

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endüstri ve teknolojideki gelişmelere paralel olarak multipl vücut yaralanmaları artmaktadır. Multipl yaralanması bulunan hastalarda kafa travması (KT) ve spinal travmanında tabloya eşlik etmesi sık görülen bir durumdur. Kafa travmalı bir hastada ilk müdahale hasta acil servise veya yoğun bakıma geldiğinde değil, travmanın olduğu yerde başlamalıdır. Hastaya travma anından, devamlı tedavinin yapılacağı kliniğe gidene kadar transportun her aşamasında sistematik ve hızlı yaşam desteği başlanmalı ve sürdürülmelidir (1).

Ülkemizde de trafik kazalarına bağlı kafa travması ölüm nedenleri içerisinde en yüksek orana sahiptir. 1990 - 1999 yılları arasındaki Devlet İstatistik Enstitüsü (DİE) verilerine göre her yıl 6320 - 4600 arasında değişen sayıda ölüm ve 88.000 - 110.000 arasında kayıtlı yaralanma olmaktadır (1).

DİE verilerine göre 1990 - 1999 yılları arasında kaza sayısında artış olmasına karşın 1995 yılından sonra ölümlerin azalmasının nedeni emniyet kemeri uygulaması, hız sınırlarının yanı sıra ülkemizde özellikle son 5 yılda giderek önemi daha iyi anlaşılan ilk yardım ve acil yaşam desteği bilincinin artması ve donanımın gelişmesine bağlanabilir. Ancak yaralanma sayısında belirgin bir değişiklik olmamıştır (1).

Bunun yanı sıra pek çok hastada prognoz (sonuç), uygun cerrahi girişim ve tıbbi tedavi ile düzeltilebilir. Cerrahi yer tutan lezyonların acil tanısı ve tedavisinin yanı sıra hipotansiyon ve hipoksi gibi klinik bozulma ve gerilemelerden sakınılması, yaşamsal açıdan en önemli konulardır (1).

Travmatik beyin yaralanmalarının uygun tedavisi, kafa travmalarının patofizyolojisinin iyi anlaşılmasını gerektirir. Travmatik beyin yaralanmaları kranyum ve içeriklerine yönelik eksternal mekanik bir kuvvetin uygulanmasının sonucu olup geçici ya da kalıcı bozukluklara, fonksiyonel yetersizliklere veya psikolojik davranış bozukluklarına neden olur. Klinikte konküzyodan komaya hatta ölüme kadar varan olaylar silsilesine yol açabilir. Kafa travmasındaki tedavinin amacı sekonder beyin yaralanmalarını ya önlemeye ya da minimale indirmeye yöneliktir (1).

Son 10 yılda travma patofizyolojisinin anlaşılmasında ilerlemeler olmuştur. Deneysel ve klinik bulgular, beyin hasarının ilk darbe sonrası oluşan birincil hasar ile

bitmediğini, aksine izleyen saatler ve günler içerisinde ilerlediğini ve ikincil hasarın prognozda daha önemli olduğunu göstermektedir.

Bizim bu çalışmadaki amacımız; kafa travmalarının prognozunda önemli olan ikincil hasar mekanizmaları üzerinde etkili olabileceğini düşündüğümüz ve rekombinant DNA teknolojisi yoluyla üretilen bir glikoprotein olan eritropoetin alfanın travmatize sıçan beyinde kan beyin bariyeri bozulması ve beyin ödemi üzerine olabilecek potansiyel etkisini sinaptosomal Na^+/K^+ , $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ adenzinriptofosfataz ve nitrik oksit seviyelerini ölçerek belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Kafa travmaları çok eskiden beri hem medikal hem de sosyal yönleriyle hekimleri uğraştırmaktadır. Kafa travmalarının bazı tipleri İnkalar ve eski Mısır'lılar zamanında da tedavi edildikleri, bu devirlerden kalan kafataslarındaki trepanasyonlara ait izlerden anlaşılmaktadır.

İlk defa Hipocrates kafa travmalarını sınıflandırmaya çalışmış fakat klasik olarak *kommosyo-kontüzyo* ve *laserasyo* serebri şeklinde ayırımı 17. yüzyılda Petit tarafından yapılmıştır. 19. yüzyılın sonlarına doğru Tönnis ve Lcew adlı araştırmacılar kafa travmaları sonucu oluşan anatomik fizyolojik bozukluklara yönelmişler, Russel Symond, Cairns gibi yazarlar ise travmalardan sonra kafa içi basıncının arttığını gözleyerek tedavi amacıyla dekompresyon fikrini ortaya atmışlardır. 20.yüzyılın ikinci yarısından sonra Tuebber ve Luria'nın yaptıkları nörofizyolojik çalışmalar da kafa travmalarından sonra ortaya çıkan beyin fonksiyon bozukluklarının anlaşılmasına yardım etmiştir (2).

2.2. Etyoloji

İnsanlar doğumdan itibaren her yaş ve cinste kafa travmalarına maruz kalabilirler. Doğum esnasında forseps tatbiki, beşikten veya kucaktan düşmeler, yaşın ilerlemesiyle ise sıklık sırasına göre trafik, iş, ev ve spor kazaları kafa travmalarının nedenlerini oluştururlar. Trafik kazaları, kafa travmalarının %70'inden sorumludurlar ve kazalarda ölenlerin %60'ında esas ölüm nedenini teşkil ederler. Savaşlarda da ölümlerin büyük bir yüzdesini kafa travmaları oluştururlar (2).

2.3. Travmatik Beyin Yaralanmalarının Sınıflandırılması

Travmatik beyin yaralanmaları primer ve sekonder olmak üzere 2 kategoriye ayrılır.

Primer beyin yaralanmaları, travma anında ya travmanın direkt etkisi sonucu beyin parankiminde ya da akselerasyon ve deselerasyon kuvvetlerine bağlı uzun beyaz cevher traktuslarında meydana gelir.

Sekonder beyin yaralanmaları başlangıç travmasını takip eden sistemik ve intrakraniyal olaylar olup primer travmaya bir yanıt olarak meydana çıkarlar ve nöronal harabiyet ve hücre ölümüne yol açarlar. Bu travmadan hemen sonra meydana gelir ve uzun süre devam edecek etkilere neden olur. Primer travma tarafından tetiklenen enflamatuvar olaylar bir dizi biyomoleküler değişikliklerin bir sonucu olup mikrosirkülasyonun bozulmasına ve nöronal bütünlüğün ortadan kalkmasına yol açar. Dolayısıyla sekonder yaralanmalar; sistemik hipotansiyon, hipoksi, hiperkapni, artan intrakranial basınç gibi orjinal beyin travması ya da multipl travmalar tarafından başlatılan bir seri fizyolojik değişikliklerin biyokimyasal sonuçlarıdır (3).

2.3.1. Sekonder Beyin Yaralanmaları

Nedenleri

Sekonder beyin yaralanmaları primer travmanın etkileriyle oluşan daha ileri hücresel harabiyetlerdir. Primer travmayı takiben saatler ya da günler içinde meydana gelir. Çoğunlukla iskemik tipte olup %80'in üzerinde ölümcül seyreder (4).

Travmatize beyni sekonder olarak etkileyen sistemik olaylar hipoksemi, arteriyel hipotansiyon, hiperkapni, şiddetli hipokapni, ateş, hiponatremi, anemi, diffüz intravasküler koagülopatidir. İntrakraniyal olaylar ise hematoma (ekstradural, subdural, intraparakimial), beyin şişmesi-ödemi, intrakraniyal hipertansiyon, serebral vazospazm, intrakraniyal enfeksiyon, epilepsidir. Sekonder beyin harabiyetinde majör üç neden olarak hipoksi %30 ($PaO_2 < 65$ mmHg), hipotansiyon %13 (sistolik kan basıncı < 90 mmHg) ve anemi % 12 (hematokrit $< \%30$) bulunmuştur. Travmatik beyin hasarında sekonder hücre hasarından sorumlu ana mekanizmalardan en önemlisi serebral iskeminin oluşmasıdır.

Serebral kan akımı beynin otopregülasyonu intakt ise belli sınırlar içinde devam ettirilir.

Serebral kan akımı (SKA) = OAB (ortalama arteriyel kan basıncı)- İKB (intrakraniyal basınç) / SVR (serebral vasküler rezistans).

Serebral kan akımı, 16-18 ml 100 g/dk ise spontan ve uyandırılmış elektriksel aktivite kaybolmaktadır. SKA, 10-12 ml. 100 g/dk ise sellüler iyon hemostazı kaybolmaktadır.

SKA % 50-100 arasında fizyolojik kompensasyon mekanizması çalışır. % 25-50 arasında doku risktedir. Elektriksel aktivite azalır. Asidoz, ödem oluşur ve protein sentezi azalır. %0-25 arasında membran yıkımı olur. İyon akışının sonlanması ve hücre ölümü gerçekleşir.

Sekonder Beyin Yaralanmalarında Nörokimyasal Mekanizmalar

Sekonder beyin yaralanmaları nörokimyasal araçlarla yayılırlar (5). Eksitatör amino asitler, örneğin glutamat ve aspartat travmatik beyin yaralanmaları sonrasında yükselirler. Hücrelerde şişme, vakuolizasyon ve nihayet nöron ölümüne yol açarlar. Klor ve sodyumun hücre içine girmesine ve dolayısıyla akut nöronal şişmeye neden olurlar. Eksitatör amino asitler (aspartat, glutamat), kalsiyumun da hücre içine girişiyle bağlantılı gecikmiş hücre harabiyetlerine neden olurlar. N-metil-D-aspartat reseptör agonistleri de kalsiyumun hücre içine girişine neden olurlar. Böylelikle tüm bu etkilerin yanısıra eksitatör amino asitler yüksek enerji fosfat depolarını azaltır veya serbest radikalleri arttırırlar. Endojen opioid peptidler eksitatör amino asitlerin presinaptik salınımlarını değiştirerek nörolojik harabiyetin artmasına yol açabilirler. Rostral ponsdaki muskarinik kolinerjik sistem aktivasyonu, etrafla ilgisi kesilmiş kişilerde görüldüğü gibi travmatik beyin yaralanmalarında da görülen davranış supresyonundan sorumludur. Travmatize beyinde artan metabolik gereksinim ve travma sonucu sempatoadrenomeduller aksis ve serotonerjik sistemin uyarılmasının indüklenmesi ile meydana gelen glukoz kullanımındaki yetersizlik beyindeki zararı daha da arttırır. Yaralanmanın şiddetini arttıran diğer biyokimyasal işlemler arasında artan ekstrasellüler potasyumun meydana getirdiği ödem, artan sitokinlere bağlı enflamasyon ve kalsiyumun hücre içine girişine olumsuz katkıda bulunan, azalan intrasellüler magnezyum sayılabilir. Darbeyi takiben beyin harabiyetinin oluşumundan sorumlu patofizyolojik mekanizmaların nasıl çalıştığı özetlenecek olursa; darbeyi takiben hemen yoğun nörotransmitter salınımı meydana gelir (6). Bunlar asetilkolin, katekolaminler ve glutamattır. Bunu takiben aksonal yaralanmanın derecesiyle orantılı bir bilinç kaybı süresi söz konusudur. Aksonal

harabiyetin tamamı darbe anında oluşmaz. Bilinç kaybına neden olan; başlangıçta aksonlarda oluşan bazı fonksiyonel bozulmalardır. Asıl aksonal harabiyet daha sonra meydana gelir. Hematom / kontüzyon bölgesinde beyin kan akımı ileri derecede azalır. Bu da mekanik bozulmaya neden olur. Tüm bu basamakları takiben serebral iskemi meydana gelir. Aksonal harabiyetin oluşmasında ise aksonlarda meydana gelen yaygın depolarizasyona bağlı olarak Na^+ ve Ca^{++} 'un hücre içine girmesi, K^+ 'un hücre dışına çıkması sonucu aksonda şişme meydana gelir. Bu da ayrıca mekanik bozulmaya neden olur (7).

Sekonder beyin harabiyetine yol açan mekanizmalar arasında eksitatör N-metil-D-aspartate (NMDA) reseptörlerinin aktivasyonu, hipermetabolizma, iskemi, yüksek enerji fosfatlarında azalma, membran iyon pompalarının yetersizliği, araşidonik asid metabolizmasında artma, serbest radikal birikimi, 24 saat veya daha sonra oluşan serebral ödem ile çocuklarda <16 yaş görülen akut beyin şişmesi (beyaz cevherdeki vasküler anjorjmana bağlı olarak meydana gelir ve ödem karakteri taşımaz) sayılabilir (8).

Beyin Ödemi

Beyin ödemi beyin su miktarındaki artışa bağlı olarak beyin hacminde meydana gelen artış olarak tanımlanabilir. Beynin su oranı normalde gri madde için %80, ak madde için %68'dir. Değişik beyin ödemi tipleri tanımlanmıştır. Ancak her beyin ödemi tipi için ortak olan nokta vasküler yataktan beyne artan oranlarda sıvı geçişidir.

Starling yasası:

$Kapiller\ hidrostatik\ basınç + Doku\ kolloid\ osmotik\ basıncı = Doku\ hidrostatik\ basıncı + Plazma\ kolloid\ osmotik\ basıncı$ şeklinde özetlenebilir.

Beyne sıvı geçişinde bu dengeyi bozacak faktörler arasında artmış intravasküler hidrostatik basınç, vasküler endotel hasarı ve plazma kolloid onkotik basıncında azalma sayılabilir.

Travmatik beyin hasarına bağlı beyin ödemi, gecikmiş hücre ölümünü artıran, bazı hastaların yaşamını tehdit eden klinik bir olgudur. Primer beyin hasarını takiben görülen durum, ortaya çıkan moleküler ve fizyolojik olayların sekonder bir sonucudur. Burada N-Metil D Aspartat- reseptör aktivasyonu, serbest oksijen radikallerinin ve yağ asitlerinin salınışı, lipid peroksidasyonu, asidoz, iyon

gradientinde oluşan karışıklık ve kan beyin bariyeri yıkımı gibi olaylar görülür (9,10).

İlk kez 1967 yılında Klatzo vazojenik ve sitotoksik olmak üzere iki farklı beyin ödemi tipi tanımladı (11).

İlerleyen yıllarda Schutta, Langfitt, Fishman ve Miller in katkılarıyla altı değişik tipte beyin ödemi tanımlandı.

Vazojenik Ödem

Kan-beyin bariyeri yıkımı sonucu meydana gelir. Su, sodyum ve proteinden oluşan ödem sıvısı ekstrasellüler mesafeye sızar. Ödem çoğunlukla gri maddede başlar, ancak daha gevşek yapıda olduğundan parmak şeklinde uzanımlarla ak maddede birikir. İntravasküler basıncı artıran ya da vazodilatasyona neden olan süreçler vazojenik ödemi artırır. Bunlar arasında kan basıncının yükselmesi, hiperkarbi ve ateş sayılabilir. Ödem sıvısı ak madde lifleri arasından ependime ve onu da geçerek ventriküler sisteme ulaşarak temizlenir. Bu süreçte Starling yasası etkindir. Klinikte vazojenik ödem en sık menengioma, metastaz, yüksek evreli astrositoma gibi tümörlerin, serebral abselerin ve beyin kontüzyonlarının çevresinde gelişir. Kortikosteroidler vazojenik beyin ödeminin tedavisinde etkindir.

Santral sinir sisteminin doymamış yağ asitlerinden zengin olması, beyin dokusunu oksijen kaynaklı serbest radikallere karşı duyarlı kılmaktadır. Bu sebeple serbest radikallerin serebral vasküler hasar ve vazojenik ödem gelişimindeki rolüne değinmek gerekir.

Serbest Radikaller

Biyolojik sistemlerde kimyasal bağlar, bir çift elektron veya atomların en dış yörüngesindeki tek elektronların ortaklaşa kullanmaları ile oluşur. Serbest radikal basitçe en dış yörüngesinde tek sayı elektron içeren moleküller olarak tanımlanır (12). Bu nedenle, serbest radikal molekülleri kimyasal olarak anstabil ve reaktiftirler. Biyolojik sistemlerdeki önemli serbest radikaller, oksijenin radikal türevleridir.

Bunlar; superoksit ($O_2^{\cdot-}$), bir ara ürün olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikaldır(OH^{\cdot}). Oksijen kaynaklı serbest radikallerin santral sinir sisteminde membran lipitlerini atake etmesi ile lipit peroksil (LOO^{\cdot}) ve fenoksi

(PhO \cdot) radikalleri meydana gelmekte bunların da tekrar lipid ile reaksiyonu sonucu lipid peroksitleri (LOOH) ve zincir reaksiyonlar sonucunda alkoksil radikaller (LO \cdot) oluşmaktadır. Bunların hepsi reaktif oksijen türleri (ROT) adı altında toplanmaktadır.

Santral sinir sisteminde serbest radikal kaynakları:

a) Mitokondri; normal mitokondriyal solunumda % 1 serbest radikal kaçıışı olmaktadır (13).

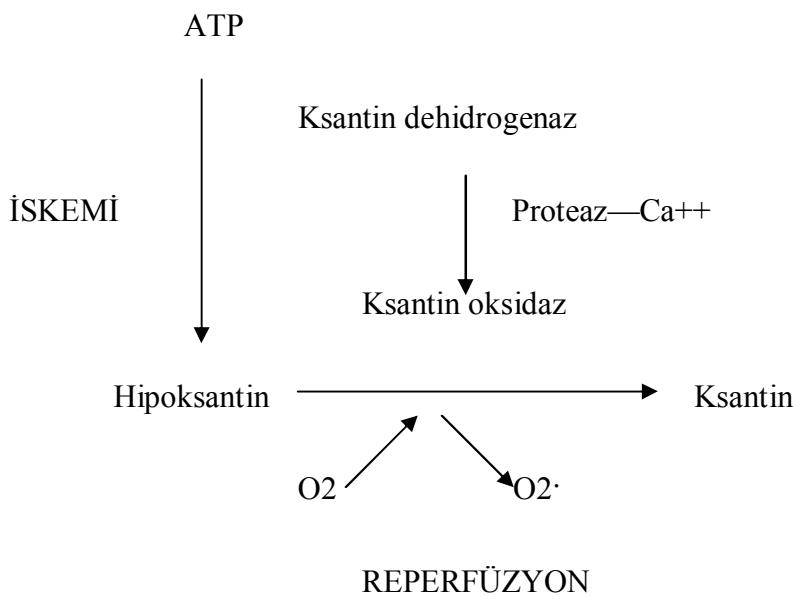
b) Katekolaminler: Serebral iskemi sonrası penumbra bölgelerinde fazla miktarda salınan katekolaminlerin oksidasyonu serbest radikallerin kaynağını oluşturmaktadır (14).

c) Ksantin oksidaz; bu enzim normalde beyin dokusunda ksantin dehidrogenaz halinde bulunmaktadır, iskemiye bağlı olarak adenozintrifosfatın (ATP) sentezlenememesi nedeniyle ksantin oksidaz'a dönüşmektedir. ATP'nin bir yıkım ürünü olan hipoksantini substrat olarak kullanarak ürik asit ve O₂ oluşumuna (şekil 2.1) neden olmaktadır (12,15). Bu mekanizma iskemiye takip eden reperfüzyonda O₂ 'in majör kaynağını oluşturmaktadır.

d) Demir ve bakır: Demir ve bakırın yükseltgenmesi ve indirgenmesi sırasında serbest radikaller (şekil 2.2) oluşmaktadır (16).

e) Araşidonik asit metabolizması (17).

f) Lökosit akümülyasyonu (18).



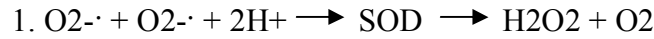
Şekil 2.1. Ksantin oksidaz enzimi ile oksijenden O₂ \cdot üretimi (12)

1. $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \longrightarrow \text{OH}\cdot + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$ (Haber-Weiss reaksiyonu)
2. $\text{O}_2^{\cdot-} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{OH}\cdot + \text{OH}^-$ (Nonkatalize Haber-Weiss reaksiyonu)
3. $\text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^{\cdot-}$ (Ferröz demir 2+ ve kupröz bakır +'ın oksijenle reaksiyonu)
4. $\text{Cu}^+ + \text{O}_2 \longrightarrow \text{Cu}^{2+} + \text{O}_2^{\cdot-}$ (Ferröz demir 2+ ve kupröz bakır +'ın oksijenle reaksiyonu)

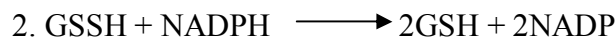
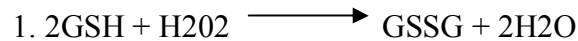
Şekil 2.2. Oluşan $\text{O}_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 ; SOD ve katalaz ile ortadan kaldırılmaya çalışılır. Detoksifiye edilemez ise H_2O_2 demir ile reaksiyona girerek daha toksik $\text{OH}\cdot$ üretimi gerçekleşir. Ayrıca demir ve bakırın yükseltgenmesi sırasında $\text{O}_2^{\cdot-}$ üretimi devam eder (16).

Savunma mekanizmaları:

- a) Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (Şekil 2.3),
- b) Glutasyon redoks siklusu (Şekil 2.4),
- c) E-vitamini ve askorbik asit.



Şekil 2.3. Oluşan $\text{O}_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 'in SOD ve katalaz ile ortadan kaldırılması (14)



Şekil 2.4. Hidrojen peroksidin redükte glutasyon ile etkisiz hale getirilmesi ve glutasyon redoks siklusu.

Kan beyin bariyerinin hasarına bağlı geçirgenliğinin artması:

Deneysel sıçan serebral travma modellerinde *Evans* mavisini ile yapılan çalışmalarda KBB hasarı sonucu geçirgenliğin travmayı takiben ilk saatlerde maksimal seviyede

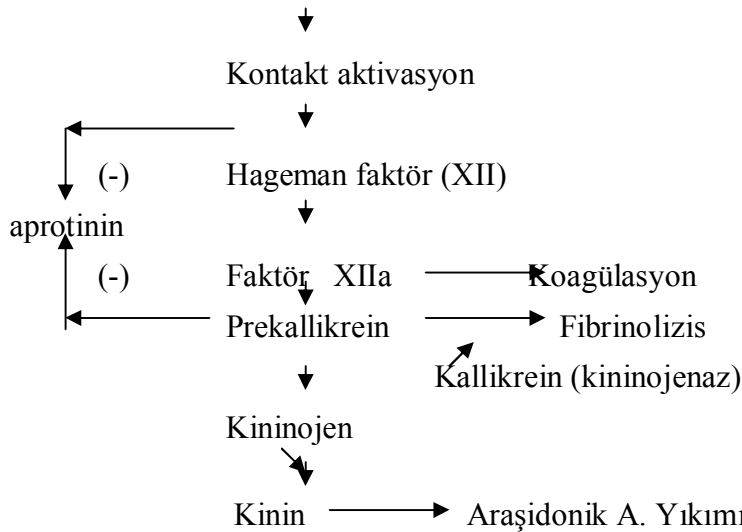
olduğu, 24 saatte zamana bağlı olarak normale döndüğü rapor edilmiştir (19,20). Bunun yanında ödemin ise 24 saatte pik yaptığı ve yaklaşık bir haftada çözüldüğü gözlenmiştir (21).

Beyin ödeminde görev üstlenen mekanizmalar:

- 1.Kallikrein-kinin sistemi
2. Eksitotoksisite
- 3.Araşidonik asit metabolitleri
- 4.Serbest radikaller
- 5.Beyin inflamasyonu (lökosit akümüasyonu)

Kallikrein Kinin Sistemi

Kafa travmaları, sekonder beyin ve vasküler hasara neden olan yüksek oranda serebral kontüzyon ve fibrinöz mikrotrombüs oluşumu ile uyumludur (22). Doku hasarı, plazma kallikreini aktive ederek bradikinin üretimini sağlar (23) (Şekil 2.5). Doku kallikreini ise aktive olan nötrofillerden salınır ve kininojene dönüştükten sonra nötrofil ve endotel hücre yüzeyine bağlanarak kallidin üretimi ile sonlanır. Bradikinin ve kallidin, inflamatuvar lökosit ve vasküler endotel hücre aktivasyonuna tetik çekerek, doku inflamasyonuna, beyinde nöronal ve nöronal olmayan hücre toplulukları ile etkileşimi sonucunda inflamatuvar sitokin üretimi, eksitator aminoasit salınımı, KBB açılımı ve vasojenik ödeme neden olur (24,25,26,27). Primer serebral hasar



Patofizyolojik etki(serebral vazodilatasyon, KBB açılımı, beyin ödemi)

Şekil 2.5. Serebral doku hasarını takiben plazma kallikrein kinin sisteminin oluşum süreci (27).

Eksitotoksisite

Glutamat ve serbest yağ asitlerinin ekstrasellüler alanda akümüasyonu vazojenik beyin ödemi ile uyumlu bulunmuştur (28).

Araşidonik Asit Metabolitleri

Lipooksijenaz Yolu

Membran lipit yıkım ürünlerinden biri olan araşidonik asidin beyine enjeksiyonu KBB geçirgenliğini artırarak vazojenik beyin ödemeine yol açmaktadır (29). Araşidonik asidin 5-lipooksijenaz yolu ile yıkımı ile "5-hydroxyeicosatetraenoic acid" (5-HETE) ve lökotrienler (LTA4, LTB4, LTC4 ve LTE4) oluşmaktadır (30). Lökotrienlerin normal beyinde, KBB üzerindeki etkileri tartışmalıdır. Lökotrien seviyelerinin postiskemik beyinde (31), beyin tümörleri (32) ve intraserebral hemorajiye bağlı beyin ödeminde (33) artmış olduğunun gözlenmesine rağmen, LTC4'ün intrakarotid arter yolu ile verilmesi normal beyinde KBB geçirgenliğini etkilememiştir (34). Ancak lökotrienlerin iskemik beyin ödeminde serbest radikal türlerin oluşumunda kimyasal bir mediatör rolü üstlendiği varsayılmaktadır (35). Serebral iskemiye bağlı beyin ödeminin siklooksijenaz inhibitörü olan indometazin ile değil de AA-861 gibi 5-lipooksijenaz inhibitörü ile önlenmesi, lökotrienlerin ROT üretilmesinde rol alarak serebral vasküler bozukluğa neden olduğunu önermektedir (36). Lipooksijenaz enziminin O₂ kaynağı olduğu gösterilmiştir (37). Öte yandan 5-HETE ve LTB4 kemoatraktan bir rol oynayarak beyin dokusuna lökosit transportunda görev üstlenmektedir (30).

Siklooksijenaz Yolu

Araşidonik asidin siklooksijenaz yolu ile metabolizması tromboksan, prostaglandin ve prostasiklin ürünlerini ortaya çıkarmaktadır(38) ve araşidonik asitten bu yol ile eikosanoid üretimi oksijen radikal üretimi ile uyumludur (37). Sıçanlarda, travmayı takiben PGE₂, PGF₂ α ve 6-keto-PGF₁ α 'nın serebrumdaki düzeylerinin yükselmesi intrakraniyal basınç artması, pial arteriol dilatasyonu ve hipertansiyon ile uyumlu bulunmuştur (39). Araşidonik asidin beyine enjeksiyonu ile ortaya çıkan O₂ üretiminin indometazin ve SOD ile önlenmesi O₂ üretiminde prostaglandin sentaz yolunun önemini göstermektedir (40).

Serbest Radikaller

Süperoksit dismutaz α -tokoferol, askorbik asit, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon gibi enzimatik ve non-enzimatik savunma mekanizmaları serbest radikalleri detoksifiye ederek sekonder beyin hasarının azaltılması yanında, serebral vasküler hasarın önlenmesinde çaba sarf etmektedir. İnkomples iskemi ve reperfüzyon modelinde beyinde glutatyonun erken dönemde tüketildiği, bunun yanında SOD aktivitesinin pik yaptığı gösterilmiştir (41,42). Travmaya maruz bırakılan kültürü yapılmış domuz endotelial hücre (KEH) lerinde glutatyonun travma şiddetine paralel olarak tüketilmesi ve dışarıdan eklenen glutatyonun hücre hasarını önlemesi oksijen kaynaklı serbest radikallerin KBB hasarında rol aldığını önermektedir (43). İskemik ve travmatik beyinde SOD aktivasyonu, $\text{OH}\cdot$ ve O_2 üretimi ilk dakikalarda maksimal seviyeye ulaşmaktadır (44,45). Kan beyin bariyeri geçirgenliğinin iskemi ve travmayı takiben ilk bir saat içinde maksimal seviyeye ulaşması (19,20), serbest radikaller ve vasküler hasar arasında eş zamanlı bir etkileşimi akla getirmektedir.

Beyinde ksantin oksidaz ve dehidrogenaz içeren tek hücre türü vasküler endotelial hücrelerdir (46) ve ksantin oksidaz inhibitörü olan oksipürinol KEH'lerin travmatik hasarını doza bağımlı olarak azaltmıştır (43). Bu sonuç, vasküler endotelial hücrelerin hasarında ksantin oksidaz kaynaklı O_2 ve H_2O_2 'in rol aldığını göstermektedir. Çünkü, ksantin oksidaz yolu ile ortaya çıkan H_2O_2 'in glutatyon peroksidaz ve katalaz ile peroksit ve suya dismutasyonu söz konusudur. Eğer bu enzimler ile tüketilemez ise, demirin katalizlediği fenton reaksiyonu devreye girecek H_2O_2 ve $\text{OH}\cdot$ üretimi ile sonlanacaktır (47). Hipoksi/reoksijenasyona maruz bırakılan KEH'lerinin SOD ile inhibe edilebilen ROT ürettiği gösterilmiştir (48). Ayrıca oksipürinol, aynı şekilde anoksi/reoksijenasyona maruz bırakılan domuz KEH'lerinde O_2 üretimini ve hücre hasarını önlemiştir (49). Serebral vasküler endotelial hücrelerle oluşturulan in vitro KBB modelinde, "menadione" (O_2 üretimine neden olan K3 vitamini) transgenik farelerden üretilen (fazla miktarda CuZn-SOD içermektedir) KEH de non-transgenik farelerden üretilenlere göre 1.7 kat daha fazla O_2 üretimine neden olmasına karşılık, veriler vasküler hasara daha çok $\text{OH}\cdot$ ve peroksinitrit'in (ONOO^-) yol açtığını önermektedir (50). Keza anoksi, KEH'lerinde $\text{OH}\cdot$ ve nitrik oksit üretimine neden olmuştur (51). Süperoksit radikaller

in vivo şartlarda anyon kanalları yolu ile ekstrasellüler alana geçmektedir ve anyon kanallarının ilaçlarla inhibisyonu ekstrasellüler alana geçişini önlemektedir (40). Beyinde SOD'nin ekstrasellüler alandaki azlığı, O₂'in uzun süreli etkin olmasına olanak sağlamaktadır (52). Deneysel çalışmalarda SOD ile tedavinin beyin ödemi önlediği bildirilmesine rağmen (53,54), O₂'lerin vasojenik ödemin gelişiminde direkt etkisinin olmadığına inanılmaktadır. Süperoksit ile demirin reaksiyona girmesi sonucunda ortaya çıkan OH⁻, KBB kırılmasından sorumlu tutulan çok reaktif bir radikaldir. Deferoksaminin vasojenik beyin ödemi önlemesi ve demirin eklenmesinin bu ödem tipini artırması bu hipotezi desteklemektedir (55).

Sitotoksik Ödem

Sellüler ödem olarak da adlandırılır. Hücre zarında meydana gelen fizyopatolojik ve mekanik hasar sonucu gelişir. Başlıca nedeni serebral iskemidir. Serebral iskemi sonucu hücre zarında transportu sağlayan Na/K ATPaz enzimi enerji azalması ya da kaybı sonucu işlev göremez. Hücre içinde sodyum birikmeye başlar. Yine iske miyle birlikte hücre zarında bulunan eksitatör amino asit reseptörleri, (başlıcası NMDA) normal sinaptik iletiyi sağlayan glutamatın sinaptik aralıkta birikmesi sonucu aşırı uyarılırlar. Böylece önce Na ardından da Ca yüksek miktarlarda hücre içine akar. Hücre şişer. Kalsiyumun hücre içinde inaktif olarak bulunan fosfolipazları tetiklemesiyle hücre membranı kırılır. Membranı oluşturan yağ asitlerinin (başlıcası araşidonik asit) metabolize olmasıyla ortaya çıkan serbest radikaller ve lipid peroksidleri kısır bir döngüye yol açarak zincirleme reaksiyonlarla membran hasarını arttırır. Reperfüzyon gerçekleşmezse geri dönüşümsüz hasar oluşur. Serebral infarktlarda oluşan ödem bu tiptedir.

Sitotoksik ödemin tedavisinde serbest radikal temizleyiciler, eksitatör amino asit reseptör antagonistleri, kalsiyum kanal blokerleri yararlı bulunmuştur.

Na⁺/K⁺ ATP az, Mg²⁺/Ca²⁺ ATP az

Na⁺/K⁺ ATP az ve Mg²⁺/Ca²⁺ ATP az, hücre içi Na⁺, Mg²⁺ ve Ca²⁺ konsantrasyonlarını düzenleyen membrana bağlı enzimlerdir. Sinir terminallerindeki presinaptik veziküllerde yüksek Ca²⁺ATP az aktivitesi vardır ve sinaptosomal membrandaki yüksek fosfolipid içeriği Na⁺/K⁺ATP az aktivitesi için şarttır (55,57).

Normalde ekstrasellüler sıvı büyük miktarda sodyum ve az miktarda potasyum içerir. İntasellüler sıvı için bunun tersi geçerlidir.

Na^+/K^+ pompası vücuttaki bütün hücrelerde bulunur. Hücre membranının iki tarafında sodyum ve potasyum konsantrasyonlarının farklı olması yanında hücre içerisinde negatif elektriksel potansiyelin de oluşmasını sağlar. Bu pompa bütün sinir sisteminde sinyallerin iletisini sağlayan sinir fonksiyonunun temelini oluşturur.

Na^+/K^+ pompası, membrana bağımlı Na^+/K^+ ATP az tarafından her ATP molekülünün ADP ye hidrolizi esnasında 3 Na^+ iyonunun hücre içinden dışarıya ve 2 K^+ iyonunun dışarıdan içeriye hareketini sağlar. ATP, ADP'ye parçalanırken bir yüksek enerjili fosfat bağından enerji serbestler. Bu enerji sodyumun dışarıya potasyumun içeriye girmesinde kullanılır. Quabain ve diğer kardiyak glikozidler membranın ekstrasellüler yüzeyinde etkili olarak bu pompayı engellerler.

Ca^{2+} iyonları normalde intrasellüler sıvıda çok düşük konsantrasyonda , ekstrasellüler sıvıdaki 1/10000'i kadar bir konsantrasyonda bulunur. Bunu sağlayan iki kalsiyum pompasıdır. Bunlardan biri hücre membranında bulunur ve kalsiyumu hücre dışına pompalarken magnezyumu hücre içine pompalar. Diğer ise kalsiyum iyonlarını hücrenin bir ya da daha fazla veziküler organeline pompalar. Buorganlar kas hücrelerindeki sarkoplazmik retikulum ya da bütün hücrelerdeki mitokondriler olabilir. Bu ATP'yi parçalama yeteneği olan bir ATP azdır ($\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ ATP az).

Hidrostatik Ödem

Kranyum içinde artmış intravasküler basıncın kapiller yatağa yansımaları ve prekapiller segmentte, koruyucu olarak serebrovasküler direnci arttıracak otonöregülasyon mekanizmalarının bozuk olması sonucu gelişir. Bu tip ödemde vazojenik ödemden farklı olarak ekstrasellüler alana sızan ödem sıvısı proteinden zengin değildir. Starling eşitliğindeki intravasküler hidrostatik basınç artışı bu tip ödemin başlıca nedenidir. Arterovenöz malformasyon (AVM) ameliyatlarından sonra görülebilen normal perfüzyon basıncının geri dönmesi tablosu bu ödem tipine örnektir. AVM çevresindeki dokuda bulunan otonöregülasyon özelliğini yitirmiş vasküler yatağa AVM çıkarıldıktan sonra normal basınçta gelen kan, artmış

intravasküler hidrostatik basınca ve ödeme neden olur. Büyük bir intrakranyal kitlenin ani dekompresyonu sonrasında da bu tipte ödem görülebilir.

Hipoosmotik Ödem

Deneysel olarak peritoneal kaviteye distile su enjeksiyonuyla plazma osmolalitesinin düşürülmesinin İKB da ve beyin su oranında artışa neden olduğu gösterilmiştir. Klinikte bu duruma benzer bir tablo hiponatremiye neden olan süreçler sonucu gelişebilir. Santral sinir sisteminin hastalıklarında ortaya çıkabilen uygunsuz ADH sendromu ve serebral tuz kaybı sendromu hiponatremiye ve diffüz beyin ödeme yol açabilir. İlkinde dilüsyonel ve hipervolemik bir hiponatremi söz konusudur. İkincisinde ise sodyumla birlikte su kaybı da gelişir ve hipovolemik hiponatremi oluşur. Tedavide uygunsuz ADH sendromunda hipertonic tuz solüsyonlarının infüzyonuyla su kısıtlaması yapılırken, serebral tuz kaybı sendromunda bir mineralokortikoid olan fludrokortizon verilir. Hipoosmotik ödem hipovolemiyi düzeltmek amacıyla %5 dekstrozu solüsyonunun infüzyonu sonucu da gelişebilir.

İnterstisyel Ödem

Obstrüktif hidrosefalisi olan hastaların bilgisayarlı tomografi ya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kesitlerinde lateral ventrikül kesitlerinin etrafında görülen hipodens-hipointens alan bu tip ödemin göstergesidir. Artmış intraventriküler basınç sonucu transependimal geçiş periventriküler ak maddede ödeme yol açar. Tedavide hidrosefaliye neden olan kitle çıkartılır ya da BOS'un drenaj ya da shunt ameliyatıyla ventriküllerden uzaklaştırılması sağlanır.

Beyin Şişmesi

Miller tarafından beyin ödemi tipleri arasında yer verilen beyin şişmesi, arteriyel dilatasyon, hipertansiyon ve venöz konjesyon sonucu serebral kan volümünün artmasıyla gelişir.

Eksitator Aminoasitler ve Eksitotoksisite

Eksitator aminoasitler (EAA) ilk defa 1957 yılında Lucas (3) ve Newton (58) isimli araştırmacıların çalışmasında rastlantısal olarak bulunmuştur. Bu kişiler retinal

distrofiyi iyileştirmek için fare retinası üzerinde çeşitli maddeler denerlerken glutamatın sistemik enjeksiyonunun retinanın iç sinir katmanlarını harapladığını gözlemlemişlerdir. Yirmi yıl sonra Olney ve Sharpe (59) sonradan eksitoksisite olarak adlandırılacak bu nörotoksik etkinin yalnızca glutamat ve retinal nöronlar ile sınırlı olmadığını, EAA'lerin santral nöronlar üzerinde genel bir etki oluşturduklarını bildirmişlerdir. Son yıllarda bu hipotez glutamat reseptör fonksiyonlarının ortaya konulması ve etkili glutamat antagonistlerinin gelişimi ile desteklenmiştir. Günümüzde kafa travması, spinal travma, serebral iskemi, epilepsi ve kronik dejeneratif hastalıkların fizyopatogenezinde eksitotoksik yangının önemi kabul edilmektedir (60,61,62,63,64).

Glutamat ve aspartat gibi EAA'ler memeli santral sinir sisteminin ana nörotransmitterleridir. Beyinde oldukça yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar (glutamat 10 mmol/l ve aspartat 4 mmol/l), sinir terminallerindeki sinaptik geçişi yönlendirir ve nöron içine iyon geçişini kontrol ederler. Nöronal yaşam, sinaptogenesis, nöronal plastisite, öğrenme ve hafıza üzerinde etkili bulunmuşlardır (61,62,65,66,67,68). EAA'ler normalde sinir iletiminden sorumlu oldukları halde, nörotoksitenin de potansiyel kaynağıdır. Glutamatın anormal düşüklüğü normal eksitasyonun bozulmasına, aşırı yükselmesi ise kalsiyum homeostazisini bozarak eksitotoksiteye ve hücre ölümüne neden olabilir. Glutamat ve benzeri aminoasitlerin nöronun gövdesinde, dendritlerde, glialarda akut şişmeye ve daha yavaş olarak nöronal dejenerasyona yol açtıkları gösterilmiştir (58,61,69,70,71).

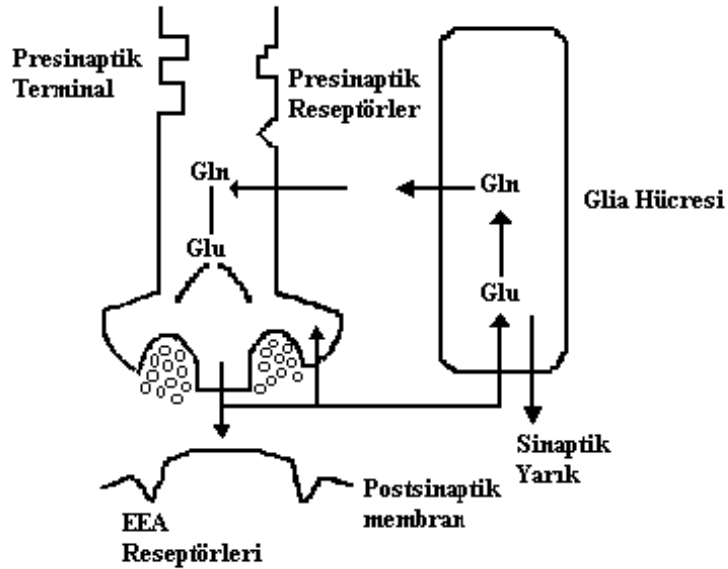
Bu nedenle normal şartlarda sinaptik aralıktaki glutamat seviyelerini düzenleyen hassas bir mekanizma mevcuttur. Bu, sinir terminalinin presinaptik ucundaki reseptörler ve glia hücreleri aracılığıyla hücre dışı fazla glutamatın sinaptik aralıktan hücre içine geri alınımına dayanır (Şekil 1) (58,61).

Bu mekanizma sayesinde fizyolojik koşullarda glutamat kuvvetli ve hızlı etki gösteren bir toksin olduğu halde glutamatın beyne direkt uygulanması bile hasar yaratmayacaktır (65). Bununla beraber sistemin yetersizliğine yol açabilen veya çok yüksek glutamat salınımına neden olan patolojik durumlar ise nöron kaybına yol açacaktır (72,73,74,75).

Kafa travmasını takiben oluşan sekonder nöron hasarı, beyin ödemi ve EAA'ler arası ilişki birçok çalışma ile ortaya konulmuştur. Deneysel kafa travma

modelleri üzerindeki çalışmalar hasarlı dokuda glutamat seviyelerinin çok yükseldiğini göstermektedir. Sıçanlarda travmatik kortikal lezyon sonrası doku nekrozunun 24 saatte % 150 oranında genişlediği, bu periferik bölgede yapılan mikrodializ çalışması ile aspartat ve glutamat seviyelerinin ileri derecede arttığı gösterilmiştir (76).

Baker ve ark. (77) ciddi kafa travmalı olguların serebrospinal sıvılarında, Tanaka ve ark. (78) ise kontüze beyin dokusunun merkez ve periferinden alınan örneklerde glutamat miktarının arttığını bildirmişlerdir. Kanthan ve Shuaib (79) ciddi kafa travmalı bir grup olguda intraserebral invivo mikrodializ yöntemi ile 3 saat boyunca sürekli aminoasit tayini yapmıştır. Bu çalışmada da glutamatın çok yüksek seviyelere ulaştığı bildirilmektedir. Tolias ve ark.ları ise ciddi kafa travmalı çocuklarda mikrodializ yöntemi ile elde edilen örneklerde aynı sonuca ulaşmışlardır (80,81).



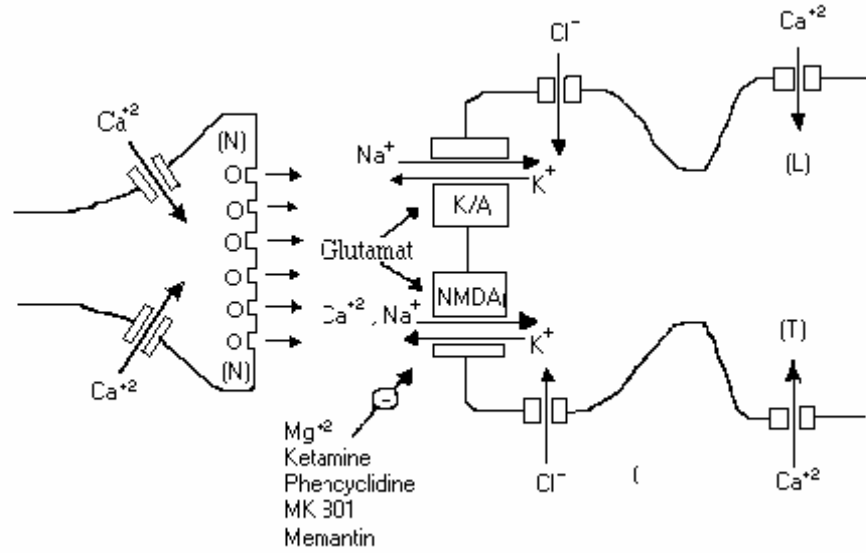
Şekil 2.6. Glutamat salınımı ve geri alınımı.

EAA Reseptörleri

Glutamat ve aspartat postsinaptik hücre yüzeyindeki etkilerini belirli reseptörlerle etkileşime girerek oluştururlar (82,83,84,85).

Bu reseptörler iyonotropik ve metabotropik olarak ikiye ayrılır. İyonotropik reseptörler uyarıldıklarında hücre membranından hücre içine iyon geçişini doğrudan etkileyen reseptörlerdir. Na^+ , K^+ ve Ca^{++} 'a olan farklı geçirgenlikleri nedeniyle *N-methyl-D aspartate* (NMDA), AMPA ve Kainat olmak üzere 3'e ayrılırlar (Şekil 2).

NMDA reseptörleri hipokampus (stratum radiatum), striatum, talamus ve serebral ve serebellar kortekste yüksek dansitede bulunur. AMPA reseptörlerinin dağılımı da NMDA reseptörlerine benzer ancak NMDA reseptörleri serebellumda granüler hücre tabakasında yoğun iken AMPA reseptörleri moleküler tabakada daha fazladır.



Şekil 2.7. Eksitator aminoasid sinir terminali.

Kainat reseptörleri ise hipokampusta (stratum lucidum), neokorteksin iç ve dış tabakalarında bulunurlar (82,84,86).

NMDA reseptörleri üzerinde en çok çalışılan ve bilgi sahibi olunan reseptör kompleksidir. Monovalan katyonlara ek olarak, Ca^{++} iyonunun da hücre membranından geçişini sağlar. Diğer iyonotropik reseptörlere kıyasla Ca^{++} 'a karşı en az 5 kez daha fazla geçirgen olduğu gösterilmiştir (87). Santral sinir sistemine yaygın olarak dağılmıştır. Duysal ileti ve iletinin integrasyonu ile motor fonksiyon ve

aktivitenin koordinasyonu ve programlamasında yer alır (65).

Bu reseptör başlıca 6 bölge içerir:

1. NMDA ve diğer agonist tanıma bölgesi; NMDA, glutamat ve diğer agonistler ile reaksiyona girer. Reseptör içindeki iyon kanalının açılmasını sağlayarak normal eksitator etkinin oluşmasını sağlar. Stimülasyonun sürmesi halinde ise patolojik eksitotoksik etki ortaya çıkar. Kompetitif eksitator aminoasit antagonistleri buraya yapışmak için glutamatla yarış ederler (60,72,88,89,90,91,92).

2. Katyon bağlanma bölgesi; kanal içinde yer alır, buraya Mg^{+} bağlanır ve membran boyunca olan iyon akımını bloke eder. Mg^{+} 'un etkisi agonist ve voltaj bağımlıdır. Yani iyon kapısı olarak işleyen reseptörü istirahat membran potansiyeli (-70mV) durumunda bloke eder. Reseptörün tekrarlayan, uzun süreli uyarılarda (NMDA tanıma bölgesine sürekli bağlanan agonistlerin varlığında) depolarize edilmeye başladığı ve membran potansiyeli -30 mV düzeylerine ulaştığı zaman Mg^{+} 'un etkisi kaybolarak iyon kapısı açılır (90,92,93,94).

3. Glisin bağlanma bölgesi; santral sinir sisteminde inhibitör nörotransmitter olarak çalışan glisin paradoksal olarak NMDA reseptörünün etkinliğini, dolayısıyla da eksitator iletiyi güçlendirir(90,92,95).

4. Poliamin bağlanma bölgesi; endojen poliaminlerden spermin ve spermidinin bağlanma yeri olan bu bölgenin işlevi, glisin gibi reseptörün aracılık ettiği yanıtı arttırmaktır. Buna karşılık her iki bölge de normal durumlarda tam olarak aktif değildir (90,92,93,95).

5. Çinko bağlanma bölgesi; inhibitör etki gösterir (93,94). Zn^{++} blokajı da voltaj bağımlıdır (93,95).

6. Kanal antagonist bağlanma bölgesi; reseptör kanal kompleksinin alt bölümünde yer alır.

Eksitotoksik etkiyi antagonize edebilecek farmakolojik manüplasyonlara açık bir bölgedir. Bu bölgeye bağlanacak antagonistin bağlanma yerine ulaşabilmesi için kanalın açık olması, yani reseptörün NMDA, glutamat veya benzeri agonistlerce uyarılmış ve magnezyumun kanal kapatıcı etkisinin ortadan kaldırılmış olması gerekmektedir. Bu etki agonist bağımlı olmakla birlikte non-kompetitiftir yani bağlanma yeri için agonistlerle yarışmaz aksine onların açtığı kanala girerek kanalın

kapanmasını sağlar. Postsinaptik membran reseptörünün uyarılması arttıkça bu bölgeye yapışan non-kompetitif antagonistlerin etkinliği de artar (60,62,90,92,97,98).

NMDA reseptörleri üzerindeki yoğun çalışmalar yakın zamanda birçok subünitinin de ortaya konulmasını sağlamıştır. Bu subünitler değişik beyin bölgelerinde daha yoğun konsantrasyonlarda yer almakta ve canlının gelişim evresine göre de farklılıklar gösterebilmektedir.

Alfa-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoazole propionic acid (AMPA) reseptörleri monovalan katyonlar (Na^+ , K^+ , H^+) için daha seçicidirler. Hızlı eksitator sinaptik geçişte rol oynarlar. Bu kanalların açılması ile Na^+ hücre içine girer ve depolarizasyon oluşur (58,99,100,101).

Kainat reseptörleri hakkındaki bilgiler nisbeten daha azdır ve detaylı çalışmalar sürdürülmektedir (66).

Metabotropik reseptörler ikincil haberci olarak görev yaparlar. Uyarılmaları hücre içi inozitol trifosfat ve diaçil gliserol düzeylerini arttırır, hücre içi havuzlardan Ca^{++} salınımını sağlar (63,66,71,100,102,103,104,105).

Diaçilgliserol proteinkinaz C'yi aktive ederek voltaj bağımlı kalsiyum girişinin artmasına da yol açabilir (63,90,96,106).

EAA'ler ile Oluşturulan Hücre Hasar Mekanizması

EAA toksisitesi akut şişme ve geç dejenerasyon olmak üzere başlıca iki fazdan oluşur (100,105,107). Akut değişiklikler hemen daima nöronun depolarizasyonu ile başlar. Depolarizasyon değişik patolojilere bağlı olabilir (travma, iskemi, hipoglisemi, epilepsi...). Sonuç olarak hücre dışı Cl^- oluşan elektrokimyasal çekime bağlı olarak hücre içine girer. Bunu iyon dengesinin devam ettirilmesi için katyon (sıklıkla Na^+) girişi de izler. Olay hücre şişmesi ile sonlanır. Eksitotoksinin bu hızlı fazında özellikle AMPA reseptörleri etkindir (58,62,107,108). İkinci faz hücre içine aşırı Ca^{++} girişidir. Normal seviyede hücre içi Ca^{++} metabolik düzenlemede, nörotransmitter salınımında rol oynarken aynı zamanda hücre içinde ikinci mesajcı olarak da fonksiyon görür. Bu nedenle nöron içindeki Ca^{++} dengesi hayati önem taşır. 1980'li yılların başında, hipoksi-iskemi, hipoglisemi ve status epileptikusta hücre içi Ca^{++} yükselmesi ve buna bağlı gelişen nöron ölümünün, dendritik membran üzerinde yerleşmiş voltaj sensitif kalsiyum kanalları (VSCC)

yoluyla oluřtuđu dűřünülmekteydi. Gűnűműzde Ca^{++} un hűcre içine birçok giriř yolu olduđu, en ۆnemlilerinden birinin de glutamat ve diđer eksitatۆr aminoasitlerin etkisiyle açılan ‘agonist operated kalsiyum kanalları (AOCC)’ olduđu anlařılmıřtır (64). En ۆnemli AOCC’ı eksitatۆr aminoasitler tarafından aktive edilen NMDA reseptۆrűdűr. Bu temel olarak NMDA kanalları ile yűrűtűlűr ve hűcre içi depolardan da Ca^{++} salınımını tetikler. Hűcre içi Ca^{++} artıřı lipolitik (lipaz ve fosfolipaz) ve proteolitik (*Calpain I* ve diđer Ca^{++} bađımlı proteazlar) enzimleri aktive edecektir. Proteolitik enzimler plazma membranını ve hűcre iskeletini oluřturan madde ve zincirleri yıkar (58).

Lipolitik enzimlerin aktivasyonu ise nۆron membranındaki fosfolipidlerden arařidonik asid salınımına, yani arařidonik asid dۆngűsűnűn bařlamasına neden olur. Bu dۆngűde prostoglandinler, lۆkotrienler ve tromboksanlar sentezlenir. Olay serbest radikal ve lipit hidrosiperoksitlerin yapımıyla ve kısır bir dۆngű içinde ilerleyerek nۆronun ۆlűműyle sonuçlanır (66).

Diđer tip reseptۆrlerin (muskarinik M1 ve M2, α 1-adrenerjik ve histamin H1) ařırđ uyarılması da hűcre içi Ca^{++} ’unda geçici artıřa neden olacaktır. Ancak bu Ca^{++} hűcre içi depolardan gelir ve hiçbir zaman NMDA reseptۆrűnűn ařırđ uyarılmasında olduđu kadar yűksek seviyelere ulařamaz (95).

Normal řartlar altında Ca^{++} hűcre içinde kalmodilin ve kalsibindin gibi proteinlere bađlanarak tamponlanır. Ancak H^+ iyonu da aynı proteinlerle tamponlanmaktadır. Bu nedenle patolojik olaya asidozun eřlik etmesi durumunda bađlayıcı proteinlerin daha bűyűk bir bۆlűmű H^+ iyonunu tamponlayacaktır. Bu durum hűcre içi serbest Ca^{++} konsantrasyonunda ek artıřa yol açacaktır(105,64,109).

Sonuç olarak EAA’ler santral sinir sisteminin pek çok hastalıđının patogenezinde ۆnemli etkilere sahiptir. Bunun dıřında ikincil hasar mekanizmalarının geliřiminde ve geri dۆnűřűmsűz hasarın oluřmasında arařidonik asid dۆngűsű, lipid peroksidasyonu gibi sűrelerle de dođrudan bađlantılıdır. Gűnűműzde EAA’lerin ۆneminin ortaya konulması bu hastalıkların tedavisinde EAA reseptۆr antagonistleri ile çalıřmalara da hız vermiřtir.

Kan-Beyin Bariyeri

Kan-beyin bariyerinin temel görevi normal beyin volümünün korunmasıdır. Bu bariyer maddelerin hücre içine girmesini kontrol eden bir mekanizmadır.

Kan-beyin permeabilitesini ilk defa gösteren 1885'de Paul Ehrlich olmuştur. Ehrlich intravasküler Trypan blue enjeksiyonundan sonra, beyin dışında bütün organların boyandığını göstermiş ve bariyer düşüncesini ortaya atmıştır. Goldmann 1913'de bir adım daha atarak Trypan mavisini BOS içine enjekte ederek, beyin boyandığını ancak diğer dokuların boyanmadığını göstermiş ve kan ile beyin arasında bariyer varken BOS ile beyin arasında bariyerin olmadığını kanıtlamıştır.

Anatomi

Anatomik yapı Ehrlich ve Goldmann'dan yıllar sonra açıklanmıştır. Mikroskopik incelemede Spatz 1933'de beyin vasküler yapısı ve bariyerler hakkında açıklamalarda bulunmuştur. Ancak 1946'da August Krogh tarafından daha uygun ve kullanılabilir bir tez ileri sürülmüştür (110).

Reese ve Karnovsky 1967'de elektron mikroskobu ve *horseradish* peroksidaz kullanarak ultrayapısal özellikleri ve vasküler endotel hücrelerini göstererek kan-beyin bariyerini tanımlamışlardır (111).

Kan-Beyin Bariyerinin Yapısı

Elektron mikroskopik incelemelerde, kan kapillerinin lümeni ekstrasellüler aralıktan nöron ve nöroglia tarafından ayrıldığı gösterilmiştir. Kan-beyin bariyerinde kabul edilen ve plasma içeriğinin beyin ekstrasellüler kompartmanına girişini engelleyen iki farklı morfolojik yapı vardır (112,113)

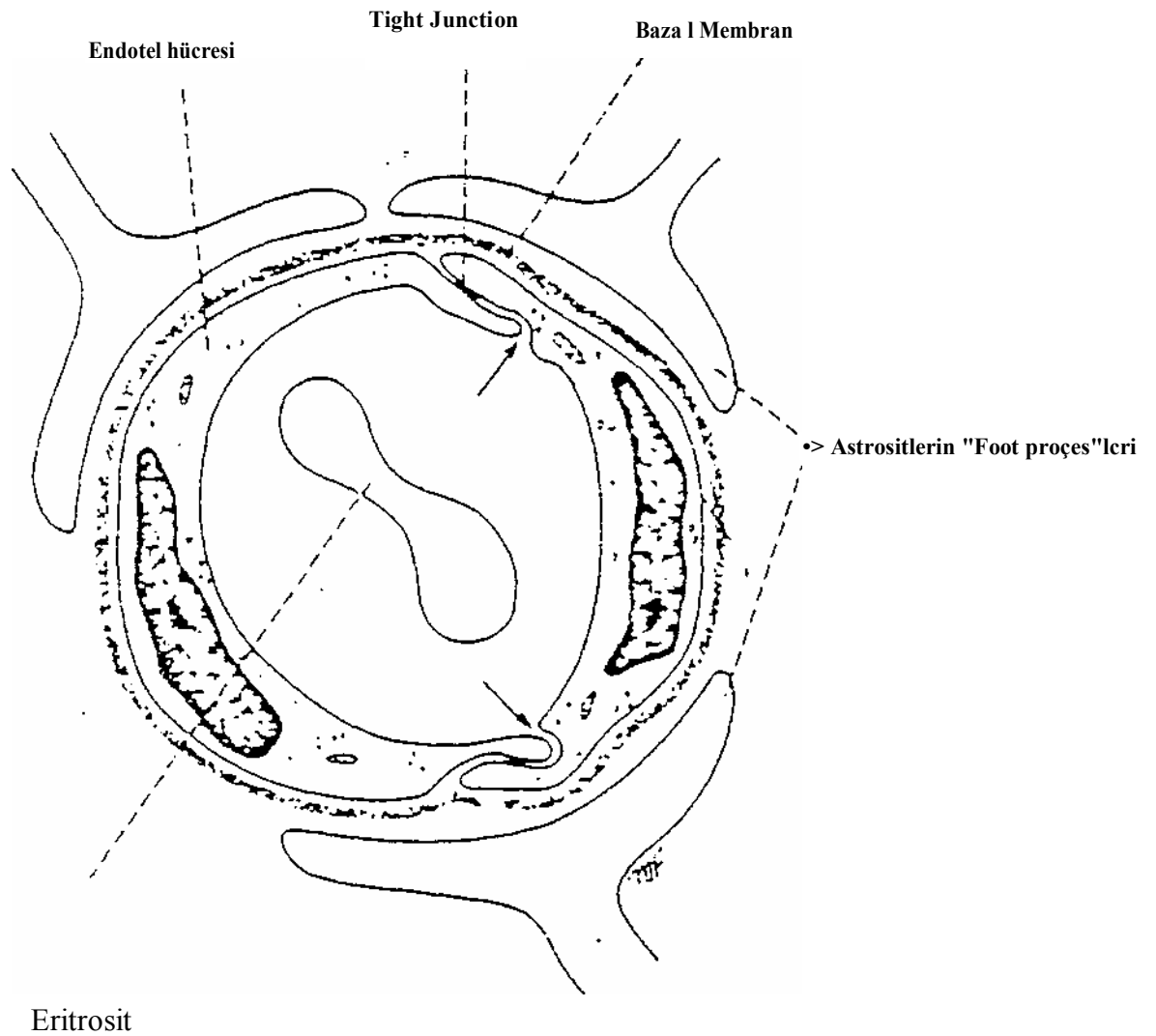
- a) Kapiller endotelyum
- b) Sirkumventriküler organların özelleşmiş ependimaları

Kapiller Endotelyum

Plasma içeriğinin yer değiştirmesinde ilk yüzey kapiller endotelyumdur. Beyinde çok önemli bir yeri olan kapiller endotelyumun diğer organlarda da bulunmasına karşın aşağıdaki farklı özelliklere sahiptir (Şekil 3).

Bu hücreler:

1. Fenestrasyon içermezler.
2. *Tight junctions (zonulae occludentes)* içerirler.
3. Düşük hücresel plasmalemmal çukurcuk ve vezikül içerirler.
4. Yüksek hücresel mitokondriyal özellikleri vardır.
5. Kapiller duvarın dış yüzeyinde sık ve yapışmış astrositik *foot proçes'leri* vardır.



Şekil 2.8. Beyin kan kapiller endotel hücresi ve kan-beyin bariyeri.

Serebral endotelin intersellüler *tight junction* 'ları pentalaminar (beş tabakalı) adezyonlardır ve kapillerler etrafında nokta yapışmaları (*spot-welds*) gösterirler

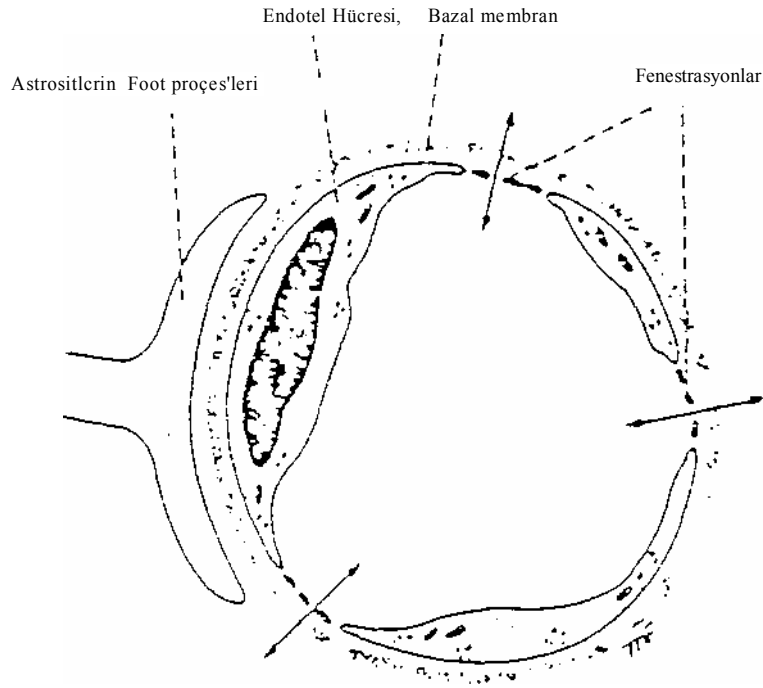
(111,114). Serebral endotelyum tartışılmaz bir şekilde büyük polar moleküllere geçirimsiz olmasına karşın lipit çözünebilir yapılara ileri derecede geçirgendir (115,116). Serebral endotelin *tight junction*'ları 6-8 Å çapındaki su kanalları tarafından perfore edildiği ve yalnızca vücudun üç molekülü; H₂O, Na⁺ ve Cl⁻'un geçtiği bilinmektedir. Serebral endotel hücreleri az miktarda pinositotik çukurlar ve veziküller içerir. Kardiak kas dokusunda da olduğu gibi transsellüler veziküller transportun, serebral endotel hücresindeki bariyerde de yer alması önemli bir özelliktir (117). Mannitol, üre gibi hiperosmotik ajanlar intraarteryel enjekte edildiklerinde serebral endotel hücrelerinin bu *tight junction*'ları reversibl olarak açılırlar. Hipertermi, uzamış hiperkarbi, ve otheregülasyonun bozulması ile ilişkili vazodilatasyon durumlarında *tight junction*'ların bağları çözülmektedir (118,119). Vazojenik ödemde pinositik aktivitenin büyük oranda artmış olmasından dolayı serum proteinlerinin interstisyel sıvıya geçtiği ileri sürülmektedir (120). Serebral hipoksi, stroke, kafa travması, enfeksiyon, inflamatuvar ve otoimmün reaksiyon, beyin tümörü, soğuk yaralanması lezyonlarında, hipertermi, uzamış hiperkapnide, serebral otheregülasyon kaybının olduğu vazodilatasyonda ve akut arteryel hipertansiyonda, proteinin artmış veziküler transportla interstisyel alana geçtiği saptanmıştır (119,120,121).

Endotelial hücreler etrafındaki basal membran, astrositlerin *foot process*'leriyle çevrilidir. Bunlar permeabilite bariyeri ile doğrudan ilişkili değildir. Astrositler, yüksek konsantrasyonda karbonik anhidraz (su ve sodyum transportunda rol alır) ve nükleozid fosfataz (ATP oluşumunda rol alır) enzimlerini içerir. Nükleozid fosfataz endotel hücrelerinde bulunamamıştır. Ancak perikapiller basal membran astrositlerin *foot process*'lerinde çok zengin olarak bulunmuştur (122). Bu enzim muhtemelen endotel hücresinden kan-beyin bariyerine sinyal sağlayarak interstisyel sıvıdaki potasyum miktarının regülasyonunu sağlar (79).

Beyin kapiller endotelial hücreleri aktiftir. Bu hücrelerdeki mitokondri oranı vücudun diğer yerlerindeki hücelere göre beş kat daha fazladır ve hücre hacminin %8-11'ini oluşturur. Vücudun diğer yerlerinde ise bu oran % 2-5 arasındadır (116).

Bu hücrelerin içerdiği enzimler ya da nörotransmitterler ve onların öncülleri, interstisyel sıvıdaki fazlalıkların uzaklaştırılmasında yardımcı olurlar (123). Örneğin dopa dekarboksilaz (L-DOPA'yı dopamine dönüştürür) ve gama aminobutirik asit

transaminaz gibi mitokondriyal enzimlerin aktivitesi tartışılmaz derecede önemlidir. Beyin, kan-beyin bariyeri ile koruma altında iken pituiter gland ve sirkumventriküler organlar gibi sistemik hormon sisteminin kontrolünde önemli rol olan yerlerde bariyer yoktur. Bu yerlerdeki endotel hücrelerinin fenestrasyonları ve tamamlanmamış tight junction vardır (124) (şekil 4).



Şekil 2.9. Beyinde kan-beyin bariyerinin olmadığı yerlerdeki kan kapiller hücresi.

Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO) son yıllarda tanınan, birçok biyolojik olayda önemli rolü olan, çok kısa yarı ömürlü bir serbest radikaldir. Önceleri vasküler sistemde, endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak tanımlandı. NO ve diğer bir son ürün olan sitrüllin, argininden NO sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. NOS'in genetik olarak farklı üç izoformu tespit edilmiştir. Bunlar; düşük miktarda üretilerek vasküler tonüsü ayarlayan bir konstitutif endotelial izoform (eNOS), yine düşük miktar üretilen sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen bir konstitutif nöronal izoform (nNOS) ve yüksek miktarda üretilerek, immün/inflamatuar olaylarda rol alan ve hücre aracılı immün cevapta etkili bir komponent olan uyarılabilir form

(iNOS)'dur. nNOS ve eNOS izoenzimleri NO üretimi için Ca^{++} kalmodulin kompleksine bağımlıdır, buna karşın iNOS bundan bağımsızdır.

Nitrik oksidin serbest oksijen radikalleriyle etkileşimi ve antioksidan özellikleri ile ilgili araştırmalardan elde edilen sonuçlar çeliftir. Aktif makrofajların mikrosidal aktivitelerini aracılığıyla gösterdikleri ileri sürülmekle birlikte, doğru mediatörün NO'dan üretilen nitrojen dioksit (NO_2) gibi ikincil bir oksidan madde olabileceği düşünülmektedir. Ortamda oksijen varsa NO'dan NO_2 ve iki elektronlu oksidanlar olan N_2O_3 ile N_2O_4 oluşur. Süperoksidi bağladığı için, NO'nun serbest radikalleri temizleyen koruyucu bir faktör olduğu düşünülmektedir. Süperoksit ile NO reaksiyonunun ürünü olan peroksinitrit ($ONOO^-$) ise güçlü ve yarılanma ömrü uzun bir oksidandır. Organizmada peroksinitrit, hidroksil radikali gibi davranan hidroksinitrite ($HOONO$) dönüşür. Peroksinitritin parçalanmasıyla yüksek konsantrasyonlarda NO_2 oluşur. Bu reaktif nitrojen bileşikleri lipitler, DNA, tioller, amino asitler ve metallerle reaksiyona girerek enzim fonksiyonlarını bozar, membran bütünlüğüne zarar verir ve DNA mutasyonuna neden olabilir. Bunların sonucunda lipit peroksidasyonu başlar (125).

Yapısal NOS ile üretilen NO normal fizyolojik olayların sürdürülebilmesi için gereklidir. İndüklenebilir NOS ile üretilen yüksek konsantrasyonlar ise hasarı artırır (124). Kısaca NO akut enflamatuvar olaylarda hem koruyucu hem de hasarlayıcı bir molekül olarak etki gösterebilir. Bu paradoks ve puliripotent aktivite birçok araştırmacı için yorumsal karmaşıklığa neden olmakta; bu durum da yeni araştırmaların yapılmasına yol açmaktadır. Aynı durumlar için, aynı ya da farklı modeller kullanılarak yapılan pek çok çalışmanın sonuç ve yorumlarındaki farklılıklar da buradan kaynaklanıyor olabilir (125).

Sepsis ve enflamasyonda iNOS enziminin tetiklenmesi sonucunda NO üretimi artar. Travma durumunda ise ekstrahepatik arginaz I ekspresyonu ve aktivasyonu artarken NO sentezi azalır. Arginaz I ve NOS enzimleri arginini substrat olarak kullanırlar. Arginaz I ekspresyonu arttığında hücre içinde ornitin ve poliamin konsantrasyonları artarken, endotel hücrelerde bazal NO sentezi azalır. Endotelden salınan NOS ile sentezlenen NO, damarların gevşemesi, platelet agregasyonu ve nötrofil infiltrasyonunu engelleyerek, travma sonrasında organlarda kan akımının sürdürülmesini sağlar (127).

Travma modelinde yapılan bir çalışmada sıçanlarda artan ekstrahepatik arginaz I ekspresyonu ve aktivitesinin, plazma nitrat-nitrit konsantrasyonlarının kontrolünde önemli olduğu gösterilmiştir (128).

NO fizyolojik konsantrasyonlarda, hemen hemen tüm organ sistemlerde değişik biyolojik etkilere sahiptir. NO gastrointestinal sistem, havayolları, kavernoöz dokulardaki vasküler düz kasların gevşemesinde önemli bir mediyatördür. NO merkezi sinir sisteminde, hafızanın şekillenmesini de içeren çeşitli fonksiyonları bir nörotransmitter olarak destekler; Periferde ise gastrointestinal, solunum ve genitoüriner sistemle ilgili çeşitli fonksiyonları düzenler. İlave olarak NO'nun, konak savunması ve immunolojik reaksiyonlarda da fonksiyonu vardır. Miyokard fonksiyon bozukluğu, dolaşım yetmezliği ve farklı organ disfonksiyonu ile sonlanan durumlara, artmış NO formasyonunun katkısı olabilir. Diğer taraftan artmış NO vazodilatasyona, trombosit yapışmasının engellenmesi ile dokuların mikrosirkülasyonunda rahatlamaya ve sonuçta da dokuların oksijenlenmesi yönünde çok yararlı katkı sağlayabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Na/K ATP az, Mg/Ca ATP az ve NO düzeyleri çalışması için bir set, kan beyin bariyeri çalışması için bir set, ödem çalışması için bir set olmak üzere toplam üç set hayvan kullanıldı. Her set 38 sıçandan oluşuyordu. Ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen toplam 114 adet Spraque Dawley dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi TİCAM hayvan laboratuvarından temin edildi ve ESOGÜ Deney Hayvanları Uygulama Yönergesine sadık kalındı. Bu çalışma için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulundan 63/2008 kayıt numarası ile 9.6.2008 de onay alındı.

Anestezi Tekniđi

Hayvanlar 60 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul-Türkiye) ve 12 mg/kg xylasine hidroklorür (Rompun, Bayer, İstanbul-Türkiye) intraperitoneal verilerek genel anesteziye alındılar.

Cerrahi Teknik ve Travma Metodu

Hayvanlar yukarıda anlatıldığı gibi genel anesteziye alındıktan sonra lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandı. Sıçanlar stereotaktik bir frame üzerine alındı. Verterkste, orta hat üzerinden, frontalden oksipitale doğru insizyon yapılarak cilt cilt altı geçildi. Sahaya otomatik ekartör yerleştirildi. Dişçi drili ve moskito klemp kullanılarak sağ paryetale kraniyotomi yapıldı. Daha önce Durmaz'ın çalışmasında kullanılan, Feeney'in deneysel travma metodunu yarım otomatik hale getiren bir alet kullanıldı (129,130). Elektrik devresi anahtarı kullanılarak 10 gr ağırlığındaki pirinç çubuk 7.5 cm yükseklikten bir pleksiglas tüp yardımıyla, açılan sağ paryetal korteks üzerine düşürülerek travma oluşturuldu.

İlaç ve Dozajı

Bu çalışmalarda hayvanlara 3000 IU/kg eritropoetin (Eprex 4000 IU/ml) intraperitoneal olarak verildi (131). Deneysel çalışmalarda eritropoetin'in efektif doz aralığı 450IU/kg-5000IU/kg olarak verilmiştir (132).



Şekil 3.1.a.



Şekil 3.1.b.



Şekil 3.1.c.



Şekil 3.1.d.

Şekil 3.1.a Sığanın streotaktik frame üzerine alınarak lokal saha temizliği yapılmıştır.

Şekil 3.1.b. Vertekste orta hat insizyon yapılarak cildin açılması ve sahaya otomatik ekartör yerleştirilmesinden sonraki görünüm.

Şekil 3.1.c.Sağ paryetale kraniyotomi yapılmasından sonraki görünüm.

Şekil 3.1.d. Sağ paryetale travma uygulandıktan sonraki görünüm.

Tüm çalışmalarda kontrol grubu için 8 sıçan, travma grubu için 10 sıçan, travma+tedavi grubu için 10 sıçan, travma+çözücü grubu için 10 sıçandan oluşan setler halinde toplam 3 set (114 adet sıçan) kullanıldı.

Kontrol Grubuna Uygulanan İşlem

Bu gruptaki 8 sıçan daha önce anlatıldığı şekilde genel anesteziye alındıktan sonra lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandı ve sıçanlar stereotaktik bir frame üzerine alındı. Verterkste, orta hat üzerinden, frontalden oksipitale doğru insizyon yapılarak cilt cilt altı geçildi. Sağ paryetale kraniyotomi yapıldı. Daha sonra kanama kontrolünü takiben anatomik katlar kapatılarak operasyona son verildi.

Travma Grubuna Uygulanan İşlem

Bu gruptaki 10 sıçan daha önce anlatıldığı şekilde genel anesteziye alındıktan sonra lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandı ve sıçanlar stereotaktik bir frame üzerine alındı. Verterkste , orta hat üzerinden , frontalden oksipitale doğru insizyon yapılarak cilt cilt altı geçildi.Sağ paryetale kraniyotomi yapıldı. Elektrik devresi düğmesi kullanılarak 10 gr ağırlığındaki pirinç çubuk 7.5 cm yükseklikten bir pleksiglas tüp yardımıyla, açılan sağ paryetal korteks üzerine düşürülerek travma oluşturuldu. Daha sonra kanama kontrolünü takiben anatomik katlar kapatılarak operasyona son verildi.

Travma+Tedavi Grubuna Uygulanan İşlem

Bu gruptaki 10 sıçan daha önce anlatıldığı şekilde genel anesteziye alındıktan sonra lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandı ve sıçanlar stereotaktik bir frame üzerine alındı. Verterkste, orta hat üzerinden, frontalden oksipitale doğru insizyon yapılarak cilt cilt altı geçildi. Sağ paryetale kraniyotomi yapıldı. Elektrik devresi düğmesi kullanılarak 10 gr ağırlığındaki pirinç çubuk 7.5 cm yükseklikten bir pleksiglas tüp yardımıyla, açılan paryetal korteks üzerine düşürülerek travma

oluşturuldu. Daha sonra kanama kontrolünü takiben anatomik katlar kapatılarak operasyona son verildi.

Bu gruptaki hayvanlara travma ile eř zamanlı olarak eritropoetin 3000 IU/kg intraperitoneal olarak verildi.

Travma+Çözücü Grubuna Uygulanan İşlem

Bu gruptaki 10 sıçan daha önce anlatıldığı şekilde genel anesteziye alındıktan sonra lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandı ve sıçanlar stereotaktik bir frame üzerine alındı. Verterkste, orta hat üzerinden, frontalden oksipitale doğru insizyon yapılarak cilt cilt altı geçildi. Sağ paryetale kraniyotomi yapıldı. Elektrik devresi düğmesi kullanılarak 10 gr ağırlığındaki pirinç çubuk 7.5 cm yükseklikten bir pleksiglas tüp yardımıyla, açılan sağ paryetal korteks üzerine düşürülerek travma oluşturuldu. Daha sonra kanama kontrolünü takiben anatomik katlar kapatılarak operasyona son verildi.

Bu gruptaki hayvanlara travma ile eř zamanlı olarak 0.1 ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi.

Na/K ATP az,Mg/Ca ATP az ve NO Düzeyleri Çalışması

Bu çalışmada tüm gruptaki hayvanlar 24 saat sonra yüksek doz anestezik verilerek öldürüldü ve hayvanlar sol ventrikül yoluyla uygulanan 200 ml serum fizyolojik ile perfüze edildi. Böylece serebral vasküler yapılar kandan temizlendi. Hayvanlar dekapite edildikten sonra kafatasları uzaklaştırıldı ve alınan beyinler -80 °C 'de saklandı.

Makroskobik görünümler

Şekil 3.2.a.



Şekil 3.2.b.



Şekil 3.2.c.



Şekil 3.2.d.

Şekil 3.2.a. Kontrol grubuna ait bir sıçan beyni.

Şekil 3.2.b. Travma grubuna ait bir sıçan beyni.

Şekil 3.2.c. Travma+tedavi grubuna ait bir sıçan beyni.

Şekil 3.2.d. Travma+çözücü grubuna ait bir sıçan beyni.

Biyokimyasal Analiz

Na/K ATP Az, Mg/Ca ATP Az Ölçüm Yöntemi

Na/K ATP az, Mg/Ca ATP az ölçümü Braugler ve arkadaşlarının kullandığı yöntemle yapıldı (133).

Beyin sinaptozomlarının hazırlanması:

Doku ile tampon (330 mM sükröz içeren 100 mM Tris HCl, Ph:7.6) 1'e 9 oranında karıştırılıp homojenize edildi. 1100 g'de, +4°C'de 10 dak santrifüj edildi. Süpernatantlar alınıp 18000 G'de 15 dak santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Pellet 1 ml homojenat tamponu ile resüspanse edildi. Hemen ölçüme geçildi.

Membran ATP az aktivitesinin ölçümü:

Aşağıda adı verilen maddeler örnek tüpüne konuldu.

30 mM imidazol, 100 mM NaCl, 10 mM KCl, 2.5 mM MgCl₂, 1 mM Na²-ATP, 0,15 mM NADH, 1 mM PEP, 1 U/ml Piruvat kinaz, 1 U/ml laktat dehidrogenaz, 0.5 mM EGTA.

Bunların üzerine 10 µl homojenat konulup reaksiyon başlatıldı. 15 dak 37 °C 'de oluşan absorbans değişiklikleri 340 nm 'de spektrofotometrede ölçülerek kaydedildi. Bu sonuç total ATP az aktivitesini vermektedir.

Örnek tüpüne aynı solüsyonlar konuldu. Üzerine 1 mM Quabain eklendi (Quabain: Na/K ATP az inhibitörü). 10 µl homojenat eklenerek reaksiyon başlatıldı. Absorbanslar 15 dak 37 °C 'de spektrofotometrede ölçüldü. Oluşan absorbans farkı total ATP az çıkartılarak Na/K ATP az aktivitesi sonucu bulundu.

Başka bir örnek tüpüne yine aynı solüsyonlara ilaveten hem Quabain hem de 0,5 mM CaCl₂ eklendi. Spektrofotometrede 15 dakika 37 °C 'de absorbans değişimi ölçüldü. Bu absorbans farkı ise Mg/Ca ATP az sonucunu verdi.

Doku homojenatları protein değerleri biüret yöntemiyle ölçüldü. ATP az aktiviteleri mg proteine bölünerek sonuçlar elde edildi.

NO Ölçümü (Najva, Cortas'a göre)

NO ölçümü; Najva, Cortas ve arkadaşlarının kullandığı yöntemle yapıldı (134).

1. Deproteinizasyon :

125 µl örnek +500 µl Zn₂(SO₄)₃ + 625 µl NaOH bir tüpe konulur. 10 dak beklenir. 10 dak 3500 devirde santrifüj edilir.

2. Kadmiyum aktivasyonu:

H₂SO₄ içinde beklemiş olan 750 mg 'lık kadmiyum 3 kez distile suda yıkanır. 2 dak CuSO₄' de bekletilir. Suyu drenaj yapılır. Glisin ile 3 kez yıkanır.

3. 250 µl glisin + 250 µl süpernatant + 500 ml distile su ve aktive edilmiş kadmiyumlar bir tüpün içerisinde 90 dak oda ısısında bekletildi. Buradan 500 µl örnek alınıp 125 µl distile su , 250 µl sülfanilamid ve 250 µl NED bir tüpün içerisine konuldu. 45 dak oda ısısında bekletildi. Oluşan renk spektrofotometrede 510 nm 'de okutuldu.

Kan-Beyin Bariyeri Çalışması

Bu çalışmadaki tüm hayvanlar 23 saat sonra (yüksek doz anestezikle öldürülmeden 1 saat önce) tekrar anesteziyeye alındılar. Daha sonra %2 lik evans blue (5ml/kg) femoral venden 26 G kateter yardımıyla intravenöz olarak verildi. Tüm gruptaki hayvanlar 24 saat sonra yüksek doz anestezik verilerek öldürüldü ve hayvanlar sol ventrikül yoluyla uygulanan 200 ml serum fizyolojik ile perfüze edildi. Böylece serebral vasküler yapılar kandan ve boyadan temizlendi. Hayvanlar dekapite edildikten sonra kafatasları uzaklaştırıldı ve alınan beyinler -80 °C 'de saklandı.

Makroskobik Görünümler



Şekil 3.3.a.



Şekil 3.3.b.



Şekil 3.3.c.



Şekil 3.3.d.

Şekil 3.3.a. Kontrol grubuna ait bir sıçan beyini.

Şekil 3.3.b. Travma grubuna ait bir sıçan beyini.

Şekil 3.3.c. Travma+tedavi grubuna ait bir sıçan beyini.

Şekil 3.3.d. Travma+çözücü grubuna ait bir sıçan beyini.

Biyokimyasal Analiz

Kan beyin bariyeri ölçüm yöntemi:

Beynin sağ hemisferi tartılarak tüpe konuldu. Üzerine 3,5 ml fosfat tamponu (Ph:7,4) eklendi. Homojenize edildi. 2,5 ml %60'lık TCA üzerine eklenerek proteinler çöktürülür. 2 dak vortekslenir. Örnekler soğutulur. 30 dak 1000 rpm' de santrifüj edilir. Süpernatantların absorbansı spektrofotometrede (Schimadzu UV-1201) 610 nm'de ölçüldü (135).

Ödem Çalışması

Bu çalışmadaki tüm hayvanlar 24 saat sonra yüksek doz anestezik verilerek öldürüldü ve hayvanlar sol ventrikül yoluyla uygulanan 200 ml serum fizyolojik ile perfüze edildi. Böylece serebral vasküler yapılar kandan temizlendi. Hayvanlar dekapite edildikten sonra kafatasları uzaklaştırıldı ve alınan beyinlerin hasarlı hemisferleri ayrıldı. Daha sonra hasarlı hemisferler 105 °C' de 24 saat bekletildi.

Ödem Tesbiti

Hasarlı hemisferdeki su içeriği daha önceki çalışmalarda kullanılmış olan yaş ağırlığın kuru ağırlığa oranı hesaplanarak saptandı (101). $\%H_2O = (\text{yaş ağırlık} - \text{kuru ağırlık}) / \text{yaş ağırlık} * 100$ formülü kullanıldı (137).

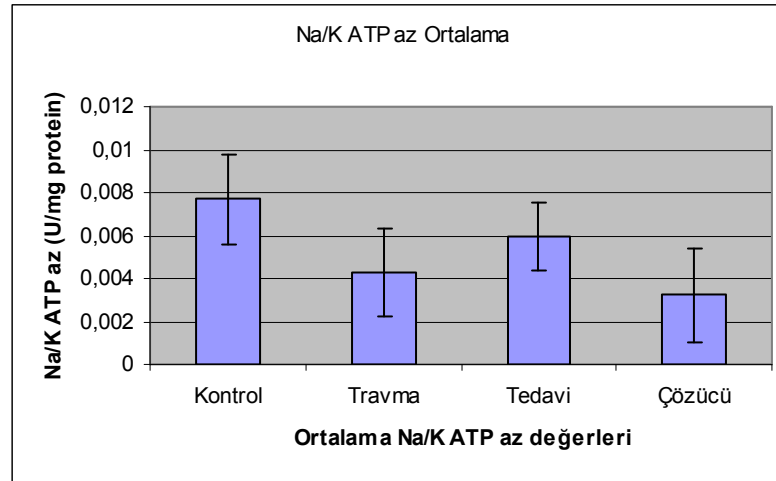
İstatistiksel Analiz

Veriler Sigma Stat 3.1 paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Normal dağılım gösteren veriler için One Way Analysis of Variance testi kullanılırken, normal dağılmayan verilerin analizinde ise Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks analizi kullanılmıştır. Grupların çoklu karşılaştırmalarında ise; Dunn's Metodu, Fisher LSD Metodu kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Tablo 4.1. Na/K ATP az sonuçlarının karşılaştırılması

| Grupların karşılaştırılması | | |
|--------------------------------|---|---------|
| Kontrol ve travma | istatistiksel olarak çok önemli derecede fark bulundu | P<0,01 |
| Kontrol ve travma+tedavi | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | p>0.05 |
| Kontrol ve travma+çözücü | istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu | p<0,001 |
| Travma+tedavi ve travma+çözücü | istatistiksel olarak çok önemli derecede fark bulundu | P<0,01 |
| Travma ve travma+çözücü | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | p>0.05 |



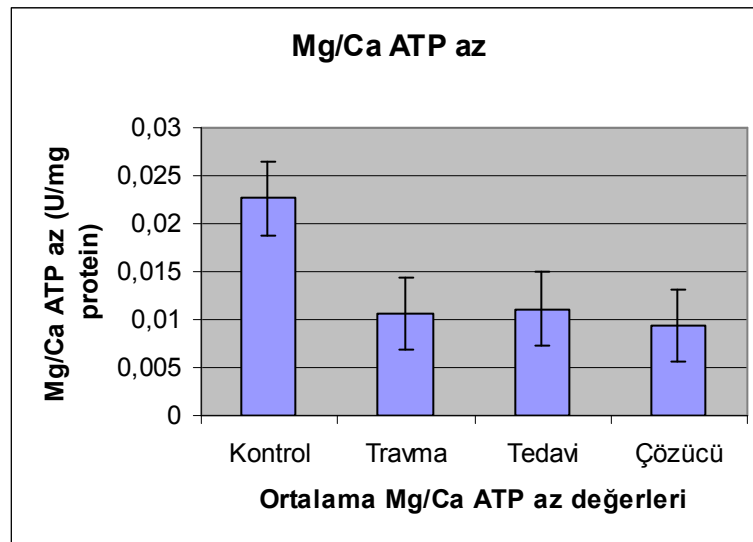
Şekil 4.1. Na/K ATP az sonuçları.

Bu çalışmada kontrol ve travma+tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p \geq 0,05$). Travma ve travma+çözücü grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p \geq 0,05$). Kontrol ve travma+çözücü grupları arasında istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu ($P < 0,001$). Kontrol

ve travma, travma+tedavi ve travma+çözücü grupları arasında istatistiksel olarak çok önemli derecede fark bulundu ($P<0,01$).

Tablo 4.2. Mg/Ca ATP az sonuçlarının karşılaştırılması

| Grupların karşılaştırılması | | |
|--------------------------------|--|--------------|
| Kontrol ve travma | istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu | $P<0,001$ |
| Kontrol ve travma+tedavi | istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu | $P<0,001$ |
| Kontrol ve travma+çözücü | istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu | $P<0,001$ |
| Travma+tedavi ve travma+çözücü | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p\geq 0,05$ |
| Travma ve travma+çözücü | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p\geq 0,05$ |
| Travma ve travma +tedavi | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p\geq 0,05$ |



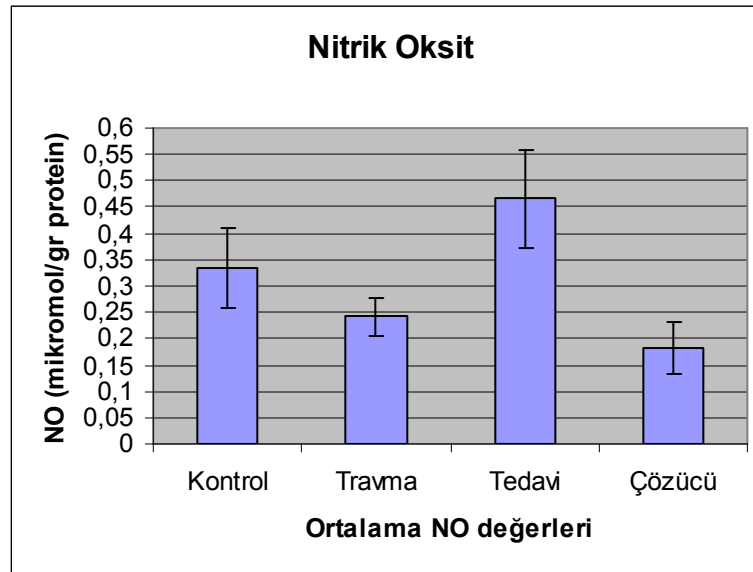
Şekil 4.2. Mg/Ca ATP az sonuçları.

Bu çalışmada kontrol ve travma+çözücü, kontrol ve travma, kontrol ve travma+tedavi grupları arasında istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu

($P < 0,001$). Travma+tedavi ve travma+çözücü, travma+tedavi ve travma, travma ve travma+çözücü grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p \geq 0,05$).

Tablo 4.3. NO sonuçlarının karşılaştırılması

| Grupların karşılaştırılması | | |
|--------------------------------|---|---------------|
| Kontrol ve travma | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p \geq 0,05$ |
| Kontrol ve travma+tedavi | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p \geq 0,05$ |
| Kontrol ve travma+çözücü | istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu | $P < 0,05$ |
| Travma+tedavi ve travma+çözücü | istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu | $P < 0,05$ |
| Travma ve travma+çözücü | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p \geq 0,05$ |
| Travma ve travma+tedavi | istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu | $P < 0,05$ |

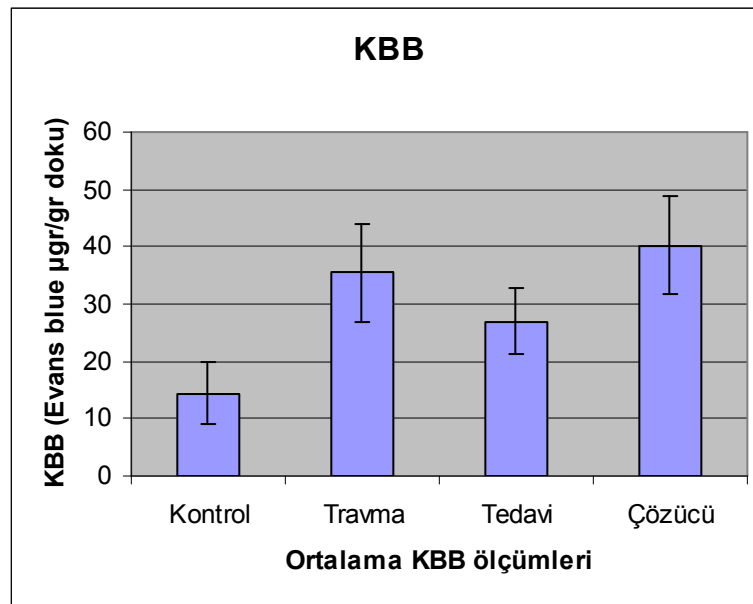


Şekil 4.3. NO Sonuçları

Bu çalışmada travma+tedavi ve travma+çözücü, travma+tedavi ve travma, kontrol ve travma+çözücü grupları arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu ($P<0,05$). Travma+tedavi ve kontrol, kontrol ve travma, travma ve travma+çözücü grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p\geq 0,05$).

Tablo 4.4. Kan beyin bariyeri sonuçlarının karşılaştırılması

| Grupların karşılaştırılması | | |
|--------------------------------|---|--------------|
| Kontrol ve travma | istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu | $P<0,001$ |
| Kontrol ve travma+tedavi | istatistiksel olarak çok önemli derecede fark bulundu | $P<0,01$ |
| Kontrol ve travma+çözücü | istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu | $P<0,001$ |
| Travma+tedavi travma+çözücü | istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu | $P<0,001$ |
| Travma ve travma+çözücü | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p\geq 0,05$ |
| Travma ve travma+tedavi | istatistiksel olarak çok önemli derecede fark bulundu | $P<0,01$ |

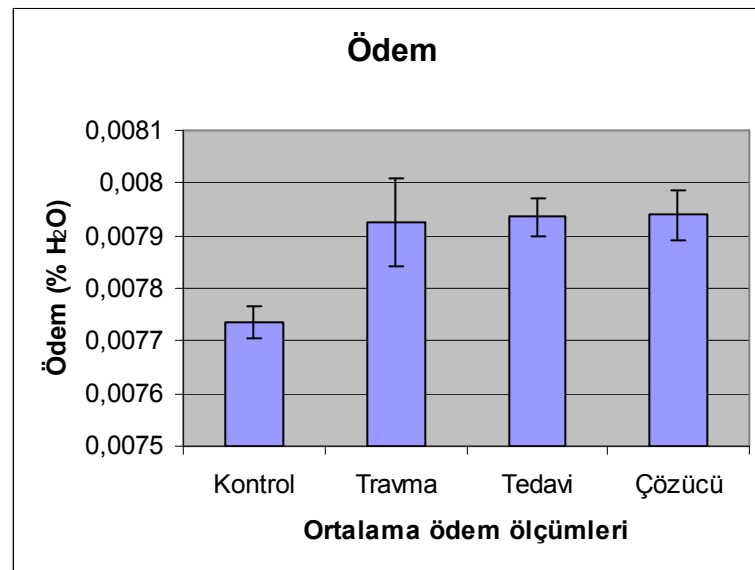


Şekil 4.4. Kan beyin bariyeri sonuçları.

Bu çalışmada travma+çözücü ve kontrol, travma+çözücü ve travma+tedavi, travma ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu ($P<0,001$). Travma ve travma+tedavi, travma+tedavi ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak çok önemli derecede fark bulundu ($P<0,01$). Travma+çözücü ve travma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p\geq 0,05$).

Tablo 4.5. Ödem sonuçlarının karşılaştırılması

| Grupların karşılaştırılması | | |
|--------------------------------|---|--------------|
| Kontrol ve travma | istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu | $P<0,05$ |
| Kontrol ve travma+tedavi | istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu | $P<0,05$ |
| Kontrol ve travma+çözücü | istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu | $P<0,05$ |
| Travma+tedavi ve travma+çözücü | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p\geq 0,05$ |
| Travma ve travma+çözücü | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p\geq 0,05$ |
| Travma ve travma+tedavi | istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı | $p\geq 0,05$ |



Şekil 4.5. Ödem sonuçları.

Bu çalışmada travma+çözücü ve kontrol, travma+tedavi ve kontrol, travma ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu ($P < 0,05$). Travma+özücü ve travma, travma+çözücü ve travma+tedavi, travma+tedavi ve travma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p \geq 0,05$).

5. TARTIŞMA

Travmatik beyin yaralanmasında, dakikalar ve saatler içerisinde, oksidatif stres ve inflamasyonu kapsayan birkaç hasarlayıcı yol aktive olur. Bu aktivasyon kan beyin bariyerinin bütünlüğünü bozarak ödeme neden olur. Ayrıca bu ve başka yollar; günler ve haftalar içerisinde nekroz, apoptoz ve aksonal yaralanmanın eşlik ettiği inflamatuvar bir yanıtı açar. Fonksiyonel düzeyde, motor ve kognitif fonksiyonlarda bozulma olur ve travmatik beyin hasarlanması devam eder (138).

Eritropoietinin birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışmada hipoksi, iskemi, travma ve inflamasyon gibi farklı yıkıcı etkilere karşı nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (139,140,141,142,143).

Deneysel inme modellerinde eritropoietinin nöroproteksiyon, nörogenez, anjiogenez, antiinflamatuvar cevap şeklinde multipl rolleri gösterilmiştir (144). İskemik beyinde anjiyogenezi modüle eder (145).

Bazı edinsel santral sinir sistemi hastalıkları farklı etyolojilere (inflamatuvar, toksik, otoimmün) bağlı olarak myelin yıkımı ve oligodendrosit ölümü ile ilgilidir. Strok, hipoksik-iskemik beyin hasarı, travmatik yaralanma gibi akut ve kronik nörodejeneratif hastalıklarda aksonal ve nöronal yaralanma ile birlikte, beyaz cevher ve myelin yıkımı, oligodendrosit ölümü de olaya dahil olur (146). Deneysel kapalı kafa travması modellerinde, eritropoietin tedavisi uygulanan sıçanlarda beyaz cevher korunmuş, minimal aksonal dejenerasyon ve apoptoz izlenmiştir (147). İnflamatuvar süreç, glutamat eksitotoksitesisi, reaktif oksijen ve nitrojen formasyonu çeşitleri, apoptotik hücre ölümü gibi çeşitli durumlarla olan santral sinir sistemi hastalıklarında patogenez oligodendrosit ölümüne bağlı olabilir (146). Eritropoietin nöroprotektif etkisini oligodendroglioprotektif etkisine benzer şekilde mekanizmalarla yapar (139,140). Son çalışmalarla sıçan oligodendrositlerinde eritropoietin reseptör ekspresyonu ve eritropoietinin oligodendrosit matürasyonunu desteklediği gösterilmiştir (148). Eritropoietinin, beyaz cevherde *in vivo* olarak spinal kord travmasına bağlı sekonder oligodendrosit ölümünü önlemiştir (149).

Rekombinant DNA teknolojisi yoluyla üretilen bir glikoprotein olan eritropoietin (epoetin alfa), eritropoezi uyaran saflaştırılmış bir glikoprotein

hormondur. Epoetin alfa, içine insan eritropoietinini kodlayan genin eklendiği memeli hücrelerinden üretilir.

Eritropoietin, genellikle kronik renal yetmezlikli anemik hastalarda eritropoezi stimüle etmek için ve esasen diyaliz uygulanan hastaların yaşam kalitesini artırmak için kullanılan bir ilaçtır (150).

Eritropoietin, mitozu stimüle eden bir faktördür ve eritropoezi uyaran farklılaştırıcı bir hormondur.

Eritropoietin ve eritropoietin reseptörünün fonksiyonu hipoksiye normal fizyolojik yanıtta aracı olmaktır. Beyin kapillerlerinde eritropoietin reseptörlerinin bol miktarda üretildiği gözlenmiştir. Epoetin alfa konküviz beyin travmasının büyüklüğünü, deneysel otoimmün ensefalomyelitte immün hasarı ve kainat ile oluşturulan immün hasarı da sınırlar. Epoetin alfanın nöroprotektif etkileri; beyin travması sonrası kullanım potansiyeli travma ve multipl sklerozda hayvan modellerinde sistemik verilerek gösterilmiştir. Eritropoietinin aşıkâr biyolojik aktivitesi kırmızı hücre kitlesini artırmasıdır. Eritropoietinin üstün güvenlik profili, genel nöroprotektif tedavide kullanım garantisi klinik denemelerde gösterilmiştir (151).

Eritropoietinin en iyi bilinen etkisi hematolojik etkisidir. Hipoksiye yanıt olarak böbrekten salınır ve hedef eritroid progenitör hücrelerden matür kırmızı kan hücresi oluşumunu sağlar. Bu suretle oksijen dağıtımını artırır (152).

Kırmızı kan hücresi oluşum mekanizmasının regülasyonunda eritroid prekürsörlerinin büyüme ve gelişmesinin stimülasyonundan ziyade primer olarak eritroid prekürsörlerin işlenmesinde antiapoptotik etkilidir (153,154).

Apoptoz; eritroid koloni biçimlendirme ünitelerinden proeritroblastlar gelişirken ya da proeritroblastlardan retikülositler gelişirken eritroid prekürsörlerinden matür eritrositlerin gelişme yolunun herhangi bir yerinde, kemik iliğinde görülebilir. Eritropoietin, kemik iliğindeki eritroid hücrelerin apoptozunun inhibisyonuyla ilgili etkisini spesifik reseptörüyle bcl-2 olarak bilinen gen ailesinin up regülasyonu ile göstermektedir. Bu antiapoptotik mekanizma başka önemli dokularda da gösterilmiştir (151).

Mevcut deneysel metodların kullanılmasıyla beyinde ve başka dokularda eritropoietin oluşumu ve reseptörleri bulunmuştur. Örneğin hipoksiye cevap olarak

astositlerde eritropoietin olduğu ve nöronlardaki spesifik reseptörler ile etkileştiği ve onların hipoksiye toleransının arttığı gözlenmiştir (155). Nöronlar hipoksiye yanıt olarak kendi kendilerine de eritropoietin üretirler (155).

Beyin hücrelerindeki hipoksiye tolerans mekanizması ve antiapoptotik etkinin kemik iliğindeki benzer olduğu tahmin edilmektedir.

Yıllardır eritropoietin gibi 500 daltondan büyük glikoproteinlerin kan beyin bariyerini geçemeyeceği farzedilmekteydi. Bununla birlikte sitokin çalışmalarıyla, kan beyin bariyerinde karşıdan karşıya geçişte bazı tip büyük moleküller için tercih edilebilir bir transport sisteminin var olabileceği ileri sürüldü ve şimdi eritropoietinin böyle bir molekül olduğu bilinmektedir (156).

Eritropoietin, nöroprotektif etkisini içine birkaç prosesin dahil olduğu farklı mekanizmalar aracılığı ile yapabilir. Bu nöroprotektif etkinin santral sinir sistemindeki spesifik reseptörlerine dayandığı düşünülmektedir (157). Kawakami ve ark. 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada eritropoietinin nöroprotektif etkisini presinaptik mekanizmalarla eritropoietin reseptörleri aktivasyonu ile olduğunu ortaya koymuşlardır (158,159). Eritropoietin ve onun reseptörleri beyinde gösterilmiştir (160,161).

Eritropoietin, hücre duvarı üzerindeki iki molekülün homodimerizasyonu ile oluşan eritropoietin reseptörünü indükler; başlangıçta Janus kinaz sinyalinin iletimi ve sonrasında transkripsiyon sinyali ileten kaskad aktive olur (162,163). Eritropoietinin kimyasal hipoksi ve serebral iskemik yaralanmaya karşı nöroprotektif etkisi kortikal nöron kültürlerinde in vitro, Mongolian gerbil beyinde in vivo olarak antiapoptotik Bcl-XL salınımıyla gösterilmiştir (164). JAK-2-STAT-5 yolu sinyalin akış yönünde eritropoietin reseptör aktivasyonu ile antiapoptotik aktiviteyle sonuçlanır; Wei ve ark., eritropoietinin neonatal strokta in vivo olarak STAT-5 sinyalinin aktive ettiğini, antiapoptotik gen Bcl-XL'yi artırabildiği ve başka bir major antiapoptotik gen Bcl-2'yi de artırdığını göstermişlerdir (162). Bu ilaç Janus kinaz-2 ve nükleer faktör-B sinyal yollarının aktivasyonu yoluyla antiapoptotik etkilere sahiptir (165).

İmmünohistokimyasal teknikler hayvan ve insanlarda beyin kapillerleri içinde ve etrafında eritropoietin reseptörlerinin bulunabileceğini göstermişlerdir. Elektron mikroskopi yayınları anti-epoetin alfa immünreaktivitesinin kapillerleri

kuşatan astrositik ayaklar içinde ve kapiller endotelial hücre yüzeylerinde dominant oluşunu doğrulamışlardır (166).

Bu gözlemler eritropoietin için herhangi bir nöral yıkım yokluğunda, sistemik sirkülasyondan kan beyin bariyerini geçerek beyin parankimine anatomik orijinli bir direkt transportu olduğunu düşündürmüştür. Bu hipotez biotinle işaretli epoetin alfa kullanılan deneysel hayvan çalışmalarında doğrulanmıştır (166). Biotinle işaretli epoetin alfa, sistemik enjeksiyondan 5 saat sonra kapillerler etrafında görülmüş ve beyin parankimine yayılmıştır. Büyük damarlar etrafında spesifik transport mekanizmasının olmadığı düşünülmektedir. Buna ek olarak aşırı miktarda işaretli epoetin alfa ile birlikte enjeksiyon durumunda biotinle işaretli epoetin alfa miktarını önemli derecede düşüren spesifik ve satüre olabilen bir transport mekanizması vardır.

Yeni çalışmalar hipoksik iskemik beyin hasarı oluşturulan adult ratlarda glutamat ve aspartat gibi eksitatör aminoasitlerin önemli olabileceğini göstermiştir (167). Eritropoietinin hipoksi ya da iskeminin sebep olduğu beyin hasarındaki rolü nöronların glutamat toksisitesine karşı dayanma gücünü artırabilmektir (166). Eritropoietinin Ca kanallarının aktivasyonu ile oluşan glutamat toksisitesine karşı durma özelliği vardır (168). Bunu antioksidan ve anti NO etkileriyle yapar (169,170).

Eritropoietinin insanda demir depolarını boşalttığı, sistemik elde edilebilirliğini azalttığı; Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarından oksidatif kataliz ile reaktif hidroksil radikal formlarının oluşumunu azalttığı gösterilmiştir. Yeni bir çalışmada, eritropoietinin MDA (malonildialdehit) ve NO seviyelerinde düşme ve bununla birlikte kapalı kafa travması uygulanan sıçanlarda posttravmatik serebral dokuda ksantin oksidaz aktivitesinde korunma ile antioksidan bir kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir (169). Eritropoietinin NO 'in aşırı oluşumu üzerindeki selektif inhibitör etkisi, bir neonatal hipoksik iskemik beyin travması modelinde gösterilmiştir (171). Bunlar göz önüne alındığında eritropoietinin nöronal dokuyu peroksidatif harabiyetten koruyabilmesi, primer olarak NO 'in aşırı oluşumunun inhibisyonunu akla getirmektedir.

Son çalışmalar eritropoietinin in vivo ve invitro olarak serbest radikal sistemindeki normal dışı durumları düzelttiğini, antioksidatif defans mekanizmalarını desteklediğini göstermiştir. Eksitatör aminoasitler; özellikle glutamat iskemik

nöronal yaralanmada önemli bir role sahiptir. Glutamat reseptörlerinin aktivasyonu hücre sitoplazmasındaki serbest Ca seviyelerinde yükselişle sonuçlanır. İçeriye akan Ca vasıtasıyla N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörleri stimüle olur; NO üretimi ve hücre membranı lipid peroksidasyonu artar (159,167). Eritropoietin nöroprotektif etkisini NO aracılı serbest radikal oluşumunu azaltarak gösterebilir (172).

Son çalışmalar *in vivo* eritropoietinin subaraknoid hemoraji esnasında nöroprotektif etkisini göstermiştir (173). Bu etki endotelial, hipokampal ve kortikal hücreler gibi birçok beyin hücresinde hazır bulunan eritropoietin reseptörleri aracılığıyla olur (174,175).

Rekombinan insan eritropoietininin damarlar üzerinde direkt vazokonstrüktör etkisi *in vitro* olarak gösterilmiştir (176). Vasküler düz kas fibril hücrelerinde endotelial rekombinan insan eritropoietininin reseptörleri gösterilmiştir (168). Rekombinan insan eritropoietininin mevcut vasküler reseptörleri stimülasyonu, doku hipoksisini önlemek için vazokonstriksiyon oluştuğu ve eş zamanlı olarak kan basıncının yükseldiği düşünülmektedir (176).

Eritropoietin sitokrom C salınımına bağlı kaspaz aktivitesini de inhibe eder (177).

Eritropoietin tedavisi kan beyin bariyerindeki bozulmayı anlamlı şekilde azaltmaktadır. Kan beyin bariyeri geçirgenliğinde; kantitatif *evans blue* ölçümleriyle desteklenen, makroskobik olarak farkedilen değişiklikler saptanmıştır(178).

Bu çalışmada NO sonuçları ele alındığında travma+tedavi ve travma grupları arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu ($P<0,05$). Travma+tedavi ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p\geq 0,05$). Yani eritropoietin travma+tedavi grubundaki NO düzeylerini kontrol grubundaki düzeylere yaklaştırmış, öte yandan travma+tedavi grubunda NO düzeylerini travma grubuna nazaran yükseltmiştir. Bunu yorumlarken NO 'in akut enflamatuvar olaylarda hem koruyucu hem de hasarlayıcı bir molekül olarak etki gösterebildiğini de hatırlamak gerekir.

Yine bu çalışmada Na/K ATP az sonuçları ele alındığında kontrol ve travma+tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p\geq 0,05$). Kontrol ve travma, travma+tedavi ve travma+çözücü grupları arasında istatistiksel olarak çok önemli derecede fark bulundu ($P<0,01$). Bu durum

eritropoietinin travma+tedavi grubundaki Na/K ATP az düzeylerini kontrol grubundaki düzeylere yaklaştırmış olduğu ve böylece travmada koruyucu etki gösterdiği şeklinde yorumlanabilir.

Mg/Ca ATP az sonuçları ele alındığında kontrol ve travma+çözücü, kontrol ve travma, kontrol ve travma+tedavi grupları arasında istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu ($P<0,001$). Travma+çözücü ve travma, travma+çözücü ve travma+tedavi, travma+tedavi ve travma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p\geq 0,05$). Bu durumda travma ile Mg/Ca ATP az düzeyleri düşmüş ve eritropoietinin bu düzeyler üzerinde anlamlı bir etkisi olmamıştır.

Kan beyin bariyeri sonuçlarını değerlendirmek gerekirse; travma+çözücü ve kontrol, travma ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak ileri derecede fark bulundu ($P<0,001$). Travma ve travma+tedavi, travma+tedavi ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak çok önemli derecede fark bulundu ($P<0,01$). Travma+çözücü ve travma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p\geq 0,05$). Bu bulgulardan hareketle eritropoietinin kan beyin bariyerindeki bozulmayı azalttığı, koruyucu etki gösterdiğini saptadık.

Ödem sonuçları değerlendirildiğinde; travma+çözücü ve kontrol , travma+tedavi ve kontrol, travma ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark bulundu ($P<0,05$). Travma+çözücü ve travma, travma+çözücü ve travma+tedavi, travma+tedavi ve travma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p\geq 0,05$). Böylece eritropoietinin açık serebral travmada ödem açısından anlamlı bir koruyucu etkisinin olmadığını gördük.

6. SONUÇ

Travmatik beyin hasarı, beyinde oksidatif stres ve inflamasyonu da kapsayan çeşitli zararlı yolları aktive eder. Bu aktivasyon kan beyin bariyerindeki bozulma ile birlikte ödeme neden olur. Bu ve başka yollar nekroz ve apoptoza yol açarlar, inflamatuvar bir cevap ile aksonal yaralanma buna eşlik eder.

Bu çalışmadaki tedavi gruplarında NO, Na/K ATP az düzeyleri kontrol gruplarındaki düzeylere yaklaştı. Ayrıca tedavi grubundaki *evans blue* ölçüm sonuçları da kontrol grubundaki düzeylere yaklaştı. Bu parametreler gözönüne alındığında eritropoietinin koruyucu etkisini gördük.

DeneySEL bulgular eritropoietinin özellikle santral sinir sisteminde terapötik kullanım potansiyelinin olabileceğini göstermiştir. Eritropoietin kullanımının üstün güvenlik profili ise klinik ve deneySEL çalışmalarda saptanmıştır.

Biz bu çalışmayı bitirdiğimizde eritropoietinin geniş güvenlik profilili, kolay kullanılabilir, birçok yönden etki mekanizmaları olan ve kafa travmasında anlamlı ölçüde koruma sağlayan bir ilaç olduğunu gördük. Bu noktadan hareketle eritropoietinin klinik uygulamalarda daha yaygın olarak kullanılabilceğini düşünüyoruz.

7. KAYNAKLAR

1. Kafa travmasına yaklaşım. www. tip 2000 com/abone/konular/travma asp.36k.10.2.2009.
2. Longfitt TV, Gennavelli TA: Can the outcome from the head injury be improved. J Neurosurg 56:19-25, 1982.
3. Ergüngör MF: Kafa travmalarında patofizyoloji. Temel nöroşirürji cilt:1, 2005, 298-305
4. Graham Di, Adams JH, Doyle D, Teasdale GM, Lawrence AE, McLellan DR. Ischaemic brain damage is still common in fatal non-missile head injury. J Neurol Neurosurg Psychiatry 52:346-350,1989
5. Regner A, Alves LB, Chemale I: Neurochemical characterization of traumatic brain injury in humans. J Neurotrauma 18(8): 783-792,2001
6. Slavik RS, Rhoney DH: Pharmacological Management of Severe Traumatic Brain injury; An Evidence-Based Review. The Journal of Informed Pharmacotherapy 3: 309-335,2000
7. Siesjo BK: Basic mechanisms of traumatic brain damage. Ann Emerg Med 22(6): 959-969,1993.
8. Muizelaar JP, Marmarou A, DeSalles AA, et al: Cerebral blood flow and metabolism in severely head-injured children. Part 1: Relationship with GCS score, outcome, ICP, and PVI. JNeurosurg71(1): 63-71,1989
9. Braugler JM, Hall ED. Central nervous system trauma and stroke.1. Biochemical considerations for oxygen radikal formation and lipid peroxidation. Free Radic Biol med 1989;6:289-301.
10. Gennarelli TA, Thibault LE, Adams JH: Diffuse axonal injury and traumatic coma in the primate. Ann Neurol 12(6): 564-574,1982
11. Klatzo I. Evolution of brain edema concept. Acta neurochir Suppl(Wien)1994;60:3-4

12. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312:159-63.
13. Freeman BA. Crapo JD. Biology of disease: free radical and tissue injury. *Lab Invest* 1982;47:412-426.
14. Cadet JL. Free radical mechanisms in the central nervous system: An overview. In *J Neurosci* 1988;40:13-18.
15. Ikeda Y, Long DM. The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals, Review article. *Neurosurgery* 1990;27:1-11
16. Cheeseman KH and Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bulletin* 1993;49:481-93.
17. Asano T, Shigeno T, Johshita H, Usui M, Hanamura T, A novel concept on the pathogenic mechanism underlying ischaemic brain oedema: relevance of free radicals and eicosanoids. *Acta Neurochir (suppl)* 1987;41;85-94.
18. Moslen MT. Reactive oxygen species in normal physiology cell injury and phagocytosis. In: Armstrong D ed. *Free radicals in diagnostic medicine*. New York: Plenum Press. 1994. pp:17-27.
19. Adelson PD, Whalen MJ, Kochanek PM, Robichaud P, Carlos TM. Blood brain barrier permeability and acute inflammation in (two models of traumatic brain injury in the immature rat: a preliminary report. *Acta Neurochir Suppl* 1998;71: 104-6.
20. Whalen MJ, Carlos TM, Kochanek PM, Heineman S. Blood-brain barrier permeability, neutrophil 1 accumulation and vascular adhesion molecule expression after controlled cortical impact in rats: preliminary study. *Acta Neurochir Suppl* 1998;71:212-4.
21. Shohami E, Cotev S, Shapiro Y. A closed head injury model. In Ohnishi ST, Ohnishi T Eds. *Central Nervous system trauma: research techniques*. Boca Raton. CRC Press. 1995:235-45.
22. Lafuente JV, Cervos-Navara J. Craniocerebral trauma induces hemorheological disturbance. *J Neurotrauma* 1999;16:423-430.

23. Kaplan A, Silverberg M. The coagulation-kinin pathway of human plasma. *Blood* 1987;70:1-16.
24. Figuero AC, Maciver A, Bhoola K. Identification of tissue kallikrein in human polymorphonuclear leucocytes. *Br J Haematol* 1989;72:321-328.
25. Bhoola K, Figueroa C, Worthy K. Bioregulation of kinins: Kallikrein, kininogens and kininase. *Pharm Rev* 1992;44:1-80.
26. Unterberg A, Baethmann A. The kallikrein-kinin system as mediator in vasogenic edema. Part 1. Cerebral exposure to bradykinin and plasma. *J Neurosurg* 1984;61:87-96.
27. Unterberg A, Dautermann C, Baethmann A, Müller-Esterl W. The kallikrein-kinin system as a mediator in brain vasogenic edema. Part III: inhibition of the kallikrein-kinin system in traumatic brain swelling. *J Neurosurg* 1986;64:269-276, 1986.
28. Baethmann A, Maier-Hauff K, Schürer E, Lange M, Guggenbichler C, Vogt W, Jacob K, Kempfki O. Release of glutamate and of free fatty acids in vasogenic brain edema. *J Neurosurg* 1989;70:578-591.
29. Hall ED, Travis MA. Inhibition of arachidonic acid-induced vasogenic brain edema by the non-glucocorticoid 21-aminosteroid U74006F. *Brain Res* 1988;451:350—2.
30. Brain SD, Williams TJ. Leukotrienes and inflammation. *Pharmac Ther* 1990;46:57-66.
31. Moskowitz MA, Kiwak KJ, Hekimian K, Levine L. Synthesis of compounds with properties of leukotrienes C4 and D4 in gerbil brains after ischemia and reperfusion. *Science* 1984;224:886-9.
32. Black KL, Hoff JT. Increased leukotriene C4 and vasogenic edema surrounding brain tumors in humans. *Ann Neurol* 1986;19: 592-5.
33. Winking NI, Deinsberger W, Joedicke A, Boeker DK. Cysteinyl-leukotriene levels in intracerebral hemorrhage: an edema-promoting factor?. *Cerebrovasc Dis* 1998;8:318-26.

34. Chio C-C, Baba T, Black KL. Selective blood-tumor barrier disruption by leukotriens. *J Neurosurg* 1992;77:407-10.
35. Unterberg A, Schmidt W, Wahl M, Baethmann A. Role of leukotrienes as mediator compounds in brain edema. *Adv Neurol* 1990;52:211-4.
36. Başkaya MK, Hu Y, Donaldson D, Maley M, Rao AM, Prasad MR, Dempsey RJ. Protective effect of the 5-lipoxygenase inhibitor AA-861 on cerebral edema after transient ischemia. *J Neurosurg* 1996;85:112-6.
37. Kukreja RC, Kontos HA, Hess ML, Ellis EF. PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH and NADPH. *Circ Res* 1986;59:612-9.
38. Guadet RJ, Levine L. Transient cerebral ischemia and brain prostaglandins. *Biochem Biophys Res Commun* 1979;86:893-901.
39. Ellis EF, Wright KP, Wei EP, Kontos HA. Cyclooxygenase products of arachidonic acid metabolism in cat cerebral cortex after experimental concussive brain injury. *J Neurochem* 1981;37:892-6.
40. Kontos HA, Wei EP, Ellis EF, Jenkins LW, Povlishock JT, Rowe GT, Hess ML. Appearance of superoxide anion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. *Circ Res* 1985;37:142-51.
41. Durmaz R, İnal M, Angin M, Atasoy MA, Tel E. The effects of MK-801 and U-83836E on post-ischemic reperfusion injury rat brain. *Acta Neurobiol Exp* 1999;59:99-104.
42. Shivakumar B.R., Kolluri S.V.R and Ravindranath V. (1992) Glutathione homeostasis in brain during reperfusion following bilateral carotid artery occlusion in the rat. *Mol. Cell Biochem.* III: 125-9.
43. Gidday JM, Beetsch JW, Park TS. Endogenous glutathione protects cerebral endothelial cells from traumatic injury. *J Neurotrauma* 1999;16:27-36.
44. Hall ED, Andrus PK, Yonkers PA. Brain hydroxyl radical generation in acute experimental head injury. *J Neurochem* 1993;60:588-93.

45. Kontos HA, Wei EP. Superoxide production in experimental brain injury . J Neurosurg 1986;64:803-7.
46. Betz AI. Identification of hypoxanthine transport and xanthine activity in the brain capillaries. J Neurochem 1985;44:574-79.
47. Wolin MS. Reactive oxygen species and vascular signal transduction mechanisms. Microcirculation 1996;3:1-17.
48. Strasser A, Stanimirovic D, Kawai N, McCarron RM, Spatz M. Hypoxia modulates free radical formation in brain microvascular endothelium. Acta Neurochir Suppl (wien) 1997;70:8-11.
49. Beetsch JS, Park TS, Dugan LL, Shah AR, Gidday JM. Xanthine oxidase-driven superoxide causes reoxygenation injury of ischemic cerebral endothelial cells. Brain Res 1988;786:89-95.
50. Imaizumi S, Kondo T, Deli MA, Gobbel G, Joo F, Epstein CJ, Yoshimoto T, Chan PH. The influence of oxygen free radical on the permeability of the monolayer of cultured brain endothelial cells. 1996;29;205-11.
51. Kumar M, Liu GJ, Floyd RA, Grammas P. Anoxic injury of endothelial cells increases production of nitric oxide and hydroxyl radicals. Biochem Biophys Res Commun 1996; 219:497-501.
52. Marklund S, Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissue and extracellular fluids .Acta Physiol Scand suppl 1980;76:340-51.
53. Chan PH, Longar S, Fishman RA. Protective effects of liposome-entrapped superoxide dismutase on posttraumatic brain edema. Ann Neurol 1987;21:540-7.
54. Schleien CL, Eberle B, Shaffner DH, Koehler RC, Traystman RJ. Reduced blood-brain barrier permeability after cardiac arrest by conjugated superoxide dismutase and catalase in piglets. Stroke 1994;25:1830-5.
55. Ikeda Y, Ikeda K, Long DM. Protective effect of the iron chelator deferoxamine on cold-induced brain edema. J Neurosurg 1989;71:233-8.

56. Lin SC ,Way EL.A high affinity Ca^{2+} -ATP az in enriched nevre-ending plasma membranes .Brain Res 1982,235:387-392
57. Sun AY ,Sun GY ,Samorajski T.The effect of phospholipase C on the activity of adenosine triphosphatase and acetylcholinesterasein synaptic membranes isolated from the cerebral cortex of squirrel monkey .J Neuro chem 1971;18:1711-1768
58. Lucas Dr, Newhuse JP: The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. JAMA Arch Ophthalmol 58: 193-201, 1957
59. Choi DW: Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. Neuron 1: 623-634, 1988
60. Albers GW, Goldberg MP, Choi DW. N-methyl-D-aspartate antagonists: Ready for clinical trial in brain ischemia. Ann Neurol 25: 398-403, 1989
61. Beal MF: Does impairment of energy metabolism result in excitotoxic neuronal death in neurodegenerative illnesses. Ann Neurol 31: 119-130, 1992
62. Choi DW: Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage. TINS 11: 465-469, 1988
63. Siesjö BK: Mechanisms of ischemic brain damage. Crit C Med 16: 954-963, 1988
64. Siesjö BK, Memezawa H, Smith ML: Neurocytotoxicity: pharmacological implications. Fundam Clin Pharmacol 5: 755-767, 1991
65. Coyle IT, Bird SI, Evans RH, Gulley RL, Nadler JV, Nicklas WJ, Olney JW: Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity, specificity, and mechanism of action. Neurosci Res Prog Bull 19: 331-427, 1981
66. Farooqui AA, Horrocks LA: Excitatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders. Brain Res Rev 16: 171-191, 1991
67. Koek W, Woods JH, Winger GD: MK-801, a proposed noncompetitive antagonists of excitatory amino acid neurotransmission, produces

- phencyclidine-like behavioral effects in pigeons, rats and rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 245: 969-974, 1988
68. Nishizawa Y: Glutamate release and neuronal damage in ischemia. *Life Sci* 69: 369-381, 2001
69. Limbrick DD, Sombati S, DeLorenzo RJ: Calcium influx constitutes the ionic basis for the maintenance of glutamate induced extended neuronal depolarization associated with hippocampal neuronal death. *Cell Calcium* 33(2): 69-91, 2003
70. Siesjö BK: Calcium in the brain under physiological and pathological conditions. *Eur Neurol* 30: 3-9, 1990
71. Siesjö BK: Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. I. Pathophysiology. *J Neurosurg* 77: 169-184, 1992
72. Albin RL, Greenamyre JT: Alternative excitotoxic hypothesis. *Neurology* 42: 733-738, 1992
73. Meldrum B: Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acid neurotransmitters. *Clinical Sci* 68: 113-122, 1985
74. Rothman SM, Olney JW: Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol* 19: 105-111, 1986
75. Rothman SM, Olney JW: Excitotoxicity and the NMDA receptor. *TINS* 10: 299-302, 1987
76. Stoffel M, Eriskat J, Plesnila M, Aggarwal N, Baethmann A: The penumbra zone of a traumatic cortical lesion: a microdialysis study of excitatory amino acid release. *Acta Neurochir* 70: 91-93, 1997.
77. Baker AJ, Moulton RJ, MacMillan VH, Shedden PM: Excitatory amino acids in cerebrospinal fluid following traumatic brain injury in humans. *J Neurosurg* 79: 369-372, 1993
78. Tanaka H, Katayama Y, Kawamata T, Tsubobawa T: Excitatory amino acid release from contused brain tissue into surrounding brain areas. *Acta Neurochir* 60: 524-527, 1994

79. Kanthan R, Shuaib A: Clinical evaluation of extracellular aminoacids in severe head trauma by intracerebral in vivo microdialysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 59: 326-32, 1995
80. Toliaş CM, Richards DA, Bowery NG, Sgouros S: Extracellular glutamate in the brains of children with severe head injuries: a pilot microdialysis study. *Childs Nerv Syst* 18(8) Epub Jul 27, 2002
81. Kırış T, Görgülü A. Eksitatör aminoasitler ve eksitotoksisite , *Türk Nöroşirürji Dergisi* Cilt: 15, Sayı:1, 39-44
82. Monaghan DT, Holets VR, Toy DW, Cotman CW: Anatomical distribution of four pharmacological distinct 3H-L-glutamate binding sites. *Nature* 321: 519-522, 1986
83. Monaghan DT, Bridges RJ, Cotman CW: The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology and distinct properties in the function of the central nervous system. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 29: 365-402, 1989.
84. Muller D, Joly M, Lynch G: Contributions of quisqualate and NMDA receptors to the induction and expression of LTP. *Science* 242: 1694-1697, 1988
85. Young AB, Fagg GE: Excitatory amino acid receptors in the brain: membrane binding and receptor autoradiographic approaches. *TIPS* 11: 126-133, 1990
86. Olverman HJ, Monaghan DT, Cotman CW, Watkins JC: (3H)CPP, a new competitive ligand for NMDA receptors. *Eur J Pharmacol* 131: 161-162, 1986
87. Schneggenburger R, Zhou Z, Konnerth A, Neher E: Fractional contribution of calcium to the cation current through glutamate receptor channels. *Neuron* 11: 133-143, 1993
88. Kurumaji A, Nehls DG, Park CK: Effects of NMDA antagonists, MK-801 and CPP, upon local cerebral glucose use. *Brain Res* 496: 268-284, 1989

89. McGeer E: Excitatory amino acid neurotransmission and its disorders. *Curr Opin Neurol* 4: 548-554, 1991
90. Scatton B, Carter C, Benavides J: N-methyl-D-aspartate receptor antagonists: A novel therapeutic perspective for the treatment of ischemic brain injury. *Cerebrovasc Dis* 1: 121-135, 1991
91. Watkins JC, Olverman HJ: Agonist and antagonists for excitatory amino acid receptors. *Trends Neurosci* 10: 265-272, 1987
92. Wong EHF, Kemp JA: Sites for antagonism on the N-methyl-D-aspartate receptor channel complex. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 31: 401-425, 1991
93. Mayer ML, Westbrook GL: The physiology of excitatory amino acids in the vertebrate central nervous system. *Prog Neurobiol* 28: 197-276, 1987
94. McDermott AB, Dale N: Receptors, ion channels and synaptic potentials underlying the integrative actions of excitatory amino acids. *TINS* 10: 280-283, 1987
95. McMillan M, Pritchard GA, Miller LG: Characterisation of Ca⁺⁺-mobilizing excitatory amino acid receptors in cultured chick cortical cells. *Eur J Pharmacol* 189: 253-266, 1990
96. Nellgard B, Wieloch T: Postischemic blockade of AMPA but not NMDA receptors mitigates neuronal damage in the rat brain following transient severe cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 12: 2-12, 1992
97. Olney JW, Labruyere J, Price MT: Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs. *Science* 244: 1360-1362, 1989
98. Schoemaker H, Allen J, Langer SZ: Binding of 3H-ifenprodil, a novel NMDA antagonist, to a polyamine-sensitive site in the rat cerebral cortex. *Eur J Pharmacol* 176: 249-250, 1990
99. Furukawa T, Hshino S, Kobayashi S, Asakura T, Takahashi M, Atsumi T, Terramoto A: The glutamate AMPA receptor antagonists, YM872, attenuated

- cortical tissue loss, regional cerebral edema, and motor deficits after experimental brain injury in rats. *Neurotrauma* 20(3): 269-78, 2003
100. Siesjö BK: Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. II. Mechanisms of damage and treatment. *J Neurosurg* 77: 337-354, 1992
 101. Young AB, Fagg GE: Excitatory amino acid receptors in the brain: membrane binding and receptor autoradiographic approaches. *TIPS* 11: 126-133, 1990
 102. Dempsey RJ: Pathophysiology of Cerebral Ischemia. Tindall GT, Cooper PR, Barrow DL (ed), *The Practice of Neurosurgery*, cilt 1, üçüncü baskı, Baltimore: Williams-Wilkins, 1996:1765-1774 içinde
 103. Hansen AJ: Effect of anoxia on ion distribution in the brain. *Physiol Rev* 65: 101-148, 1985
 104. Orrenius S, Ankarcróna M, Nicotera P: Mechanisms of calcium-related cell death. *Adv Neurol* 71: 137-151, 1996
 105. Siesjö BK: Cerebral circulation and metabolism. *J Neurosurg* 60: 883-908, 1984
 106. Sauter A, Rudin M: Treatment of hypertension with isradipine reduces infarct size following stroke in laboratory animals. *Am J Med* 86: 130-133, 1989
 107. Osterholm JL, Frazer GD: Pathophysiologic consequences of brain ischemia. Wilkins RH, Rengachary SS (ed), *Neurosurgery*, cilt 2, 2. baskı, McGraw-Hill, 1996: 2033-2037 içinde
 108. Toliaş CM, Richards DA, Bowery NG, Sgouros S: Extracellular glutamate in the brains of children with severe head injuries: a pilot microdialysis study. *Childs Nerv Syst* 18 (8): 368-374, 2002
 109. Siesjö BK, Smith ML: The biochemical basis of ischemic brain lesions. *Arzneim.-Forsch/ Drug Res* 41: 288-292, 1991
 110. Krogh A: The active and passive exchanges of inorganic ions through the surfaces of living cells and through membranes generally. *Proc R Soc Lond B* 133: 140-200, 1946.

111. Reese RS, Kamovsky MJ: Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J Cell Biol* 34: 207-217 1967.
112. Brightman MW: The distribution within the brain of ferritin injected into cerebrospinal fluid compartments I. Ependymal distribution. *J Cell Biol* 26: 99, 1965.
113. Milhorat TH, Davis DA, Lloyd BJ: Two morphological distinct blood-brain barriers preventing entry of cytochrome c into cerebrospinal fluid. *Science* 180: 76, 1973.
114. Brightman MW, Reese TS: Junctions between intimately opposed cell membranes in the vertebrate brain. *J Cell Biol* 40: 648, 1969.
115. Katzman R, Pappius HM: Brain electrolytes and fluid metabolism. Baltimore: Williams & Wilkins, 1973.
116. Oldendorf WH, Comford ME, Brown WJ: The large apparent work capacity of the blood-brain: a study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells in brain and other tissues of the rat. *Ann Neurol* 1: 409-426, 1977.
117. Fenstermacher JD, Gross P, Sposito N, et al: Structural and functional variations in capillary systems within the brain. Strand FL (Ed) Fourth Colloquium in Biological Sciences: blood-brain transfer, *Ann NY Acad Sci* 1988: 529: 21.
118. Brightman MW, Hori M, Rapoport SI, et al: Osmotic opening of tight junctions in cerebral endothelium, *J Comp Neurol* 152: 317, 1973.
119. Rapoport SI: Blood-brain barrier in physiology and medicine. New York: Raven Press, 1976.
120. Klatzo I, Chui E, Fujiwara K: Aspects of the blood-brain barrier in brain edema. de Vlieger M, de Lange SA, Beks JWF (Eds), in *Brain edema*, New York: Wiley, 1971.
121. Johansson BB, Linder LE: The blood-brain barrier in renal hypertensive rats: *Clin Exp Hypertens* 2: 983, 1980

122. Torack RM, Barnett RJ: The fine structural localization of nucleoside phosphatase activity in the blood-brain barrier. *J Neuropath Exp Neurol* 23: 46, 1964.
123. Pickard JD: Raised Intracranial Pressure. Hughes RAC (ed), *Neurological Emergencies*, 2nd edition, London: BMJ Publishing Group, 1997:151-188
124. Gross PM, Weind A: Peering through the windows of the brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 7:663-72, 1987.
125. Kuyumcu A, Polat Düzgün A, Özmen M, Besler T. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus travma derg* 2004; 10(3): 149-159
126. Kubes P, McCafferty DM. Nitric oxide and intestinal inflammation. *Am J Med* 2000;109: 150-8.
127. Nieves C Jr, Langkamp-Henken B. Arginine and immunity : a unique perspective . *Biomed Pharmacother* 2002; 56:471-82.
128. Ochoa JB, Bernard AC, Mistry SK, Morris SM Jr, Figert PL, Maley ME, et al. Trauma increases extrahepatic arginase activity. *Surgery* 2000;127:419-26
129. Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, Murray HM, Dail WG, Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat . *Brain Res* 1981; 211:67-77
130. Durmaz R, Kanbak G, Akyüz F, Işıksoy S, Yücel F, İnal M, Tel E: Lazaroid attenuates edema by stabilizing ATP ase in the traumatized rat brain. *Can. J. Neurol. Sci.* 2003; 30: 143-149.
131. Bahçekapılı N, Üzüm G, Gökkuşu C, Kuru A, Ziyilan Z. The relationship between erythropoietin pretreatment with blood-brain barrier and lipid peroxidation after ischemia/reperfusion in rats. *Life sciences* 80 (2007) 1245-1251
132. Brines, M.L., Ghezzi, P., Keenan, S., Agnello, D., de Lanerolle, N.C., Cerami C., Itri, L.M., Cerami, A., 2000. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America 97, 10526-10531.
133. Braugler JM , Hall ED. Acute enhancement of spinal cord synaptosomal (Na⁺, K⁺)-ATPase activity in cats following intravenous methylprednisolone. *Brain Res* 1981;219:464-9.
 134. Najwa K, Cortas W, Nabil W. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium reduction method. *Clin Chem* 1990;36(8):1440–1443.
 135. Shapira Y, Setton D, Artru AA, Shohami E. Blood-brain barrier permeability, cerebral edema, and neurologic function after closed head injury in rats. *Anesth Analg* 1993; 77: 141-148
 136. Demediuk P , Lemke M , Faden I . Spinal cord edema and changes tissue content of Na, K, and Mg after impact trauma in rats .In Long D , et al(Eds). *Advances in neurology* Vol 52 , Raven Press 1990:225-232
 137. Calapai, G., Squadrito, F., Rizzo, A., Marciano, M.C., Campo, G.M., Caputi, A.P., 1995. Multiple actions of the coumarine derivative cloricromene and its protective effects on ischemic brain injury. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 351, 209-215.
 138. Yatsiv I., Grigoriadis N., Simeonidou C, Stahel P. F, Schmidt O.I, Alexandrovitch A.G, Tsenter J, Shohami E. *Faseb J* . 2005 Oct ;19(12) 1701-3
 139. Maiese K, Li F, Chong ZZ: Erythropoietin in the brain: can the promise to protect be fulfilled? *Trends Pharmacol Sci* 25: 577-83, 2004.
 140. Genç S, Koroğlu TF, Genç K: Erythropoietin and the nervous system. *Brain Res* 1000: 19-31, 2004.
 141. Cherian L, Goodman JC, Robertson C. Neuroprotection with erythropoietin administration following controlled cortical impact injury in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007 Aug;322(2):789-94.

142. Wang Y, Zhang ZG, Rhodes K, Renzi M, Zhang RL, Kapke A, Lu M, Pool C, Heavner G, Chopp M. Post-ischemic treatment with erythropoietin or carbamylated erythropoietin reduces infarction and improves neurological outcome in a rat model of focal cerebral ischemia. *Br J Pharmacol.* 2007 Aug;151(8): 1377-84.
143. Li Y, Lu ZY, Ög̈le M, Wei L. Erythropoietin Prevents Blood Brain Barrier Damage Induced by Focal Cerebral ischemia in Mice. *Neurochem Res.* 2007 Jun 12.
144. Demers EJ, MC Pherson RJ, and Juul SE (2005) Erythropoietin protects dopaminergic neurons and improves neurobehavioral outcomes in juvenile rats after neonatal hypoxia-ischemia . *Pediatr Res* 58:297-301.
145. Li Y, Lu Z, Keogh CL, Yu SP, Wei L. Erythropoietin-induced neurovascular protection, angiogenesis, and cerebral blood flow restoration after focal ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007 May;27(5): 1043-54.
146. Benn T, Halfpenny C, Scolding N: Glial cells as targets for cytotoxic immune mediators. *Glia* 36: 200-211, 2001.
147. Yatsiv I, Grigoriadis N, Simeonidou C, Stahel P. F, Schmidt O.I, Alexandrovitch A.G, Tsenter J, Shohami E. *Faseb J* . 2005 Oct ;19(12) 1701-3
148. Sugawa M, Sakurai Y, Ishikawa-Ieda, Suzuki H, Asou H: Effects of erythropoietin on glial cell development; oligodendrocyte maturation and astrocyte proliferation. *Neurosci Res* 44: 391-403, 2002.
149. Gorio A, Gökmen N, Erbayraktar S, Yılmaz O, Madaschi L, Cichetti C, Di Giulio AM, Vardar E, Cerami A, Brines M: Recombinant human erythropoietin counteracts secondary injury and markedly enhances neurological recovery from experimental spinal cord trauma. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 9450-9455, 2002.
150. Eschbach, J.W., Kelly, M.R., Haley, N.R., Abels, R.I., Adamson, J.W., 1989. Treatment of the anemia of progressive renal failure with recombinant human erythropoietin. *N. Engl. J. Med.* 321, 158-163.

151. Cerami A, Brines M, Ghezzi P, Cerami C, Itri Loretta M. Neuroprotective properties of epoetin alfa. *Nephrol Dial Transplant* (2002) 17(Suppl): 8-12
152. Hilman RS, Finch CA. *Red Cell Manual*, 7th edn. FA Davis Company, 1996
153. Gregory T, Yu C, Ma A, Orkin SH, Blobel GA, Weiss MJ. GATA-1 and erythropoietin cooperate to promote erythroid cell survival by regulating bcl-xL expression. *Blood* 1999; 94: 87-96
154. Silva M, Benito A, Sanz C et al. Erythropoietin can induce the expression of Bcl-xL through Stat5 in erythropoietin-dependent progenitor cell lines. *J Biol Chem* 1999; 274: 22165-22169
155. Bernaudin M, Bellail A, Marti HH et al. Neurons and astrocytes express brain EPO mRNA: oxygen-sensing mechanisms that involve the redox-state of the brain. *Glia* 2000; 30: 271-278
156. Pardridge WM. Drug delivery to the brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17: 713-731
157. Arteni, N.S., Salgueiro, J., Tones, I., Aehaval, M., Netto, C.A., 2003. Neonatal cerebral hypoxia-ischemia causes lateralized memory impairments in the adult rat. *Brain Research* 973, 171-178.
158. Kawakami, M., Sekiguchi, M., Sato, K., Kozaki, S., Takahashi, M., 2001. Erythropoietin receptor-mediated inhibition of exocytotic glutamate release confers neuroprotection during chemical ischemia. *Journal of Biological Chemistry* 276, 39469-39475.
159. Solaroğlu, I., Solaroğlu, A, Kaptanoğlu, E., Dede, S., Haberal, A, Beskonakli, E., Kilinc, K., 2003. Erythropoietin prevents ischemia-reperfusion from inducing oxidative damage in fetal rat brain. *Child's Nervous System* 19, 19-22.
160. Bernaudin M, Marti HH, Roussel S, Divoux D, Nouvelot A, MacKenzie ET, Petit E. A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999 Jun;19(6):643-51

161. Digicaylioglu M, Bichet S, Marti HH, Wenger RH, Rivas LA, Bauer C & Gassmann M. (1995) Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 3717-3720.
162. Wei L, Han BH, Li Y, Keogh CL, Holtzman DM, Yu SP. Celi death mechanism and protective effect of erythropoietin after focal ischemia in the whisker-barrel cortex of neonatal rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006 Apr;317(1):109-16.
163. Zhang F, Wang S, Cao G, Gao Y, and Chen J (2007) Signal transducers and aktivators of transcription 5 contributes to erythropoietin-mediated neuroprotection against hippocampal neuronal death after transient global cerebral ischemia. *Neurobiol Dis* 25: 45-53
164. Wen TC, Sadamoto Y, Tanaka J, Zhu PX, Nakata K, Ma YJ, Hata R, and Sakanaka M (2002) Erythropoietin protects neurons against chemical hypoxia and cerebral ischemic injury by up-regulating Bcl-xL expression. *J Neurosci Res* 67:795—803.
165. Digicaylioglu M, Lipton SA. Erythropoietin-mediated neuroprotection involves cross-talk between Jak2 and NF-kappaB signalling cascades. *Nature.* 2001 Aug 9;412(6847):641-7.
166. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S et al Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10526-10531
167. Berger, R., Garnier, Y., 1999. Pathophysiology of perinatal brain damage. *Brain Research Brain Research Reviews* 30,107-134.
168. Morishita E, Masuda S, Nagao M, Yasuda Y, Sasaki R. Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons, and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death. *Neuroscience.* 1997 Jan;76(1):105-116.
169. Oztürk E, Demirbilek S, Koroglu A, But A, Begec ZO, Güleç M, Akyol O, Ersoy MÖ. Propofol and erythropoietin antioxidant properties in rat brain

- injured tissue. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007 Jul 20; [Epub ahead of print].
170. Calapai G, Marciano MC, Corica F, Allegra A, Farisi A, Frisina N, Caputi AP, Buemi M. Erythropoietin protects against brain ischemic injury by inhibition of nitric oxide formation. *Eur J Pharmacol*. 2000 Aug 11;401(3):349-56.
 171. Kumral A, Baskin H, Gökmen N, Yilmaz O, Gene K, Gene S, Tatli MM, Duman N, Özer E, Özkan H. Selective inhibition of nitric oxide in hypoxic-ischemic brain model in newborn rats: is it an explanation for the protective role of erythropoietin? *Biol Neonate*. 2004;85(1):51-4.
 172. Kumral, A., Tugyan, K., Gonenc, S., Gene, K., Gene, S., Sonmez, U., Yilmaz, O., Duman, N., Uysal, N., Ozkan, H., 2005. Protective effects of erythropoietin against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and oxidative stress in the developing C57BL/6 mouse brain. *Developmental Brain Research* 160 (4),146-156.
 173. Buemi, M., Grasso, G., Corica, F., Calapai, G., Mana Salpietro, F., Casuscelli, T., Sfacteria, A., Aloisi, C., Concetta, A., Sturiale, A., Frisina, N., Tomasello, F., 2000b. in vivo evidence that erythropoietin has a neuroprotective effect during subarachnoid hemorrhage. *Eur. J. Pharmacol*. 392, 31-34.
 174. Digicaylioglu, M., Bichet, S., Marti, H.H., Wenger, R.H., Rivas, L.A., Bauer, C., Gassmann, M., 1996. Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the mouse brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 3717-3720.
 175. Yamaji, R., Okada, T., Moriya, M., Naito, M., Taurao, T., Miyatake, K., Nakano, Y., 1996. Brain capillary endothelial cells express two forms of erythropoietin receptor mRNA. *Eur. J. Biochem*. 239, 494-500.
 176. Buemi, M., Denuzzo, G., Allegra, A., Aloisi, C., Squadrito, F., Squadrito G., Dattola, A., Corica, F., Vermiglio, G., 1995. Recombinant human erythropoi-

etin inhibits the cutaneous vasodilatation induced by acetylcholine. *Int. Microcirc.* 15, 283-286.

177. Chong ZZ, Kang JQ, and Maiese K (2003) Apaf-1, Bcl-xL, cytochrome c and caspase-9 form the critical elements for cerebral vascular protection by erythropoietin. *J Cereb Blood Flow Metab* 23:320-330.
178. Bahçekapılı N, Üzüm G, Gökkusu C, Kuru A, Ziylan Z. The relationship between erythropoietin pretreatment with blood-brain barrier and lipid peroxidation after ischemia/reperfusion in rats. *Life sciences* 80 (2007) 1245-1251