyzadeoglu, Fascin expresion in glial tumors and its prognostic significance in glioblastomas. *Neuropathology*. **28**, 382–386 (2008).
125. D. B. Rojas, T. Gemelli, R. B. De Andrade, A. G. Campos, C. S. Dutra-Filho, C. M. D. Wannmacher, Administration of histidine to female rats induces changes in oxidative status in cortex and hippocampus of the offspring. *Neurochem. Res*. **37**, 1031–1036 (2012).
126. H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi, Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem*. **95**, 351–358 (1979).
127. G. L. Ellman, Tissue Sulfyd Groups. *Arch. Biochem. Biophys*. **82**, 70–77 (1959).

128. R. Baskar, K. A. Lee, R. Yeo, K. W. Yeoh, Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions. *Int. J. Med. Sci.* **9**, 193–199 (2012).
129. S. Sharma, L. Hertan, J. Jones, Palliative radiotherapy: Current status and future directions. *Semin. Oncol.* **41**, 751–763 (2014).
130. A. Attia, B. R. Page, G. J. Lesser, M. Chan, Treatment of Radiation-Induced Cognitive Decline. *Curr. Treat. Options Oncol.* **15**, 539–550 (2014).
131. D. M. Greene-Schloesser, E. Moore, M. E. Robbins, Molecular pathways: Radiation-induced cognitive impairment. *Clin. Cancer Res.* **19**, 2294–2300 (2013).
132. K. Akiyama, R. Tanaka, M. Sato, N. Takeda, Cognitive dysfunction and histological findings in adult rats one year after whole brain irradiation. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*. **41**, 590–598 (2001).
133. K. Manda, M. Ueno, K. Anzai, Memory impairment, oxidative damage and apoptosis induced by space radiation: Ameliorative potential of α -lipoic acid. *Behav. Brain Res.* **187**, 387–395 (2008).
134. D. D. Roman, P. W. Sperduto, Neuropsychological effects of cranial radiation: current knowledge and future directions. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **31**, 983–998 (1995).
135. M. K. Ganesan, M. Jovanovic, B. Secerov, M. Ignjatovic, M. Bilban, A. Pavle, A. El Refaei, G. Jung, L. Li, A. Sase, W. Chen, G. Bacic, G. Lubec, Radiation protection from whole-body gamma irradiation (6.7 Gy): Behavioural effects and brain protein-level changes by an aminothioliol compound GL2011 in the Wistar rat. *Amino Acids*. **46**, 1681–1696 (2014).
136. R. B. Wallace, R. Graziadei, J. Werboff, Behavioral correlates of focal hippocampal x-irradiation in rats II. Behavior related to adaptive function in a natural setting. *Exp. Brain Res.* **43**, 207–212 (1981).
137. J. Raber, R. Rola, A. LeFevour, D. Morhardt, J. Curley, S. Mizumatsu, S. R. Vandenberg, J. R. Fike, Radiation-Induced Cognitive Impairments Are Associated with Changes in Indicators of Hippocampal Neurogenesis. *Radiat. Res.* **162**, 39–47 (2004).
138. R. Rola, J. Raber, A. Rizk, S. Otsuka, S. R. Vandenberg, D. R. Morhardt, J. R. Fike, Radiation-induced impairment of hippocampal neurogenesis is associated with cognitive deficits in young mice. *Exp. Neurol.* **188**, 316–330 (2004).
139. G. A. Mickley, J. L. Ferguson, M. A. Mulvihill, T. J. Nemeth, Progressive behavioral changes during the maturation of rats with early radiation-induced hypoplasia of fascia dentata granule cells. *Neurotoxicol. Teratol.* **11**, 385–393 (1989).
140. R. H. J. Olsen, S. Weber, T. Akinyeke, J. Raber, Enhanced cued fear memory following post-training whole body irradiation of 3-month-old mice. *Behav. Brain Res.* **319**, 181–187 (2017).
141. W. Peißner, M. Kocher, H. Treuer, F. Gillardon, Ionizing radiation-induced apoptosis of proliferating stem cells in the dentate gyrus of the adult rat hippocampus. *Mol. Brain Res.* **71**, 61–68 (1999).
142. M. Kumar, S. Haridas, R. Trivedi, S. Khushu, K. Manda, Early cognitive changes due to whole body γ -irradiation: A behavioral and diffusion tensor imaging study in mice. *Exp. Neurol.* **248**, 360–368 (2013).
143. Y. Yoneoka, M. Satoh, K. Akiyama, K. Sano, Y. Fujii, R. Tanaka, An experimental study of radiation-induced cognitive dysfunction in an adult rat model. *Br. J. Radiol.* **72**, 1196–201 (1999).

144. Z. J. Jiang, C. Y. Wang, X. Xie, J. F. Yang, J. N. Huang, Z. P. Cao, P. Xiao, C. H. Li, Schizandrin ameliorates ovariectomy-induced memory impairment, potentiates neurotransmission and exhibits antioxidant properties. *Br. J. Pharmacol.* **172**, 2479–2492 (2015).
145. J. M. Ellis, Cholinesterase inhibitors in the treatment of dementia. *J. Am. Osteopath. Assoc.* **105**, 145–158 (2005).
146. X. Jiang, J. A. Engelbach, L. Yuan, J. Cates, F. Gao, R. E. Drzymala, D. E. Hallahan, K. M. Rich, R. E. Schmidt, J. J. H. Ackerman, J. R. Garbow, Anti-VEGF antibodies mitigate the development of radiation necrosis in mouse brain. *Clin. Cancer Res.* **20**, 2695–2702 (2014).
147. X. Jiang, C. J. Perez-Torres, D. Thotala, J. A. Engelbach, L. Yuan, J. Cates, F. Gao, R. E. Drzymala, K. M. Rich, R. E. Schmidt, J. J. H. Ackerman, D. E. Hallahan, J. R. Garbow, A GSK-3 β inhibitor protects against radiation necrosis in mouse brain. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **89**, 714–721 (2014).
148. R. Sun, L. Y. Zhang, L. S. Chen, Y. Tian, Long-term outcome of changes in cognitive function of young rats after various/different doses of whole brain irradiation. *Neurol. Res.* **38**, 647–654 (2016).
149. B. A. Hartl, H. S. W. Ma, K. S. Hansen, J. Perks, M. S. Kent, R. C. Fragoso, L. Marcu, The Effect of Radiation Dose on the Onset and Progression of Radiation-Induced Brain Necrosis in the Rat Model. *Int. J. Radiat. Biol.* **93**, 676–682 (2017).
150. H. Kurita, N. Kawahara, A. Asai, K. Ueki, M. Shin, T. Kirino, Radiation-induced apoptosis of oligodendrocytes in the adult rat brain. *Neurol. Res.* **23**, 869–874 (2001).
151. Y. F. Tan, S. Rosenzweig, D. Jaffray, J. M. Wojtowicz, Depletion of new neurons by image guided irradiation. *Front. Neurosci.* **5**, 1–8 (2011).
152. S. Begolly, J. A. Olschowka, T. Love, J. P. Williams, M. K. O'Banion, Fractionation enhances acute oligodendrocyte progenitor cell radiation sensitivity and leads to long term depletion. *Glia.* **66**, 846–861 (2018).
153. S. Chie, G. Glenn T., L. Kathleen R., T. Eiji, F. John R., Apoptosis in the subependyma of young adult rats after single and fractionated doses of X-rays. *Cancer Res.* **57**, 2694–2702 (1997).
154. H. S. Reinhold, W. Calvo, J. W. Hopewell, A. P. Van Den Berg, Development of blood vessel-related radiation damage in the fimbria of the central nervous system. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **18**, 37–42 (1990).
155. E. S. Murphy, H. Xie, T. E. Merchant, J. S. Yu, S. T. Chao, J. H. Suh, Review of cranial radiotherapy-induced vasculopathy. *J. Neurooncol.* **122**, 421–429 (2015).
156. T. Kamiryo, N. F. Kassell, Q. A. Thai, M. B. S. Lopes, K. S. Lee, L. Steiner, Histological changes in the normal rat brain after gamma irradiation. *Acta Neurochir. (Wien).* **138**, 451–459 (1996).
157. S. Z. Mansour, F. S. M. Moawed, S. M. Elmarkaby, Protective effect of 5, 7-dihydroxyflavone on brain of rats exposed to acrylamide or γ -radiation. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **175**, 149–155 (2017).
158. E. F. El-maraghi, K. I. Abdel-fattah, S. M. Soliman, W. M. El-sayed, Taurine provides a time-dependent amelioration of the brain damage induced by γ - irradiation in rats. *J. Hazard. Mater.* **359**, 40–46 (2018).
159. A. Hoffman, J. Alfon, G. Habib, E. Pinto, R. Gorodetsky, “The effect of immunosuppression by total-body irradiation on the pharmacodynamics of centrally active drugs in rats” (1994).

160. A. Uzdensky, S. Demyanenko, G. Fedorenko, T. Lapteva, A. Fedorenko, Protein Profile and Morphological Alterations in Penumbra after Focal Photothrombotic Infarction in the Rat Cerebral Cortex. *Mol. Neurobiol.* **54**, 4172–4188 (2017).
161. S. Y. Hwang, J. S. Jung, T. H. Kim, S. J. Lim, E. S. Oh, J. Y. Kim, K. A. Ji, E. H. Joe, K. H. Cho, I. O. Han, Ionizing radiation induces astrocyte gliosis through microglia activation. *Neurobiol. Dis.* **21**, 457–467 (2006).
162. Ö. Yildirim, S. Çomoğlu, S. Yardimci, M. Akmansu, G. Bozkurt, M. C. Avunduk, Melatonin treatment for prevention of oxidative stress: Involving histopathological changes. *Gen. Physiol. Biophys.* **26**, 126–132 (2007).
163. D. D'Avella, R. Ciccirello, F. F. Angileri, S. Lucerna, D. La Torre, F. Tomasello, Radiation-induced blood-brain barrier changes: pathophysiological mechanisms and clinical implications. *Acta Neurochir. (Wien)*. **71**, 282–284 (1998).
164. M. Diserbo, A. Agin, I. Lamproglou, J. Mauris, F. Staali, E. Multon, C. Amourette, Blood-brain barrier permeability after gamma whole-body irradiation: an in vivo microdialysis study. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **80**, 670–678 (2002).
165. M. S. Zaman, E. W. Hupp, F. E. Lancaster, Brain Myelination in Rats Treated with Ionizing Radiation in Utero. *J. Environ. Sci. Heal. Part B.* **27**, 621–638 (1992).
166. J. Yan, Y. Liu, Q. Zhao, J. Li, A. Mao, H. Li, C. Di, H. Zhang, 56Fe irradiation-induced cognitive deficits through oxidative stress in mice. *Toxicol. Res. (Camb)*. **5**, 1672–1679 (2016).
167. R. Apoptosis, C. Shun, Oligodendrocytes in the Adult Rat Spinal Cord Undergo. *Cancer Res.* **56**, 5417–5422 (1996).
168. S. Atkinson, Y. Q. Li, C. S. Wong, Changes in oligodendrocytes and myelin gene expression after radiation in the rodent spinal cord. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **57**, 1093–1100 (2003).
169. S. Cai, G. S. Shi, H. Y. Cheng, Y. N. Zeng, G. Li, M. Zhang, M. Song, P. K. Zhou, Y. Tian, F. M. Cui, Q. Chen, Exosomal miR-7 mediates bystander autophagy in lung after focal brain irradiation in mice. *Int. J. Biol. Sci.* **13**, 1287–1296 (2017).
170. S. Báľentová, P. Hnilicová, D. Kalenská, P. Murín, E. Hajtmanová, J. Lehotský, M. Adamkov, Effect of whole-brain irradiation on the specific brain regions in a rat model: Metabolic and histopathological changes. *Neurotoxicology*. **60**, 70–81 (2017).
171. M. K. Park, S. Kim, U. Jung, I. Kim, J. K. Kim, C. Roh, Effect of acute and fractionated irradiation on hippocampal neurogenesis. *Molecules*. **17**, 9462–9468 (2012).
172. A. Lampron, M. Lessard, S. Rivest, Effects of Myeloablation, Peripheral Chimerism, and Whole-Body Irradiation on the Entry of Bone Marrow-Derived Cells into the Brain. *Cell Transplant.* **21**, 1149–1159 (2012).
173. L. Cui, D. Pierce, K. E. Light, B. R. Melchert, Q. Fu, K. S. Kumar, M. Hauer-Jensen, Sublethal total body irradiation leads to early cerebellar damage and oxidative stress. *Curr. Neurovasc. Res.* **7**, 125–135 (2010).
174. Ö. Yildirim, S. Çomoğlu, S. Yardimci, M. Akmansu, G. Bozkurt, S. Sürücü, Preserving effects of melatonin on the levels of glutathione and malondialdehyde in rats exposed to irradiation. *Gen. Physiol. Biophys.* **27**, 32–37 (2008).

175. G. Cakmak, M. Severcan, F. Zorlu, F. Severcan, Structural and functional damages of whole body ionizing radiation on rat brain homogenate membranes and protective effect of amifostine. *Int. J. Radiat. Biol.* **92**, 837–848 (2016).
176. G. Cakmak, L. M. Miller, F. Zorlu, F. Severcan, Amifostine , a radioprotectant agent , protects rat brain tissue lipids against ionizing radiation induced damage : An FTIR microspectroscopic imaging study. *Arch. Biochem. Biophys.* **520**, 67–73 (2012).
177. S. Kojima, O. Matsuki, T. Nomura, K. Yamaoka, M. Takahashi, Elevation of antioxidant potency in the brain of mice by low-dose gamma-ray irradiation and its effect on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced brain damage. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 388–395 (1999).
178. S. Kojima, O. Matsuki, T. Nomura, N. Shimura, A. Kubodera, K. Yamaoka, H. Tanooka, H. Wakasugi, Y. Honda, S. Honda, T. Sasaki, Localization of glutathione and induction of glutathione synthesis- related proteins in mouse brain by low doses of γ -rays. *Brain Res.* **808**, 262–269 (1998).
179. S. Sharma, N. Singla, V. D. Chadha, D. K. Dhawan, A concept of radiation hormesis. Stimulation of antioxidant machinery in rats by low dose ionizing radiation. *Hell. J. Nucl. Med.* **22**, 43–48 (2019).
180. J. H. Hong, C. S. Chiang, I. L. Campbell, J. R. Sun, H. R. Withers, W. H. McBride, Induction of acute phase gene expression by brain irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **33**, 619–626 (1995).
181. J. Haveman, A. G. Geerdink, H. M. Rodermond, TNF , IL-1 and IL-6 in circulating blood after total-body and localized irradiation in rats. *Oncol. Rep.* **5**, 679–683 (1998).
182. M. W. Gaber, O. M. Sabek, K. Fukatsu, H. G. Wilcox, M. F. Kiani, T. E. Merchant, Differences in ICAM-1 and TNF- α expression between large single fraction and fractionated irradiation in mouse brain. *Int. J. Radiat. Biol.* **79**, 359–366 (2003).
183. K. R. Conner, M. E. Forbes, W. H. Lee, Y. W. Lee, D. R. Riddle, AT1 Receptor Antagonism Does Not Influence Early Radiation-Induced Changes in Microglial Activation or Neurogenesis in the Normal Rat Brain. *Radiat. Res.* **176**, 71–83 (2011).
184. C. A. H. Richard, B. D. Wilcox, D. J. Loegering, IgG-coated erythrocytes augment LPS-stimulated TNF- α secretion, TNF- α mRNA levels, and TNF- α mRNA stability in macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **271**, 70–74 (2000).
185. Z. Huang, P. L. Huang, N. Panahian, T. Dalkara, C. Mark, M. A. Moskowitz, M. C. Fishman, Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science (80-.)*. **265**, 1883–1885 (1994).
186. N. V. Voevodskaya, A. F. Vanin, Gamma-irradiation potentiates L-arginine-dependent nitric oxide formation in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **186**, 1423–1428 (1992).
187. H. H. Mansour, N. E. R. Ismael, H. F. Hafez, A. E. Authority, N. City, P. Unit, Ameliorative effect of septilin, an ayurvedic preparation against γ -irradiation-induced oxidative stress and tissue injury in rats. *Indian J. Biochem. Biophys.* **51**, 135–141 (2014).

188. P. Lestaevel, D. Clarençon, A. Gharib, A. Peinnequin, R. Cespuglio, P. Gourmelon, A. Alonso, J. D. Laval, E. Multon, Nitric Oxide Voltammetric Measurements in the Rat Brain after Gamma Irradiation. *Radiat. Res.* **160**, 631–636 (2003).
189. Y. Gao, P. Wang, Z. Wang, L. Han, J. Li, C. Tian, F. Zhao, J. Wang, F. Zhao, Q. Zhang, Y. Lyu, Serum 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine Level as a Potential Biomarker of Oxidative DNA Damage Induced by Ionizing Radiation in Human Peripheral Blood. *Dose-Response.* **17**, 1–8 (2019).
190. R. Fardid, A. Salajegheh, M. A. Mosleh-Shirazi, S. Sharifzadeh, M. A. Okhovat, M. Najafi, A. Rezaeyan, A. Abaszadeh, Melatonin ameliorates the production of COX-2, iNOS, and the formation of 8-OHdG in non-targeted lung tissue after pelvic irradiation. *Cell J.* **19**, 324–331 (2017).
191. F. W. Prinzen, C. J. Lawrence, C. J. van Leeuwen, S. de Lange, Effect of the alpha2-adrenergic agonist dexmedetomidine on nutrient blood flow to various organs in anaesthetised dogs. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* **8**, 82 (1994).
192. T. Nakano, H. Okamoto, Dexmedetomidine-induced cerebral hypoperfusion exacerbates ischemic brain injury in rats. *J. Anesth.* **23**, 378–384 (2009).
193. X. Zhang, J. Wang, W. Qian, J. Zhao, L. Sun, Y. Qian, H. Xiao, Dexmedetomidine inhibits inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-stimulated microglia by suppression of extracellular signal-regulated kinase. *Neurol. Res.* **37**, 238–245 (2015).
194. X. Zhang, J. Wang, W. Qian, J. Zhao, L. Sun, Y. Qian, H. Xiao, Dexmedetomidine inhibits tumor necrosis factor-alpha and interleukin 6 in lipopolysaccharide-stimulated astrocytes by suppression of c-Jun N-terminal kinases. *Inflammation.* **37**, 942–949 (2014).
195. O. Akpınar, M. Nazıro, H. Akpınar, Different doses of dexmedetomidine reduce plasma cytokine production , brain oxidative injury , PARP and caspase expression levels but increase liver oxidative toxicity in cerebral ischemia-induced rats. *Brain Res. Bull. J.* **130**, 1–9 (2017).
196. X. Luo, X. Zheng, H. Huang, Protective effects of dexmedetomidine on brain function of glioma patients undergoing craniotomy resection and its underlying mechanism. *Clin. Neurol. Neurosurg.* **146**, 105–108 (2016).

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
(Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)

BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):31		
	ÇALIŞMANIN ADI	Radyoterapinin sıçan beyinde oluşturduğu hasarı önlemede deksmedetomidin etkili olabilir mi?	
	Title	Can dexmedetomidine be effective to protect on rat brain damage of radiotherapy?	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Levent TÜMKAYA	
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Seda ÇINAR	
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input checked="" type="checkbox"/> Tek Merkez Ulusal	<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Ulusal	<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Uluslararası

KARAR BİLGİLERİ	Karar No(Decision No):2018/31	Tarih (Date): 16.04.2018
	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden, Doç.Dr.Levent TÜMKAYA'nın sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.	
Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of R.T.E.University.	
	<input checked="" type="checkbox"/> Accepted	<input type="checkbox"/> Rejected

ÜYELER (Members)						
Ünvan/ Adı/ Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr. Fikri BALTA (Başkan,Müdür,Veteriner Hekim)	Su Ürünleri	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Levent TÜMKAYA (Başkan Vekili)	Histoloji Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H
Doç. Dr. Ayşe ERTÜRK (Üye)	Enfeksiyon Hast. ve Klinik Mikr.	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Serkan GÜL (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Kazım ŞAHİN (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Hatice SEVİM NALKIRAN (Üye)	Tıbbi Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	İZİNLİ
Dr.Öğr.Üyesi Medeni ARPA (Üye)	Tıbbi Biyokimya	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Murat ALKURT (Üye)	Protetik Diş Tedavisi	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Şevket ÇAKMAKÇI (Üye)	Sağlık Çalışanı	Sağlık Sen	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Rukiye ÜLGER (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

*Araştırma ile ilişki(Relationtotheproject, E: Yes, H: No)

**Toplantıda Bulunma(Attendance, E: Yes, H: No)