

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI

**DİKLOFENAK SODYUM'UN AKUT UNİLATERAL SUBDURAL  
HEMATOMLU SIÇAN HİPOKAMPUSU ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
HİSTOLOJİK, STEREOLOJİK VE MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Aysın Pınar Türkmen

SAMSUN-2013

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI

**DİKLOFENAK SODYUM'UN AKUT UNİLATERAL SUBDURAL  
HEMATOMLU SIÇAN HİPOKAMPUSU ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
HİSTOLOJİK, STEREOLOJİK VE MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIKTEZİ

Dr.Aysin Pınar Türkmen

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr.Süleyman Kaplan

SAMSUN-2013

## TEŞEKKÜR

Histoloji ve Embriyoloji Uzmanı olarak yetişmemde büyük emekleri olan; başta Prof. Dr. Süleyman Kaplanolmaküzere, eğitimimin ve tez dönemimin her aşamasında bilgi, deneyim ve dostluğu ile yanımda olan sevgilihocam Doç. Dr. Zuhâl Altunkaynak'a, değerli hocalarım Doç. Dr. Bülent Ayas ve Yrd. Doç. Dr. Eyüp Altunkaynak'a, tez çalışmam sırasında, biyokimyasal çalışmalarıma yardımcı olan Prof. Dr. Abdurahman Aksoy' a, bana yardımcı olan tüm yüksek lisansını ve doktorasını yapan arkadaşlarıma ve anabilim dalımız sekreteri Vicdan Aydoğan'a, ayrıca eğitimim süresince bana büyük bir özveri gösteren sevgili Eşim Mehmet ve Biricik Kızım Ezgi'ye, beni yetiştiren bu güne dek desteklerini hiç esirgemeyen Annem Cemile Güner, Babam Yunus Güner ve Kardeşim Müge Güner'e teşekkür ederim.

Bu tez projesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından (PYO.TIP.1904.12.028) maddi olarak desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	i
<b>KISALTMALAR</b>	v
<b>TABLO LİSTESİ</b>	vi
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	vii
<b>ÖZET</b>	ix
<b>ABSTRACT</b>	xi
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2.GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Akut Subdural Hematom	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Epidemiyoloji	3
2.1.3. Etiyoloji	3
2.1.4. Belirti ve Bulgular	4
2.1.5. Komplikasyonlar	4
2.1.6. Tedavi ve Prognoz	5
2.2. Diklofenak Sodyum	5
2.3. Merkezi sinir sistemi	8
2.3.1. Hipokampus (CornuAmmonis)	12
2.4. Beynin Fonksiyonlarının Gerçekleşmesinde Nörotransmitterler	14
2.4.1. Serotonin	14
2.4.2. Noradrenalin	16
2.4.3. Adrenalin	18
2.5. Stereolojik Analiz	18
2.5.1. Stereoloji	18
2.5.2. Optik Parçalama	19
<b>3.GEREÇ VE YÖNTEM</b>	22
3.1. Preoperatif Kan Alınması	22
3.2. Anestezi	22
3.3. Akut SubduralHematom Oluşturulması	22
3.4. DiklofenakSodyum'unİntramuskuler uygulanması	28

3.5. Postoperatif Kan Alınması	29
3.6. Plazma Serotonin, Epinefrin ve Norepinefrin Düzeyi Ölçümleri	29
3.6.1. Serotonin Test Solüsyonu Hazırlama	29
3.6.2. Numune hazırlama	29
3.7. Plazma Katekolamin Düzeyi Ölçümleri	30
3.7.1. Katekolamin Test solüsyonu hazırlama	30
3.7.2. Numune hazırlama	31
3.8. Perfüzyon Fiksasyon İşlemi	32
3.9. Histolojik Takip	34
3.9.1. Işık Mikroskobu Doku Takip Protokolü	35
3.9.2. Kesit Alma	35
3.9.3. Kesitlerin CresylViolet ile boyanması	35
3.10. Stereolojik İşlemler ve Kesit Örnekleme İşlemi	36
3.10.1 Kesitler Üzerinde Sayım Hesaplaması	37
3.11 Kesitlerin Histolojik Olarak Değerlendirilmesi	40
3.12 İstatistiksel Analiz	41
<b>4.BULGULAR</b>	42
4.1. Makroskobik bulgular	42
4.2. Stereolojik Bulgular	43
4.2.1. CA1 Alanında Elde Edilen Bulgular	43
4.2.2. CA2 Alanında Elde Edilen Bulgular	45
4.2.3. CA3 Alanında Elde Edilen Bulgular	46
4.2.4. Tüm Hipokampustaki Nöron Sayısına İlişkin Elde Edilen Bulgular	48
4.2.5 Gruplar Arasındaki Toplam Nöron Sayısı Farkları	50
4.3. Biyokimyasal Bulgular	51
4.3.1. Plazma Serotonin Düzeyleri	52
4.3.2. Plazma Nörendrenalin Düzeyleri	53
4.3.3. Plazma Adrenalin Düzeyleri	53
4.4. Işık Mikroskobik Bulgular	54
4.4.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular	54
4.4.2. Sham Grubuna Ait Bulgular	55
4.3.3. Deney Grubuna Ait Bulgular	56

4.4.4. Tedavi Grubuna Ait Bulgular	58
<b>5. TARTIŞMA</b>	60
<b>6. SONUÇLAR</b>	68
<b>7.KAYNAKLAR</b>	70

## KISALTMALAR

<b>ASDH</b>	Akut Subdural Hematom
<b>NSAİİ</b>	Nonsteroid Anti-İnflamatuvar İlaç
<b>DS</b>	Diklofenak Sodyum
<b>SDH</b>	Subdural Hematom
<b>COX-1</b>	Siklooksijenaz-1
<b>COX-2</b>	Siklooksijenaz-2
<b>PG</b>	Prostaglandin
<b>TXA2</b>	Tromboxan A2
<b>MSS</b>	Merkezi Sinir Sistemi
<b>SBP</b>	Serotonin Binding Protein
<b>5-HPT</b>	5-Hidroksitriptofan
<b>EAA</b>	Eksitatör Amino Asit
<b>KKK</b>	Kallikreinkininojen-Kinin
<b>İP3</b>	İnozitol Trifosfat
<b>DAG</b>	Diaçilgliserol
<b>DOPA</b>	L-Dihidroxyphenylalanine
<b>MAO</b>	Monoaminooksidaz
<b>COMT</b>	Katekol-O-Metil-Transferaz
<b>NA</b>	Noradrenalin
<b>Ach</b>	Asetikolin
<b>KG</b>	Kontrol Grubu
<b>SG</b>	Sham Grubu
<b>NTG</b>	Deney Grubu
<b>TG</b>	Tedavi Grubu
<b>EDTA</b>	Etilendiamin Tetraasetik Asit
<b>CA</b>	Cornu Ammonis
<b>MHPG</b>	3-Metoksi, 4-Hidroksi Feniletilen Glikol
<b>Ca</b>	Kalsiyum

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b> :Kimyasal yapılarına göre NSAİİ' lerin sınıflandırılması	5
<b>Tablo2</b> : Plazma serotonin düzeyi ölçümü için test solüsyonu prosedürü	29
<b>Tablo3</b> : Plazma katekolamin düzeyi ölçümü için test solüsyonu prosedürü	30
<b>Tablo4</b> : CA1 alanındaki nöron sayısı değerleri	43
<b>Tablo5</b> : CA2 alanındaki nöron sayısı değerleri	45
<b>Tablo6</b> : CA3 alanındaki nöron sayısı değerleri	46
<b>Tablo 7</b> : Hipokampustaki toplam nöron sayısı değerleri	48
<b>Tablo8</b> :Hipokampustaki toplam nöron sayısı açısından gruplar arasındaki % farklılık değerleri	50



## ŞEKİL LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1:</b> Akut subduralhematomun yerleşimi	4
<b>Şekil 2:</b> PG sentezi ve COX yolunun NSAİİ'lar tarafından inhibisyonu	8
<b>Şekil 3:</b> Beyin zarları	10
<b>Şekil 4:</b> Hipokampusun yapısı	12
<b>Şekil 5:</b> Serotonin' in (5-OH triptamin) moleküler yapısı	14
<b>Şekil 6:</b> Serotonin sentez basamakları	15
<b>Şekil 7:</b> Katekolamin sentezi	17
<b>Şekil 8:</b> Sagittal düzlemde orta hat düz insizyonu	23
<b>Şekil 9:</b> Mikrodiril ile açılan Burr Hole	24
<b>Şekil 10:</b> Kuyruk venindenvenöz kan örneğinin alınması	25
<b>Şekil 11:</b> Duranın altına 'J' şeklinde iğne ucunun yerleştirilmesi işlemi	26
<b>Şekil 12:</b> Subdural otolog kan enjeksiyonu	27
<b>Şekil 13:</b> Skalpın suture edilerek kapatılışı	28
<b>Şekil 14 A:</b> Serotonin düzeylerini gösteren örnek kromotogramlar	31
<b>Şekil 14 B:</b> Katekolamin düzeylerini gösteren örnek kromotogramlar	32
<b>Şekil 15:</b> Formaldehit ile perfüzyon- fiksasyon işlemi sonrası kas katılığı	33
<b>Şekil 16:</b> Çıkarılan beyin ve subduralhematom alanı	34
<b>Şekil 17:</b> Bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi	37
<b>Şekil 18:</b> Dış hatlarının çizildiği hipokampus mikroskopik görüntüsü	38
<b>Şekil 19:</b> Optik disektör sondalarının kesit izdüşümü üzerine SRÖ ile yerleşimi	39
<b>Şekil 20:</b> Nöronların uygun marker ile işaretlenerek sayımı	40
<b>Şekil 21:</b> Lezyon lokalizasyonunda duranın beyin dokusundan ayrılması	42
<b>Şekil 22:</b> Dura altında beyin dokusunda ASDH sekelinin makroskopik görünümü	42
<b>Şekil 23:</b> Tüm gruplarda CA1 alanında hesaplanan ortalama nöron sayısı değerleri	44
<b>Şekil 24:</b> Tüm gruplarda CA2 alanında hesaplanan ortalama nöron sayısı değerleri	45
<b>Şekil 25:</b> Tüm gruplarda CA3 alanında hesaplanan ortalama nöron sayısı değerleri	47

<b>Şekil 26:</b> Tüm gruplarda,hipokampusun tamamında hesaplanan ortalama nöron sayısı	49
<b>Şekil 27:</b> Gruplar arasında, hipokampusdaki toplam nöron sayıları arasındaki farklar	51
<b>Şekil 28:</b> Operasyon öncesi ve sonrası plazma serotonin değerleri	52
<b>Şekil 29:</b> Operasyon öncesi ve sonrası plazma noradrenalin değerleri	53
<b>Şekil 30:</b> Operasyon öncesi ve sonrası plazma adrenalin değerleri	54
<b>Şekil 31:</b> Kontrol grubuna ait hipokampus ışık mikroskopik kesitleri (x40)	55
<b>Şekil 32:</b> Kontrol grubuna ait hipokampus ışık mikroskopik kesitleri(x100)	55
<b>Şekil 33:</b> Sham grubuna ait hipokampus ışık mikroskopik kesitleri (x40)	56
<b>Şekil 34:</b> Sham grubuna ait hipokampus ışık mikroskopik kesitleri (x100)	56
<b>Şekil 35:</b> Deney grubuna ait hipokampus ışık mikroskopik kesitleri (x40)	57
<b>Şekil 36:</b> Deney grubuna ait hipokampus ışık mikroskopik kesitleri(x100)	58
<b>Şekil 37:</b> Tedavi grubuna ait hipokampus ışık mikroskopik kesitleri (x40)	59
<b>Şekil 38:</b> Tedavi grubuna ait hipokampus ışık mikroskopik kesitleri(x100)	59

## ÖZET

Bu çalışmada sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan akut subduralhematom modelinde (ASDH) diklofenak sodyum tedavisinin hipokampus üzerine olası etkilerinin histopatolojik, stereolojik ve biyokimyasal yöntemlerle tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 24 adet *Sprague-Dawley* cinsi erkek sıçan kullanıldı. Denekler 4 gruba ayrıldı. Grup 3 ve 4'e hayvanların kuyruk veninden alınan nonheparinize 0,1 ml otolog kan subdural mesafeye verildi. Grup 4'e postoperatif ikinci saatten itibaren diklofenak sodyum 15 mg/kg dozunda 7 gün boyunca intra-muskuler olarak uygulandı. Grup 1 kontrol, Grup 2 ise Shamoperasyonu için kullanıldı. Postoperatif 8. günde tüm hayvanlar sakrifiye edildi.

Tedavi grubundaki deneklere ait hipokampus örneklerindeki CA1, CA2, CA3 bölgelerinin ortalama nöron sayıları ve hipokampustaki toplam nöron sayılarında, azalma olduğu gözlemlendi. Deney ile sham grubu arasında CA1 ve CA2 bölgesinin ortalama nöron sayılarında anlamlı fark bulunmadı. Deney ile kontrol grubu arasında CA1 bölgesinde anlamlı fark olmasına karşın ( $P < 0.01$ ), CA2 bölgesinde fark saptanmadı ( $P > 0.05$ ). Deney grubu hipokampuslarındaki toplam nöron sayılarının sham ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ( $P < 0,01$ ). Tüm kıyaslamalar açısından sham ile kontrol grupları arasında herhangi bir istatistiksel fark belirlenememiştir.

Postoperatif kan örneklerinde gruplar arası karşılaştırmada; tüm gruplarda adrenalin ve serotonin düzeyleri arasında fark bulunamamıştır. Sadece tedavi grubunda noradrenalin düzeyleri, sham ve kontrol grubuna göre artmış olarak bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Preoperatif ve postoperatif kan numuneleri karşılaştırıldığında; adrenalin ve noradrenalin seviyeleri postoperatif numunelerde azalmış olarak ( $p < 0,01$ ), serotonin seviyeleri Grup 1, 2 ve 4'de artmış, Grup 3'de azalmış olarak tespit edilmiştir.

Işık mikroskopik düzeyde deney ve tedavi grubu hipokampuslarında normal histolojik yapıda ki nöronların sayılarında azalma, çekirdekleri heterokromatik boyalı, piknotik görünümlü ve stoplazmaları koyu boyanmış nöronların yanısıra ödemli aksonlar tespit edilmiştir. Tedavi grubunda, deney grubuna kıyasla nekroza giden nöronların daha fazla sayıda oldukları izlenmiştir.

ASDH' da diklofenak sodyum kullanımının CA1, CA2, CA3 bölgelerinin

tümünde ve hipokampustaki toplam nöron sayılarında azalmaya neden olduğu stereolojik teknikler kullanılarak ilk defa bu çalışma ile gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Akut subduralhematom, diklofenak sodyum, hipokampus, stereoloji.

## ABSTRACT

It was aimed in his study to evaluate the potential effects of acute subdural hematoma (ASDH) and diclofenac sodium therapy following ASDH on the rat hippocampus by histopathological, stereological and biochemical methods.

For this aim, 24 male Sprague-Dawley rats were used. The subjects were divided into 4 groups. Non-heparinized 0.1 ml of autologous blood from the tail vein of the animals in Group 3 and 4 were given to subdural space. Group 4 daily received intramuscular diclofenac sodium administration at 15 mg/kg dose from the postoperative second hour to 7th day of the operation. Group 1 and 2 used for control and sham operation, respectively. Postoperative 8th day, all animals were sacrificed.

As a result of the study, the average number of neurons in CA1, CA2, CA3 hippocampal regions and the total number of neurons in the hippocampus samples of the treatment group subjects, was found to be decreased. The average number of the neurons in the CA1 and CA2 region of the experiment and the sham group revealed no significant difference from each other. Although, CA1 region of the experimental and control group show significant difference ( $P < 0.01$ ), there was no difference in CA2 region ( $P > 0.05$ ) in these groups, comparing with each other. The total number of neurons in the hippocampus of the experimental group were decreased significantly ( $P < 0.01$ ) as to those of the sham and the control group. For all comparisons between sham and control groups have not identified any significant difference.

When comparing of postoperative blood samples, there was no difference between the levels of adrenaline and serotonin levels among the groups. But, only noradrenalin levels in the treatment group were found to be higher than those of the sham and control groups ( $P < 0.05$ ). When comparing of preoperative and postoperative blood samples of the all groups, adrenaline and noradrenalin levels decreased in postoperative samples ( $p < 0.01$ ). Also, serotonin level increased in groups 1, 2 and 4 but, it was found to be decreased in group 3 after operation.

Light microscopic investigation of the hippocampus of the experimental and treatment group indicated a decreasing in the number of healthy neurons, heterochromatic stained nuclei, dark stained pycnotic cytoplasm and axonal swelling in experimental groups. On the other hand in the treatment group, it was identified more necrotic neurons compared to the experimental group.

In this study, in first time, it was shown by means of stereological techniques that using of diclofenac sodium after ASDH caused to decrease in the number of the neurons in the CA1, CA2, and CA3 regions and whole hippocampus.

**KeyWords:** Acute subdural hematoma, diclofenac sodium, hippocampus, stereoloji.

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Travmatik beyin yaralanmaları ciddi bir komplikasyon olan intrakraniyal hematomlara sebep olabilmektedir. Akut subdural hematom ise travmatik intrakraniyal hematomların dura ile beyin parankimi arasında gelişen şeklidir. Travma sonrası ilk 72 saat içerisinde tespit edilen dura altındaki kan birikimleri akut subdural hematom (ASDH) olarak değerlendirilir. Travmatik intrakraniyal hematomların %50-60'ını subdural hematomlar oluşturmaktadır (Zwienenberg-Lee ve Muizelaar, 2004).

ASDH etiyojisi yaş gruplarına göre farklılıklar göstermektedir. 60 yaş ve üzerinde en sık etiyojistik neden düşmedir. Genç popülasyonda ise en sık neden trafik kazalarıdır. SDH, beynin ani akselerasyon-deselerasyonu neticesinde yüzeysel veya köprü venlerinin kopmasından ya da beynin laserasyonundan kaynaklanır ( Greenberg, 2001). ASDH, hayati tehlike içerir ve beyin hasarı oluşturur. Tedavide öncelikle hasarı en aza indirmek için dekompresyon uygulanmaktadır. Altda yatan etiyojistik faktöre bağlı olarak ASDH, %50-60 mortalite ile sonuçlanmaktadır. Mortal sonuçlanmayan vakalarda gerek akut dönemde gerekse rehabilitasyon döneminde ciddi sorunlarla karşılaşılabilir. Posttravmatik epilepsi, posttravmatik hidrosefali, disfaji, aspirasyon pnömonisi, derin ven trombozu, pulmoner emboli, posttravmatik baş ağrısı; oluşması muhtemel sorunlardandır (Safaz ve ark., 2008).

Hayati tehlike arz etmeyen ASDH' lu vakalarda rehabilitasyon döneminde veya beyin hasarının akut döneminde, posttravmatik baş ağrısı hasta için oldukça rahatsız edicidir. Migren vasıflı baş ağrısı az olmakla beraber daha çok servikojenik tip ve gerilim tipi baş ağrısı görülür (Stålnacke , 2012). Bu nedenle genel popülasyondaki baş ağrısına benzer şekilde tedavi edilir. Tedavi seçenekleri arasında non-steroid anti-inflamatuar ajanlar, asetaminofen, opiyatlar, migren profilaksisi ve tedavisinde kullanılan ilaçlar yer alır. Bu alanda antiepileptikler ve antidepressan ilaçlar da kullanılmaktadır. Kronik olgularda hastanın hayat kalitesi gittikçe bozulmakta ve psikososyal yaklaşımlara ihtiyaç duymaktadır (Crooks ve ark., 2007).

Literatürde kafa travmalarının sonucunda gelişen akut subdural hematomların, MSS üzerindeki olası etkilerini farklı yöntemler kullanarak hayvan modellerinde histolojik olarak değerlendiren çalışmalar mevcuttur (Sasaki ve Dunn, 2001). Fakat ASDH' un hipokampus üzerine etkilerini irdeleyen çalışmaların sayısı çok azdır (Grady ve ark., 2003).

Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) osteoartrit, romatoid artrit ve ankilozan spondilit gibi hastalık durumlarında ağrı, ateş ve inflamasyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Simons, 1994; Todd ve Sorkin, 1988; Siu ve ark., 2000; Alves ve Duarte, 2002; Kudo ve ark., 2003; Chang ve ark., 2005). Bazı çalışmalarda NSAİİ'lerin hücre proliferasyonunu engellediği, hücre siklusunu durduğu sonucuna ulaşılmıştır (Kusuhara ve ark., 1999).

NSAİİ'lerin medikal tedavide yaygın olarak kullanımı ile farklı organ ve sistemler üzerine toksik etkileri araştırılmıştır. Merkezi sinir sistemi üzerine NSAİİ'lerin etkilerini araştırmak üzere yapılan çalışmalarda, diklofenak sodyumun MSS' nin gelişimini etkilediği ve diklofenak sodyum'un nöral kök hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (Kudo ve ark., 2003; Aygün ve ark., 2012; Ayrancı ve ark., 2013).

NSAİİ ilaçlardan olan diklofenak sodyum (DS), güçlü analjezik etkili, antiinflamatuar ve antipiretik etki gösteren farmakolojik bir ajandır. Bununla birlikte literatürde ilacın olumsuz etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Prenatal dönemde DS uygulanması sonucu 20 haftalık sıçanların omuriliklerindeki nöron sayılarında kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir (Ozyurt B ve ark., 2011). Yine prenatal dönemde diklofenak sodyum uygulanmış 4 haftalık sıçanlar üzerinde yapılan stereolojik ve elektron mikroskopik bir çalışmada, siyatik sinir akson sayısında kontrol grubuna oranla azalma ve miyelin kılıf yapısında ciddi dejenerasyon bulguları gösterilmiştir (Canan ve ark., 2008).

DS, ASDH hematoma sonucu gelişen baş ağrılarının tedavisinde klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Molekülün, enjeksiyon yolu ile uygulanabilir olması, bilinç değişikliklerinin sık görüldüğü ve oral ilaç verilemeyen kafa travmalı hastaların baş ağrısı semptomlarının tedavisinde tercih sebeplerindedir. Literatürde, DS merkezi sinir sistemi üzerindeki olumsuz etkileri incelenmiş olmasına rağmen ASDH'lu hemisfer hipokampusu üzerinde oluşturabileceği olası etkilere dair herhangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Bu nedenle sunulan çalışmada, vücudumuzun otonomik fonksiyonlarının kontrol edilmesinde önemli rolü bulunan hipokampusda ASDH ve DS tedavisinin sonucunda ortaya çıkabilecek olası etkilerin histopatolojik, stereolojik ve biyokimyasal yöntemlerle tespit edilmesi amaçlanmıştır.



## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Akut Subdural Hematom**

#### **2.1.1. Tanım**

Serebral venlerin, başın ani akselerasyon-deselerasyonu ile çoğunlukla sinus sagitalis superior'a girdikleri noktalarda rüptüre olması sonucunda dura ile araknoid arasında kanama olmasına subdural hematom adı verilir. Travma sonrası ilk 72 saat içinde tespit edilen birikimler akut subdural hematom olarak değerlendirilir (Bollock ve Hovda, 2011).

#### **2.1.2. Epidemiyoloji**

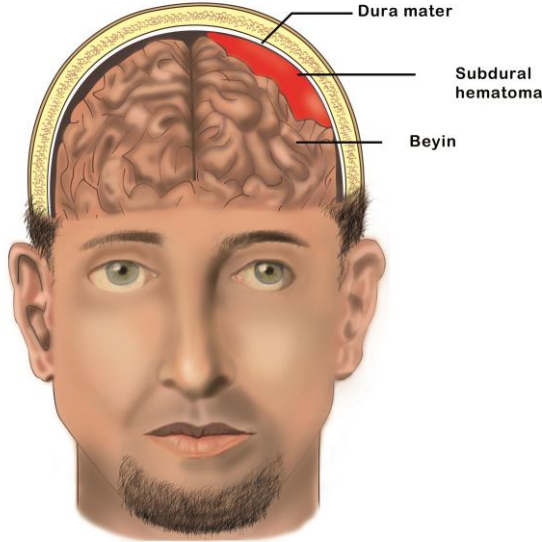
Ağır travmalarda görülme sıklığı %26-63 arasındadır. Vakaların %60'ında kafa kırıkları mevcuttur. Akut subdural hematom travmadan sonraki ilk üç gün içinde oluşur ve mortalitesi %50-90 arasındadır. Hastaların %15-20'sinde hematom bilateraldir. ASDH' larda darbenin şiddeti ve oluşturduğu beyin hasarı daha büyük olduğu için epidural hematomlara göre daha ölümcül seyreder. Beyinde meydana gelen kompresyon veya eşlik eden parankimal hasar ve ödeme bağlı semptomlar ortaya çıkar. 21-47 yaş arası erkek bireylerde daha sık gözlenir, % 12-38 hastada lucid interval bildirilmiştir. Lucid intervalin sonuç ile ilişkisi bulunamamıştır. (Zwienenberg-Lee ve Muizelaar, 2004) Anti-koagulasyon tedavisi alan erkeklerde 7, kadınlarda 26 kat ASDH gelişme riski artmaktadır ( Greenberg, 2001).

#### **2.1.3. Etiyoloji**

SDH'a yol açan nedenler yaş gruplarına göre farklılık gösterir. Genç yaş grubunda trafik kazaları sonucunda ASDH'a sık rastlanırken, 60 yaş üzerinde en sık neden düşmedir. ASDH'lardan 18-40 yaş arası % 56 trafik kazası, %12 düşme sorumluluken 65 yaş üstünde ise % 22 trafik kazası, % 56 düşme sorumludur (Bullock ve ark., 2006). SDH' a sebep olan kanama, başın ani öne arkaya hareketi sonucunda yüzeysel veya köprü venlerinin kopması ya da parankimal laserasyon alanlarından kaynaklanmaktadır (Şek. 1). Genellikle lucid interval, beyin parankimi laserasyonu ile oluşan ASDH' lu hastalarda izlenmez.

#### 2.1.4. Belirti ve Bulgular

ASDH' un en sık belirtisi ani başlangıçlı, şiddetli baş ağrısıdır. Bunun dışında bilinç bozukluğu, bulantı, ipsilateral pupilde dilatasyon, kontralateral hemiparazi, kusma ve diğer nörolojik bulgular görülebilir. Semptomlar beynin kompresyonuna veya eşlik eden parankimal hasar ve ödeme bağlı olarak ortaya çıkar. SDH' larda kan sıklıkla konveksite boyunca yayılır. Posterior fossa, tentorial ve interhemisferik yerleşim daha nadirdir. Travmatik SDH' lar frontal ve temporalde sık, oksipital veya parietalde ender yerleşimlidir. Bu hematomların klinik bulgu verme sürelerine göre akut, subakut, ve kronik olmak üzere üç gruba ayrılır. Kesin tanı BT veya MR ile konulur (Bullock ve ark., 2006).



Şek. 1. Akut subdural hematomun yerleşimi gösterilmektedir.

#### 2.1.5. Komplikasyonlar

Postmortem incelenmiş SDH' lu vakaların üçte ikisinde beyinde iskemik hasar izlenmiştir. Bu hasar hastalarda ki yüksek mortalite ve morbiditenin nedenidir. Duranın iç tabakası yoğun vasküler yapılar ile kaplıdır. Bu yapının kan elemanlarına karşı oluşturduğu enflamasyon reaksiyonu ile membran meydana gelir. Membranın iç kapsülü avaskülerdir. Bazı vakalarda kanamadan sonraki 4. günde membran oluşumu başlar. Fakat membran oluşumu daha çok kronik subdural hematomların karakteristik özelliğidir (Zwienenberg-Lee ve Muizelaar, 2004). İnfantil akut subdural hematomlu vakalar, genellikle jeneralize epileptik nöbetler ile prezente olur (Greenberg, 2001).

### 2.1.6. Tedavi ve Prognoz

Alta yatan patolojiye bağılı olmakla birlikte tedavi kliniğe ve hematomun büyüklüğüne bağılı olarak değişir. Klinik bulgu vermeyen ve BT’ de saptanan küçük hematomlar ameliyat edilmez. Bunlar spontan rezorbe olabilir. Çocuklarda 0, 5 cm’den kalın semptom veren, yetişkinlerde ise 1 cm’den kalın semptomatik akut subdural hematomlu vakalarda dekompresyon uygulanmalıdır. ASDH, acil cerrahi müdahale gerektirir. Cerrahi tedavi fronto-temporo-parietal bölgeleri içerecek büyüklükte, geniş soru işareti biçiminde insizyon ve kraniotomi yapılır. Dura açılarak hematom başlatılır. Bazı durumlarda duraplasti sonrası, beyine ekspansive olabilecek yer sağlamak için kemik flep yerine konmadan skalp kapatılır. Amaç beyin ödemi sonrasında ki basıncı azaltmaktır (Koc ve ark., 1977; Haselberger ve ark.,1988; Servedai ve ark.,1998).

### 2.2. Diklofenak Sodyum

NSAİİ’lar kimyasal yapılarına ve vücutta yarılanma ömürlerine göre gruplara ayrılırlar.

**Tablo 1:** Kimyasal yapılarına göre NSAİİ’ lerin sınıflandırılması

KARBOKSİLİK ASİTLER		ASETİK ASİTLER		PROPRONİK ASİTLER	FENAMİK ASİTLER	ENOLİK ASİTLER	NONASİDİK AJANLAR
Salisilik asit ve esterleri	Antranilik asit türevleri	Fenilasetik asit	Karbo ve heterosiklik asitler	Ebuprofen	Flufenamik		
	Flufenamikasit	Diklofenak	İnfometazin	Tiaprofenik asit	Meklofenamik		
		Mefanamikasit	Fenklofenak	Etodolak	Fenoprofen	Mefenamik	
	Sulindak			Flurbiprofen			
	Tolmeltin		Ketoprofen				
			Naproxen				
Suprofen							

DS kimyasal yapısı; 2-[2-(2,6-diklorofenil) aminofenil] etanoik asit şeklindedir. Moleküler formülü  $C_{14}H_{11}NCl_2O_2$  olarak tanımlanmaktadır. Tablo 1’de görüldüğü gibi kimyasal olarak sınıflandırılmış NSAİİ’ lar içinde DS, asetik asit grubunda fenilasetik asitin bir türevidir. İlaçların yarı ömürleri dikkate alınarak sınıflandırıldıklarında ise kısa yarı ömürlü (6 saatten az) NSAİİ’ lar arasında yer alır. DS maksimum plazma konsantrasyon düzeyine 1,5 – 2 saatte erişir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %99’un üzerindedir. Diklofenak, aspirin ile birlikte verilirse plazma düzeyi belirgin şekilde azalır. Karaciğerde metabolize olur. Esas olarak hidrosillenme ve konjugasyon yoluyla inaktive edilir. Metabolitleri ise daha sonra glukuronid ve sülfat bileşikleri halinde idrar (%65) veya safra (%35) ile atılır. Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 2 saattir. Yüksek oranda albümine bağlanırlar ve dağılım hacimleri düşüktür. Bazılarının sinoviumda birikme özellikleri vardır. Kronik böbrek yetmezliğinde atılımları azalır.

Hücre membranında bulunan fosfolipidler fosfolipaz-A2 enzimi ile araşidonik asitlere dönüştürülür. Steroidler, fosfolipaz-A2’yi inhibe ederek potent bir antiinflamatuvar etki gösterirler. Araşidonik asitler siklooksijenaz (COX) enzimi ile endoperoksitlere dönüşür (PGE2, PGI2, TXA2). Bunların ağrı, ateş, inflamasyon, pıhtılaşma, ovulasyon, doğumun başlaması, kemik metabolizması, gastrik mukoza, yara iyileşmesi, sinirlerin gelişmesi, damar tonus artışı, immün cevap ve böbrek fonksiyonlarında önemli rolleri vardır. TXA2 trombositlerde sentezlenir ve onların agregasyonunu sağlar. PGI2 damar duvarında sentezlenir ve potent vazodilatatördür, trombosit agregasyonunu inhibe eder. Diğer prostaglandinler ise inflamasyon, ağrı, ateş, lokal kıkırdak ve kemik yıkımını aktive eder (Kayaalp, 2002).

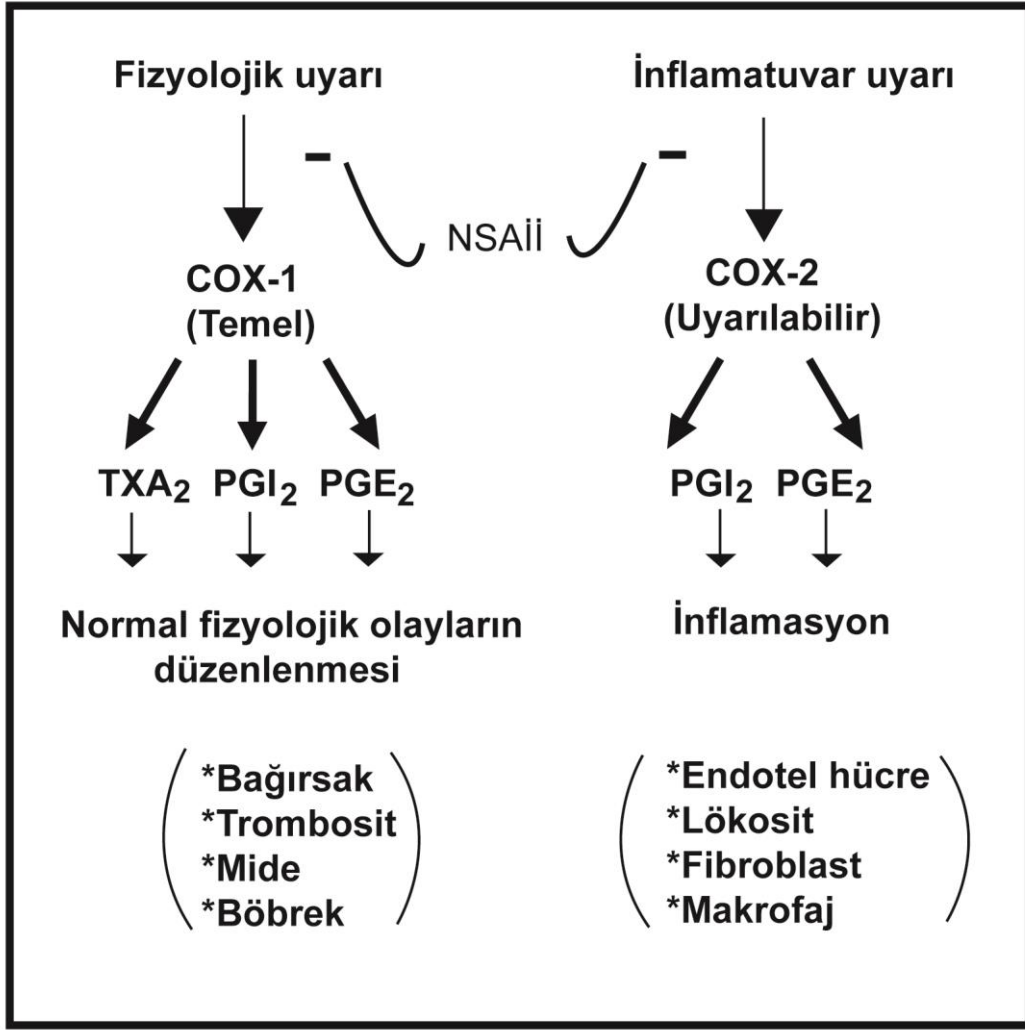
COX inhibisyonu, prostoglandin sentezinin baskılanması, lipoksijenaz inhibisyonu ile lökotrien sentezinin ve süperoksit üretiminin baskılanması, lizozomal enzim salınımının baskılanması, kıkırdak metabolizmasına etkileyerek kondroprotektif ya da kondrodestrüktif etki göstermesi, hidrojen peroksit yapımının inhibisyonu, hücre membranında fosfolipaz-C aktivitesinin inhibisyonu, lenfoid transformasyonu ve DNA sentezinin azaltılması, santral analjezik etki, bradikinine bağlı inflamatuvar olayların baskılanması, nötrofil agregasyonu ve aktivasyonu için gerekli olan sinyallerin inhibisyonunu sağlamak, granülosit-monosit migrasyon ve fagositozunun inhibisyonunu düzenlemek NSAİİ’lerin genel etkileridir.

İnflamatuvar süreç; hasar oluşturan bir uyarana karşı verilen yanıttır. Hasar,

enfeksiyonlar, antikorlar, fiziksel travmalar (ASDH) gibi çok çeşitli zararlı uyarana karşı oluşabilir. Çevresel patojenlere karşı veya hasarla karşılaşma durumunda sağ kalabilmek için inflamatuvar yanıt oluşturma yeteneği şarttır. Bazı koşullarda ve hastalıklarda inflamatuvar yanıt aşırı olabilir. İstenmeyen sonuçlar doğurabilir. İnflamatuvar yanıtı başlatan neden ne olursa olsun klasik cevap; sıcaklık artışı, ağrı, kızarıklık ve ödemdir. İnflamatuvar yanıtta 3 faz eşlik eder. Bu üç aşama; geçici lokal vazodilatasyon ve permeabilite artışı ile karakterize akut faz, lökosit ve fagositik hücre infiltrasyonu ile karakterize subakut faz, doku dejenerasyonu ve fibrozisin ortaya çıktığı kronik proliferatif fazdan oluşur. Prostaglandin E<sub>2</sub>, prostoglandin I<sub>2</sub> gibi bazı prostoglandinler inflamasyonda görev almaktadır. NSAİİ'ler teropötik etkilerini prostoglandin üretiminde görev alan siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ederek gerçekleştirirler (Şek. 2; Brunton ve ark., 2009).

COX-1 çoğu dokuda bulunan yapısal bir izoformdur. Gastrik epitelde baskındır ve sitoprotektif prostoglandin oluşumu kaynağıdır. İnflamasyona eşlik eden sitokinler ve inflamatuvar mediatörler COX-2 üretimini uyarırlar. COX-2 böbrek ve beynin bazı bölgelerinde yapısal olarak olarak eksprese edilmektedir. Endotel hücrelerinde ki laminar gerilme kuvvetleri tarafından indüklenmektedir. NSAİİ'lerin COX-1 inhibisyonu ile istenmeyen gastrointestinal yan etkiler oluşur.

DS'un COX-2' ye karşı potensi indometasin, naproksen ve daha bir çok geleneksel NSAİİ' dan daha fazladır (Howland ve Mycek, 2009).



Şek. 2. Prostaglandin sentezi ve siklooksijenaz yolunun NSAİİ'lar tarafından inhibisyonu

(COX: Siklooksijenaz; TXA<sub>2</sub>: Tromboksan A<sub>2</sub>; PG: Prostaglandin)

### 2.3. Merkezi sinir sistemi

Merkezi sinir sistemi (MSS); omurilik ve beyin olmak üzere iki anatomik bölümden oluşur. Omurilik; canalis vertebralis, beyin ise cavum cranii içinde yer alır. Beyinde iç tarafta substantia alba, dış tarafta substantia grisea yer alır. Omurilikte ise gri ve ak maddelerin yerleri beyindeki yerleşimin tam tersidir. MSS'nin gri cevheri nöron ve nöroglia hücrelerini içerir. Burada nöron ve dentritler arasında sinapslar oluşur. Beyaz cevherde myelinli aksonlar çoğunluktadır. Hipokampus bölgesi dışında, beyin korteksi altı ana tabakaya sahiptir.

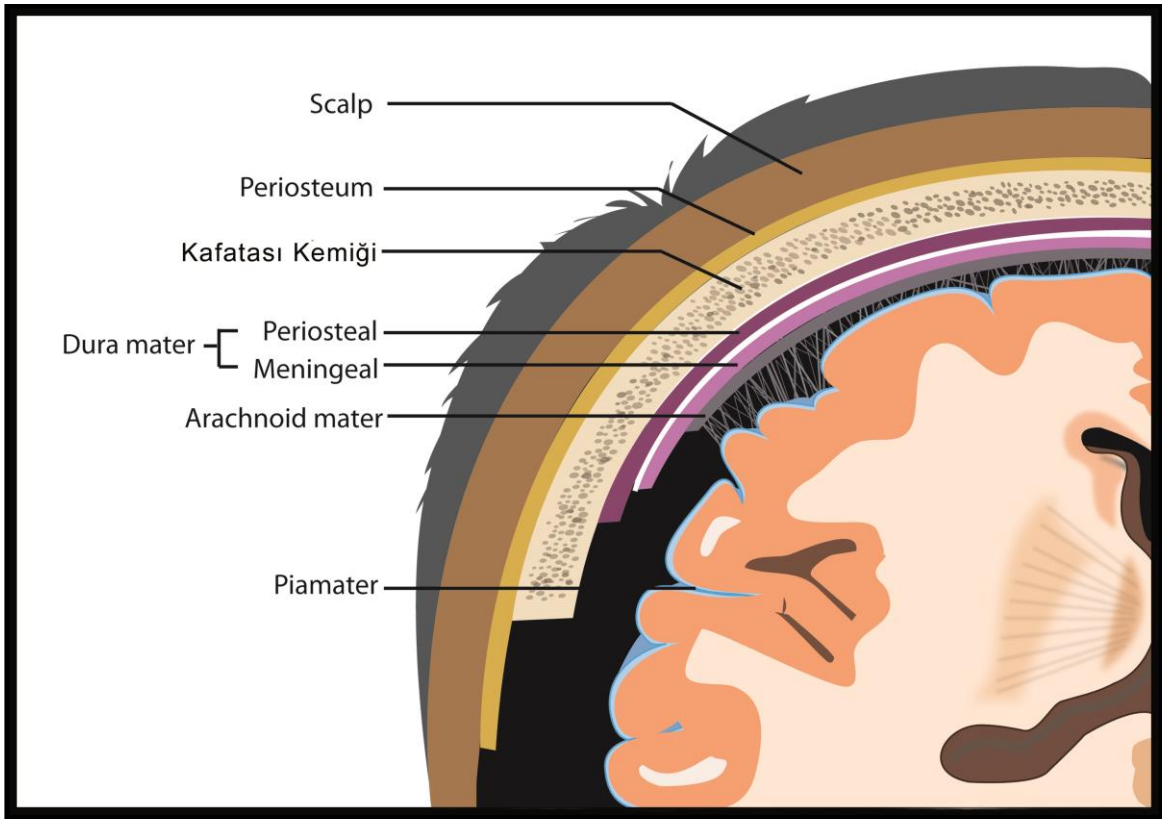
Spesifik duysal liflerin çoğu korteksin 4. tabakasında sonlanır. Korteksten çıkan liflerin

çoğu 5. ve 6. tabakadaki nöronlardan başlarlar. 1., 2. ve 3. tabakalardaki lifler, korteks içi bağlantı görevi yaparlar. Bunlardan özellikle 2. ve 3. tabakadaki çok sayıda nöron komşu kortikal alanlar arasında kısa yatay bağlantılar sağlarlar (Guyton ve Hall, 1996).

Sinir sisteminin tüm yapıları ektodermden gelişir. Embriyonal hayatın üçüncü haftasının başında embriyonun sırt kısmında bulunan ektoderm kalınlaşarak nöral plağı oluşturur. Nöral plağın kenarları kalınlaşır ve bu yapıya nöral krest adı verilir. Bu kenarlar arasında nöral oluk meydana gelir. Nöral oluk servikalden kaudale doğru kapanarak nöral tüpü oluşturur (Moore, 1983). Dördüncü haftada nöral tüpün ön bölümüne pars cranialis, arka bölümüne pars spinalis denir. Pars cranialisde önden arkaya doğru oluşan üç şişliğe prosencephelon, mesencephelon ve rhombencephelon adı verilir. Prosencephelon'dan daha sonra Telencephelon [serebral korteks, rhinencephelon (hipokampus), korpus striatum] ve Diencephelon [epitalamus, talamus, hipotalamus] gelişir. Mesencephelon'dan crus cerebri ve colliculi tegmentum meydana gelir. Rhombencephelon'dan metencephelon (cerebellum, pons) ve myelencephelon (medulla oblongata) olmak üzere iki bölüm farklılaşır. Beyin dokusu gelişimini tamamladıktan sonra insanlarda ortalama 1300-1500 gr ağırlığındadır. Beyin anatomik olarak iki hemisferden oluşur. Her hemisfer sulcus ve fissurler ile frontal, parietal, temporal, ve oksipital olmak üzere dört loba ayrılır. Beyin dokusu beyin zarları tarafından korunmaktadır (Arıncı, 1997).

Beyin ve medulla spinalis dışarıdan içeri doğru; dura mater, arachnoidea mater ve pia mater adı verilen üç bağ doku tabakası tarafından sarılır (Şek. 3). Arachnoidea mater, dura ve pia mater ortasında örümcek ağı görünümünde damardan zengin bir zardır. Pia mater beyin dokusuna yapışık olup beyin ve medulla spinalis içine kan damarlarını taşır. Dura mater iki tabakadan oluşur. İçteki tabaka meningeal tabaka, dışdaki tabaka periosteal tabaka olarak adlandırılır. Her iki tabakada sıkı fibröz bağ dokusundan oluşmuştur. Dura mater'in beyni saran kısmına dura mater cranialis denilir. Dura mater cranialis yaprakları sinus venosus'ların bulunduğu yerde birbirinden ayrılır. Diğer yerlerde yapışık olarak seyreder. Periosteal dura kafa kemiklerinin iç yüzünü döşeyen periosteumu yapar. Crista frontalis, crista oksipitalis interna, proc. clinoidalis anterior, media ve posterior'a, basis cranii interna kemiklerine sıkıca yapışiktır. Diğer bölümlere gevşek tutunur. Foromen magnumdan geçerek medulla

spinalis etrafında dura mater olarak devam eder (Taner, 1998). Meningeal dura mater tabakası beyin bölümleri arasına uzantılar gönderir. Bu uzantılar falx cerebri, falx cerebelli, tentorium cerebelli olarak adlandırılır. Falx cerebri; beyin hemisferleri arasında dura mater'in meningeal tabakasının orak şeklindeki uzantısıdır. Falx cerebelli; dura mater'in meningeal tabakasının önde beyincik hemisferleri arasına giren, arkada crista occipitalis interna'nın alt bölümüne yapışan küçük orak şeklinde uzantısıdır. Beynin oksipital lobu ile cerebellum arasında bulunan dura mater'in meningeal tabakası ise tentorium cerebelli olarak tanımlanır (Arıncı, 1997).



**Şek. 3.** Beyin zarları

Dura mater cranialis' in kanlanması; a. carotis interna, a. maxillaris, a. pharyngea ascendens, a. occipitalis ve a. vertebralis'in dalları tarafından sağlanır. Klinik açıdan; a. maxillaris'den fossa infratemporalis' de ayrılan a. meningea media kafa travmaları sonucunda sık kanayabildiğinden önem taşır (Bullock, 2006). Dura mater' in venleri ve arterleri dura' nın iki yaprağı arasında seyreder. İnervasyonu n. trigeminus' un dalları tarafından sağlanır. Ayrıca n. Vagus'un meningeal dalları, 3. servikal spinal sinir, truncus sympathicus' un boyun bölümünden sempatik lifler alır. Tentorium cerebelli' nin



yukarisında kalan dura mater' in duyusunu n .trigeminus' un dalları alır. Bu yüzden bu bölgenin ağrısı yüz ve alında hissedilir. Tenterium cerebelli' nin aşağısında kalan dura mater' in duyusunu ilk üç servikal spinal sinir alır. Bu nedenle bu bölgenin ağrısı ense ve başın arka kısmında hissedilir (Bullock, 2011).

Pia mater beyin ve medulla spinalis' in bütün olukları içine girer. Bol miktarda damar ağına sahiptir. Pia mater damarların beyin dokusuna girdiği yerde beyine daha sıkı yapışıktır (Taner, 1998).

Arachnoidea mater; vasküler, ince, geçirgen olmayan bir zardır. Dura mater ile arachnoidea arasında spatium subdurale, arachnoidea ile pia mater arasında spatium subarachnoideum adı verilen aralık bulunur. Spatium subdurale ince bir aralıktır. Her iki aralıkda da beyin omurilik sıvısı bulunur. Arachnoidea mater, falx cerebri, falx cerebelli, tentorium cerebelli'nin bulunduğu büyük yarıklara girer. Diğer oluklara girmez (Arıncı, 1997)

Sinir sistemi hücreleri; uyarıları alıp düzenleyerek yanıtı ilgili yerlere nakleden nöronlar ve nöronlara destek görevi gören glia hücrelerinden meydana gelir. Nöronlar uzantılarına ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılırlar. Glia hücreleri ise mesodermal kaynaklı mikroglia ile nöroektoderm kökenli makroglia hücreleri (astrozitler, oligodendroglialar, ependimal hücreler) olmak üzere iki gruba ayrılır (Greenberg, 2001).

Nöronlar zedelenmeye karşı; aksonal reaksiyon, akut hücre zedelenmesi, atrofi ve nöronal dejenerasyon, intranöronal depolanma şeklinde hücre sel yanıt verirler. Aksonal reaksiyonda, aksonal kesiyi izleyen nöron gövdesinde santral kromatolizis gelişir. Perikaryonda granürlü endoplazmik retikulum saçılır ve nöron gövdesi balonlaşır. Nükleus perifere itilir. Reversibl bir değişikliktir (Greenberg, 2001). Akut hücre zedelenmesi en sık hipoksi, iskemi, hipoglisemi gibi nedenlerle oluşan irreversibl nöronda zedelenmedir. Zedelenen hücre büzülür. Stoplazma eozinofilik hal alır. Çekirdek piknozise uğrar. Atrofi ve nöronal dejenerasyon; kronik nörodejeneratif hastalıklarda ağır nöron kaybı şeklinde izlenir. İnanöronal depolanma; yaşlanma, viral hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve metabolik hastalıkları takiben nöronlarda oluşan birikimler sonucu nöronda zedelenmeye sebep olur (Graham ve Lantos, 2002).

### 2.3.1. Hipokampus

Hipokampus, gyrus denetatus ve bunlara ait beyaz cevherler olan alveus ve fimbria hippocampi'den oluşur. Geniş ön kısmına pes hippocampi adı verilir ve bu kısımda digitationes hipokampi denilen 3-4 tane yuvarlak çıkıntı içerir. Korteksinin üç tabakası vardır. Orta tabaka daha çok büyük pramidal hücrelerden oluşur (Amaral ve Lavenex, 2006). Hipokampusun kesiti ' C ' harfi şeklindedir (Şek. 4).



Şek. 4. Hipokampusun yapısı görülmektedir.

Harfin konveks yüzü ventrikül boşluğuna, konkav yüzü ise hemisferin alt yüzüne yönelmiştir. Alt yüzde bulunan bu açıklık, yarık şeklinde olup sulcus hippocampi olarak adlandırılır. Sulcus hippocampi'nin bulunduğu yerde gri cevher yan karıncığın cornu temporalis' ine doğru bir girinti yaparak hipokampusu oluşturur (Arıncı, 1997). Hipokampusun ventrikül boşluğuna bakan konveks yüzü alveus denilen ince bir beyaz cevher ile kaplı, bununda üstü ependim hücreleri ile örtülüdür. Alveus' u oluşturan myelin lifleri hipokampusda ki sinir hücrelerinin aksonlarıdır. Bu lifler hipokampusun medial kenarına doğru uzanarak bir kenar şeklinde olan fimbria hippocampi' yi oluştururlar. Gyrus dentatus ve hipokampus arasında bulunan fimbria

hippocampi, arkada crus fornicis olarak uzanır. Gyrus hippocampi ile hipokampus arasında bulunan çentikli, ince, gri cevhere gyrus dentatus denir (Amaral ve Lavenex, 2006). Limbik lob, corpus callosum' u bir halka şeklinde çevreleyen gyrus cinguli, gyrus hippocampi, gyrus fasciolaris, gyrus subcallosalis ve hipokampus formasyonundan oluşur. Filogenetik bakımdan beynin diğer bölümlerine oranla daha eski olan limbik lob 3 bölüme ayrılır (Arıncı 1997):

**1-Archicortex:** Hipokampus ve gyrus dentatusdan oluşur.

**2-Paleocortex:** Gyrus hippocampi'nin ön bölümünden oluşur.

**3-Mesocortex:** Gyrus cinguli' den oluşur.

**Hipokampus formasyonu:** Hipokampus, gyrus dentatus, ve bunlara ait beyaz cevherler olan alveus ve fimbria hippocampi' den oluşur. Hipokampus; yan karıncığın cornu inferius tabanı boyunca uzanan insanda yaklaşık 8cm boyunda gri cevher kitlesidir (Taner, 1998).

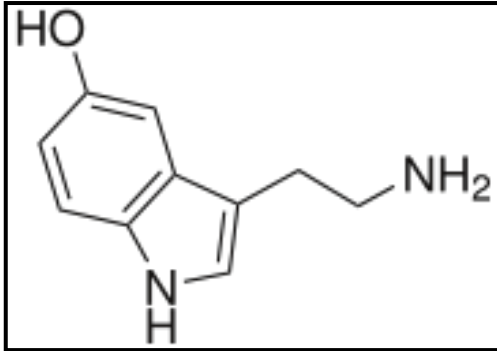
Limbik sistemin fonksiyonları arasında; Yeme içme isteği, huzursuzluk, heyecan, his ve otonom sistemin idare ettiği davranış, cinsel istek, kendini savunma, bazı somatik yanıtlar verebilme yeteneği tespit edilmiştir. Ayrıca limbik sistemin bazı bölümleri hafıza ve koku sistemini etkilemektedir. Otonom sinir sisteminde sempatik ve parasempatik aktivasyondaki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte deneysel olarak kardiyovasküler, gastrointestinal sistem ve emosyonel olaylarla ilişkisi tespit edilmiştir (Arıncı ve Elhan, 1997). Öğrenme ve hafıza, limbik sistemde dâhil olmak üzere, merkezi sinir sisteminin birçok bölgeleri ile ilgili karmaşık fonksiyonlardır. Yeni edinilen bilgilerin depolanmasında hipokampusun önemli rolü olduğu bilinmektedir. Hipokampus'u etkileyen lezyonu olan hastalarda kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüştürülemediği gözlenmiştir. Her türlü duyusal algı hipokampusun çeşitli bölümlerini aktive etmektedir. Korteks ile alt sinirsel oluşumlar arasında algılama, limbik sistem, soyut düşünme, öğrenme, hafıza, uzaysal hafıza gibi verilerin aktarılmasında kavşak görevi görmektedir (Muller ve ark., 2000). Beynin hafıza ve yön bulmada etkili bölgesinin araştırılmasına yönelik deneysel hayvan çalışmalarında, denekler çevrelerindeki bildik yerlerden geçerlerken hipokampus nöronlarının aktif hale geçerek aksiyon potansiyelleri oluşturdukları gözlenmiştir (Broglia ve ark., 2002).

## 2.4. Beynin Fonksiyonlarının Gerçekleşmesinde Nörotransmitterler

Nöronlar arasında veya bir nöron ile başka bir hücre arasında iletişimi sağlayan kimyasallara nörotransmitter (sinir ileticisi) denir. Sinir sistemi boyunca sinirsel sinyaller bu kimyasal taşıyıcılar yardımıyla iletilir (Robert Sapolsky 2005). Temel olarak iki grup nörotransmitter madde bulunur. Bunlar eksite edici (uyarıcı) ve inhibe edici (engelleyici) maddelerdir. Sinir istemindeki sinyallerin işlenip bunların bilgiye dönüştüğü yer olan sinapslarda bu iki farklı grup nörotransmitter madde sayesinde bazı sinyaller artırılırken bazıları azaltılmış olur. Bu özellik, sinir dokuların sinyal işleme yetisinin temel bileşenlerinden biridir. Bilinen başlıca biyolojik amin yapıları nörotransmitter maddeler; serotonin, noradrenalin, adrenalin, asetilkolin, dopamin ve histamindir. Aminoasit yapısında olan nörotransmitterler arasında gama-aminobütirik asit (gaba), glisin, glutamat ve aspartat yer alır. Burada bu nörotransmitterlerden sadece çalışmamızda kullanılanlara değinilecektir (Robert Sapolsky 2005).

### 2.4.1. Serotonin

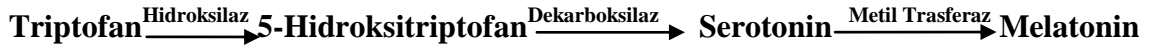
Serotonin, indol çekirdeğinin 5. pozisyonunda hidroksil ve primer amin azot grubu içermesi nedeniyle (Şek. 5), fizyolojik pH'da proton alıcısı olarak davranan hidrofilik bir amindir. Bu nedenle lipofilik kan-beyin bariyerini doğrudan geçemez. Fakat 5-HT'nin beyinde de sentezlendiğini ortaya konulmuştur (Siegel, 2006).



Şek. 5. Serotonin' in (5-OH triptamin) moleküler yapısı

5-HT' in beyindeki ana sentez ve salıverilme kaynağı raphe nucleusudur. Serotonin içeren nöron gövdeleri beyin orta bölgesinde yoğunlaşır. Hipokampus, serebellum ve omurilik gibi geniş alanlara serotoninini özellikle içeren aksonların uzandığı bilinmektedir

(Siegel, 2006; Lam ve ark., 2010). Serotonin sentezi esansiyel nötral bir aromatik amino asit olan triptofandan gerçekleştirilir (Şek. 6).



Şek. 6. Serotonin sentez basamakları görülmektedir (Ganong, 2005).

Serotonin sentezi merkezi sinir sistemi, nöronal aksis ve enterik sinir sistemin’ de gerçekleşir (Katzung ve ark., 2009). Triptofanın serotonine dönüşümü iki aşamada gerçekleşmektedir. Triptofanın indol grubundaki 5 numaralı karbonun triptofan hidroksilaz tarafından hidroksillenmesiyle yine kan-beyin bariyerini kolaylıkla aşabilen ve epilepsiyle de ilişkilendirilen 5-hidroksitriptofan(5-HTP) sentezlenir. 5HTP’nin sitoplazmada L-aromatik amino asit dekarboksilaz enzimiyle dekarboksilasyonu sonucu serotonin sentezi tamamlanır (Lam ve ark., 2010; Toker, 2010). 5-HTP’nin sitoplazmada dekarboksilasyonu sonrası oluşan serotoninler aksonal terminalden salıverilmek üzere sitoplazmadaki veziküllerde depolanır. 5-HTP’nin sitoplazmada dekarboksilasyonu sonrası oluşan serotoninler aksonal terminalden salıverilmek üzere sitoplazmadaki veziküllerde depolanır. Serotonin depolayan veziküllerin yapısı katekolaminlerinki ile benzerdir. Bu nedenle; vezikül zarında bulunan taşıyıcının inhibisyonu beyindeki serotonin düzeyini düşürdüğü gibi katekolamin düzeylerini de düşürmektedir (Lam ve ark., 2010). Serotonerjik sinaptik veziküller demir varlığında serotonine yüksek ilgiyle bağlanan bir protein; SBP (Serotonin Binding Protein) içermektedir. SBP kalsiyum bağımlı bir mekanizma ile sinapslarda serotoninle birlikte salıverilmektedir (Toker, 2010). Serotonin fizyolojik pH’da iyonize olduğundan, zardan basit difüzyonla geçemez ve bütün vezikül içeriğinin boşaltılmasıyla, ekzositozla geçer. Beyinde lokal bir yaralanma olduğunda, doğrudan etki eden kuvvete bağlı KBB’nin açılması, ölen nöral hücrelerden eksitatör amino asit (EAA) ve trombotik materyalden serotonin salınması meydana gelir. Plazma içine yayılan glutamat, serotonin, kallikreinkininojen-kinin (KKK) sistem ürünleri ve yağ asitleri ödemin yaralanma çevresine yayılmasına neden olur. Glutamat, kendi salınımını daha fazla artırarak hücre membranlarından Na ve Ca geçişinin artmasına, buna bağlı hücre ödemi ve nekroza neden olur. Serotonin bariyer açıklığını artırır ve serebrovasküler fonksiyonu bozar

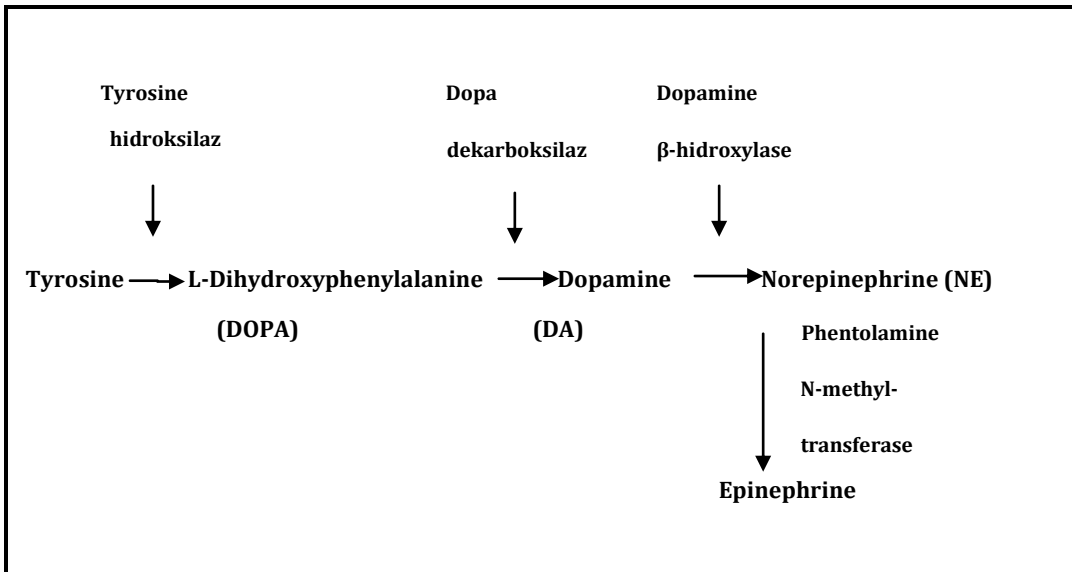
(Pollay M., 1996). Yağ asitleri hücresel enerji metabolizmasını bozarak hücre şişmesine ve KKK sistemi bariyer açıklığının artmasına, hücre yaralanmasına yol açar. Tüm bu ikincil olayların son aşamasında serbest radikaller ve lizozomal enzim aktivasyonları oluşur (Pollay M., 1996). Depolarizasyon olsun olmasın hücre içine kalsiyum girişi serotonin salıverilmesini artırır. Bu durum kalsiyumun ekzositoz sırasında veziküler membranla plazma membranı arasında füzyonu sağlamasından kaynaklanmaktadır (Siegel, 2006). Serotonin, etkilerini pre-sinaptik ve postsinaptik hücre membranlarında bulunan farklı tipteki reseptörleri (5HT1-5HT7) üzerinden göstermektedir (Merens ve ark., 2007). Reseptörlerin bulunduğu bölge ve reseptör çeşidine göre serotoninin işlevi değişebilir. 5-HT1A reseptörü; serebral korteks, hipokampus, amigdala, raphe nuclei' de bulunur. Fonksiyonu cAMP azalışı yaparak, ACTH regülasyonu, nöron atlaması inhibisyonu, davranış, yemek yeme üzerinedir. 5-HT1B reseptörü; frontal korteks, ganglia striatum' da bulunur. Pulmoner vazokonstriksiyon, Dopamin salınımının inhibisyonu, davranış indüklenmesi yapar. 5-HT1D reseptörü; dorsal raphe nuclei ve kalpte bulunur. serotonin salınımının kontrolü, beyinde vazokonstriksiyon, endişe, depresyon, nöropsikiyatrik bozukluklar üzerinde etkilidir. 5-HT1E reseptörü; frontal korteks, olfactory bulb, hipokampus' da bulunur (2007; Hensler, 2010).

Hafıza regülasyonunda görev alır. 5-HT2C reseptörü; koroid, hipokampus, substantia nigra' da bulunur. Fonksiyonu, IP3 ve DAG artışı üzerinden migren ataklarının başlangıcı, hipoaktivite, hipofaji, oral diskinezi üzerinedir. 5-HT5 reseptörü; serebral bölgede bulunur. cAMP azalışı üzerinden beslenme, endişe, depresyon, beyin gelişimi, glia regülasyonu üzerinde foksiyon gösterir. 5-HT6 reseptörü; limbik serebral bölge, ekstra piramidal serebral bölgede bulunur. cAMP artışı yaparak bölgesel hafıza üzerinde foksiyon gösterir. Sağlıklı insanlarda serotonerjik nörotransmisyonundaki artışlar sonucu olumlu duygusal materyal tanınır ve dikkat artar. Beklenenin aksine, akut serotonerjik nörotransmisyon artışı negatif veya endişe yaratıcı uyarıyı artırır. Genel olarak, serotonerjik nörotransmisyonun sonucu sağlıklı insanda dikkat bozukluğu ve pozitif duygu materyali tanınmasını azaltır ve negatif uyarının taraflı seçimini artırır (Merens ve ark., 2007; Hensler, 2010; Amar ve ark., 2010).

#### **2.4.2. Noradrenalin**

Adrenalin (epinefrin), noradrenalin (norepinefrin) ve bunların sentezinde ara

ürün olan dopamin, katekolaminler olarak bilinirler. Adrenalin ve noradrenalin, böbrek üstü bezinin medulla kısmının hormonlarıdır. Noradrenalin, sempatik sinir sisteminin postganglionik sinirlerinde ve santral sinir sisteminin bazı bölgelerinde nörotransmitter olarak görev yapar (Leonard 1997). Dopamin, beyin sapının üst kısımlarında nörotransmitter olarak görev yapar. Katekolaminler, tirozin amino asidinden sentez edilirler (Şek. 7). Katekolaminler, monoaminoksidaz (MAO) ve katekol-O-metil transferaz (COMT) enzimleri etkisiyle idrarla atılan inaktif metabolitlerine dönüşürler. Sempatik sistemin genel olarak mediyatörü noradrenalin (NA)'dir. Adrenal medulladan farklı olarak % 80 adrenalin ve % 20 NA salınır (Manunta ve Edeline, 2004). Ayrıca tüm parasempatik ve sempatik gangliyonlar, adrenal medulla ve nöromusküler kavşaktan Asetilkolin salınır ve buralarda postgangliyonik olarak nikotinik reseptörler bulunur. Katekolaminler hormon ve nörotransmitter olarak fonksiyon görürler. Bu bileşikler adrenal medullada ve sempatik sinirlerde sentezlenir. Sentezlenen NA veziküler amin pompası kullanılarak vezikül içinde depolanır. NA; lokus ceruleus, lateral tegmental sistem ve dorsal meduller gruptaki nöronlardan kaynaklanır. Katekolamin olarak bilinen noradrenalin, adrenalin ve dopaminin hepsi tirozin aminoasidinden oluşurlar. Otonom nöronlar ve böbrek üstü bezinden salınırlar. Beyinde noradrenalin salgılayan noradrenerjik, adrenalin salgılayan adrenerjik ve dopamin salgılayan dopaminerjik nöronlar vardır. Katekolamin salıveren sinirlerin akson boyunca değişik vezikülleri vardır (Ressler ve Nemeroff, 2000).



Şek. 7. Katekolamin sentezi (Ganong, 2005)

Bu veziküllerden transmitterler açığa çıkar ve reseptörlerine bağlanıncaya kadar hücre dışı boşluğu geçerler. Bu onlara geniş bir doku alanına etkileme olanağı sağlar. Talamus, serebral korteks, serebellum ve spinal korda projekte olur. Fonksiyonu etkilenirse dikkatte bozulma, konsantrasyon güçlüğü, işlem belleğinde bozulma, bilgi işleme süreçlerinde yavaşlama, deprese duygudurum, psikomotor yavaşlama, yorgunluk, halsizlik letarji, uyanıklıkta azalma meydana gelir. Kaygı, uyanıklılık, dikkat, öğrenme ve bellek işlevlerinde rolü olduğu düşünülen NE'nin beyin gelişiminde Ach ile birlikte özellikle duyuşal kortikal bölgelerde deneyim bağımlı plastisiteden sorumlu olduğu öne sürülmektedir (Manunta ve Edeline, 2004). Sonuç olarak; noradrenalin sisteminin temel işlevi, çok geniş bir fizyolojik etki yelpazesi olmasına rağmen yine de duygudurumun özelliklerinin düzenlenmesidir. Bu nedenle bu nörotransmitterin eksikliği veya noradrenerjik sistemin fonksiyonlarının azalması birçok patolojik sonucu beraberinde getirir. Ancak bu patolojik sonuçların ortaya çıkmasında noradrenalin sisteminin diğere önemli nöral taşıyıcı sistemleriyle (örn; serotonin ve dopamin) etkileşim içinde işlev gördüğü unutulmamalıdır (Leonard 1997; Delgado ve Moreno 2000).

### **2.4.3. Adrenalin**

Epinefrin, norepinefrinden sentezlenir, birincil olarak da adrenal medullada bulunur. Fizyolojik ve psikolojik strese yanıt olarak salgılanır Epinefrin içeren nöronlar lateral tegmental alanda noradrenerjik nöronlarla birlikte ve dorsal medullada bulunur. Lokus seruleus, mezensefalon ve hipotalamusa projekte olur. Lokus seruleus nukleus traktus solitarideki epinefrin içeren nöronlar kan basıncının kontrolünde önemli rol oynarlar (Ganong, 2005).

## **2.5. Stereolojik Analiz**

### **2.5.1. Stereoloji**

Yapıların iki boyutlu görüntülerinden, onların üç boyutlu özellikleri hakkında fikir edinilmesini sağlayan bilim dalına stereoloji denir (Baddeley and Jensen, 2004). Disektör sayım metodu; uzunluk, genişlik, yükseklik gibi üç boyuta sahip biyolojik yapıların özelliklerini göz önünde bulundurarak bize sayısal veriler verebilmektedir. Sayısal veriler yapı ve fonksiyon arasında ki ilişkiyi değerlendirmek için çok önemlidir. Hacim, yüzey alanı, sayı, uzunluk gibi morfolojik değerler; biyolojik materyelden yola



çıkarak yapının bütününün daha iyi anlaşılmasını sağlar. Bu verilerden yola çıkarak biyolojik yapının fonksiyonu hakkında fikir yürütülebilir. Morfometrik değerlerden biri olan sayı parametresi boyutsuz olduğundan, iki boyutlu kesit düzlemlerinde doğru olarak değerlendirilemez (West ve ark., 1991).

### **2.5.2. Optik Parçalama**

Parçalama yönteminin temeli, bir yapıyı küçük parçalara ayırmak ve bu parçalarda tanecik sayımı yapmaya dayanır. Öncelikle çalışılacak organ sistematik biçimde daha küçük parçalara ayrılır. Bu bölme işleminden sonra sistematik ve rastgele biçimde parçalardan bir kısmı sayım yapılmak üzere seçilir. Örneklenen dokunun bütün biyolojik yapı üzerinde temsil ettiği oran bilinmelidir. (Gundersen, 1991). Daha sonra doku histolojik kesitlere ayrılır ve bunların arasından da sistematik rastgele örnekleme yapılır. (Sterio, 1984) Disektör yöntemine uygun olarak histolojik kesitlerde tanecik sayımı tamamlanır. Örnekleme oranları ile örneklenen kesitlerde ki toplam tanecik sayımının çarpımı; biyolojik yapının tamamında ki tanecik sayısına ulaşmamızı sağlar.

Optik parçalama; tanecik olarak belirlediğimiz, sayımı yapılacak olan yapı karmaşık biçimde yerleşmiş ve tam olarak çevre dokulardan ayrılamayan farklı yönelimlere sahip olsada bu tip sorunların üstesinden gelerek bize sayısal değer verir. Kalın kesit içerisinde; mikroskopta odaklama yaparak optik olarak ilerlenir. Bu işlem sanal kesitler almamızı sağlar. Bu kesitler üzerinde partikül sayımı, sayım çerçevesi kullanılarak yapılır. Sayım çerçevesinin büyüklüğü pilot çalışma sırasında optik odaklama yapılarak ilerlenen sondaj boyunca 1 veya 2 partükül sayılacak şekilde de ayarlanır (West ve ark. 1991).

Tanecik hesaplanacak organ, oranı bilinen parçalar şeklinde örneklenir. Bu örneklerin kesitlerinden yapılan tanecik sayımı sonuçları eldeki organ parçalarının parçalanma katsayıları ile çarpılarak yapının içerdiği toplam tanecik sayısı hesaplanmış olur. Bulunan değer; gerçek sayı olmayıp, bir hesaplama değildir. Organın bütünü eşit ihtimallerle örneklenir. Örnekleme sayısı artırıldıkça hedeflenen gerçek sayıya daha çok yaklaşılmaktadır (Schmitz, 1998).

Akut subdural hematomlar sık karşılaşılan morbiditesi ve mortalitesi en yüksek sinir sistemi hastalıklarındandır. Bu hastalık subdural venlerden doku içerisine kan sızması ile karakterizedir. Literatürde akut subdural hamatomun neden olduğu iskemik beyin hasarlarına ilişkin birçok çalışma bulunmaktadır (Miller et al., 1990; Duhaime et

al., 1993). Bu çalışmalarda akut subdural hematoma maruz kalan kişilerde bilişsel, kognitif ve hafıza ile ilgili durumun tedavisinde bazı nöroleptiklerin kullanılabileceği düşünülmüştür (Duhaim ve ark., 1996). ASDH' lu Hastalar gerek beyinde meydana gelen hasarın tedavisi gerekse yaşadıkları şiddetli baş ağrısı nedeniyle birçok ilaç kullanırlar. Genellikle şiddetli kafa travmaları neticesinde gelişen subdural hematomlar, tüm kafa travmaları içerisinde en ölümcül olanlarındandır. Artan trafik kazaları ile ASDH görülme sıklığı da artarak insan hayatını tehdit eden nedenler arasında yükselmektedir. Kanama hemen beyini doldurur ve beyin dokusuna basınç yapar. Akut subdural hematomlarda en büyük problem kanamanın beyne yaptığı baskı olup, bu hastalarda ölüm ve sakat kalma riski yüksektir. Doğrudan travmaya bağlı zedelenmeler olabileceği gibi travmaya sekonder (örn: beyin ödemi,) patolojilerde görülebilir. ASDH sonrasında gelişen baş ağrısının tedavisindeki seçeneklerden biri olan diklofenak sodyum'un toksisitesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Diklofenak sodyum'un MSS' nin gelişimini etkilediği gösterilmiştir. Diklofenak sodyum nöral kök hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını inhibe etmektedir (Kudo ve ark., 2003). Prenatal dönemde diklofenak sodyum uygulanması sonucu 20 haftalık sıçanların omuriliklerindeki nöron sayılarında kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir (Ozyurt B ve ark., 2011). Yine prenatal dönemde diklofenak sodyum uygulanmış 4 haftalık sıçanlar üzerinde elektron mikroskobu ile yapılan analizlerde belirgin düzeyde miyelin kılıf bozulmaları ile siyatik sinir akson sayısında kontrol grubuna oranla azalma gösterilmiştir (Canan ve ark. 2008). Litaratürde, diklofenak sodyum kullanılmış ve sinir sistemindeki etkileri araştırılmıştır. Fakat, DS'nin ASDH'li hemisfer hipokampusu üzerinde oluşturması muhtemel etkilere dair litaratürde araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu araştırmada; ASDH sonrasında meydana gelen beyin hasarına spesifik deneysel hayvan modeli seçilmiştir. ASDH sonucunda ve ASDH'li DS ile tedavi edilmiş deneklerde gelişen olası hücresel patolojileri ortaya koymak ve travmaya sekonder gelişen metabolik değişikliklerden plazmaya yansıyan ve önemli nörotransmitterlerden olan serotonin ve katekolamin düzeylerinin tespiti amaçlanmaktadır. Böylece bu çalışma ASDH oluşturulup DS verilerek hipokampus üzerinde meydana gelebilecek olası etkilerin araştırılması ve bu deneysel durumun plazmaya yansımaları bakımından ilk olacaktır. Ayrıca, bu çalışmadan elde edilen bulgular; diklofenak sodyum tedavisinin, limbik sistemde önemli rolü

bulunan hipokampusta oluşturabileceği muhtemel histolojik değişikliklere de ışık tutacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışmada akut subdural hematom kaynaklı olası hipokampus hasarının ve anti-enflamatuar analjezik bir ilaç olan DS' un bu durum üzerine etkilerinin histopatolojik, stereolojik ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır. Böylece araştırma sonuçlarımız literatürde henüz rastlanmayan DS' un akut subdural hematom kaynaklı hipokampus hasarı üzerine etkilerinin değerlendirilmesine yönelik çalışmalara önemli derecede katkılar sağlayacağı düşünölmektedir.

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Ondokuz Mayıs Üniversitesi etik kurulundan izin alınmıştır (02.11.2011 tarih ve 2011/61 karar). Ondokuz Mayıs Üniversitesi deney hayvanları araştırma laboratuvarında çalışma yapılmıştır. Çalışmada 300-350 gr ağırlığında 24 adet *Sprague dawley* cinsi erkek sıçan kullanıldı. Tüm denekler 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklusunda, standart laboratuvar koşullarında tutuldu ve standart yem ile beslendi. Deneylere başlamadan önce laboratuvarında kullanılacak olan tüm malzemeler steril edildi. Hayvanlar gruplara ayrıldı, her hayvana ayrı numara verilerek etiketlendi.

Hayvanlar dört gruba ayrıldı:

**Grup 1.** Sağlıklı deneklerden oluşan kontrol grubu (KG) (n=6)

**Grup 2.** Yalnızca açma kapama işlemi uygulanan sham grubu (SG) (n=6)

**Grup 3.** Unilateral subdural hematoma oluşturulan deney grubu (NTG) (n=6)

**Grup 4.** Unilateral subdural hematoma + DS uygulanan tedavi grubu (TG) (n=6)

#### 3.1. Preoperatif Kan Alınması

ASDH oluşturmak üzere yapılacak operasyondan 7 gün önce gruplara ayrılan ve numarandırılmış deneklerin kuyrukları Polivinilpirolidon iyod ile temizlendi. Kuyruk veninden 1ml kan numunesi alınarak santrifüj edildi.

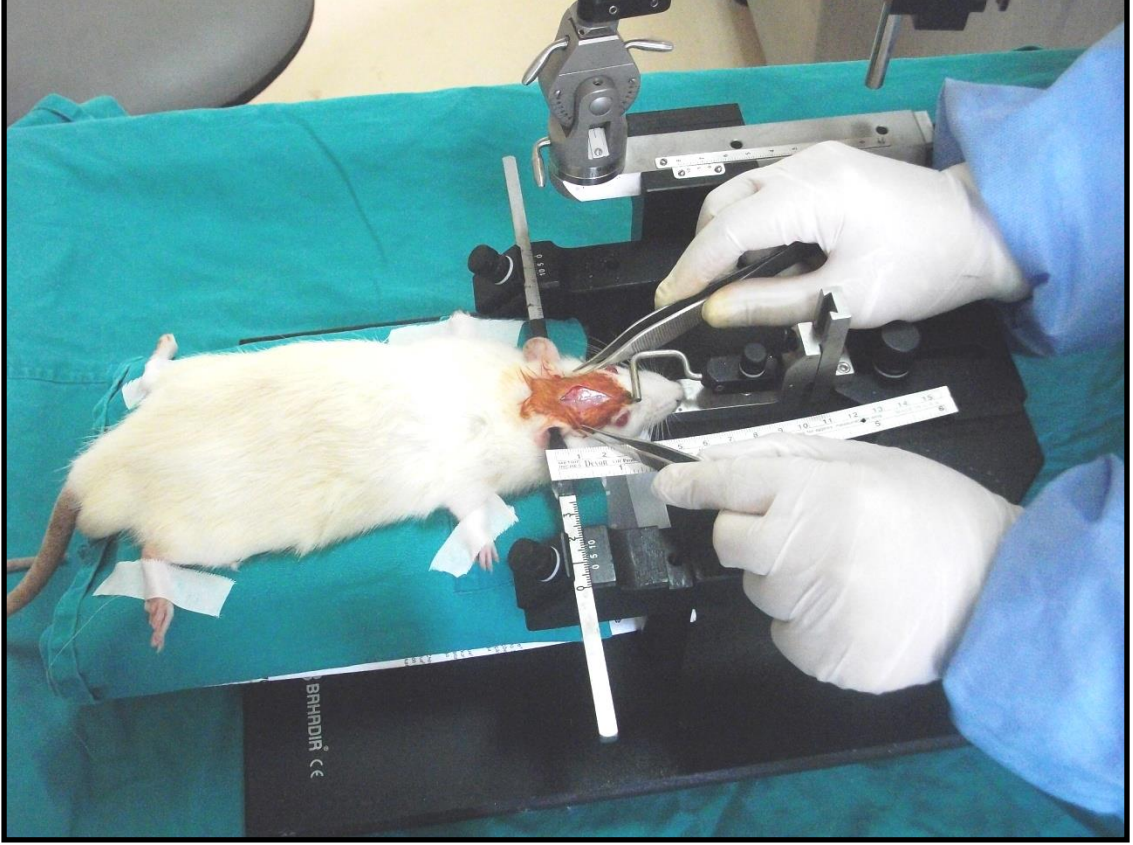
#### 3.2. Anestezi

Denekler bir gece önceden aç bırakıldı. 50 mg/kg Ketamin hidroklorid (Ketalar ampul, Eczacıbaşı), 10 mg/kg xylazine (Rompun ampul, Bayer) karışımı genel anestezi için, intraperitoneal enjeksiyon yoluyla uygulandı. Denekler spontan solunuma bırakıldı. Anesteziye, deney sırasında ağrıya yanıtı olmayacak şekilde devam edildi. Deney sırasında deneklerin altına battaniye yerleştirildi. Rektal termometre ile vücut ısıları kontrol edilerek, 37°C 'de sabit kalması sağlandı.

#### 3.3. Akut Subdural Hematom Oluşturulması

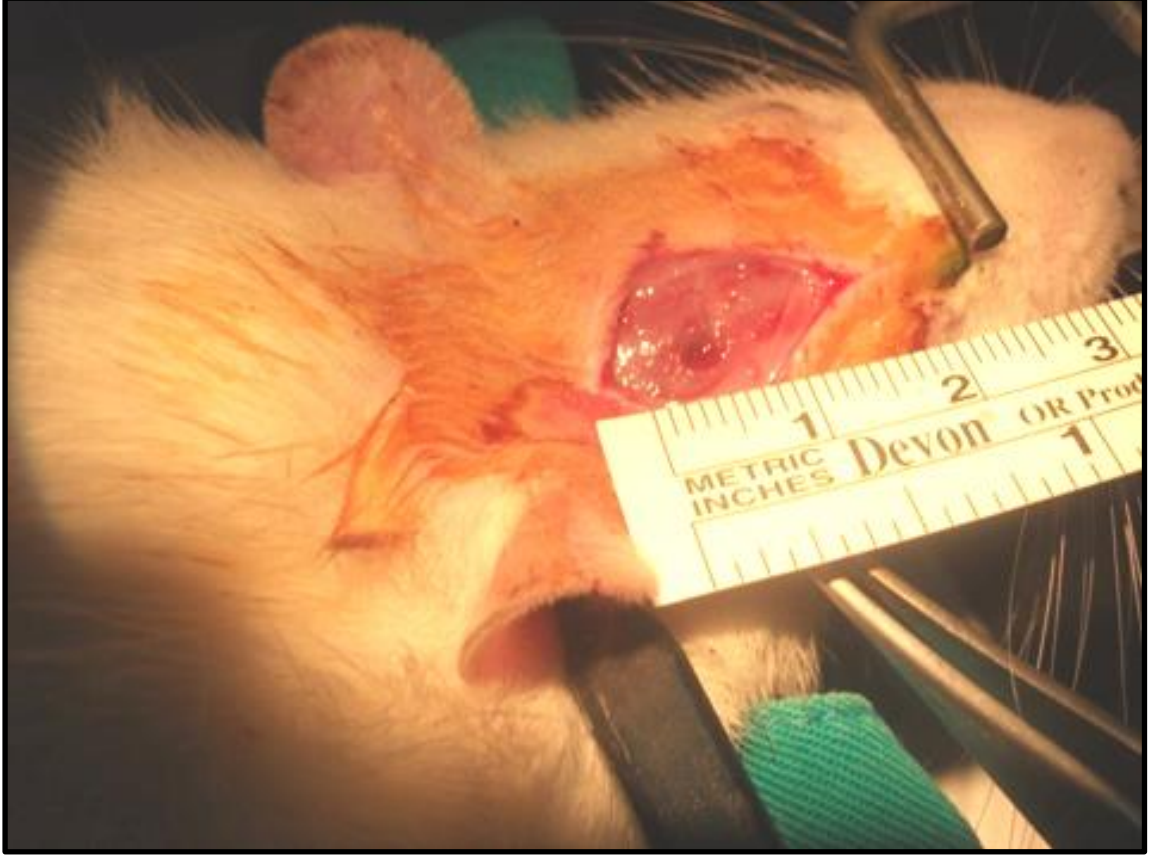
Deneklerde anestezi sağlandıktan sonra, ağırlı uyarılara yanıtı kontrol edildi. Deneklerin baş kısmı traş edilip, prone pozisyonda stereotaxy cihazına yerleştirildi.

Polivinilpirolidon iyod ile cilt antisepsisi sağlandı. Sagital d¼zlemde, orta hat boyunca 2 cm uzunluğunda cilt ve cilt altı insize edildi (Şek. 8 ).



Şek. 8. Sagital d¼zlemde orta hat d¼z insizyonu g¼sterilmektedir.

Sagital sutur lateralinden 2 mm, koranal sütur posteriornden 1 mm uzaklıkta, çapı 3 mm olan bir delik mikrodirel ile açıldı (Şek. 9).



Şek. 9. Mikrodirel ile açılan delik gösterilmektedir

Sıçanın kuyruk veninden nonheparinize 0,1 ml kan alındı (Şek. 10).



Şek. 10. Kuyruk veninden venöz kan örneğinin alınması görülmektedir.

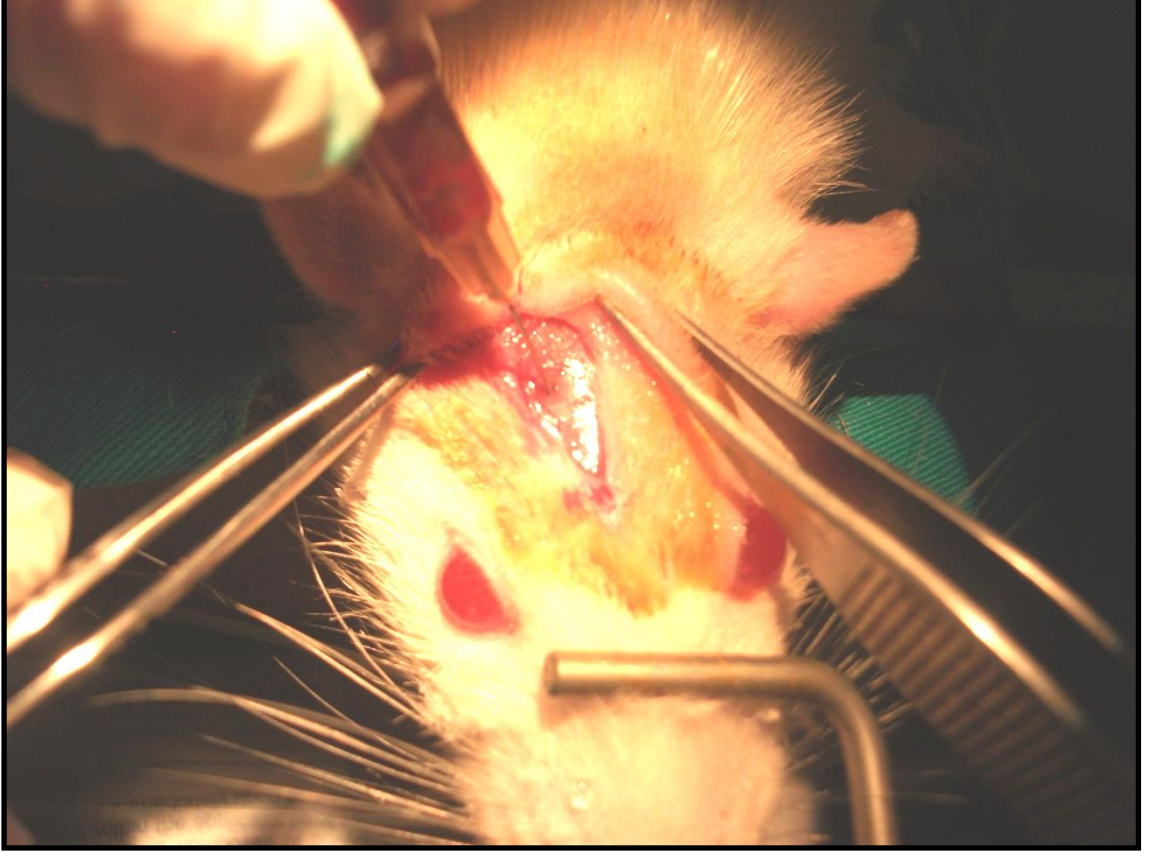
Dura altına (30 gauge), 'J' şeklinde iğne ucu yerleştirildi (Şek. 11) .



**Şek. 11.** Duranın altına 'J' şeklinde iğne ucunun (30 gauge) yerleştirilmesi işlemi görülmektedir.

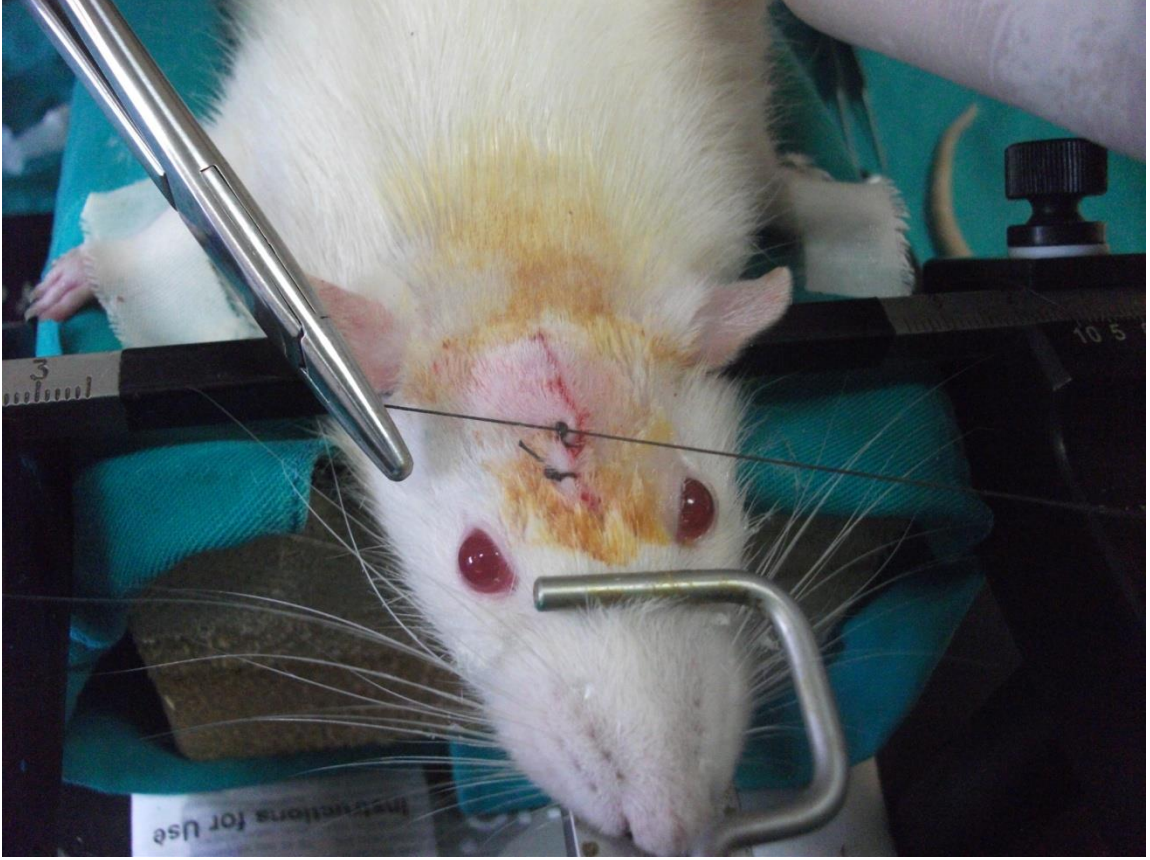


Cerrahi mikroskop eşliğinde ratın kendi kanı 0,1 ml subdural mesafeye 0,05ml /dk hızında yavaşça verildi (Şek. 12).



**Şek. 12.** Subdural otolog kan enjeksiyonu görülmektedir.

Ardından ipek sütur ile scalp onarımı yapıldı (ek. 13) .



**ek. 13.** Cerrahi işlemlerin tamamlanmasının ardından skalpın sütüre edilerek kapatılışını göstermektedir.

Anestezinin etkisi geçtikden sonra, denekler hareket etmeye başlayınca kafeslere alınarak normal ışık ve karanlık siklusu ile ( $21 \pm 2$  °C (derecede) takibe alındı. Yem ve su gerektiği kadar verildi ( Sasaki and Dunn, 2001).

#### **3.4. Diklofenak sodyum'un intramuskuler uygulanması**

Operasyonun yapıldığı gün birinci gün olarak kabul edildi. Postoperatif ikinci saatte tedavi grubuna (Grup 4) DS 15 mg /kg intramuskuler olarak başlandı. İlaçlar 7 gün boyunca aynı dozda aynı saatte intramuskuler olarak uygulanmaya devam edildi. Subdural hematoma oluşturulan deney modelleri 7 gün süreyle beslenip takip edildi. Denekler sakrifiye edilene kadar insizyon yerlerine günlük olarak polivinilpirolidon iyod ile pansuman yapıldı.

### 3.5. Postoperatif kan alınması

ASDH oluşturmak için yapılan operasyondan 7 gün sonra (postoperatif 8. gün) Deneklerin kalplerinden 1 ml intrakardiyak kan EDTA'lı tüpler içerisine alınarak santrifüj edildi. Elde edilen plazma örneklerinde serotonin, adrenalin, noradrenalin düzeyleri incelendi.

### 3.6. Plazma serotonin, epinefrin ve norepinefrin düzeyi ölçümleri

ASDH oluşturulmak üzere cerrahi müdahale yapılan sıçanların; preoperatif ve postoperatif alınan kanları santrifüj edilerek plazması ayrıldı. Aynı işlem kontrol grubunda (Grup 1) bulunan hayvanlara 7 gün ara ile kuyruk veninden kan alınarak uygulandı ve alınan tüm plazma numunelerinde serotonin, epinefrin, norepinefrin çalışıldı. Çalışma prosedürünün basamakları aşağıda verilmiştir:

Çalışma süresi	: 20 dakika
Dedektör	: florasan
Ex	: 285nm
Em	: 344nm
Enjeksiyon miktarı	: 50ul
Akış miktarı	: 1,2ml

#### 3.6.1. Serotonin test solüsyonu hazırlama

900ul distile suya, 100ul reagent c eklendi. 300ug/l test solüsyonu hazırlandı. 10sn vortexlendi. 50ul enjeksiyon yapıldı.

#### 3.6.2. Numune hazırlama

**Tablo 2:** Plazma serotonin düzeyi ölçümü için test solüsyonu hazırlama prosedürü

İçerik	Blank	Kalibratör	Numune
Distile su	200ul		
Reagent d		200ul	
Numune			200ul
Reagent a	400ul	400	400

Yukarıdaki Tablo 2’de gösterilen miktarlarda hazırlanan numuneler 10 sn vortexlendi. Beşbin devirde 5dk boyunca santrifüj edildi. Ayrılan süpernatandan 200ul alındı, 200ul reagent eklendi, 10sn vortexlendi ve 50ul enjeksiyon yapıldı.

### 3.7. Plazma katekolamin düzeyi ölçümleri

Kontrol grubu kan örnekleri ile preoperatif ve postoperatif alınan kan örneklerinden elde edilen plazma numunelerinde norepinefrin ve epinefrin çalışıldı. Çalışma prosedürünün basamakları aşağıda verilmiştir:

Çalışma süresi	: 20 dakika
Dedektör	: florasan
Ex	: 360nm
Em	: 490nm
Enjeksiyon miktarı	: 100ul
Akış miktarı	: 1,2ml

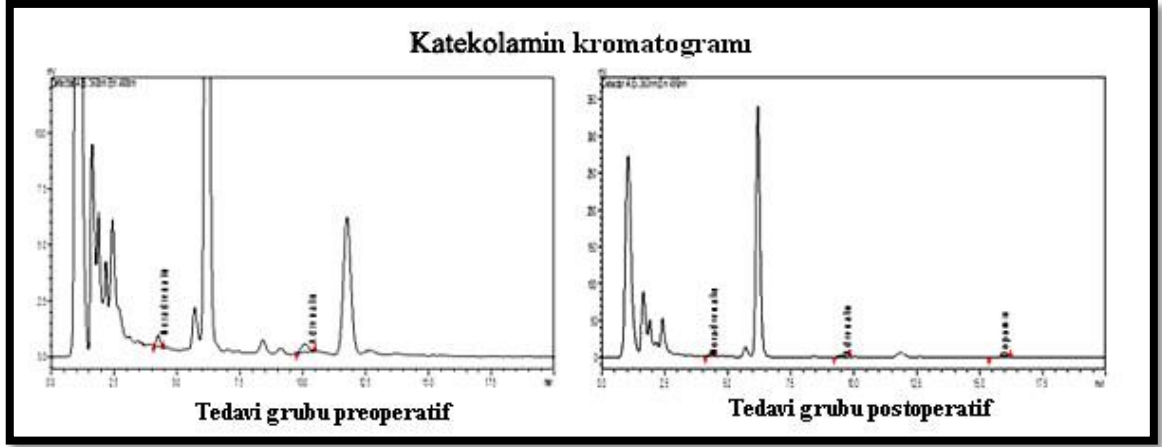
#### 3.7.1. Katekolamin test solüsyonu hazırlama

**Tablo 3:** Plazma katekolamin düzeyi ölçümü için test solüsyonu hazırlama prosedürü

İçerik	Kalibratör	Numune	Kontrol
Reagent d	1400	1400	1400
Reagent p	600		
Numune		600	
Kontrol			600
Reagent ı (1:10distile su ile dilüe edildi)	100	100	100

200 µl of reagent f ‘ye; 20 µl of reagent g, 20 µl of reagent ı – (1:10 distile su ile dilüe edilmiş ), 20 µl of reagent j, 20 µl of reagent l eklendi. 70 derecede 15dk





Şek. 14. B Tedavi grubuna ait pre- ve post operatif dönemde elde edilen katekolamin düzeylerini gösteren örnek kromatogramlar görülmektedir.

### 3.8. Perfüzyon fiksasyon işlemi

Deneklerin göğüs boşluğu 50 mg/kg Ketamin hidroklorid – 10 mg/kg xylazine anestezisi altında açıldı. Sol ventriküle yerleştirilen bir kelebek kanül vasıtası ile transkardiak yoldan heparinli serum fizyolojik solüsyonu verildi. Kalbe geri dönen sıvı, sağ atrium kesisi yapılarak boşaltıldı. Sol ventrikülden serum fizyolojik verilmesine, sağ atriyumdan berrak sıvı akıncaya kadar devam edildi. Ardından %10 luk tamponlu formaldehit ile tespit işlemi yapıldı. Sıçanın bacaklarında izlenen titremeler ve kasılmalar fiksasyon sıvısının ilgili yerlere ulaştığını gösterdi. Bu görünüm izleninceye kadar formaldehit infüzyonuna devam edildi. Yaklaşık 10 dakika kadar sonra hayvanın kaslarında formaldehit perfüzyonuna bağlı katılık meydana geldi (Şek. 15).



**Şek. 15.** Formaldehit ile perfüzyon- fiksasyon işlemi sonrası kas katılığının (bkz. Kuyruk konumu) görüldüğü bir denek izlenmektedir.

Formaldehit ile perfüzyon- fiksasyon işlemi sonrasında kraniyektomi yapıldı. Beyin dokusu bir bütün olarak çıkarıldı (Şek. 16). Etiketlenerek hazırlanmış %10 luk tamponlu formaldehit içeren kutulara konuldu. Daha sonra doku takip işlemleri ve stereolojik analizlere geçildi.



**Şek. 16.** Formaldehit ile perfüzyon-fiksasyon işleminin ardından çıkarılan beyin ve subdural hematoma alanı görülmektedir.

### **3.9. Histolojik takip**

Elde edilen beyin dokuları % 10' luk tamponlu formaldehit solüsyonunda 10 gün bekletildi. Takiben doku örnekleri ışık mikroskopik doku takibi prosedürüne tabi tutuldu ve taze paraplast içerisinde bloklandı. Elde edilen bloklardan mikrotom aracılığıyla (Leica RT 2255, Nussloch; Germany) histolojik incelemeler için 5 ve stereolojik incelemeler için 20 mikron kalınlığında 1/6 oranında sistematik rastgele örnekleme yapılarak kesitler alındı. Kesitler jelâtinli sıcak su banyosuna konularak



açılmaları sağlandı ve lamlara alınan kesitler iyice kuruduktan sonra Cresyl Fast Violet boyama işlemine geçildi (Bancroft and Stevens 1982). Yapılan işlemler aşağıda detaylı olarak sunulmuştur:

### **3.9.1. Işık mikroskobu doku takip protokolü**

- 1) Akarsuda yıkama: Dokular çeşme suyunda 20 saat boyunca yıkandı.
- 2) Daha sonra dehidratasyon işlemi için alkol serilerinden geçirildi. Bu amaçla dokular ;

%70'lik Alkolde 1 saat bekletildi.

%80'lik Alkolde 1 gece bekletildi.

%96'lık Alkolde 1 saat (2 kez değişim ile),

%100, Alkolde 1 saat (2 kez değişim ile), bekletildi.

3) Dehidratasyon işleminin ardından ksilen serileri ile şeffaflaştırma işlemine geçildi. Bu amaçla dokular; Ksilol I, Ksilol II ve Ksilol III' de 10' ar dakika bekletildi.

4) Daha sonra 3 ayrı paraplast banyosunda 2'şer saat (60<sup>0</sup>C'deki etüvde) bekletildi. Paraplast III beyin hemisferleri ayrı ayrı parafin kalıplara konuldu ve bu kalıplarda doku blokları hazırlandı.

### **3.9.2. Kesit alma**

Sağ beyin hemisferi içeren parafin bloklardan stereolojik analiz için 1/6 oranında sistematik rastgele örneklenmiş 20 mikron kalınlığında kalın kesitler alındı. Histolojik incelemeler için ise 5 mikron kalınlığında ince kesitler 1/18 oranında örneklendi. Alınan kesitler jelâtinli sıcak su banyosuna konularak açılmaları sağlandı ve lamlara alındı. Kesitlerin kuruması beklendi. Etüvde bekletilen lamların parafinlerinin erimesi sağlandı. Boyama işlemine geçildi.

### **3.9.3. Kesitlerin Cresyl Violet ile boyanması**

100ml distile suya; 0,1 gr cresyl violet katılarak Cresyl Fast Violet boyası hazırlandı. Etüve konularak bekletildi. Daha sonra boyama işlemlerine geçilerek aşağıda detayı verilen boyama prosedürü uygulandı:

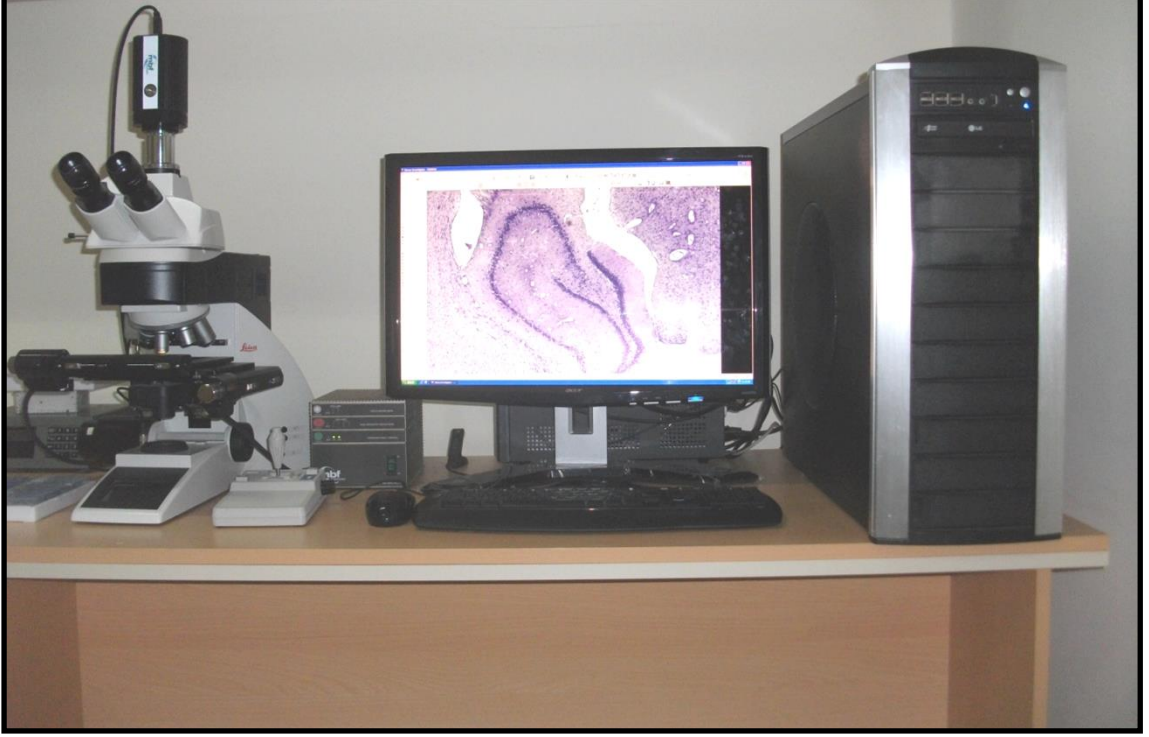
1. Ksilol içerisinde (4x30 dakika) bekletildi.
2. %100'lük alkol içerisinde (2x10 dakika) bekletildi.
3. %96'lık alkol içerisinde (2x5 dakika) bekletildi.
4. %80'lik Alkolde (10 dakika) bekletildi.
5. Kesitler ditile suda (10 dakika) bekletildi.
6. Cresyl Fast Violet boyası içerisinde (4 dakika) bekletildi. Preparatlar yerleştirilmeden önce etüvdeki boya karıştırıldı)
7. Distile su içerisinde (2 dakika) bekletildi.
8. % 70 alkol içerisinde (5 dakika) bekletildi.
9. % 80 alkol içerisinde (5 dakika) bekletildi.
10. % 96 alkol içerisinde (5 dakika) bekletildi.
11. Ayırıştırma solüsyonu içerisinde (7 dakika) bekletildi (500ml %96 alkol + 10 damla glasiyal asetik asit).
12. % 96 alkol içerisinde (5 dakika) bekletildi.
13. % 100 alkol içerisinde (10 dakika) bekletildi.
14. Ksilol serilerinde (3x20 dakika) bekletildi.
15. Son olarak hazırlanan kesitler entellan ile kapatıldı.

### **3.10. Stereolojik işlemler ve kesit örnekleme işlemi**

Stereolojik metotlardan birisi olan optik parçalama tekniği kullanarak mikroskopik kesitlerdeki hipokampusda bulunan toplam nöron sayısı hesaplandı. Parçalama prensibini uygun olarak sağ beyin hemisferi 1/6 oranında sistematik rastgele olarak örneklendi. Örnekleme yapılırken uygun bir hata katsayı değerinin (0,05 veya daha az) elde edilmesi için işlemler bu kural dikkate alınarak gerçekleştirildi (Gundersen ve Jensen 1987). İlk kesit rasgelelik prensibi gereği 1.-6. kesitler arasından rasgele, diğer kesitler ise başlangıçta seçilen kesit üzerine 5 kesit atlanıp 6. kesitin alınmasıyla gerçekleştirildi. Paraplasta gömülü sağ beyin hemisferlerinden oluşan doku bloklarından önden mikrotom yardımıyla; sagittal doğrultuda 20 mikron kalınlığında kesitler tamamlandı.

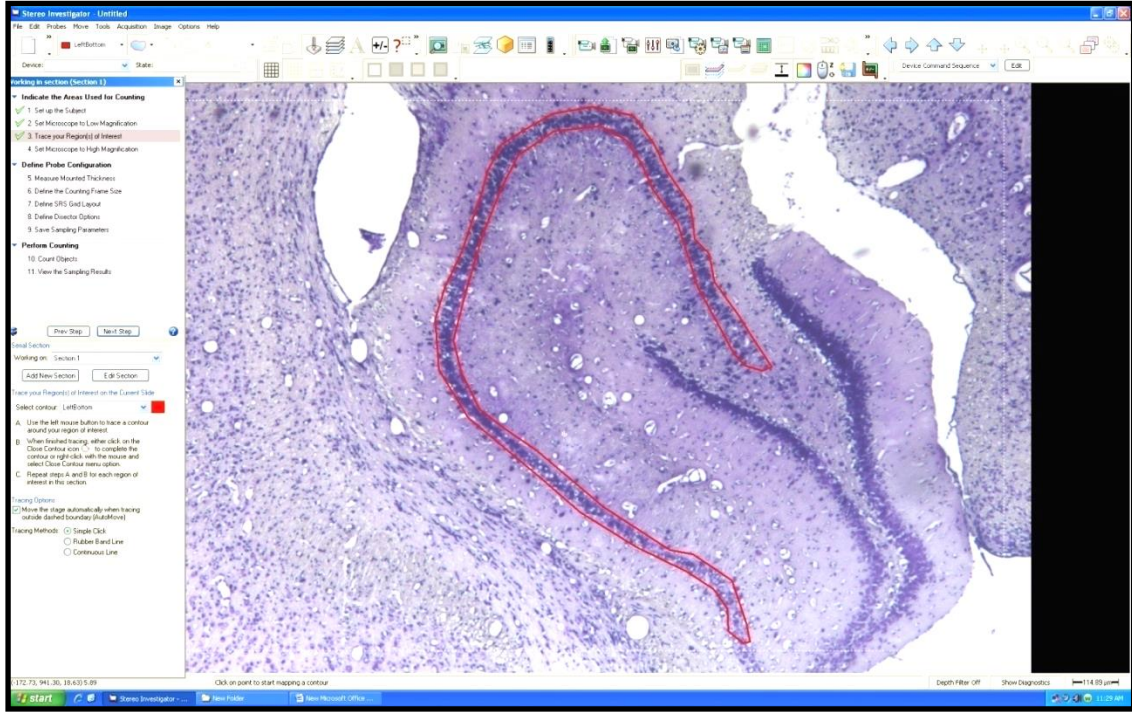
### 3.10.1. Kesitler üzerinde sayım hesaplaması

Çalışmada, nöron sayısı hesaplaması için özel bir yazılıma sahip bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi (Stereoinvestigator 9.0., MicroBriedField; Colchester; USA) kullanıldı (Şek. 17).



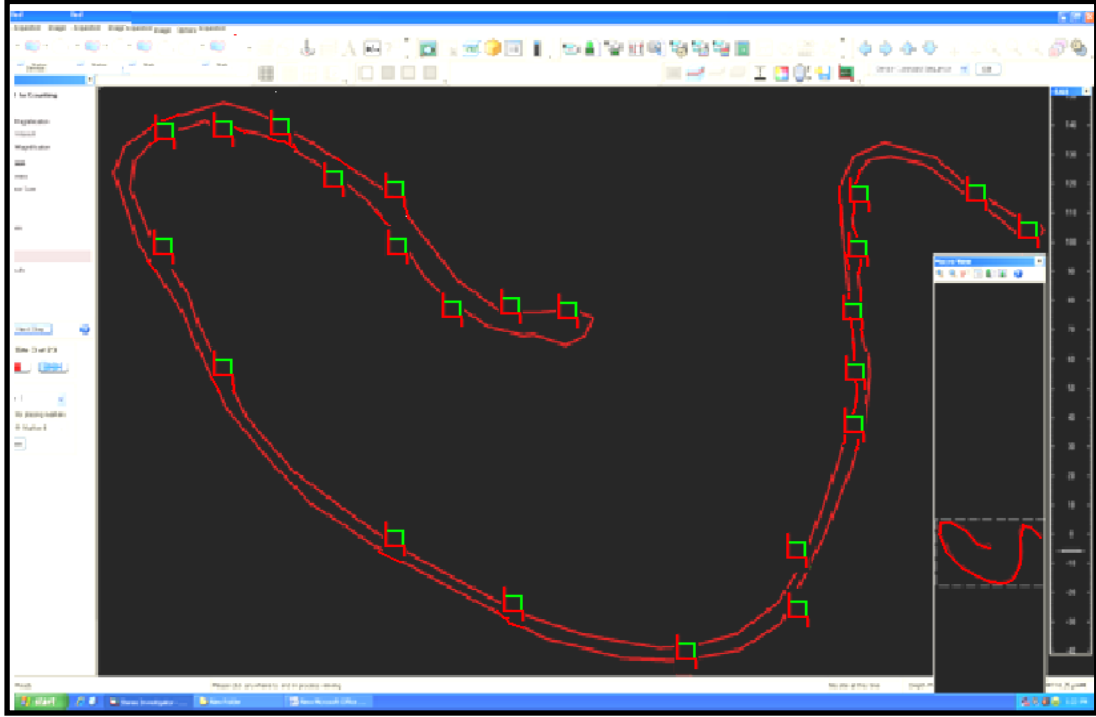
Şek. 17. Bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi görülmektedir.

Bu sistem kameralı bir mikroskop, mikroskop tablasını hareket ettiren motorize sistem ve bunların kullanımı kontrol eden yazılımı barındıran bir bilgisayardan oluşmaktadır. Kesitler, mikroskop tablasına yerleştirdikten sonra üzerinde ölçüm yapacağımız hipokampus alanının dış hatları program yardımıyla çizilerek belirlendi (Şek. 18).



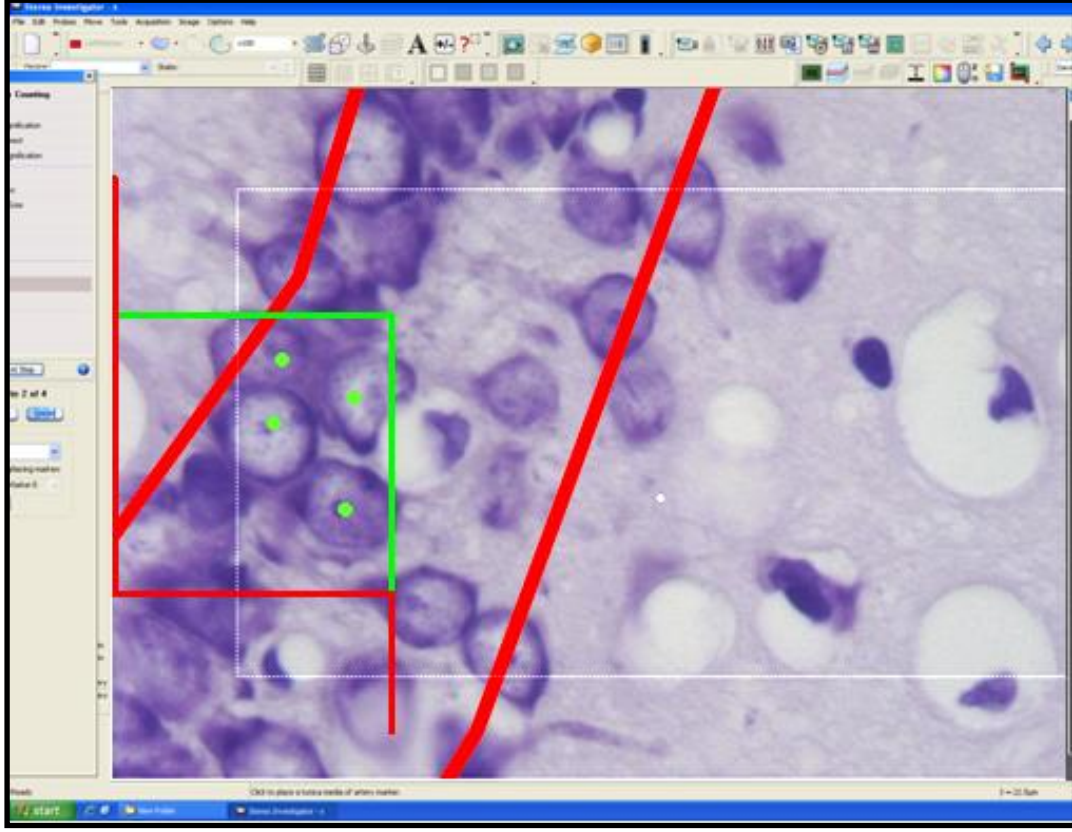
**Şek. 18.** Stereolojik olarak değerlendirilecek alanın dış hatlarının program yardımıyla çizildiği hipokampus mikroskopik görüntüsü izlenmektedir.

Ölçüm yapılacak alanlar belirlendikten sonra, optik parçalama metodu ile birbirinden eşit aralıklarla ayrılmış olan optik disektör sondaları rastgele bir açıyla bilgisayarda (kullanılan yazılım bu imkânı sağlamaktadır) kesit üzerine yerleştirildi (Şek. 19).



**Şek. 19.** Optik disektör sondalarının kesit izdüşümü üzerine sistematik rasgele olarak (SRÖ ile) yerleşimi görülmektedir.

Çalışmamızda kullanılan optik disektörlerin büyüklüğü ve optik parçalamada belirlenen adım aralıkları uygun bir hata katsayısı değerine göre belirlendi (Gundersen ve Jensen 1987). Sonraki aşamalarda, beyin kesitleri üzerindeki optik disektör sondalarının içine ya da sayılabilir kenarlarına denk gelen nöronlar uygun marker ile işaretlenerek sayıma dâhil edildi (Şek. 20).



**Şek. 20.** Nöronların uygun marker ile işaretlenerek sayımı görülmektedir.

Belirli bir hacime sahip olan optik disektör sondası (tarafsız sayım çerçevesi) içine düşen noktalar işaretlendikten sonra, aşağıda ifade edilen formül yardımıyla kesitlerdeki toplam nöron sayısı çalışma boyunca kullanılan örnekleme oranları da dikkate alınarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$N = \frac{1}{a.ö.p} \cdot \frac{1}{k.ö.p} \cdot \frac{1}{k.a.ö.p} \cdot \sum Q$$

Formülde; a.ö.p: Alan örnekleme payı, k.ö.p: Kesit örnekleme payı, k.a.ö.p: Kalınlık örnekleme payı, Q : Sayılan tanecik miktarı, N= Hesaplanan toplam tanecik sayısını göstermektedir.

### **3.11. Kesitlerin histolojik olarak değerlendirilmesi**

İncelemeye hazır hale gelen 5 µm kalınlığındaki kesitler Leica DM 7000 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) marka kamera ataçmanlı ışık mikroskobu altında

incelenerek ilgili tüm gruplara ait fotoğraflar çekildi. Elde edilen fotoğraflar histopatolojik açıdan değerlendirildi.

### **3.12. İstatistiksel analiz**

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 15.0 yazılımı kullanıldı. Analiz öncesi normallik testi yapıldı. Normallik testi sonucu verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi. Veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA, Bonferonni Post-Hoc Test) testi ile analiz edildi. Tüm grupların karşılaştırılmasında  $\alpha=0.05$  değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Makroskobik bulgular:

Bu çalışmada 25 adet *Sprague-Dawley* cinsi erkek sıçan ASDH hayvan modeli oluşturmak için kullanılmıştır. Sakrafiye edildikten sonra beyin dikkatlice çıkarılmış ve subdural hematoma gözlemlenmiştir (Şek. 21; Şek. 22).



Şek. 21. ASDH sonrası lezyon lokalizasyonunda dura beyin dokusundan ayrıldı.



Şek. 22. Dura altında beyin dokusu. Siyah ok: Makroskobik ASDH şeklini göstermektedir.



#### 4.2.Stereolojik bulgular:

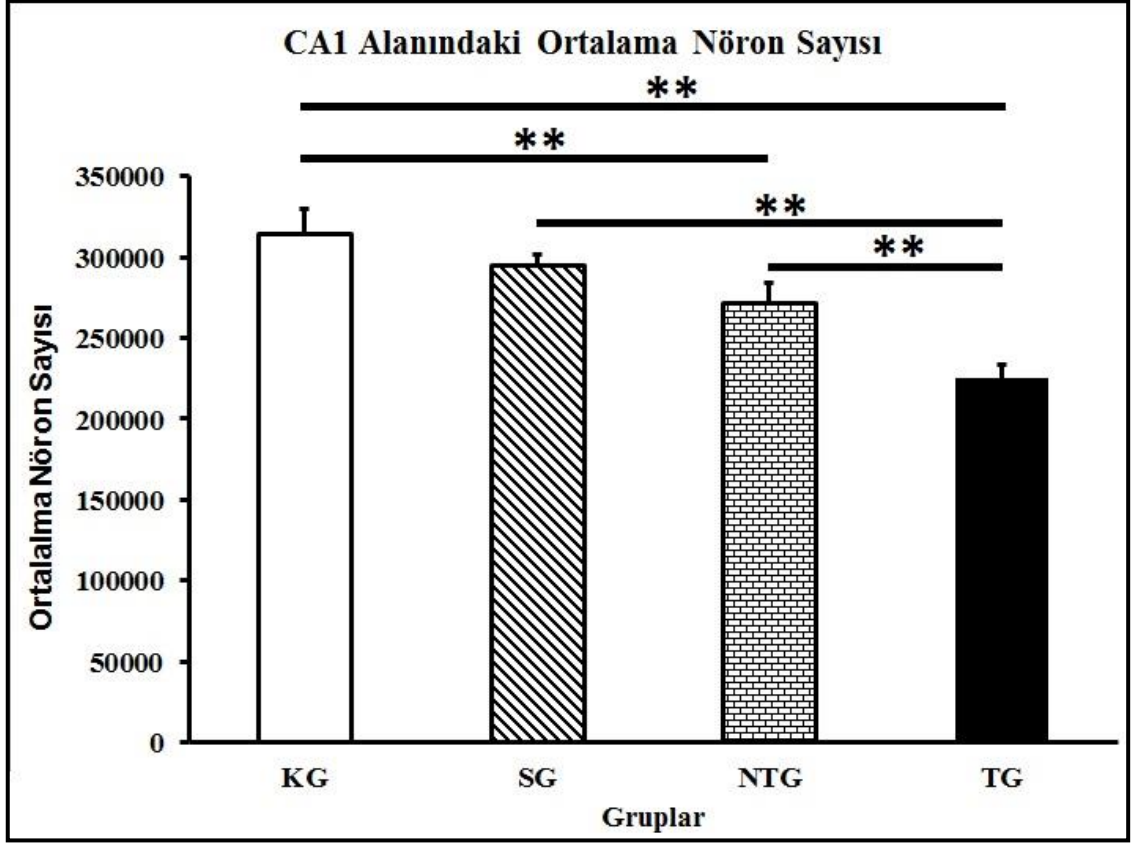
Çalışmamızda kullanılan tüm gruplardaki deneklerden çıkarılan hipokampus örnekleri üzerinde tarafsız stereolojik bir yöntem olan optik parçalama metodu ile CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde ayrı ayrı “ortalama nöron sayısı” hesaplanması yapıldı ve böylece hipokampustaki ortalama nöron sayısı değerlerine ulaşıldı. Sözü edilen stereolojik değerlendirme sonucu elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur.

##### 4.2.1. CA1 alanında elde edilen bulgular:

CA1 alanındaki ortalama nöron sayısı hesaplanması sonucu elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 4 ve Şek. 23).

**Tablo 4.** CA1 alanındaki nöron sayısı değerleri (KG, SG, NTG, TG’de denek başına hesaplanan nöron sayısı, ortalama ve SEM değerleri izlenmektedir. )

<b>GRUPLAR</b>				
	<b>KG</b>	<b>SG</b>	<b>NTG</b>	<b>TG</b>
<b>1</b>	301053,00	304824	264759	226523,00
<b>2</b>	287173,00	300055	249269	240476,00
<b>3</b>	341081	298849,00	271345	233426
<b>4</b>	333000	278739,00	305971	215621
<b>5</b>	310576	295617	272836	209762
<b>Ortalama</b>	314576,6	295616,8	272836	225161,6
<b>SEM</b>	14975,93	5625,933	11045	8313,4



**Şek. 23.** Tüm gruplarda CA1 alanında hesaplanan ortalama nöron sayısı değerleri ( $\pm$ SEM) izlenmektedir. \*\*, gruplar arasındaki  $p < 0.01$  düzeyindeki, anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

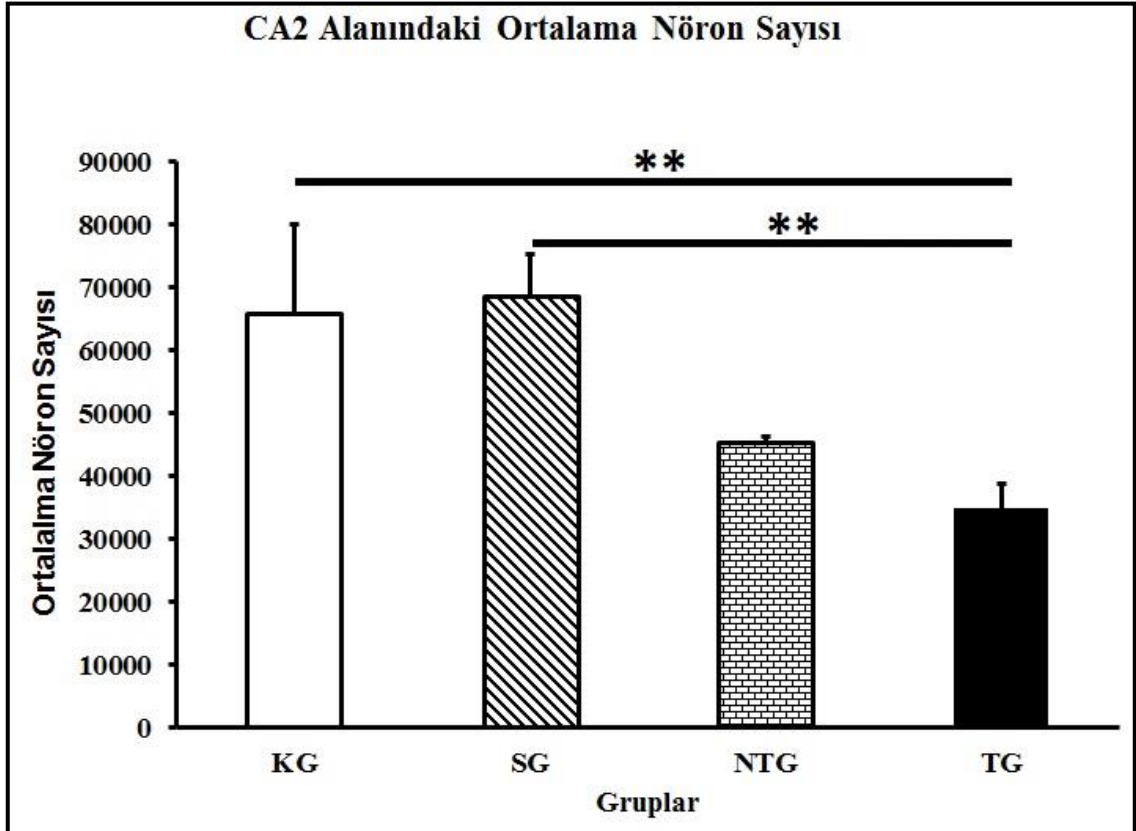
Gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede; tedavi grubunun (TG= Grup4) CA1 bölgesindeki ortalama nöron sayılarında, kontrol (KG= Grup1) ve sham (SG= Grup 2) grubunun ortalama nöron sayılarına göre çok anlamlı ölçüde azalma olduğu bulunmuştur. ( $p < 0,01$ ; One-way ANOVA). Ek olarak, bütün çalışma grupları ikiye ayrılarak birbiriyle kıyaslandığında ikili gruplar arasında fark: Tedavi grubunda ki (Grup 4) ortalama nöron sayıları, deney grubunda ki ortalama nöron sayılarına göre çok anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p < 0,01$ ; One-way ANOVA). Deney grubu ile sham grubu arasında anlamlı fark bulunmamaktadır ( $p = 0,317$ ; One-way ANOVA). Fakat deney grubu (NTG= Grup 3) ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır ( $p < 0,01$ ; One-way ANOVA) Ek olarak kontrol grubu (Grup 1) ile sham grubu (Grup 2) arasında da fark gözlenmemiştir ( $p = 0,6$ ; One-way ANOVA).

#### 4.2.2. CA2 alanında elde edilen bulgular:

CA2 alanındaki ortalama nöron sayısı değerlendirmesi sonucu elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 5 ve Şek. 24).

**Tablo 5.** CA2 alanındaki nöron sayısı değerleri (KG; SG; NTG; TG'nin denek başına hesaplanan nöron sayısı, ortalama ve SEM değerleri izlenmektedir.)

GRUPLAR				
	KG	SG	NTG	TG
1	84728	72343	43449	37149
2	48115	73101	47273	35008
3	40824	80780	44876	44156
4	89565	48979	46130	26489
5	65808	68801	45432	31701
<b>Ortalama</b>	65808	68800	45432	34900
<b>SEM</b>	14225,67	6607,27	846,33	3870,4



**Şek. 24.** Tüm gruplarda CA2 alanında hesaplanan ortalama nöron sayısı değerleri ((±SEM) izlenmektedir. \*\*, gruplar arasındaki  $p < 0.01$  düzeyindeki, anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

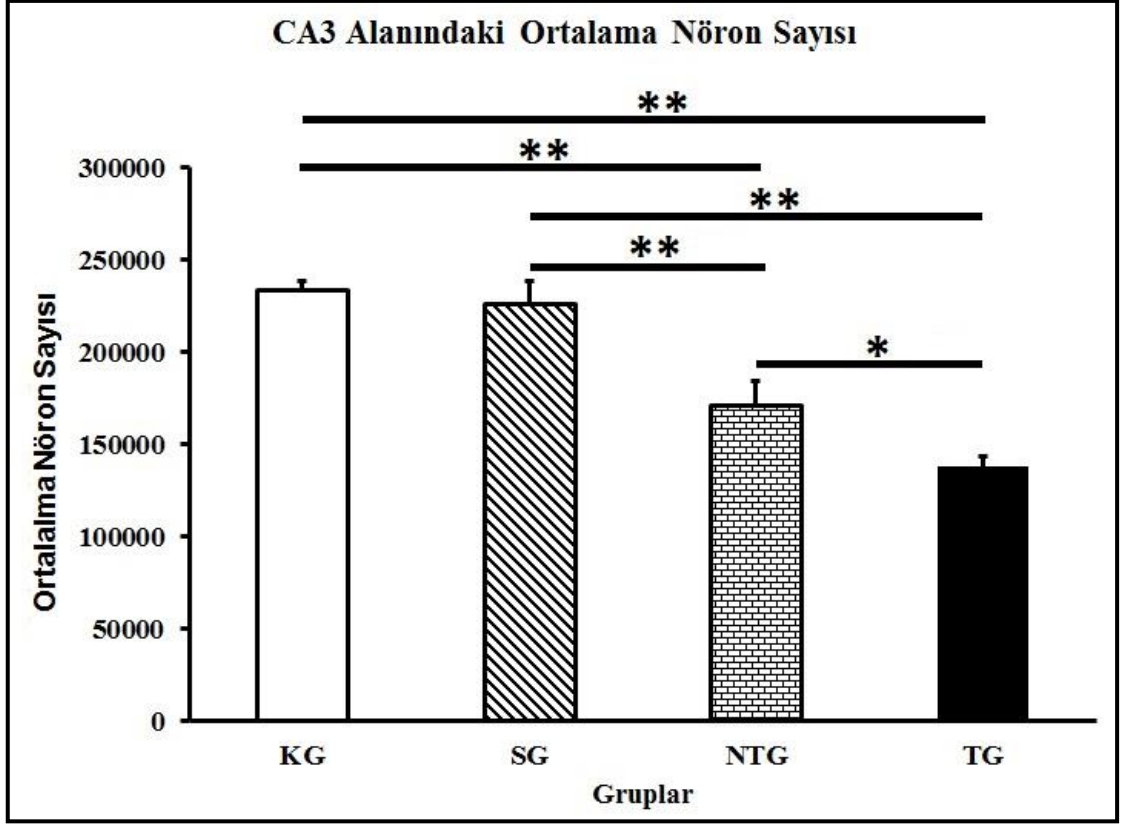
Gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede; tedavi grubunun (TG= Grup 4) CA2 bölgesindeki ortalama nörön sayılarında, kontrol (KG= Grup 1) ve sham (SG= Grup 2) grubunun ortalama nörön sayılarına göre çok anlamlı ölçüde azalma olduğu bulunmuştur ( $p < 0,01$ ; One-way ANOVA). Bütün çalışma grupları ikişerli olarak birbiriyle kıyaslandığında ikili gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir. Deney grubu (NTG) ile sham grubu (SG) CA2 bölgesinde ki ortalama nörön sayıları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p = 0,063$ ; One-way ANOVA).

#### 4.2.3. CA3 alanında elde edilen bulgular:

CA3 alanındaki ortalama nörön sayısı hesaplanması sonucu elde edilen bulgular aşığıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 6 ve Şek. 25).

**Tablo 6.** CA3 alanındaki nörön sayısı değerleri (KG; SG; NTG; TG'de denek başına hesaplanan nörön sayısı, ortalama ve SEM değerleri izlenmektedir. )

<b>GRUPLAR</b>				
	<b>KG</b>	<b>SG</b>	<b>NTG</b>	<b>TG</b>
<b>1</b>	196295	216603	136306	130550
<b>2</b>	229325	208103	189769	152917
<b>3</b>	188402	221043	188554	138076
<b>4</b>	171810	261272	174338	128264
<b>5</b>	202543	226755	172242	139952
<b>Ortalama</b>	197675	226755	172241	137951
<b>SEM</b>	12172,667	11505,6	11978,6	5696,5333



**Şek. 25.** Tüm gruplarda CA3 alanında hesaplanan ortalama nöron sayısı değerleri ( $\pm$ SEM) izlenmektedir. \* ve\*\* sırası ile gruplar arasındaki  $p < 0.05$  ve  $p < 0.01$  düzeylerindeki, anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

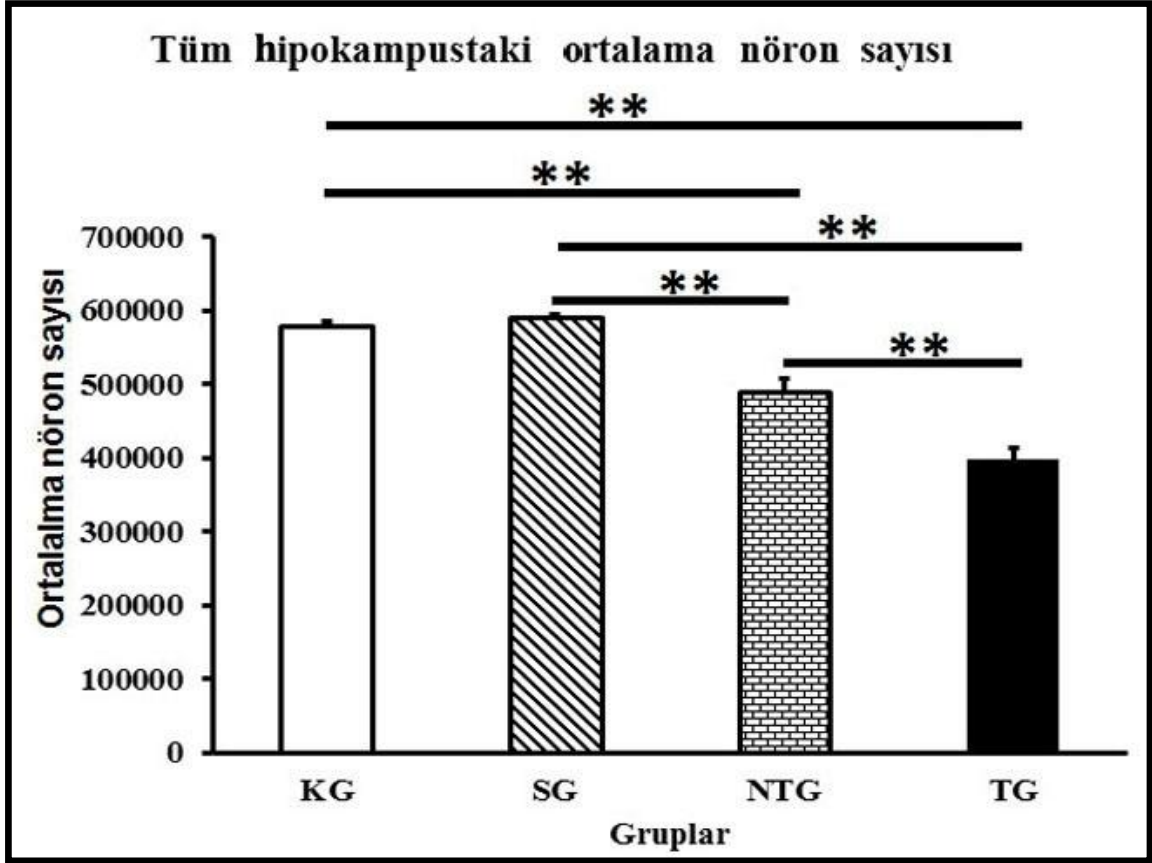
Hipokampusun CA3 bölgesine ait verilerinde, gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede; tedavi grubunun (TG= Grup 4) ve deney grubunun (NTG= Grup 3) CA3 bölgesindeki ortalama nöron sayılarında, kontrol (KG= Grup 1) ve sham (SG= Grup 2) grubunun ortalama nöron sayılarına göre çok anlamlı ölçüde azalma olduğu bulunmuştur ( $p < 0,01$ ; One-way ANOVA). Ek olarak, bütün çalışma grupları ikiyeşerli olarak birbiriyle kıyaslandığında ikili gruplar arasında ki farklar: Tedavi grubunda ki (grup4) ortalama nöron sayıları, deney grubunda ki ortalama nöron sayılarına göre anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p = 0,023$ ; One-way ANOVA). Fakat kontrol grubu (Grup 1) ile sham grubu (Grup 2) arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ( $p > 0,05$ ; One-way ANOVA).

#### 4.2.4. Tüm hipokampustaki nöron sayısına ilişkin elde edilen bulgular:

Hipokampusun tüm alanlarında (CA1, CA2 ve CA3) yapılan ortalama nöron sayısı hesaplanması sonucu elde edilen bulgular birbirine eklenerek hipokampustaki toplam nöron sayısı değerine ulaşıldı. Bu değerler aşağıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 7 ve Şek. 26).

**Tablo 7.** Hipokampustaki toplam nöron sayısı değerleri (Denek başına hesaplanan nöron sayısı, ortalama ve SEM değerleri izlenmektedir).

<b>GRUPLAR</b>				
	<b>KG</b>	<b>SG</b>	<b>NTG</b>	<b>TG</b>
<b>1</b>	582076	593770	444515	394222
<b>2</b>	564613	581259	486312	428401
<b>3</b>	570307	600672	504776	415658
<b>4</b>	594375	588990	526439	370374
<b>5</b>	578927	591173	490511	381415
<b>Ortalama</b>	578059	591172	490510	398014
<b>SEM</b>	7066,4	4032,2	16731,4	16010,333



**Şek. 26.** Grupların tamamında, tüm hipokampus alanında hesaplanan ortalama nöron sayısı değerleri ( $\pm$ SEM) izlenmektedir. \*\* gruplar arasındaki  $p < 0.01$  düzeyindeki anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

Gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede; tedavi (TG= Grup 4) ve deney (NTG= Grup 3) grubunun tüm hipokampus alanındaki ortalama nöron sayılarında, kontrol (KG= Grup 1) ve sham (SG= Grup 2) grubunun ortalama nöron sayılarına göre çok anlamlı ölçüde azalma olduğu bulunmuştur ( $p < 0,01$ ; One-way ANOVA). Ek olarak, bütün çalışma grupları ikişerli olarak birbiriyle kıyaslandığında ikili gruplar arasında fark: Tedavi grubunda ki (Grup 4) ortalama nöron sayıları, deney grubunda ki ortalama nöron sayılarına göre çok anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p < 0,01$ ; One-way ANOVA). Ayrıca kontrol grubu (Grup 1) ile sham grubu (Grup 2) arasında fark gözlenmemiştir ( $p > 0,05$ ; One-way ANOVA).

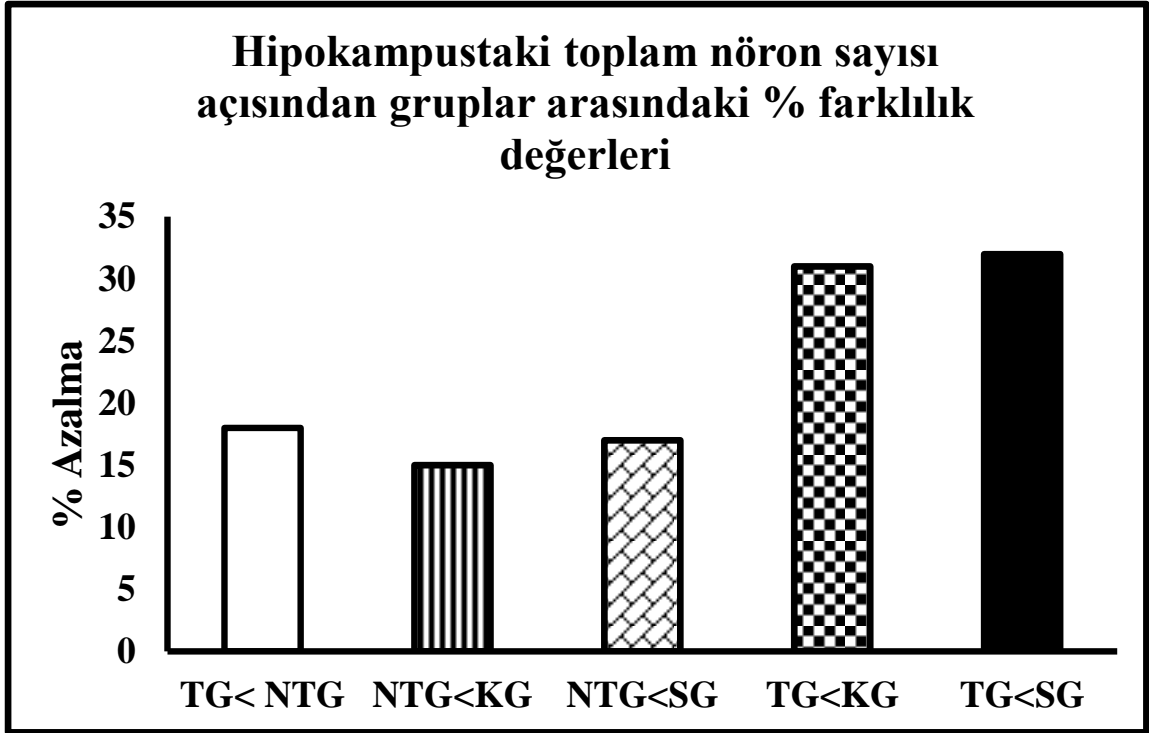
### 4.3. Hipokampustaki toplam nöron sayısı açısından gruplar arasındaki farklılık değerleri:

Hipokampusun tüm alanlarında (CA1, CA2 ve CA3) yapılan ortalama nöron sayısı değerlendirmeleri sonucu elde edilen bulgular birbirine eklenerek hipokampustaki toplam nöron sayısı değerine ulaşıldı. Bu değerlerin birbirleriyle olan sayısal farkları “yüzde fark” olarak değerlendirildi. Bu fark değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 8 ve Şek. 27).

**Tablo 8.** Hipokampustaki toplam nöron sayısı açısından gruplar arasındaki % farklılık değerleri

Gruplar arası fark	% Azalma	Anlamlılık Düzeyi
TG < NTG	18	0.02
NTG < KG	15	0.00
NTG < SG	17	0.00
TG < KG	31	0.00
TG < SG	32	0.00





**Şek. 27.** Gruplar arasında, hipokampusdaki toplam nöron sayıları açısından belirlenen fark değerleri görülmektedir.

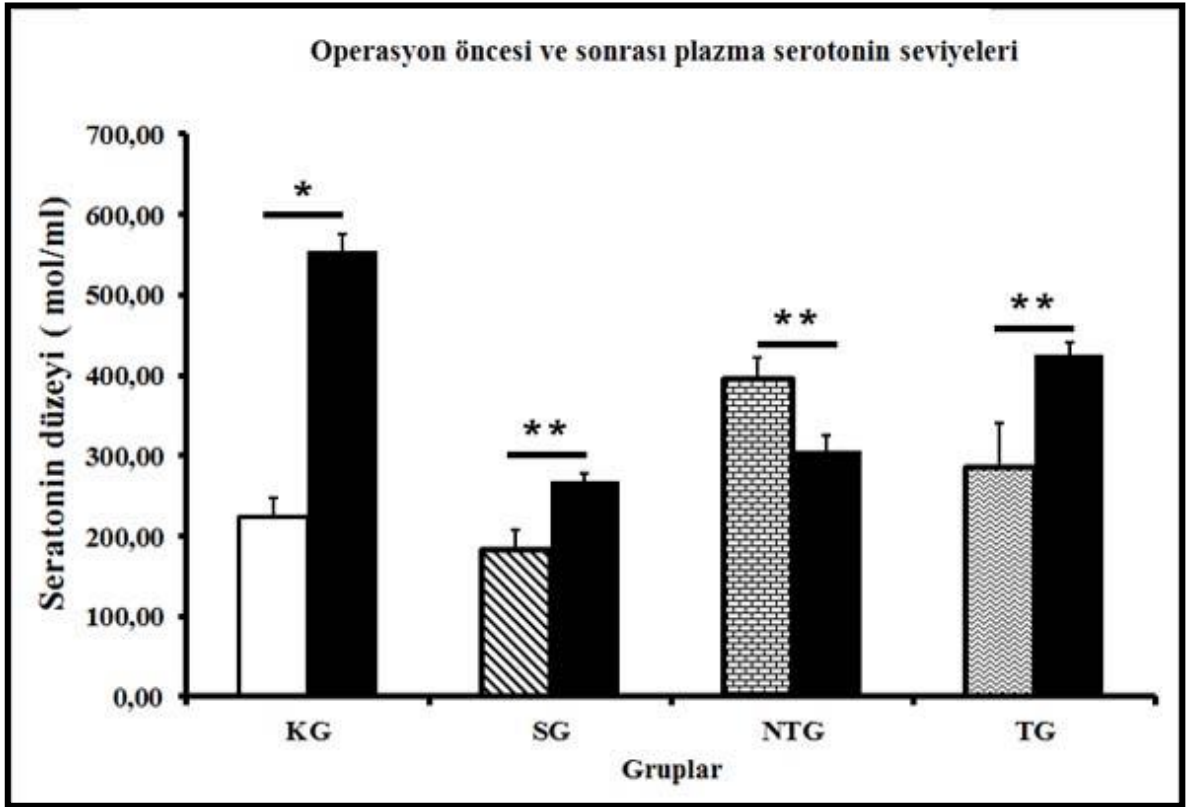
Gruplar arasında, hipokampusdaki toplam nöron sayılarının karşılaştırılması sonucu bulunan farklar şöyleydi: Tedavi grubundan (Grup 4= TG) elde edilen hipokampus örneklerinde belirlenen toplam nöron sayısı değeri deney grubununkine (Grup 3= NTG) göre % 18, kontrol grubununkine (Grup 1= KG) göre % 31, sham grubununkine (Grup 2= SG) göre % 32 azalmıştır. Deney grubunda (Grup 3= NTG) yer alan deneklerin hipokampus örneklerinde hesaplanan toplam nöron sayısı açısından kontrol grubununkine (Grup 1= KG) göre % 15'lik, sham grubununkine (Grup 2= SG) göre % 17'lik azalma tespit edilmiştir.

#### **4.3. Biyokimyasal bulgular:**

Deneklerden alınan kan örneklerinde serotonin ve katekolamin (Eureka, HPLC kiti) kit prosedürü uygulanarak plazma serotonin, noradrenalin ve adrenalin düzeyleri ölçüldü.

#### 4.3.1. Plazma serotonin düzeyleri:

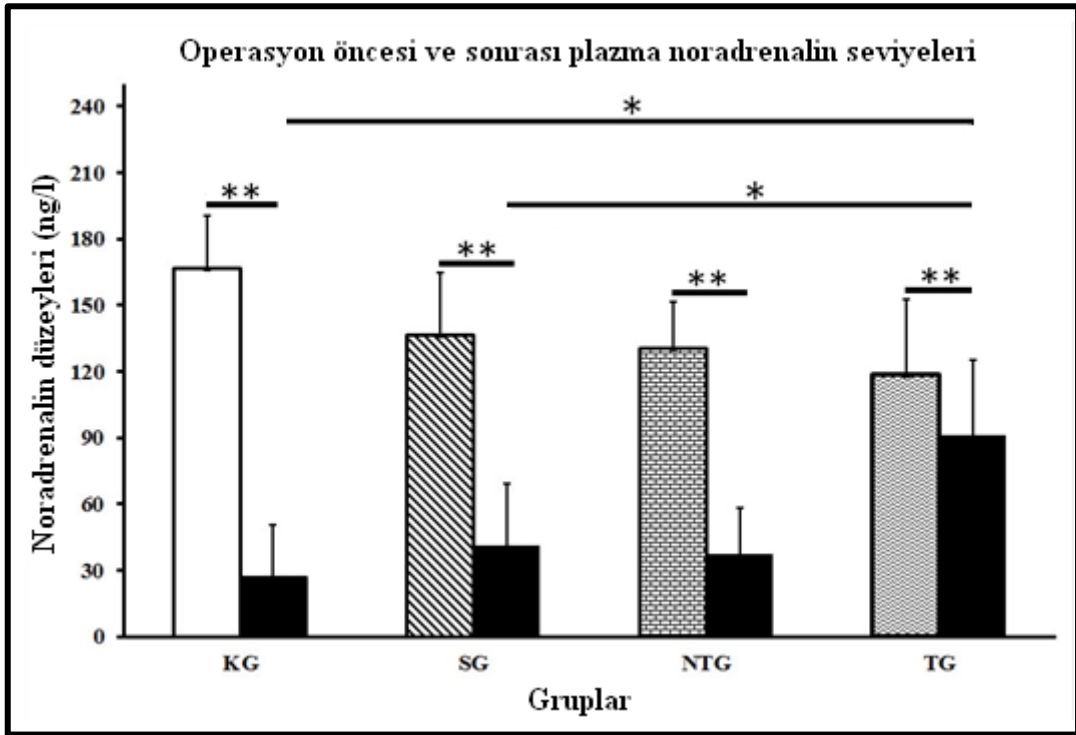
Elde edilen sonuçlara göre; operasyon sonrası, gruplardan alınan kan örneklerinden elde edilen plazma numunelerinde ölçülen serotonin düzeylerinin One-way ANOVA Bonferroni Post Hoc Test ile gruplar arası karşılaştırılması sonucunda istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır (Şek. 28;  $p > 0.05$ ). Operasyon öncesi ve sonrası alınan numunelerde Wilcoxon Signed Ranks Test' ile yapılan karşılaştırmalara göre: Deneysel grupta; operasyon sonrası plazma numunesi ile operasyon öncesi plazma numunesi karşılaştırıldığında; operasyon sonrası plazma serotonin düzeyinde anlamlı derecede azalma olduğu sonucu elde edilmiştir (Şek. 28;  $p < 0,01$ ). Tedavi, sham ve kontrol grupları operasyon sonrası plazma serotonin düzeylerinde ise operasyon öncesi plazma serotonin düzeylerine göre artma olduğu tespit edilmiştir (Şek. 28).



Şek. 28. Operasyon öncesi ve sonrası plazma serotonin değerleri ( $\pm$ SEM) görülmektedir. \* ve\*\* sırası ile gruplar arasındaki  $p < 0.05$  ve  $p < 0.01$  düzeylerindeki, anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

#### 4.3.2. Plazma noradrenalin düzeyleri:

Operasyon sonrası ölçülen noradrenalin plazma düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması ile tedavi grubunda noradrenalin düzeyinin sham (Şek. 29;  $p=0,034$ ; One-way ANOVA) ve kontrol grubu (Şek. 29;  $p=0,021$ ; One-way ANOVA) plazma düzeylerine göre anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir. Diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan noradrenalin plazma düzeylerinde anlamlı farka rastlanılmamıştır. Operasyon öncesi ve sonrası alınan numunelerde, Wilcoxon Signed Rank Test' i ile yapılan karşılaştırmalara göre: Tüm gruplarda operasyon sonrası plazma noradrenalin düzeylerinde operasyon öncesi plazma noradrenalin düzeylerine göre anlamlı ölçüde azalma olduğu tespit edilmiştir (Şek. 29;  $p < 0,01$ ).

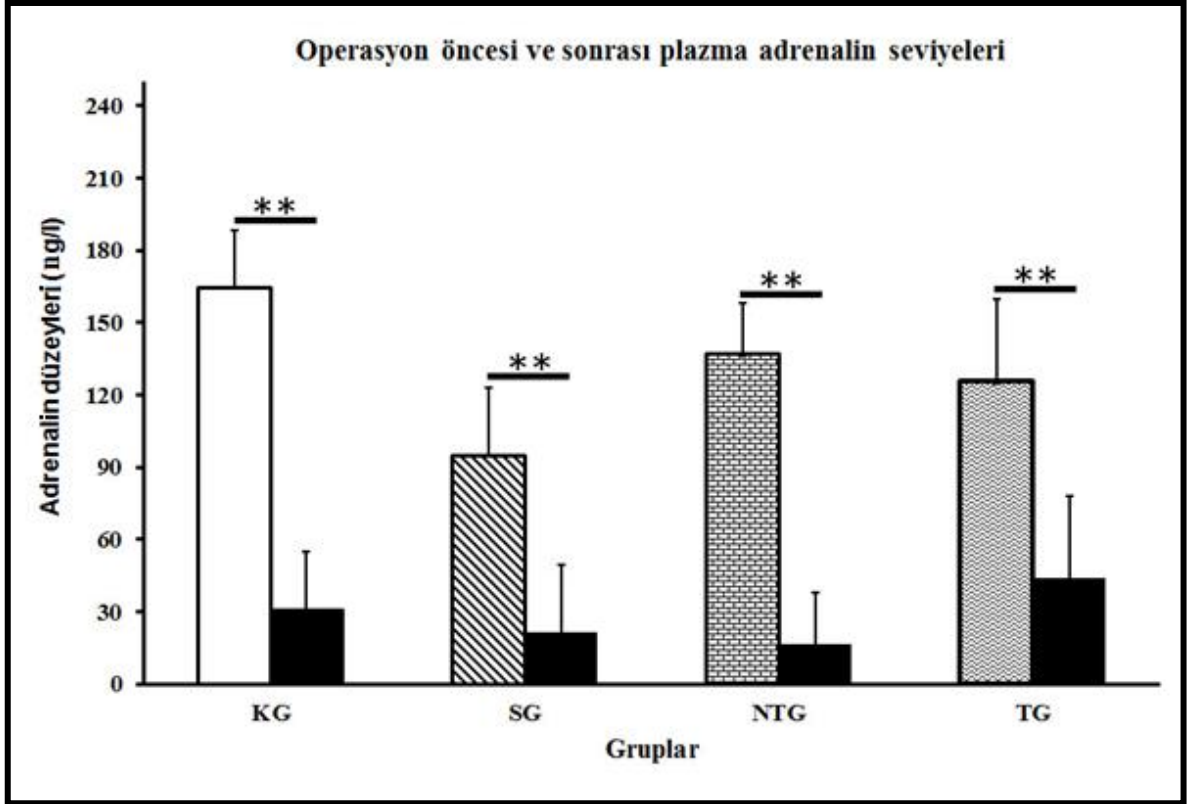


Şek. 29. Operasyon öncesi ve sonrası plazma noradrenalin değerleri ( $\pm$ SEM) görülmektedir. \* ve \*\* sırası ile gruplar arasındaki  $p < 0.05$  ve  $p < 0.01$  düzeylerindeki, anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

#### 4.3.3. Plazma adrenalin düzeyleri:

Operasyon sonrası gruplardan alınan kan örneklerinden elde edilen plazma numunelerinde ölçülen adrenalin düzeylerinin One-way ANOVA Post Hoc Tests testi ile gruplar arası karşılaştırılması sonucu istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır.

Operasyon öncesi ve sonrası alınan numunelerde, Wilcoxon Signed Ranks Test' i ile yapılan karşılaştırmalara göre: Tüm gruplarda operasyon sonrası plazma adrenalin düzeylerinde operasyon öncesi plazma adrenalin düzeylerine göre anlamlı ölçüde azalma olduğu tespit edilmiştir (Şek. 30;  $p < 0,01$ ).



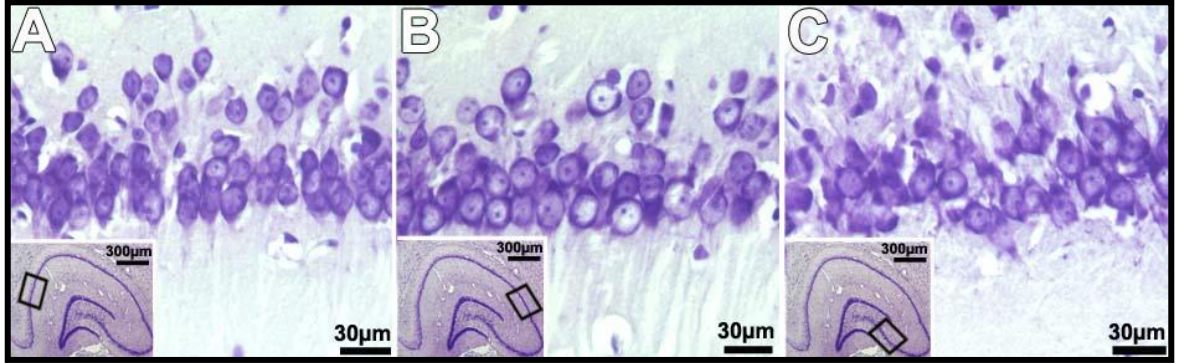
Şek. 30. Operasyon öncesi ve sonrası plazma adrenalin değerleri ( $\pm$ SEM) görülmektedir. \* ve\*\* sırası ile gruplar arasındaki  $p < 0.05$  ve  $p < 0.01$  düzeylerindeki, anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

#### 4.4. Işık mikroskopik bulgular

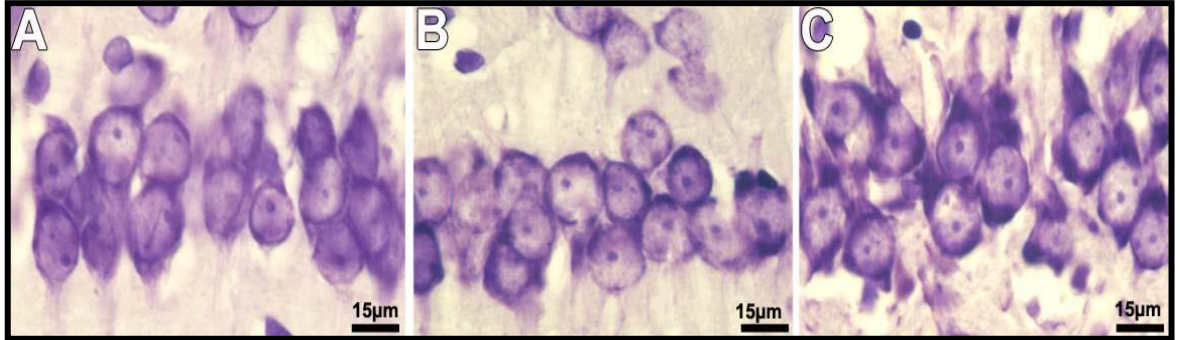
##### 4.4.1. Kontrol grubuna ait bulgular

Kontrol grubuna ait kesitlerde, hipokampusun genel yapısı ve nöronlar normal görünümdeydi (Şek. 31). Işık mikroskopik düzeyde yapılan incelemede nöronların perikaryonlarının sınırları düzgün; pramidal şekilli olarak izlendi. Ayrıca bu hücrelerin çekirdekleri ökromatik ve belirgin çekirdekçikliydi (Şek. 32). Nöronların uzantıları olan dendrit ve aksonları normal genişlikteydi (Şek. 31). Kontrol grubuna ait kesitlerin CA1,

CA2, ve CA3 bölgelerinde, piramidal nöronların 3–4 sıra halinde düzgün bir dizilim gösterirken; nöroglia hücrelerinin de normal görünümde oldukları izlendi. (Şek. 32).



**Şek. 31.** Kontrol grubuna ait hipokampus örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler görülmektedir (x40). A, B ve C de küçük resimlerdeki çerçeveli alan ile belirtilen kısımda sırası ile CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri izlenmektedir (x5). Boya: Cresyl Violet

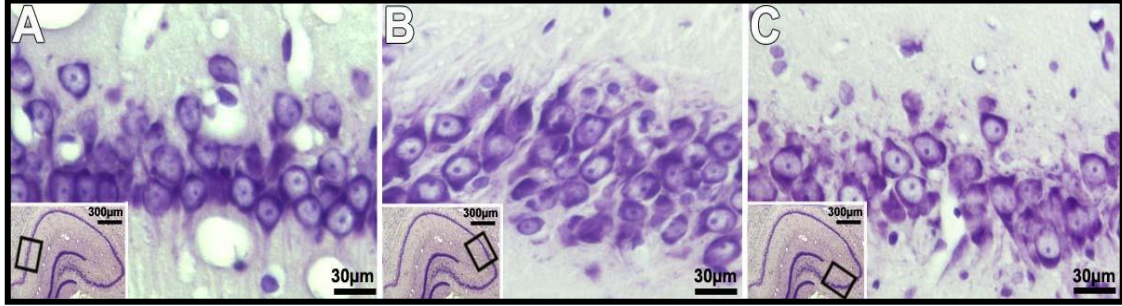


**Şek. 32.** Kontrol grubuna ait hipokampus örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler görülmektedir (x100). A, B ve C de sırası ile CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde bulunan sağlıklı nöronlar izlenmektedir. Boya: Cresyl Violet

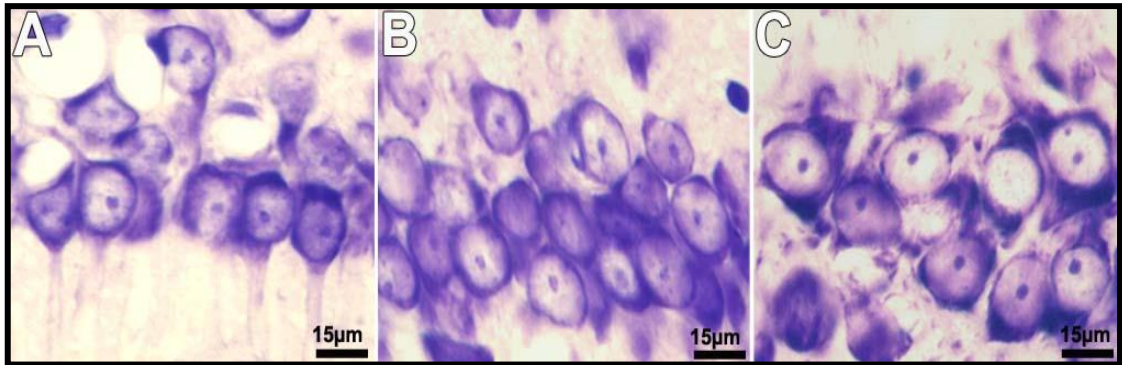
#### 4.4.2. Sham grubuna ait bulgular

Sham grubuna ait kesitlerde, hipokampusun genel yapısı ve nöronlar normal görünümdeydi (Şek. 33). Işık mikroskopik düzeyde yapılan incelemede nöronların perikaryonlarının sınırları düzgün; pramidal şekilli olarak izlendi. Ayrıca bu hücrelerin çekirdekleri ökromatik ve belirgin çekirdekçikliydi (Şek. 34). Nöronların uzantıları olan dendrit ve aksonları normal genişlikteydi (Şek. 34). Hipokampusun CA1, CA2, ve CA3

bölgelerinde, piramidal nöronların 3–4 sıra halinde düzgün bir dizilim gösterirken; nöroglia hücrelerinin de normal görünümde oldukları izlendi. (Şek. 34).



**Şek. 33.** Sham grubuna ait hipokampus örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler görülmektedir (x40). A, B ve C de küçük resimlerdeki çerçeveli alan ile belirtilen sırası ile CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri izlenmektedir (x5). Boya: Cresyl Violet

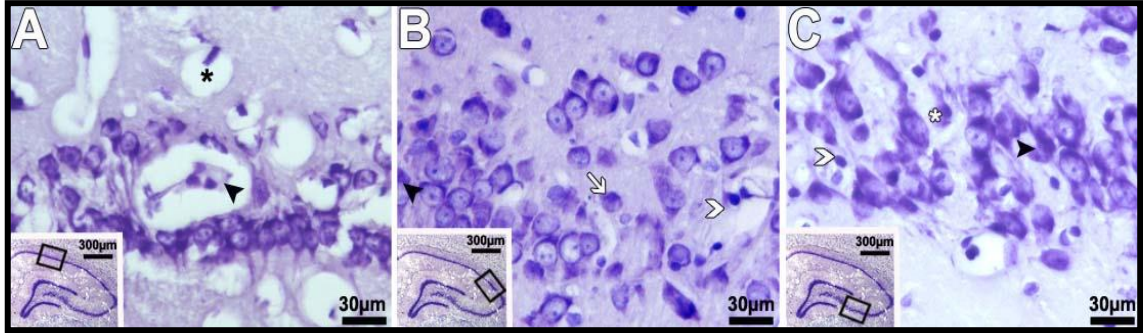


**Şek. 34.** Kontrol grubuna ait hipokampus örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler görülmektedir (x100). A, B ve C de sırası ile CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde bulunan sağlıklı nöronlar izlenmektedir. Boya: Cresyl Violet

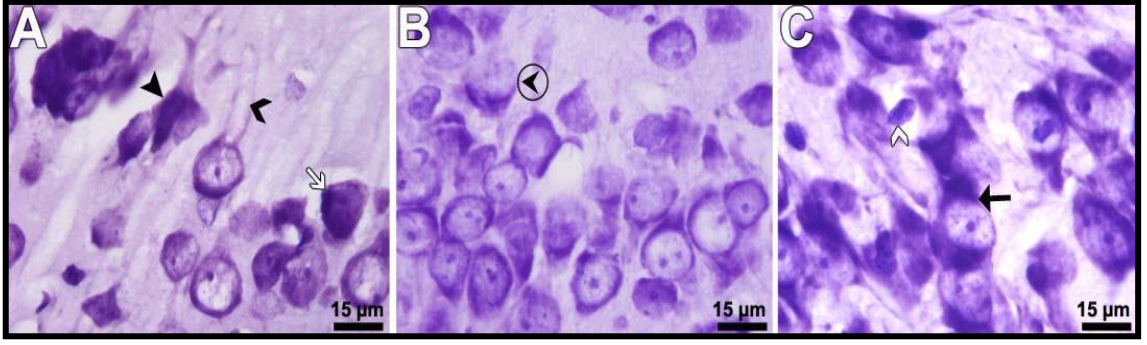
#### 4.3.3. Deney grubuna ait bulgular

Deney grubuna ait dokuların ışık mikroskopik düzeyde histolojik olarak değerlendirilmesi sonucu kontrol grubuna kıyasla normal histolojik yapıdaki nöronların yanı sıra, heterokromatik ve piknotik görümlü nöronlar (Şek. 35 beyaz yıldız) ile koyu boyanmış sitoplazmalı, açılanma gösteren piramidal nöronlara rastlandı (Şek. 35

beyaz ok). Ayrıca koyu boyanmış ve dar sitoplazmalı, vakuollü çekirdeğe sahip nöronlar da dikkati çekmekteydi (Şek. 35. A,C). Anormal şekilli oligodendrosit, mikroglia ve astrositler de gözlenmekteydi (Şek. 35; beyaz okbaşı). Bu gruptan elde edilen hipokampus kesitlerinde nöronal uzantılar değerlendirildiğinde akson terminallerinin kontrol grubuna kıyasla genişlemiş olduğu ve etrafına göre daha soluk boyandığı görüldü (Şek. 36 siyah ince okbaşı). Dejenere olmuş nöronların bir kısmında ise periferik Nissl yoğunlaşması anlamına gelen kromatoliz bulgusuna rastlanmaktaydı (Şek. 36 siyah ok). Bazı nöronlar ise çekirdekçikleri seçilemeyen ve soluk boyanmış çekirdekleri ve sitoplazmaları ile ödemli görünümdeydi (Şek. 36; siyah halkalı okbaşı). Yine bu gruba ait deneklerin hipokampus kesitlerinde hasarın erken evresindeki nöronların yanı sıra artık tamamen ölü olan anormal şekilli, büzüşmüş, sitoplazma ve çekirdeği ayırt edilemeyen nöron kalıntılarına da rastlandı (Şek. 35; siyah kalın okbaşı). Beyaz cevherde ise ödem, yer yer dejenere olmuş akson kalıntıları ve mikrovakuolizasyon dikkat çekmekteydi (Şek. 35; siyah yıldız).



**Şek. 35.** Deney grubuna ait hipokampus örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler görülmektedir (x40). A, B ve C de küçük resimlerdeki çerçeveli alan ile belirtilen sırası ile CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri izlenmektedir (x5). Beyaz yıldız; piknotik nöronları, beyaz ok; koyu boyanmış sitoplazmalı nöronları, beyaz okbaşı; glia hücrelerini, Siyah kalın okbaşı; sitoplazma ve çekirdeği ayırt edilemeyen nöron kalıntılarını, Siyah yıldız; dejenere olmuş akson kalıntıları ve mikrovakuolizasyonu göstermektedir. Boya: Cresyl Violet

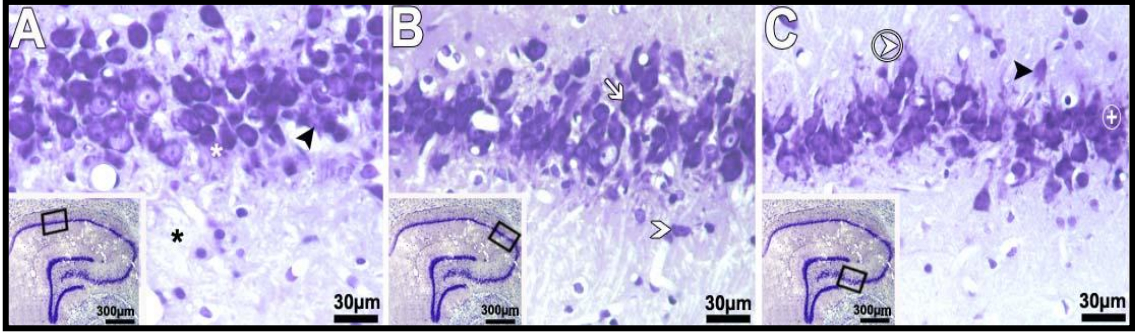


**Şek. 36.** Deney grubuna ait hipokampus örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler görülmektedir (x100). A, B ve C de sırası ile CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde bulunan nöronlar izlenmektedir. Siyah halkalı okbaşı; çekirdekçiği seçilemeyen kromatini soluk boyanmış ödemli nöronları, beyaz ok; koyu boyanmış sitoplâzmalı nöronları, beyaz okbaşı; glia hücrelerini, Siyah ince okbaşı; genişlemiş ve soluk boyanan akson terminallerini, Siyah ok; yoğunlaşmış Nissl granülleri içeren alanları, Siyah kalın okbaşı; sitoplâzma ve çekirdeği ayırt edilemeyen nöron kalıntılarını göstermektedir. Boya: Cresyl Violet

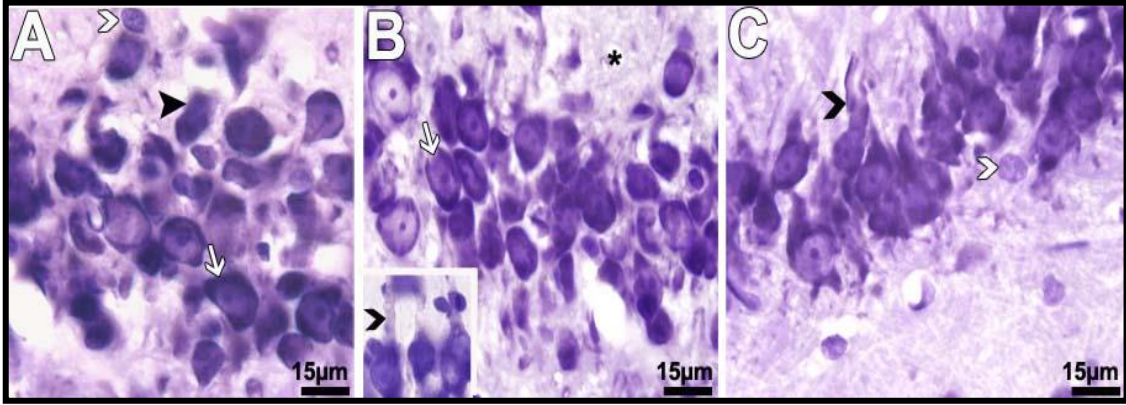
#### 4.4.4. Tedavi grubuna ait bulgular

Tedavi grubundan elde edilen hipokampusların ışık mikroskopik kesitlerinde hipokampusların daha önce ele alınan diğer gruplardakine kıyasla daha az sayıda normal nöron içerdiği göze çarpmaktaydı (Şek. 37). Komşu nöronlar arasında ise ölü hücre artığı olası yapılara sıklıkla rastlanmaktaydı (Şek. 37 siyah kalın okbaşı). Bu yapılar bazı kesitlerde nekrotik alanlar şeklinde göze çarpmaktaydı (Şek. 37 beyaz halkalı + işareti). Yer yer kromatini azalmış çekirdeğe, dar ve koyu boyanmış sitoplâzmaya sahip nöronlar (Şek. 37 beyaz ok) ile koyu bazofil bir nükleus yanında koyu boyanmış düzensiz sınırlı sitoplazmaya sahip piramidal nöronlar dikkati çekmekteydi (Şek. 38). Piramidal nöronların aksonları dalgalı görünümlü (Şek. 37; beyaz halkalı okbaşı), ödemli ve soluk boyanmıştı (Şek. 38 siyah ince okbaşı). Ayrıca piramidal nöronlar arasında çok sayıda karyolize uğramış nöronlar da dikkati çekmekteydi (Şek. 38). Yine sitoplazmasında Nissl granülleri yoğunlaşmış, nükleusları kenara itilmiş aynı zamanda koyu bazofil boyanmış nöronlar da gözlenmekteydi. Bu gruptaki hipokampusların beyaz cevherinde ise vakuoler yapıların çokluğu ve ödemli olduğu dikkati çekmekteydi (Şek. 38 siyah yıldız).





**Şek. 37.** Tedavi grubuna ait hipokampus örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler görülmektedir (x40). A, B ve C de küçük resimlerdeki çerçeveli alan ile belirtilen sırası ile CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri izlenmektedir.(x5) Beyaz yıldız; piknotik nöronları, beyaz ok; koyu boyanmış sitoplâzmalı nöronları, beyaz okbaşı; glia hücrelerini, Beyaz halkalı okbaşı; dalgalı görünümlü aksonları, Siyah kalın okbaşı; sitoplâzma ve çekirdeği ayırt edilemeyen nöron kalıntılarını, Siyah yıldız; ödem ve dejenere olmuş akson kalıntıları, mikrovakuolizasyon ,beyaz halkalı + işareti; nekrotik alanı göstermektedir. Boya: Cresyl Violet



**Şek. 38.** Tedavi grubuna ait hipokampus örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler görülmektedir. A, B ve C de sırası ile CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde bulunan nöronlar izlenmektedir. beyaz okbaşı; glia hücrelerini, Siyah ince okbaşı; genişlemiş ve soluk boyanan akson terminallerini, Siyah kalın okbaşı; sitoplâzma ve çekirdeği ayırt edilemeyen nöron kalıntılarını, Siyah yıldız; ödem ve dejenere olmuş akson kalıntıları, beyaz ok; koyu boyanmış sitoplâzmalı nöronları göstermektedir. Boya: Cresyl Violet

## 5.TARTIŞMA

Son yıllarda tanıda kullanılan görüntüleme ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen kafa travmalarının mortalitesi ve morbiditesi halen yüksek olup insan hayatı açısından sorun oluşturmaya devam etmektedir (Crooks ve ark., 2007). Kafa travmalarının en sık nedeni trafik kazalarıdır. Düşmeler, spor yaralanmaları, iş kazaları, darp ve terör yaralanmaları diğer nedenler arasındadır. Travmatik beyin yaralanmaları, ciddi bir komplikasyon olan intrakranyal hematomlara sebep olabilmektedir. Travmatik intrakranyal hematomların %50-60'ını subdural hematomlar oluşturmaktadır (Zwienenberg-Lee ve Muizelaar, 2004). Travmatik beyin yaralanması primer ve sekonder beyin yaralanması olarak ikiye ayrılır (Graham ve ark., 2000). Primer yaralanma; kafa travması sonrasında maruz kalınan travmanın şekline ve şiddetine göre oluşan patolojileri, sekonder yaralanma ise; primer travmaya ikincil oluşan enflamasyon gibi ek hasarları ve rejenerasyonu içine alan fazlardan oluşur (Reilly, 2001). İyonik dengelerin bozulması, serbest radikallerin oluşması, enflamatuvar ve immunolojik yanıt, uyarıcı aminoasitlerin salınması, nörotransmitter ve nöromodülatör sistemlerin bozulması oluşan sekonder yaralanma sonuçları arasında sayılabilir (Cernak, 2005). ASDH' un en sık belirtisi ani başlangıçlı ve şiddetli baş ağrısıdır. Bunun dışında bilinç bozukluğu, bulantı, ipsilateral pupilde dilatasyon, kontralateral hemiparazi, kusma ve diğer nörolojik bulgular görülebilir. Semptomlar beynin kompresyonuna veya eşlik eden parankimal hasar ve ödeme bağlı olarak ortaya çıkar. (Bullock ve ark., 2006). Postmortem incelenmiş SDH' lu vakaların üçte ikisinde beyinde iskemik hasar izlenmiştir. Bu hasar hastalarda ki yüksek mortalite ve morbiditenin nedenidir. Duranın iç tabakası yoğun vasküler yapılar ile kaplıdır. Bu yapının kan elemanlarına karşı oluşturduğu enflamasyon reaksiyonu ile membran meydana gelir. Membran oluşumu daha çok kronik subdural hematomların karakteristik özelliğidir. (Zwienenberg-Lee ve Muizelaar, 2004). ASDH, acil cerrahi müdahale gerektirir. Amaç beyin kanaması sonrasında ki basıncı azaltmaktır (Haselberger ve ark., 1988; Servedai ve ark., 1998; Koc ve ark., 1977). Bazen ASDH' da dura altına olan kanamalar cerrahi müdahale gerektirmeyecek kadar küçük olabilir. Bu durumda anti-ödem tedavisi uygulanarak sekonder hasar azaltılmaya çalışılır. Dura altındaki kanama odağında spontan rezolüsyonlar izlenebilir (Cohen, 1998; Kato ve ark., 2001; Yıldırım ve ark., 2011). Kafa travmasının primer ve sekonder sebeplerini

araştırmak ve insan beynindeki mevcut sinir hasarını onaracak çeşitli tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi amacıyla deney hayvanları üzerinde kafa travması modelleri yapılmaktadır. Deneysel hayvan modellerinin temel amacı: Nekrotik ve apoptotik nöronal hücre ölümünü, akson hasarını oluşan zedelenmenin bellek ve öğrenme üzerine etkilerini ortaya koymaktır (Hausmann ve ark., 2004; Merens ve ark., 2007; Hensler, 2010; Amar ve ark., 2010). Bu amaçla yapılmış çalışmada, non-steroidal anti-inflamatuvar, antipiretik etki gösteren ve güçlü analjezik etkili diklofenak sodyum (DS)' un olası etkileri deneysel ASDH oluşturulmuş hayvan modelinde incelenmiştir. Yalnızca ASDH gelişiminde; oluşabilecek histopatolojik bulguları tespit etmek için statik deneysel hayvan modeli tercihen edilmiş, yaralanmada yer alan morfolojik ve fonksiyonel süreçlere odaklanılmıştır (Cernak, 2005). Literatürde, genişletilmiş yirmi dokuz fare üzerinde; sagittal düzlemde scalp insizyonu yapılarak dental drill aracılığı ile sagittal suture' den 2mm, lambdoid suture' den 1mm önde parietel bölgede 2mm çapında burr hole açılarak deneysel ASDH fare modeli oluşturulmuştur. 30-gauge' luk dental enjektör ile farenin venöz otolog kendi kanı subdural mesafeye 30-50 µl ve 10-20 µl oranında verilmiştir. Subdural mesafeye 30-50 µl venöz kan uygulanan gruplarda mortalite oranı %50-%66 olarak tespit edilmiştir (Sasaki ve Dunn, 2001). Nonheparinize otolog venöz kan verilen bütün gruplarda lezyon altında iskemik beyin hasarı gözlemlenmiştir (Miller ve ark., 1990). Bu iskemi alanı orta serebral arter oklüzyonu yapılmış hayvan modellerinde görülen iskemik alanlara benzerdir. Bizim alışmamızda da literatürdeki histopatolojik bulgulara benzer iskemi ve nekroz bulgularına rastlanılmıştır. Deneysel başka bir modelde beyin üzerinde yapılan histolojik incelemede mikrovakuolizasyon, nöronal büzüşme, piknosis, nöronda ve çekirdeklerinde şişme tespit edilmiştir (Brierley ve ark., 1973; Sasaki ve Dunn, 2001). Literatürde yapılmış bir çok araştırmada travmatik beyin zedelenmesi hayvan modellerinde; sıvı perküsyon, vakum deformasyon, ağırlık dışürme yöntemleri kullanılmıştır (O'Connor ve ark., 2011). Bu yöntemler şiddetli primer yaygın beyin hasarına yol açabileceği için bizim alışmamızda, Sasaki ve Dunn' ın kullandığı yöntem model alınarak uyarlanmıştır: Sagittal sutur lateralinden 2 mm, koranal sutur posterioründen 1 mm uzaklıkta, çapı 3 mm olan bir delik (Burr Hole) mikrodirel ile açılarak sıçanın kuyruk veninden nonheparinize 0,1 ml kan alınıp cerrahi mikroskop eşliğinde subdural mesafeye 0,05ml /dk hızında yavaşça verilmiştir. İmpact

akcelerasyon modellerinin yol açabileceği; intraserebral hematoma, epidural hematoma, subaracnoidal kanama, penetran beyin yaralanmaları, serebral laserasyonlar gibi zedelenmeler seçilen hayvan modeli nedeniyle araştırma dışı bırakılmıştır. ASDH neticesinde oluşmuş zedelenmeye spesifik histopatolojik, stereolojik ve biyokimyasal incelemeye odaklanılmıştır. Litaratürde karşılaşılan diğer bir çalışmada lateral sıvı perküsyon hayvan modeli kullanılarak beyin zedelenmesi oluşturulmuştur. Bir hafta sonra aynı taraf hipokampus nöron sayılarında azalma ve kognitif fonksiyonlarda bozulma tespit edilmiştir. Contralateral hipokampus alanı optik parçalama yöntemi ile incelenmiş, stereolojik kurallara uygun olarak zedelenmeden 7 gün sonra yapılan analiz sonucunda hipokampus bölgesinde bulunan nöronlarda sham grubuna göre anlamlı azalma tespit edilmiştir (Tran ve ark., 2006). Bizim çalışmamızdan elde edilen stereolojik bulgulara göre deney grubunun (Grup 3: NTG) CA1 bölgesinde bulunan nöronların sayısı ASDH oluşturulduktan 1 hafta sonra kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p < 0,01$ ). CA2 bölgesindeki nöron sayısı değerlendirildiğinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik saptanmadı ( $p = 1,135$ ). Bu bölgede fark saptanamamasının nedeni kontrol grubuna ait deneklerin CA2 bölgesinde yer alan nöronların sayılarının değişken olmasıdır. Bu durum kontrol grubunun SEM değerini yükselttiğinden gruplar arasında nöronların sayısal değeri birbirinden farklı olmasına ve deney grubunun CA2 bölgesindeki nöron sayılarında kontrol ve sham grubu CA2 bölgesindeki nöron sayılarına kıyasla azalma tespit edilmesine rağmen bu fark istatistiğe yansımamıştır. CA3 bölgesinde de CA1 bölgesinde olduğu gibi nöronların sayısı kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p < 0,01$ ). Toplam nöron sayısını değerlendirdiğimizde deney grubundaki nöron sayısının kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde düşük olduğunu belirledik ( $p < 0,01$ ). Kontrol ve Sham grupları arasında hiçbir parametrede anlamlı fark elde edilmezken sham ve deney grupları arasındaki kıyaslamalarda elde edilen bulgularımız değişkenlik göstermektedir. Sham grubuna ait deneklerin CA1 ve CA2 bölgelerinde bulunan nöronların sayısı deney grubu deneklerinden farklı değildi. CA3 bölgesindeki nöronlar ve toplam nöron sayısı açısından ise sözü edilen iki grup arasında anlamlı fark belirlendi ( $p < 0,01$ ). Deney grubunun (Grup 3= NTG) toplam nöron sayılarında; kontrol grubunun (Grup1= KG) toplam nöron sayılarına göre % 15'lik, sham grubunun (Grup 2= SG) toplam nöron sayılarına göre % 17'lik azalma bulunmuştur. Sham grubuna ait deneklerde sadece

kafatası defekti oluşturulduğu için normalde beklenen bu gruptaki deneklerin nöron sayılarının kontrolden farklı olmaması; fakat ASDH oluşturulan deneklerden anlamlı ölçüde yüksek olmasıdır. Bizim çalışmamızda ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sham grubundaki deneklerin tüm parametreleri kontrol grubuna kıyasla düşüktü. Bu durumun sonucu olarak CA1 ve CA2 bölgesinde Sham ve deney grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi. Sham grubundaki deneklerin nöron sayısındaki bu düşmenin nedeni ise kafatası defekti esnasındaki cerrahi işlemde kaynaklanan stres olabilir (Sorrells ve Sapolsky, 2007). Nitekim daha önce yapılan çalışmalarda da serum fizyolojik enjeksiyonunun oluşturduğu stresin bile nöron sayısını azaltıcı yönde bir etkiye yol açabileceği gösterilmiştir (Gökçimen ve ark., 2007).

Diklofenak sodyum'un MSS' nin gelişimini etkilediği gösterilmiştir. Diklofenak sodyum nöral kök hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını inhibe etmektedir (Kudo ve ark., 2003). Prenatal dönemde diklofenak sodyum uygulanması sonucu 20 haftalık sıçanların omuriliklerinde ki nöron sayılarında kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir (Özyurt ve ark., 2011). Yine prenatal dönemde diklofenak sodyum uygulanmış 4 haftalık sıçanlar üzerinde elektron mikroskobu ile yapılan analizlerde belirgin düzeyde miyelin kılıf bozulmaları ile siyatik sinir akson sayısında kontrol grubuna oranla azalma gösterilmiştir (Canan ve ark. 2008). *Sprague dawley* cinsi sıçanların kullanıldığı başka bir çalışmada diklofenak sodyum her gün intratekal olarak uygulanmıştır. Elektron mikroskopik inceleme sonucunda; kontrol grubunda bir değişiklik bulunmamış, 7 gün süresince tekrarlanan dozlarda intratekal diklofenak sodyum verilen grupta; diklofenak sodyumun nörotoksik etkileri olduğu sonucuna varılmıştır. Diklofenak sodyum, uygulamasının doza bağlı olarak nörodejenerasyona neden olduğu, ekstrasellüler ödem ve buna bağlı olarak hücre organellerinde baskılanma oluşturduğu saptanmıştır. Nörodejenerasyonun hücre aktivitesinde belirgin azalmaya bağlı gelişebileceği kanısına varılmıştır (Özdoğan ve ark., 2011). Literatürde prenatal dönemde intraperitoneal diklofenak sodyum (1mg/kg/gün) uygulanmış 4 haftalık ve 20 haftalık yavru sıçanların hipokampusları optik disektör yöntemi ile stereolojik kurallara uygun olarak analiz edilmiş; 4 haftalık erkek sıçanlarla kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Fakat prenatal dönemde diklofenak sodyuma maruz kalan 20 haftalık erkek sıçanlardan oluşan gruptaki hayvanların hipokampuslarındaki nöron sayılarında kontrol grubuna

oranla %12'lik azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Gökçimen ve ark., 2007). Bu çalışmada ise ASDH oluşturulmuş *Sprague dawley* cinsi sıçanlara (Grup 4: NTG) 7 gün süresince diklofenak sodyum (15 mg /kg/gün ) intramuskuler olarak uygulanmıştır. Postoperatif 8. gün denekler sakrefiye edilerek hipokampuslarındaki nöron sayıları optik parçalama yöntemi ile stereolojik kurallara uygun olarak analiz edilmiştir. Analiz neticesinde stereolojik bulgulara göre: DS tedavisi uygulanan Grup 4' deki deneklerin CA1 bölgesinde bulunan nöronların sayısı ASDH oluşturulduktan 1 hafta sonra kontrol ve sham grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p<0,01$ ). Grup 4' ün CA2 bölgesindeki nöron sayısı kontrol ve sham grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p<0,01$ ). CA3 bölgesinde de CA1 bölgesinde olduğu gibi nöronların sayısı kontrol ve sham grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmıştır ( $p<0,01$ ). Toplam nöron sayısını değerlendirdiğimizde deney grubundaki nöron sayısının kontrol ve sham grubuna kıyasla anlamlı ölçüde düşük olduğunu belirledik ( $p< 0.01$ ). Kontrol ve Sham grupları arasında hiçbir parametrede anlamlı fark elde edilmedi. Grup 4'ün CA1, CA2, CA3 bölgesindeki nöron sayıları ve toplam nöron sayısı ile kontrol ve sham grubu nöron sayıları arasında anlamlı fark belirlendi ( $p< 0.01$ ). Gruplar arasında, hipokampusdaki toplam nöron sayıları karşılaştırılarak bulunan farklar: Tedavi grubunun (Grup 4= TG) toplam nöron sayılarında; deney grubunun (Grup 3= NTG) toplam nöron sayılarına göre % 18, kontrol grubunun (Grup 1= KG) toplam nöron sayılarına göre % 31, sham grubunun (Grup 2= SG) toplam nöron sayılarına göre % 32 azalma tespit edilmiştir.

Beyinde lokal bir yaralanma olduğunda, doğrudan etki eden kuvvete bağlı kan beyin bariyerinin açılması, ölen nöral hücrelerden eksitatör amino asit (EAA) ve trombotik materyalden serotonin salınması meydana gelir. Plazma içine yayılan glutamat, serotonin, kallikreinkininojen-kinin (KKK) sistem ürünleri ve yağ asitleri ödemin yaralanma çevresine yayılmasına neden olur. Glutamat, kendi salınımını daha fazla artırarak hücre membranlarından Na ve Ca geçişinin artmasına, buna bağlı hücre ödemine ve nekroza neden olur. Serotonin bariyer açıklığını artırır ve serebrovasküler fonksiyonu bozar. Yağ asitleri hücrel enerji metabolizmasını bozarak hücre şişmesine ve KKK sistemi bariyer açıklığının artmasına, hücre yaralanmasına yol açar. Tüm bu ikincil olayların son aşamasında serbest radikaller ve lizozomal enzim aktivasyonları oluşur (Pollay M., 1996). Depolarizasyon olsun olmasın hücre içine kalsiyum girişi serotonin salınmasını artırır (Siegel, 2006). Klinik bir çalışmada; 30 aurasız migrenli

kadın hastadan alınan kan numuneleri sıvı kromatografisi cihazında değerlendirilmiş ve plazma serotonin konsantrasyonu hesaplanmıştır. Bunun sonucunda migrenli hastaların plazma serotonin konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanmıştır (Sunay ve ark., 2012). Başka bir klinik çalışmada ise; major depresyonlu 21 hastada plazma serotonin ve monoaminooksidaz aktivitesi ölçülmüş, 6 hafta sertralin (serotonin geri alım inhibitörü) tedavisinden sonra tekrar plazma serotonin düzeyi ve monoaminooksidaz aktivitesi bakılarak karşılaştırılmıştır. Depresyon hastalarında plazma serotonin düzeyi kontrol grubuna kıyasla düşük bulunup sertralin tedavisi sonrası plazma serotonin düzeyinin yükseldiği tespit edilmiştir. (Bakkaloğlu ve ark., 2008). Daha önce yapılan araştırmalar sonucunda akut streste beyin serotonin metabolizmasının arttığı, üstesinden gelinemeyen stresli durumlarda serotonin miktarının azalmakta olduğu sonucuna varılmıştır. Hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir ki, beyin serotonin düzeyinin düşmesi affektif agresyon meydana getirmektedir. Tersine, beyin serotonin düzeyinin artması ise agresif davranışı azaltmaktadır (Pihoker ve Nemeroff 1993). Baş edilemeyen streste beyin serotonin seviyesi azalmıştır. Bu azalma uyku düzenini, beslenme alışkanlığını ve ağrı duyarlılığını bozmaktadır (Jesberger ve Richardson, 1985). NA'nın son ürünü 3-metoksi, 4-hidroksi feniletilen glikol (MHPG)'dür. Yapılan çalışmalarla MHPG'nin bazal değerlerinin anksiyetesi olan ve normal kişilerde farklılık göstermediği belirlenmiştir. Halbuki akut stresli bir uyararla karşılaşılacak kişilerde MHPG seviyeleri aniden, bazal değerlerin iki katına çıkmaktadır. Durumsal anksiyetede artış MHPG düzeylerine de artarak yansımaktadır (Balcıoğlu, 2002). Bu çalışmada ASDH oluşturulmuş hayvan modelinde; oluşturulan ASDH'un ve TG grubuna uygulanan DS'nin plazma serotonin, noradrenalin, adrenalin düzeylerine olası etkilerini araştırmak üzere operasyon öncesi ve sonrası deneklerden kan alınarak serotonin, norepinefrin, adrenalin'in plazma düzeyleri ölçülmüştür. Bunun sonucunda: operasyon sonrası gruplardan alınan kan örneklerinden elde edilen plazma numunelerinde ölçülen serotonin ve adrenalin düzeylerinin One-way ANOVA Post Hoc Tests ile gruplar arası karşılaştırılması sonucu istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır. Operasyon sonrası ölçülen noradrenalin plazma düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması ile tedavi grubunda noradrenalin düzeyinin sham ve kontrol grubu plazma düzeylerine göre anlamlı derecede arttığı sonuçları elde edilmiştir. Daha önceki bir çalışmada ratlardan

anestezili ve anestezisiz farklı kan örnekleme yöntemleri kullanıldığında deneklerin strese girdiği sonucuna ulaşılmıştır (Petersen ve ark., 2006). Noradrenalin ve adrenalin stres durumunda artmaktadır (Manunta ve Edeline, 2004). Bu çalışmalar ışığında; 7 gün boyunca uygulanan enjeksiyonun psikolojik ve fiziksel stresinden deney grubunda postoperatif noradrenalin seviyeleri yükselmiş olabilir. Çalışmamızda stres durumunda artan adrenalin, tedavi grubu plazma numunelerinde istatistiksel açıdan anlamlı fark oluşturmasada sham ve kontrol grubu adrenalin düzeylerine göre yüksek olarak tespit edilmiştir. Diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan noradrenalin plazma düzeylerinde anlamlı farka rastlanılmamıştır.

Ölçülen serotonin düzeylerinin One-way ANOVA Post Hoc Tests ile gruplar arası karşılaştırılması sonucu istatistiksel açıdan anlamlı bulunamamıştır. Operasyon öncesi ve sonrası alınan numunelerde Wilcoxon Signed Ranks Test' i ile yapılan karşılaştırmalara göre: Deney grubunda; operasyon sonrası plazma numunesi ile operasyon öncesi plazma numunesi karşılaştırıldığında operasyon sonrası plazma serotonin düzeyinde anlamlı derecede azalma olduğu sonucu elde edilmiştir. Tedavi, sham ve kontrol grupları operasyon sonrası plazma serotonin düzeylerinde ise operasyon öncesi plazma serotonin düzeylerine göre artma olduğu tespit edilmiştir. Literatürde farklı hastalıklarda serotonin düzeyleri ve bunların davranışlar üzerine etkilerini ilişkilendirmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Migrenli hastalarda serotonin düzeyleri düşük tespit edilmiştir ( Sunay ve ark., 2012). Serotonin düzeyinin düşmesinin affektif agresyonu arttırdığı, serotonin düzeyinin artmasının da agresif davranışları azalttığına yönelik yapılmış çalışmalar vardır (Pihoker ve Nemeroff 1993). Hastalıklar, serotonin düzeylerinde değişikliğe sebep olabileceği gibi serotonin düzeylerinde ki farklılıklar da daha bir çok sistem üzerinde etkili olabilir. Bizim çalışmamızda; operasyon sonrası serotonin düzeylerinde kontrol, sham ve tedavi gruplarında ki artış serotonin düzeyleri üzerine multifaktöriyel uyarıların etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu konu, üzerinde yapılacak spesifik yeni araştırmalarla aydınlatılabilir. Deney grubunda serotonin düzeylerinde tespit edilen anlamlı düşme yapılan operasyonun baş edilemeyen fiziksel stresi olabilir (Jesberger ve Richardson, 1985). Tedavi grubuna uygulanan DS, denekler üzerinde ki ağrı stresinin azaltmış olabilir. Buna bağlı tedavi grubu serotonin düzeylerinde, deney grubu serotonin düzeylerinde ki baskılanma görülmemiş olabilir.



Operasyon öncesi ve sonrası alınan numunelerde, Wilcoxon Signed Ranks Test' i ile yapılan karşılaştırmalara göre: Tüm gruplarda operasyon sonrası plazma noradrenalin ve adrenalin düzeylerinde operasyon öncesi plazma noradrenalin ve adrenalin düzeylerine göre anlamlı ölçüde azalma olduğu tespit edilmiştir. Ratlarda kan örneği alınması strese neden olabilir: ratların taşınması, tutulması, işlemin invaziv niteliği bu stres kaynaklarına örnek verilebilir. Ratlardan kan alınırken anestezi kullanılması önerilmiştir (Petersen ve ark.,2006). Çalışmamızda deneklere uygulanan kuyruk veninden kan alma işlemi hayvanları akut fiziksel strese sokmuştur olabilir. Stres hormonları olarak da bilinen noradrenalin ve adrenalin seviyeleri; anestezi uygulanmadan kuyruk veninden alınan operasyon öncesi kan numuneleri ile operasyon sonrası anestezi uygulanarak alınan kan numuneleri karşılaştırıldığında, operasyon sonrası plazma noradrenalin ve adrenalin düzeylerinde anlamlı derecede azalma olduğu gözlenmiştir. Yine gruplar arası karşılaştırmada tedavi grubunda istatistiksel anlamlı noradrenalin düzeyi yüksekliği ve diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan fark olmaması bizi ASDH' un etkilerinden çok enjeksiyon stresinin olası etkisine yönlendirmektedir. Operasyon sonrası gruplar arası karşılaştırmada; sadece tedavi grubunda sham ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma olması diklofenak sodyumun, noradrenalin salıverilmesi ya da MAO ve COMT aktivitesi üzerine negatif etkili olabileceğini akla getirmektedir. Bu konuyu açıklamaya yönelik ileri tetkik ve araştırma gerekmektedir. Deney ve tedavi grubunda ışık mikroskopik düzeyde kontrol grubuna kıyasla normal histolojik yapıdaki nöronların sayıları azalmıştır. Çekirdekleri heterokromatik boyalı, piknotik görümlü ve stoplazmaları koyu boyanmış nöronlara rastlanmıştır. Tedavi grubunda, deney grubuna kıyasla nekroza giden nöronlar daha fazla gözlenmiştir. Literatürdeki, deneysel hayvan modelinde kafa travması oluşturulmuş deneklerde sekonder hasara benzer beyin zedelenmesi sonuçları ile çalışmamızın histolojik sonuçları benzerdir (Brierley ve ark., 1973; Miller ve ark., 1990; Sasaki ve Dunn, 2001) Histolojik bulgularımız; deney ve tedavi gruplarında toplam nöron sayılarının stereolojik analiz sonuçları ile uyumludur.

## 6. SONUÇLAR

- Stereolojik analizler sonucunda: Tedavi grubunun CA1 bölgesindeki ortalama nöron sayılarında, anlamlı ölçüde azalma olduğu bulunmuştur. Ayrıca tedavi grubunda ki ortalama nöron sayıları, deney grubunda ki ortalama nöron sayılarına göre anlamlı ölçüde azalmıştır. Deney grubu ile sham grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fakat deney grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark gözlenmiştir.
- Tedavi grubunun CA2 bölgesindeki ortalama nöron sayılar, kontrol ve sham grubunun ortalama nöron sayılarına göre anlamlı ölçüde azalma olduğu bulunmuştur. Deney grubu ile sham ve kontrol grubu CA2 bölgesindeki ortalama nöron sayıları arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
- Tedavi ve deney grubunun CA3 bölgesindeki ortalama nöron sayılarında, anlamlı ölçüde azalma olduğu bulunmuştur. Tedavi grubundaki ortalama nöron sayıları, deney grubunda ki ortalama nöron sayılarına göre de anlamlı ölçüde azalmıştır.
- Tedavi ve deney grubunun tüm hipokampus alanında ki ortalama nöron sayılarında, anlamlı ölçüde azalma olduğu bulunmuştur. Tedavi grubunda ki ortalama nöron sayıları, deney grubunda ki ortalama nöron sayılarına göre anlamlı ölçüde azalmıştır.
- Operasyon sonrası plazma numunelerinde ölçülen serotonin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması sonucunda istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır. Operasyon öncesi ve sonrası alınan numunelerde yapılan karşılaştırmalara göre: Deney grubunda; operasyon sonrası plazma serotonin düzeyinde anlamlı derecede azalma olduğu gözlenmiştir. Tedavi, sham ve kontrol grupları operasyon sonrası plazma serotonin düzeylerinde ise artma olduğu tespit edilmiştir .
- Operasyon sonrası noradrenalin plazma düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması ile tedavi grubunda noradrenalin düzeyinin sham ve kontrol grubu plazma düzeylerine göre anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir. Diğer gruplar arasında noradrenalin plazma düzeyleri arasında anlamlı bir farka rastlanılmamıştır. Operasyon öncesi ve sonrası alınan numunelerde yapılan karşılaştırmalara göre: Tüm gruplarda operasyon sonrası plazma noradrenalin düzeylerinde anlamlı ölçüde azalma saptandı.
- Operasyon sonrası plazma adrenalin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması sonucu istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır. Operasyon öncesi ve sonrası

alınan numunelerde, yapılan karşılaştırmalara göre: Tüm gruplarda operasyon sonrası plazma adrenalin düzeylerinde anlamlı ölçüde azalma olduğu tespit edilmiştir.

- Deney ve tedavi grubunda ışık mikroskopik düzeyde kontrol grubuna kıyasla normal histolojik yapıdaki nöronların sayılarında önemli ölçüde azalma izlenmiştir. Çekirdekleri heterokromatik boyalı, piknotik görünümlü ve stoplazmaları koyu boyanmış nöronlara sık rastlanmıştır. Tedavi grubunda, deney grubuna kıyasla nekroza giden nöronlar daha fazla gözlenmiştir.

## REFERANSLAR:

- Akyol, Ö., Ünal, S., 2003. Sinaps dışı ileti. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni. 13, 197-203.
- Alves, D., Duarte, I., 2002. Involvement of ATP-sensitive KC channels in the peripheral antinociceptive effect induced by dipyrrone. Eur. J. Pharmacol. 444, 47-52.
- Amaral, D., Lavenex, P., 2006. "Ch 3. Hippocampal neuroanatomy". Andersen P., Morris, R., Amaral, D., Bliss, T., O'Keefe J. The Hippocampus Book. Oxford University Press.
- Arıncı, K., Elhan A., 1997. Anatomi. Ankara Üniversitesi. Ankara. 400-434
- Ayalp, S., Şahin, Ş., Aksungar, F.B., Karşıdağ, S., 2012. Aurasız migrende trombosit serotonin düzeylerinin değerlendirilmesi. Ağrı. 24, 117-122.
- Aygün D., Kaplan S., Odacı E., Onger M.E., Altunkaynak M.E., 2012. Toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review of melatonin and diclofenac sodium association. Histol Histopathol Apr; 27(4): 417-36.
- Ayrancı, E., Altunkaynak B. Z., Aktaş A., Rağbetli M. Ç., Kaplan S., 2013. Prenatal exposure of diclofenac sodium affects morphology but not axon number of the median nerve of rats. 51 (1): 76-86
- Bach-y-Rita, P. 2002. Volume transmission and brain plasticity. cPS.PUB.P.S. 8, 115-122
- Baddeley, A., Jensen, E.B.V., 2005. Stereology for statisticians. Chapman and Hall/CRC, Boca Raton.pp.2-10
- Bakkaloğlu, B., Yabanoğlu, S., Rezzan, B., Gülberk, Ö., Aygün, U., Demir, E.B., Uluğ, B., 2008. Platelet and plasma serotonin levels and platelet monoamine oxidase activity in patients with major depression: Effects of sertraline treatment. Turk. J. Biochem. 33, 97-103.
- Balcıoğlu, İ.2002. Anksiyete bozukluklarının psikoendokrinolojisi. Anadolu Psikiyatri Dergisi 3, 45-51.
- Brierley, J.B., Meldrum, B.S., Brown, A.W., 1973. The threshold and neuropathology of cerebral "anoxic-ischemic" cell change. Arch. Neurol. 29, 367-374.
- Broglio, C., Gómez, A., Durán, E., Ocana, F.M., Jiménez-Moya, F., Rodríguez, F.,

- Salas, C., 2002. Hallmarks of a common forebrain vertebrate plan: Specialized pallial areas for spatial, temporal and emotional memory in actinopterygian fish. *Brain Res. Bull.* 57, 397–399.
- Brunton, L.L., Lazo J.S., Parker K.L., 2009. Goodman and Gilman tedavinin farmakolojik temelleri. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul. 26,671-675
- Bullock, M.R., Chesnut, R., Ghajar, J., Gordon, D., Hartl, R., Newell, D.W., 2006. Surgical managemet of acute subdural hematomas. *Neurosurgery.* 58, 16-24.
- Bullock, M.R., Hovda, D.A., 2011. Neurological surgery. Biomechanical basic of traumatic brain injury. Chapter 324. Meaney D.F., Olvey S.E., Gennarelli T. A.,Eds. Elsevier, Philidelphia.3277-3288
- Canan, S., Aktaş, A., Ulkay, M.B., Colakoglu, S., Ragbetli, M.C., Ayyildiz, M., Geuna S., Kaplan S., 2008. Prenatal exposure to a non-steroidal anti-inflammatory drug or saline solution impairs sciatic nerve morphology: A stereological and histological study. *Int. J. Dev. Neurosci.* 26, 733-738.
- Cernak, I., 2005. Animal models of head trauma. *Neuro. Rx.* 2, 410–422.
- Chang, J.K., Wang, GJ., Tsai, S.T., Ho, M.L., 2005. Nonsteroidal anti-inflammatory drug effects on osteoblastic cell cycle,cytotoxicity, and cell death. *Connect. Tissue Res.* 46, 200–210.
- Cohen, J.H., Eger, K., Montero, A., Israel, Z., 1998. Rapid spontaneous resolution of acute subdural hematoma and HIV related cerebral atrophy. *Surg. Neurol.* 50, 241-244.
- Crooks, C.Y., Zumsteg, J.M., Bell, K.R., 2007. Traumatic brain injury: A review of practice management and recent advances. *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* 18, 681–710.
- Crooks, C.Y., Zumsteg, J.M., Bell, K.R., 2007. Travmatic brain injury : A review of practice management and recent advances. *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* 18, 681-710.
- Dooley, A.E., Pappas, I.S., Parnavelas, J.G. , 1997. Serotonin promotes the survival of cortical glutamatergic neurons in vitro. *Exp. Neurol.* 148, 205-214.
- Duhaime, A.C., Gennarelli L.M., Boardman C., 1996. Neuroprotection by dextromethorphan in acute experimental subdural hematoma in the rat. *J Neurotrauma.* Feb; 13(2):79-84

- Ganong, W., 2005. Review of Medical Physiology (22. edition), McGraw-Hill Companies, Columbus, ABD, 928s.
- Gökçimen, A., Rağbetli, M.C., Baş, O., Tunc, A.T., Aslan, H., Yazici, A.C., Kaplan, S., 2007. Effect of prenatal exposure to an anti-inflammatory drug on neuron number in cornu ammonis and dentate gyrus of the rat hippocampus: A stereological study. *Brain Res.* 1127, 185-192.
- Grady, M.S, Charleston. J.S., Maris, D., Witgen, B.M., Lifshitz, J., 2003. Neuronal and glial cell number in the hippocampus after experimental traumatic brain injury: Analysis by stereological estimation. *J. Neurotrauma.* 20, 929-941.
- Graham, D.I., Lantos P.L., 2002. Greenfield' s neuropathology. Arnold Publishers. London. pp.20-23.
- Graham, D.I., McIntosh, T.K., Maxwell, W.L., Nicoll, J.A., 2000. Recent advances in neurotraum. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 59, 641– 651.
- Greenberg, M.S., 2001. Head travma in handbook of neurosurgery. Thime. New York, 626-686.
- Gundersen, H.J.G., 1986. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones in memory of William R Thomson. *J. Microsc.* 143, 3-45
- Gundersen, H.J.G., Jensen, E.B., 1987. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J. Microsc.* 147, 229-263.
- Guyton, A.C., Hall, I.E., 1996. Tibbi fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. pp. 57, 733-734.
- Haselberger, K., Puncher, R., Auer, R., 1988. Prognosis after acute subdural or epidural heamorrhage. *Acta Neurochir.* 90, 111-116.
- Hausmann, R., Biermann, T., Wiest, I., Tübel, J., Betz, P., 2004. Neuronal apoptosis following human brain injury. *Int. J. Legal. Med.* 118, 32–36.
- Hemmings, H., Hopkins, P., 2000. Foundation of anesthesia. Harcourt Publishers Limited. St Louis. pp. 179-200.
- Hensler, J.G., 2010. Handbook of the behavioral neurobiology of serotonin. Chapter: Serotonin in mood and emotion. 21,367–378.
- Howland, R.D., Mycek, M.J., 2009. Lippincott's illustrated reviews: Farmakoloji. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul. pp 495-503.

- Jesberger, J.A., Richardson, J.S., 1985. Neurochemical aspects of depression. The past and the future? *Int. J. Neurosci.* 27, 19-47.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, M.T., 2000. *Principles of Neuronal Science*. McGraw Hill. New York. pp. 67-296.
- Kato, N., Tsunoda, T., Matsumura, A., Yanaka, K., Nose, T., 2001. Rapid spontaneous resolution of acute subdural hematoma occurs by redistribution. *Neurol. Med. Chir.* 41, 140-143.
- Katzung, B.G., Masters, S.B., Trevor, A.J., 2009. *Basic and clinical pharmacology*. 11th Ed. Lange Medical Publications. Singapore. pp. 271-292.
- Kayaalp, O., 2002. *Tıbbi farmakoloji. Hacettepe-Taş Kitabevleri*. Ankara. pp. 92-960.
- Koc, R.K., Akdemir, H., Okdem, I.S., Meral, M., Menkü, A., 1977. Acute subdural hematoma: Outcome and outcome predictors. *Neurosurg. Rev.* 20, 239-244.
- Kudo, C., Kori, M., Matsuzaki, K., Yamai, K., Nakajima, A., Shibuya, A., Niwa, H., Kamisaki, Y., Wada, K., 2003. Diclofenac inhibits proliferation and differentiation of neural stem cells. *Biochem. Pharmacol.* 66, 289-295.
- Kusuhara, H., Komatsu, H., Sumichika, H., Sugahara, K., 1999. Reactive oxygen species are involved in the apoptosis induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cultured gastric cells. *Eur. J. Pharmacol.* 383, 331-337.
- Lam, D.D., Garfield, A.S., Marston, O.J. Shaw, J., Heisler, L.K., 2010. Brain serotonin system in the coordination of food intake and body weight. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 97, 84-91.
- Manunta, Y., Edeline J.M., 2004 Noradrenergic induction of selective plasticity in the frequency tuning of auditory cortex neurons. *J. Neurophysiol* 92, 1445-1463.
- Merens, W., Van der Does A.J.W., Spinhoven P., 2007. The effects of serotonin manipulations on emotional information processing and mood. *J. Affect. Disord.* 103, 43-62.
- Miller, J.D., Bullock, R., Graham, D.I., Chen, M.H., Teasdale, G.M., 1990. Ischemic brain damage in a model of acute subdural hematoma. *Neurosurgery.* 27, 433-439.
- Moore, K.L., 1893. *Developing Human*, 3rd. Edition, Philadelphia, W.B. Saunders.

- Muller, D., Djebbara-Hannas, Z., Jourdain, P., Vutskits, L., Durbec, P., Rougon, G., Kiss, J.Z., 2000. Brain-derived neurotrophic factor restores long-term potentiation in polysialic acid-neural cell adhesion molecule-deficient hippocampus, *P. N. A. S.* 97, 4315-4320.
- O'Connor, W.T., Smyth, A., Gilchrist, M.D., 2011. Animal models of traumatic brain injury: A critical evaluation. *Pharmacol. Ther.* 130, 106–113.
- Ozyurt, B., Kesici, H., Alıcı, S.K., Yılmaz, S., Odacı, E., Aslan, H., Rağbetli, M.Ç., Kaplan, S., 2011. Prenatal exposure to diclofenac sodium changes the morphology of the male rat cervical spinal cord: A stereological and histopathological study. *Neurotoxicol Teratol.* 33, 282-287.
- Özdoğan, L., Ayerden, T., Örnek, D., Şaştım, H., Kılıcı, O., Ün, C., Dikmen, B., 2011. The neurotoxic effect of intrathecal diclofenac sodium in rats. *Kafkas Uni. Vet. Fak. Derg.* 17, 309-314.
- Patel, K.P., Li, Y., Hirooka, Y., 2001 Role of nitric oxide in central sympathetic outflow. *Exp. Biol. Med.* 226, 814-824.
- Pihoker, C., Nemeroff, C., 1993. The role of corticotropin-releasing factor in the pathophysiology of anxiety disorders. Sarie, R.H., Meleod, D.R. (Eds): *Biology of Anxiety Disorders*, American Psychiatric Press.
- Pollay, M., 1996. Blood-brain barrier; cerebral edema. In: Wilkins RH, Rengachary SS (Eds). *Neurosurgery*. New York. McGraw-Hill. pp. 335-344.
- Reilly, P.L., 2001. Brain injury: The pathophysiology of the first hours. 'Talk and Die revisited'. *J. Clin. Neurosci.* 8, 398–403.
- Ressler, K.J., Nemeroff, C.B., 2000. Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders, *Depress Anxiety*, 12, 2-19.
- Safaz, I., Alaca, R., Yaşar, E., Tok, F., Yılmaz, B., 2008. Medical complications, physical function and communication skills in patients with traumatic brain injury: A single center 5-year experience. *Brain Injury*. 22, 1-7.
- Sapolsky, R., 2005. *Biology and human behavior: The neurological origins of individuality*. 2nd edition. The Teaching Company. pp.13- 14.
- Sasaki, M., Dunn, L., 2001. A model of acute subdural hematoma in the mouse. *J. Neurotrauma*. 18, 1241-1246.



- Sasaki, M., Dunn, L., 2001. A model of acute subdural hematoma in the mouse. *J. Neurotrauma*. 18, 1241-1246.
- Schmitz, C., 1998. Variation of fractionator estimates and its prediction. *Anat Embryol*. 198, 371-397.
- Servedai, F., Nasi, M.T., Cremonini, A.M., Giuliani, G., Cenn, P., Nanni, A., 1998. Importance of a reliable admission glasgow coma scale score for determining the need for evacuation of posttraumatic subdural hematomas: A prospective study of 65 patient. *J. Taruma*. 44, 868-873.
- Siegel, G.J., 2006. Basic neurochemistry molecular, cellular and medical aspects, 7th Ed. Elsevier Academic Press Burlington. USA. pp. 227-248.
- Simons, L.S., 1994. Actions and toxic effects of nonsiteroidal anti-inflammmatory drugs. *Curr Opin. Rhueumatol*. 6, 38–251.
- Siu, S.S.N., Yeung, J.H.K., Lau, T.K., 2000. A study on placental transfer of diclofenac in first trimester of human pregnancy. *Hum. Reprod*. 15, 2423–2425.
- Sorrells, S.F., Sapolsky, R.M., 2007. An inflammatory review of glucocorticoid actions in the CNS. *Brain Behav. Immun*. 21, 259–272.
- Stålnacke, B.M., 2012. Postconcussion symptoms in patients with injury-related chronic pain. *Rehabil. Res. Pract*. 2012, 528265.
- Sterio, D.C., 1984. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J. Microsc*. 134, 127-136.
- Taner, D., 1998 Fonksiyonel anatomi. ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim. A.S.-Metu Press-Yayımları. Ankara. pp. 231-232.
- Todd, P.A., Sorkin, E.M., 1988. Diclofenac sodium. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and theapeutic efficacy. *Drugs*. 35, 244–285.
- Toft M.F., Petersen M.H., Dragsted N., Hansen A.K., 2006. The impact of different blood sampling methods on laboratory rats under different types of anaesthesia. *Lab. Anim*. 40, 261-74
- Toker, L., Amar, S., Bersudsky, Y., Benjamin, J., Klein, E. .2010. The biology of tryptophan depletion and mood disorders. *Isr. J. Psychiatry. Relat. Sci*. 47, 46-55.
- Tran, L.D., Lifshitz, J., Witgen, B.M., Schwarzbach, E., Cohen, A.S., Grady, M.S.,

2006. Response of the contralateral hippocampus to lateral fluid percussion brain injury. *J. Neurotrauma*. 23, 1330–1342.
- Türk Fizyolojik Bilimler Derneği., 2002. *Ganong Tıbbi Fizyoloji . Nobel Tıp Kitabevleri*. İstanbul. pp. 1-115.
- Vizi, E.S., 2000. Role of high-affinity receptors and membrane transporters in nonsynaptic communication and drug action in central nervous system. *Pharmacol. Rev.* 52, 63-90.
- West, M.J., Slomianka, L., Gundersen, H.J., 1991. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat. Rec.* 231, 482-497.
- Yıldırım, H.İ, Öztürk, T., Esen, M., 2011. Akut subdural hematomun spontan rezolüsyon ve redüktirbüsyonu: BT ve MR bulguları. *Fırat Tıp Dergisi* . 16, 137-140.
- Zwienenberg-Lee, M., Muizelaar, JP., 2004. *Clinical pathophysiology of traumatic brain injury in youmans neurological surgery*. Win, H.R. Saunders. Philadelphia. pp. 5039-5064.