

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL KAFA TRAVMASI OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA ERİTROPOETİN, DEKSTRAN VE SALİN
KOMBİNASYONUNUN LİPİD PEROKSİDASYONU VE
BEYİN ÖDEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Tezi Hazırlayan
Dr. Seyit Kağan BAŞARSLAN**

**Tezi Yöneten
Doç. Dr. Ahmet MENKÜ**

**Nöroşirurji Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi**

**Aralık 2008
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL KAFA TRAVMASI OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA ERİTROPOETİN, DEKSTRAN VE SALİN
KOMBİNASYONUNUN LİPİD PEROKSİDASYONU VE
BEYİN ÖDEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Tezi Hazırlayan
Dr. Seyit Kağan BAŞARSLAN**

**Tezi Yöneten
Doç. Dr. Ahmet MENKÜ**

**Nöroşirurji Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi**

**Aralık 2008
KAYSERİ**

Doç. Dr. Ahmet MENKÜ danışmanlığında **Dr. Seyit Kağan BAŞARSLAN** tarafından hazırlanan “**Deneysel Kafa Travması Oluşturulan Sıçanlarda Eritropoetin, Dekstran ve Salin Kombinasyonunun Lipid Peroksidasyonu ve Beyin Ödemi Üzerine Etkileri**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalında **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

19/12/2008

JÜRİ:

Danışman : Doç. Dr. Ahmet MENKÜ

Üye : Prof. Dr. R. Kemal KOÇ

Üye : Prof. Dr. Ali KURTSOY

Üye : Doç. Dr. İ. Suat ÖKTEM

Üye : Doç. Dr. Füsun Ferda ERDOĞAN

**ONAY:**

Bu tezin kabulü, Tıp Fakültesi Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.../.../2009

Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL
Fakülte Dekanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimleriyle eğitimime olan katkılarından dolayı hocalarım Prof. Dr. Ahmet SELÇUKLU, Prof. Dr. R. Kemal KOÇ, Prof. Dr. Ali KURTSOY, Doç. Dr. İ. Suat ÖKTEM ve Yrd. Doç. Dr. Bülent TUCER'e, tez danışmanım Doç. Dr. Ahmet MENKÜ'ye, tezimin yapılmasında yardımlarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı öğretim görevlisi Prof. Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU ve Asistanı Dr. Didem KETİ'ye, Biyoistatistik Bilim Uz. Ruşen EREZ'e teşekkür ederim.

İhtisasım süresince desteklerini esirgemeyen aileme ise müteőekkirim.

Dr. Seyit Kağan BAŞARSLAN

DENEYSEL KAFA TRAVMASI OLUŞTURULAN SIÇANLARDA ERİTROPOETİN, DEKSTRAN VE SALİN KOMBİNASYONUNUN LİPİD PEROKSİDASYONU VE BEYİN ÖDEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZET

Amaç: Deneysel kafa travması oluşturulan sıçanlarda gelişen beyin hasarı ve ödemeine karşı eritropoetin, dekstran ve salin kombinasyonunun koruyucu etkisini araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Çalışmada ağırlıkları 250-340 g arasında değişen 40 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Her biri 10 adet sıçan içeren 4 deney grubu oluşturuldu. Bütün sıçanlara kafa travması oluşturuldu ve ilaçlar intraperitoneal (ip) yolla travmadan 10 dk. sonra verildi. Kontrol grubuna (**K**) diğer gruplarla eşit volümde serum fizyolojik enjekte edildi. 1.gruba Eritropoetin (**EPO**) 5000 Ü/kg verildi. 2.gruba dekstran ve salin (**DS**) 8 ml/kg verildi. Son gruba da aynı doz ve miktarlarda eritropoetin, dekstran ve salin (**EPO+DS**) beraberce verildi. 24 saat sonra sıçanlar sakrifiye edilerek beyin dokuları çıkarıldı. Sağ hemisferde yaş ve kuru ağırlık çalışıldı. Sol hemisferde Glutasyon Peroksidaz (**GPx**) aktivitesi ve Malondialdehit (**MDA**) miktarı ölçüldü.

Bulgular: Kontrol grubuna göre diğer gruplarda beyin ödeminin ve lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA'nın değişik oranlarda azaldığı, antioksidan enzim olan GPx aktivitesinin arttığı tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışmada, kafa travması oluşturulan sıçanlarda gelişen beyin ödemi ve oksidatif stresin oluşturduğu sekonder beyin hasarının eritropoetin, dekstran ve salin kombinasyonu kullanılarak azaltılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kafa Travması, Antioksidanlar, Eritropoetin, Dekstran, Salin, Beyin Ödemi ve Oksidatif Stres.

THE EFFECTS OF ERYTHROPOIETIN, DEXTRAN AND SALINE MANAGEMENT ON BRAIN EDEMA AND LIPID PEROXIDATION IN A RAT MODEL

ABSTRACT

Object: The aim of this study is to investigate the protective effects of dextran, saline and erythropoietin on the brain edema and lipid peroxidation in a rat model.

Materials and Methods: In the study, 40 male albino Wistar rats at 3 months old and weighting 250-340 g were used. Animals were divided into 4 experimental groups, each consisting of 10 rats. All rats were induced to traumatic brain injury by weight-drop method and the solutions were injected intraperitoneally in 10 minutes after trauma. Edema was quantitated by the wet-dry method. Control animals (C) received equal vehicle with the other groups. Group 1 rats were injected with erythropoietin (EPO) (5000 U/kg). Group 2 rats were injected with dextran and saline (DS) (8 ml/kg). Group 3 rats were injected with the combination of erythropoietin, dextran and saline (EPO+DS) in the same dose with the other groups. All rats were harvested at the end of 24 hours. Tissue water content was evaluated in right hemisphere and the activity of Glutathione Peroxidase (GPx) and the levels of Malondealdehyde (MDA) were measured in left hemisphere.

Results: The brain edema and the levels of MDA, which is the last product of lipid peroxidation in tissues, were decreased variably and the activity of GPx, which is an antioxidant enzym, were increased in others compared to the control group.

Conclusion: It was determined that brain edema and oxidative stress caused secondary brain damage could be decreased by the administration of erythropoietin, dextran and saline after severe head trauma in the rats.

Key Words: Severe Head Trauma, Antioxidants, Erythropoietin, Dextran, Saline, Brain Edema and Oxidative Stress.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Kafa Travması.....	3
2.1.1.Kafa Travmasının Epidemiyolojisi.....	3
2.1.2.Kafa Travmalarında Tanı.....	4
2.1.3.Kafa Travmalarında Tedavi.....	6
2.1.4.Beyin Ödemi.....	7
2.1.5.Kan-Beyin Bariyeri.....	8
2.1.6.İkincil Hasarın Beyin Üzerine Etkileri.....	9
2.1.7.Serebral Kan Akımı ve Perfüzyon Basıncı.....	10
2.1.8.Kafa İçi Basınç Artışı.....	11
2.1.9.İskemik/Hipoksik Beyin Hasarı.....	11
2.2.Serbest Radikaller.....	12
2.2.1.Serbest Radikal Kaynakları.....	13
2.2.1.1.Endojen Serbest Radikal Kaynakları.....	13
2.2.1.2.Ekzojen Serbest Radikal Kaynakları.....	14
2.3.Serbest Oksijen Radikalleri.....	15
2.3.1.Süperoksit Radikali.....	15
2.3.2.Hidrojen Peroksit.....	15
2.3.3.Hidrojen Radikali.....	15
2.3.4.Hipoklorit Asit.....	16
2.3.5.Singlet Oksijen.....	17
2.4.Lipidlerde Oksidatif Hasar.....	17
2.5.Antioksidanlar.....	19
2.5.1.Enzimatik Antioksidanlar.....	20
2.5.1.1.Glutatyon Peroksidaz.....	20
2.5.1.2.Süperoksit Dismutaz.....	21
2.5.1.3.Katalaz.....	21
2.5.1.4.Sitokrom Oksidaz.....	21
2.5.2.Non-Enzimatik Antioksidanlar.....	21
2.5.2.1.Vitamin E.....	21
2.5.2.2.Vitamin A.....	21
2.5.2.3.Vitamin C.....	21
2.5.2.4.Melatonin.....	21
2.5.2.5.Eritropoetin (EPO).....	22
2.6.Hipertonik Salın.....	27
2.7.Dekstran.....	30
3.MATERYAL VE METOD.....	32
3.1.Materyal.....	32
3.2.Metod.....	34
3.2.1.Dokunun Hazırlanması.....	35
3.2.2.Glutatyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü.....	35
3.2.3.MDA Miktarının Tayini.....	36
3.2.4.Yaş ve Kuru Ağırlığın Ölçülmesi.....	37
3.3.İstatistiksel Değerlendirme.....	37
4.BULGULAR.....	38
4.1.Beyin Dokusu Bulguları.....	38
4.2.Yaş ve Kuru Ağırlık Bulguları.....	39
5.TARTIŞMA.....	41
6.SONUÇ.....	55
7.KAYNAKLAR.....	56

KISALTMALAR

AKT	Ağır Kafa Travması
BKA	Beyin Kan Akımı
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BPB	Beyin Perfüzyon Basıncı
BVD	Beyin Vasküler Direnç
c-AMP	siklik adenozin 3'-5' mono fosfat
c-GMP	siklik guanozin 3'-5' monofosfat
CYP450	Sitokrom P 450
DS	Dekstran+Salin Grubu
EPO	Eritropoetin Grubu, Eritropoetin
EPO+DS	Eritropoetin+Dekstran+Salin Grubu
EPO-R	Eritropoetin Reseptörü
ETZ	Elektron Transport Zinciri
GKS	Glaskow Koma Skalası
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	İndirgenmiş Glutasyon, Glutasyon
GSSG	Yükseltgenmiş Glutasyon
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HOCl	Hipokloröz Asit
K	Kontrol Grubu
KBB	Kan-Beyin Bariyeri
KİB	Kafa İçi Basıncı
KİBA	Kafa İçi Basıncı Artışı
LPO	Lipid Peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
MI	Miyokard Enfarktüsü
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
¹ O ₂	Singlet Oksijen
O ₂	Oksijen
O ₂ ⁻	Süperoksit Radikali
OAKB	Ortalama Arteriyel Kan Basıncı
OH	Hidroksil Radikali
rEPO	Rekombinant İnsan Eritropoetin
SAK	Subaraknoid Kanama
SKA	Serebral Kan Akımı
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
SSS	Santral Sinir Sistemi
XO	Ksantin Oksidaz

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kafa travmaları; öldüren, sakat bırakan, uzun süre tedavi ve bakım gerektiren en önemli sağlık problemlerinden biridir. Gün geçtikçe hızlanan sosyal ve teknolojik yaşam, kafa travmalarının insidansını ve buna bağlı mortalite ve morbidite riskini giderek artırmaktadır (1). Travmaya maruz kalanların çoğu 65 yaşın altındaki erişkin kesimdir. Bu popülasyonda en sık rastlanan ölüm sebebi kalp hastalığı, kanser gibi hastalıklardan ziyade travmalardır. Dolayısıyla bu nüfusun kaybı, verimli olabilecek bir ömür ve işgücü kaybı anlamına gelmektedir (2).

Ağır kafa travmasında morbidite ve mortaliteyi etkileyen travmaya bağlı birincil faktörleri; kafa içi basınç artışı (KİBA), herniasyon, beyin ödemi, beyin iskemisi gibi ikincil faktörlerden ayırmak tedaviyi planlamak açısından son derece önemlidir (3).

Beyinin, oksijensizliğe ve oksidatif strese tahammülü diğer organlara göre daha azdır. Bu nedenle beyinin travmaya karşı antioksidan mekanizmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Travmaya maruz kalan beyin, oksidantlara karşı korunduğu oranda normal fizyolojisine dönmesi beklenir (4).

Sekonder beyin hasarının önemli bir nedeni, travma sonrası açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşturduğu lipid peroksidasyonudur. Bu yüzden nöron hasarını önlemek ve kötü nörolojik sonuçları düzeltmek için SOR oluşmasını veya dağılımını azaltmak gerekmektedir. SOR'u inhibe eden ajanların, travma veya iskemi sonrası oluşan kötü nörolojik tabloyu olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (5).

Hematopoetik bir hormon olan ve anemi tedavisinde kullanılan eritropoetin (EPO), beyini koruyucu özelliklerinin olduğu son zamanlarda yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (6).

Deneysel olarak oluşturulan beyin hasarında %7.5'luk salin kullanımının, kafa içi basıncını (KİB) azalttığı pek çok çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca antioksidan enzim olan katalaz ve GPx aktivitesini artırarak MDA oluşumunu azaltmakta, böylece sekonder beyin hasarını hafifletmektedir (7).

Dekstran; serebral kan akımını artırır, serebrovasküler konstrüksiyonu reaktif ederek hemostaz sağlar, vizkositeyi değiştirerek beyinde osmotik gradiyent oluşturur. Dekstran ve hipertonic salin, oksijen basıncı ve serebral kan akımını artırarak, serebrovasküler direnci azaltır. Sağlam olan kan-beyin bariyer bölgesinin sıvı içeriğini azaltarak KİB'i düşürürken beyin perfüzyon basıncını (BPB) artırır (8).

Biz de bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan kafa travmasında eritropoetin, salin ve dekstran'ın lipid peroksidasyonu ve beyin ödemi üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KAFA TRAVMASI

Saçlı deri yaralanmalarından, yaygın beyin hasarına kadar değişen bir çok klinik duruma *kafa travması* denilmektedir. Gün geçtikçe hızlanan sosyal ve teknolojik yaşam, kafa travmalarının insidansını ve buna bağlı mortalite-morbidite riskini giderek artırmaktadır (1). Travmanın mekanik etkisiyle doku bütünlüğü bozulur ve sinir hücreleri hasar görür. Buna *birincil zedelenme* denir. Travmayı takiben ilerleyen dakikalar, saatler ve hatta günler içerisinde birincil travmaya cevap olarak gelişen hipoksi, iskemi, KİBA, beyin ödemi gibi bir takım karışık fizyopatolojik olaylar nöronal hasarı artırır. Buna da *ikincil zedelenme* denir (9).

2.1.1. KAFA TRAVMASININ EPİDEMİYOLOJİSİ

Kafa travmaları, hem gelişmiş ülkelerde hem de ülkemizde görülen çocuk ve genç erişkin ölümlerinin en önemli sebebini oluşturmaktadır. Trafik kazaları ve yüksekten düşmeler en sık görülen nedenlerdir. Sonra darp, iş, ev ve spor kazaları gelmektedir. Alkol, çoğunda hazırlayıcı faktördür ve kafa travması geçirenlerin %56'sının alkollü olduğu görülmüştür. Kırsal kesimlerde ve sosyo-ekonomik seviyesi düşük toplumlarda ise ateşli silah yaralanmaları daha sık görülür (2). Çocukluk çağındaki birçok yaralanma bisiklete binen grupta görülmekte olup, karayolu kazalarından ziyade bisikletten veya yüksekten düşme şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Ev içinde ya da ev çevresinde meydana gelen hafif şiddetteki yaralanmalar da genellikle yüksekten düşmelere bağlıdır. Ayrıca düşmeler yaşlı popülasyonda da sıktır. Bütün alışmalar 15 ile 25 yaş grubunun yüksek risk altında olduğunu göstermektedir (10).

Cinsiyete göre travmaya daha çok erkeklerin maruz kaldığı anlaşılmaktadır. Kadın erkek oranı 1/3'dür (2).

Spor yaralanmalarına ise daha çok genç popülasyonda rastlanmakta ve bunlarda daha az ciddi komplikasyonlar gelişmektedir. Hokey, binicilik, dağcılık ve motor sporlarında ciddi kafa travması oluşma şansı fazladır (11).

Genel travmaya bağlı ölümlerin yarısından kafa travması sorumludur. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 2 milyon kafa travması meydana gelmekte ve her 100 bin kişiden 175-200'ünde AKT görülmektedir. Her yıl en az 75 bin kişi bu nedenle hayatını kaybetmektedir. Yapılan çalışmalarda genç yaş popülasyonundaki ölümlerde travma birinci neden olarak gösterilmiştir. Tüm yaş gruplarında ise kardiovasküler hastalıklar ve kanserden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (12,13). Ülkemizde yapılan araştırmalarda AKT sonucu her yıl 100.000'de 300 kişi hastaneye yatmakta ve bunların 9'u ölmektedir (14).

Kafa travmasına bağlı ölümlerin %50'si hastaneye ulaşmadan gelişmektedir. Hastanedeki ölümlerin 2/3'ü ise ilk 24 saatte gerçekleşmektedir. Bu ölümlerin 1/3'ü birincil beyin hasarına bağlı iken, 2/3'ü ikincil beyin hasarına bağlıdır. İkincil beyin hasarına bağlı ölümlerin %90'ı kontrol edilemeyen KİBA ile ilgilidir. Son yıllarda, kafa travmalarının fizyopatolojisi hakkındaki bilgilerde artış, yoğun bakımdaki hasta izleme ve bakım tekniklerindeki gelişmelere bağlı olarak mortalite oranı %20'lere kadar azalmış ve prognoz belirgin olarak düzelmiştir (13).

2.1.2. KAFA TRAVMALARINDA TANI

Acil servise getirilen AKT'li hastaların %45'inde arteriyel pO₂ 65 mm Hg'dan düşük, %35'inde sistolik kan basıncı 85 mmHg'dan az ve %12'sinde anemi tesbit edilmiştir (15). Bu hastalarda hipoksi, hipotansiyon ve aneminin bulunması ikincil beyin hasarı yönünden büyük risk taşımaktadır. Kardiyopulmoner fonksiyonlar kontrol altına alındıktan sonra hızla nörolojik muayene yapılmalıdır.

Nörolojik Muayene: Halen kafa travmalı hastaların takibinde en önemli değerlendirme yöntemidir. Hastalardan veya hasta yakınlarından iyi bir anemnez alınmalı, kan basıncı, nabız, solunum ve kan gazı takibi yapılmalıdır.

Şuur seviyesi, pupiller, motor fonksiyonlar ve göz hareketleri incelenir. Kafa travması ile birlikte olabilen metabolik patolojiler şuur baskılayabileceğinden hatırd tutulmalıdır (16).

Bugün pek çok nöroşirurji kliniğinde beyin hasarının şiddetini pratik olarak en iyi gösterdiği kabul edilen Glasgow Koma Skalası (GKS) kullanılmaktadır. GKS, şuur, travmanın şiddetini ve beyin korteksinin fonksiyonları hakkında önemli bilgiler verir. İlk olarak Teasdale ve Jennett'in (17) tanımladığı GKS, nörolojik takibi göstermek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Tablo 1). Göz, motor ve konuşma fonksiyonlarının basitçe değerlendirilmesi esasına dayanır ve AKT'lerinde prognostik değeri vardır. GKS skoru kabaca 8 ve altında ise **ağır kafa travması**, 9 ve 12 arasında ise **modere kafa travması**, 13 ve üstünde ise **hafif kafa travması** olarak kabul edilir (18).

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

Göz Açma (G) Skor	Motor Cevap (M) Skor	Sözel Cevap (S) Skor
Kendiliğinden 4	İstenileni yapar 6	Oryante 5
Sesli uyarıyla 3	Ağrıyı Lokalize Eder 5	Konfüze 4
Ağrılı uyarıyla 2	Ağrı İle Çeker 4	Uygunsuz Cevap 3
Cevap yok 1	Fleksör Cevap 3	Anlaşılmaz Ses 2
	Ekstensör Cevap 2	Cevap Yok 1
	Cevap Yok 1	

G+ M+S = 15 (Sağlıklı Birey)

Radyolojik çalışmalar: Endikasyona göre şu tetkikler yapılmaktadır (18).

- Direkt kafa grafileri
- Bilgisayarlı beyin tomografisi
- Manyetik rezonans görüntüleme
- Transkranyal Doppler
- Anjiyografi

- Elektroensefalografi
- Pozitron Emisyon Tomografi
- Beyin sapı uyarılma potansiyelleri
- Kraniyal ultrasonografi

2.1.3. KAFA TRAVMALARINDA TEDAVİ

Kafa travmalı hastaların takip ve tedavisinde temel amaç sistemik ve nörolojik dengenin sağlanmasıdır. Bunun için yeterli BPB'nin sağlanması ve KİBA'nın engellenmesi çok önemlidir. Ayrıca hipoksi, hipotansiyon, epilepsi, elektrolit dengesizliği gibi ikincil beyin hasarı oluşturan durumlardan şiddetle kaçınılmalıdır (19). Genel olarak şu önlemler alınmalıdır;

- a) Dolaşımın düzenlenmesi ve ortalama arteriyel kan basıncının artırılması
- b) Solunumun düzenlenmesi ve arteriyel oksijenizasyon
- c) Başın 30° kaldırılması (semifowler)
- d) Epilepsi profilaksisi
- e) KİB monitörizasyonu ve BOS drenajı
- f) Osmotik tedavi (mannitol 0.25-2 g/kg)
- g) Diüretikler
- h) Barbitüratlar
- i) Hipotermi: BKA ve oksijenin serebral metabolizma hızını azaltarak KİB'i düşürür.
- J) Hiperventilasyon: Arteriyel PaCO₂ 30-35 mmHg civarında tutularak serebral damarlarda vazokonstrüksiyon ile kan konjesyonu ve KİBA kısmen önlenir.
- k) Steroidler
- l) Antioksidanlar

2.1.4. BEYİN ÖDEMI

Ağır kafa travması serebrovasküler dolaşımdaki otheregölasyonu bozarak ödem gelişmesine yol açar. Beyin ödeminin bir çok fizyopatolojik tanımlamaları yapılmıştır:

Vazojenik ödem: KBB bütünlüğünün bozulmasıyla damar içi hidrostatik basınç etkisiyle plazma hücreler arası boşluğa sürüklenir. Bu geçiş suyu da beraberinde taşır. Birikim daha çok beyaz cevherde olur. Vazojenik ödem 6. saatten sonra gelişir ve 12-24'üncü saatler arasında en yüksek seviyeye çıkar. Kontüzyonların çevresindeki perifokal ödem vazojenik tiptedir (20).

Sitotoksik (sellüler) ödem: İskemiye takiben sinaptik aralıkta biriken eksitatuvar aminoasitlerin ilgili reseptörleri aşırı uyarmasıyla hücre membranında bulunan Na^+/K^+ iyon pompası desensitize olmakta ve hücrede sodyum ve kalsiyum birikmektedir. Sodyumu su izlemekte ve kalsiyum artışı da hücre içinde destürüktif mekanizmaları harekete geçirmektedir. Sonuçta glial hücre zarında iyon alışverişinin durmasını takiben hücreler arası boşlukta sodyum ve su birikmektedir.

İntersitisyel ödem: Hidrosefalide olduğu gibi ventrikül içi basınç, doku basıncından yüksek olduğunda BOS, epandimden periventriküler beyaz cevherdeki hücrelerarası alana geçer. Vazojenik ödemden ödem sıvısının BOS özelliğinde olması ve KBB'nin sağlam olmasıyla ayrılır.

Hidrostatik ödem: Sistemik hipertansiyon ile serebroventriküler otheregölasyonun bozulması sonucu oluşur.

Osmotik ödem: Plazma ozmolaritesi çeşitli nedenlerle düşerse artan ozmotik basınç farkıyla su beyin dokusuna geçer ve ödem gelişir (21).

2.1.5. KAN-BEYİN BARIYERİ (KBB)

Beyinin ekstrasellüler ortamının kontrol altında olmasını sağlayan bir yapıdır. Nöronların elektrofizyolojik özelliklerini sürdürebilmeleri için elektrolit dengesinin sağlanması gerekmektedir. Beyinin özel yapıdaki bu endoteli iyon transportunu ve beyin fonksiyonları için gerekli metabolitlerin iki yönlü hareketini yönetir. Dolaşım ile beyin dokusu arasındaki iyon, metabolik maddeler ve sıvı değişimi esas olarak kapiller boyunca yapılmaktadır (22).

KBB'nin ultrastrüktürel yapısı incelendiğinde; endotel hücrelerin pentalaminar sıkı bağlantılar ile birbirine kenetlendikleri, kapiller bazal membranın kesintisiz devam ettiği ve astroglial uzantılarla desteklenmiş olduğu, endotelial hücrelerin bol miktarda mitokondri içerdiği, mikropinositik aktivitelerinin kısıtlandığı ve fenestrasyonlarının olmadığı gözlenmektedir (23). Serebrovasküler endotelin geçirgenliğinin çok düşük olduğunu gösteren en önemli özellik hücreler arası sıkı bağlantı ve vezikül sayısının az olmasıdır. Beyin kapiller endotel membranı yarı geçirgen bir lipid membran olarak işlev görür. Böylece yağda eriyen moleküllerin ve O₂, CO₂ gibi gazların geçişine izin verir. Buna karşın polar ve büyük maddeler geçemezler. Maddelerin beyine pasif difüzyonla geçişi, maddelerin moleküler boyutları, elektrik yükleri, yağda eriyebilme gibi kimyasal özelliklerine bağlıdır. Bir maddenin yağda eriyebilir olması onun KBB'den geçmesini sağlayan en önemli kimyasal özelliğidir. Aminoasitler, glikoz, biyolojik aminler ve diğer esansiyel besinler membran taşıyıcıları ile KBB'den geçebilirler. Kapiller endoteldeki transportta görevli taşıyıcı moleküllerin ve membrana bağlı enzimlerin dağılımında, belirgin bir şekilde apikal-bazal fark vardır. Son çalışmalar beyin endotelindeki porların açık olmadığını, fakat bu porların c-AMP, c-GMP, protein kinaz C ve araşidonik asit gibi ikincil haberci sistemler aracılığı ile uyarılarak açıldığını göstermiştir (24). Kafa travmasından sonra ortaya çıkan serebro-vasküler permeabilitenin artışı şu mekanizmalarla açıklanabilir:

- Endotel hücreler arasındaki sıkı bağlantıların ayrılmaları
- Veziküler transportun artması
- Transendotelial kanalların veya porların genişlemesi
- Endotel hücre membranlarının biyokimyasal veya yapısal değişikliği (23).

2.1.6. İKİNCİL HASARIN BEYİN ÜZERİNE ETKİLERİ

Ağır kafa travmasında gelişen olaylar karmaşıktır ve çoğunlukla KİBA ile sonuçlanır. İntrakraniyal kompartmanlar arasında farklılık ortaya çıkar ise beyin şiftleri ve herniasyonlar gelişir. İntrakraniyal basıncın artması veya sistemik arteriyel basıncın azalması ile beyin perfüzyonu azalır. Eğer sistemik

bir hipoksi de mevcutsa beyin oksijenasyonunun daha fazla tehlike altında olduğu söylenebilir. Otopsilerde en sık görülen ikincil lezyonun hipoksik/iskemik beyin hasarı olması sürpriz değildir (25).

Beyin kan akımı çalışmaları, toparlanma fazında geçici iskemik ataklar görülebileceği ve bunların kafa travmasının sonuçlarını önemli ölçüde etkileyebileceğini düşündürmektedir. Hipotansiyon ve mortalite arasındaki sıkı ilişki, iskeminin sonuçları etkilediğini düşündürmektedir (26).

SOR oluşumu başladıktan sonra kendiliğinden yayılan bir olaydır. Bu olay demir varlığında daha da şiddetlenmektedir. Demopulos ve arkadaşları (27) santral sinir sisteminin SOR'a duyarlı olmalarının bazı nedenlere bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Bunlar:

- 1) Beyin dokusunu oluşturan hücrelerin membranları lipid bakımından zengindir.
- 2) Nöronların membran/sitoplazma oranları daha büyüktür.
- 3) Oksidatif metabolik aktivite oldukça yüksektir.
- 4) Antioksidan enzimlerin miktarı ve aktiviteleri düşüktür.
- 5) Endojen olarak fazla miktarda SOR üretilmektedir.
- 6) Nöronlar kendini yenileyememektedir.
- 7) Fe, Cu gibi redoks potansiyeline sahip elementler fazladır.

2.1.7. SEREBRAL KAN AKIMI VE PERFÜZYON BASINCI

Beyin kan akımı (**BKA**); 100 g beyin dokusundan 1 dakikada geçen kan miktarıdır ve mililitre (ml) olarak ifade edilir. Normalde çeşitli etkenler karşısında, BKA'yı oldukça sabit sınırlar içinde tutan bir regülasyon mekanizması vardır. Beyin perfüzyon basıncı (**BPB**) ise kanı beyine iten güçtür. Ortalama arteryel kan basıncı (**OAKB**) ve kafa içi basıncı (**KİB**) arasındaki farktan oluşur. Beyin vasküler direnci (**BVD**) ise kanın serebral arterlerden venlere doğru akımına karşı koyan güçtür. Bu da başlıca kan viskozitesine ve vasküler faktörlere bağlıdır (28,29).

$$BKA = BPB / BVD$$

$$BPB = OAKB - KİB$$

AKT'de KİB'in artması BKA'yı azaltır (30). Bunun sonucu olarak da aortik ark ve karotid sinüste bulunan baroreseptörlerden kalkan impulslar bulbusta bulunan vazomotor refleksi uyararak kalpten pompalanan kanı artırır. Sistemik arteriyel kan basıncı artarak BKA'yı dengelemeye çalışır. Böylece beyin dokusunun beslenmesi için gerekli olan perfüzyon basıncı temin edilir. Bu koruyucu mekanizma "*Cushing refleksi*" olarak bilinir ve kliniklerde ani tansiyon yükselmesi ile karakterizedir (31). Kan basıncındaki bu artma ile BPB korunmaya çalışılır. AKT'lı hastalarda, serebral dokuların kanlanması için perfüzyon basıncı 60 mmHg ve üzeri olmalıdır (32). Ortalama BPB'yi 50 mmHg'nın altına indiğinde hipoksi, 40 mmHg'nın altına indiğinde iskemi oluşur ve beyinde otoregülasyon bozularak irreversibl değişiklikler başlar (33). Hipoksi sonucu arteriyel kanda pCO₂ miktarı artar, pO₂ miktarı azalır. Bu da serebral damarlarda vazodilatasyona neden olur. Çünkü serebral damarlar arteriyel kandaki pCO₂ ve pO₂ değerlerine çok hassastır ve süratle çaplarını değiştirirler. BKA, pCO₂ 40 mmHg'dan 80 mmHg'ya yükseldiğinde iki kat artar. Artan BKA'ya bağlı olarak KİB de artar. Miller ve arkadaşları (15) kafa travmalarını takiben yaptıkları kan gazları ölçümlerinde olguların %30'unda hipoksi tespit etmişlerdir.

2.1.8. KAFA İÇİ BASINÇ ARTIŞI (KİBA)

Kafa travmasında prognozu etkileyen faktörlerden birisi de KİBA'dır. KİBA da arteriyel kan basıncı yeterli perfüzyonu sağlayamaz. "Monroe-Kellie Doktrinine göre kafatası boşluğu sabit hacimde olup, içeriği sıkıştırılmaz (34). Normalde kafa içi hacmi; beyin, BOS ve kandan ibarettir. Bu kompartmanların birinde artma olduğunda diğer kompartmanların bir veya birkaçında azalma olmaktadır. KİBA'da önce kan, sonra da BOS kafa içi boşluğunu terk eder ve bunların yerini beyin doldurur. Beyindeki bu yer değiştirme herniyasyon tablolarını meydana getirir (35). KİB'in normal değerleri erişkinlerde 10-15 mmHg, küçük çocuklarda 3-7 mmHg ve infantlarda 1.5-6 mmHg olarak kabul edilir. Erişkinlerde 20 mmHg üzeri KİBA olarak kabul edilir (36). KİBA'nın normal

sınırlarda tutulması, kafa travmalarında mortalite ve morbiditeyi etkileyen en önemli parametrelerdendir. Bu sebeple AKT'lerde bütün tedavi protokolleri perfüzyonu bozmadan KİB'i azaltmayı amaçlar (37,38).

2.1.9. İSKEMİK / HIPOKSİK BEYİN HASARI

AKT'de hastalar, BPB'nın düşüklüğünden kaynaklanan iskemik/hipoksik beyin hasarı riskiyle karşı karşıyadırlar (39). Komadaki hastaların %65'inde hipoksi, %16'sında hipovolemik şok tespit edilmiştir. Yapılan bir otopsi çalışmasında kafa travmasından ölen hastaların %91'inde iskemiye ait deliller bulunmuştur (40). En azından hava yolu obstrüksiyonu, epilepsi, hipotansiyon gibi önlenabilir sebeplerle oluşan iskemilerden hızlı davranılarak beyin korunmalıdır (41).

Kafa travmasını takiben ortaya çıkan vazospazm da iskemiye bağlı nörolojik defisitleri artırır. Bunu KİB'i artırmadan da gerçekleştirebilir. Kafa travmalı hastaların bilgisayarlı beyin tomografilerinde SAK görülmesiyle vazospazm gelişmesi arasındaki yakın ilişki gösterilmiştir. Vazospazm değişik serilerde %5-41 arasında bildirilmiş olup, insidansının da travmanın şiddeti ile arttığı tespit edilmiştir (42).

Beyinde iskemi global veya fokaldır. Global iskemi genellikle kafa dışı sebeplere bağlıdır. Bunlar genelde MI, ritim bozuklukları, hipovolemi gibi kardiyak debiyi azaltan durumlardır. Fakat serebral iskemi çoğunlukla fokaldır. Herniyasyonlar vasküler yapılara baskı veya traksiyon yaparak fokal iskemileroluşturur. Ayrıca hematoma direkt arteriyel bası oluşturması da fokal iskemiye neden olabilir. Kafa travmalarında, hipoksi sonrasında glukoz metabolizmasının anaerobik glikolize yönelmesiyle gelişen serebral laktik asidoz da prognozu kötü yönde etkiler (43). Hipoksi, hipotansiyon, anemi, KİB artışı, herniasyona sebep olan beyin şifti, SAK'a bağlı vazospazm, konvulzif nöbetler (44), dolaşım ve solunum bozuklukları (45) iskemik beyin hasarına yol açabilir. Bu yüzden serebral oksijenizasyonun düzenlenmesi ve takibi, ikincil hasarı en aza indirmek açısından önemlidir.

2.2. SERBEST RADİKALLER

Atomlar; nötron ve protondan oluşan bir çekirdek ile bu çekirdeğin etrafında dönen elektronlardan oluşurlar. Her türden kimyasal tepkime daima atomların dış yörüngelerindeki elektronlar sayesinde gerçekleşir. Atom veya moleküller, yörüngelerindeki elektronlar eşleşmiş olduğunda kararlı bir yapı gösterirler. Bu kararlı yapı eşleşmemiş elektron bulduğunda bozular. Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok aktif moleküller olarak tanımlanırlar (46).

Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli ve zararlı maddeler olarak değerlendirilmemelidir. Zararlı etkilerinin yanında vücut için gerekli birçok fonksiyonun gerçekleşmesinde önemli rol oynarlar. Moleküler oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılabilmesi için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur. Ayrıca hücre farklılaşması, mikroorganizmalara karşı savunma, steroid yapıda çok sayıdaki bileşiğin üretimi, eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve sitotoksik hücre fonksiyonları için serbest radikal yapımı gereklidir (47,48).

2.2.1. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI

Biyolojik sistemlerde, serbest radikal oluşumu normal metabolik olayların seyri esnasında meydana geldiği gibi organizmanın çeşitli dış etkenlere maruz kalmasıyla da oluşabilir. Bu nedenle serbest radikal kaynakları, endojen ve ekzojen olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar (49).

2.2.1.1. Endojen Serbest Radikal Kaynakları:

Elektron Transport Zinciri (ETZ): Mitokondride fizyolojik şartlarda ETZ'ye giren oksijenin %1-3'ü O_2^- 'e dönüşmektedir (49).

Sitokrom P 450 (CYP 450): Endoplazmik retikulumda bulunan bir enzim sistemidir. Kimyasal ajanlardan serbest radikal oluşturmasında en önemli mekanizma, ksenobiyotiklerin mikrozomal CYP 450 sistemi ile detoksifikasyonudur. Bu sistem moleküllere bir elektron ilave ederek veya çıkararak toksik metabolitleri normal ürünlere çevirir. Bu oksidasyon-

redüksiyon olayları sırasında elektronlar oksijene aktarılarak O_2^- meydana getirebilir (50).

Araşidonik Asit Metabolizması: Mikrozomal ve plazma membranındaki lipooksijenaz ve siklooksijenaz enzim aktivitesi, önemli bir SOR kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması, membranlardan araşidonik asit salınımına yol açar. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu da çeşitli serbest ara ürünler meydana gelmektedir (51).

Ksantin Oksidaz (XO): Çok yönlü ve hemen hemen bütün canlı türlerinde bulunan XO, pürinlerin hidroksilasyonunu katalizleyen bir enzimdir. Hipoksantin, oksijen varlığında XO ile ksantine oksitlenir. Ksantin ise aynı enzimle tekrar oksitlenerek ürik asidi oluşturur. Her iki adımda da O_2^- ve H_2O_2 radikalleri oluşur (52).

NADPH Oksidaz: Özellikle fagosit ve lenfositlerde bulunan bu enzim mikroorganizmalara karşı önemli bir savunma elemanıdır. Bir mikroorganizma ile karşılaşıldığında nötrofiller aktive olarak lizozomal içeriklerini dışarıya vermeye başlarlar. SOR oluşumu için mitokondri dışındaki oksijenin tüketiminde bir patlama meydana gelir ve mikroorganizma yok edilir. Bu olaya *solunum patlaması* adı verilir ve bu olaydan sorumlu olan enzim NADPH oksidazdır (46).

Peroksizomlar: Özellikle karaciğerde bulunmakla beraber diğer bütün organlarda da mevcuttur. Yüksek miktarda oksidaz içerdiklerinden dolayı, çok önemli hücre içi H_2O_2 kaynağıdırlar. Ancak peroksizomlarda katalaz aktivitesi de çok yüksek olduğu için H_2O_2 'nin zararlı etkisi ortadan kaldırılır (53).

Diğer: Organizmada potansiyel serbest radikal kaynağı olan bu enzim ve sistemler dışında; askorbik asit, tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobioproteinler ve antibiyotikler gibi indirgenmiş elektron transferi yapan çözünen hücresel bileşiklerin otooksidasyonu da SOR oluşur (51).

2.2.1.2. Ekzojen Serbest Radikal Kaynakları:

Organizmadaki serbest radikal reaksiyonlarını artıran ekzojen kaynaklar: diyet, çevre ve ilaçlar olmak üzere üç ana başlık altında toplanabilir. Doymamış yağ

asitleri, dayanıklı olmayıp kolayca otooksidasyona uğramaktadırlar. Yüksek kalorili diyet özellikle mitokondri kaynaklı serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır (49).

Diyetle alınan demir ve bakır içeriğindeki artış, Haber-Weis ve Fenton reaksiyonlarını hızlandırmaktadır. Gıdaların uygun olmayan koşullarda hazırlanması ve saklanması da radikal oluşumu için uygun ortam yaratmaktadır (54).

Fazla miktarda ve uzun süre alkol alımı, sigaranın gerek dumanı gerekse katranı çeşitli radikallerin oluşmasına neden olmakta ve organizmanın antioksidan kapasitesini azaltmaktadır. Ozon, azot dioksit, kükürt dioksit, hidrokarbonlar, asbest ve ksenobiyotikler hem önemli birer çevre sorunu hem de radikal kaynağı olabilmektedirler (55).

2.3. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR)

2.3.1.Süperoksit Radikali (O_2^-): Hem çevresel etkenler hem de organizmalardaki pek çok tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikalidir. O_2^- kimyasal olarak oksijen molekülüne bir elektronun eklenmesi ile oluşur. O_2^- 'nin en önemli kaynağı, polimorfonüveli lökositlerdir. Buradaki üretim, membrana bağlı NADPH oksidaz şantı veya heksoz monofosfat şantının bir sonucudur (56).

2.3.2.Hidrojen Peroksit (H_2O_2): Biyolojik sistemlerde H_2O_2 nin esas üretimi; O_2^- 'in dismutasyonu ile olup, iki O_2^- yapılarına iki hidrojen atomu alarak H_2O_2 ve O_2 oluştururlar. Bu reaksiyon süperoksit dismutaz adı verilen enzim tarafından katalizlenir. H_2O_2 , birçok fizyolojik fonksiyonu olan zayıf bir oksidandır. Hücre membranları arasında serbest olarak difüze olabilme yeteneği mevcuttur. H_2O_2 , fizyolojik pH ve ısıda, metal iyonları yokluğunda oldukça stabil olması yanında, özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında LPO gibi tepkimeleri başlatabilir. Bu reaksiyona Fenton Reaksiyonu adı verilir (57). Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2

nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz yerine getirir.

2.3.3. Hidroksil Radikali (OH⁻): Bilinen en reaktif oksidandır. Yarılanma ömrü çok kısadır. Haber-Weiss ve Fenton Reaksiyonu ile H₂O₂ den meydana gelir (57).

Tablo 2: Serbest radikallerin Ekzojen ve Endojen Kaynakları

EKZOJEN KAYNAKLAR	
Diyetsel	1-Doymamış yağ asitleri ve hayvansal proteinler bakımından zengin, sebze ve meyve bakımından fakir beslenme 2-Obezite 3-Aşırı demir ve bakır alımı 4-Gıdaların uygun olmayan koşullarda hazırlanması ve saklanması 5-Alkol
Çevresel	1-İyonize radyasyon 2-Hava kirliliği 3-Sigara 4-Asbest, pestisidler gibi kirleticiler 5-Güneş ışığı 6-Isı şoku 7-Stres
İlaçlar	1-Antineoplastik ajanlar (adriamisin) 2-Glutatyon tüketen ilaçlar (asetaminofen)
ENDOJEN KAYNAKLAR	
Mitokondrial elektron transport zinciri	
Mikrozomal elektron transport zinciri	
Oksidan enzimler	
	1-Ksantin oksidaz 2-İndolamin dioksijenaz 3-Triptofan dioksijenaz 4-Siklooksijenaz 5-Lipooksijenaz 6-Monoaminooksidaz
Fagositik hücreler	
	1-Nötrofiller 2-Monosit ve makrofajlar 3-Eozinofiller 4-Endotelial hücreler
Otooksidasyon reaksiyonları	

2.3.4. Hipokloröz Asit: Enzimatik olarak, nötrofiller tarafından üretilen, güçlü bir oksidandır. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktif nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller hipokloröz asit üretirler. Özellikle H₂O₂ üzerine myeloperoksidaz'ın etkisi ile nötrofillerde oluşur. Hücre

dışına salınan antibakteriyel bir ajandır. Ancak çok düşük konsantrasyonlarda bile belirli protein fonksiyonlarını bozabilme yeteneğindedir. HOCl antioksidan olan albümin ve askorbik asit ile uzaklaştırılır (58).

2.3.5. Singlet Oksijen (1O_2): Gerçek bir radikal değildir ve eşleşmemiş elektron içermez. Diğer SOR türleri ile karşılaştırıldığında oldukça zararsızdır. Oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünden ters yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşur(59). Tablo 3'de SOR'lar görülmektedir

Tablo 3: Oksijenden Oluşan Toksik Metabolitler.

Süperoksit Radikali (O_2^-)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Hidroksil Radikali (OH^-)	Lipid Hidroperoksit (LOOH)
Hidroperoksi Radikali (HO_2^-)	Hipokloröz Asit (HOCl)
Alkoksi Radikali (LO^-)	Singlet Oksijen (1O_2)
Peroksi Radikali (LOO^-)	Ozon (O_3)
Nitrik Oksit (NO)	Peroksinitrit ($ONOO^-$)

SOR üretilmesi ve bunların hızla antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılması organizmada denge halindedir. Dengenin SOR lehine bozulmasıyla oksidatif stres gelişir (60).

2.4. LİPİD PEROKSİDASYONU (LPO)

Tüm biyolojik zarlar poliansatüre yağ asitleri, amfipatik lipidler ve zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. LPO, hücre membranında bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki poliansatüre yağ asitlerinin, SOR tarafından peroksit, alkol, aldehid, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli zararlı ürünlere dönüşmesidir (49).

LPO işlemi bir reaksiyonlar zinciri olup; başlama, ilerleme ve sonlanma olarak tanımlanan üç aşamada gerçekleşmektedir (61).

1-Başlama: LPO serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asidi zincirinin α -metilen gruplarından bir hidrojen uzaklaştırması ile başlamaktadır. Uzaklaşan hidrojen atomu sebebiyle, karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir elektron kalır ki, bu da yağ asidi zinciri üzerinde radikal olmasına neden olur. Oluşan lipid

radikali kararsız bir bileşiktir. Molekül stabil duruma gelebilmek için molekül içi bağlarını tekrar düzenler ve konjuge dien yapısına dönüşür. Bu konjuge dien, fizyolojik koşullarda oksijen ile birleşmeye eğilimli olduğundan reaksiyon sonucu okside olur ve peroksi radikalini oluşturur (61).

2-İlerleme: Lipid peroksi radikali, membran yapısında bulunan diğer çoklu doymamış yağ asidi zincirlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına yol açarken, kendisi de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksite dönüşür. Böylelikle tek bir başlangıç, yağ asit zincirlerinin binlerce lipid hidroperoksit şekline dönüşmesi ile sonuçlanır. Bu tetikleme olayının ne zaman sona ereceği ortamda bulunan oksijen ve antioksidan miktarına bağlıdır (61).

3-Sonlanma: LPO, lipid hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşikler ile etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi halinde sonlanır. Bununla birlikte, ilerleme reaksiyonları bir antioksidan tarafından lipid perokside bir hidrojen atomu verilmesi ile de sonlanabilir (61).

Peroksidasyonla oluşan lipid peroksitleri ve MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da iyon transportu, enzim aktivitesi gibi hücre fonksiyonlarını değiştirir. Ayrıca DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girer. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar. MDA, uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi ile hücre içi ve dışındaki protein, nükleik asit gibi birçok biyomoleküle etki ederek geri dönüşümü mümkün olmayan hasarlara yol açmaktadır. Bunun yanı sıra membranın akıcılığının azalmasına, membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran reseptör ve enzimlerinin inaktif olmasına ve Ca^{2+} iyonları üzerine geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır. Ayrıca MDA nükleer membrandan kolayca geçebildiğinden DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilmekte ve pürin-pirimidin yapılarında değişiklik yaparak DNA iplikçiklerinde kopmalara neden olabilmektedir (61).

Peroksidasyon sırasında oluşan peroksi radikalleri, lipid hidroperoksitler ve bunların yıkım ürünleri de biyomembranlar, subsellüler organeller ve enzimler üzerinde toksik etkiler gösterirler. Membran permeabilitesini ve akışkanlığını değiştirirler. Membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna yol

açarlar. Enzimler gibi birçok protein yapısında bulunan serbest tiyol (-SH) gruplarını, disüfitlere (S-S) oksitleyerek, bu bileşiklerin fonksiyonlarının değişmesine neden olurlar (62).

LPO, hücrenel yapılara en çok zarar veren reaksiyonlardan biridir. Reaksiyon sonucunda oluşan ürünlerden en önemlileri; MDA ve 4-hidroksinonenaldir (63).

MDA : Linolenik asit (18:3) ve araşidonik asit (20:4) gibi üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin oksidatif bozunması sonucu oluşan, tiyobarbiturik asit ile miktarı ölçülebilen bir üründür. LPO sırasında açığa çıkan ürünlerden MDA, konjuge dien, organik hidroperoksit ve pentan gibi ürünlerin seviyeleri kantitatif olarak ölçülebilmekte ve böylece SOR ile oluşan peroksidasyonun derecesi belirlenebilmektedir. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik kantitatif bir indikatörü değildir. Fakat miktarı LPO'nun derecesini belirler (63).

2.5. ANTIOKSİDANLAR

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak *antioksidanlar* denir (64).

Antioksidanlar, bir oksidatif zincirde farklı seviyelerde etki edebilirler. LPO'ya karşı etkilerini:

- 1 - Lokalize oksijen konsantrasyonlarını azaltarak
- 2 - OH gibi hidrojen atomlarını ayırabilme yeteneğine sahip türlerin temizlenmesi ile peroksidasyonun başlamasını önleyerek
- 3 - Peroksitler oluşturmak için membran lipidleri ile direkt olarak reaksiyona girebilen singlet oksijeni temizleyerek
- 4 - Yapılarındaki metal iyonlarını bağlayarak
- 5 - Alkol gibi radikal olmayan ürünlerine dönüşmesi için peroksitlerin alıcısı olarak

6 - Zincir uzatan radikaller (peroksi, alkoksi) ile reaksiyona girip zincirleri kırmak suretiyle

7 - Yağ asidinin kenar zincirinden devamlı hidrojen ayrımını engelleyerek gösterirler.

Antioksidanları enzimatik ve non-enzimatik olarak iki ana başlık altında incelemek mümkündür (64).

2.5.1. ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR

Hücre içerisindeki antioksidan savunmayı oluşturan enzimatik antioksidanlar, aktif merkezlerinde Cu, Zn, Mn, Fe, Se gibi metalleri içerirler. Düzeyleri genetik kontrol altındadır. Hücre içerisinde fazla miktarda bulunanları; Süperoksit dismutaz, katalaz ve GPx'dır (55).

2.5.1.1. Glutasyon Peroksidaz (GPx): H_2O_2 ve lipid peroksidlerin indirgenmiş glutatyonla (GSH) reaksiyona girerek, H_2O ya ve yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) oluşmasını katalizleyen enzimdir. Bu enzimin varlığı, ilk defa Mills (65) tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır. GPx, endotel hücrelerinde özellikle akciğerde etkili bir enzimdir. Enzim aktivitesinin %60-75'i hücrelerin sitoplazmasında, %25-40'ı ise mitokondride bulunur. Aktivitenin en fazla olduğu yerler eritrositler ve karaciğerdir (66).

GPx, yaklaşık olarak 85000 D molekül ağırlığında, dört eşit subunitten oluşan, mol başına 4 atom selenyum içeren bir enzimdir. Enzimin aktif bölgesinde selenosistein bulunur. İnsan dokularında 2 GPx formu belirlenmiştir:

Se-Bağımlı GPx: Substrat olarak hem H_2O_2 yi hem de organik hidroperoksidleri kullanır (66).

Se-Bağımsız GPx: Substrat olarak organik hidroperoksidleri kullanır, H_2O_2 yıkımını kataliz etmez (66).

2.5.1.2. Süperoksit Dismutaz: İki molekül O_2^- 'nin iki molekül proton ile reaksiyona girerek H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizler. İki serbest oksijen radikalini, radikal olmayan moleküllere dönüştürdüğünden, antioksidan sisteminin en önemli silahlarından biridir (48).

2.5.1.3. Katalaz: H_2O_2 bir radikal olmamasına rağmen, reaktivitesi en fazla olan reaktif oksijen türü olan OH^\cdot 'ın öncüsüdür ve bu nedenle birçok reaktif oksijen türünden daha fazla oksidatif hasara neden olur. Katalaz solunum yapan tüm organizmalarda bulunan ve H_2O_2 suya dönüştüren enzimdir (64).

2.5.1.4. Sitokrom Oksidaz: Sitokrom oksidaz, mitokondrial ETZ'nin son parçasıdır ve elektronların oksijene transferinden sorumludur. Bu bölgeye taşınmış olan elektronlar oksijen ile su oluşturmak için bir araya gelirler (51).

2.5.2. NON-ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR

2.5.2.1. Vitamin E: İnsan dokularında en fazla bulunan ve yağda eriyen α - tokoferol, membranlarda ve lipoproteinlerde LPO'nu engelleyen esas antioksidandır (67).

2.5.2.2. Vitamin A: Bir antioksidan olan β -karoten, konjuge alkil yapısı taşıyan serbest organik peroksit radikallerinin ortadan kaldırılmasında etkilidir. Düşük oksijen basıncında β -karoten, peroksit radikallerinin dokularda tutulmasından sorumludur (66).

2.5.2.3. Vitamin C: Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. O_2^\cdot ve OH^\cdot ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler (68).

2.5.2.4. Melatonin: Pineal bezde sentezlenen ve antioksidan etkileri olan bir nörohormon olarak bilinmektedir (68).

2.5.2.5. Eritropoetin (EPO): Böbrek kapiller endotel hücreleri ve peritübüler hücreler tarafından sentezlenen ve iki disülfür köprüsüyle bağlı 165 aminoasitten oluşan bir glikoprotein yapıda hormondur. EPO, sinir sisteminde varlığı ve nöroprotektif etkisi son yıllarda gösterilmiş olan ve oksijen azlığı ile salınımı artan bir hematopoetik hormondur. EPO aktivitesi hücre yüzeyinde bulunan spesifik reseptörleri (EPO-R) ile gerçekleşmektedir (69). EPO-R hem merkezi, hem de periferik sinir sisteminde bulunmakta ve hipoksi gibi uyarılarla yapımları artmaktadır. Değişik hasar modellerinde in vitro nörotrofik ve koruyucu etkisi gösterilmiş olan EPO'nun etki mekanizmaları kesin belli değildir. Hücre canlılığını artırıcı anti-apoptotik, antioksidan, anti-

inflamatuar ve kalsiyum ile glutamat metabolizmaları üzerine düzenleyici etkilerinin nöroprotektif etkisine aracılık edebileceği düşünülmektedir. EPO antioksidan etkisini NO miktarını azaltarak ve Süperoksit dismutaz, GPx, katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak gerçekleştirmektedir. Rekombinant insan eritropoetini (rEPO) rekombinant DNA teknolojisi ile üretilir ve EPO ile aynı amino asit dizilimi ve etkiye sahiptir (70).

EPO, retikülosit sayısını ve hemoglobin sentezini artırır. Kemik iliğinde ve periferik kandaki eritrositlerin olgunlaşmasını ve yapımını çeşitli evrelerde etkiler (71). EPO-R'lerin buldukları organlar ve bu organlarda meydana getirdikleri etkiler Tablo 4'de gösterilmiştir (72).

Tablo 4. EPO-R Yerleşim Yerleri ve Etkileri.

HÜCRE TİPİ	EPO'NUN HÜCREDEKİ ETKİSİ
Karaciğer stromal hücreler	Mitojenik
Endotelial hücreler	Mitojenik Ca ⁺⁺ mobilizasyonu Endotelin-1 sentez ve salınımı Anjiogenik cevap Vasküler endotelial büyüme faktörü ile sinerjistik etkiler
Düz Kas Hücreleri	Ca ⁺⁺ mobilizasyonu Kontraksiyon
Kardiyomyosit	Mitojenik Geliştirici Etkiler
Enterositler	Migrasyon Artmış timidin içeriği Apopitotik hücre ölümü azalması
Santral Sinir Sistemi	Ca ⁺⁺ mobilizasyonu
Aminerjik	Artmış monoamin konsantrasyonları
Kolinerjik	Artmış kolin asetil transferaz aktivitesi Trofik etkiler
Astrositler	Azalmış apopitotik hücre ölümü
Testiküler Leydig Hücreler	Artmış testosteron sekresyonu

Kan kaybı, anemi ve hipoksi, böbreklerden EPO üretimini artırır. EPO ameliyat öncesi dönemde hastaların kan rezervlerini artırmak, kan transfüzyonu gereksinimini azaltmak ve ameliyat sonrası eritropoezi hızlandırması için kullanılabilir. Ayrıca kanser, miyeloma, AIDS, paroksizmal nokturnal hemoglobinüri gibi pek çok anemilerin tedavisinde de kullanılabilir (71). EPO üretiminin ana bölgesi, fetal hayatta karaciğer iken erişkinde böbreğe geçer. Ayrıca az miktarda karaciğer, kemik iliği, dalak, GIS, kalp, akciğerler, testis, overler ve merkezi sinir sisteminde de sentezi bulunmaktadır. Hipoksik

durumlarda, insan hepatoma hücrelerinin Hep G₂ ve Hep G₃B'den EPO üretilir (73). Eritroid progenitor hücrelerdeki programlı hücre ölümünü baskılayarak eritrosit üretiminin artmasına öncülük eder. EPO, noneritroid hücrelerin fonksiyonel davranışlarında da etkili olabilir. EPO, EPO-R reseptörüne sahip endotelial ve fetal karaciğer hücrelerinde kemotaktik ve mitojeniktir. EPO'nun in vivo hasar görmüş sıçan nöronlarında yaşamı desteklediği ve embriyonal nöron kültüründe nörotropik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Kültürde, nöronal özellikler gösteren PC12 hücrelerinde EPO-R tespit edilmiştir (74).

Böbrek gibi lokal bir organdan salgılanan EPO'nun, kan-beyin bariyerini geçtiği ve deneysel kafa travması oluşturulan sıçanlarda koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (75). Farelerde hipoksik uyarının serum EPO konsantrasyonunu 40 kat artırdığı RIA ile gösterilmiştir. I¹²⁵ ile işaretlenmiş EPO'nun beyinde yoğun bir şekilde kapsula interna, korpus kollosum, hipokampus fimbriyası, zona incerta, alveolus ve mamillotalamik traktusta tutulumu gözlenmiştir. Orta derecede boyanma ise neokortikal bölge ile hipokampusta izlenir. Piramidal hücreler içeren tabakalar yoğun boya tutarken, aksonal komşu tabakalarda boya tutulumu azdır. Serebellumda ise granüler tabaka içeren kesitlerde gözlenirken diğer bölgelerde saptanamamıştır (76). I¹²⁵-EPO'nun asıl bağlandığı bölge beyaz cevherdir. Burası fibröz astrositler, oligodentrositler ve miyelinli sinir ağlarından oluşmuştur.

EPO ve EPO-R, fare, maymun ve insan fetus beyininde bulunmuştur. EPO yokluğu ile insan beyin gelişimi arasındaki ilişki hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Fare embriyosunda mutasyonla EPO ve EPO-R'nin ortadan kaldırılması ölümle sonuçlanır. EPO, sıçanların fimbriya-forniks transeksiyonu ile hasara uğratılmış septal kolinerjik nöronlarında, in vivo surviyi uzatırken, kültüre nöronlarda asetilkolin transferaz aktivitesini artırmaktadır. Aynı zamanda EPO'nun bir nörotropik faktör gibi nöronal gelişme, farklılaşma, nöronların devamlılığı ve rejenerasyonuna olumlu katkıları vardır (77,78).

EPO sentezi beyinde hipoksi ile artar. Beyinden elde edilen EPO dolaşımdaki EPO'ya göre daha az glikozillenmiştir ve daha yüksek aktivitesi vardır. Nanomolar konsantrasyonda bile nöronal büyüme faktörü olarak fonksiyon görür. Beyinde fonksiyonel olan üretim regülasyonunun varlığı ve bunun

hipoksi ile artması, EPO'nun hipoksik iskemik hücre ölümünden nöronları koruduğunu düşündürmektedir (77).

EPO mRNA'sının insan fetusunda ilk görülmeye başlaması gebeliğin 23-37. haftalarında olur. Beyinde diensefalon ve metensefalonda telensefalondan daha fazla olduğu gösterilmiştir (78). Gelişen insan SSS'de EPO ve EPO-R'nün hücresel dağılımı fetal ve postnatal beyinlerde PCR ve immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir. EPO, EPO-R proteini ve mRNA'sı gestasyonun en erken 5. haftasında tespit edilmiş ve gelişim boyunca da bulunmuştur. Post konsepsiyon 5-6. haftada embriyonik serebral hemisferde hem EPO hem de EPO-R ventriküler zonda indiferansiye nöroepitelyal hücrelerde mevcuttur. EPO immunreaktivitesi insan fetal beyininde bir çok hücre tipinde bulunmaktadır (astrozit, koroid pleksus). Nöronlarda ve astrositlerde reseptör ve ligandın bulunması EPO'nun hem parakrin hemde otokrin fonksiyonu olduğunu gösterir (79). Gelişim boyunca koroid pleksus EPO ve EPO-R için orta derecede reaktiftir, çünkü burası BOS üretiminin yapıldığı birincil yerdir. Bu nedenle EPO'nin BOS'ta bulunma olasılığını araştırmak amacıyla 23 tanesi EPO ile tedavi edilen 24-40 haftalık 50 yeni doğandan ve EPO tedavisi almayan yaşları 1 ay ile 60 ay arasında olan hastalardan BOS alınıp karşılaştırıldığında preterm doğanların BOS'larında term doğanlara göre daha fazla EPO tespit edilmiştir. BOS'daki bu EPO düzeyi gestasyonel yaşın artmasıyla azalmaktadır (genç ve erişkinlerde daha az bulunmuştur). Yeni doğanlardan EPO tedavisi alanların BOS'larındaki EPO düzeyi tedavi almayanlarla aynı bulunmuştur (79).

Fonksiyonel EPO-R, karaciğer stroma hücreleri, düz kas hücreleri, kardiyomyositler, enterositler, plasental dokular, leydig hücreleri ve santral sinir sisteminin spesifik hücreleri gibi bir çok noneritroid hücre tipinde tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda, nonhematopoetik hücrelerdeki etkileri, hematopoetik hücrelerdeki etkilerine benzer bulunmuştur. Örneğin; EPO-R'nin mitojenik etkisi in vivo olarak sadece eritroid öncül hücrelerde gözlenirken, in vitro olarak bir çok hücrede bulunmuştur. Noneritropoetik ve eritropoetik hücrelerdeki etki mekanizmaları benzer olmasına rağmen, noneritropoetik hücrelerde EPO bağlanması ile başlayan EPO-R etkisinin sonuçları oldukça farklı olabilmektedir. Örneğin; endotel hücrelerinin EPO-R ile inkübasyonu,

eritrosit prokürsörlerinde olduğu gibi JAK 2'nin fosforilasyonunu stimüle eder. Fakat endotel hücrelerinde endotelin-1 sentez ve salınımını artırarak potent anjiyogenik cevapla sonuçlanır. EPO-R ile stimüle edilmiş nöronal hücrelerde ise hücre tipine bağlı olarak, ya intrasellüler Ca^{++} artışı ile monoamin konsantrasyonunda ya da asetilkolin aktivasyonunda artış olur. Diğer bir çok hormon ve sitokinlerle ilişkisi vardır. Ancak bu ilişkiler açık değildir (77).

Yasuda ve arkadaşları (80), EPO'nun erken gelişme çağında nörogenezisi indüklediğini göstermiştir. EPO-R, kalp, böbrek, göz, akciğer, ince barsak, dalak, adrenal bezler ve karaciğer gibi bir çok organın spesifik hücrelerinde tanımlanmıştır. Kardiyogenezis ve vasküler ağın spesifik defektlerinin, embriyogenez esnasındaki EPO ile EPO-R'nin yokluğu ya da fonksiyon bozukluğuyla birlikte olduğu bildirilmiştir. İnsan amnion sıvısında EPO varlığı, plasentada EPO sentezinin olduğunu gösterir. EPO, gestasyonun erken dönemlerinde de vardır ve EPO-R içeren fetal organların gelişmesi ve büyümesi aşamalarında diğer somatik büyüme faktörleri ile etkileşmektedir. EPO erken gelişme çağında nörogenezisi indükler (77).

Koshimura ve arkadaşları (81), EPO'nun, PC12 hücrelerinde doza bağlı olarak Ca^{++} Emilimi ve intrasellüler Ca^{++} konsantrasyonunu artırdığını saptadılar. Bu artış nikardipin veya anti-EPO antikoları ile inhibe edilebilmektedir. EPO'nun, PC12 hücrelerinde membran depolarizasyonuna neden olduğunu ve hücre kültüründe PC12 hücrelerinin EPO ile inkübe edilmesinin proteinkinaz aktivitesini uyararak hücre bölünmesini artırdığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada PC12 hücrelerinin EPO verilmesini izleyen 10 dakika içinde, doza bağlı olarak dopamin salınımını uyarıldığı saptanmıştır. EPO'nun neden olduğu dopamin salınımında, nikardipin ve anti-EPO antikoları ile inhibe edilir. Yine PC12 hücrelerinde tirozin hidroksilaz aktivitesi incelendiğinde, DOPA dekarboksilaz inhibitörü olan NSD1015 varlığında, hücreler EPO ile inkübe edilince DOPA birikiminin olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde EPO ile sağlanan DOPA artışı nikardipin ile inhibe edilmiştir. EPO, Ca^{++} kanallarının aktivasyonu ile NO üretimini artırır. EPO NOS aktivitesini, NOS moleküllerinin sentezini artırarak değil, NOS molekülünde allosterik değişiklikler yaparak gerçekleştirir. NO; dopamin, GABA ve asetil kolin gibi nörotransmitterlerin salınımını artırır,

hatta EPO'nun neden olduğu dopamin salınımının bir kısmını NO üretimi sağlanmaktadır (81).

EPO'nun nöronları koruyucu özelliği aşağıdaki deneysel verilerle desteklenmektedir (77):

1 - Kùltùre edilmiş nùron ve nùron prekùrsùrù olan hùcrelerin hipoksiye maruz kalmaları halinde meydana gelebilecek hasar, supra fizyolojik konsantrasyonda (5 U/ml) r-EPO ortama eklenmesiyle ònlenebilir.

2 - Serebral, kortikal ve hipokampal nùron kùltùrlerinin EPO'nun fizyolojik konsantrasyonları (3 pmol) ile 8 saatten uzun bir sùre enkùbe edilmesi NMDA aracılı glutamatla indüklenmiş nùron òlùmùnù önleyebilir.

3 - İnsan nùron prekùrsùr hùcre serilerinden NT2 hùcrelerinin EPO'nun fizyolojik konsantrasyonlarına (50 mU/ml) maruz bırakılması ultraviyole radyasyonun indüklediği apopitozu azaltabilir (82).

EPO'nun nöronlardaki fonksiyonlarının mekanizması henüz çok açık değildir. Bazı araştırmacılar, Ca^{++} akımı, NO üretimi ve apopitoz genlerinin dizenlenmesi ile nöroprotektif etkilerinin olabileceğini dùřünmektedir (82).

EPO antioksidan enzim aktivitelerini dizenleyerek nöroprotektif etki gösterir. Kumral ve arkadaşları (83), hipoksiye maruz bırakılan neonatal sıçanlarda EPO'nun GPx aktivitesini artırdığı ve lipid peroksidasyonunu azalttığını bildirmişlerdir. Kuzugùden ve arkadaşları (84) da sıçan beyininde tiner ile oluşturulan oksitativ stresin yüksek doz EPO verilmesiyle beyin ve plazmada MDA oluşumunu azaltarak ve GPx aktivitesini artırarak azaltılabileceğini bildirmişlerdir. Bu bulgular EPO'nun antioksidan savunmayı güçlendirerek de nöroprotektif olduğunu desteklemektedir.

2.6. HİPERTONİK SALIN

Na^+ , CL^- ve diğer iyonlar plazma osmolaritesinde rol oynayarak osmotik basıncı oluştururlar. Plazma proteinlerinin osmotik basıncı onkotik basınç olarak bilinir. Plazma onkotik basıncı suyu kapillere çeken güçtür. Ancak SSS diğer dokulardan farklıdır ve dokular intravaskùler kompartmandan KBB ile ayrılmıştır. Diğer dokuların kapiller endotel hùcreleri arasındaki porların

genişliği 65A° kadarken KBB de ise bu porların genişliği 6-7A° kadardır. Sadece plazma proteinlerinin değil aynı zamanda Na⁺, Cl⁻, K⁺ gibi iyonlarının dahi geçişlerine engel olur. Periferde suyun hareketi büyük makromoleküllerin onkotik basıncı ile belirlenirken, SSS'de plazma ve ekstraselüler sıvı arasındaki osmotik basınçla belirlenir. Bu nedenle hipertonic salinin birincil etkisi intravasküler alan ile serebral doku arasında osmotik basınç oluşturması ile sağlanır. Osmotik basınç farkıyla sıvı hücreiçi ve hücrelerarası alandan kapiller alana geçer. Bu da serebral sıvı içeriğini azaltarak İKB'ı düşürür. Buna ilave olarak hipertonic salin, mannitol gibi BOS yapımını azaltır ve absorpsiyonunu da artırır (85).

Yapılan bazı çalışmalarda, %7.5'luk salinin deneysel olarak oluşturulmuş olan beyin hasarında, KİB'i azalttığı gösterilmiştir. Beyin içinde ve sistemik dolaşımda etkisinin iyi olmasından dolayı, en popöler hipertonic solüsyon olmuştur. Ayrıca, bir antioksidan enzim olan katalaz ve GPx kullanımını artırarak ve MDA oluşumunu azaltarak olası bir ikincil beyin hasarını azaltır. Dekstran ve hipertonic salin, oksijen basıncını ve serebral kan akımını artırarak, BVK'yı azaltır. Sağlam olan kan-beyin bariyer bölgesinin sıvı içeriğini azaltarak KİB'i düşürür. Beyinde intraselüler denge tam olarak anlaşılamamıştır. Beyin hücrelerinin aşırı osmolar yüklenmelere karşı dirençli olmasının bu dengede rol oynadığı düşünölmektedir. Acil tedavi için %7.5'luk salin ve %70.6 dekstran en çok araştırılan hiperosmotik-hiperonkotik ajanlardır. Dekstranın ilavesiyle sistemik etkinin uzaması sağlanır (8).

KİB'i kontrol etmede hipertonic solüsyonlarının kullanılması yüzyıla yakın bir süredir araştırılmaktadır. 1919 yılında Weed ve Mc Kibben (86) kedilerde %30'luk NaCl solüsyonunun beyin volümü üzerine olan etkilerini araştırmıştır. NaCl verilmesinden sonra beyinin normal konveksitesini kaybederek düzleşmeye başladığını ve solüsyon verilmeye devam edildiğinde beyin yüzeyinin konkavlaştığını göstermiştir. Maksimum çökmenin enjeksiyondan 15-30 dakika sonra göröldüğü bildirilmiştir. Bunu takip eden çalışmalar ile beyin volümünü azaltmada hipertonic salinin etkinliği gösterilmiştir.

1980'li yılların başlarında hemorajik şokta hipertonic salin ile volüm replasmanı popöler hale gelmiştir. Bu çalışmalar sonucunda hipertonic salinin

kardiyak indeks, sistemik kan basıncı ve doku perfüzyonunda oldukça etkili olduğu bulunmuştur. Hipertonik solüsyonların beyin üzerine olan olumlu etkilerini inceleyen ilk çalışma Todd ve arkadaşlarının çalışmasıdır (87). Hipertonik ringer laktat solüsyonu (480 mOsm/L) ile beyin sıvı miktarında ve KİB'de düşme, BKA'da ise artış bildirmişlerdir. Beyin hasarı yokken hipertonik solüsyonlarla yapılan resusitasyonlarda beyin sıvı miktarının azaldığı, BKA'nın arttığı görülmüştür. Bu çalışmaları beyin hasarı olan deneysel modeller takip etmiş ve aynı olumlu etkiler elde edilmiştir. Bu bulgular hipertonik solüsyonların kafa travmalı hastaların resusitasyonunda faydalı olduğunu düşündürmektedir.

Elde edilen bu pozitif bulgular intrakraniyal hipertansiyonlu olgularda hipertonik salin solüsyonlarının kullanılmasına neden olmuştur. Klinikte hipertonik salin solüsyonlarının rutin olarak kullanılabilmesi için etkinin optimal süresini ve spesifik olgu gruplarını belirleyecek daha fazla klinik çalışmalara gereksinim vardır.

Hipertonik Salinin Genel Kullanım Endikasyonları:

- Aşırı NaCl kayıplarında (ishal, kusma, pilor stenozu, aşırı terleme vs.)
- İdrarla NaCl kayıplarında (sodyum kaybettiren diüretik alımlarında, sodyum kaybettiren nefritlerde, akut böbrek yetmezliğinin poliürik devresinde)
- Hemodiyaliz hastalarında aşırı sıvı ultrafiltrasyonu yapılırken su ile birlikte sodyum kaybedildiği hallerde; hem sodyum açığını yerine koymak, hem damar yatağını hipertonik bir sıvıyla doldurmak hem de bunu yaparken az miktarda sıvı vermeyi gerektiren durumlarda
- Cilt ödemlerinin tedavisinde
- Son yıllarda beyin ödeminin tedavisinde (85)

Yan Etkileri

Nörolojik: Serum osmolaritesinde ve sodyum konsantrasyonundaki ani değişiklikler koma ve stroke ile sonuçlanabilir. Hiponatreminin hızlıca düzeltilmesi santral pontin myelinoliz'e yol açabilir. Bu durum akut hiponatremiden ziyade kronik hiponatreminin hızlı düzeltilmesi esnasında

daha çok görülür. Ayrıca subdural ve intrakraniyal kanama, ribaund serebral ödem ve şuur kaybı görülebilir (85).

Sistemik: Kardiyak disfonksiyonu olan hastalarda hızlı volüm ekspansiyonu konjestif kalp yetmezliğine yol açabilir. Potasyum ilave edilmemiş solüsyonlardan çok miktarda kullanıldığında hipopotesemi ve hiperkloremik asidoza yol açar. Bu nedenle serum potasyum konsantrasyonu monitörize edilmeli ve potasyum replasmanı yapılmalıdır. Hipertonik salin solüsyonlarının büyük miktarda devamlı infüzyonuna asetat ilave edilmesi ile metabolik asidoz önlenabilir. Protrombin, aktif parsiyel tromboplastin zamanlarında uzama ve trombosit agregasyonunda azalmaya neden olarak kanamaya yol açabilir. Transfüzyon yapılan vende filebit yapabilir. Hipertonik salinin hızlı infüzyonunun insan, köpek ve tavşanlarda geçici hipertansiyon yaptığı bildirilmiştir (85).

Kontrendikasyonları

Steroid kullanan hastalarda, sirozlu hastalarda, ciddi renal yetmezlik ve sodyum tutulumu olan durumlarda, ödem yapan diğer hastalıklarda ve konjestif kalp yetmezliği olanlarda NaCl kullanımına dikkat edilmelidir. Postoperatif yaşlı hastalarda ise sık takip edilerek kullanılmalıdır. %20'lik NaCl, kalp yetmezliği, hipertansiyon, ödem, toksemi ve hamilelik hallerinde kontrendikedir (88).

2.7. DEKSTRAN

Sakkaroz'un *Leuconostoc mesenteroides* adlı bir bakteri tarafında fermantasyonu sonucu oluşan kompleks bir polisakkariddir. Asidik parsiyel hidroliz ile istenilen molekül ağırlığında olan dekstranlar elde edilir. Dekstran; serebral kan akımını artırır, vizkositeyi değiştirir, serebrovasküler vasokonstrüksiyonu reaktif ederek homestazı sağlar, beyinde osmotik gradient oluşturur ve volümü azaltarak KİB'i düşürür. Hipotansiyon ve hipoksemi, ikincil beyin hasarının en önemli göstergelerindedir. Hipertonik solüsyonlar, KİB, ortalama arteriyel basınç ve BKA'yı etkilerinden dolayı önem kazanmaktadırlar. Travmatize hastalarda, uzun süreli kullanımları yararlı etkilerini tersine çevirmektedir. Bu nedenle başlangıçta ve kısa süreli kullanımı önerilmektedir (88).

İntravasküler kompartmanda uzun süre kalırlar. Molekül ağırlığı 55 kilodaltonun üstünde kalan fraksiyon, glomerüllerden süzülemez. Ancak bütün dekstranlar, kanda amilaz enzimleri tarafından depolimerize edilerek daha ufak molekülü dekstranlar haline geçerler, böylece renal atılımı kolaylaştırır. Renal tubullere gelen dekstranın %40'ı idrar ile atılır. Glomerüllerden süzülen dekstran rezorbe edilemediği için tübüllerde konsantre olarak intratübüler basınçta artma meydana getirerek glomerüler filtrasyon hızında fonksiyonel bir azalmaya neden olur. Dekstran molekülleri proksimal tübüllerde presipitasyona uğrayarak akut renal yetmezliğe neden olabilir. Bu durum özellikle oligüri durumlarında veya renal hastalıklarda daha belirgindir. Dekstran 70 ve 75'in dolaşımında kalış süresi yaklaşık 12-24 saat, dekstran 40'ınki ise iki saat kadardır. Dekstran solüsyonları dalak, karaciğer, akciğer, böbrek, kalp, beyin ve iskelet kaslarında dekstranaz enzimi tarafından karbondioksit ve suya dönüştürülür (89).

Dekstranlar, fizyolojik tuzlu su veya %5'lik glükoz solüsyonu içinde %6'lık (Dekstran 70 ve Dekstran 75) veya %10'luk (Dekstran 40) solüsyon halinde hazırlanmışlardır. Bu solüsyonların ozmotik basıncı 25°C'de 65-70 cm-su kadardır.

Dekstran 70 ve 75 dolaşan plazma hacmini artırdığından şok tedavisinde ve kan verilemeyen kanama hallerinde, kalbin dolma basıncını artırmak için kullanılmıştır.

Dekstranlar direkt antikoagülan olmamakla birlikte hemodilüsyon, trombosit agregasyonunda, trombüs oluşumunda ve fibrinojen düzeyinde değişiklik meydana getirmesiyle antitrombotik bir özelliğe sahiptir. Ayrıca parsiyel tromboplastin zamanını aktive ettiği ve protrombin zamanını uzattığı bilinmektedir. Dekstran glukoza metabolize olduğu için kan glukoz seviyesini yükseltebilir. Dekstran solüsyonu ile eritrosit arasında reaksiyon meydana gelerek ruleks formasyonu oluşabilir. Bu durum izotonik sodyum klorür ile kolayca çözülebilir. Büyük hacimlerde uygulanan solüsyonlar eritrosit antijen antikor reaksiyonunu bozabilir. Kan grubu testlerini ve bazı biyokimyasal testleri bozabilirler (88,90).

Dekstranların en önemli yan tesirleri alerjik nitelikte olmalarıdır. Alerjik durumlar gelişirse infüzyon derhal durdurulmalı, acilen kortikosteroid ve epinefrin uygulanmasına geçilmelidir. Dekstran veya diğer kolloidler; hipervolemi, konjestif kalp yetmezliği, pıhtılaşma bozukluklarında ve böbrek yetmezliği durumlarında kontrendikedir (8).

Tıpta kullanılan fraksiyonlar şunlardır:

Dekstran 70 (Makrodex): Molekül ağırlığı ortalama 70 kilodalton

Dekstran 75: Molekül ağırlığı ortalama 75 kilodalton

Dekstran 40 (Rheomacrodex): Molekül ağırlığı ortalama 40 kilodalton.

3. MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma, Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi ile Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Bütün işlemler için Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'ndan onay alınmıştır.

3.1. MATERYAL

Spektrofotometre (Shimadzu UV 1601), derin dondurucu (BOSCH, PHILCO), homojenizatör (Hydalgo), soğutmalı santrifüj (Sigma 3K 30), hassas terazi (Sartorius; AND GR), pH metre (HANNA HI 9321), su banyosu (Kötterman), etüv (Dedeoğlu), vorteks (Elektromag, velp scientifica 2x³), kronometre, otomatik (Socorex, microlit), cam pipetler, sonikatör (Virsonic 50), polistren tüpler, cam tüpler, beher, balon jodeler, alliminyum folyo, petri kabı, otoklav, cerrahi makas ve bisturi kullanıldı.

Cam ve polistren tüpler, deiyonize su ile yıkanıp bir gün %20 HNO₃ çözeltisinde bekletildikten sonra, üç kez Tip 1 sudan geçirilerek demineralize edildi. Hazırlanan reaktiflerin dayanıklılık sürelerine dikkat edildi. Tüm çözeltiler her çalışma öncesi yenilendi.

Dekstran ve Salinin Hazırlanması: %7,5 Salin ve %6 Dekstran 40 karışımı eşit hacimde karıştırılarak elde edilen solüsyon 8 ml/kg olarak tek seferde enjekte edildi.

Eritropoetinin Hazırlanması: EPREX 10000 U/ml 6 Flakon sıçanların ağırlıklarına göre 5.000 U/kg olacak şekilde tek seferde insülin enjektörü ile intraperitoneal olarak uygulandı.

Çalışma Grubu: Bu çalışmada Wistar Albino cinsi, 250-340 g ağırlığında, 3 aylık 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar her grupta 10 adet olacak şekilde, dört gruba ayrıldı. Tartılarak ağırlıkları belirlendi.

1) Kontrol Grubu (K; n=10): Travmadan 10 dk sonra intraperitoneal serum fizyolojik verilen grup.

2) Eritropoetin Grubu (EPO; n=10): Travmadan 10 dk sonra intraperitoneal EPO verilen grup.

3) Dekstran+Salin Grubu (DS; n=10): Travmadan 10 dk sonra intraperitoneal Dekstran+Salin verilen grup.

4) Eritropoetin+Dekstran+Salin Grubu (EPO+DS; n=10): Travmadan 10 dk sonra intraperitoneal EPO+Dekstran+Salin verilen grup (73).

24 saat sonra bütün çalışma gruplarındaki sıçanlar ketamin anestezisi sonrasında intrakardiyak kanı boşaltılarak sakrifiye edildi ve beyin dokuları çıkarıldı.

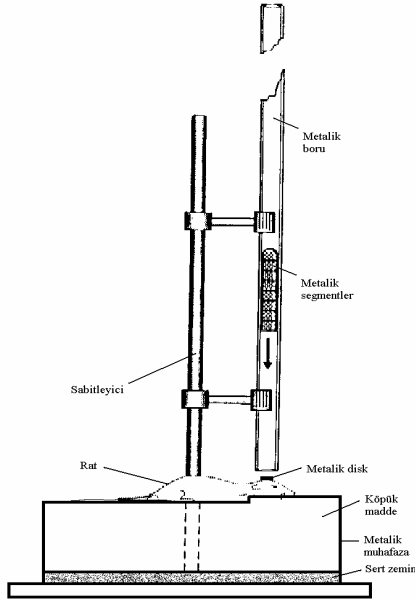
Travma Aleti: Boyu 2.15 m, iç çapı 19 mm, dış çapı 25 mm olan metal bir boru ile bu boruya ait vertikal bir sabitleyici ve sıçanların yerleştirildiği 12x12x43 cm ebatlarında metal muhafazadan oluşur. Çalışma prensibi; metalden yapılmış 200 g ağırlığın yer çekiminin etkisi ile metal boru içerisinden sıçanların kafatasındaki metal diske düşürülmesinden ibarettir (Şekil 1).

Sıçanların Hazırlanması: Sıçanların başındaki tüyler tıraş edildi. Steril şartlarda ve lokal anestezi altında orta hat cilt insizyonu yapıldı. Verteksi kaplayan periost, dissektör ile sıyrıldı. Düşen ağırlıkların daha geniş kranial temas düzeyi sağlamak için sıçanın verteksine, koronal ve lombdoid sütürlere arasına paslanmaz çelikten metal disk konuldu (Şekil 2).

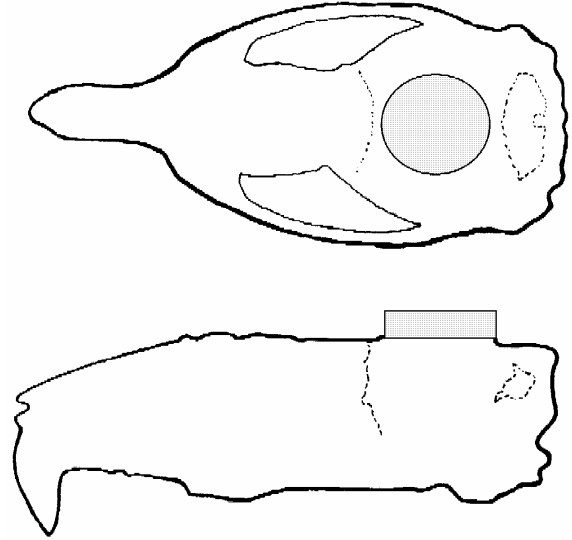
Kafa travmasının oluşturulması: Sıçanlarda AKT oluşturulurken Marmarou ve arkadaşlarının (91) 1994 yılında geliştirdiği travma modeli kullanılmıştır. Sıçanlar 60 mg/kg ketamin HCl ile sedatize edildi. Travma aleti hazır olduğunda sıçanlar, yüzü koyun pozisyonda köpük yatağın üzerine yerleştirildi. Hayvanlar, travma sırasında köpük yatağın üzerinden düşmemeleri için bant ile sabitlendiler. Metal tüpün alt ucu, direkt olarak hayvanın kafatasındaki metal diske gelecek şekilde konumlandırıldı. 2 m yükseklikten 200 gramlık ağırlığın bırakılmasıyla AKT oluşturuldu. Sıçanın kafatasındaki metal disk çıkarılıp birkaç dakika gözlendi. Kafatasında herhangi bir kırığın olup olmadığına bakıldı. Yaraya antiseptik solüsyon (%10 povidone) uygulanarak cilt steril şartlarda dikildi. Deney boyunca sıçanların spontan solunumu

vardı. Travma esnasında ölen iki sıçan çalışma dışı bırakıldı. Yerlerine aynı grupta yetiştirilen iki sıçan alındı.

Şekil 1: Travma aleti



Şekil 2: Kafa travması modelinde travma öncesi sıçan verteksinin hazırlanışı



3.2. METOD

Sıçanların sağ hemisferinde yaş ve kuru ağırlık çalışılırken sol hemisfer bekletilmeden biyokimyasal çalışma gününe kadar -80°C de muhafaza edildi.

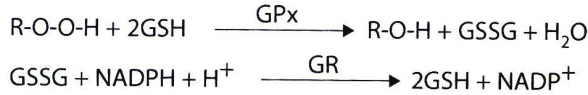
3.2.1. Dokunun Hazırlanması

Beyin korteksi -80°C 'den çıkarıldıktan sonra buz çözülmeyen tartılarak 0.5'er gram alındı. 0,50 M, pH 7,0 EDTA'lı fosfat tamponunda % 10 (w:v) oranında doku/ tampon karışımı homojenize edildi. Buz içinde 2 dk. 8.000 devir/dk. homojenizasyonunun ardından yine buz içinde 30 sn. 25 pulsarda sonike edildi. 11.000 rpm'de $+4^{\circ}\text{C}$ de 30 dk. santrifüj edilerek süpernatant ayrıldı. Bu süpernatantın 0, 5, 10, 20 μM olacak şekilde standart serisi hazırlandı.

3.2.2. Glutatyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü

Doku GPx aktivitesini ölçmek için *Cayman Chemical Company* firmasının bilimsel araştırmalar için ürettiği ve katalog numarası 703102 olan araştırma kiti kullanıldı.

Testin çalışma prensibi GPx tarafından katalizlenen reaksiyonda Glutatyon (GSH)'nin H_2O_2 ile oksidasyonu sonucu oluşan okside glutatyon (GSSG) formunun, glutatyon redüktaz (GR) kataliziyle tekrar glutatyona dönüşmesi sırasında tüketilen NADPH konsantrasyonu üzerinden 340 nm'de oluşan absorbans azalmasının 3 dk boyunca izlenmesine dayanır (92).



Doku GPx aktivitesi Ü/ml cinsinden verildi. Bir ünite GPx, standart deney şartlarında 1.0 nmol NADPH'ın oksidasyonunu katalizleyen enzim miktarı olarak tanımlandı (Ü/L = $\mu\text{mol NADPH/dk/L}$). GPx aktivitesinin ölçüleceği beyin doku süpernatantları seyreltilmedi. Pipetleme işleminin ardından 25°C de 340 nm dalga boyunda numunelerdeki absorbandsdaki azalma 3 dk süreyle izlendi. Örneklerin Δ_A/dk değerleri hesaplandı. NADPH'ın molar absorpsiyon katsayısı $0.00622 \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ alınarak şu formülle hesaplandı:

$$\text{GPx Aktivitesi} = \frac{\Delta A_{340}/\text{min.}}{0.00373 \text{ M}^{-1}} \times \frac{0.19 \text{ ml}}{0.02 \text{ ml}} = \text{nmol/min/ml}$$

GPx aktivitesi için CV değeri %5.7'dir (92).

Reaktifler:

- 1) GPx Assay Buffer (50 Mm Tris-HCL, pH 7.6, 5 Mm ETDA içerir)
- 2) GPx Co-Substrate Mixture [NADPH, glutatyon, glutatyon redüktaz (GR) enzimini içerir]
- 3) GPx Cumene Hidroperoksit

Ölçüm Protokolü:

- 1) Reaktifler oda ısısına getirildi
- 2) 200 μL Assay Buffer, 50 μL Co-Substrate Mixture ve 40 μL süpernatant konuldu
- 3) 40 μL Cumene Hydroperoksidase eklendi
- 4) 3 sn dikkatlice çalkalandı

5) 340 nm’de her dakika başında absorbans okutuldu ve bu işlem 3 kez tekrar edilerek absorbansdaki değişimler kaydedildi.

3.2.3. MDA Miktarının Tayini

Doku MDA düzeyini hesaplamak için *Nortwest Life Science Specialties* firmasının bilimsel araştırmalar için ürettiği ve katalog numarası NWK-MDA01 olan araştırma kiti kullanıldı. Kit’in çalışma prensibi Esterbauer ve ark.nın (93) kullandığı metod ile benzerlik gösteriyordu. Bu metodun prensibi, MDA’nın 60°C’de tiyobarbiturik asit ile reaksiyona girerek 532 nm’de maksimum absorbans veren pembe pigment oluşturması esasına dayanır. Numunelerdeki MDA miktarı standart grafik formülünden hesaplandı.

Reaktifler:

- 1) Bütile hidroksitoluen (BHT) (Etanol içerisinde)
- 2) 1M Fosforik asit
- 3) 2-Thiobarbitürük asit (TBA)
- 4) Fosfat buffer, pH 7.0, EDTA’lı
- 5) Tetrametoksipropan

Ölçüm Protokolü:

- 1) 10 µL BTH mikroplate’deki kuyucuklara konuldu
- 2) 250 µL standart ve süpernatant eklendi
- 3) 250 µL fosforik asit eklendi
- 4) 250 µL TBA eklendi
- 5) 5 sn. vertekslendi
- 6) 1 saat 60°C sıcak su içinde enkübe edildi
- 7) 10.000 devirde 3 dk. santrifüj edildi
- 8) Süpernatant mikroplate’lerdeki kuyucuklara konuldu
- 9) 532 nm. dalga boyunda ölçüm yapıldı

3.2.4. Yaş ve Kuru Ağırlığın Ölçülmesi

Ketamin anestezisiyle uyutulan sıçanlar intrakardiyak kanları alınarak kurban edildi. Beyin kafatasından yapısı bozulmadan dikkatlice çıkartıldı ve hemisferlere ayrıldı.

Sıçanların Sağ hemisferleri çıkarılır çıkarılmaz tartıldı. Sonra petri kutularına yerleştirilen alüminyum folyo üzerinde otoklava konarak 24 saat 80°de kurutuldu. Bu sürede otoklavın ısısında bir değişme olmadı. Folyo ağırlıkları düşülerek kuru ağırlıkları belirlendi. Her bir örnekte beyin su içeriğini hesaplamak için Hara ve ark.'nın (94) 1990 yılında tanımladığı aşağıdaki formül kullanıldı:

$$\% \text{ Su} = \frac{\text{Yaş Ağırlık} - \text{Kuru Ağırlık}}{\text{Yaş Ağırlık}} \times 100$$

3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Sıçanlardan elde edilen biyolojik materyalde, çalışılan parametrelerin aritmetik ortalama değerleri arasındaki farklılıklar, SPSS for Windows 10.0 paket bilgisayar programı kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Ölçülebilen (nicel) verilerin dağılımı $x \pm sd$ ortalama değerler olarak tanımlandı. Verilerin normal dağılıma uygunlukları *Kolmogorov-Simurnov testi* ile bakıldı. Normal dağılıma uygun olduğu görüldü. Gruplar arasındaki farklılığa *One Way Anova testi* ile bakıldı. Hangi grubun farklı olduğu ise *Scheffe Prosedürü* ile değerlendirildi. Anlamlılık seviyesi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. BEYİN DOKUSU BULGULARI

Çalışma bitiminde sıçanlardan elde edilen doku süpernatantlarında GPx aktivitesi ve MDA düzeyleri ölçüldü. Gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değerler çıktı.

Tablo 5. Çalışma Grupları Doku GPx Aktiviteleri

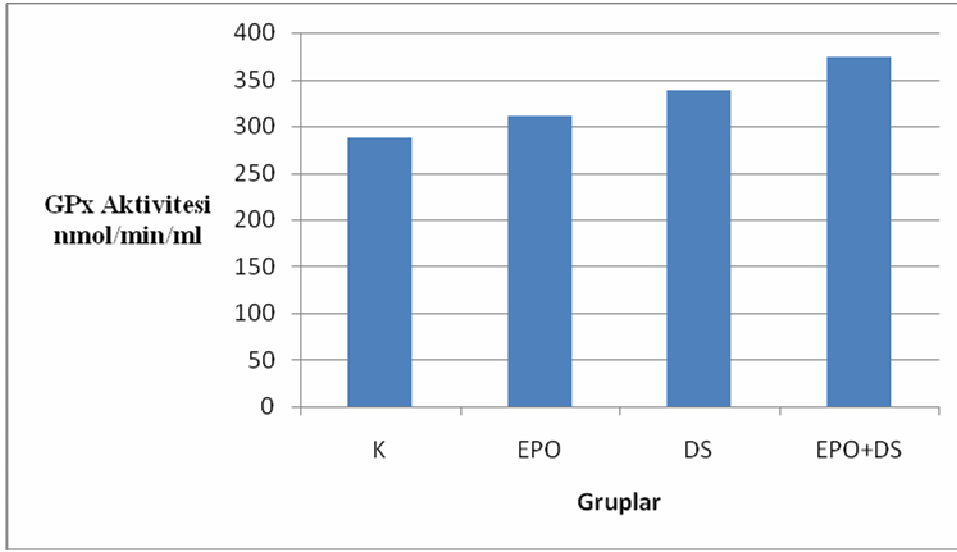
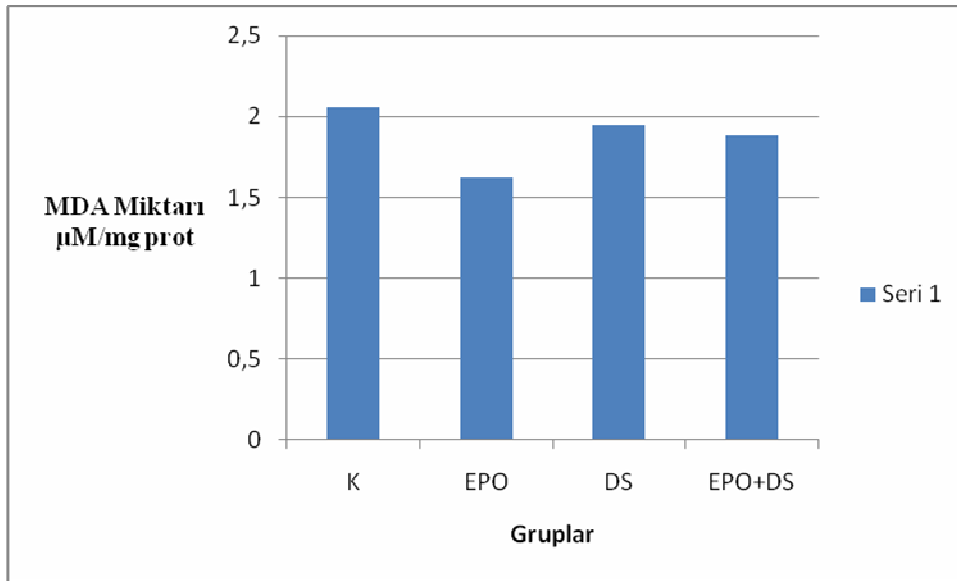
	K n:10 (x±sd)	EPO n:10 (x±sd)	DS n:10 (x±sd)	EPO+DS n:10 (x±sd)	F	P
GPx(Ü/ml)	287,3 ± 13,2	311,2 ± 40,6	338,5 ± 39,8	373,8 ± 22,3	13,2	0,00

GPx aktivitesi açısından EPO+DS verilen grup kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. DS verilen grup ile EPO grubu GPx aktivitesini kontrol grubuna göre artırdığı görüldü, fakat bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 5, Grafik 1).

MDA miktarı açısından sadece EPO grubu kontrol grubuna göre anlamlı bulundu. Diğer gruplar kendi aralarında anlamlı fark göstermedi (Tablo 6, Grafik 2).

Tablo 6. Çalışma Grupları Doku MDA Miktarları

	Kontrol n:10 (x±sd)	EPO n:10 (x±sd)	DS n:10 (x±sd)	EPO+DS n:10 (x±sd)	F	P
MDA(µM)	2,06 ± 0,28	1,62 ± 0,22	1,95 ± 0,29	1,88 ± 0,44	3,7	0,02

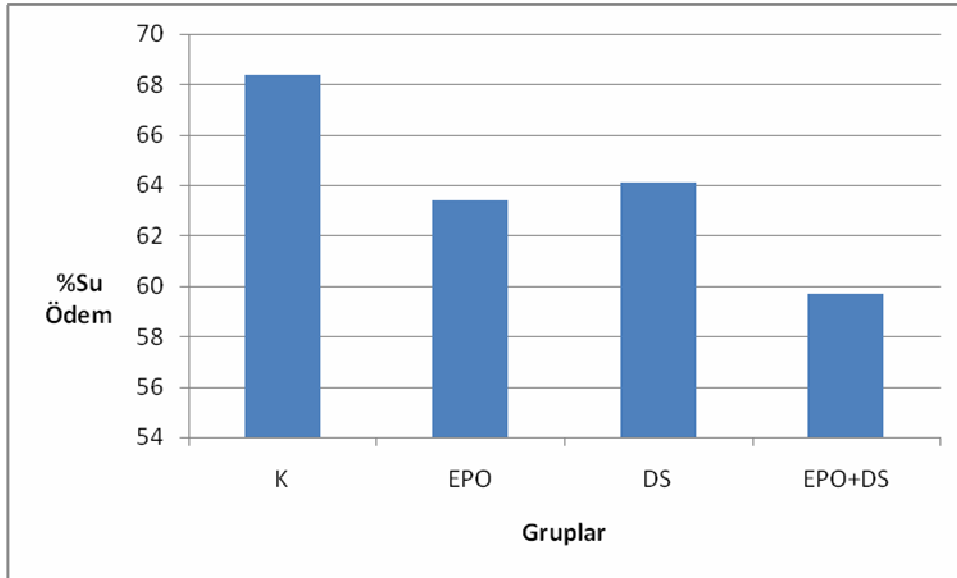
Grafik 1. Grupların Doku GPx Aktiviteleri**Grafik 2.** Grupların Doku MDA Miktarları

4.2. YAŞ VE KURU AĞIRLIK BULGULARI

Doku su yüzdesi ödem olarak değerlendirildi. Buna göre DS, EPO ve EPO+DS grupları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ayrıca EPO+DS grubu EPO ve DS gruplarına göre anlamlı olarak farklı bulundu. Fakat EPO ile DS gruplarının kendi aralarındaki fark anlamlı bulunmadı (Tablo 7, Grafik 3)

Tablo 7. Grupların Yaş-Kuru Ağırlık Ortalamaları

	Kontrol n:10 (x±sd)	EPO n:10 (x±sd)	DS n:10 (x±sd)	EPO+DS n:10 (x±sd)	F	P
Yaş Ağırlık	0,602 ± 0,040	0,629 ± 0,025	0,547 ± 0,020	0,514 ± 0,032	28,2	0,00
Kuru Ağırlık	0,190 ± 0,014	0,229 ± 0,010	0,196 ± 0,010	0,207 ± 0,018	15,8	0,00
%Su (ÖDEM)	68,4	63,4	64,1	59,7	76,2	0,00

Grafik 3. Grupların Ödem Üzerine Etkisi

5. TARTIŞMA

Günümüzün en önemli sağlık problemlerinden biri haline gelmiş olan kafa travmaları, öldürücü, sakat bırakıcı, uzun süre tedavi ve bakım gerektiren bir patolojidir. Travma sonrası normal fizyolojisi bozulan beyinde oluşan oksidatif metabolitlerin ortamdan uzaklaştırılması, otheregölasyonun bozulması nedeniyle güçleşmektedir. Ayrıca, beyinin oksidatif streslere karşı savunma mekanizmasının diğer organlara göre daha az olduğu bilinmektedir. Bu nedenle beyinin antioksidan mekanizmalarının desteklenmesi gerekmektedir. Travmaya maruz kalan beyin, oksidanlara bağlı oluşan ikincil hasarlardan korunduğu oranda normal fizyolojisine dönebilir (4).

AKT'lı hastaların tedavisinde birçok teşhis ve tedavi metodlarının kullanıma girmesine rağmen morbidite ve mortalite oranı halen yüksek seyretmektedir. Modern görüntüleme metodlarının kullanılması ile intrakranial patolojiler kolaylıkla teşhis edilebilmektedir. Ayrıca serebral perfüzyon sintigrafisi, KİB ölçümü ve transkraniyal doppler'in kullanıma girmesi ile BKA, beyin oksijenizasyonu ve beyin ödeminin seyri hakkında önemli bilgiler elde edilebilmektedir. Mekanik ventilatör kullanımı ile de hastanın oksijenizasyonunun kontrolünde önemli başarılar elde edilmesine rağmen, AKT'nin tedavisinde istenen sonuçlara henüz ulaşılammıştır.

Travma sonrası oluşan primer beyin hasarını takiben saatler hatta dakikalar içinde ortaya çıkan sekonder beyin hasarının fizyopatolojik mekanizması henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, son yıllarda bazı hücrenel ve biyokimyasal faktörler üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Sekonder beyin hasarının prognozu önemli ölçüde olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Bu nedenle önlenebilir patolojilerden korunarak mortalite ve morbiditenin azaltılması mümkün olabilir (19). Travma sonucu beyinde antioksidan mekanizmalar arası dengelerin bozulması ile açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu

lipid peroksidasyonu, sekonder beyin hasarının önemli nedenlerinden birisidir. Travmatik iskemi sonrası oluşan nöronal hasarı önlemek ve nörolojik kötü sonuçları düzeltmek için SOR üretimini veya dağılımını azaltmak gerekmektedir. Süperoksit radikali önleyicilerinin SSS'de travma ile gelişen veya iskemi sonrası oluşan klinik ve histopatolojik olayları iyi yönde etkilediği bildirilmiştir (5).

İnsanlardaki kafa travmasına benzer deneysel model oluşturmak üzere çeşitli metodlar geliştirilmiştir. Ancak, yaygın beyin hasarını laboratuvar şartlarında oluşturmak oldukça güçtür. Kraniuma, dura üzerine ya da durayı açıp direkt nöral dokuya travma uygulanması şeklindeki metodlara ek olarak deney hayvanlarında sıvı kullanılarak yapılan vurmalar (sıvı perküsyon) şeklinde travmatik hasar modelleri de geliştirilmiştir. Mekanik travmanın sağlam kafatasına uygulanması direkt dura üzerine travma oluşturmaktan daha yaygın hasara yol açmaktadır İnsanlarda sık görülen diffüz kafa travması ile benzerliği nedeniyle bizim çalışmamızda da Marmarou ve ark.nın tanımladığı, kafatasının sağlam kaldığı kapalı kafa travması modeli esas alınmıştır (91,96).

Oksidatif stresin artması veya antioksidan sistemin zayıflaması, SOR kaynaklı hasarların oluşması için başlangıç aşamasıdır. Organizmada oksidatif hasardan en çok etkilenen doku beyindir. İnsan beyini, vücut ağırlığının yaklaşık %2'sine sahip olmasına rağmen tüm oksijenin %20'sini kullanır. Bu nedenle de oksijen radikallerinin oluşturduğu toksisite diğer dokulardan daha süratle ortaya çıkar. Beyinde dopamin oksidasyonu gibi dokuya özel nörokimyasal reaksiyonlar da aşırı endojen Süperoksit radikali üretimine neden olur. Bunların dışında nöronların membran alanının sitoplazmasına göre yüksek olması, aksonların morfolojisinin periferik hasara oldukça yatkın olması, nöronların kendini yenileyememesi gibi nedenlerden beyin dokusu fazla etkilenir (67).

Doğal olarak antioksidan savunma sisteminin beyinde daha güçlü olması beklenirken, GPx gibi önemli antioksidan enzimler beyinde düşük düzeydedir. Fakat demir, bakır, askorbik asit gibi oksidan madde üreten moleküller yüksek konsantrasyondadır. Üstelik beyinde oksidatif hasarın kolaylıkla başlayıp kendi kendine ilerlemesine uygun bileşikler olan doymamış yağ asitleri de yüksek

miktardadır. Bütün bu olumsuzlukların yanında beyin fizyolojik bir KBB ile korunmaktadır. Bu engel toksinlerin merkezi sinir sistemine girmesini önlerken, aynı zamanda antioksidan maddelerin geçişini de engellemektedir (68).

Beyin dokusu bütün bu özellikleri dolayısıyla oksidatif strese diğer doku ve organlardan daha yatkındır. Bu yüzden korunma ihtiyacı diğer dokulardan daha fazladır. Özellikle iskemi, hipoksi ve travma gibi oksijenlenmenin azaldığı veya tamamen ortadan kalktığı durumlarda dışarıdan antioksidanların takviye edilmesine ihtiyaç vardır (98). Bu yüzden beyin, çok özenle korunması gereken bir organdır. Bunları özetleyecek olursak;

- 1) Beyin dokusunu oluşturan hücrelerin membranları lipid bakımından diğer organların hücrelerinden daha zengindir.
- 2) Nöronların membran/sitoplazma oranları diğer hücrelere göre daha büyüktür. Yani membran oranı fazladır.
- 3) Oksidatif metabolik aktivite oldukça yüksektir.
- 4) Oksidan stresten koruyucu GPx, katalaz gibi antioksidan enzimlerin miktarı ve aktiviteleri düşüktür (56).
- 5) Spesifik nörokimyasal reaksiyonlarla fazla miktarda endojen süperoksit radikali üretilmektedir (64).
- 6) Periferik hasara yatkın uzamış akson morfolojisi gibi nöronlara özgü özellikler vardır.
- 7) Nöronların son bölünmesini tamamlamış olması ve gerektiğinde çoğalamaması, hasara uğrayan hücrenin yerine yenisinin gelememesi sonucunu doğurmaktadır. Bu da dokunun hasara daha yatkın hale gelmesine neden olmaktadır.
- 8) Demir ve bakır gibi redoks potansiyeline sahip elementler fazladır.

Kafa travmasından sonra oluşan ve hızla ilerleyen beyin ödemi, birçok patolojik sürecin başlamasına neden olur. Bunlardan en önemlisi damarsal yapılara baskı ile gelişen perfüzyon azalmasıdır. Dolayısıyla travma sonrasında gelişen olaylar kısmen iskemi tablosuna benzemektedir. Beyin dokusu birçok özelliği nedeni ile SOR hasarına yatkın bir organdır. Özellikle iskemi, hipoksi ve travma gibi

oksijenlenmenin azaldığı durumlarda reperfüzyondan sonra dışarıdan antioksidanların takviye edilmesine ihtiyaç vardır (66). Redoks potansiyeline sahip elementlerin varlığında özellikle hidrojen peroksitten Fenton reaksiyonu ile daha potent bir süperoksit radikali olan hidroksil radikali üretilmektedir. Bu radikal, yarı ömrü çok kısa olmasına rağmen ortamdaki kimyasal yapılarla kolayca reaksiyona girerek hasar oluşturur. Özellikle membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna neden olmakta, membranın yapısını değiştirmekte ve membran içine yerleşmiş olup da taşıyıcı, reseptör gibi fonksiyon gören yapıları etkilemektedir. Bunun sonucunda da membran geçirgenliğini değiştirmekte ve seçici geçirgen özelliği yok olmaktadır. Ayrıca Ca^{+2} 'un sitoplazmik konsantrasyonunun artması ve bu iyonun da ikinci haberci olarak fonksiyon görmesinden dolayı birçok metabolik süreç kontrolsüz uyarılmaktadır. Ortamda bulunan fazla miktardaki SOR, NO ile birleşerek çok kuvvetli bir oksidan olan peroksinitrit üretme eğilimindedir (66). Peroksinitrit de biyomoleküllere etki ederek onların yapısını bozmaktadır. Görüldüğü gibi SOR türlerinin birbirleriyle girdikleri reaksiyonlardan oluşan ikincil ürünler de oksidatif stresin zararlı etkilerini artırmaktadır. Bozulmuş KBB'den geçebilen uyarıcı amino asitler, lökotrienler, serbest radikaller, bradikinin, serotonin, histamin ve araşidonik asit gibi kimyasal mediatörler de beyin ödemi artırılmaktadır (99). Oluşan hücre içi kaos ortamından da apoptozis veya nekroz gelişmektedir (67).

Hall ve ark. (100), sıçanlarda deneysel AKT sonrası OH^- radikali seviyesini spektrofotometrik yöntemle ölçmüşlerdir. OH^- radikallerinin travmadan hemen sonra artmaya başladığını ve 1 saat sonra en üst düzeye ulaştığını göstermişlerdir. OH^- radikallerinin vasküler endotelde hasar oluşturdukları ve sonuçta KBB'yi bozarak beyin membranlarında lipid peroksidasyonu başlattıklarını belirtmişlerdir. Willmore ve Rubin (101), sıçanlarda lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA'nın doku seviyesi ile ödemin orantılı olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da doku MDA seviyesi yüksek gruplarda daha fazla ödemin olduğu görüldü.

EPO, iki disülfid köprüsüyle 165 aminoasitten kurulu glikoprotein yapıda bir hormondur. Bilinen görevi, eritroid hücrelerde üretimi ve farklılaşmayı

sağlamaktır. Bununla birlikte EPO reseptörlerinin eritroid hücrelerin dışında pek çok hücrelerde de (nöronlar, karaciğer stroma hücreleri, testiküler leydig hücreleri gibi) bulunması eritropoezis dışında da fonksiyonlarının olduğunu düşündürmektedir. EPO'nun ismini aldığı eritropoetik etkilerinin yanında pek çok biyolojik aktiviteleri olduğu bir gerçektir. Hipoksiye cevap olarak astrositlerin EPO üretmesi EPO'nun nöronları iskemik hasardan koruduğunu düşündürmektedir. Wu ve ark. (102), fare embriyosunda EPO etkisi bloke edilince kardiyogenezin ve damarsal ağın gelişmediğini göstermişlerdir. Yasuda ve ark. da (80) EPO'nun fetusta SSS'nin gelişmesinde önemli rolü olduğunu ve embriyoda EPO'suz şartlarda nörogenezin durduğunu göstermişlerdir.

Brines ve ark. (75), EPO'nun KBB'yi reseptör aracılı mekanizma ile geçtiğini göstermişlerdir. Periferik olarak verilen EPO'nun da beyni koruduğunu ve minimal yan etkileri olan güvenli bir terapotik ajan olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da intraperitoneal olarak verilen EPO'nun beyin dokusundaki etkileri tespit edildi.

Belayev ve ark. (103), MCA'sı bağlanarak hipoksi oluşturulan sıçanlara 2 saat sonra uygulanan darbepoietin alfanın (EPO) histolojik olarak nöronları koruduğunu ve kontrol grubuna göre daha az kortikal ve subkortikal enfarktüs geliştirdiğini göstermişlerdir. Darbepoietin alfa verilen sıçanların kortikal enfarktüsünde %58, subkortikal enfarktüsünde ise %50 oranda azaldığını bildirmişlerdir. Eritropoetin bu koruyucu etkisini anjiyogenez ve nörogeneze bağlanabileceğini belirtmişlerdir. Ehrenreich (104), EPO'nun hastalığa özgü patolojik mekanizmaları düzenlemeden ziyade doku koruyucu etkilerini antioksidan, antiapoptotik, glutamat inhibitör, antiinflamatuvar, nörotropik, kök hücre düzenleyici ve anjiyogenik mekanizmalar ile sağladığını belirtmiştir. Diğer taraftan EPO endotelial proliferasyonu stimüle ederek in vivo ve in vitro yeni damar oluşumu sağlayabilir (6). Yeni damarların oluşması da beyin dokusuna taşınan oksijen miktarını koruyarak iskemiye engeller. Wang ve ark. (105), rEPO tedavisinin serebral mikrodamar oluşumunu artırarak fonksiyonel düzelmeyi önemli oranda artırdığını bildirmişlerdir.

EPO antioksidan enzim aktivilerini düzenleyerek nöroprotektif etki gösterir. Kumral ve ark. (83), hipoksiye maruz bırakılan neonatal sıçanlarda EPO'nun GPx aktivitesini artırdığı ve lipid peroksidasyonunu azalttığını bildirmişlerdir. Kuzugüden ve ark. da (84) sıçan beyinde tiner ile oluşturulan oksitativ stresin yüksek doz EPO verilmesiyle MDA oluşumunu azaltarak ve GPx aktivitesini artırarak azaltılabileceğini göstermişlerdir. Bu bulgular EPO'nun antioksidan savunmayı güçlendirerek de nöroprotektif olduğunu desteklemektedir. Öztürk ve ark. (106), sıçanlarda kapalı kafa travması sonrası propofol ve eritropoetin antioksidan özelliklerini araştırdıkları çalışmada EPO ve propofol+EPO gruplarındaki serum MDA düzeyleri, kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca EPO uygulaması serum NO düzeylerini etkili bir biçimde azaltmıştır. Çalışmanın sonucunda, erken dönemde EPO uygulanmasının, travma sonrası oluşan oksitativ stres metabolitlerinde anlamlı azalmalara neden olduğu belirtilmiştir. Biz de çalışmamızda deneysel kafa travması oluşturduğumuz aynı tür sıçanlarda kontrol grubuna göre EPO ve EPO+DS verilen grupların doku MDA düzeylerini anlamlı olarak azaldığını gördük. Ayrıca GPx enzim aktivitesinin aynı gruplarda kontrol grubuna göre yüksek olduğunu belirledik. Bunlarda EPO'nun antioksidan bir hormon olduğunu düşündürmektedir.

EPO reseptörleri nöron, astrosit ve endotelyal hücrelerde vardır. Bu reseptörlerin blokajı ile nöron hasarının arttığı gösterilmiştir (80). Bunda EPO'nun intrinsik nöron tamir yollarına direkt olarak müdahil olduğunu düşündürmektedir. İskemik inmelere özellikle ilk 6 saatte EPO verilmesinin enfarktüs alanını belirgin şekilde küçülttüğü, beyin konküzyonlarını ve omurilik yaralanmasını azalttığı gösterilmiştir. Kainat ile oluşturulan konvulzyonları ve otoimmün ensefalomyeliti de azaltıp hafiflettiği bildirilmiştir. Ye Xiong ve ark. (107), farelerde kafa travması sonrasında eritropoetin beyin fonksiyonları ve nöron restorasyonu üzerine yaptıkları çalışmada EPO'nun öğrenme fonksiyonlarını düzelttiği, duyu ve motor fonksiyonları iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Bunu nöron kaybını azaltarak sağladığını göstermişlerdir. Travma oluşturulan sıçan beyinde dentat gyrusundaki hücre kayıpları incelenmiş ve travma tarafındaki dentat gyrus hücrelerinde karşı tarafa göre

travmadan sonraki 7.günde %30, 35.günde %42 oranında nöron kaybı olduğu, EPO ile tedavi edilen sıçanların ise dentat gyruslarındaki hücre kaybının 35.günde %23'e düştüğünü göstermişlerdir. Bu da Rola ve ark.nın (108) travmadan sonra hücre ölümünün ilk 24 saat de pik yaptığını ve 14. güne kadar gittikçe azaldığını bildiren çalışmalarıyla uyumlu bulunmuştur. Ayrıca dentat gyrusdaki hücre proliferasyonu incelenmiş ve EPO verilen grupta nöron sayısının belirgin bir şekilde arttığı görülmüştür. Bu da EPO'nun travma sonrası beyin korteksinde nörogenesi arttırdığını göstermektedir. Bu sonuç da Lu ve ark.nın (109) travma sonrasındaki sıçanlarda EPO'nun hafızayı restore edip nörogenesi arttırdığını bildirdiği çalışma ile uyumludur. Bunlar da göstermektedir ki; EPO nöron kaybını azaltan ve nöron yapımını uyaran etkili bir nöroprotektif moleküldür.

Travmatik beyin yaralanmalarında "su-labirenti" yöntemiyle sıçanların öğrenme kayıpları incelenmiş ve EPO'nun dentat gyrusdaki hücre kayıplarını belirgin olarak azaltarak aynı zamanda öğrenme performansını, duyu ve motor fonksiyonları düzelttiği gösterilmiştir (108).

Pratik olarak, bütün beyin hücreleri EPO salgılama ve EPO reseptörünü sunma yeteneğine sahiptir. İntraperitoneal olarak verilen EPO, kan beyin bariyerini geçer ve hasarlı beyine koruyucu etki gösterir. EPO hipoksiden intraserebral hematoma kadar beyin hücrelerine zararlı uyarılara çok yönlü koruyucu etki gösterir. İskemi ve travma sonrasındaki bu koruyucu etkiyi temelde apoptosizi engelleyerek temin eder. Her ne kadar deneysel travma modellerinde pek çok antiinflamatuvar ve antiapoptotik ajanın nöroprotektif etkisi gösterilmişse de şu ana kadar sekonder beyin hasarını durduracak hiçbir farmakolojik ajan klinik kullanımda onaylanmamıştır. İnmeli hastalar EPO kullanımının sağladığı klinik faydalar, insanda gösterdiği hafızayı artıcı etkisi, sıçanlardaki SOR ile motor ve öğrenme üzerine iyileştirici etkileri ve bizim çalışmamızda gösterdiğimiz belirgin ödem çözücü ve antioksidan etkilerinden dolayı rEPO ümit vadeden nöroprotektif ve nörorestotatif bir ajandır. Travmatik beyin yaralanmalarında daha fazla araştırılmayı hak etmektedir.

Hartley ve ark. (110), sıçanlarda EPO'nun nöroprotektif ve sekonder beyin hasarından koruyucu etkisinin altında yatan metabolik mekanizmaları incelemişlerdir. Kafa travmasına maruz bırakılan sıçanlarda travmadan 30 dk. sonra verilen tek doz EPO'nun dahi glukoz seviyesini koruduğu ve laktat ile privat seviyelerini düşük tuttuğu görülmüştür. Bu sayede EPO'nun serebral kortekste aerobik metabolizmayı koruduğu gösterilmiştir. Ayrıca histolojik incelemede EPO verilen gruptaki sıçan beyin dokusunda ödemin ve iskemik alanın belirgin derecede küçük olduğu bildirilmiş, buda enflamasyonda azalma, ve antioksidan aktivitede artmaya bağlanmıştır. Bu çalışma da EPO'nun nöroprotektif etkilerinin metabolik yönünü anlamamıza yardımcı olmuştur. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular EPO'nun antiödem ve antioksidan etkiler ile uyumlu bulunmuştur.

Sakanaka ve ark. (111) ventriküler EPO infüzyonunun (günde 2.5-25 ünite) doza bağlı olarak iskemiye bağlı öğrenme bozukluğunu düzelttiğini ve hipokampal CA1 nöronlarını iskemik hasardan koruduğunu göstermişlerdir. EPO'nun nöroprotektif etkisini, hipokampal CA1 bölgesindeki sinapsları sayarak doğrulamışlardır. İskemik nöron hasarı oluşturulan hamsterlerde, hipoksi öncesi verilen intraventriküler rEPO'nun, hipokampusta hipoksiye hassas CA-1 bölgesindeki nöronların ölümünü engellediği ve aynı zamanda, sinaptik ilişkinin korunmasında rol aldığı gösterilmiştir. Endojen EPO-R'e bağlanabilen çözünebilir EPO'nun intraventriküler infüzyonu, beyin hasarını azaltmaktadır. Ayrıca eritropoezisi durdurmak amacıyla yapılan spesifik gen hasarından sonra, eritropoezin durmasıyla beyin gelişimi de durmaktadır. İntraselüler Ca^{2+} konsantrasyonunda glutamat aracılı artış, Ca^{+2} -calmodulin kompleksini oluşturarak NO sentezini aktive eder. Artmış NO de glutamat nörotoksitesine aracılık eder. NO sentez inhibitörlerinin intraventriküler infüzyonunun iskemik hipokampal CA1 nöronları koruduğu ve nöron NO sentezi eksikliği olan sıçanların beyin iskemisine toleranslı olduğu gösterilmiştir (112). Bu in vitro deneyler, EPO'nun, nöronlardaki superoksit dismutaz, GPx ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin etkisini artırdığı gibi NO üretimini azaltarak nöron kaybını engellediğini göstermiştir. Bizim

çalışmamızda da EPO, GPx aktivitesini artırarak ve MDA miktarını azaltarak antioksidan etki göstermiştir.

EPO'nun nöron koruyucu etkisinin görülebilmesi için travmadan 24 saat önce veya travmadan sonraki ilk 3 saat içinde verilmesi gerektiği bildirilmektedir. Bu nedenle bizde çalışmamızda EPO i.p. olarak travmadan 10 dk sonra verildi. Kontrol grubundaki MDA artışı oksidatif stresin arttığının bir göstergesidir. EPO ve DS ayrı ayrı veya birlikte kullanıldıklarında beyin dokusundaki MDA düzeyini düşürerek lipid peroksidasyonunu azaltmış ve GPx aktivitesini artırmıştır. Bu bulgudan hareketle, EPO'nun her ne kadar etki mekanizması bilinmese de antioksidan etkileriyle travmaya bağlı doku hasarını engelleyebilmektedir.

Morishida ve ark. (112), EPO'nun kültürlenmiş nöronlarda glutamat'ın indüklediği hücre ölümünü önlediğini göstermişlerdir. Sakanaka ve ark. (111), gerbilde EPO'nun lateral ventriküler infüzyonuyla nöron canlılığını artırdığını rapor etmiştir. Bernaudin ve ark.na göre (113), sıçanlardaki fokal kalıcı serebral iskemide i.v. yolla enjekte edilen EPO, nöral koruyucu etki göstermiştir. Alafaci ve ark. (114), deneysel SAK'dan hemen sonra rEPO'nun sistemik biçimde uygulanmasının mortalite oranını azalttığını, fonksiyonel düzelmeyi artırdığını ve beyinde iskemik hasarı önlediğini bildirmişlerdir. Brines ve ark. (75) rEPO'nun sistemik olarak uygulanmasının travmatik beyin hasarının indüklediği fokal beyin iskemisini azaltarak, potansiyel nöral koruyucu etki sağladığını göstermişlerdir.

Verdonck ve ark. (115), deneysel kafa travması oluşturulan sıçanlarda rEPO'nun beyin ödemi üzerine etkisini MRG ve gravimetrik yöntemlerle incelemişlerdir. Albino Wistar cinsi sıçanlara Marmarau ve ark.nın tarif ettiği kafa travması modeli uygulanmış (91) ve travmadan 30 dk. sonra rEPO verilmiştir. Sıçan beyнинin neokorteks ve kaudaputamen bölgesinden ölçümler yapılmış ve EPO ile tedavi edilen sıçanlarda kontrole göre beyin ödeminin çok belirgin olarak az olduğu görülmüştür. Bu da EPO'nun ödemi etkilediğinin kanıtı sayılmıştır. Bizim çalışmamızda da EPO ve DS gruplarında beyin ödemi kontrol grubuna göre azalmış ve her ikisinin beraber verildiği grupta da

sinerjistik etkiyle beyin ödeminin belirgin olarak azaldığı bulunmuştur. Bu sonuçlar Frei ve ark.nın (116) rEPO'nun kapalı kafa travmalarında beyin perfüzyonunu belirgin olarak artırdığını ve sıçanlarda hücrel apoptozisi, doku enflamasyonunu ve beyin ödeminin azaltarak nörolojik sonuçları iyileştirdiğini bildirdiği çalışma ile uyumludur.

Her ne kadar rEPO'nun bu nöroprotektif etkilerine aracılık eden kesin mekanizmalar açık değilse de bizim elde ettiğimiz bulguları diğer çalışmalarla bağlayarak açıklayabiliriz. Hasarlı hücrelerden dakikalar içerisinde süperoksit radikali, glutamat, laktat, kalsiyum, NO, araşidonik asid, histamin ve kininlerin salındığını biliyoruz. Ekstrasellüler bölgeye glutamat salınması astrositlerin sodyuma bağlı taşıyıcı mekanizma ile bu glutamati hücre içerisine alarak şişmesine ve intrasellüler kalsiyum artışına neden olur. Bu dramatik sodyum, kalsiyum ve klorun hücre içine akışıyla oluşan iyon dengesizliği erken gliyal şişme ve nöron hasarını açıklamaktadır. Nillson ve ark. da (117) travmadan sonra dakikalar içerisinde aşırı miktarda kalsiyumun hücre içinde toplandığını göstermişlerdir. İskemiye bırakılan nöral hücre kültürlerinde EPO reseptör aktivasyonunun glutamat salınımını inhibe ettiği ve önceden EPO verilen nöronlarında glutamat'ın oluşturduğu nöron hasarından korunduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde EPO verilmesiyle doku NO üretiminin inhibe edildiği, NO toksositesinin ve beyin ödeminin belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir. Bu yüzden rEPO'nun erken dönemdeki yararlı etkilerini glutamat salınımını ve iyon imbalansını restore ederek ve NO üretimini azaltarak yaptığını düşünüyoruz (111,114).

EPO'nun doz çalışmalarının henüz yapılmamasına rağmen biz çalışmamızda 5000 Ü/kg verdik. Bu dozun pek çok travma modelinde etkili olduğu bildirilmiştir. Eritropoetik etkisi olmayan EPO analoglarının geliştirilmesine çalışılmaktadır. Böyle bir ajanında kafa travmalarında oluşan beyin ödemi ve sekonder beyin hasarı üzerine faydalı olacağını düşünmekteyiz. Sonuç olarak bizim bulgularımızda deneysel kafa travmalarında gelişen beyin ödeminin karşı EPO'nun yararlı etkilerinin olduğunu gösteren yayınları desteklemektedir. Etki mekanizması ile klinik sonuçları bilinmese de beyin ödeminin engellemede ümit vaat etmektedir.

Bugüne kadar hipertonic DS solüsyonu uygulaması, hemorajik şoktan kurtarma ile ilgili çalışmalarla sınırlı tutulmuştur. Sonuçlar hastaların bu tür bir tedaviden fayda görebileceğine işaret etmesine rağmen, kafa travmalı hastalar bu çalışmalara önceleri dahil edilmemişlerdir (37). Bu ajanların KİB’i düşürdüğü, kafa travmalı hayvanlar üzerinde yapılan deneylerle doğrulanmıştır. Berger ve ark. (8), fokal serebral lezyon ve intrakranyal kitleye bağlı intrakranyal hipertansiyonu düşürmede hipertonic DS ile hipertonic mannitolü karşılaştırmış ve DS solüsyonunun mannitole göre daha yüksek BPB sağladığını bildirmişlerdir. Ayrıca mannitol uygulandıktan sonra kısa süreli ve doza bağlı arteryel hipotansiyon ortaya çıkmıştır (4). Mannitolün diğer dezavantajları arasında arteryel pO_2 ’nin düşmesi, pCO_2 ’in artması ve sistemik asidoz da sayılabilir. DS solüsyonu verildikten sonra kan pH’ındaki azalma mannitolden sonra gelişen asidoz kadar ciddi bulunmamıştır. Hematokritteki nisbi düşüş her iki grupta da hemen hemen aynıdır. Kandaki pO_2 ve pCO_2 değerlerinde görülen eşzamanlı değişimlere bakarak akciğer ventilasyon/perfüzyon oranını etkileyen mekanizmaları mannitolün aktive ettiği söylenmektedir.

DS solüsyonu ile mannitol deney koşullarında KİB hemen hemen aynı şekilde etkilemelerine rağmen, doku dehidrasyonunun farklılığı KİB’i düşüren mekanizmaların farklılığını düşündürmektedir. Mannitol travmatik hemisiferdeki beyin dokusunun su içeriğini, DS ise kontralateral hemisiferdeki dokunun su içeriğini daha etkili biçimde düşürmektedir. Ayrıca deneysel çalışmalar hipertonic salinin mannitole kıyasla BPB’yi daha iyi düzelttiğini göstermiştir. Çünkü hipertonic salinin OAKB’ı artırma potansiyeli daha fazladır. Halbuki mannitol OAKB’ı azaltır. Mannitol, multipl dozlardan sonra vazojenik ödemi ağırlaştıracak biçimde hasarlı beyin dokusunda birikim yapabilir. Ayrıca mannitol akut renal yetersizliğe, hiperkalemiye, hipotansiyona ve KİB’da rebound artışlara neden olabilmektedir. Berger ve ark. (8), DS’nin, deneysel modelde artan KİBA’yı mannitol kadar etkili bir biçimde azalttığını bildirmişlerdir.

Muizelaar (39), beyin ödemi ve artmış KİB’i baz alınarak DS solüsyonu ile mannitol karşılaştırmıştır. DS solüsyonu uygulandıktan sonra travmatize hemisferde beyin ödeminin mannitole göre daha fazla azaldığını ve KİBA

kontrolünün daha iyi sağlandığını bildirmiştir. Bu nedenle biz de çalışmamızda mannitolün yerine DS kullanımının daha uygun olacağını düşündük.

Eksikliklerine rağmen hipertonic DS solüsyonu hem hemorajik şoka giren hastalarda hem de ciddi kafa travmasına maruz kalan hastalarda daha sık kullanılması gereken bir tedavi metodu olarak değerlendirilmelidir. Zira böyle bir tedaviyle kısa sürede yeterli kardiyovasküler fonksiyon sağlanıp sekonder serebral iskemi önlenecektir. Ayrıca bu tedavi, hastaların hastaneye güvenli bir biçimde naklini de sağlayacaktır. Bu görüşümüzü, kaza mahallinde hipertonic DS solüsyon infüzyonuyla resüsite edilen kafa travmalı hastalarda gözlenen yüksek survi oranlarına ilişkin klinik gözlemler de desteklemektedir. Deneysel ve klinik tecrübeler, bu tür bir sıvı rejimi uygulamasının kafa travmalı hastalarda hemoraji ve beyin şişmesine neden olabileceğine ilişkin görüşleri doğrulamamaktadır. Tam tersine KİB'in DS solüsyonuyla düşürülmesine, hastaların kesin tedavileri yapılacak hastaneye ulaşmaya kadar stabil kalmalarına neden olmaktadır.

Beyini hasarlı ve hipovolemik köpeklerin %3 hipertonic salinle tedavileri, %10 dekstran 40 veya %09 salin'e kıyasla KİB'i 20 mmHg'nın altında tutmuştur. %09 salin ve %10 dekstran 40 infüzyonu alan hayvanlar, hipertonic salin alan hayvanlara kıyasla KİB'de önemli artış ve daha büyük yaş beyin ağırlıkları göstermişlerdir (8).

Hipertonic salin verilen hemorajik şoku ve beyin hasarı olan sıçanlar, ringer laktat solüsyonu verilenlere göre daha az volüme gereksinim duymuşlardır. Hasar görmemiş beyin dokusunda su içeriği, hipertonic salin resüsitasyonu sonrası ringer laktat resüsitasyonu sonrasına kıyasla önemli ölçüde daha azdır. Hasarlı beyin dokusunda su içeriği, her iki tedavi protokolünde de eşit miktarda artmıştır. Hasarsız dokudaki su miktarında görülen azalma KİB'de azalmayla sonuçlanabilir (85).

Serum Na⁺, deneysel modelde mannitol uygulandıktan sonra hipertonic DS'ye göre daha fazla artmıştır (8). Ozmolalite, hem hipertonic DS hem de mannitolde aşağı yukarı aynı miktarda artmıştır. Ayrıca hipertonic DS, idrar sodyum

konsantrasyonunu mannitole kıyasla önemli ölçüde artırmıştır. Bu durum, bolus hipertonic solüsyonu sonrası sodyumun kandaki etkin akışına bağlı olabilir. Hipertonic DS sonrası ortalama idrar ozmolalitesi ile mannitol sonrası ortalama idrar ozmolalitesi arasında belirgin bir fark yoktur. Hipertonic DS sonrası idrar çıkışı, mannitolden daha düşüktür. Mannitol diüretik olduğu için bu doğal görünse de hipertonic DS'nin daha az idrar çıkışıyla daha etkin bir KİB düşüşü sağlayabilmesi önemlidir.

Biz bu çalışmada yukarıda bahsedilen tartışma konularının ışığı altında aşağıdaki sonuçlara vardık;

1. Sıçanların travma sonrası fizyolojik parametrelerinde önemli değişiklikler gözlenmedi.
2. EPO, GPx aktivitesini arttırarak antioksidan etkiyle ve ödem oluşumunu azaltarak nöroprotektif etki göstermektedir.
3. EPO yalnız başına hipertonic DS kadar antiödem etkisi göstermiştir. Beraberce verildiklerinde ise antiödem etki artmıştır.
4. Kontrol grubunda MDA'nın yüksek, EPO ve EPO+DS grubunda düşük bulunması EPO'nun lipid peroksidasyonunu azaltarak nöroprotektif ve antiödem etkisi olduğunu düşündürmektedir.
5. EPO ile tedavi edilen grup, kontrol grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı daha düşük MDA düzeyleri elde edildi. Ancak DS verilen grupta kontrol grubuna göre MDA düzeyi anlamlı değildi.
6. Doku MDA düzeyi yüksek gruplarda daha fazla beyin ödemi görülmektedir. Bu da lipid peroksidasyonunun beyin ödemeine neden olduğunu düşündürmektedir.
7. GPx aktivitesi artıkça beyin ödemi azalmaktadır. Bu da antioksidan mekanizmaların sekonder beyin hasarını ve ödemi azalttığını göstermektedir.
8. EPO, DS ve EPO+DS'nin birlikte verildiği gruplarda GPx aktivitesi kontrol grubuna göre yüksekti. Fakat sadece EPO+DS verilen grupta anlamlı fark oluştu. Bu da EPO ve DS'nin beyin ödemi ve antioksidan aktivite üzerine sinerjistik etki oluşturduğunu düşündürmektedir.

9. EPO, DS ve her ikisinin birlikte verildiği gruplarda beyin ödeminin anlamlı bir şekilde kontrol grubunu göre düşük olduğu bulundu.
10. Dekstran ve salinin lipid peroksidasyonu üzerine etkisi görülmedi.

6. SONUÇ

Antioksidan özellikleri nedeni ile beyin hasarını engelleme konusunda başarılı olacağını düşündüğümüz EPO ve DS'nin beyini travmanın ikincil hasarlarından koruyucu özellikleri olduğunu tesbit ettik. Beyin gibi oksidatif hasara oldukça yatkın olan bir organın travmadan sonra bu ajanların uygulanması ile korunduğunu azalan MDA düzeyleri ve artan GPx aktivitesi ile gösterdik. Ayrıca travma ile oluşan beyin ödemi hem EPO'nun hem de DS'nin anlamlı bir şekilde azalttığını gösterdik. EPO' nun bu tür olumlu etkilerinden dolayı AKT'lı hastalarda klinik kullanıma girmesi gerektiğini ve hipertonic DS'inde antiödem tedavide mannitole alternatif olacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Kraus JF, Black MA, Hessel M, et al. The incidence of acute brain injury and serious impairment in a defined population. *Am J Epidemiol* 1984; 119:186-201.
2. Jennett B. Epidemiology of head injury. *J Neurosurg Psychiatry* 1996; 60:362-9.
3. Jennett B, Galbraith S. Head Injuries: Pathology and Natural History of Head Injury. An Introduction to Neurosurgery (4Th Ed). William Heinemann, London 1983: 214-33.
4. Özben T. Pathophysiology of Cerebral Ischemia. Mechanisms Involved in Neuronal Damage. In Free Radicals, Oxidative Stress, And Antioxidants (Eds. Özben T). Plenum Press, New York 1998: 163-87.
5. Hall ED, Braughler JM. Central nervous system and stroke. II. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1989; 6:303-13.
6. Marti HH, Bernaudin M, Petit E, et al. Neuroprotection and angiogenesis. Dual role of erythropoietin in brain ischemia. *News Physiol Sci* 2000; 15:225-9.
7. Yılmaz N, Dülger H, Kıymaz N, et al. Activity of mannitol and hypertonic saline therapy on the oxidant and antioxidant system during the acute term after traumatic brain injury in the rats. *Brain Research* 2007; 1164:132-35.
8. Berger S, Schurer L, Hartl R, Et al. Reduction of post-traumatic intracranial hypertension by hypertonic, hyperoncotic saline/dextran and hypertonic mannitol. *Neurosurg.* 1995; 37:98-107.
9. Chesnut RM, Marshall LF, Klauber MR, et al. The role of secondary brain injury in determining outcome from severe head injury. *J Trauma* 1993; 34:216-22.
10. Jennett B, Lindsay KW. Kafa Travması Sıklığı, Nedenleri ve Sonuçları. Özcan OE, Turgut M, Açıkgöz M (Çev) Temel Nöroşirurji 5. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi 1995: 229-40.
11. Kraus JF, Mc Arthur DL, Silberman TA. Epidemiology of mild brain injury. *Semin İn Neurol* 1994; 14:1-7.

12. Kraus JF, Mc Arthur DL. Epidemiologic aspects of brain injury. *Neurol Clin* 1996; 14:435-50.
13. Iacoangeli M, Roselli R, Pompucci A, et al. Acute management of head injury. *Contemp Neurosurg* 2000; 22:1-8.
14. Saveren M. Kafanın Travmatik Hasarları. Altınörs N, Baykaner K, Şekerci Z, Özyurt E, Caner H (Ed.) *Temel Nöroşirürji I*, Ankara, Türk Nöroşirürji Derneği Yayını 1997: 909-17.
15. Miller JD, Sweet RC, Narayan R, et al. Early insults to the injured brain. *JAMA* 1978; 240:439-42.
16. Valadka AB, Narayan RK. Emergency Room Management of The Head Injured Patient. In: Narayan RK (Eds), *Neurotrauma*. Mc Graw Hill Company, New York 1996: 119-35.
17. Teasdale G, Jennet B. Assesment of Coma and İmpaired Consciousness: A Practical Scale. *Lancet* 1974; 2:81-4.
18. Marion DW, Carlier PM. Problems with initial glasgow coma scale assessment by prehospital treatment of patients with head injury: Results of a National Survey. 1994; 36:89-95.
19. Miller JD, Piper IR, Jone PA. Pathophysiology of Head Injury. Narayan RK, Wilberger JE, Povjishock JT (Eds). *Neurotrauma*. Mc Graw Hill Company, New York 1996: 61-70.
20. Bauma GJ, Muizelar JP, Chol SC, et al. Cerebral circulation and metabolism after severe traumatic brain injury: the elusive role of ischemia. *J Neurosurg* 1991; 75:685-93.
21. Pollay M : Blood Barrier; Cerebral Edema. Wilkins RH, Rengachary SS (Eds): *Neurosurgery*, Mc Graw Hill, New York, Second Edition, Volume I 1996: 335-40.
22. Weed LH, Mc Kibben PS. Pressure changes in the cerebrospinal fluid following intravenous injection of solutions of various concentrations. *Am J Physiol* 1919; 48:512-30.
23. Alp H. Beyin Ödemi. *Temel Nöroşirürji I*. Ankara 1997: 1-15.
24. Whal M, Utenberg A, Baetmann A, et al. Mediators of blood-brain barrier dysfunction and formation of vasogenic brain edema. *J Cereb Blood Flow Metab* 1988; 8:621-634.
25. Hatton J. Pharmacological treatment of traumatic brain injury: A Review of Agents in Development. *CNS Drugs* 2001; 15(7):553-81.
26. Deyne D, Cathy SI. The acute care of traumatic brain injury. *Current Opinion Anaesth* 2001; 14(5):475-88.

27. Demopoulos HB, Flamm E, Seligman M, et al. Oxygen Free Radicals in Central Nervous System Ischemia and Trauma. In Author AP (Eds) Pathology of Oxygen, New York, Academic Press 1982: 127-55.
28. Toole JF, Patel AN. Clinical Physiology of The Cerebral Circulation. Cerebrovascular Disorders. Hill Book, New York 1974: 53-67.
29. Obrist WD, Langfitt TW, Jaggi JL, et al. Cerebral blood flow and metabolism in comatose patients with acute head injury. Relationship to intracranial hypertension. J Neurosurg 1984; 61:241-53.
30. Sioutos P, Orozco J, Carter LP, et al. Continuous regional cerebral cortical blood flow monitoring in head injured patients. Neurosurgery 1995; 36:943-50.
31. Kocsis B, Fedina L, Pasztor E. Effect of preexisting brain ischemia on sympathetic nerve response to intracranial hypertension. J Appl Physiol 1991; 70:2181-87.
32. Miller JD. Head injury and brain ischemia: Implications for therapy. Br J Anaesth 1985; 57:120-29.
33. Marmarou A, Eisberg HM, Foulkes MA, et al. Impact of ICP instability and hypotension on outcome in patients with severe head trauma. J Neurosurg 1991; 75:59-66.
34. Gade GF, Becker DP, Miller JD, et al. Pathology and Pathophysiology of Head Injury. In: Youmans Jr. (Eds), Neurological Surgery. WB Saunders, Vol 3, Philadelphia 1990: 1987-93.
35. Rosner MJ, Coley IB. Cerebral perfusion pressure, intracranial pressure and head elevation. J Neurosurg 1986; 65:636-41.
36. Unterberg A, Keining K, Schmeidek P, et al. Long term observations of intracranial pressure after severe head injury. The phenomenon of secondary rise of intracranial pressure. Neurosurgery 1993; 32:17-24.
37. Miller JD, Butterwirth JF, Gudeman SK, et al. Further experience in the management of severe head injury. J Neurosurg 1981; 54:289-99.
38. Marshall LF, Smith RW, Shaphiro HM. The outcome with aggressive treatment in severe head injuries. Part 1. The significance of intracranial pressure monitoring. J Neurosurg 1979; 50:20-25.
39. Bauma GJ, Muizelaar JP, Stringer WA, et al. Ultra early evaluation of regional blood flow in severely head injured patients using xenon-enhanced computerized tomography. J Neurosurg 1992; 77:360-68.
40. Graham DI, Adams JH, Doyle D. Ischaemic brain damage in fatal non-missile head injuries. J Neurol Sci 1978; 39:213-14.

41. Graham DI. Neuropathology of Head Injury. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (Eds) Neurotrauma. The Mc Graw Hill Company 1996: 43-59.
42. Weber M, Grolimund P, Seiler RW. Evaluation of post-traumatic cerebral blood flow velocities by transcranial doppler ultrasonography. Neurosurgery 1990; 27:106-12.
43. Robertson CS, Goodman JC, Narayan RK. The effect of glucose administration on carbohydrate metabolism after head injury. J Neurosurg 1991; 74:43.
44. Meldrum BS, Horton RW. Physiology of status epilepticus in primates. Arch Neurol 1973; 28:1-9.
45. Cooper KR. Respiratory Complications in Patients with Serious Head Injuries. In: Becker DP (Eds). Textbook of Head Injury. WB Saunders Company 1989: 255-64.
46. Halliwell B. Free radicals and metal ions in health and disease. Proc Nutr Soc 1987; 46:13-26.
47. Checseman, ICH, Slater TF. An Introduction to Free Radical Biochemistry. Brit Med Bulletin 1993; 149:481-93.
48. Bergendi L, Benes L, Durackova Z, et al. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. Life Sciences 1999; 65:65-74.
49. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact 2006; 160:1-40.
50. Bondy SC, Naderi S. Contribution of hepatic cytochrome p450 systems. Biochem pharmacol 1994; 48:155-9.
51. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri. Mimoza Basım, Yayın ve Dağıtım AŞ. Konya 1995: 13-31,32-37,42-61.
52. Borges F, Fernandes E, Roleira F. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. Curr Med Chem 2002; 9:195-217.
53. Freeman Ba, Crapo JD. Biology of disease, free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 47:412-26.
54. Halliwell B. Oxygen radicals: A common sense look at their nature and medical importance. Med Biol 1984; 62:71-87.
55. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, et al. Oxygene radicals and human disease. Ann Intern Med 1987; 107:526-45.
56. Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species in living systems. Source, biochemistry and role in human disease. Am J Med 1991; 91:14-21.
57. Halliwell B, Gutteridge B. Biologically Relevant Metal Ion-Dependent Hydroxyl Radical Generation. FEBS Lett 1992; 27:108-120.

58. Southorn L, Powis G. Free Radicals in Medicine. 1. Clinical Nature And Biologic Reactions. Mayo Clin Proc 1988; 63:381-9.
59. Foote CS, Shook FC, Abakerli RB. Characterization of Singlet Oxygen. Methods Enzymol 1984; 105:36-47.
60. Cochran CG. Cellular injury by oxidants. Am. J. Med 1991; 92: 235-305.
61. Gutteridge JMC: Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. Clin Chem 1995; 41:1819-28.
62. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. Trends Biochem Sci 1990; 15:129-35.
63. Baydas G, Reiter RJ, Nedzvetskii VS, et al. Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis. Toxicol Lett 2003;.169-74.
64. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of action. Am J Med 1994; 26:5-12.
65. Mills GC. Hemoglobin catabolism. Glutathion peroxidase, an enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. J Biol Chem 1957; 229:189-97.
66. Malone WF. Studies evaluating antioxidants and beta carotene as chemo-preventives. Am J Clin Nutr 1991; 53: 305-13.
67. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys 1990; 280:1-8.
68. Carr AC, Carr BZ, Frei B. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (Vitamin C) and α -tocopherol (Vitamin E). Circ Res 2000; 87:349-54.
69. Jelkman W. Erythropoietin: structure, control of production and function. Physiol Rev 1992; 72:449-89.
70. Kumral A, Tugyan K, Gonenc S, et al. Protective effects of erythropoietin against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and oxidative stress in the developing C57BL/6 mouse brain. Brain Res 2005;160:146-56.
71. Dökmeçi İ. Farmakoloji Temel Kavramlar. Nobel, İzmir, 2000: 160-2.
72. Juul SE. Nonerythropoietic roles of erythropoietin in fetus and neonate. Clin Perinatol 2000; 27:527-41.
73. Cerami A, Brines ML, Ghezzi P, et al. Effects of epoetin alfa on central nervous system. Semin Oncol 2001; 28(2):66-70.
74. Juul SE, Anderson DK, Li Y, et al. Erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human central nervous system. Pediatr Research 1998; 43(1):40-49.

75. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, et al. Erythropoietin crosses the blood–brain barrier to protect against experimental brain injury. *PNAS*, Vol. 97, 2000; 19:10526-531.
76. Digicaylioglu M, Lipton SA. Erythropoietin-mediated neuroprotection involves cross-talk between JAK and NF- κ B signalling cascades. *Nature* 2001; 412:641-47.
77. Juul SE, Ledbetter DJ, Joyce AE, et al. Erythropoietin acts as a trophic factor in neonatal rat intestine. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 49(2):182-89.
78. Sirén AL, Fratelli M, Brines M, et al. Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98(27):4044-49.
79. Juul SE, Harcum J, Li Y, et al. Erythropoietin is present in the cerebrospinal fluid of neonates. *J Pediatr* 1997; 130:428-30.
80. Yasuda Y, Nagao M, Okano M, et al. Localization of erythropoietin and erythropoietin receptor in post implantation mouse embryos. *Develop Growth Differ* 1993; 35:711-22.
81. Koshimura K, Murakami Y, Sohmiya M, et al. Effects of erythropoietin on neuronal activity. *J Neurochem* 1999; 72(6):2565-72.
82. Genc S, Kuralay F, Genc K, et al. Erythropoietin exerts neuroprotection in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated C57/BL mice via increasing nitric oxide production. *Neuroscience Letters* 2001; 298:139-41.
83. Kumral A, Gonenc S, Acikgoz O, et al. Erythropoietin increases glutathione peroxidase enzyme activity and decreases lipid peroxidation levels in hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Biol Neonate* 2005;87:15-18.
84. Kuzugüden S, Narin F. Tiner ile Rat Beyninde Oluşturulan Oksidatif Stres Üzerine Melatonin ve Eritropoetin Etkisi. *Tıpta Uzmanlık Tezi. E.Ü.Tıp Fakültesi, Kayseri* 2007.
85. Adnan I, Qureshi MD, Jose I, et al. Use of hypertonic saline/acetate infusion in treatment of cerebral edema in patients with trauma: experience at a single center. *J Trauma* 1999;47:659-65.
86. Weed LH, McKibben PS. Experimental alteration of brain bulk. *J Physiology* 1919;48:531-55.
87. Todd MM, Tommasino C, Moore S. Cerebral effects of isovolemic hemodilution with a hypertonic saline solution. *J Neurosurg* 1985; 63:944-48.
88. Zaloga GP, Kirby RR, Bemards W, et al. *Fluids And Electrolytes*. Civetta JM, Taylor RW, Kirby RR. (Eds). *Critical Care. Third Edition*. Lippincott Raven Publishers. 1997: 437-40.
89. Newman GC, Hospod FE, Hui Q, et al. Effects of dextran on hippocampal brain slice water, extracellular space, calcium kinetics and histology. *Journal of Neuroscience Methods*, Volume 61, 1995; 33-46.

90. Donato T, Shapira Y, Artru A, et al. Effect of mannitol on cerebrospinal fluid dynamics and brain tissue edema. *Anesth Analg.* 1994; 78:58-66.
91. Marmarou A, Foda MA, Brink W, et al. A new model of diffuse brain injury in rats. Part 1: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg* 1994; 80:291-300.
92. Paglia DE, Valentina WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-69.
93. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Rad. Biol. Med.* 1991; 11:81-128.
94. Hara H, Nagasawa H, Kogure K. Nimodipine attenuates both ischemia-induced brain edema and mortality in a rat novel transient middle cerebral artery occlusion model. *Acta Neurochir* 1990; 51:251-53.
95. Jagger J, Levine J, Jane J, et al. Epidemiologic features of head injury a predominantly rural population. *J Trauma* 1984; 24:40-44.
96. Sullivan HG, Martinez J, Becker DP, et al. Fluid percussion model of mechanical brain injury in the cat. *J Neurosurg* 1976; 45:520-534.
97. Dixon CE, Lyeth BG, Povlishock JK, et al. A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat. *J Neurosurg* 1987; 67:110-19.
98. Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 1993; 49:577-87.
99. Koc RK, Kurtsoy A, Pasaoglu H, et al. Lipid peroxidation and edema in experimental brain injury: Comparison of treatment with methylprednisolone, tirilazad mesylate and vitamin E. *Res Exp Med* 1999; 199:21-8.
100. Hall ED, Andrus PK, Yonkers PA. Brain hydroxyl radical generation in acute experimental head injury. *J Neurosurg* 1993; 60:588-94.
101. Wilmore LJ, Rubin JJ. Effect of antiperoxidants on FEC12 induced lipid peroxidation and focal edema in rat brain. *Exp Neurol* 1984; 83:62-70.
102. Wu H, Lee SH, Gao J, et al. Inactivation of erythropoietin leads to defects in cardiac morphogenesis. *Development* 1999; 126:3597-3605.
103. Belayev L, Khoutorova L, Zhao W, et al. Neuroprotective effect of darbepoetin alfa, a novel recombinant erythropoietic protein, in focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2005; 36:1065-70.
104. Ehrenreich H. Medicine. A boost for translational neuroscience. *Science* 2004; 305:184-85.

105. Wang L, Zhang Z, Wang Y, et al. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. *Stroke* 2004; 35:1732-37.
106. Ozturk E, Demirbilek S, et al. Antioxidant properties of propofol and erythropoietin after closed head injury in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2005; 29:922-27.
107. Xiong Y, Dunyue L, Changsheng Q, et al. Effects of erythropoietin on reducing brain damage and improving functional outcome after traumatic brain injury in mice. *J Neurosurg* 2008; 109:510-17.
108. Rola R, Mizumatsu S, Otsukas, et al. Alterations in hippocampal neurogenesis following traumatic brain injury in mice. *Exp Neurol* 2006; 202:189-199.
109. Lu D, Mahmood A, Qu C, et al. Erythropoietin enhances neurogenesis and restores spatial memory in rats after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2005; 22:1011-17.
110. Hartley C, Varma M, Fischer JP, et al. Neuroprotective effects of erythropoietin on acute metabolic and pathological changes in experimentally induced neurotrauma. *J Neurosurg* 2008; 109:708-14.
111. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, et al. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95:4635-40.
112. Morishita E, Masuda S, Nagao M, et al. Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death. *Neuroscience* 1997; 76:105-16.
113. Bernaudin M, Marti HH, Roussel S, et al. A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19:643-51.
114. Alafaci C, Salpietro F, Grasso G, et al. Effect of recombinant human erythropoietin on cerebral ischemia following experimental subarachnoid hemorrhage. *Eur J Pharmacol* 2000; 406:219-25.
115. Verdonck O, Lahrech H, Francony G, et al. Erythropoietin protects from post-traumatic edema in the rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007; 27:1369-76.
116. Frei HJ, Wallenfang T, Poll W, et al. Regional cerebral blood flow and regional metabolism in cold induced oedema. *Acta Neurochir* 1973; 29:15-28.
117. Nilsson P, Hillered L, Olsson Y, et al. Regional changes in interstitial K⁺ and Ca²⁺ levels following cortical compression contusion trauma in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; 13:183-92.