



T.C. GAZİ OSMAN PAŞA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ACİL TIP ANABİLİM DALI

YRD. DOÇ.DR. MEHMET ESEN

TRAVMATİK BEYİN HASARINDA TİMOKİNON VE MELATONİN'İN

ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR.FATİH ŞAHİN

TEZ DANIŞMANI

YRD.DOÇ.DR. MEHMET ESEN

TOKAT-2016



T.C. GAZİ OSMAN PAŞA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ACİL TIP ANABİLİM DALI

YRD. DOÇ.DR. MEHMET ESEN

TRAVMATİK BEYİN HASARINDA TİMOKİNON VE MELATONİN'İN

ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR.FATİH ŞAHİN

TEZ DANIŞMANI

YRD.DOÇ.DR. MEHMET ESEN

TOKAT-2016

T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ ACİL TIP ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

25.08.2016

Tezi Hazırlayan Öğrenci

Dr. Fatih ŞAHİN

İmzası

TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca üzerimde emeği olan başta Yrd. Doç. Dr. Mehmet Esen, Doç. Dr. Murat Ayan, Yrd. Doç. Dr. NurŐah BaŐol, Yrd. Doç. Dr. Serhat Karaman ve Yrd. Dr. Serhat Koyuncu hocalarıma, bu güne kadar yetiŐmemde emeği geçen ve maddi manevi desteğini hiç bir zaman esirgemeyen aileme, acil servisin zor çalışma Őartlarını beraber omuzladığımız tüm Acil Tıp asistanlarına, hemŐirelerine ve diğer personellerine, bu tezin planlanmasından son satırına kadar her aŐamasında desteğini ve yardımını esirgemeyen tez danıŐmanım Yrd. Doç. Dr. Mehmet Esen hocama, Anatomi, Biyokimya ve Biyoistatistik Ana Bilim Dallarına teşekkür ederim.

Dr. Fatih ŞAHİN

ÖZET

Amaç: Travmatik beyin Yaralanması (TBY) araç içi trafik kazası, araç dışı trafik kazası, yüksekten düşme, iş kazaları gibi mekanik güçler nedeniyle oluşur ve dünya genelinde acil servislerde sık karşılaşılan morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Geçici yada kalıcı fonksiyon bozukluğu veya ölüm şeklinde karşımıza çıkabilir. TBY'da travma anında mekanik etkiler sonucu oluşan primer hasarın yanında, sonrasında meydana gelen infalamasyon, oksidatif stres gibi kompleks patofizyolojik mekanizmalarla oluşan sekonder hasarlarda görülmektedir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda bu sekonder hasarı önlemeye yönelik olarak özellikle antioksidan özelliği olan bir çok madde denenmiştir . Bu konuda Melatoninin SSS ile ilgili pozitif antioksidan etkisi ortaya konulmuştur. Timokinonun ise birçok dokuda antioksidan özelliği gösterilmiş olmasına rağmen; travmatik beyin hasarında etkinliği ile ilgili bu konuda yeterli çalışma bulunmadığından, biz de deneysel travmatik beyin hasarında timokinonun etkisini ortaya koymak amaçlı melatonin ile antioksidan özelliklerini karşılaştırdık ve sekonder beyin hasarını azaltmak ve etkinlik düzeylerini belirlemek amaçlı bu çalışmayı planladık.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada ağırlıkları yaklaşık olarak 230-250 gr arasında değişen 28 adet Albino-Wistar cinsi sıçan kullanıldı. Melatonin+travmatik beyin hasarı, timokinon + travmatik beyin hasarı, travmatik beyin hasarı ve kontrol grubu olmak üzere 4 çalışma grubu oluşturuldu. Grup 1'e ip verilen antioksidan miktarı kadar serum fizyolojik(sf) dışında hiçbir uygulama yapılmadı. Grup 2'ye 150 cm yükseklikten özel bir düzenek oluşturularak 230 g ağırlık kafatasına bırakılarak travmatik beyin hasarı oluşturuldu ve yine ip verilen antioksidan miktarı kadar sf verildi, Grup 3 travmatik beyin hasarı sağlandıktan 30 dakika sonra timokinon 50mg/kg olacak şekilde zeytin yağı-sf homojen çözeltisi içinde homojen dağılım oluşturularak ip (intraperitoneal) olarak verildi. Grup 4'e travmatik beyin hasarı sağlandıktan 30 dakika sonra melatonin % 0,5 lik alkol içeren serum fizyolojik içerisinde çözülmüş (1 ml) 10mg/kg olacak şekilde ip olarak verildi. Travma modeli oluşturulan tüm hayvanlarda nöbet vb gözlemlendi. Travmadan 24 saat sonra hayvanlar Ketamin (50mg/kg) ve Ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altındayken enjektör yardımıyla kalplerinden kan örnekleri alındı ve daha sonra eksanguinasyon yöntemi ile deney sonlandırıldı. Kan örnekleri santrifüj

edilip serumları elde edildikten sonra, oksidan ve antioksidan parametrelerin çalışılacağı güne kadar -80 C° de depolandı. Daha sonra serum örneklerinde MDA, SOD, NO, GSH-Px ve Protein Karbonil düzeyleri belirlendi. Elde edilen veriler IBM-SPSS 20.0 programıyla analiz edildi ve $p<0.05$ istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

Bulgular:

Travma sonrası deneklerden alınan ve gelişen serebral hasarı belirleme amaçlı ölçülen bu parametrelerin ayrı ayrı değerlendirilmesi ve birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılmasına sonuç olarak GSH-Px ve NO değerlerinde hem melatonin verilen hem de timokinon verilen deneklerde anlamlı değişiklikler tespit edildi($p<0.05$). MDA, SOD ve Protein Karbonil Konsantrasyonu(PCC) için ölçülen değerler ise anlamlı kabul edilmedi. GSH-Px ve NO değerlerindeki değişiklikler açısından timokinon ve melatoninin etkinlikleri karşılaştırıldığında ise birbirlerine karşı anlamlı sayılabilecek bir üstünlük tespit edilmedi($p>0.05$).

Sonuç:

Kafa travması sonrası gelişen sekonder hasarın düzeyini belirlemek ve buna karşı kullanılabilecek nöroprotektif tedavilerin etkinliğini değerlendirmek amacıyla bir çok çalışma yapılmıştır ve günümüzde yapılmaktadır. Bizim çalışmamızda ise her iki tedavi seçeneğinde de bu olumlu etkiler ortaya konmuştur ve birbirlerine karşı bariz bir üstünlük tespit edilmemiştir. Sonuç olarak ise hem timokinon, hem melatonin için benzer etkiler tespit edilmiştir ve bu etkiler olumlu yönde olmuştur. Bu her iki maddede TBI sonrası gelişen sekonder hasarın tedavisinde kullanılabilirlik açısından umut vermektedir. Fakat ölçülen parametreler açısından yapılan bir çok çalışmada ortaya konan çok farklı sonuçlar bu konuda daha kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyacı ortaya koymaktadır.

ABSTRACT

Objective: Traumatic brain injury(TBI) caused by mechanical forces such as in-car accidents, non-vehicle traffic accidents, fall from heights, work related accidents and TBI is one of the most common causes of morbidity and mortality in emergency services in the worldwide. Temporary or permanent impairment or death may result. Primary damage is caused by trauma to the mechanical effect immediately. After the primary damage, secondary damage is occurring and it caused by complex pathophysiological mechanism such as inflammatory process and oxidative stress. In recent years in some studies many substances have been tried that prevent the secondary damage and this substances particularly have antioxidant properties. In this regard, the positive antioxidant effects of melatonin about CNS have been demonstrated. The antioxidant properties of thymoquinone shown in various tissues but there are no adequate studies on the effectiveness of TBI and we compared the antioxidant properties of thymoquinone and melatonin in experimental traumatic brain injury. We have planned for this study that to reduce secondary brain injury and to determine the level of activity of this substances.

Material and Method: In this study; we used 28 Albino-Wistar rats that body weights are ranging from about 230-250 gr. Four working groups were formed that include melatonin+traumatic brain injury, thymoquinone+traumatic brain injury, traumatic brain injury and control groups. We never made an any application to group 1 other than ip saline as the amount of the antioxidant. On group 2, a particular embodiment that 150 cm height has been created and 230 gr weight was dropped into skull and traumatic brain injury was induced after the amount of ip antioxidants as the rope SF was given. On group 3; traumatic brain injury were provided, after 30 minutes thymoquinone-50 mg/kg-that olive oil-sf forming homogeneous dispersion in homogeneous solution was given ip. On group 4; after 30 minutes of traumatic brain injury, melatonin was given 10 ml/kg ip in the illustration was dissolved physiological saline containing % 0.5 alcohol (1ml). The all animals that created trauma model, seizures etc observed. After 24 hours of injury, ketamine(50mg/kg) and xylazine (10 mg/kg) anesthesia was allowed and blood samples were taken from the hearts of animals, then the experiment was ended by exanguination method. After that blood

samples were centrifuged, serum was obtained and stored -80 C' until the day of oxidant and antioksidant parameters studied. Then MDA, SOD, NO, GSH-Px and protein carbonyl(PCC) levels were determined in serum samples. The obtained data were analyzed with SPSS 20.0 software IBM - and $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: This parameters that taken from rats after trauma and measure seeks to determine evolving cerebral damage, were evaluated separately and it was compared statistically with each other. As a result GSH-Px and NO value were detected significant changes in subjects both of melatonin and thymoquinone were given($p < 0.05$). MDA , SOD and protein carbonyl concentration (PCC) for the measured values are not accepted as significant . In comparison of the activities of thymoquinone and melatonin about for changes in GSH-Px and NO levels were no significant advantage can be considered against one another($p > 0.05$) .

Conclusion: A lot of work was done and is done in today about to determine the level of secondary damage that developed after head truma and can be used to evaluate the efficacy of neuroprotective therapy against it. In our study; in both treatment options has also demonstrated that positive effects and was detected in an obvious advantage over each other. As a result of this study; both of thymoquinone and melatonin's similar effects have been identified and these effects were positive. In both of these substances are promising in terms of usability of treatment secondary injury about developing after TBI. But; we have many very different results set forth about Terms of the measured parameters in many studies reveals the need for more comprehensive new study on this subject .

SİMGELER VE KISALTMALAR

SOD: Süperoksit Dismutaz

SOR: Serbest oksijen radikalleri

CVP: Santral venöz basınç

GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz

İP: İntraperitoneal

MDA: Malondialdehid

O₂⁻: Süperoksit

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

NO: Nitrik Oksit

OH⁻: Hidroksil radikali

MPO: Myeloperoksidaz

TNF: Tümör Nekroz faktör

GSH: Glutasyon

LDH: Laktik Dehidrogenaz

CPK: Kreatin Fosfokinaz

GPT: Alanin Transferaz

GOT: Aspartat Transferaz

İV: İntra Venöz

PCC: Protein Karbonil Konsantrasyonu

TBI/TBY: Travmatik Beyin Yaralanması

ii. TABLO, ŞEKİL VE RESİMLER

Tablo 1: Glaskow koma skalası

Tablo 2: Serbest Radikaller ve Karakteristik Özellikleri

Tablo 3: İlaç Uygulamaları

Tablo 4: Denek Gruplarının Biyokimyasal Parametrel Açısından İstatistiksel Analizi

Tablo 5: :Kruskal Wallis Testi

Tablo 6: Mann Whitney U Testi

Şekil 1: deneysel hayvan modellerinde travmatik beyin hasarı oluş mekanizmalarının şematik temsili

Şekil 2:N-asetil-5-metoksitriptamin (Melatonin)

Şekil 3: Pineal gland da serotoninden melatonin oluşumu

Şekil 4: Timokinonun Kimyasal Formülü

Şekil 5: Ölçülen ortalama SOD enzim düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

Şekil 6: Ölçülen ortalama MDA düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

Şekil 7: Ölçülen ortalama GSH-Px enzim düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

Şekil 8: Ölçülen ortalama NO düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

Şekil 9: Ölçülen ortalama PCC düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

Resim 1: 230 mg lık ağırlık ve anestezi hazırlığı

Resim 2: Deneysel kafa travması modelinin modifiye edilerek hazırlanması

İÇİNDEKİLER

I.İÇ KAPAK	2
II.BEYAN.....	3
III. TEŞEKKÜR.....	4
IV. ÖZET	5
V. ABSTRACT.....	7
VI. SİMGELER VE KISALTMALAR	9
VII. TABLO VE ŞEKİLLER.....	10
VIII. İÇİNDEKİLER.....	11
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	13
2. GENEL BİLGİLER.....	15
2. 1. Kafa Travmları.....	15
2. 1. 1. Tarihçe	15
2. 1. 2. Epidemiyoloji.....	16
2. 1. 3. Etyoloji.....	17
2. 1. 4. Sınıflandırma.....	17
2. 1. 5.Kafa Travmalarının Oluş Mekanizması.....	20
2. 1. 6. Kafa Travmalarının Fiziopatolojisi.....	22
2. 1. 6. a. Primer Hasarlar.....	22
2. 1. 6. b. Sekonder Hasarlar.....	24
2. 1. 6. b. I. İntrakranyal Nedenler.....	25
2. 1. 6. b. II. Sistemik Nedenler.....	28
2. 1. 6. b. III. Sekonder Hücre Hasarında Biyokimyasal Mekanizmalar.....	29
2. 1. 7. Tedavi.....	32
2. 2. Melatonin.....	34
2. 3. Timokinon.....	37
2. 4. Antioksidatif Etki Göstergeleri.....	39

2. 5. Deneysel Kafa Travması Modelleri.....	44
3. MATERYAL METOD.....	46
4. BULGULAR	50
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	59
6. KAYNAKLAR.....	64



1.GİRİŞ VE AMAÇ

TBY acil servislerde sık karşılaşılan mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir(1). Sıklık olarak; tüm ölümler arasında %2-4 olarak karşımıza çıktığı gibi, travma sonrası ölümlerin ise % 50' den fazlasından sorumludur(2). Çocuklar ve yaşlılarda risk daha fazladır(2). TBY'da oluşan hasar primer ve sekonder hasar olarak ikiye ayrılmaktadır. Travma anında oluşan konküzyon, diffüz aksonal hasar gibi durumlar primer hasarı oluşturmaktadır(1). Sekonder hasar ise mekanik etkiye bağlı olmayan, primer hasar sonrasında oluşan iskemi, hipoksi, ödem, infalamasyona bağlı oluşan patolojik durumlardır. Yapılan çalışmalarda sekonder hasarı azaltmaya yönelik müdahalelerin prognozu iyileştirici etkileri görülmüştür(2). Sekonder hasar; primer hasar sonrası dakikalardan haftalara kadar süreçlerde meydana gelebilir. Sitotoksiste, infalamasyon, oksidatif stres, lipid peroksidasyonu, serbest oksijen radikallerinin endotelial hücrelere etkileri gibi birçok kompleks mekanizmaya bağlı olabilir(1).

Melatonin ve timokinon, sekonder hasarı azaltmaya neden olan mekanizmaları sınırlamaya yönelik yapılan çalışmalarda kullanılan maddelerden bazılarıdır.

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) Aaron B Lerner tarafından 1958 yılında tanımlanmıştır(3). Pineal bezde bulunan pinealosit hücrelerinde L-triptofan denilen öncülden sentezlenir. Salgılanma siklusu güneş ışığından etkilenir ve seviyesi gece 02:00-04:00 arasında en fazla düzeye çıkmaktadır ve ilerlemiş yaşla birlikte düzeyi düşer. Yapılan çalışmalarda kafa travması sonrası bazı oksidatif stres faktörlerinin, sitokinlerin ve serbest radikallerin arttığı ve bu durumun birçok farklı kompleks mekanizma ile sekonder hasarı artırdığı görülmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda melatoninin MDA ve serbest oksijen radikalleri üzerine olan olumlu etkisi tespit edilmiş ve nöroprotektif etkisi gösterilmiştir(2).

Timokinon Nigella sativa(çörek otu) tohumu yağından elde edilen bir bileşiktir(4). Çörek otu ve tohumundan elde edilen birçok preparat bir çok ülkede soğuk algınlığı, iltihabi durumlar vs. de alternatif tedavide zaten kullanılmaktadır(5). Bunun yanı sıra yapılan çalışmalarda güçlü bir antioksidan olduğu ve oksidatif stres ve serbest oksijen

radikallerine bağlı oluşan doku hasarlarına karşı organ koruyucu etkileride gösterilmiştir(4). Ek olaral farklı enzim düzeylerini ayarlayarak lipid peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, intraselüler antioksidan enzim aktivitesi üzerine oluşacak hasarı azaltıcı yönde etkiler göstermektedir(6).

Bizim bu çalışmayı yapmaktaki amacımız kafa travması oluşturulan ratlarda MDA, SOD, NO, GSH-Px ve Protein Karbonil düzeylerini karşılaştırarak nöroprotektif özelliği olduğu belirtilen melatonin ve timokinonun etkinliğini ve kullanılabilirlik düzeyini belirlemektir.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Kafa Travmaları

2.1.1. Tarihçe

Bilimsel araştırmalarda kafa travmaları ile alakalı ilk bilimsel veriler milattan önce 2800'lü yıllara ait Mısır kaynaklı verilerdir. Bilimsel yazılar ve raporlar ise yine milattan önce 1600' lü yıllara aittir. 1700'lü yıllara ait verilerde; hekim İmnohep'e ait kafa travması sınıflandırma şekli mevcuttur ve bu tarihlerde kafa travmaları tedavi edilebilme şansına göre gruplara ayrılmıştır. Tedavi edilir, edilebilir, edilemez şeklinde sınıflandırılmıştır ve günümüzdeki sınıflandırma şeklide buna benzerdir ama farklı olarak artık kafa travmaları sonucu oluşan patolojilerin çok daha fazlası tedavi edilebilmektedir(7).

Ülkemizin üzerinde kurulu olduğu Anadolu coğrafyasında ise tarih yazının bulunmasından çok daha önceye paleolitik çağa kadar uzanmaktadır ve bu tarihlerle alakalı ancak arkeolojik çalışmalar sayesinde bazı bilgiler elde edilebilmektedir. Bunlarda genelde kalıntı eserler, duvar oyma ve çizimleri ve iskelet kalıntıları ile sınırlıdır.(8) Tıp tarihi açısından daha önemli olan bulgular ise Mısır ve Mezopotamya kaynaklıdır. Babylon Hammurabi kanunları bunlardan en önemlilerinden biridir ve tıbbi etik ve uygulamalarla alakalı bilgiler içermektedir. Nöroşurji açısından ise ilk bulgular Edwin Smith papirüsleridir ve kafa ve spinal travma ile alakalıdır(8). Kafa travmaları tarihi ile alakalı bulgular arasında Anadolu' da Hitit, Urartu medeniyetlerine ait bulgular, yine Hipokrat'a ait sınıflandırma yöntemi gibi veriler bulunmaktadır. Yine İbni Sina, Cerrah Abulcasis bazı tedavi yöntemlerini kullanan önemli kişiler arasındadır. Glaskow koma skalasının(GKS) kullanılmaya başlaması, beyin tomografisinin(BT) bulunması önemli gelişmeler arasındadır(7).

Son yüzyıllarda yaşanan dünya savaşları, gelişen sanayi, beraberinde artan trafik kafa travmalarının tanı ve tedavisinin önemini ciddi derecede artırmıştır(7). Primer ve sekonder hasarların görülmesi ise acil cerrahi tedavinin yanında nöroprotektif tedavilerin önemini artırmaktadır. Bu amaçla timokinon tedavisi, melatonin tedavisi

gibi bir çok yöntem ve seçenek üzerinde son yıllarda bir çok çalışma ve deney yapılmaktadır ve yayınlanmaktadır.

2.1.2. Epidemiyoloji

TBI özellikle 45 yaş üzerinde önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir(9, 10). ABD merkezli çalışmalarda tüm ölümler içinde travma oranı %8 civarındadır ve bununda yaklaşık % 50'si kafa travmalarıdır(11). Bir çalışmaya göre her yıl ABD ' de 1,1 milyon kişi kafa travması geçirmekte ve bunların büyük bir kısmı hastanelere yatırılmakta ve yaklaşık 50000 vaka ölümlerle sonuçlanmaktadır. Dünya genelinde bölgesel farklar olsada insidans yaklaşık 2000-3000/1000000 civarındadır(12). Kafa travmaları yaş ve cinsiyet açısından bakıldığında 15-24 yaş arası erkek popülasyonunda ve 65 yaş üzeri yaşlı bireylerde sıklık olarak daha fazladır. Pediatrik travmalar ise okulların kapanması ve tatil olan yaz mevsiminde daha fazla görülmektedir. Düşük sosyoekonomik durum ve alkol alışkanlığında artmış travma riski ile paralellik göstermektedir(13, 14). Ülkemizde elde edilen veriler genelde bölgesel olsada gelişen endüstrileşme ve artan trafik gibi nedenlere bağlı olarak kafa travmaları giderek artmaktadır.(15) Sebepler açısından bakıldığında ise trafik kazaları, iş kazaları, düşmeler ve ateşli silah yaralanmaları görülen sık nedenlerdir(15). Ülkemiz açısından elde edilen verilere bakıldığında; ölüm nedeni olarak kafa travmaları, maligniteler ve kardiyak nedeni ölümlerden sonra 3. sıradadır ve ölümlerin yanında kalıcı sakatlıklar ve ciddi iş gücü kaybı ile sonuçlanmaktadır. Devlet istatistik enstitüsü verilerine bakıldığında ise kafa travması sıklığı giderek artmaktadır. Ciddi kafa travmalı olgularda yüksek oranda ölüm ve kalıcı sakatlık olduğu gibi, orta şiddetli kafa travmalarında bile yüksek oranda nörolojik ve psikiyatrik sekeller oluşabilmektedir ve bu durum beraberinde yoğun ve maliyetli bir tedavi ile beraber ciddi iş gücü kaybı getirmektedir(11). Hatta travma sonucu hemen ölüm görülmeyen olgularda bile komplikasyonlar iyi yönetilmediği takdirde ölüm riski daha da artmaktadır(16).

2.1.3. Etyoloji

Dünya genelinde kafa travmalarının en sık sebebi olarak trafik kazaları görülmektedir. Düşmeye bağlı oluşan yaralanmalar, darp, spor travmaları benzer şekilde dünya genelinde sıklığı yüksek olan travma nedenleridir. Gençlerde bunlar daha çok spor travmaları olarak karşımıza çıkarken, yaşlı popülasyonda ise gelişen muskuloskeletal ve nörolojik değişikliklerle paralel olarak düşmeler daha sık görülmektedir(13). Benzer şekilde çocuklarda da mevcut olan anatomik ve fizyolojik farklılıklar sıklığı artırmaktadır(2). Ülkemizde yapılan çalışmalar az olsa da; elde edilen veriler dünya genelindeki verilere benzerlik göstermektedir. Trafik kazaları, iş kazaları, ateşli silah yaralanmaları sık rastlanan kafa travması nedenleridir(12). Kafa travmalarında oluşan patolojik durumlar, direk yapısal bütünlüğün bozulmasına bağlı olabildiği gibi, beynin sarsılma sonrası gelişen hareketlerinede bağlı olabilir. Bunlar rotasyon ve kafa içinde öne arkaya çarpma gibi hareketlerdir(14).

2.1.4. Sınıflandırma

Kafa travmaları dünya genelinde bir çok yöntemle sınıflandırılıyor olsa bile bunlar arasında öne çıkanlar; şiddete göre, travmanın oluş şekline göre ve morfolojik bulgulara göre yapılan sınıflandırmalardır(7).

Şiddetine göre sınıflandırma en sık kullanılan sınıflandırma yöntemidir ve hafif şiddetli, orta şiddetli ve ağır şiddetli olarak üç gruba ayrılır. Bu sınıflandırma için yaygın olarak Glaskow Koma Skalası(GKS)(tablo 1) kullanılır. Tedavi belirlemede ve prognoz tahmininde yararlı bir yöntemdir(13). Hastalar klinik duruma göre değerlendirilir. Ağrılı ve sözlü uyaranlara verdiği göz açma cevabı, duysal yanıt ve motor yanıtı göre 3 puan ile 15 puan arasında sınıflandırılır. 8 ve altı olan puanlar ile hızlı düşüş gösteren puanlar klinik açısından ciddiye göstergeleridir. GKS 13-15 puan hafif şiddetli, 9-12 puan orta şiddetli, 3-8 puan olan vakalar ise ciddi kafa travması olarak sınıflandırılır(7). Hafif şiddetli travmada geçici hafıza kayıpları ve olay anında konfüzyon, somnolans benzeri durumlar görülebilir, fakat taraf bulgusu yada fokal lezyonlar görülmez. Orta şiddetlide ise bilinç durumu koma değildir fakat

p	Göz açma	Verbal yanıt	Motor yanıt
1	Açmıyor	Cevap yok, ses yok	Yanıt yok
2	Ağrılı uyarana açıyor	Anlamsız sesler	Ekstansör yanıt
3	Sözlü uyarana açıyor	Uygun olmayan kelimeler	Üstte fleksör, altta ekstansör
4	Spontan gözler açık	Konfüze, dezoryente	Ağrıya fleksör yanıt
5		Koopere, oryente	Ağrıyı lokalize ediyor
6			Emirlere uyuyor

Tablo 1 Glaskow koma skalası (p:puan)

motor ve duysal değerlendirilmede anormal bulgular görülebilir, kemik doku patolojileri kontüzyon, aksonal hasar tespit edilebilir. Ciddi kafa travmaları ise genelde komatöz olarak değerlendirilir ve ağır hasarın olduğu yoğun bakım şartlarında tedavisi gereken kötü prognozlu durumlardır(17). Oransal olarak bakıldığında ise %75-80'i minör, geri kalanlar ise orta ve ağır şiddetlidir(13). GKS hesaplanırken dikkat edilmesi gereken bazı hususlar vardır. Bunlar, alkol kullanımı yada uyanıklık durumunu etkileyebilen ilaçların kullanımı durumunda elde edilen puan düşük olabilir. Şok durumunda ilk anda yapılan değerlendirmeler yanıltıcı olabilir ve erken tedavi sonrası tekrar değerlendirme faydalı olabilir. Sık karşımıza çıkan diğer bir durum ise yüzde, gözde, periorbital alanda oluşan yaralanmalar ve ödem benzeri durumların göz açma cevabının değerlendirilmesini zorlaştırmasıdır. Çocuk yaş grubunda ise uyarılara verilecek cevapların yaşa göre değişiklik göstermesinden dolayı özellikle bebekleri değerlendirirken kullanılan çocuk koma skalası kullanılır(13).

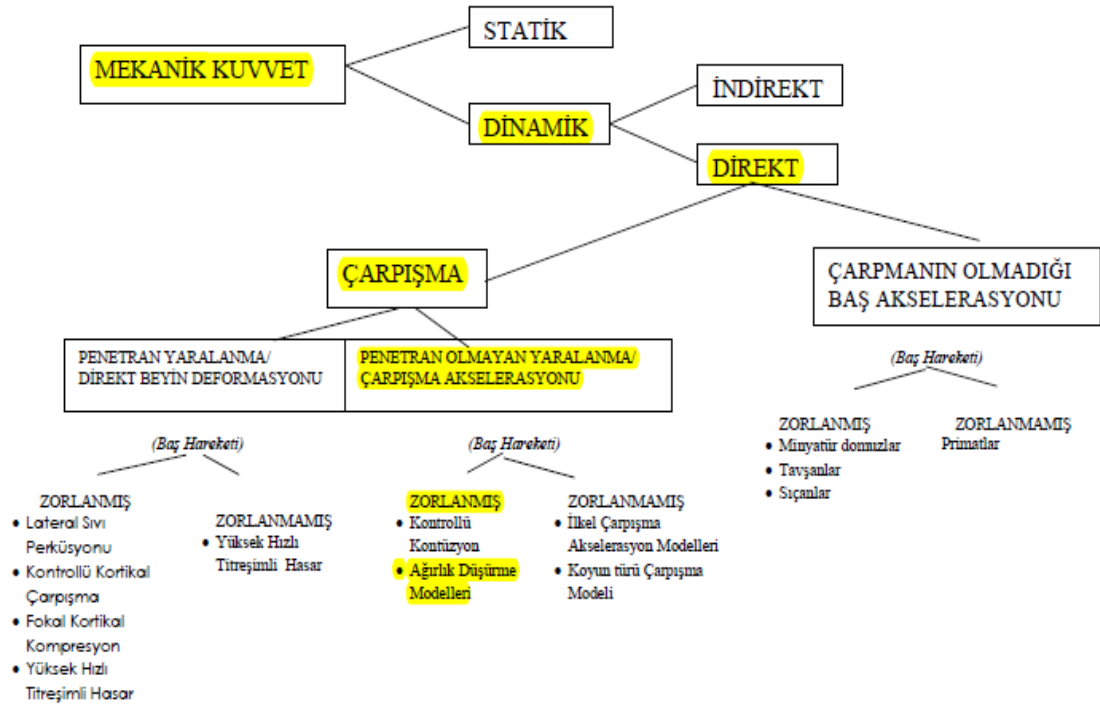
Oluş mekanizmasına göre ise travmalar künt ve penetran olmak üzere ikiye ayrılır. Ateşli silah yaralanmaları ve kesici delici alet yaralanmaları penetran travmalardır ve cilt kesisi, kemik kırıkları, dura yırtıkları ve intraserebral yada serebellar yaralanmalar

olarak karşımıza çıkabilir(7). Künt kafa travmaları günümüzde sıklığı oldukça fazla, mortalite ve morbiditesi yüksek durumlardır. En sık olarak trafik kazaları, düşmeler, darp vb durumlar sonrasında karşımıza çıkar ve penetran travmadan en temel farkı duranın yırtılmamış olmasıdır. Vakaların bir kısmında önemli bir patoloji görülüyor olsa da, bazı durumlarda ciddi sakatlıklar ve ölüm görülebilmektedir. Ölüm travma sonrası hemen gerçekleşebildiği gibi daha sonra gelişebilecek komplikasyonlara bağlı olarak meydana gelebilir. Bu komplikasyonlar intrakranyal durumlar olabildiği gibi diğer ve organ ve sistemlerde ortaya çıkan ekstrakranyal durumlarda olabilir(16).

Morfolojik değerlendirmede ise kafatası kırıkları ve subdural kanama, epidural kanama, intraparaknimal kanama, subaraknoid kanama, kontüzyon gibi hadiseleri içine alan intrakranyal yaralanma şeklinde bir gruplama yapılabilir.

2.1.5. Kafa Travmalarının Oluş Mekanizması

Kafa travmalarında hasar oluşumu travma nedeniyle etki eden kuvvet ve kafatası ve intrakraniyal dokuların buna verdiği yanıtı göre belirlenir. Etki eden kuvvetin şiddeti, geldiği yönü, hızı ve maruz kalma süresi ve kafanın hangi bölgesine geldiği oluşacak hasarın miktarını belirleyen faktörlerdir. Kafaya etki eden mekanik kuvvet dinamik ve statik olarak ikiye ayrılır(şekil 1).



Şekil 1: deneysel hayvan modellerinde travmatik beyin hasarı oluş mekanizmalarının şematik temsili(18)

Statik yüklenme 200 msn üzerinde gerçekleşir ve sıkışma ve ezilme şeklinde oluşan yavaş gelişen etkilenmelerdir. Kafa taşı kemiklerinde kırıklara neden olur ve beyin dokusunu etkileyecek seviyeye ulaşıncaya kadar genelde bilinç bozukluğu yada herhangi bir nörolojik defisit görülmez.

Dinamik yüklenmeler ise 200 msn altında gerçekleşen etkilerdir ve çoğunlukla etki 50 msn altında olur. Kafaya mekanik etki en sık bu yüklenme şekli ile olur ve güç aktarımı dalga ve darbe olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. Bu şekilde primer ve sekonder hasara neden olabilir(18). Farklı bir şekilde anlatmak istersek bu kuvvetleri

Çarpma ve itme etkisi olarakta belirtebiliriz. İtici etkiyi çarpma durumunun olmadığı başın aniden hareketlenmesi ve durması şeklinde oluşan durum olarak belirtebiliriz. Bu şekilde oluşan travmalarda genel olarak serebral hasar dūřuk miktardadır(7).

Çarpma şeklinde oluşan travmalar sık görülen durumlardır ve kontakt fenomenine neden olabilir. Kontakt fenomeni, etki eden enerjinin başa kontakt g olarak aktarımı sonucu meydana gelen durumların tümüdür ve oluşan hasarlanma darbenin olduğu alanda veya bu alanın karşısında meydana gelebilir. Travmaya neden olan cismin büyüklüğü, iletilen gücün şiddeti, yine cismin yüzey alanı, ağırlığı, hızı ve sertliği oluşan hasarın derecesini etkileyen faktörlerdir. Lokal travmalarda kafa tası en önemli koruyucu yapıdır ve kafatası direncini yenebilecek şiddetteki travmalar sonucu kırıklar oluşur. Yüzey alanı 10 cm den az olan cisimler ise lokalize okme kırıklarına yada penetrasyonlara yol açabilir. Çarpma sonrası intrakraniyal dokularda yayılan dalgalanma ise küçük hemorajilerden, lokal kanamalara kadar olan hasarlara neden olabilir. Oluşan hasarlar; bağlantılı hasarlar ve hareketsiz hasarlar olarak iki grupta sınıflandırılabilir. Hareketsiz hasarlar başın akselerasyon, deselerasyon şeklindeki hareketlerine bağlı oluşan yaralanmalardır. Akselerasyon başın arkadan öne doğru, deselerasyon ise nden arkaya doğru olan hareketine denir. Kafa tası kemik dokusu ve BOS sıvısı beynin kafatası içinde bir miktar hareket etmesine olanak sağlar, oluşan travma bu hareket sınırını aştığında ise akselerasyon-deselerasyon hasarları ortaya çıkar. Subdural kanamalara, kontzyonlara ve diffüz aksonal hasara neden olabilir. Akselerasyon; translasyonel, rotasyonel, anguler şeklinde üç tipe ayrılır. Anguler tip diğer ikisinin birleşimi ile oluşan en şiddetli tiptir ve kafa travması sonrası oluşan birçok hasar çeşidine neden olabilmektedir(7).

2.1.6. Kafa Travmalarının Fizyopatolojisi

Travma sonrasında zedeleneen yapılar meninksler, vaskuler yapılar, serebral ve serebellar yapılar ve kraniyal sinirlerdir(2). Kafa travması sonrası gelişen olaylar silsilesi iki grup halinde incelenebilir. Bunlar primer hasarlar ve sekonder hasarlardır. Bu süreçlerin gelişimi şu şekildedir:1.Primer hasarlanma, 2.Primer hasarlanmanın gelişimi, 3.Sekonder veya ilave hasarlanma ve 4. iyilleşme şeklindedir(19).

Primer hasarlar travma anında oluşan diffüz aksonal hasar ve konküzyondur(1). Sekonder hasar ise travma anında hemen oluşmayan, primer hasarın üzerine binen ve travma sonrası oluşan zedelenmeyi daha da artıran durumlardır. Bunlar primer hasarlar dışında meydana gelen hematolar, iskemi ve hipoksinin neden olduğu bozukluklar, artan kafa içi basınca bağlı bozukluklar, enfeksiyonlar, ve birçok farklı nedenle oluşan ödem gibi durumları kapsar(2). Dakikalar, saatler içinde oluşabildiği gibi haftalar içinde de meydana gelebilir ve oluşumu birçok kompleks mekanizma içerir. Sitotoksisite, infalamasyon, oksidatif stres, elektrolit bozuklukları, apopitoz, mitokondrial disfonksiyon ve gen aktivasyonu bu mekanizmalardan bazılarıdır. Yine benzer şekilde lipid peroksidasyonu sonrası oluşan serbest oksijen radikalleri endotel hasarı ve oluşan ödem sonucu mevcut hasarı bariz şekilde artırarak ciddi mortalite oranında yükselişe neden olabilir(1).

2.1.6.a. Primer Hasarlar

Primer hasarlanma travma anında meydana gelir. Beyin hücrelerinde diffüz veya fokal hasarlanma şeklinde görüldüğü gibi laserasyon veya kontüzyon şeklinde de karşımıza çıkabilir. Önlenmesi mümkün olmayan hasarlardır ve bazı farklı süreçleri tetikleyebilir. Bu süreçler; hipoksi, anoksi, iskemi gibi durumlardır ve sonuç olarak sekonder hasarlanmalara neden olurlar(2). Skalp yaralanmaları, kafa tası kırıkları, epidural hematoma, subdural hematoma ve intrakraniyal kanamalar primer hasar olarak değerlendirilen durumlardan bazılarıdır(20).

Diffüz aksonal yaralanmalar kafa travması sonrası ortaya çıkan semptomların %40-50' sinde sorumludur. Şuur kaybı veya bozukluğunun önemli nedenlerinden biridir ve aynı zamanda karakteristik peteşiyal kanamalar ilede kendini gösterebilir(21).

Serebral korteksteki kontüzyonlar; saran kemik dokunun direncine bağlı olarak, daha çok orbitofrontal ve anterotemporal bölgelerde ortaya çıkar ve genellikle bu lokalizasyon etkilenen tarafla alakalı değildir. Devamında ise subaraknoid kanamalara ve bunabağlı olarak veya olmayarak fokal defisitlere nöbetlere neden olabilir. Klinik olarak iyi görünen hastalarda sonradan gelişen kötüleşme olmuşsa veya ölümlle sonuçlanmışsa çoğunlukla altta yatan neden intrakraniyal hematolardır.(21).

Diğer primer hasarlanma çeşitleri ise epidural ve subdural kanamalardır. Epidural kanama genellikle temporal kemik kırıklarında görülür ve orta meningeal arter yaralanmaları sonucu oluşur. Oluşan hasar genellikle ortaya çıkan intrakraniyal basınca bağlı gelişir. Subdural hematolmar ise venöz kaynaklı, benzer şekilde kafa içi basınç artışı yada kitle benzeri etki yapan bir kanama sürecidir. Subaraknoid boşluklardaki damarların rüptürü sonucu ise subaraknoid kanamalar görülür. Hafif başağrısından koma ve ölüme kadar olan geniş bir aralıkta semptomlara neden olabilir. Diğer bir yaralanma şekli olan intraserebral hematolmar ise çoğunlukla frontal ve temporal bölgelerde oluşan intraparaknimal kanamalardır(21).

Biraz daha açacak olursak; epidural hematolmlarda anizokori sık görülen bir semptomdur ve papil boyutlarında 2mm den büyük farklılık olarak belirtilir. %9-10 civarında gecikmiş hematolmlar olarak tespit edilir. Subdural kanamalar ise kafa travmaları içinde % 0.5-5 oranında karşımıza çıkar ve kazalar dışında bir çok yaşlı hasta düşme sonrası senkop şeklinde belirtilerek karşımıza çıkar. İntraparaknimal hemorajiler ise konvüzyon, kontüzyon, diffüz aksonal hasarı da içine alan bir grup lezyonu ifade eder. Yaklaşık % 50 hasta bilinçsiz bir şekilde karşımıza çıkabilir, hastaların 2/3 'lük kısmında ilk 48 saat içerisinde cerrahi müdahale gerekebilir, % 70 hasta da ise 1 ila 48 saat içerisinde gecikmiş intrakraniyal hemorajiler gelişebilir(20).

2.1.6.b Sekonder Hasarlar

Sekonder hasarlar mekanik etki anında oluşmayan, primer hasarlanmaların geç etkileri olarak ortaya çıkan yada primer hasarın üzerine binen durumlardır. Primer hasar sonrası hafta yada haftalar içinde oluşabileceği gibi dakikalar sonra dahi ortaya çıkabilir. Eksitotoksisite, inflamasyon, oksidatif stres, nitrosative stres, infarkt, apopitoz, kalsiyumun etkisine bağlı hücre hasarlanması, gen aktivasyonu, mitokondrial disfonksiyon, lipid peroksidasyonu ve beraberinde olan serbest oksijen radikallerine bağlı endotelial hücrelerde yaralanma gibi birçok kompleks mekanizmaya bağlı meydana gelebilir. Bu mekanizmaların neredeyse tamamı beyin ödemi gelişimine ve beyin hasarının şiddetlenmesine neden olur(1). Ek olarak hipoksi, hidrosefali, enfeksiyonlar gibi nedenlere bağlı meydana gelen patolojilerde sekonder hasarlardır. Yapılan çalışmalar da sekonder hasarı azaltmanın olumlu prognostik etkileri olduğunu gösteren bulgular ortaya konmuştur(2).

Sekonder beyin hasarı oluşumuna yol açan durumlar sistemik nedenler ve intrakranyal nedenler olmak üzere iki grupta tanımlanabilir(7). Süreç primer hasarlanmayı takiben gelişen intrakranyal ödemle başlar. Bunu intrakranyal basınç artışı ve bu artış çok fazla olduğunda ise herniasyonlar takip edebilir. Lokal yada büyük alanları etkileyen perfüzyon bozuklukları sonrası serebral iskemi süreci gelişir ve artan kafa içi basıncının intrakranyal arteriyel dolaşımı etkilemesi ve engellemesi durumunda beyin ölümü gerçekleşebilir. Herniasyon sendromları, serebral ödem ve iskemi, perfüzyon bozuklukları ve metabolik değişiklikler, vasküler yaralanmalar ve beyin ölümü sayılabilecek sekonder hasarlardır.(22)

Sekonder hasarlanmada sistemik nedenleri sayacak olursak hipoksi, hipotansiyon, hiperkapni, hipertermi ve diğer bazı durumları sayabiliriz. İntrakranyal patolojiler olarak ise beyin ödemi, herniasyonları, kibas, nöbet, enfeksiyonlar ve yağ embolisi gibi durumlar sayılabilir(7). Ek olarak geç intrakranyal hematomlar ve vasküler hasarlanmalar intrakranyal nedenler arasında, hipo-hiperglisemi, sepsis ve anemi ise sistemik nedenler içinde sayılabilir(23).

2.1.6.b.I. İntrakranyal Nedenler

Beyin Ödemi: TBI sonrasında beyindeki volüm yükünün artması ile oluşan mortalite ve morbiditeyi artırıcı bir durumdur. İntrakranyal basınç artışı, serebral kanlanma ve oksijenizasyonun bozulması ve iskemik hasar ile sonuçlanır.

Sınıflayacak olursak;

I.kan beyin bariyerinin bozulması sonucu ekstraselüler sıvının geçişi sonucu oluşan vazojenik ödem,

II.devam eden hücre içi sıvı toplanmasına bağlı sitotoksik/hücre sel ödem

III.kan ve dokular arasında gelişen osmotik dengesizliğe bağlı ozmotik ödem

IV.serebrospinal sıvı atılımında bozulmaya bağlı hidrosefalik/interstisyel ödem.

TBI ye bağlı olarak vazojenik yada sitotoksik olan birçok mediatör salınır. Bunlar glutamat, laktat, H⁺, K⁺, Ca⁺, nitrik oksit, araşidonik asit metabolizması ürünleri, serbest oksijen radikalleri, histamin ve kinin gibi ürünlerdir ve beyin ödemi gelişimine katkıda bulunurlar. Gelişen patofizyolojik süreçlere bakıldığında serebral anaerobik solunumun ve asidozun kontrol edilmesi olumlu etkileri olabilecek bir yaklaşımdır.

Şiddetli beyin ödeminin bir diğer özelliğide rutin BT değerlendirilmesinde tespit edilebilmesidir. Beyin ödemi; hücre sel ve moleküler düzeyde KBB de bir çok yapısal ve fonksiyonel değişikliğe bağlı gelişir. Bu değişiklikler KBB nin fonksiyonu, mikrosürkilasyonu, hücre sel volüm regülasyonu ve salgılanan bazı mediatörlerle alakalı durumlardır ve bu şekilde bir çok patolojik yolak oluşumuna, sonuç olarakta hasar gelişimine neden olur.

Vazojenik ödem yapısal bozulmalar sonucu gelişir ve KBB i geçirgenliğinde sıkıntı vardır, bariyer açıktır ve geçirgenlikte bozulma vardır. Endotelial hasarlanma bir çok ağır maddenin, proteinden zengin yapılı içeriğın geçişine izin verir ve buda hücre içine su çekilmesine neden olur ve ödem artar.

Sitotoksik ödem; astrosit ve nöronlarda intraselüler sıvı artışı ile karakterizedir ve KBB bütünlüğünden bağımsızdır. Aşağıda belirtilen mekanizmaların bir teki yada

kombinasyonu ile gelişebilir. Bu mekanizmalar; hücre membranında sodyum ve potasyum geçirgenliğinde artış, Na/K-ATPaz pompası gibi aktif iyon pompalarında hasarlanma, osmotik aktif solütlere maruz kalma gibi durumlardır. Bu gibi mekanizmalar ile hücre içine sıvı çekilir ve hücre şişmesi ve hücre fonksiyonlarında bozulmalar oluşur. Bozulan bu elektrokjenik ve kimyasal stabilite TBI sonrası bazı eksitator aminoasitler ve glutamat gibi maddelerin açığa çıkmasına neden olur. Sitotoksik ödem 3 saat ile birkaç gün içinde ortaya çıkabilir. Nöronal hasar ise genelde travma sonrasında 3 ila 11 gün arasında ortaya çıkabilir.

Osmotik/interstisyel beyin ödemi ise yavaş gelişen bir durumdur ve osmotik dengede bozulma sonrası gelişir.

TBI hematoma, subaraknoid kanama, diffüz aksonal hasar, kontüzyon gibi primer hasarlar sonucu gelişebildiği gibi, arteriyel hipotansiyon, hipoksi ve iskemi gibi nedenlerle de gelişebilir(24).

Diğer ödem türleri ise hasar sonrası beyin otoregülasyonunda bozulma, kapiller yataktaki su basıncının artışı ve sıvının hücreler arası alana geçerek oluşturduğu hidrostatik ödem ve hiponatremi gelişen durumlarda, buna bağlı gelişen hiposmolar ödemdir(7).

Ciddi kafa travmaları sonrası gelişebilen bir diğer durum ise, hipotalamus ve beyin sapı gibi dokularda oluşan hasar, vazoparalizi ve hipervolemiye neden olmaktadır. Serebral hiperemi oluşmaktadır. Bunun devamı olarak serebral ödem gelişmektedir. Sonuç olarak kafa içi basınç artmakta ve perfüzyon basıncı azalırken, venöz dönüş ise bozulmaktadır ve sonuç olarak ödem ve hasarlanmada artış meydana gelmektedir.

Beyin herniasyonları: normal gelişim sürecinde sütürler ve fontaneler kapandıktan sonra beyin, BOS ve intrakranyal vasküler yapılar sert ve sağlam kemiklerden oluşan güçlü bir yapı içerisinde bulunur. Bu kemik yapılardan oluşan kemik kutu içerisinde kan, BOS ve intrakranyal dokular bir basınç dengesi içerisinde ve bu denge sayesinde dolaşım sağlanır. Bu dengeyi bozabilecek kan, tümör, ödem benzeri herhangi bir oluşum bu dengeyi bozar ve diğer yapıları sıkıştırır, artış devam ederse sonraki aşamada BOS etkilenir, bu basınç artışı kompensasyon sınırını aşarsa intrakranyal

yapılar zayıf alanlardan herniye olur. En sık olan şekil subfalsin herniasyondur. Desenden transtentoryal herniasyon diğer sık görülen bir durumdur. Tonsiller herniasyon ise genellikle posterior fossa kitlelerine bağlı gelişir(22). TBI açısından bakıldığında ise travma sonrası gelişen ödem, hematoma vb oluşumların etkisi ile gelişen herniasyonlar beraberinde serebral iskemi ve buna bağlı metabolik ve biyokimyasal patolojik süreçleri beraberinde getirmektedir(7).

Kafa içi basıncı bahsedildiği şekilde beyin, BOS, kan ve onları saran kemik doku arasındaki dengeye bağlıdır. Kemik dokunun direnci sabittir, diğer kompartmanlardan herhangi birinde artma olursa geri kalanlarda azalma olması gerekmektedir ve bu mekanizma bozulduğu zaman kafa içi basınç artışı meydana gelir. Şiddetine göre sırasıyla önce kan, sonra BOS kafa içini terk eder. Daha ileri aşamada ise beyin dokusunun terki ve herniasyonlar oluşabilir. Normal kafa içi basıncı küçük çocuklarda 3-7 mmHg, infantlarda 1,5-6 mmHg, yetişkinlerde ise 10-15 mmHg civarı olmak üzere farklı değerlerdedir ve yetişkinde 20 mmHg' den fazla olan değerler yüksek olarak değerlendirilir(25). Artmış basınç ile nörolojik semptomlar arasındaki bağlantı net olarak belirtilemez de, serebral kanlanmanın bozulması ve kötü çıkış arasında ilişki açık olarak ortaya konmuştur. TBI sonrası gelişen beyin ödemi kitle etkisinin yanında, parankimal dokuların kompliyansını ve viskozitesini değiştirerek, basınç otoregülasyonunu bozarak ve yol açtığı metabolik ve biyokimyasal olayların sonuçlarına bağlı olarak ta kafa içi basıncını artırır. Bu basıncın normal sınırlarda tutulması mortalite ve morbidite oranları üzerinde olumlu etkiye sahiptir ve uygulanan tedavi süreçlerinde kafa içi basıncın azaltılması amaçlanmalıdır(26).

Travma sonrası gelişebilecek ve hipoksi, asidoz vb mekanizmalarla sekonder hasarın gelişimi ve artmasına neden olan diğer bir faktör ise nöbetlerdir. Fokal yada jeneralize olabilirler. Yine travma sonrası gelişen santral sinir sistemi enfeksiyonları da sekonder hasarın nedenlerindedir ve gelişen yapısal bozukluklara, kırıklara, cerrahi sonrası gelişen durumlara bağlı olabilir. TBI ye neden olan travmalar genelde multitravmalardır ve çoğu zaman beraberinde ekstremiteler kırıkları mevcuttur. Mevcut ekstremiteler kırıkları çoğunlukla beyaz cevherde görülen yağ embolilerine neden olabilir(27).

2.1.6.b.II. Sistemik Nedenler

Travma sonrası korunulabildiği takdirde mortalite ve morbidite üzerine ciddi derecede olumlu etkileri olan sistemik durumlardır. Bunlar hipoksi, hipotansiyon, hiperkarbi, hipokapni, hipotermi, hipoglisemi ve hiperglisemi gibi durumlardır. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki; mevcut hipoksi durumunda mortalite oranı %24-50 oranında artabilmektedir. Hipotansiyon ise mortalite oranını iki katına çıkaran sık görülen bir durumdur. Hiperkapni asidozla birlikte olabilen vazodilatasyon ve KİB artışına sebep olan bir durumken, hipokapni ise vazokonstriksiyon ve iskemiye neden olarak sekonder hasarı artıran durumlardır. Hipotermi ise bazı biyokimyasal süreçlere neden olarak hasara katkıda bulunmaktadır. Hipoterminin ise nöroprotektif etkileri mevcuttur(7).

Yukarıda bahsedilen sistemik nedenler SSS dışı birçok sistemin etkilenmesi ve bunlarda gelişen etki ve tepkilerin sonucu meydana gelir. Kardiyorespiratuar sistem, metabolik yollar, sıvı-elektrolit dengesi ile alakalı organ ve sistemler ve hormonal dengeler bunlar arasında sayılabilir. Hipotalamohipofizer sistemleri etkileyen yaralanmalar oldukça fatal seyredebilir. Gelişen hipotalamohipofizer disfonksiyon aşırı sıvı kaybı yada birikimi ile sonuçlanabilir. Travmanın kendisine bağlı olarak yada ADH taşıyan hücrelerde gelişen hasara bağlı olarak diabetes insipitus gelişebilir. İlk olarak polidipsi, poliüri gibi bulgularla karşımıza çıkabilir. Aşırı sıvı kaybı serebral perfüzyon basıncında azalmaya neden olabilir, hiponatremiden komaya kadar bulgularla karşımıza çıkabilir. Uygunsuz ADH sendromu, hiponatremi, hipokalemi görülebilen durumlardır. Yine hasarlı dokuda kalsiyum girişi fosfolipaz aktivasyonuna, mitokondriyal iyon transportunda bozulmaya, serbest radikal salınımına neden olur. Travmatik beyin hasarı sonrası ACTH, prolaktin ve GH salınımı artar ve bu fizyolojik bir cevaptır. Kafa travması sonrası hipermetabolizma-hiperkatabolizma dönemi başlar. Kortizol seviyesi ve adrenalin seviyesi artar, bu artışlar metabolik, hormonal, kardiyak bir çok sistemi etkileyerek hücresel immünitenin deprese olması, hiperglisemi, regülatör hormon düzeylerinde artma, kardiyak sistemler, solunum sistemi, karaciğer ve gastrointestinal sistemlerde dahil birçok sistemde disfonksiyona neden olabilir.

Gelişen hiperadrenerjik durum ise kardiyak sistem başta olmak üzere gösterdiği etkiler ile enerji kullanımı artışı ve hiperglisemik duruma neden olabilir. Yapılan çalışmalarda gelişen bu hiperglisemik durumun iskemiye artırıcı etkileri olduğu gösterilmiştir. Kafa travmalarına yaklaşımda temel amaçlardan biri de acil müdahalelerin yanında sekonder hasarları önleyici tedbirlerin alınması olmalıdır(28).

2.1.6.b.III. Sekonder Hücre Hasarında Biyokimyasal Mekanizmalar

Sekonder beyin hasarı bir çok biyokimyasal ve metabolik değişikliklerle beraber seyrederek. Eksitotoksikite, inflamasyon, oksidatif stres, nitrosatif stres, apoptoz, periinfarkt depolarizasyon, kalsiyum bağımlı hücre hasarı, gen aktivasyonu ve mitokondriyal disfonksiyon gibi durumlar sekonder hasarda görülen süreçlerdendir. Lipid peroksidasyonu sekonder hasar oluşumuna neden olan ana mekanizmalardan biridir ve bu hasar serbest oksijen radikallerinin endotel hücrelere zarar vermesi ile gelişir. Tüm bu mekanizmalar beyin ödemi gelişimine ve artışına neden olur ve TBI şiddetini artırır. Bu sekonder hasara yol açan mekanizmaların zamanında müdahale ile sınırlandırılması ve engellenmesi oluşacak yaralanmanın azalmasına ve buna bağlı olarak mortalitede azalmaya neden olmaktadır(1).

Oksidatif stres, serebral iskemi ve serebral hasar durumlarında oluşan yaralanmayı artırıcı primer faktörlerden biridir. Nöronal kayıba neden olan başlıca etmenler bazı reaktif oksijen ürünleridir. Bunlar süperoksit, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit, peroksinitrit radikalleri gibi ürünlerdir.

Reaktif ürün	Sentez ve etki
Hidroksil radikali	Fentan reaksiyonu Demir iyon aktivitesine bağlı hidrojen peroksit transformasyonu Mitokondrial hasar-elektron kaçağı
Superoksit anyon	Ksantin aktivitesi Mitokondrial disfonksiyon Endoplazmik retikulum disfonksiyonu Lipooksijenaz aktivasyonu Siklooksijenaz aktivasyonu
Oksit anyonu	Mitokondrial disfonksiyon Respirator zincir Miyoglobin, hemoglobin ve sitokrom denaturasyonu
Hidrojen peroksit	Süperoksit dismutaz tarafından katalize edilen biyokimyasal reaksiyonlar
Nitrik oksit	Endotelial hücrelerin biyolojik ve biyokimyasal aktivitelerinin hücre yüzey reseptörleri tarafından inhibisyonu
Peroksinitrit	Nitrik oksit ve süperoksit anyonlarının reaksiyonu
Lipit peroksil	Lipit hidroperoksit ve demir iyon aktivasyonu hücre membranında süperoksit anyon aktivasyonu
Lipit alkoksil	Lipit peroksil üzerinden demir iyon aktivitesi

Tablo 2 :Serbest radikaller ve karakteristik özellikleri

Hidroksil ve superoksit radikalleri lipid peroksidasyonundan dolayı hücre membran hasarında güçlü rol oynarlar. İndüklenebilir nitrikoksit sentaz(İnos) iskemik hasar sonrası artan faktörlerden biridir ve aşırı nitrik oksit(NO) ürünlerinin oluşumu ile sonuçlanır. Bu aşırı NO aktivitesi süperoksiti peroksinitrite çevirerek, nöronal ölüme neden olan güçlü radikal etkisi göstermektedir. Beyin dokusu oksidatif stres hasarına oldukça hassastır. Beynin yüksek hızlı oksidatif metabolik aktivitesi, sonuç olarak ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri ve ürünleri, poliansature yağ asit konsantrasyonunun yüksek olması, düşük antioksidan kapasite, yetersiz tamir mekanizmaları ve aktivitesi, nöronal hücrelerin yenilenemez yapısı bu hassasiyetin temel nedenleridir(4). Reaktif oksijen radikalleri sırasıyla, lipid , protein ve nükleik asit hasarı yapar ve bu etki olumsuz değişikliklere neden olan nörodejeneratif bozukluklara

yol açar. Apoptoz programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanır ve normal sinir sistem gelişim sürecinde rolü olan bir aktivitedir. Apoptotik hücre ölümü; bir sistein proteaz grubu üyesi olan Kaspaz enziminin aktivasyonunun aracılık ettiği moleküler aktiviteleri içeren bir süreçtir. Kaspaz 3, nöronal apoptozisi güçlü şekilde uyaran bir efektördür ve nörotripsin ile yarışarak veya sınırlandırıcı etki göstererek endojen genetik programlanmış hücre ölümünü bastırıcı etki gösterir(29). TBI'de gelişen hasar hücresel düzeyde AMPA ve NMDA reseptörlerini aktifleştirir, kalsiyum ve sodyum nöronal geçişini artırır, görev alan pompalarda fonksiyon bozukluğuna yol açar ve bu gelişen süreç sonucunda hasarlanma artar(21). Reaktif ürünlerin etkileşimine bağlı olarak meydana gelen oksidatif stres; Na/K ATPaz ve kalsiyum pompaları gibi iyon kanallarını bloke ederek hücre fonksiyonlarında bozulmalara neden olur. İntraselüler kalsiyum iyonu aşırı miktarda birikir ve apoptoza neden olur. İnflamasyonun güçlü modülatörleri olan faktörler, nötrofiller tarafından üretilir. Proteaz, elastaz, proinflamatuvar sitokinler, miyeloperoksidaz şiddetli doku inflamasyonuna yol açan faktörlerdir. Beyin dokusunda sadece endotelial hücreler oksidatif stresin neden olduğu etkilerle savaşabilmektedir ve bu durum diğer dokulara göre daha yüksek antioksidan enzim konsantrasyonu içermesine bağlı olarak gelişmektedir. Vücuttaki oksidatif stres derecesini belirlemek için kullanılan bazı biyokimyasal göstergeler belirlenmiştir. Bunlar; glutatyon-s-transferaz(GST), glutatyon peroksidaz(GSx), glutatyon (GSH), katalaz(CAT), süperoksit dismutaz(SOD), malonildialdehid(MDA), ve total reaktif antioksidan potansiyelini içermektedir(30-32). Bu enzimler beyinde çeşitli hücre fonksiyonları göstermektedir ve bununla beraber biyokimyasal antioksidan direncinin bölgesel dağılımını düzenlemektedir. Beyin hücresel düzeyde ve bölgesel düzeylerde serbest oksijen radikalleri ve beraberinde gerçekleşen metabolik etkilere farklı yanıtlar verebilmektedir. SOD, CAT, enzim metabolik düzenleyicisi olan glutamil transpeptidaz, GPx, glutatyon reduktaz(GR), GST gibi enzimler serbest oksijen radikal temizleyicisi olarak etkinlik gösterir ve bu serbest radikallerin neden olduğu hücre fonksiyonları zararlı etkilere karşı koruyucu etkinlik gösterirler. GSH'ın hücresel düzeyde hayati etkinlikleri mevcuttur ve asıl koruyucu etkinliğini hemostaz sırasında göstermektedir. Glutatyon düzeyi hücre fonksiyonları hasar tespitinde nonspesifik göstergelerle monitorize edilebilir. GSH düzeyi düşerken, okside formu olan GSSH düzeyi hızla yükselir ve bu belirteç artmış hücre fonksiyonları hasarının güçlü bir göstergesi olarak kullanılabilir(6). Karşımıza

çıkan bir diğer hücre ölümü şekli ise nekrozdur. İskemik yada mekanik nedenlerle şiddetli hasar gören hipoksik dokularda görülür ve aşırı eksitatör aminoasit nörotransmitter salınımı ve metabolik kusurlarla birliktedir. Sonrasında biyolojik membranda fosfolipazların, proteazların ve lipid peroksidazların neden olduğu otoliz görülür. Sonuç olarak oluşan hasarlı hücre antijen gibi algılanır ve bu durum inflamatuvar süreçleri harekete geçirir ve ardından sıkar dokusunun uzaklaştırılması meydana gelir(33). Benzer mekanizmalarla TBI sonrası glutamat ve aspartat gibi nörotransmitter aminoasitlerin aşırı aktivitesi eksitotoksik etki göstererek beyin hasarında artmaya neden olur(27). Tüm bu anlatılan primer ve sekonder hasarlanma süreçleri hücresel düzeyde yaptığı etkilerle bazı mediatörlerin salınımına neden olur. Bunlar bahsedildiği üzere proinflamatuvar sitokinler, prostoglandinler, serbest radikaller ve kompleman sistemi ürünleridir ve glial hücreler ve savunma sistemi hücrelerinde adhezyon moleküllerinin açığa çıkmasına kemotaksise ve transmigasyona neden olurlar. TBI sonrası proinflamatuvar sitokin salınımında ve üretimindeki artış yapılan birçok deneysel çalışmada açıkça ortaya konmuştur. İnterlökin 1, interlökin 6, TNF ve santral sinir sistemi sitokinlerinde tespit edilen aşırı konsantrasyon artışları postravmatik süreçlerde önemli roller oynadıklarının göstergelerindedir ve hasar gelişiminde gösterdikleri etkilerin ve oynadıkları rollerin tam olarak tespiti ve spontan gelişen bu süreçlerin durdurulması veya sınırlandırılması, kafa travması sonrası çok ciddi koruyucu rol oynamaktadır ve hayati önem arz etmektedir(9).

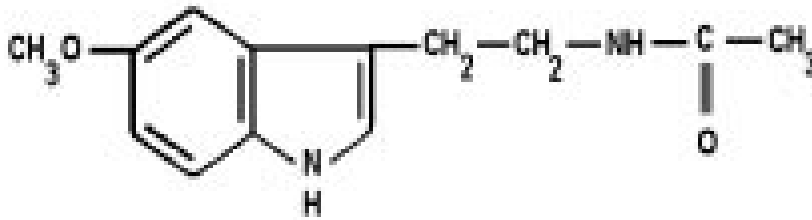
2.1.7. Tedavi

Kafa travması sonrası izlenecek tedavi süreçleri hastane öncesi tedavi(ilk yardım), acil serviste tedavi , ameliyathanede tedavi ve yoğun bakım tedavisi olmak üzere 4 ana basamaktan oluşmaktadır. Hastane öncesi bakımda hastanın dolaşım ve solunum yeterliliğinin sağlanması, servikal sabitleme başta olmak üzere ek hasara neden olabilecek faktörlerin önlenmesi, mevcut durumun şiddetinin belirlenmesi ve hastaneye ulaştırılması amaçlanmaktadır. Hipoksi, hipotansiyon, hiperkapni gibi durumlara müdahale edilmeli gerekirse entübasyon ve sedoanaljezi düşünülmelidir ve bilinmelidir ki tek bir hipotansiyon atağı dahi mortalitede yüksek oranda artışa neden

olmaktadır. Alınan bu önlemler primer hasarı önlemekte yetersiz olsada devamında gelişecek sekonder hasarları azaltmada ve önlemede büyük bir etkinliğe sahip olacaktır. Acil servis tedavisi; tanının netleştirilmesi, hipoksi ve hipotansiyonun önlenmesi ve beyin ödemi ve etkilerini önlemeye yönelik olmalıdır. Sistolik kan basıncı >90 mmHg ve PO₂ >60 mmHg üzerinde tutmak amaçlanmalıdır. Sedasyon gerekli olan durumlarda ketamin İKB artışına neden olabildiği için KİB artışı bulguları varsa kontrendike olduğu unutulmamalıdır. Sonraki süreç ise cerrahi müdahale ve yoğun bakım şartlarında takibi içermektedir(34). Yapılan çalışmalar incelendiğinde görülmektedir ki, darbe sonrası gelişen primer hasar prognozu tek başına belirlememektedir ve sonrasında gelişen sekonder hasarlarda prognoz açısından çok önemli yer tutmaktadır. Tedavide öncelikle yer kaplayan lezyonların boşaltılması gibi cerrahi önlemler ve kliniği düzeltmek veya cerrahiye zaman kazandırmak için kullanılan medikal uygulamalar olsada sekonder hasarı azaltıcı ve önleyici tedbirlerde mortalite ve morbidite üzerinde ciddi derecede öneme sahiptir(35). Son yıllarda sekonder hasarın önlenmesi amacıyla hipoksi, hipoperfüzyon, ödem benzeri durumları önlemeye yönelik tedbirlerin ve müdahalelerin yanı sıra, sekonder hasarı artıran oksidasyon, inflamasyon, lipid peroksidasyonu biyokimyasal süreçlerin yol açtığı olumsuz etkileri önlemeye ve azaltmaya yönelik bir çok çalışma yapılmaktadır ve bir çok ürün denenmektedir ve bunların başında antioksidan özelliği belirlenmiş olan ürünler gelmektedir. Antioksidanlar redoks reaksiyonlarına katılarak kısıtlayıcı etkiler gösterirler. Serbest oksijen radikalleri nedeniyle meydana gelebilecek hücresel lezyonlar üzerinde koruyucu etkinlik gösterirler. Bu amaçla üzerinde araştırma yapılan bir çok antioksidan özellikli madde vardır. Metilprednizolon, vitamin E, guanozin, montelukast, selejilin, edeveran, amifostin, dokohekseanoik asit, sinir growth faktör, tetrametilpirazin, n-asetilsitein, metalloporfirin, silbin, alfa lipoik asit, beta glukan, salvianolik asit bu maddelerden bazılarıdır(30). Bu maddelerin bir çoğu bitkisel ve hayvansal ürünlerden elde edilen maddelerdir ve milyonlarca yıl içerisinde gelişen tecrübeleri içeren yöntemlerdir. Hücresel redoks homeostazını sağlayıcı etkiler amaçlanarak kullanılmaktadır ve ek olarak ubikinon, timokinon ve vitamin A da bunlar arasında sayılabilir(36). Yine serbest radikallerin yol açtığı oksidatif stresi güçlü bir önleyici olan ve güçlü bir serbest radikal temizleyicisi olan melatonin bu maddeler arasında sayılabilir(2).

2.2. Melatonin

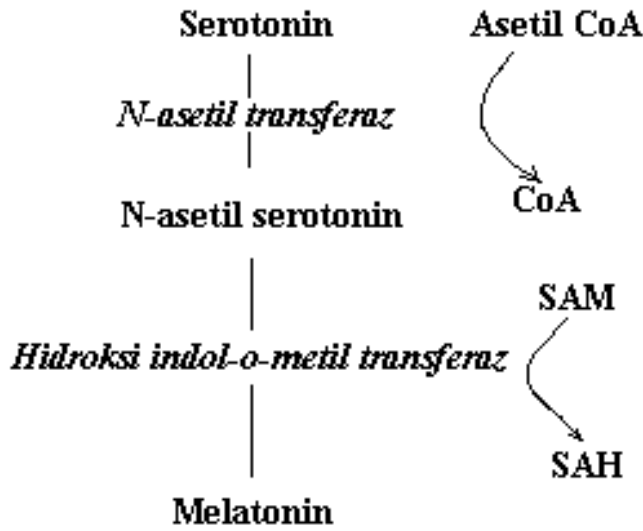
Pineal gland, yetişkinlerde 100-180 mg ağırlıkta ve 5-9mm uzunluğu, 3-6 mm genişliği ve 3-5 mm derinliği olan , üçüncü ventrikül posterior duvarına yapışık ve oldukça iyi kanlanan bir organdır(2). Corpus pineale, glandula pineale ve epifizis serebri gibi farklı isimlerle adlandırılabilir ve insanda kozalağa benzer bir şekle sahiptir. Gelişim sürecinde nöral tüpün nöroaksis seviyesinde arka medial kısımda pineal divertikülünden gelişir. Posterior kommissür ve dorsal habelüner kommissür arasında yerleşiktir. Temel hücresi pineositlerdir ve bu hücreler embriyolojik gelişim sürecinde; nöroepitelyal hücrelerin pineoblastlara, onlarında pineositlere dönüşümü ile oluşurlar ve Pineal glandda % 95 oranında bulunurlar, geri kalanlar ise nöroektoderm kökenli astrosit benzeri hücreler ve glial hücrelerdir. Yine azda olsa plazma, mast hücreleri, lenfosit gibi hücrelerde rastlanabilmektedir. Pineal gland KBB'ne sahip değildir ve salgıları bu sayede kolayca BOS veya kana ulaşabilmektedir ve genellikle piyama ile çevrelenmiştir. Pineal bez böbrekten sonra en çok kanlanan endokrin yapıdır(37, 38). Esas olarak sekretuar fonksiyon gösteren bir bezdir ve ilerleyen yaşla beraber kalsifiye olmaktadır ve 40 yaş üstü yetişkinlerde % 60 oranında kalsifikasyona rastlanabilmektedir.



Şekil 2: N-asetil-5-metoksitriptamin (Melatonin)

Pineal glanddan salgılanan temel hormon melatonin(5 metoksi-N-asetil triptamindir(2)(şekil 1). Işığa bağımlı olarak sentezlenen indolamin türevi bir hormondur. Bu sentez karanlıkta beta adrenerjik sempatik uyarı ile artarken, aydınlıkta ise inhibitör etkiye maruz kalır ve sentez ve salınım azalır. Bu sempatik uyarı superior sempatik gangliyonlardan gelmektedir ve sempatik terminallerden salınan diğer iki hormon ise norepinefrin ve serotoninidir(şekil 2). Melatonin üretildikten sonra pineal

gland veya koroid pleksusta depo edilmektedir ve sonrasında kan veya BOS'a sekrete edilmektedir.



Şekil 3: Pineal glandda serotoninden melatonin oluşumu

Yapılan çalışmalarda ölçülen melatonin düzeyinin serumda daha yüksek çıkması kana geçişinin daha fazla olduğunu düşündürmektedir. % 70 oranında albümine bağlı olarak taşınmaktadır ve sentez ve salınım gece saatlerinde oldukça yüksek düzeyde gerçekleşmektedir(3, 39, 40). Bu sirkadiyan ritim suprakiazmatik nukleus (SCN) tarafından düzenlenir ve bu bölgede olan lezyonlarda bu ritim bozulur. Bir çok türde melatonin sentez miktarı ile gece uzunluğu doğru orantılıdır. Aydınlık sekresyonu baskılayan ve ritmi düzenleyen ana etkidir. Kısa süreli 2500 lux ve üzeri ışık dozlarında benzer şekilde salınımı ve sentezi baskılayıcı etkinliğe sahiptir ve yeşil ışık etkinlik gücü en yüksek olan ışık çeşididir. Yapılan çalışmalarda mevsimsel değişikliklerinde melatonin sentezi üzerinde etkinliği tespit edilmiştir ve yazın salınımın daha geç başlamasına rağmen bunun kışın daha erken gerçekleştiği tespit edilmiştir. Melatonin salınım ritmi 6.-8. haftalarda başlayıp, 3-5 yaş civarında en yüksek miktara çıkmakta ve 35-40 yaştan sonrada giderek düşüş göstermektedir. Cinsiyet, boy, kilo gibi değerlerin etkinliğini gösteren yeterli veriler mevcut değildir(2). Melatonin metabolizması karaciğerde gerçekleşir ve ana metaboliti olan 6-hidroksimelatonininsülfata(6-HMS) dönüşür ve sonrasında idrarla atılır. Ratlarda farklı olarak N-asetilseratonine de

dönüşüm görülebilir. Yarı ömrü çok kısadır ve iv enjeksiyon sonrası kandan , intrasisternal enjeksiyon sonrası beyinden çok kısa bir sürede kaybolur. Plasental geçiş ve süte geçiş gösterebilmektedir. Melatoninin bir çok sistem üzerine farklı etkileri mevcuttur. Endokrin sistem, üreme sistemi, sinir sistemi, immün sistem, onkolojik süreçler bunlardan bazılarıdır.

Endokrin sistem üzerine olan etkiler gonadal yani üreme sistemi üzerine olanlar ve nangonadal yani tiroid, adrenal bez gibi diğer endokrin organlar üzerine olan etkiler olmak üzere iki gruptur. Prolaktin, FSH, LH, sekresyonu üzerinde, gonad gelişimi ve seksüel maturasyon üzerine etkileri mevcuttur ve bu etkilerini hipofiz bezine olan direkt veya indirekt etkileri ile yapar. Yapılan bir çalışmada yüksek doz melatonin prolaktin ve GH değerlerini yükseltirken, gonadotropin seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir.

Melatonin beyinin elektriksel aktivitesi üzerinde düzenleyici etki göstermekte, uykuyu artırmakta ve derin uyku evresini uzatmaktadır. Depresyon, şizofreni, Parkinson gibi hastalıkların tedavisinde olumlu etkiler göstermektedir.

İmmün yetmezlik mevcut olan durumlarda immün yanıtı artırmakta, ve bunu timüs üzerine olan etkiler ile yapmaktadır. Bu artırıcı etki T helper lenfositler kaynaklı opioid peptidler, lenfokinler ve hipofizer hormonlar aracılığı ile olmaktadır. AIDS hastalarında yapılan bir çalışmada melatonin uygulamasının bazı parametreler üzerine olumlu etkileri tespit edilmiştir.

Kanser gelişimi azalmış melatonin ve azalmış immünite ile birliktelik gösterir. Bazı akciğer, mide ve meme kanseri çeşitlerinde IL-2 ile birlikte melatonin verilmesinin tedaviye katkısı tespit edilmiştir.

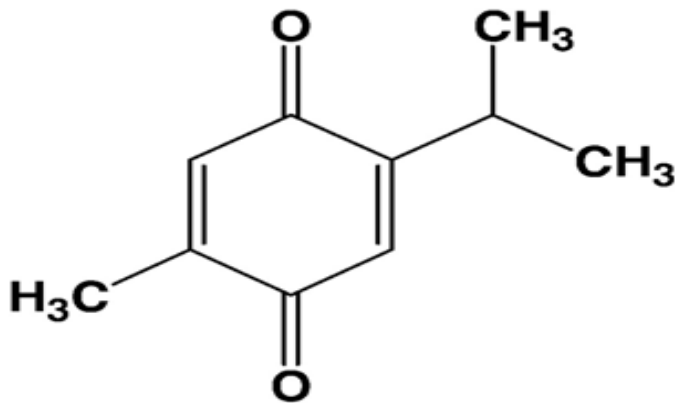
Ek olarak melatoninin lökomotor aktivitede azalma, kış uykusu ve termoregülasyonun düzenlenmesi, glukoz ve enerji metabolizması, karaciğer ve böbrek fonksiyonları, gastrointestinal emilim üzerine etkileri mevcuttur(3, 41-44).

Melatoninin apopitozisi önleyici etkisi mevcuttur. Viral enfeksiyonların tedavisinde, kronik stres durumlarında, cerrahi müdahale ve yaşlılık gibi durumların yol açtığı savunma sistemi zayıflığı üzerine olumlu etkileri mevcuttur(2).

Diğer tedavi edici etki tespit edilen durumlar ise küme tipi baş ağrıları ve kafa travmalarıdır. Kafa travması sonrası gelişen sekonder hasarın ol açtığı nöronal dejenerasyonu azalttığı gösterilmiştir(3).

2.3. Timokinon

Timokinon; *Nigella Sativada*n yani ülkemizdeki adı olan çörek otundan elde edilen uçucu bir yağdır ve antioksidan, antiinflamatuvar, nöroprotektif, hepatoprotektif özelliklere sahiptir(5) (1, 4, 29, 45). Bunun yanında gastroprotektif, antihiperlipidemik etkiler ve kan şekeri regülasyonunda düzenleyici etkilere sahiptir. Çörek otu, *Ranunculaceae* familyasının bir elemanıdır ve ve bu familyadaki bitkilere verilen bir diğer ad ise düğünçiçeğigiller familyasıdır ve bu bitkiler ülkemizde de yetişmektedir. Ülkemizde çörek otu tohumu için siyah tohum, siyah kimyon gibi isimler kullanılmaktadır. Bu tohumun yapısı biyokimyasal olarak incelendiğinde uçucu ve uçucu olmayan yağlar, protein ve aminoasitler, alkaloidler, karbonhidratlar ve bir çok vitamin bulunmaktadır. C vitamini, B vitamini türevleri ve folik asit bu vitamin türlerindedir.



Thymoquinone (TQ)

Şekil 4:Timokinonun kimyasal formülü

Timokinon ise ditimokinon, timol ve timohidrokinona benzer olarak mevcut uçucu yağların yapısında bulunan aktif temel bileşenlerdendir ve uçucu yağ içerisinde %18.4-24 oranında bulunur(5) (6). Timokinon (TQ) biyokimyasal olarak C₁₀H₁₂O₂ (şekil 3), 2-izopropil-5-metil 1, 4-benzokinon şeklinde tanımlanır(5). Son yıllarda yapılan

çalışmalar timokinonun beyinde oksidatif stresle beraber gelişen hasara karşı koruyucu etkilerini desteklemektedir. Bu yararlı etkiyi değerlendirmek için farklı aktivitelerle ilgili olan farklı değerler ölçüt olarak kullanılabilir. Bunlar arasında; lipid peroksidasyonunu gösteren malonildialdehid düzeyi(MDA), protein oksidasyonu ölçütü protein karbonil miktarı(PCC), DNA hasarını gösteren 8-OHdG, SOD, CAT, GSH-Px ve glutatyon S transferaz(GST) gibi hücre içi antioksidan etki gösteren enzimler ve düşük GSH ve vitamin C gibi enzim olmayan antioksidan seviyeleridir(6, 36). Timokinonun antioksidan özelliğini inceleyecek olursak, süperoksit radikallerini ve hidroksil radikallerini içeren rektif oksijen ürünlerine karşı süpürücü özellik gösterdiğini görürüz. Bunu oluşturan mekanizma ise hidroksieikozatetraenoik asit ile 5-lipoksijenaz sentezinin inhibisyonu olarak görülmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda ise timokinonun lipid peroksidasyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Medikal olarak diyabet oluşturularak yapılan bir çalışmada ise ratlarda beyinde ve kalpte oluşan oksidatif stres değerlendirilmiştir ve GST, GSH, CAT gibi değerlerde belirgin düşme görülmüş ve bu durum, oluşan oksidatif stresin nedeni ve göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Çörek otu yağı veya timokinon verildiğinde ise bu düzeylerde anlamlı derecede iyileşme gösterilmiştir(46). Benzer şekilde yapılan hayvan deneyleri vardır. Ratlarda medikal olarak kolit oluşturulmuş ve timokinonun koruyucu etkisi gösterilmiştir ve biyokimyasal olarak bu etki antioksidatif özelliğe bağlanmıştır(47). Etanol ile gastrit oluşturulan bir hayvan deneyi çalışmasında ise timokinon verilen ratlarda MDA seviyesinde azalma, GSH sentezinde artış görülmüş ve ülser indeksinde azalma tespit edilmiştir ve benzer şekilde görülen bu gastroprotektif özelliğin bir nedenide antioksidan etki olarak değerlendirilmiştir(48). İnflamasyon canlılarda iki yol üzerinden işlemektedir. Bu yollar siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri ile meydana gelmekte ve prostaglandinler ve lökotrienler meydana gelmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda TQ un her iki yolağında inhibe ettiği ve bu sayede antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu etkinlikler göz önüne alındığında antiinflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği düşüncesi ön plana çıkmıştır(49-51). Bu enzimlerin etkilerinin baskılanması ile antiinflamatuvar etkinin yanında analjezik ve antiallerjik etkilerin var olduğu düşünülmüştür(52, 53).

2.4. Antioksidatif Etki Göstergeleri

2.4.1. Nitrik Oksit

NO doğada gaz olarak bulunan ve canlılarda ana biyolojik iletici olarak görev yapan bir moleküldür. Özellikle bitkilerde büyüme, gelişme, yaşlanma ve bunlara verilen biyolojik yanıtlara etki eden yollarda sinyal taşıyıcı görevler görür(54-57). L-arjinin aminoasidinden sentezlenir ve sentezinde nitrikoksit sentetaz (NOS) enzimi görev yapar ve sentez olayı merkezi sinir sisteminde gerçekleşmektedir. Yapılan bir çalışma da serebellar hücrelerin glutamat reseptör antagonisti olan NMDA ile uyarılması ile endotelden NO sentezinin arttığı ve bir relaksasyon faktörü olarak işlev gördüğü gösterilmiştir(58, 59). İnsan ve hayvanlarda EAA lerin neden olduğu uyarılar NOS' u aktive eder ve bu aktivasyon NO sentezi ile sonuçlanır, oluşan bu yüksek doz NO iskemiye artırır ve serebral hasara yol açar(60). NO düzeylerinde yükseliş genel olarak stres durumlarına yanıt olarak ortaya çıkar. Bu stres durumu H₂O₂ gibi bazı reaktif oksijen ürünlerinin(ROS) tetiklediği çeşitli yollar sonucunda meydana gelir(54). Kafa travmaları sonrası oluşan sekonder hasarlanmada inflamatuvar yanıtın öneminden bahsetmiştik . Gelişen bu posttravmatik inflamatuvar yanıt sonuç olarak hasarlı dokuların uzaklaştırılmasını amaçlar. Nötrofillerin dokulara yönelmesi ile inflamatuvar mediatörler ve adhesiv moleküller ortaya çıkar, yüzeyel antikoagulan sistemler bozulur, serbest radikaller ve proteazlar açığa çıkar ve endotelial hasarlanma, vasküler hasarlanma, KBB'inde bozulma ve sonuçta beyin ödemi açığa çıkar. NO ise bu süreçler esnasında nörotransmitter etkinlik gösteren, vasküler yapının tonisitesini sağlayan, pıhtılaşmayı sağlayan ve nötrofil göçü ve toplanmasından sorumlu olan etkidir.

TBI sonrası ortama NO sentezleyen bazı enzimler salgılanır. Bunlar endotelial kaynaklı ENOS, nöronal kaynaklı NNOS ve inflamatuvar olaylarda uyarılan İNOS adı verilen enzimlerdir. ENOS travma sonrası bozulan mikrosirkülasyon üzerinde olumlu etkiler gösterirken, NNOS ve İNOS ise meydana gelen serbest radikal oluşumu ve mitokondrial hasar ve DNA yıkımı gibi nedenlerle hücre ölümüne ve oluşacak hasarın artmasına neden olmaktadır(61-63). NO süperoksit anyonu ile reaksiyona girer ve ortaya peroksinitrit adı verilen bir aktif oksijen radikali çıkar(64). Bu toksik molekül hücre zarında hasara, lipid peroksidasyonunda artışa ve sonuç olarak hücre ölümüne sebep

olur(65, 66). NO sinir sistemi, kardiyovaskuler sistem, gastrointestinal sistem gibi bir çok sistem veya organda önemli işlevleri olan bir moleküldür. Günümüzde bu molekülün işlevinin ve etkilerinin tam olarak anlaşılmasına ve aktivatörleri ve inhibitörlerinin tedavi amaçlı kullanılabilirliğinin sağlanmasına yönelik bir çok çalışma yapılmaktadır(67).

Ölçüm yöntemi: Serum örnekleri köre karşı 545 nm'de okundu.

2.4.II. Superoksit Dismutaz (SOD)

Oksijen radikallerini süpürücü olarak görev yapan bir enzimdir ve aynı zamanda reaktif oksijen metabolitlerine karşı temizleyici etkisi ilk tespit edilen faktördür. Süperoksit radikali dismutasyon reaksiyonu adı verilen bir reaksiyonla oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüşür ve bu reaksiyonda ana katalizör olarak SOD görev yapmaktadır (67, 68). Son yıllarda SOD düzeyi ve SOD kodlayan genler üzerine bir çok çalışma yapılmaktadır ve organizma açısından vazgeçilemez önemde bir enzim olduğu belirtilmektedir(69). SOD etkisi ile oluşan hidrojen peroksitin de bazı toksik etkileri mevcuttur ve bunun yanında ortamda demir yada bakır iyonları varlığında süperoksit radikali ile reaksiyona girip hidroksil radikali(OH) oluşumuna neden olabilir ve bu radikal oldukça yüksek bir reaktiviteye sahiptir. Yani direk ve dolaylı bir çok etkisi ile hücre hasarı ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Bu zararlı etkilere sahip hidrojen peroksit ve OH radikalının oluşumlarının ve etkilerinin önlenmesinde ise CAT ve GSH-Px enzimleri rol oynar(70, 71). Yani denilebilir ki SOD, CAT ve GSH-Px antioksidan savunmanın ilk basamağını oluşturan üç ana enzimdir(72, 73). SOD bir metalloenzim gurubudur(74, 75). Mn, Fe veya Cu ve Zn gibi metalleri içermesine göre üç ana guruba ayrılır(76).

Ölçüm yöntemi : Mevcut serum örneklerinin üzerine 0,05 mL ksantin oksidaz ilave edilip, hızlı bir şekilde alt üst edilerek karıştırıldı ve oda ısısında 20 dakika inkübasyona alındı. inkübasyon süresi dolan tüplere bekletilmeden stop solüsyonu olarak 0,1 mL bakır klorür eklendi ve serum örnekleri köre karşı 560nm'de okundu.

2.4.III. Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid(MDA) lipoproteinler ile reaksiyona girebilmektedir ve bu özelliği sayesinde oksidatif stresin derecesini belirlemede kullanılabilir(77). TBI sonrasında ortaya çok miktarda yüksek enerjili fosfatlar çıkar. Bu moleküller önce adenezine dönüşür , sonrasında ise hipoksantin oluşumu, ATP azalması, anaerobik metabolizma ve laktat artışı ve son olarak hücre içi kalsiyum artışı şeklinde sonuçlanan bir süreç gelişir. Sonuç olarak ortamda yüksek miktarda laktat ve MDA oluşur. Bu oluşum mekanizmaları göz önüne alınarak MDA ve laktat miktarı doku hasarının göstergesi olarak değerlendirilmiştir ve MDA iyi bir oksidatif stres belirteci olarak değerlendirilmektedir.. Yapılan çalışmalarda görülmüştür ki, doku laktat ve MDA düzeyleri TBI sonrası hiperakut dönemde yükselmeye başlar ve genellikle bir saat sonrasında en yüksek seviyelere ulaşmaktadır(35). MDA kanda ve idrarda tespit edilebilir. Lipid peroksidasyonu ile, lipid hidroksiperoksitler aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşür. Gelişen bu süreçler sonucu bir son ürün olarak MDA açığa çıkar. Yağ asit oksidasyonunun indikatörü olarak görev yapar, lipid peroksidasyonunun derecesiyle oldukça korelidir. Bu özelliklerinden dolayı biyolojik materyalde MDA ölçümü lipid peroksit düzeylerinin indikatörü olarak değerlendirilir. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu bileşiklerden sonuncusu olan MDA, laboratuvar ortamında tiyobarbitürikasit testi ile ölçülmektedir ve bu yöntemle lipid peroksidasyon düzeyinin saptanması amaçlanmaktadır(78).

Ölçüm Yöntemi: Kapaklı cam deney tüplerine 2,5 ml %10'luk TCA konulduktan sonra üzerlerine 0,5 ml serum ilave edilerek vorteksle karıştırıldı ve mevcut örnekler 532 nm'de köre karşı okutuldu. Kör tüpüne numune yerine 0,5 ml distile su konularak aynı işlemler yapıldı.

2.4.IV. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px hidrojen peroksitlerin indirgenmesinde görevli bir metalloenzimdir. Lipid peroksitleri daha az toksik etkilere sahip yağ asitlerine ve sonrasında katalazla beraber suya indirger. Selenyum bağımlı GSH-Px, H₂O₂ ve hidroperoksitlerin glutasyon ile indirgenme reaksiyonunda görev yapan bir katalizördür(79, 80). Fosfolipid GSH-Px ise hücre membranında ki fosfolipid hidroperoksitleri alkole indirger. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı güçlü antioksidan aktivite gösterir, bunun yanında diğer sistemlerde dahil olmak üzere SOR, peroksitler ve kanserojenlere karşı güçlü bir savunucu olarak aktivite gösterir. Tümörlerle ortaya çıkan H₂O₂ ve peroksitlere karşı gelişen savunmada da GSH-Px aktivitesinde önemli bir artış gerçekleşir. Oksidatif strese neden olan bir faktör varlığında GSH-Px aktivitesinin azalması, hidrojen peroksit seviyesinde artışa ve şiddetli hücre hasarına neden olur(78, 81). GSH-Px solunumla gerçekleşen kimyasal reaksiyonlarda serbest radikallerin fagositik hücrelere vereceği zarara karşı koruyucu etki gösterir. Yapılan çalışmalarda eritrositlerdeki aktivitesi yaşlılarda ve down sendromlularda yüksek bulunurken prematürelere düşük ölçülmüştür. Lökosit formunda ise aktivite düzeyi yaşlı ve hipertansiflerde daha yüksek tespit edilmiştir(82, 83).

Ölçüm yöntemi: Hazırlanan deney tüplerine; 2,650 mL EDTA'lı fosfat tamponu, 0,1 mL redükte GSH, 0,1 mL NADPH, 0,01 mL GSH-Redüktaz, 0,01 mL Na₃N, 0,02 mL numune karışımları hazırlandı sonra deney tüplerine 0,1 mL hidrojen peroksit ilave edilip, 5 dakika boyunca dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede, numunelerin absorbans değerleri kaydedildi.

2.4.V. Protein Karbonil Düzeyi (PCC)

Protein oksidasyonu, direk SOR etkisi ile veya oksidatif stresin sekonder ürünlerinin etkisi ile ortaya çıkan proteoienlerin kovalent modifikasyonudur(84). Hücre hasarının nedeni olan SOR, hücrelerde lipidler, proteinler ve nükleik asitleri hedef alır. Protein karbonil oksidatif stres sürecinde protein peroksidasyonu sonucu açığa çıkar. Oksidatif stresin şiddetini belirlemede; bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ile

karşılaştırıldığında bazı önemli avantajlara sahiptir. Bu avantajlar PCC'nun erken dönemde yükselmesi ve daha uzun süre stabil kalmasıdır(85, 86). Oksidatif stres durumu PCC düzeyinde artışla beraber protein düzeylerinde azalmaya neden olur. PC ürünleri, serbest oksijen radikallerinin prteinlerle etkileşimi ile histidin, prolin, lizin, arjinin gibi aminoasit kalıntıları veya peptid yapılarda ortaya çıkan oksidatif yaralanma sonrası meydana gelir(87, 88). Protein oksidasyonu ve sonuçta oluşan oksitlenmiş protein ürünlerinin birikimi doku hasarının yanında yaşlanmaya da neden olarak gösterilmektedir. Protein oksidasyonunun belirteci olarak gösterilen ve yaşlanma ile arttığı tespit bir çok değer vardır ve PCC bunlardan biridir. Bununla birlikte protein oksidasyonunu yavaşlatacak ürünlerin yaşlanmayı yavaşlattığını ve ömrü uzattığını gösteren çalışmalar vardır(89, 90). Yapılan çalışmalarda protein oksidasyon göstergesi olarak en sık ölçülen ürün PCC'dur. Oldukça duyarlı bir yöntem olmasına rağmen belirli bir aminoasite spesifik değildir (91).

Ölçüm Yöntemi: 0,5 mL serum örneği, 1,5 mL'lik eppendorf tüplerine konularak üzerine 0,5 mL %20'lik TCA eklendi ve vorteksle karıştırıldı. 2,4 dinitrofenilhidrazin ve %20'lik TCA kullanılarak sonuç elde edildi.

2.5. Deneysel Kafa Travması Modelleri

Kafa travmaları sonrası oluşan sekonder hasarın önlenmesi önemli bir koruyucu etken olarak görülmektedir. Türler arasında farklılıklar olsada ihmal edilebilir düzeyde olduğunda anlamlı sonuçlar alınabilmektedir. Bu amaçla yapılan ilk deneysel kafa travması çalışması Gallen tarafından domuzlar üzerinde yapılmıştır ve sonra Denny-Brown ve Russell tarafından bu gün kullanılan modern deneysel beyin hasarı modelleri geliştirilmiştir(92). Sonrasında ise az miktarda sıvının subdural alana enjekte edilmesi şeklinde hasar oluşturulan sıvı perküsyon modelleri, duraya farklı şiddette kuvvetlerin uygulandığı rijid perküsyon modelleri, darbe kullanılarak veya kullanılmadan elde edilen akselerasyon modelleri ve kafa içine sıvı veya kan gibi maddelerin enjeksiyonu ile hematoma vs etkisi oluşturmayı amaçlayan enjeksiyon modelleri geliştirilmiştir(93-96). TBI de yapılan deneysel çalışmalar genel olarak iki amaca hizmet etmektedir. Bunlar, patofizyolojik incelemeler ve tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesidir(97). Günümüzde kullanılan travma modelleri geçmişe kıyasla oldukça gelişmiş ve artık moleküler düzeyde incelemeler yapılabilecek şekilde tasarlanmaktadır(98). Deney için kullanılacak model seçiminde dikkat edilmesi gereken bazı hususlar şunlardır; uygulanacak kuvvet kontrol edilebilmeli, tekrarlanabilmeli ve ölçülebilir olmalıdır, oluşacak hasar insan travması sonrası oluşacak etkilerle benzerlik göstermelidir, ölçülen parametrelerin uygulanan kuvvetle orantılı olması gerekmektedir ve gelişen hasarın etkilerinin tahmin edilebilir olması gerekmektedir(99). Ayrıca uygulanan mekanik kuvvetin şiddet, süre, hız ve ivme gibi özelliklerine göre kafa travması modelleri sınıflandırılabilir. Bunlar sadece kuvvetin şiddet ve süresinin önemli olduğu statik modeller ve bu faktörlerin hepsinin birden göz önüne alındığı dinamik modellerdir. Dinamik modeller vuruşlu direk etkili, vuruşsuz direk etkili ve indirek dinamik modeller gibi gruplara ayrılabilir. Ağırlık düşürme, sıvı darbeli hasar ve korteks kontrollü hasar gibi bir çok teknik kullanılabilen ve patolojik, fizyolojik ve farmakolojik çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda sıçan, tavşan, köpek ve domuz gibi hayvanlar kullanılabilir. Ağırlık düşürme modelleri günümüzde oldukça yaygın kullanılmaktadır. Deney hayvanı düzeneğe sabitlenmekte ve ya kafatasına kuvvet uygulanmakta, yada kuvvet uygulanacak kafatası kemiği kaldırılarak direk beyin üzerine belirli bir yükseklikten ağırlık düşürülmektedir ve bu şekilde beyin

dokusunda hasar oluşumu amaçlanmaktadır. Oluşan bu hasarlar ödem, hücresel düzeylerde bozulma, mikrodolaşımın bozulması ve oksidatif stres gibi histopatolojik ve fizyolojik patolojilerdir. Yapılan çalışmalar gelişen bu etkilerin tespiti ve hasarın azaltılması üzerine odaklanmaktadır(100, 101).Bizde bu çalışmamızda antioksidan ve nöroprotektif etkinlikleri bilinen melatonin ve çörek otu yağından elde edilen ve benzer etkinlikleri üzerinde mevcut araştırmalar olan timokinonun TBI sonrası gelişecek sekonder hasara karşı etkinliklerini biyokimyasal olarak belirlemeyi amaçladık.



3.MATERYAL ve METOD

3.1. Genel Bilgiler

Travmatik Beyin Hasarında Timokinon ve Melatoninin Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması başlıklı çalışmamız Gaziosmanpaşa Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 2015 HADYEK-30 nolu proje olarak onay almıştır.

Deneylerde yaklaşık 200-300 gram ağırlığında yaklaşık 3 aylık Albino-Wistar cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Rastgele seçilen sıçanlar bir grupta 7 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu(grup I), travma grubu(grup II), travma+timokinon grubu(grup III) ve travma+melatonin grubu(grup IV) şeklinde gruplandırıldı. Gazi Osman Paşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden sağlanan hayvanlar, kontrollü sıcaklık ($21\pm 10C$) ve ışık (12 saat aydınlık / 12 saat karanlık) ortamında tutuldu. Sıçanlar standart pelet yem ve musluk suyu ile kısıtlamasız beslendi.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan hayvan grupları ve ilaç dozları: Çalışmada dört grup sıçan kullanıldı (n=7). Çalışmada tedavi amaçlı uygulanan melatonin ve timokinon dozları daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak belirlendi.

gruplar	doz	ilaç uygulaması
Kontrol (grup I)	Uygulanan ilaç hacmi kadar sf	i.p. travma sonrası tek uygulama
Travma (grup II)	Uygulanan ilaç hacmi kadar sf	i.p. travma sonrası tek uygulama
Travma+timokinon (grup III)	50 mg/kg	i.p. travma sonrası tek uygulama
Travma+melatonin (grup IV)	10 mg/kg	i.p. travma sonrası tek uygulama

Tablo 3:İlaç uygulamaları

3.2. İlaç Hazırlanış ve Şekli

Tedavi gruplarına timokinon ve melatonin enjekte edildi. Timokinon 100 mg 2 ml zeytin yağı ve 3 ml serum fizyolojik içinde çözünerek 50mg/kg olacak şekilde ip enjekte edildi. 10 mg melatonin % 0,5 lik alkol içeren serum fizyolojik içerisinde çözüldü (1 ml) ve 10mg/kg olacak şekilde ip olarak verildi. Kontrol gruplarına ise herhangi bir ilaç verilmedi.



Resim 1(230 mg lık ağırlık ve anestezi hazırlığı)

3.3. Deneysel Kafa Travması Modeli

Çalışmada Feeney ve arkadaşlarının 1981 yılında geliştirdiği künt kafa travma modeli modifiye edilerek kullanıldı(resim1-2). Albino-Wistar cinsi 28 sıçan yedişerlik 4 gruba ayrıldı. Grup I'e herhangi bir işlem yapılmazken, diğer gruplar 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin ip enjekte edilerek anestezi altına alındı. Bregma noktası referans alınarak düşen ağırlık tam kafa tasına gelecek şekilde streotaksik düzeneğe yerleştirildi ve 150 cm yükseklikten 230 mg ağırlık serbest düşme ile kafa taşı hedeflenerek bırakıldı. Vuruşların ardından 30 dakika sonra ilaç enjeksiyonları yapıldı. Bu işlem anesteziden çıkıncaya kadar homeotermik battaniye üzerinde bekletilerek takip edilen sıçanlar daha sonra kafeslerine geri konuldu.



Resim 2(deneysel kafa travması modelinin modifiye edilerek, anestezi altındaki albino-wistar cinsi sıçanın kafa travması oluşturulacak şekilde düzeneğe yerleştirilmesi)

3.4. Kan Tahlillerinin Alınışı

Travma sonrası 24 saat takip edilen ve stabilite sağlanan hayvanların tekrar Ketamin (50mg/kg) Ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altına alındı ve enjektör yardımıyla kalplerinden kan örnekleri alındı ve eksanguinasyon yöntemi ile deney sonlandırıldı.(resim 3) Kan örnekleri santrifüj edilip serumları elde edildikten sonra, oksidan ve antioksidan parametrelerin çalışılacağı güne kadar -80 C° de depolandı. Daha sonra Gazi Osman Paşa Üniveristesi Tıp Fakültesi Hastanesi biyokimya laboratuvarında çalışıldı. Ölçümler spektrometrik olarak yapıldı. Çalışılan serum örneklerinde MDA, SOD, NO, GSH-Px ve Protein karbonil düzeyleri belirlendi.

3.5. İstatiksel Analiz

Laboratuar çalışması ile elde edilen veriler IBM-SPSS 20.0 programıyla analiz edildi . Bütün değerler ortalama \pm standart hata şeklinde analiz edildi. $P<0.05$ istatistik olarak anlamlı kabul edildi. Travma(grup II), timokinon(grup III) ve melatonin(grup IV) grubunun karşılaştırılmasında ölçülen değerler, bir nonparametrik test olan Kruskal Wallis Testi ile analiz edildi. Timokinon ve melatonin tedavisi verilen grupların karşılaştırılmasında ise Mann Whitney U Testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Yaptığımız çalışma sırasında 1 adet sıçan anestezi amaçlı ketamin ip verilmesi sonrası ex aldı. Yine deneysel kafa travması sonrası 1 adet travma grubundan ve 1 adet timokinon verilen gruptan olmak üzere 2 adet sıçan travma sonrası epistaksis ve bunun sonucunda gelişen solunum yetmezliği sonrası ex oldu. Bunun dışında kalan ve kafa travması gerçekleştirilen sıçanlarda parsiyel ve jeneralize nöbetler izlendi. Gelişen bu klinik süreçler intrakraniyal hasar göstergesi olarak değerlendirildi.

	gruplar												X ²	p
	Kontrol Grubu(I)			Travma(II)			Timokinon(III)			Melatonin(IV)				
	n	Ortalama	Standart Sapma	n	Ortalama	Standart Sapma	n	Ortalama	Standart Sapma	n	Ortalama	Standart Sapma		
sod	8	8,24	3,26	9	4,69	1,83	9	6,08	1,61	10	9,61	5,11	7,657	0,054
mda	8	6,85	,68	9	8,41	4,39	9	8,29	4,63	10	6,87	2,66	2,680	0,444
gshpx	8	560,32	52,72	9	387,51	145,86	9	398,71	74,39	10	426,21	74,46	13,133	0,04
no	8	45,65	7,98	9	38,17	4,26	9	39,17	5,52	10	42,76	2,59	8,081	0,044
pcc	8	232,59	83,78	9	237,70	64,76	9	183,64	58,19	10	230,29	48,06	3,145	0,370

Tablo 4: denek gruplarının biyokimyasal parametrel açısından istatistiksel analizi

Gshpx değişkeni için gruplar arası farklar:

Kontrol grubu ile Travma Grubu arasındaki farktan (p=0,044)

Kontrol grubu ile Timokinon Grubu arasındaki farktan (p=0,01)

Kontrol grubu ile Melatonin Grubu arasındaki farktan (p=0,02)

No değişkeni için gruplar arası farklar:

Kontrol grubu ile Travma Grubu arasındaki farktan (p=0,007)

Kontrol grubu ile Timokinon Grubu arasındaki farktan (p=0,017)

Travma sonrası klinik takibinde stabil seyreden travma gruplarından ve kontrol grubundan alınan kan örnek sonuçları istatistiksel değerlendirildi. Ölçülen SOD, MDA, GSH-Px, NO, PCC değerleri her grup için ayrı ayrı karşılaştırıldı. GSH-Px ve NO değerlerinde; kontrol grubu(grup I) ile karşılaştırıldığında hem travma oluşturulan tedavi verilmeyen sıçanlarda(grup II), hem travma sonrası timokinon tedavisi verilen grupta(grup III) ve hemde travma sonrası melatonin tedavisi verilen grupta(grup IV) anlamlı değişiklikler izlendi($p<0.05$).

Ölçülen SOD, MDA ve PCC değerlerinde oluşan değişiklikler her bir grup için ayrı ayrı kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı($p<0.05$) ölçülmedi(tablo 2).

Grup III ve Grup IV, GSH-Px ve NO parametrelerindeki değişiklikler açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık saptanmadı($p>0.05$). Sonuç olarak nöroprotektif etki açısından ve oksidatif stres azaltıcı etki açısından timokinon ve melatonin tedavisinin birbirlerine üstünlüğü olmadığı görüldü.(tablo 4)

Grup II ile grup III ve grup IV ; ölçülen SOD, MDA, PCC değerleri açısından karşılaştırıldığında elde edilen değerler istatistiksel olarak anlamlı değildi($p>0.05$). Bu durum ise ölçülen bu enzim ve son ürün göstergelerinin hiç birinin; hem hasarın düzeyini göstermede, hemde verilen timokinon veya melatonin tedavisinin etkinlik düzeyini belirlemede yeterli ve güvenilir olmadığını gösterdi.(tablo 5)

	gruplar									X^2	p
	Travma(II)			Timokinon(III)			Melatonin(IV)				
	n	Ortalama	Standart Sapma	n	Ortalama	Standart Sapma	n	Ortalama	Standart Sapma		
sod	9	4,69	1,83	9	6,08	1,61	10	9,61	5,11	5,440	0,066
mda	9	8,41	4,39	9	8,29	4,63	10	6,87	2,66	1,938	0,379
gshpx	9	387,51	145,86	9	398,71	74,39	10	426,21	74,46	0,651	0,722
no	9	38,17	4,26	9	39,17	5,52	10	42,76	2,59	5,676	0,059
pcc	9	237,70	64,76	9	183,64	58,19	10	230,29	48,06	3,224	0,199

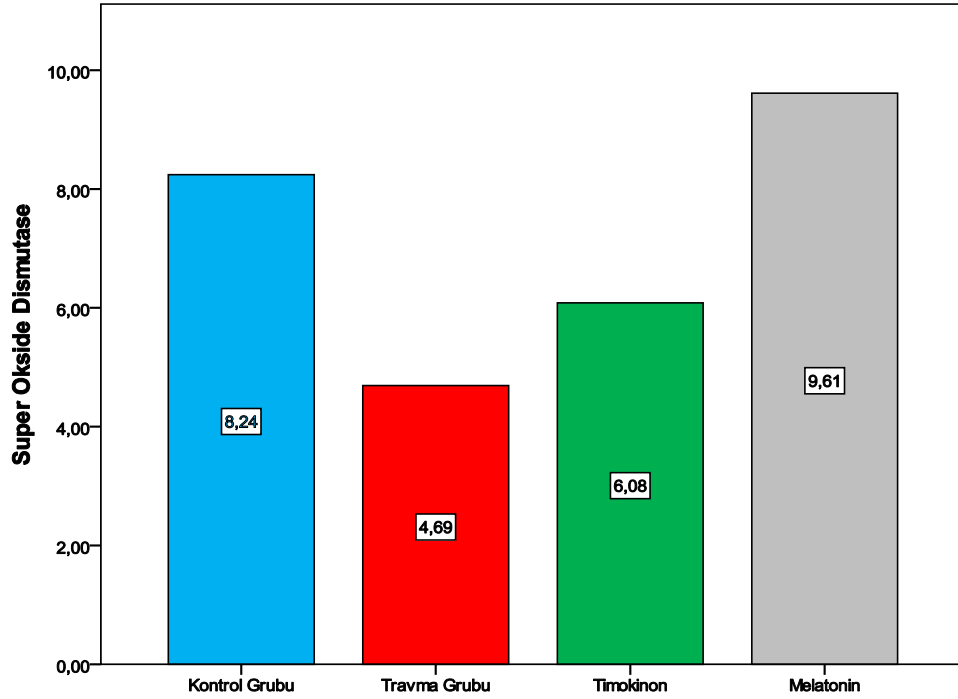
Tablo 5 (P:Kruskal Wallis Testi)

Travma grubu , travma sonrası timokinon verilen grup ve travma sonrası melatonin tedavisi verilen grup kendi arasında karşılaştırıldığında ölçülen bu beş parametrede de istatistiksel olarak anlamlı değişiklik görülmemesi ölçtüğümüz bu enzim ve ürün düzeylerinin değerlendirme açısından yol gösterici olsada yeterli olmadığını düşündürdü

	gruplar						Z	p
	Timokinon(III)			Melatonin(IV)				
	n	Ortalama	Standart Sapma	n	Ortalama	Standart Sapma		
sod	9	6,08	1,61	10	9,61	5,11	1,502	0,133
mda	9	8,29	4,63	10	6,87	2,66	1,144	0,253
gshpx	9	398,71	74,39	10	426,21	74,46	0,613	0,540
no	9	39,17	5,52	10	42,76	2,59	1,234	0,217
pcc	9	183,64	58,19	10	230,29	48,06	1,551	0,121

Tablo 6 (Mann Whitney U Testi)

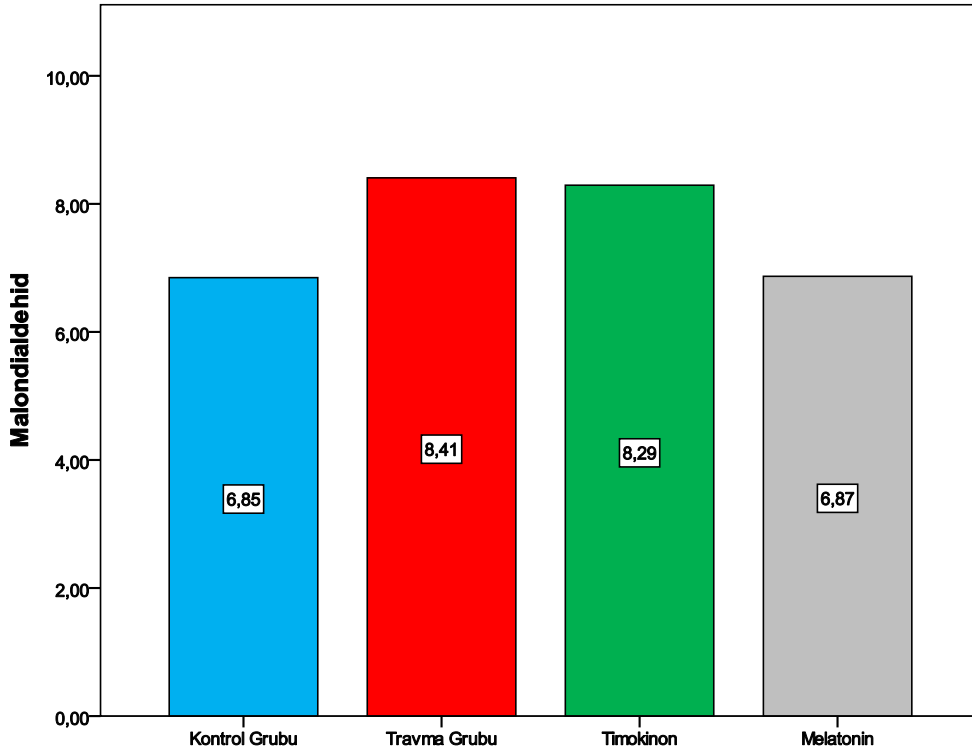
Ölçülen tüm parametreler açısından travma sonrası melatonin tedavisi verilen grup ve travma sonrası timokinon verilen grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik tespit edilmedi. Kontrol grubu ile yapılan karşılaştırılmada anlamlı değerler elde edilen NO ve GSH-Px değerlerinin bu iki grup arasında ayrıca yapılan karşılaştırmada anlamlı görülmemesi timokinon tedavisi ve melatonin tedavisinin birbirine üstünlüğü olmadığı şeklinde yorumlandı.



şekil 5

Ölçülen ortalama SOD enzim düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

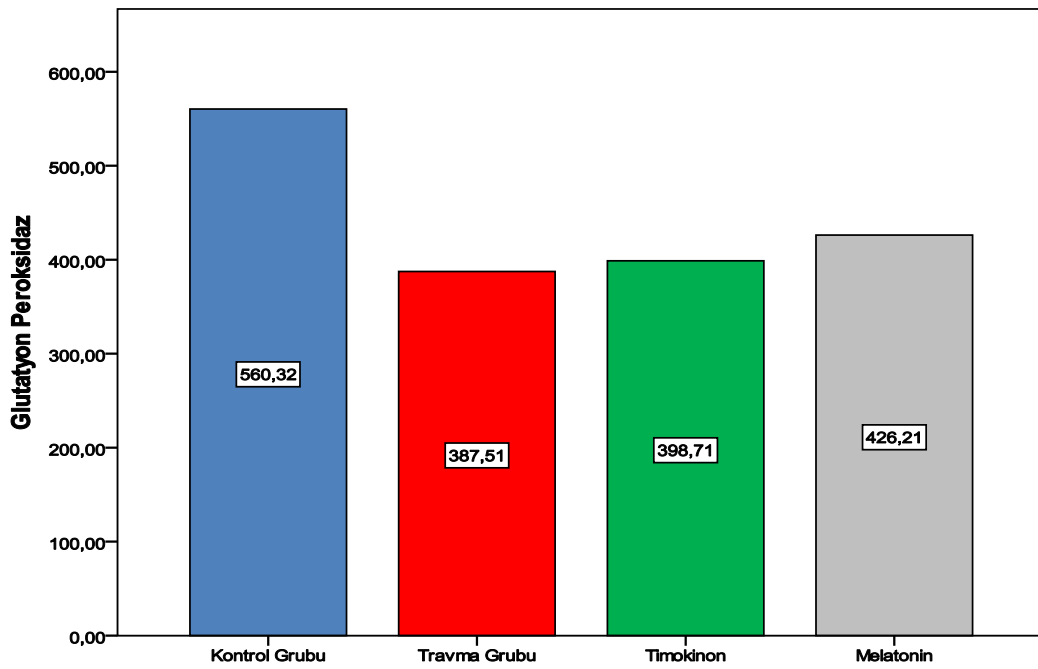
SOD için ölçülen ortalama değerler göz önüne alındığında travma grubunda bariz düşüş görülmesine rağmen melatonin grubunda daha belirgin olmak üzere timokinon grubunda da yükselme olması timokinon ve melatonin oksidatif strese karşı etkinliğinin göstergesi olarak düşünüldü. İstatistiksel olarak anlamlı ölçülmemesi ise kontrol grubundaki standart sapma değerinin yüksek olmasına bağlandı. Bu durum tedavi açısından her ne kadar umut verici olsada daha geniş kapsamlı ve daha kalabalık hayvan grupları ile yapılması gereken çalışmalara olan ihtiyacı ortaya koydu.



Şekil 6

Ölçülen ortalama MDA düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

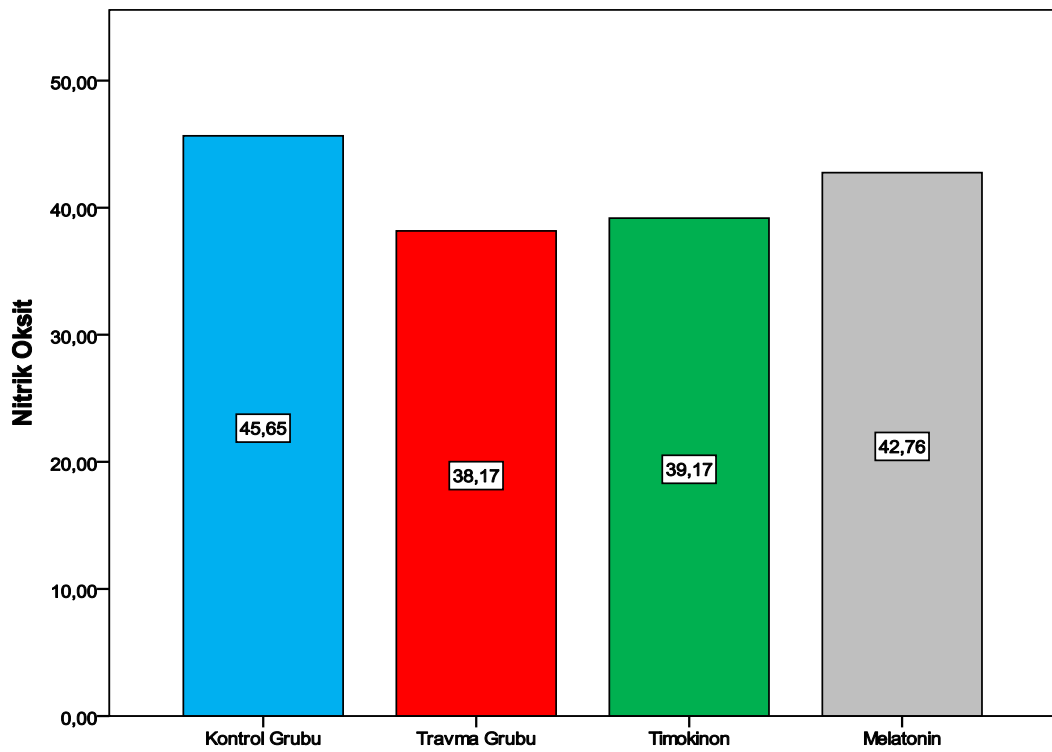
Bir son ürün olan ve hasarın göstergesi olduğu belirtilen MDA düzeyinde travma grubunda oluşan yükselme ve tedavi gruplarında oluşan düşüş minimal düzeyde oldu ve ölçülen değerler istatistiksel olarak hiçbir grupta anlamlı değildi. Bu durum MDA değerinin hasarın şiddetini tespitite ve tedavinin etkinlik düzeyini takipte güvenilir bir parametre olmadığını düşündürdü.



Şekil 7

Ölçülen ortalama GSH-Px enzim düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

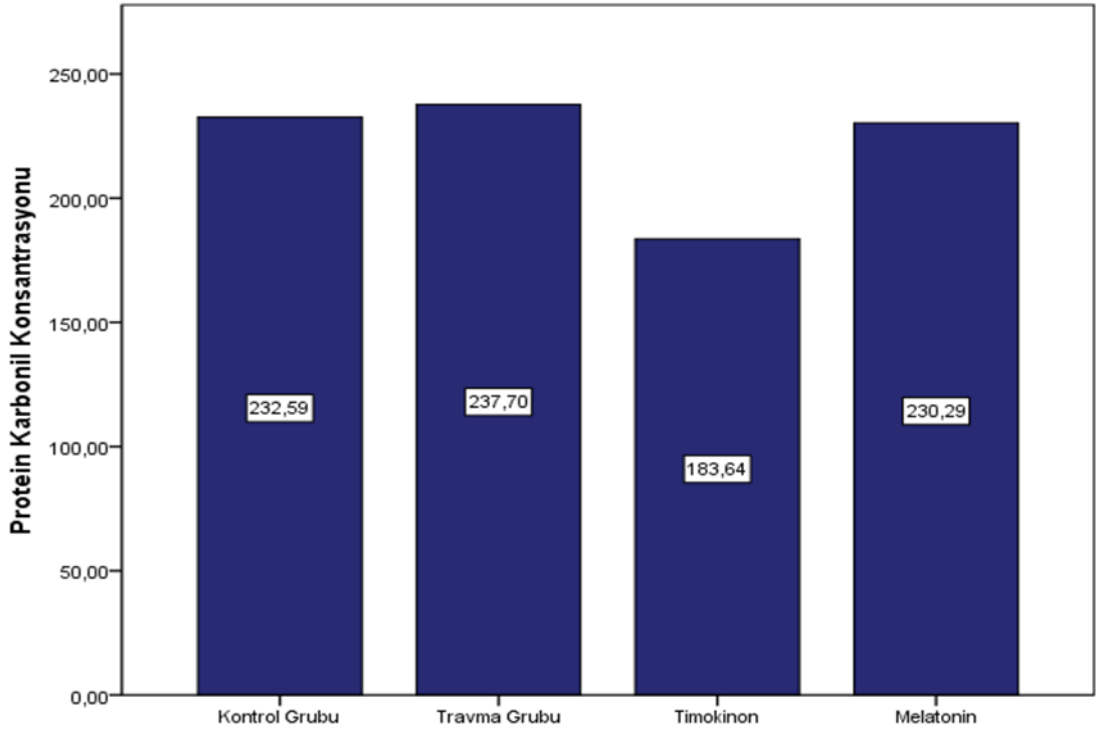
Travma grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ölçülen GSH-Px düzeyinde düşüş olması bu enzim düzeyinin travma sonrası oluşan hasarı göstermede güvenilir bir parametre olarak görülebileceği şeklinde yorumlandı ve her iki tedavi grubunda da görülen anlamlı yükseliş tedavi ve takip açısından yol gösterici olduğunu ve timokinon ve melatoninin oksidatif stresi azaltıcı etkisini ve birbirleri arasında bariz bir üstünlük olmadığını gösterdi.



Şekil 8

Ölçülen ortalama no düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

NO düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde her iki tedavi grubunda da anlamlı değişiklik gösterildi. ($p < 0.05$) Bu durum travma sonrası oluşan sekonder hasarın önlenmesinde antioksidan özellik gösteren timokinon ve melatoninin olumlu etkilerine kanıt olarak gösterildi.



Şekil 9

Ölçülen ortalama PCC düzeylerinin gruplar arası grafiksel karşılaştırılması

Ölçülen PCC düzeyleri değerlerinde travma grubunda belirgin yükseliş olmaması bir protein peroksidasyon ürünü olan protein karbonilin bizim çalışmamızda anlamlı bir hasar göstergesi olarak gösterilememesine sebep oldu. Ancak protein karbonilasyonu; multipl nöropatolojilerde görülen oksidatif strese iyi dökümante edilmiş ve ölçülebilir bir indikatördür. Timokinon verilen grupta görülen grafiksel düşüş istatistiksel olarak anlamlı ölçülmesede bu konuda daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiğini gösterdi.

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüz modern tanı ve tedavi yöntemlerine rağmen, hala kafa travmalarına bağlı ölümler ve sakatlıklar önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır(101). İnsanda ki kafa travmasının primer ve sekonder sebeplerini araştırmak ve insan beyni mevcut sinir hasarını onarmaya yönelik çeşitli tedavi yöntemlerini geliştirmek için kafa travması hayvan modelleri yapılmaktadır(102). Deneysel kafa travmaları kullanılan metod açısından çeşitli kategorilere ayrılmıştır. Buna örnek olarak Denny-Brown Russell'in çalışmalarıyla elde etmiş olduğu akselerasyon, konküzyon ve perküsyon-konküzyonşeklinde olan kategorizasyon gösterilebilir(103).

Melatoninin; kafa travması sonrası gelişen sekonder hasarın yol açtığı nöronal dejenasyonu azalttığı gösterilmiştir(3).

Timokinon ve melatonin travma sonrası oksidatif stresi azaltarak, serbest oksijen radikallerinin temizlenmesine yardımcı olarak, lipid peroksidasyonu ve protein peroksidasyonunun yol açtığı zararlı etkileri azaltarak gelişecek sekonder hasara karşı nöroprotektif etki gösteren iki maddedir(104) (2). Melatonin etkinliği konusunda bir çok çalışma yapılan bir madde olmasına rağmen, çörek otu tohumu yağından elde edilen timokinon daha yeni ve etkinliği konusunda halihazırda çalışmalar yapılan bir maddedir. Bizim çalışmamızda da Feeney ve arkadaşları tarafından geliştirilen kafa travması modeli modifiye edilerek seçilen sıçan gruplarında künt kafa travması oluşturuldu ve sonrasında gelişen klinik bulgular gözlendi. Deneklerden alınan kan örneklerinden sekonder hasarın şiddeti hakkında bize fikir verecek ve daha önceki çalışmalarda parametre olarak kullanılabileceği gösterilmiş bazı enzim ve enzim olmayan faktörler ile bazı son ürün düzeyleri çalışıldı ve çıkan sonuçlar karşılaştırıldı. Çalışılan bu parametreler SOD, GSH-Px, NO, MDA ve PCC düzeyleri idi.

Melatoninle yapılan bir çalışmada kafa travması sonrası dokularda lipid peroksidasyonun arttığı belirtilmiş ve artmış MDA düzeyleri bunun belirteci olarak tanımlanmıştır(105). Kerman ve arkadaşları yaptıkları kafa travması çalışmasında melatonin tedavisinin serebral oksidatif stresi azalttığı ve serum MDA düzeylerinde

anlamli düşüŖe neden olduğunu göstermişlerdir(106). Benzer bir çalışmada Çırak ve arkadaşları da aynı etkileri tanımlamıştır(105). Beni ve arkadaşları ise yapmış oldukları çalışmada sekonder hasarın nedenini reaktif oksijen radikalleri olduğunu ve melatoninin serebral antioksidanları indükleyerek nöroprotektif etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir(2). Peri ve arkadaşları melatonin ile vitamin E ve vitamin C'yi karşılaştırmış ve serbest radikal tutucu olarak melatonin çok daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir(107). Akbulut ve arkadaşları ise eksojen verilen melatoninin serbest radikal tutucu etkisi ile beraber, yaşlanmayla ortaya çıkan lipid peroksidasyon ürünlerini azalttığını göstermişlerdir(108). Yapılan bir çalışmada ise travma sonrası serebral kontüzyon ve ödem takip edilmiş gece melatonin verilen grupta kontüzyonun azaldığı, gündüz verilen grupta ise herhangi bir değişiklik olmadığını gösterilmiş ve ışıkla olan ilgisine dikkat çekilmiştir(109). Koçak ve Çolak ise çalışmalarında melatonin beynin elektiksel aktivitesini düzenlediğinden, antiepileptik etkisinden ve uyku düzenleyici etkisinden bahsetmişlerdir. Travma modeli oluşturularak yapılan bir çalışmada ise pinealektomize olan ve olmayan sıçanlarda sekonder hasar düzeyi karşılaştırılmış ve pinealektomize sıçanlarda hasarın belirgin derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir(3). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise travma modeli oluşturulmuş ve travma sonrası sabaha karşı 03:00-04:00 sularında melatonin verilen sıçanlarda(melatonin etkinliğinin en yüksek olduğu dönem) oksidatif stresin, lipid peroksidasyonun ve protein peroksidasyonunun göstergesi olan parametreler çalışılmıştır. NO ve GSH-Px değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı değişiklikler gösterilmiştir ve bu değişiklikler melatoninin reaktif oksijen radikal süpürücüsü özelliğinin, oksidatif stresi azaltıcı etkisinin ve sonuç olarakta nöroprotektif etkisinin kanıtı olarak değerlendirilmiştir. Yapılan birçok çalışmada MDA üzerine olan azaltıcı etkisinden bahsedilmesine rağmen bizim çalışmamızda MDA değerlerinde anlamlı değişiklik olmamış ve lipid peroksidasyonunu azaltıcı etki gösterilmemiştir. PCC düzeylerinde anlamlı değişiklik olmaması protein peroksidasyonu üzerine bir etkisi olmadığını bu çalışmada görmekteyiz.

Timokinon çörek otu tohumu yağından elde edilen ve birçok sistem üzerine yararlı ve koruyucu etkilerinden bahsedilen antioksidan özellikli bir maddedir. Geleneksel tıp alanlarında ülkemizde dahil bir çok coğrafyada halihazırda kullanıldığı bilinmektedir.

Bilimsel çalışmalar açısından ise daha günceldir ve yapılmakta olan birçok çalışma olsa da mevcut çalışma sayısı kısıtlıdır. Nöroprotektif etkisinden, serebral oksidatif stresi azaltıcı etkisinden bahseden çalışmalar bulunmaktadır.

İskeminin, travmanın ve benzeri birçok biyokimyasal hasar oluşturan nedenin yol açtığı etkileri önlemeye yönelik olarak timokinon tedavisi denenilen bir çok çalışma vardır. Al Majed ve arkadaşları serebral iskemi üzerine olan etkiyi değerlendirmek amacıyla yapmış oldukları bir çalışmada serebral iskemi sonrası hipokampüsteki SOD ve katalaz aktivitesinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşme olduğunu, timokinon tedavisi sonrası ise her iki enzim seviyesinde anlamlı artış olduğunu göstermişler ve bu durumu nöroprotektif etkinin delili olarak belirtmişlerdir(4). Beyin hasarı sonrası verilen timokinonun artan nöronal hücre ölümünü önemli derecede azalttığı belirtilmiş ve hasar sonrası artan MDA düzeyinin tedavi sonrası ciddi derecede düşmesi ve azalan SOD, CAT ve GSH aktivitelerinin ise normale dönmesinin bu nöroprotektif etkinin göstergesi olduğu düşünülmüştür. Timokinon tedavisinin demir-askorbat tarafından indüklenen nonenzimatik lipid peroksidasyonu üzerinde inhibe edici etkisi tanımlanmıştır (110). Beyin hasarına neden olan en kritik nedenlerden biride meydana çıkan reaktif oksijen ürünleridir. Yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ki her hangi bir nedene bağlı olarak gelişen hasar sonucu lipit peroksidasyonunda ve oluşan reaktif oksijen ürünlerinde anlamlı artışlar olmaktadır(111). Verilen antioksidan tedavinin bu zararlı ürünlere karşı süpürücü etkinlik gösteren elemanlarda artışa neden olduğu gösterilmiştir. Gülşen ve arkadaşları yapmış oldukları kafa travması çalışmasında beyin dokularında MDA, SOD, GSH-Px ve oksidatif DNA hasar düzeylerini ölçmüşler; travmalı grupta MDA düzeylerinin sham ve timokinon tedavisi alan gruba göre anlamlı derece arttığını, sham ve timokinon tedavisi verilen grupta ise anlamlı farklar olmadığını tespit etmişlerdir. SOD ve GSH-Px düzeyinde ise travma ve timokinon tedavi grubunda anlamlı fark olmamıştır. Oksidatif DNA hasarı ise travmalı grupta anlamlı derecede artmış ve timokinon tedavisi verilen grupta ise travma grubuna göre bariz düşüş görülmüştür ve bu durumda denilebilir ki; timokinon, SOD ve GSH-Px düzeylerini etkilemese de MDA düzeyinde anlamlı düşüş sağlanması ve oksidatif DNA hasarını azalttığı için nöroprotektif etkinliğe sahiptir. Çıkan sonuçlarda ki kafa karıştırıcı durum ise bu çalışmanın bu konuda yapılan ilk çalışma olmasına bağlanmıştır ve daha

fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu yönünde değerlendirilmiştir(1). Bizim çalışmamızda da timokinon verilen grupta kontrol grubuna ile karşılaştırıldığında GSH-Px düzeyinde anlamlı düşüş olması ve NO düzeyinde anlamlı değişiklik olması oksidatif stres azaltıcı etki lehine yorumlanmış ve diğer parametrelerin anlamlı çıkmaması ise daha geniş çalışma gruplarında yeni çalışmalar yapılmasının gerekliliğini göstermiştir. Sheikh ve arkadaşları ise yapmış oldukları deneysel subaraknoid kanama çalışmasında serebral oksidatif stresin göstergesi olabilecek parametreleri araştırmışlar ve stres sonrasında MDA ve PCC düzeylerinde anlamlı artış olduğunu SOD, CAT, GSH-Px ve GST enzimlerinin aktiviteleri ile GSH ve vitamin C düzeylerinde düşüş tespit etmişlerdir. Timokinon tedavisi verilen grupta ise bu parametlerde zıt yönde anlamlı değişiklikler olduğunu göstermişlerdir(6). Elde edilen bu sonuçlar göz önüne alındığında bir antioksidan olarak işlev gören timokinonun travma sonrası meydana gelen sekonder hasarı sınırlamada etkili olacağı sonucuna varılmıştır. Başka bir çalışmada ise TBI dünya genelinde sakatlık ve morbiditenin önemli bir nedeni olarak belirtilmiş ve travma sonrası erken dönemde ortaya çıkan primer hasarın yanında daha sonra ortaya çıkan biyokimyasal süreçlerle meydana gelen ve nörolojik bozukluğu artıran sekonder hasara dikkat çekilmiştir. Parankimal inflamasyon, serbest radikal üretimi, intraselüler kalsiyum artışı, lipid peroksidasyonu ve NO üretimi gibi durumlar bu biyokimyasal süreçler olarak sayılabilir(112). Başka bir çalışmada ise süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest oksijen radikalleri oksidatif stresin ve sekonder hasarın önemli bir nedeni olarak gösterilmiştir. Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun; serbest oksijen radikallerinin hücrel defans kapasitesini yendiğinde ortaya çıktığını belirtmişlerdir(113). Hücrel defans mekanizmalarının ana faktörleri eksojen ve endojen faktörlerdir. Endojen antioksidan sistem ise SOD, GSH-Px ve CAT'dan oluşmaktadır(114). Timokinon tedavisinin etkinliğinin ise oksidatif stresin azaltılması ve oluşan biyokimyasal süreçler sonucunda oluşan zararlı son ürünlerin düzeyinde azalma ve serbest radikal süpürücü olarak görev gören enzim aktivitelerinde artış şeklinde olduğu görülmektedir.

Bizim çalışmamızda NO ve GSH-Px düzeylerinde görülen anlamlı değişiklikler ve elde edilen verilerin hem melatonin hem timokinon için benzer olması nöroprotektif etkinliğin kanıtı olarak değerlendirildi. TBI sonrası oluşacak sekonder hasara karşı bu

her iki tedavinin birbirine üstünlükleri olmadığı şeklinde yorumlandı. Birçok çalışmada parametre olarak kullanılan ve önemi vurgulanan MDA düzeyinde ise hem travma grubunda, hemde travma+timokinon ve travma+melatonin gruplarında anlamlı değişiklikler olmaması, bu parametrenin hasar göstergesi olarak kullanılabilirliği konusunda şüphe oluşturdu. GSH-Px enzimi ile benzer mekanizmalarla etkinlik gösterdiği bilinen ve oksijen radikal süpürücüsü olan SOD enzim düzeylerinde travma ve tedavi gruplarının hiçbirinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı değişiklikler görülmemesi; bir parametre olarak GSH-Px düzeyinin daha anlamlı olduğunu gösterdi. Protein peroksidasyon düzeyinin belirteci olan PCC değerlerinde travma ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemesine rağmen, timokinon tedavisi alan grupta PCC düşüklüğü sekonder hasara bağlı protein peroksidasyonunun önlediğini göstermektedir. Çalışmamızda travma grubunda PCC'nin kontrol grubuna göre artış göstermemesi bizim çalışmamızda kısıtlayıcı faktör olarak görülmüştür. Bu nedenle daha geniş ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak timokinon ve melatonin TBI sonrası gelişecek sekonder hasara karşı nöroprotektif etkinlik göstermektedir. Her iki maddede de biyokimyasal parametreler açısından benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır ve birbirlerine karşı üstünlükleri yoktur denilebilir. Oksidatif stresin ve serebral hasarın düzeyini ölçmede ve tedavi etkinliğini belirlemede NO ve GSH-Px düzeyleri daha anlamlı parametrelerdir. Hem timokinonun, hem melatoninin tedavi amaçlı kullanımı için, hem de hasarın şiddeti ve tedavinin etkinliğini belirleyici en doğru parametrelerin tespiti için yeni ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.KAYNAKLAR

1. Gülşen İ, Ak H, Çölçimen N, Alp HH, Atalay T, Demir İ, et al. Neuroprotective Effects of Thymoquinone on The Hippocampus in A Rat Model of Traumatic Brain Injury. World neurosurgery. 2015.
2. BELEN D. Kafa Travması ve Melatonin.
3. Koçak A, Çolak A. Melatonin ve santral sinir sistemi. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi. 1996;3(3).
4. Al-Majed AA, Al-Omar FA, Nagi MN. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. European journal of pharmacology. 2006;543(1):40-7.
5. GÜLLÜ EB, Gülcan A. Timokinon: Nigella sativa'nın Biyoaktif Komponenti. Kocatepe Veterinary Journal. 2013;6(1).
6. Sheikh BY, Mohamadın AM. Thymoquinone a potential therapy for cerebral oxidative stress. Asian Journal of Natural and Applied Sciences. 2012;1(2):76-92.
7. Düz E. Deneysel kafa travması modelimde insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre naklinin ve nimodipinin beraber kullanımının serabral doku iyileşmesi ve nörolojik fonksiyonlara etkisi: Pamukkale Üniversitesi; 2011.
8. Erbenği A. History and development of neurosurgery in Anatolia (part one). Turk Neurosurg. 1993;3:1-5.
9. Demir H, Ecmel Onur Ö, Altınok Denizbaşı A. The role of inflammatory cytokines in traumatic head injury. 2012.
10. Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness: a practical scale. The Lancet. 1974;304(7872):81-4.
11. Çökük A, Kozacı N, Ay MO, Açıkalin A, Seviner M, Satar S. Acil Servise Başvuran Kafa Travması Olgularının Değerlendirilmesi. Cukurova Medical Journal. 2013;38(1).
12. Hasan Serdar I, BOSTANCI U, YILDIZ Ö, ÖZDEMİR C, GÖKYAR A. Kafa travması nedeniyle tedavi edilen 954 erişkin olgunun retrospektif değerlendirilmesi: Epidemiyolojik çalışma. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2011;17(1):46-50.
13. Kafadar A. AĞIR Kafa TRAVMALI HASTAYA NÖROŞİRÜRJİKAL YAKLAŞIM ve TEMEL PRENSİPLER.
14. Ingebrigtsen T, Mortensen K, Romner B. The epidemiology of hospital-referred head injury in northern Norway. Neuroepidemiology. 1998;17(3):139-46.
15. Gülşen İ, Aycan A, Arslan M, Akyol ME, Sösunçu E. Kafa Travması Nedeni ile Ameliyat Edilen 226 Hastanın Retrospektif Değerlendirilmesi: Epidemiyolojik Çalışma. 2015.
16. Yucel F, Asirdizer M, Cansunar N, Batuk G, İldiz E. The deaths caused intracranial complications after blunt head injury. Journal of Forensic Medicine Istanbul. 1996;12(1):49-57.
17. TEZİ U, DÜZ DE, ÇIRAK DDB. DENEYSEL Kafa TRAVMASI MODELİNDE İNSAN UMBİLİKAL KORDON KANINDAN ELDE EDİLMİŞ KÖK HÜCRE NAKLİNİN VE NİMODİPİNİN BERABER KULLANIMININ SEREBRAL DOKU İYİLEŞMESİ VE.
18. Gennarelli TA, Meaney DF. Mechanisms of primary head injury. Neurosurgery. 1996;2:2611-21.
19. Uzan M. Kafa TRAVMALARININ FİZYOPATOLOJİSİ.
20. Gardezi Z. Traumatic Brain Injury: INTECH Open Access Publisher; 2012.
21. Vural M, Berker E. Travmatik Beyin Yaralanmasında Klinik Tanı ve Değerlendirme. Medical Journal of Bakirkoy. 2012;8(2).
22. CİLA A. BEYİN.
23. OZAN DF, TEZİ U, BORA DA. Kafa TRAVMASI VE BÜYÜME HORMONUNUN KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ (SIÇANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA).

24. Unterberg A, Stover J, Kress B, Kiening K. Edema and brain trauma. *Neuroscience*. 2004;129(4):1019-27.
25. Youmans JR. *Neurological Surgery: Infections, pain, neurophysiological and ablative procedures, rehabilitation*: Saunders; 1996.
26. Unterberg A, Kiening K, Schmiedek P, Lanksch W. Long-Term Observations of Intracranial Pressure after Severe Head Injury. The Phenomenon of Secondary Rise of Intracranial Pressure. *Neurosurgery*. 1993;32(1):17-24.
27. Bullock MR, Kuroda Y, Teasdale G, McCulloch J. Prevention of post-traumatic excitotoxic brain damage with NMDA antagonist drugs: a new strategy for the nineties. *Neurotraumatology: Progress and Perspectives*: Springer; 1992. p. 49-55.
28. Silav G, Uğur HÇ, Kağan T, Attar A, Egemen N. Kafa travmalarinin sistemik etkileri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*. 2000;53(04).
29. Kanter M. Protective effects of thymoquinone on the neuronal injury in frontal cortex after chronic toluene exposure. *Journal of molecular histology*. 2011;42(1):39-46.
30. Bedreag OH, Rogobete AF, Sărăndan M, Cradigati A, Păpurică M, Roşu OM, et al. Oxidative stress and antioxidant therapy in traumatic spinal cord injuries. *Romanian Journal of Anaesthesia and Intensive Care*. 2014;21(2):123-9.
31. Warner DS, Sheng H, Batinić-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *Journal of experimental biology*. 2004;207(18):3221-31.
32. Stelmasiak Z, Tarach JS, Nowicka-Tarach BM, Mitosek-Szewczyk K, Drop A. Idiopathic hypoparathyroidism with intracranial calcifications and dominant skin manifestations. *Medical Science Monitor*. 2000;6(1):CS145-CS50.
33. Werner C, Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *British journal of anaesthesia*. 2007;99(1):4-9.
34. Yılmazlar S, Taşkapılıoğlu Ö. Ciddi Kafa Travmalı Hastaların Tedavi Prensipleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 2003;12(3).
35. KÖYLÜ R, AK A, KÖYLÜ Ö, CANDER B, GÖKALP A. DENEYSSEL KOMBİNE Kafa TRAVMASI VE HEMORAJİK FİOK MODELİNDE SIVI RESUSKASYONU VE ANTIOKSİDAN TEDAVİNİN BEYİN DOKU LAKTİK ASİDOZU VE LİPİD PEROKSİDASYONU ÜZERİNDE ETKİLERİ.
36. Silachev DN, Plotnikov EY, Zorova LD, Pevzner IB, Sumbatyan NV, Korshunova GA, et al. Neuroprotective Effects of Mitochondria-Targeted Plastoquinone and Thymoquinone in a Rat Model of Brain Ischemia/Reperfusion Injury. *Molecules*. 2015;20(8):14487-503.
37. Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep medicine reviews*. 2005;9(1):11-24.
38. Cardinali DP, Pévet P. Basic aspects of melatonin action. *Sleep medicine reviews*. 1998;2(3):175-90.
39. Reiter RJ. The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia*. 1993;49(8):654-64.
40. Hardeland R, Poeggeler B. Non-vertebrate melatonin. *Journal of pineal research*. 2003;34(4):233-41.
41. Reiter RJ, Tan D-x, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *Journal of biomedical science*. 2000;7(6):444-58.
42. Hardeland R, Pandi-Perumal S. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. *Nutrition & metabolism*. 2005;2(1):1.
43. Blask DE, Dauchy RT, Sauer LA. Putting cancer to sleep at night. *Endocrine*. 2005;27(2):179-88.
44. Srinivasan V, Spence DW, Trakht I, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP, Maestroni GJ. Immunomodulation by melatonin: its significance for seasonally occurring diseases. *Neuroimmunomodulation*. 2008;15(2):93-101.
45. Woo CC, Kumar AP, Sethi G, Tan KHB. Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochemical pharmacology*. 2012;83(4):443-51.

46. Hamdy NM, Taha RA. Effects of *Nigella sativa* oil and thymoquinone on oxidative stress and neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacology*. 2009;84(3):127-34.
47. Mahgoub AA. Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. *Toxicology letters*. 2003;143(2):133-43.
48. Arslan SO, Gelir E, Armutcu F, Coskun O, Gurel A, Sayan H, et al. The protective effect of thymoquinone on ethanol-induced acute gastric damage in the rat. *Nutrition Research*. 2005;25(7):673-80.
49. Mansour M, Tornhamre S. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2004;19(5):431-6.
50. El-Dakhakhny M, Madi N, Lembert N, Ammon H. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2002;81(2):161-4.
51. Chehl N, Chipitsyna G, Gong Q, Yeo CJ, Arafat HA. Anti-inflammatory effects of the *Nigella sativa* seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells. *HPB*. 2009;11(5):373-81.
52. Abdel-Fattah A-FM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *European Journal of Pharmacology*. 2000;400(1):89-97.
53. El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC. Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *International immunopharmacology*. 2006;6(7):1135-42.
54. Begara-Morales JC, Sánchez-Calvo B, Chaki M, Valderrama R, Mata-Pérez C, Padilla MN, et al. Antioxidant systems are regulated by nitric oxide-mediated post-translational modifications (NO-PTMs). *Frontiers in plant science*. 2016;7.
55. Beligni MV, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta*. 2000;210(2):215-21.
56. Begara-Morales JC, Sánchez-Calvo B, Chaki M, Valderrama R, Mata-Pérez C, López-Jaramillo J, et al. Dual regulation of cytosolic ascorbate peroxidase (APX) by tyrosine nitration and S-nitrosylation. *Journal of experimental botany*. 2013:ert396.
57. Corpas FJ, Leterrier M, Valderrama R, Airaki M, Chaki M, Palma JM, et al. Nitric oxide imbalance provokes a nitrosative response in plants under abiotic stress. *Plant Science*. 2011;181(5):604-11.
58. Fonnum F. Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. *Journal of neurochemistry*. 1984;42(1):1-11.
59. Änggård E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *The Lancet*. 1994;343(8907):1199-206.
60. Moncada S, Higgs E, Hodson H, Knowles R, Lopez-Jaramillo P, McCall T, et al. The L-Arginine: Nitric Oxide Pathway. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 1991;17:S1&hyphen.
61. Uzan M, Tanriover N, Topal-Sarikaya A, Tanriverdi T, Tuzgen S, Cevherkesin B. Concentrations of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and neuronal nitric oxide synthase (nNOS) in cerebrospinal fluid of patients with severe head injuries. *Neurosurgery Quarterly*. 2003;13(2):117-24.
62. Chen Y-Q, Fisher JH, Wang M-H. Activation of the RON receptor tyrosine kinase inhibits inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression by murine peritoneal exudate macrophages: phosphatidylinositol-3 kinase is required for RON-mediated inhibition of iNOS expression. *The Journal of Immunology*. 1998;161(9):4950-9.
63. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochemical Journal*. 2001;357(3):593-615.
64. Virág L, Szabó É, Bakondi E, Bai P, Gergely P, Hunyadi J, et al. Nitric oxide-peroxynitrite-poly (ADP-ribose) polymerase pathway in the skin. *Experimental dermatology*. 2002;11(3):189-202.

65. Wang PG, Xian M, Tang X, Wu X, Wen Z, Cai T, et al. Nitric oxide donors: chemical activities and biological applications. *Chemical Reviews*. 2002;102(4):1091-134.
66. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*. 2002;82(1):47-95.
67. Hall ED, Vaishnav RA, Mustafa AG. Antioxidant therapies for traumatic brain injury. *Neurotherapeutics*. 2010;7(1):51-61.
68. KAVAS GÖ. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNE FİZYOPATOLOJİK YAKLAŞIM. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 1994;47(04).
69. de Mello Filho AC, Meneghini R. Protection of mammalian cells by o-phenanthroline from lethal and DNA-damaging effects produced by active oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 1985;847(1):82-9.
70. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS letters*. 1991;281(1-2):9-19.
71. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological reviews*. 1979;59(3):527-605.
72. Kontos CD, Wei EP, Williams JI, Kontos HA, Povlishock JT. Cytochemical detection of superoxide in cerebral inflammation and ischemia in vivo. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1992;263(4):H1234-H42.
73. Paky A, Michael JR, Burke-Wolin TM, Wolin MS, Gurtner GH. Endogenous production of superoxide by rabbit lungs: effects of hypoxia or metabolic inhibitors. *Journal of Applied Physiology*. 1993;74(6):2868-74.
74. Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1986;247(1):1-11.
75. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1986;246(2):501-14.
76. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*. 2002;33(3):337-49.
77. Çevik MU, Acar A, Yücel Y, Varol S, Akıl E, Arıkanoğlu A, et al. İntraserebral Kanamalı Hastaların Kanında Total Oksidan/Antioksidan Durumunun Araştırılması.
78. Özdemir A. Ratlara Farklı Çözücülerde Hazırlanarak Verilen Mentha Spicata Lamiaceae Nane Ekstreleri İle Kuru Tozunun Kanda, B-Karoten, A, C Vitaminleri, Katalaz, Glutatyon Peroksidaz, Glutatyon Redüktaz, Malondialdehid, Superoksid Dismutaz Enzimler ve Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkilerinin Araştırılması. 2010.
79. Başşu Sözbilir N, Başşu N. Biyokimya, Güneş Tıp Kitapevleri, 1. Baskı Ankara. 2008.
80. ZARARSIZ İ, KUŞ İ, YILMAZ HR, KÖSE E, SARSILMAZ M. Deneysel formaldehit toksisitesi sonucu hipokampusta oluşan doku hasarına karşı Omega-3 yağ asitlerinin antioksidan etkileri. *FÜ Sağ Bil Derg* 2008; 22 (2): 59. 2007;64.
81. Yılmaz S, Ozan S, Benzer F, Canatan H. Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism. *Cell biochemistry and function*. 2003;21(4):325-30.
82. Şener G, BÇ Y. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Derg*. 2009;22(3):5-13.
83. Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J, et al. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of pineal research*. 1995;18(1):1-11.
84. Gülbahar Ö. Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*. 2007;10(1):43-8.
85. Aliyev V, YALÇIN S, KAYAALTI Z, SAYGI Ş, Söylemezoğlu T. Sigara Kullanımının Oksidatif Stres, Protein Karbonil Düzeyi ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2009;2(3).
86. Köken T, Kahraman A, Serteser M, Gökçe Ç. Hemodiyaliz ve oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2004;5:9-13.

87. ÇAKATAY U, TELCİ A, YILMAZ İA, AKÇAY T, SİVAS A. YAŞLANMANIN PLAZMA OKSİDATİF PROTEİN HASARINA ETKİSİ. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*. 2000;31(4).
88. Kahraman A, Çakar H, Vuramaz A, Gürsoy F, Koçak S, Serteser M. AĞIR EGZERSİZİN OKSİDATİF STRES ÜZERİNDEKİ ETKİSİ. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2003;4(2).
89. Buyukguzel E. Protein Oksidasyonun Biyokimyasal ve Moleküler mekanizması. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*. 2013;3(1):40-51.
90. Stadtman ER. Protein oxidation in aging and age-related diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001;928(1):22-38.
91. Evans PJ, Gallesi D, Mathieu C, Hernandez MJ, de Felipe M, Halliwell B, et al. Oxidative stress occurs during soybean nodule senescence. *Planta*. 1999;208(1):73-9.
92. Gennarelli TA, Thibault LE, Graham DI. Diffuse axonal injury: an important form of traumatic brain damage. *The Neuroscientist*. 1998;4(3):202-15.
93. Marmarou A, Shima K. Comparative studies of edema produced by fluid percussion injury with lateral and central modes of injury in cats. *Advances in neurology*. 1989;52:233-6.
94. SCHMIDT RH, GRADY MS. Regional patterns of blood-brain barrier breakdown following central and lateral fluid percussion injury in rodents. *Journal of neurotrauma*. 1993;10(4):415-30.
95. Jenkins A, Maxwell W, Graham D. Experimental intracerebral haematoma in the rat: sequential light microscopical changes. *Neuropathology and applied neurobiology*. 1989;15(5):477-86.
96. Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, Murray HM, Dail WG. Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat. *Brain research*. 1981;211(1):67-77.
97. Albeni BC. Models of brain injury and alterations in synaptic plasticity. *Journal of neuroscience research*. 2001;65(4):279-83.
98. Rall J, Matzilevich D, Dash P. Comparative analysis of mRNA levels in the frontal cortex and the hippocampus in the basal state and in response to experimental brain injury. *Neuropathology and applied neurobiology*. 2003;29(2):118-31.
99. Cenci MA, Whishaw IQ, Schallert T. Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat? *Nature Reviews Neuroscience*. 2002;3(7):574-9.
100. POVLISHOCK JT, Hayes RL, MICHEL ME, McINTOSH TK. Workshop on animal models of traumatic brain injury. *Journal of neurotrauma*. 1994;11(6):723-32.
101. Cernak I. Animal models of head trauma. *NeuroRx*. 2005;2(3):410-22.
102. Hausmann R, Biermann T, Wiest I, Tübel J, Betz P. Neuronal apoptosis following human brain injury. *International journal of legal medicine*. 2004;118(1):32-6.
103. Denny-Brown D, Russell WR. Experimental cerebral concussion. *The Journal of physiology*. 1940;99(1):153-.
104. Badary OA, Taha RA, Gamal El-Din AM, Abdel-Wahab MH. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and chemical toxicology*. 2003;26(2):87-98.
105. Cirak B, Rousan N, Kocak A, Palaoglu O, Palaoglu S, uk c, et al. Melatonin as a Free Radical Scavenger in Experimental Head Trauma1. *Pediatric neurosurgery*. 2000;31(6):298-301.
106. Kerman M, Cirak B, Ozguner MF, Dagtekin A, Sutcu R, Altuntas I, et al. Does melatonin protect or treat brain damage from traumatic oxidative stress? *Experimental brain research*. 2005;163(3):406-10.
107. Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E. *Life sciences*. 1994;55(15):PL271-PL6.
108. Akbulut KG, Gonül B, Akbulut H. Exogenous melatonin decreases age-induced lipid peroxidation in the brain. *Brain research*. 2008;1238:31-5.
109. Sarrafzadeh A, Thomale U-W, Kroppenstedt S-N, Unterberg A. Neuroprotective effect of melatonin on cortical impact injury in the rat. *Acta neurochirurgica*. 2000;142(11):1293-9.
110. Candelario-Jalil E, Mhadu NH, Al-Dalain SM, Martínez G, León OS. Time course of oxidative damage in different brain regions following transient cerebral ischemia in gerbils. *Neuroscience research*. 2001;41(3):233-41.

111. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2001;21(1):2-14.
112. Juurlink B, Paterson P. Review of oxidative stress in brain and spinal cord injury: suggestions for pharmacological and nutritional management strategies. *The journal of spinal cord medicine*. 1998;21(4):309-34.
113. Liao B, Newmark H, Zhou R. Neuroprotective effects of ginseng total saponin and ginsenosides Rb1 and Rg1 on spinal cord neurons in vitro. *Experimental neurology*. 2002;173(2):224-34.
114. Rausch W-D, Liu S, Gille G, Radad K. Neuroprotective effects of ginsenosides. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2006;66(4):369-75.

