



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELİNDE İNTRAVENTRİKÜLER ANTİSENS  
OLİGONÜKLEOTİD İNJEKSİYONU İLE AQUAPORİN-4'ÜN BASKILANMASININ  
BEYİN ÖDEMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Mehdi Tohidi**

**UZMANLIK TEZİ**

**Ankara**

**2013**

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELİNDE İNTRAVENTRİKÜLER ANTİSENS  
OLİGONÜKLEOTİD İNJEKSİYONU İLE AQUAPORİN-4'ÜN BASKILANMASININ  
BEYİN ÖDEMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Mehdi Tohidi**

**UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Melike Mut Aşkun**

**Ankara**

**2013**

## TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Melike Mut Aşkun'a, çalışmanın planlanması, uygulanması ve sonuçlandırılmasında sonsuz desteği ve emeği için teşekkür ederim. Hacettepe Üniversitesi Nöroşirurji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Servet İnci ve Nöroşirurji Anabilim Dalı'nda görevli değerli öğretim üyelerim, Sayın Prof. Dr. Osman Ekin Özcan, Sayın Prof. Dr. Ö. Selçuk Palaoglu, Sayın Prof. Dr. Nejat Akalan, Sayın Prof. Dr. H.Hakan Oruçkaptan, Sayın Prof. Dr. Mustafa Berker, Sayın Doç. Dr. Atilla Akbay, Sayın Doç. Dr. Halil Kamil Öge, Sayın Doç. Dr. Gökhan Bozkurt, Sayın Doç. Dr. Burçak Bilginer, ve Sayın Uzm. Dr. Ahmet İlkey Işıkkay'a bölümde geçirdiğim yıllar içerisinde eğitimim için gösterdikleri özveri ve emekleri için teşekkür ederim. Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü ve Nöroloji Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Yasemin Özdemir' e çalışmaların tamamlanması için gösterdiği yoğun emek, özveri ve destek için teşekkür ederim.

Radyoloji Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Kader Karlı Oğuz'a radyolojik incelemelerin tamamlanması ve değerlendirilmesi için gösterdiği destek ve emek için teşekkür ederim. Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü'nden Sayın Uzm. Sevda Lüle'ye tezin yürütülmesindeki yardımları ve istatistiksel çalışmaların tamamlanması için teşekkür ederim.

Tezimin yürütülmesinde emeği geçen Dr. Şahin Hanalioğlu, Dr. Murat Gökten ve Dr. Ahmet Soyer'e teşekkür ederim. Ayrıca birlikte çalışma fırsatı bulduğum tüm asistan arkadaşlarıma desteklerini ve dostluklarını esirgemedikleri için teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim içerisinde tanıma şansını bulduğum değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Tunçalp Özgen'e ve Prof. Dr. İbrahim Ziyal'e teşekkür ederim. Saygıyla ve rahmetle andığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Kemal Benli'ye bana öğrettiği herşey için teşekkürü borç bilirim.

Sevgili anneme, babama ve kardeşime, anne ve babam gibi olan eşimin ailesine, en zor zamanlarımda hep yanımda oldukları ve sevgileri ile bana en büyük gücü verdikleri için minnettarım.

Sevgili eşim, yol arkadaşım Leila Khajehdehi'ye, bu zorlu yolda hep yanımda olduğu ve sevgisiyle bu zor süreci kolaylaştırdığı için sonsuz derecede minnettarım.

## ÖZET

**Amaç:** Aquaporin-4 (AQP4) beyin su dengesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada, farelerde fokal kortikal kontüzyon yaralanma sonrası intraventriküler yolla antisens oligonükleotid injeksiyonu ile AQP4 baskılanması ve beyin ödemi azaltıcı etkisi incelenmiştir.

**Metot:** 12 haftalık, 20-25 gr ağırlığında dişi Swiss albino farelerin pariyetal korteksine kraniektomi sonrası, 70 cm yükseklikten 35 gram künt uçlu ağırlık serbest düşürme metodu ile fokal kortikal kontüzyon modeli oluşturulmuştur. Sham grubunda farelere kraniektomi yapıp; travma uygulanmamıştır (5 denek). Kontrol grubunda kraniektomi yapıldıktan sonra, intraserebroventriküler (i.s.v.) yolla 2µl Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) verilip, hemen sonrasında, kraniektomi yapılmış olan kafa bölgesine ağırlık düşürülmüştür (6'şar adet denek). Aquaporin-4 için hazırlanan 2µl DMEM içerisinde çözülmüş 1 nM konsantrasyondaki oligonükleotid antisens i.s.v. yolla travmanın 0. dakikasında ve 4. saatte uygulanmıştır (6'şar adet denek). Tüm deney gruplarında bulunan hayvanlara travmanın 24'üncü saatinde MRG çekilip ardından sakrifiye edilmişlerdir. Farelerin beyin yüzde su miktarı, yaş ve kuru ağırlıkları karşılaştırılması ile hesaplanmıştır.

**Bulgular:** Sham grubunda ortalama beyin su içeriği % 77.75 iken, kontrol travma grubunda bu değer % 79.87 olarak ölçülmüştür. İki grup arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ( $p=0.017$ ). Sıfırıncı dakika AQP-4 antisens tedavi grubunda beyin su içeriği %78.81 olarak ölçülmüş olup, kontrol travma grubundan anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p=0.026$ ). Dördüncü saat AQP-4 antisens tedavi grubunda ise beyin su içeriği %79.11 olarak hesaplanmış olup kontrol travma grubu ile arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $p=0.39$ ). MR görüntülemelerinden elde edilen bulgular da sıfırıncı dakika tedavi grubunda ödemin anlamlı şekilde azaldığını göstermiştir. Ancak dördüncü saat tedavi grubundaki MR sonuçları, kontrol travma grubun sonuçları ile kıyaslanınca, anlamlı bir fark bulunamamıştır.

**Sonuç:** Bu çalışmadan elde edilen veriler, AQP-4 antisens oligonükleotid tedavisinin diffüz travmatik beyin yaralanması sonrası erken dönemde uygulandığında, beyin ödeminde anlamlı azalmaya yol açtığını göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** aquaporin-4, beyin ödemi, kafa travması, antisens oligonükleotid

## ABSTRACT

**Objective:** Aquaporin-4 (AQP4) plays an important role in the regulation of water balance in the brain. In this study, inhibition of AQP4 synthesis and decrease in brain edema following intraventricular injection of antisense oligonucleotide after focal cortical contusion injury in mice are investigated.

**Methods:** 12-week, female Swiss albino mice of 20-25 g weight, were used to create focal cortical contusion model by the weight drop method (35 grams blunt weight, 70 cm height) onto parietal cortex after craniectomy. In the sham group, only craniectomy was performed (no trauma) (5 animals). In the control group, weight was dropped onto parietal cortex immediately after 2 $\mu$ l Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) was injected intracerebroventricularly (i.c.v.) following craniectomy (6 animals). 1 nM of aquaporin-4 antisense oligonucleotide was dissolved in 2 $\mu$ l DMEM and injected via intracerebroventricular (i.c.v) route immediately before trauma (minute 0) and at 4 hours after trauma (6 animals per group). All animals underwent MR imaging and were sacrificed at 24 hours after trauma. Percent brain water content was determined using the wet/dry weight method.

**Results:** In the sham group, the average percent brain water content was 77.75%, while it was 79.87% in the control trauma group. The difference between two groups was statistically significant ( $p=0.017$ ). In the zero-minute AQP-4 antisense therapy group, average brain water content was 78.81% and significantly reduced in comparison to the control trauma group ( $p=0.026$ ). In the fourth-hour AQP-4 antisense therapy group, the average brain water content was 79.11%, and the difference between this group and the control trauma group was not statistically significant ( $p=0.39$ ). MR imaging findings also showed significant reduction in brain edema in the zero-minute treatment group. However, the results of the fourth-hour treatment group, when compared with the control trauma group, did not show a significant difference.

**Conclusion:** The results of this study demonstrated that AQP-4 antisense oligonucleotide therapy, when administered early after diffuse traumatic brain injury, leads to the significant reduction in brain edema.

**Keywords:** aquaporin-4, brain edema, head trauma, antisense oligonucleotide



**İÇİNDEKİLER**

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1 Kafa Travmalarına Giriş	4
2.2 Kafa Travmalarının Tarihçesi	5
2.3 Kafa Travmalarının Epidemiyolojisi	6
2.4 Kafa Travmalarının Fیزیopatolojisi	7
2.5 Kafa Travmalarının Mekanizması	17
2.5.1 Travma Biomekaniği:	18
2.6. Travmatik İntrakranyal Lezyonlar	22
2.6.1. Birincil Travmatik Lezyonlar	22
2.6.2. İkincil Travmatik Lezyonlar	23
2.6.3. Diffüz Beyin Şişmesi, Ödem	24
2.6.4. Ödem Sınıflaması	25
2.7 Kafa Travmalı Hastaya Yaklaşım Ve Değerlendirilme	27
2.8 Kafa Travmalı Hastalarda Radyolojik Tani Yöntemleri	28
2.9 Kafa Travmalı Hastaların Tedavi Yöntemleri	29
2.9.1. Genel Müdahaleler	29
2.9.2 Travmatik Beyin Hasarında Yeni Tedaviler	39
2.10 Aquaporinler	40
2.11. Antisens	44

3. MATERYAL VE METOD	46
3.1. Denev Hayvanları ve Anestezi	46
3.2 Feeney'in Ağırılık Düşürme Metodu ile Travmatik Beyin Hasarı Modeli Oluşturulması	58
3.3 Ağırılık Düşürme Modeli ile Yapılan Travmatik Beyin Hasarı Çalışmasında Kullanılan Denev Grupları	60
3.4. Aquaporin-4 (AQP4) Oligonükleotid Antisens (ONAS) Sıfırncı Dakika Grubu	61
3.5. Aquaporin-4 (AQP4) Oligonükleotid Antisens (ONAS) 240' ıncı Dakika Grubu	61
3.6 Beynin Yüzde Su İçeriğinin Hesaplanması	61
3.7 Magnetik Rezonans Görüntülemesi (MRG)	62
3.8. İstatistiksel Yöntemler	63
3.9 AQP-4 İmmünohistokimyası	63
4. BULGULAR	65
4.1. Yaş/Kuru ağırılık sonuçları	65
4.2. Radyolojik Bulgular	69
4.3. AQP-4 İmmünohistokimyası:	75
5. TARTIŞMA	76
6. SONUÇ	83
7. KAYNAKLAR	84

**KISALTMALAR**

<b>AQP-4</b>	<b>: Aquaporin-4</b>
<b>Mrna</b>	<b>: Messenger Ribo Nükleik Asit</b>
<b>BBB</b>	<b>:Kan beyin bariyeri</b>
<b>NMDA</b>	<b>: N-metil D-aspartat</b>
<b>TNF <math>\alpha</math></b>	<b>: Tumör nekrozis faktör <math>\alpha</math></b>
<b>İL</b>	<b>: İnterlökin</b>
<b>AMPA</b>	<b>: <math>\alpha</math>-amino-3-Hidroksi-5-metil-4-isoksazolepropionik asit reseptör</b>
<b>TBI</b>	<b>: Travmatik beyin yaralanması</b>
<b>CCL</b>	<b>: Kemokin (C-C motif) ligand</b>
<b>BOS</b>	<b>: Beyin omurilik sıvısı</b>
<b>SAK</b>	<b>: Subaraknoid kanama</b>
<b>VEGF</b>	<b>: Vasküler endotelial büyüme faktörü</b>
<b>GCS</b>	<b>: Glasgow koma skoru</b>

<b>SMS</b>	<b>: Basitleştirilmiş motor skoru</b>
<b>NIH</b>	<b>: Ulusal sağlık enstitüsü</b>
<b>PVC</b>	<b>: Polivinil klorür</b>
<b>UMRAM</b>	<b>: Ulusal Manyetik Rezonans Araştırma merkezi</b>
<b>MRG</b>	<b>: Manyetik rezonans görüntüleme</b>
<b>ONAS</b>	<b>: Oligonükleotid Antisens</b>
<b>DMEM</b>	<b>: Dulbecco's Modified Eagle Medium</b>
<b>COX</b>	<b>: SİKLOOKSİGENAZ</b>
<b>RBC</b>	<b>: Kırmızı kan hücreleri</b>
<b>HIV</b>	<b>: İnsan immün yetmezliği virüsü</b>
<b>DsRNA</b>	<b>: Çift zincirli RNA molekülü</b>
<b>RNAi</b>	<b>: RNA interferaz</b>
<b>İ.S.V</b>	<b>: İntraserebro ventriküler</b>
<b>FDA</b>	<b>: Gıda ve ilaç yönetimi</b>
<b>STD SAPMA</b>	<b>: STANDAR SAPMA</b>

**TABLULAR DİZİNİ**

Tablo 1. Travmatik beyin yaralanmasında önemli rolü olan inflamatuvar mediatörler:.....	17
Tablo 2. Travmatik beyin yaralanma mekanizmaları.....	18
Tablo 3. Ödem sınıflandırması .....	26
Tablo 4. Deney grupları ve sayıları .....	60
Tablo 5. Sham grubunun beyin su oranları.....	65
Tablo 6. Kontrol travma grubun beyin su oranı .....	66
Tablo 7. AQP-4 tedavisi sıfırncı dakika tedavi grubunun beyin su oranı .....	67
Tablo 8. AQP-4 tedavisi dördüncü saat tedavi grubunun beyin su oranı .....	68
Tablo 9. Deney grupların istatistiksel değeriendirilmesi.....	69
Tablo 10. SHAM grubun MR bulguları .....	69
Tablo 11. Kontrol travma grubun MR bulguları .....	71
Tablo 12. Aquaporin 4 tedavisi sıfırncı dakika tedavi grubun MR bulguları .....	72
Tablo 13. AQP-4 Dördüncü saat tedavi grubun MR bulguları.....	73

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Travmatik beyin hasarının patofizyolojisi .....	10
Şekil 2. Travmatik beyin hasarı sonrası ikincil yaralanma fizyopatolojinde önemli süreçler. 11	
Şekil 3. Travmatik beyin hasarında mekanizmalar. ....	16
Şekil 4. AQP'lerin yoğunlukla bulunduğu yerler.....	41
Şekil 5. AQP-4 ve astrositlerle etkileşimi. ....	42
Şekil 6. AQP-4'ün sitotoksik ve vajojenik ödeminde rolü.....	43
Şekil 7. Beyin AQP-4 ve kafa içi basınç artışı ve beyin su içeriğinin artışı ile ilişkisi .....	44
Şekil 8. Antisens; mRNA mekanizması .....	45
Şekil 9. Travma öncesi deneklerin tartılması .....	47
Şekil 10. İzofloran İnhalasyonu.....	48
Şekil 11. Deneklerin Stereotaksik cihaza yerleştirilmesi .....	49
Şekil 12. Deneklerin vital bulgularının monitorizasyonu.....	50
Şekil 13. Kraniektomi sınırların belirlenmesi.....	51
Şekil 14. Mikroskop altında yüksek hızlı drille kraniektomi .....	52
Şekil 15. İ.S.V. yolla antisens injeksiyonu .....	53
Şekil 16. Kafa travması oluşturulmasında kullanılan düzenek. ....	54
Şekil 17. Beyin dokusunun dilimleyici aparata yerleştirilmesi.....	57
Şekil 18. Sham grubun MR görüntülemeleri..... <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>	
Şekil 19. Kontrol travma grubun MR görüntülemeleri .....	71
Şekil 20. AQP-4 sıfırıncı dakika antisens grubun MR görüntülemeleri .....	73
Şekil 21. AQP-4 dördüncü saat antisens grubun MR görüntülemeleri .....	74
Şekil 22. Fare beyin koronal kesitlerinde AQP-4 immünhistokimya.....	75

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağır travmatik beyin hasarı ve bunun sonucunda gelişen beyin ödemeine bağlı mortalite ve morbidite oldukça yüksektir [83,154] Kalıcı sakatlıklara ve hatta ölüme yol açabilen travmatik beyin hasarında iki temel hasardan söz edilmektedir. Travma anında oluşan kafatası kırıkları, kontüzyon, hematom, laserasyon, diffüz aksonal hasar gibi doğrudan hasarlar birincil hasarlar olarak isimlendirilirken, bunları takip eden ve etkileri uzun süren, hücresel ve moleküler düzeydeki değişiklikleri içeren, birbiriyle ilişkili patofizyolojik süreçler ise travma sonrası ikincil hasar olarak tanımlanmaktadır. Çeşitli nörokimyasal mediyatörlerin salınması, artmış kafa içi basıncı, beyin ödemi, hidrosefali ve herniasyonlar ikincil hasarda rol oynayan temel olaylar arasında sayılabilir. Bu patofizyolojik olaylar arasında beyin ödeminin önemli bir yer tuttuğu bilinmektedir. Birincil beyin hasarı sırasında gerçekleşen hücre ölümü, salgılanan mediyatörler, artmış kafa içi basıncı, kan beyin bariyerinin ve serebrovasküler otoregülasyonun bozulması ve daha birçok hücresel süreç beyin ödemeine katkıda bulunurken, beyin ödemi ise kafa içi basıncı daha da artmasına, böylece serebral perfüzyonun bozulmasına ve herniasyonlara sebep olarak ölüme kadar giden sonuçlara yol açabilmektedir. Bu nedenle travmatik beyin hasarı sonrası beyin ödeminin önlenmesi ve düzeltilmesi temel tedavi hedeflerinden birini oluşturmaktadır [20,21,74,75,76]

Sırasıyla intraselüler ve ekstraselüler su hacminde artışla karakterize, sitotoksik ve vazojenik ödem beyin ödeminin iki esas formu olarak kabul edilmektedir. Sitotoksik ödem hücresel hasar sonucu oluşurken, vazojenik ödem ise kan-beyin bariyeri geçirgenliğindeki artışa bağlı oluşur. Travmatik beyin hasarında her iki ödem tipinin de rol oynadığı bilinmektedir [14,15,74]

Son yıllarda araştırmalar, diffüz travmatik beyin yaralanmasının patofizyolojisinde sitotoksik ödemin, vazojenik ödemden daha üstün role sahip olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte hücre membranında yerleşimli aquaporinlerin ifadesinde artışı, özellikle de AQP-4'ün,

diffüz travmatik beyin hasarında beyin ödemi,kafa içi basınç artışı ve mortalite ile doğrudan orantılı olduğu ispatlanmıştır.[128]

Aquaporin-4, astrositler üzerinde eksprese edilen bir membran proteini olup hücre içi ve dışı arasında su geçişini sağlayan kanal görevi görmektedir. Daha önceki araştırmalarda AQP4'ün beyin ödeminin oluşumunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir.Bu sonuçlar, ikiyönlü su kanalı olarak görev yapan AQP4'ün sitotoksik ödem sırasında hücre içi su birikimini artırıcı, vazojenik ve interstisiyel ödemde ise beyin dokusundaki aşırı suyun uzaklaştırılmasında kolaylaştırıcı bir fonksyonu olduğunu göstermektedir.[26,27,77] Travma sırasında hasarın olduğu bölgede AQP4 ekspresyonunda artış izlenirken, hasar etrafındaki dokuda ise azalma dikkati çekmektedir [32,33,76]

Günümüzde semptomatik tedavilere rağmen bu hasta grubunda mortalite ve morbidite halen çok yüksektir. Labaratuvar ilaç araştırmaların büyük çoğunluğunun optimum yanıtları çok düşük olup; yan etkilerin yüksek olması ve insan üzerinde uygulanmaya hazır olmaması, bu ilaçların deney aşamasında kalmasına sebep olmuştur. [71,128,153]

İlk olarak 1998 yılında, Andrew Fire ve arkadaşları tarafından Gen tedavisi ve RNA interferans-engellenme (RNAi) kavramı gündeme getirilmiştir.[61] RNA engellenmesi, genomdaki her hangi bir geni kısa çift zincirli RNA(dsRNA) ları kullanarak spesifik olarak susturabilir. Labaratuvar ortamında RNA interferaz hücre içi sinyal mekanizmalarını, gelişmenin genetik sırlarının açıklanmasında, kanser, enfeksiyon araştırmalarında rutin olarak kullanılmaktadır. Antisens oligonükleotidler; kısa, sentetik, tek iplikli DNA parçası olup; hedefi mRNA düzeyinde gen ekspresyonunu inhibe etmek suretiyle protein sentezini engellemektir. Bütün gelişmelere rağmen RNA interferaz tedavisi klinik uygulamalarının çok uzağında gözükmektedir. Şu ana kadar insanlar üzerinde her hangi bir test veya çalışma yapılmamışken; sadece bazı hayvan çalışmalarında başarılı olduğu gösterilmiştir.[61]



Bu çalışmanın amacı, travmatik beyin ödeminde, sitotoksik ödemin ön planda olması nedeniyle, AQP4'ün membrana bağlanarak fonksiyon kazanmasını sağlayan transkripsiyon ürününün, oligonükleotid antisens aracılığı ile baskılanması; böylelikle ödem üzerine olumlu etkide bulunacağı şeklindedir; Bunun sonucunda da, AQP4 antisens oligonükleotidlerin travmatik beyin hasarında, beyin ödeminin azaltıcı yeni bir tedavi sistemi olabileceği öngörülmektedir.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Kafa Travmalarına Giriş**

Kafa travmaları, acil polikliniklere başvuran hastalar arasında önemli bir yer tutmaktadır. Kafa travmaları öldürücü, sakat bırakıcı ve uzun süre tedavi ve bakım gerektiren bir patoloji olup istatistiksel olarak ölüm nedenleri arasında beşinci sırayı almaktadır.[71] Kafa travmalı hastalarda, intrakranyal hasarın bir an önce tesbit edilebilmesi, intrakranyal hasar oluşturabilecek risk faktörlerinin iyi belirlenmesine bağlıdır.

Nörotravmaya klinik yaklaşım günümüzde modern acil servislerin en kalıcı ve en kapsamlı problemlerinden biridir. Her sene yaralanan çok sayıda hastaya verilen tıbbi hizmetlerin mali yükü oldukça yüksektir. Travmatik yaralanma hayatın erken on yıllarında ölümün ve kalıcı sakatlıkların büyük bölümünden sorumludur. İnsidans ellili yaşlara doğru kademeli olarak azalır ve daha sonra düzgün bir biçimde artar. Kafa travmasına bağlı tüm ölümlerin %35-51 'sinden trafik kazaları sorumludur. Yüksekten düşmeler ise tipik olarak çok genç ve yaşlı kişilerde yaralanmaların büyük bir kısmını oluşturur. Okul öncesi çağlardaki çocuklarda kafa travmalarının %70'i düşmelere bağlıdır.[70]

Kafa travmasında darbenin neden olduğu birincil hasar kaçınılmazdır ancak kafa travmalı kişilerde tanı ve tedavideki amaç, ikincil beyin hasarına neden olacak olayları en aza indirmektir.[70,71]

## 2.2 Kafa Travmalarinin Tarihçesi

Kafa travmaları ile ilgili ilk rapor M.Ö. 2800 yıllarında yaşayan Mısırlı hekim İmhotep'e aittir. Thabes şehri yakınlarında bir mezardan çıkarılan ve M.Ö.1700 yıllarına ait olan bir papirusta İmhotep'e ait olan travmaların muayene tanı ve tedavi prensipleri belirtilmiştir. Bu papirusta yazılan 48 travma vakasının 15'i kafa travması ile ilgilidir. İmhotep kafa travmalarını tedavi edilir, edilebilir, edilemez olarak üç gruba ayırmıştır. Yüzyıllar sonra bugün de, bu gruplandırma geçerlidir, ancak tedavi edilemez kafa travmaları oranı çok daha aza inmiştir. Eski İnkâ imparatorluğu mezarlarında bulunan kafataslarının incelenmesi, kafadaki trepanasyonların başlangıçta batıl nedenler daha sonra tedavi amaçlı kullanıldığını düşündürmektedir.[68]

Avusturya ve Fransa'da cilalı taş devrine ait mezarda bulunan kafataslarının %10'unda trepanasyon belirtileri görülmüştür. Avrupada tedavi amacı ile ilk Trepanasyonlar Hippocrates (M.Ö.460-355), Cornecius Celcus (M.S.1.yüzyıl), Galen(M.S.131-201) gibi eski Roma tıbbi doktorlarınca kullanılmıştır. İbni Sina (Avicenna) M.S. 9.yüzyılda trepanasyonu önermiştir. Büyük Arap cerrahı Abulcasis M.S.11.yüzyılda özellikle çökme kırıkları ve birleşik kırıklarını trepanasyonla tedavi etmiştir.[68]

Zamanında papaların doktoru olan Guy de Chauliac (M.S. 1300-1386) kafatası çökme kırıklarında cerrahi tedaviyi önermiş ve uygulamıştır. Ambroise Pare, 1510'da Fransa kralı 2.Henri'nin travmatik orbita üstü kafa içi hematoma ameliyatını yapmıştır.[68]

Berengorius Bologna Üniversitesi'nde bir profesör olan Capri'li Jacop, 1518'de Kafa travmaları üzerine ilk kitabını yazmıştır. Bu kitap sadece nöroşirurji konuları üzerine yazılmış ilk kitaptır. 16. yüzyılda Fransız Jean L.Petit kompresyon, kontüzyon ve kompresyon ayrımını yaparken, İngiliz Pervical Pott kranioserebral travmalarda kap değil onun için önemli olduğunu yani kafatasının değil beynin önemini vurgulamıştır.[68]

Bronz çağında İkiztepe-Samsun yöresinde trepenasyon yapıldığı, Anadolu'da Erken bronz çağında Kültepe yöresinde yaşamış Asurların trepenasyon yaptıkları arkeolojik çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır. Arkeolojik çalışmalardaki en çarpıcı bulgu Urartu dönemine (M.Ö. 800) ait Dilkaya-Van yöresinde bulunan kafatasıdır. Kafa travması geçirmiş, orta meningeal dallarını çaprazlayan, frontalden oksipitale uzanan lineer fracture sahip bir hastada, muhtemelen epidural bir hematomu boşaltmak için 11x6cm boyutlarında serbest fleb kraniotomi gerçekleştirilmiştir. 13 tane burr hole açılmış ve bunlar bir keskiyardımıyla birleştirilerek kemik kaldırılmış ve işlem sonrası tekrar yerine konulmuştur.[68]

### **2.3 Kafa Travmalarının Epidemiyolojisi**

Kafa travması hayatın erken dönemlerinde ölüm ve sakatlıkların en sık nedenidir ve en çok 15-34 arasındaki yaş gurubunu etkilemekte olup; erkeklerde kadınlara oranla 3 kat daha fazla rastlanmaktadır. ABD'de yılda her 100.000 kişiden ortalama 403'ü kafa travmasına maruz kalmaktadır. Bunlardan 81 hasta, hastanede yatarak tedavi edilir.[81]

ABD'de yılda 1.7 milyon insan kafa travmasına maruz kalmaktadır; yıllık ölüm sayısı ise 53000 kişidir.[67] Son yıllarda ölüm oranı 100.000'de ortalama 18.4 olarak gerçekleşmektedir.[65]

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1989-2007 yılları arasında yapılmış olan bir retrospektif çalışma sonucunda, travmatik beyin yaralanmalarının birinci nedeni ateşli silah yaralanmaları (% 34.8) oluşturmaktadır. Sonraki nedenlerini ise motorlu taşıt kazaları(%31.4) ve yüksekten düşmeler (%16.7) oluşturmaktadır. Ancak ateşli yaralanmaları sonucu gelişen travmatik beyin yaralanmaları daha genç yaşlarda gözükürken(15-34), düşmeler ise daha ileri yaşlarda(>75) ve motorlu taşıtlar kazaları 15-24 yaşlarında ( 100000 de 11.4) travmatik beyin yaralanmalarının nedenini oluşturmaktadır.[65,81]

## 2.4 Kafa Travmalarının Fiziopatolojisi

Son yıllarda kafa travmaları nedeniyle ölüm oranlarında büyük bir düşme gözlenmiştir. Bu ilerleme ise trafik kuralların daha yaygın ve sıkı şekilde uygulanmasının yanı sıra kafa travmalarının fiziopatolojisinin daha iyi anlaşılması sayesinde elde edilmiştir.

1975 yılında yazılmış olan ‘patients with head injury who talk and die’ makalesi darbe anında birincil hasarlanma ile etkisi sonradan oluşan ikincil hasarlanma arasındaki ayrımı dramatik olarak göstermiştir.[84,85]

1975 yılında birincil darbe kaynaklı yaralanma genel olarak anlık ve geri dönüşsüz olarak kabul edilirdi. Ancak bu görüş daha sonra kısmi olarak değişmeye başlamıştır. Yapılan çalışmalar birincil beyin yaralanmasından saatler sonra bile hücre ölümlerinin başlayabildiği ve hatta bunda daha da önemli olarak darbenin etkisinin geri dönüşsüz olmadığını ortaya koymuştur. Bunun sonucunda travmatik hasarlanma tek başına darbenin etkisinden kaynaklanmış olmayıp ikincil yaralanmanın da sonuçlar üzerine önemli rolü olduğu kabul edilmiştir. Son yıllarda ikincil beyin hasarının etkisinin azalmasına yönelik moleküler, gen ve farmakolojik müdahaleler düşünülmektedir.[70,71,85]

Travmatik beyin yaralanmasında, ardı ardına gelişen ve bir biri ile ilişkili olan dört temel aşamadan bahsedilmektedir :

- 1- Birincil hasarlanma
- 2- Birincil hasarlanmanın gelişimi
- 3- İkincil ya da ilave hasarlanma
- 4- İyileşme

***Birincil beyin yaralanmaları:***

Travma anında ya travmanın direkt etkisi sonucu olarak beyin parankiminde ya da ivmelenme kuvvetlerine bağlı uzun süre beyaz cevher gerilmelerinde meydana gelir.İvmelenme kuvvetleri uzun süre beyaz cevher gerilmelerinde kopukluk ve ayrılmaya neden olarak aksonal harabiyet ve ikincil yaralanma ve hücre ölümüne yol açar.[90]

***İkincil beyin yaralanmaları:***

Travmatik beyin yaralanmaların klinik bulgusu; kafatası kemiklerinin mekanik güçlerin etkisine maruz kalması, ardından beyin dokusu ve vasküler yapıların distorsiyonu ile başlar. Travmanın sonucu gelişen hasarın niteliği; bu mekanik güçlerin şiddeti,yönü ile belirlenir. Bu nedenlerle kafa travması fokal yada diffüz olarak oluşabilmektedir.Fokal beyin yaralanmasına sebep olan olayların fizyopatolojisi diffüz beyin yaralanmaları ile farklıdır. Fokal beyin yaralanmalarında kontüzyon ve hematomlar kitle etkisi oluşturur; Bu da şifte, herniasyon ve beyin sapı basısına sebep olur.[85,86]

Kafa travmanın ilk olayın ardından; bir dizi fizyopatolojik süreçler sonucunda ikincil hasar meydana gelir. Birincil hasar, bu ardı ardına gelişen olayların başlatıcısı olup; hem vücutta hem de beyin dokusunda süreçlerin başlatılmasını tetikler. Bu ardı ardına gelişen süreçler, travmaya bir sistemik yanıt olarak gelişir; nöronal harabiyet ve hücre ölümüne ile sonlanır.

Birincil travma sonucu, nöronal doku, vasküler doku ve ya her ikisi hasarlanabilir. Bunlar daha sonra ve geç ortaya çıkan ikincil patofizyolojik süreçlerle komplike hale gelebilir. Birincil travma sonrası uyarılan sistemik ve intrakranial inflammatuar yanıt; bir dizi biomoleküler değişikliklerin önemli parçasını oluşturmakla, mikrosirkülasyon da regülasyon bozulması ve nöronal bütünlüğünün bozulmasına yol açar. Bunların sonucunda da; mikrodolaşım bozuklukları, astrosit ayak çıkıntılarının şişmesi ve astrositlerde proliferasyon

(astrogliazis) sonucu kan-beyin bariyerin bozulması, astrosit proliferasyonu; glutamat geri alımına ve nöronların depolarizasyonuna neden olur; bu da merkezi sinir sistemi hasarının tetikleyici noktasıdır.

Beyaz ve gri cevher yaralanmalarında, kalsiyumun hücre içine girişi, moleküler kaskadların başlatılmasında önemli bir role sahiptir. Kalsiyum ve çinko akını, serbest radikaller, mitokondriyal disfonksiyon ve postsinaptik reseptör değişikliklerine neden olmaktadır. Ayrıca; aksonların kopması sonucunda; akson içine kalsiyum girişi ile birlikte bir dizi protein yıkımı kaskatları da başlatır ve bu süreçler daha da komplike hale gelir.[79,85,90]

İnflamatuar hücreler, ikincil beyin hasarın katkısında bulunmaktadır; Bununla birlikte proinflamatuar sitokinlerin salınımı başlar ve postsinaptik reseptör değişikliklere, hücre ölümü kaskatların aktivasyonuna neden olur.[85]

Sistemik hipotansiyon, hipoksi, hiperkapni, serbest radikaller ve sitokinlerin salınımı, hücresel hasar, kan-beyin bariyerin bozulması, ödem ve kafa içi basınç artışı; bu süreçlerin sonucunda ortaya çıkan bulgulardır. Dolayısıyla beyin dokusunda hipoksi, iskemi ve akson harabiyeti ve hücre ölümü ile sonlanır.[79,90]

Travmatik aksonal yaralanma; uzun vadeli kötü prognozun ve sağ kalım oranının düşmesinde güvenilir bir bulgu olarak kabul edilmiştir.[85,79] , (Şekil 1)

Kafa travmalarında ortaya çıkan dokulardaki patofizyolojik değişiklikler, aşağıdaki şekilde sınıflanmaktadır: [14,85,86]. (Şekil 2)

#### A- Nöronal dokuda oluşan süreç

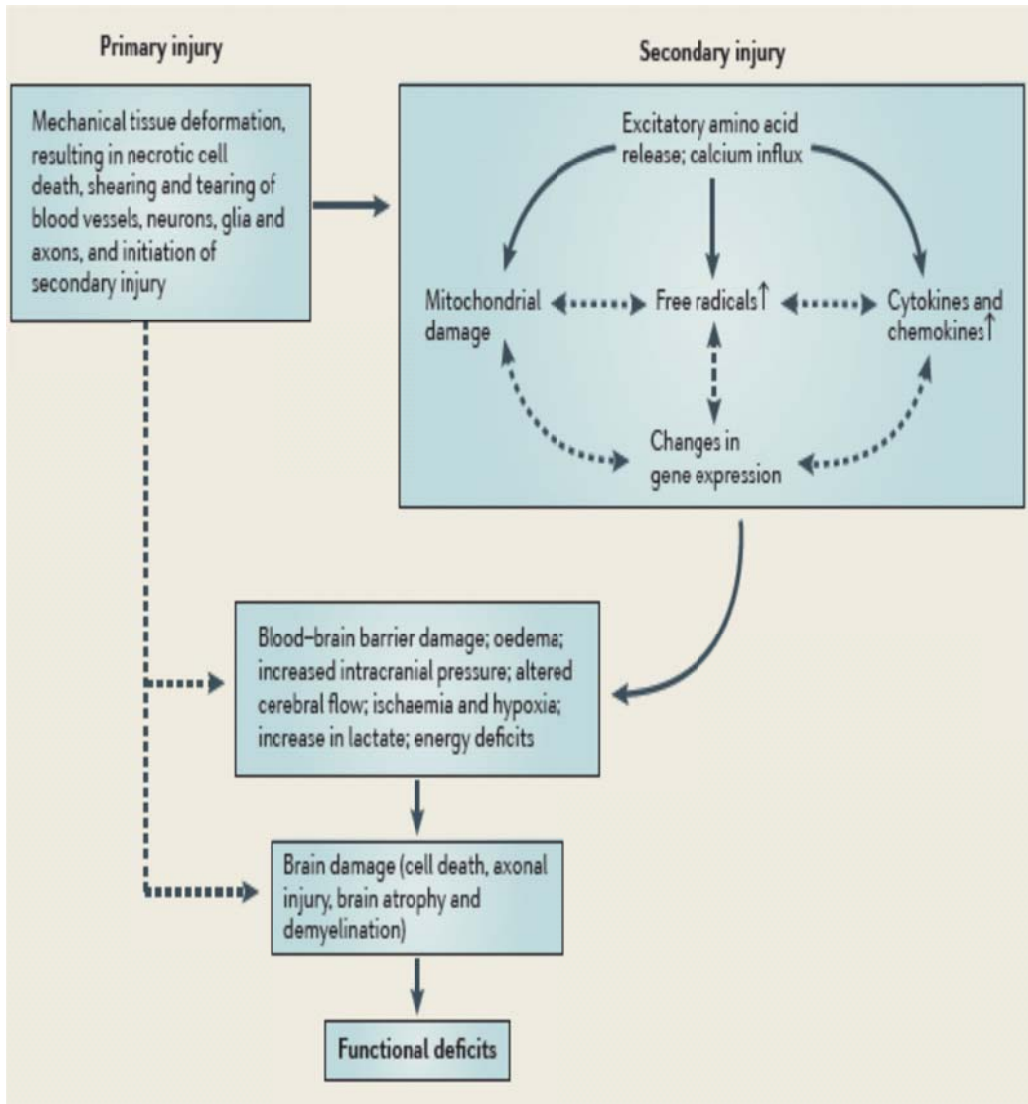
1- akson

2- sinaptik aralık

**B-** Vasküler dokuda oluşan süreç

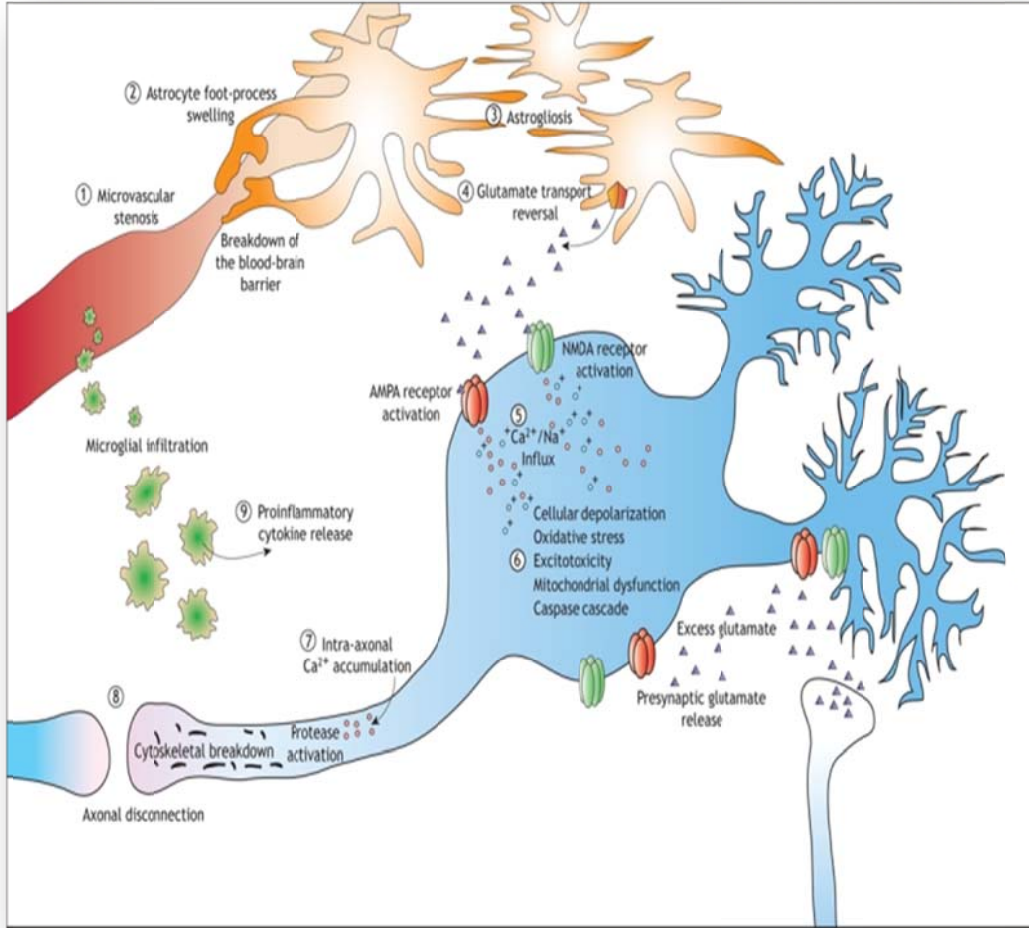
**C-** Kan-beyin bariyerinde oluşan süreç ve beyin ödemi

**D-** İnflamatuar süreç



**Şekil 1. Travmatik beyin hasarının patofizyolojisi** [Animal models of traumatic brain injury, Nat Rev Neurosci. 2013 Feb. de yapılan çalışmadan alınmıştır.79]





**Şekil 2. Travmatik beyin hasarı sonrası ikincil yaralanma fizyopatolojinde önemli süreçler.** [Traumatic brain injury: can the consequences be stopped?, CMAJ. 2008 Apr de yapılan çalışmadan alınmıştır. 85]

## A- Nöronal Dokuda Oluşan Süreç

### 1- Nöron-akson

Difüz aksonal yaralanma(DAI); Beyaz cevher yollarında birden fazla küçük lezyonlar ile karakterizedir. Bu tür hastalar genelde koma halinde olur ve kötü prognozları vardır.Son

yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda, eskiden kabul görmüş olan, diffüz aksonal yaralanma sırasında aksonların, darbenin olduğu sırada tamamen yırtılması teorisinde önemli değişiklikler yapmıştır. Bu çalışmalara göre tamamen aksonların yırtılması çok az olup daha çok aksonlarda kısmi hasarlanmalar olmaktadır.[85]

**a.** Travma sonrası 5-30 dakikalar içerisinde ve genelde 60 dakikayı geçmeden yırtılmış olan aksonların bütünlüğü tekrardan korunur

**b.** Darbenin etkisi ile aksonlarda oluşan gerilmeler meydana gelir ve bununla birlikte, aksonların büyük bir kısmında daha sonraki zamanlarda, kesilme ya da ikincil aksonotomi oluşur.[85]

Aksonlarda parçalanmalar çoğunlukla nod ve paranodal bölgelerde ve genellikle de intermodal bölgede oluşuyor. Bu nodal gerilme hızlı bir aksonal hasarlanma ile sonuçlanabilirken çoğunlukla tam bir hasarlanma ile sonuçlanmaz ve gelişen diğer fizyopatolojik olaylar sonucu ya ikincil olarak aksonotomiye dönüşür yada iyileşerek normal fonksiyonel yapıya geçer.[85,88]

## ***2- Sinaptik aralık***

Direkt travmanın etkisi ile aksonların ranvier nodları üzerinde bu değişiklikler oluşurken aynı zamanda travma sinapslar üzerinde de değişik problemlere sebep olabilmektedir. Kafa travması çalışmalarında direkt travmanın etkisi ile bir çok nörotransmitter seviyelerinde değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda özellikle eksitator aminoasitlerin ekstrasellüler potasyumun 3-4 kat fazla oranlarda bu bölgede olduğu gösterilmiştir. Bir de travma üzerine iskemik olaylar eklendiğinde bu eksitator aminoasitlerdeki artış 50-60 kat fazla seviyelere ulaşmaktadır. Ayrıca ekstrasellüler bölgede potasyum artışı eksitator aminoasitlerin salınımını tek başına da arttırabilmektedir. Bu artan eksitator aminoasitler postsinaptik aralıkta birtakım reseptörlere bağlanarak etkilerini

göstermektedirler. Bu reseptörlerden olan NMDA reseptörleri eksitatör aminoasidlerin kendisine bağlanması ile nöronda depolarizasyona sebep olarak hücre içerisine Ca ve Na girişine sebep olur. Bir diğer reseptör olan AMPA'nın etkisi ise sadece hücre içine Na, hücre dışına K çıkışının sağlanmasıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar metabotropik eksitatör aminoasid reseptörleri adında değişik bir reseptör çeşidinin varlığını ortaya koymuştur. Ca iyonları yaşamın temel mesajcıları olarak kabul edilir.[85,88]

Ca iyonları hücre için temel fonksiyonlar olan mitozun başlaması, regülasyonu, motilite, büyüme, sekresyon gibi işlevleri düzenler. Ancak özellikle nöronlar için kontrolden çıktığında ölümcül olur. Travmadan sonra oluşan hücre içindeki Ca miktarlarındaki artış, hücre içinde bulunan fosfolipaz, proteaz ve lipazları aktive ederek hücre proteinlerinin, lipidlerinin ve DNA'nın sindirilip parçalanmasına sebep olur. Postravmatik eksitatör aminoasidlerin artışı beyin dokusunda OH yapımını artırmaktadır. Ayrıca artmış hücre içi Ca'da sebep olduğu artmış fosfolipaz aktivitesi nedeniyle araşidonik asidlerin yıkılmasına ve bunun sonucunda oluşan serbest radikaller ve hipoksik serbest radikal oluşumu lipid peroksidasyonuna sebep olarak kalıcı nöronal hasarlanmaya sebep olur. [85,88]

### **B- Vasküler Dokuda Oluşan Süreç**

Birincil travma sonrası yaralanma sonucu gelişen kontüzyon ve intraserebral kanamaların etrafındaki dokuda ciddi boyutlarda beyin kan akımında azalma oluşmaktadır. Daha ağır travmalar sonucunda kan damarlarında yırtılmalar ve mikro kanamalar oluşabilmektedir. Serebral damar yaralanması, kan-beyin bariyeri bozulmasına yol açar ve bu da hücre içerisine bağışıklık hücrelerinin girişi ve inflamatuvar reaksiyonların uyarılmasını tetikler. [75]

Beyinde hemen hemen bütünüyle aerobik mekanizmalar hakimdir. Yaklaşık 70 kg ağırlığında olan bir insanın dakikada O<sub>2</sub> gereksinimi 250ml.dir. Beyin kullandığı O<sub>2</sub> miktarı ise 3.3ml./100gram/dakikadır. Bu miktarı sağlamak amacıyla kan akımının 55-

65ml/100gr/dk'nın altına düşmemelidir. Kan akımı bu parametrelerin altına düştüğünde ise iyonik homeostazisi sağlayacak olan enzimler çalışmamakta ve bu noktadan itibaren enerji üretimi anaerobik glikolizis ile sağlanmakta ve bu da aşırı derecede laktat üretimine sebep olmaktadır. Laktat'ın artması hücrede asidozise ve Ca üzerinden hücrenin yıkımına kadar patofiyolojik reaksiyonlara sebep olabilmektedir. Aslında bakıldığında travmanın direkt etkisi ile oluşan iyonik dengenin bozulması ve bunun sonucunda meydana gelen anarşik ortamın düzeltilmesi için postravmatik erken dönemlerde hasarlanan hücrelerde aşırı derece enerji isteği olmaktadır. Bölgesel kan akımında azalma oluşursa bu dokudaki hasarlanma, artan enerji isteğinin karşılanamaması yada anaerobik glikolizisle karşılanabilmesi sonucunda daha da fazla hasarlanabilmektedir. [81,88,90,91]

### **C- Kan-Beyin Bariyerinde Oluşan Süreç ve Beyin Ödemi**

Beyin ödemi ağır kafa travmalı olguların hemen hepsinde oluşur. Travma sonrası ekstrasellüler volümde artış olur. Bununda nedeni ise travmanın yarattığı mekanik etkiye bağlı olarak kan-beyin bariyerindeki bozulma ve orta ağırlıklı moleküllere geçirgenliğinde artışın oluşumudur. Travmanın şiddetinin artışı, kafa içi basınç artışı ile bire bir ilgilidir( özellikle Basıncın 40mmHg ve üzeri olduğu durumlarda).Kafa içi basınç artışı, aynı zamanda hipoksi, iskemi, ödem, hidrosefali ve herniyasona da neden olabilir. [75]

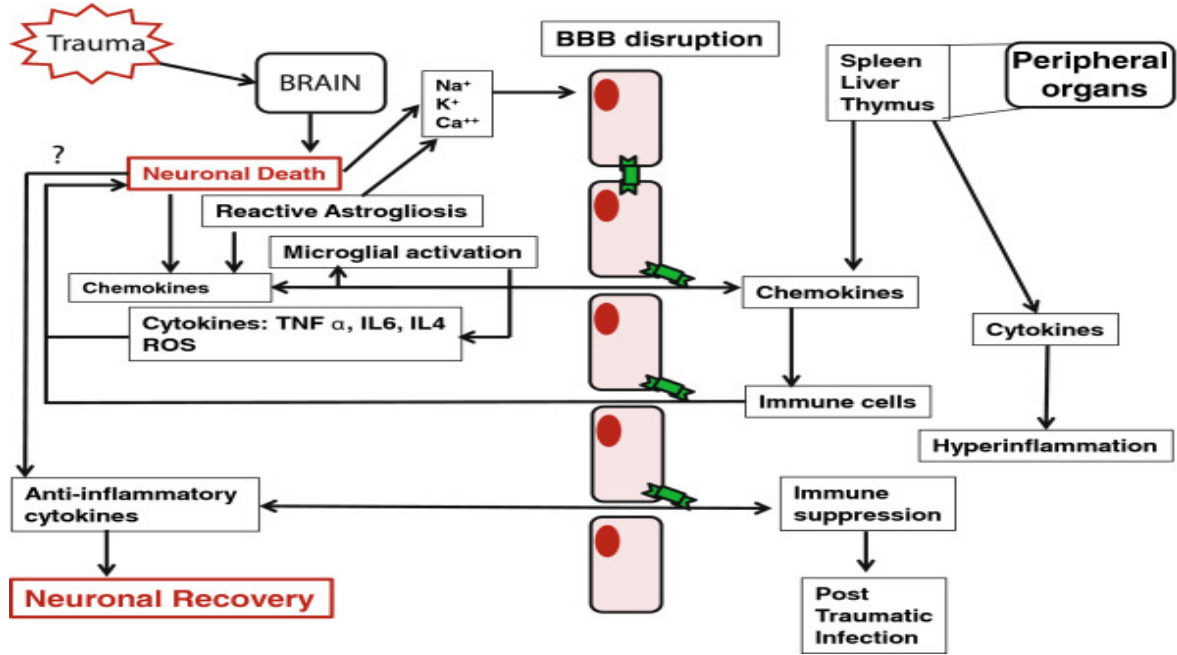
Ödemin oluşumunda, kan-beyinbariyerin bozulması ve serebral damarlarda otheregülasyon bozulmasıyla birlikte vazodilatasyon da rol oynamaktadır. Travma sonrası birinci saatten sonra ekstrasellüler mesafe hızlı bir şekilde küçülerek su molekülleri hücre içerisinde artmaya başlar. Bu sırada meydana gelen glikozun mikrosirkülasyona ulaşamaması ya da ikincil gelişen iskemi sebebi ile iyonik hemostazisin tekrar sağlanamaması, hücre içi ödemin daha da fazla artmasına sebep olur. [75,90,92] Genel olarak, travma sonrası sitotoksi ödemin vazojenik ödeme göre daha baskın olduğu düşünülmektedir.

## **D- İnflamatuvar Süreç**

Travmatik beyin hasarı; karmaşık bir patofizyolojik süreç olup; beyin dokusundaki immün yanıtın uyandırması yanısıra sistemik immün cevapları da başlatır. Birincil hasar sonrası gelişen kan-beyin bariyer bozulması ve nöronal yaralanmalar sonucunda, bir dizi inflamatuvar reaksiyonların başlamasına ve dolayısıyla kemokinlerin üretimi ve lokal bağışıklık hücrelerinin aktivasyonuna neden olur. Sistemik dolaşımda olan immün hücreleri bozulmuş olan kan-beyin bariyeri sayesinde beyin dokusu ve travmatik bölgeye ulaşır ve bir dizi mediyatörleri salgılanmasıyla hücre şişmesi ve ölümüne yol açır. Bu işlemler sırasında en önemli nokta nötrofillerin dokuya infiltrasyonudur. Bu infiltrasyonda sellüler adheziv moleküllerin salgılanması, inflamatuvar mediyatörlerin üretimi, yüzeyel antikoagülan mekanizmaları bozulması ile oluşan endotel hücre hasarlanması ile tetiklenir. Nötrofillerin aktive olmaları sonucunda serbest radikaller salgılanır ve proteazlar açığa çıkar ve vasküler yapılarda hasarlanmalara sebep olarak kan-beyin bariyerini bozup beyin ödemine sebep olur. Ayrıca bu mekanizmalar içerisinde nöronlar arasında iletişimi sağlayan, vasküler yapının tonositesinde etkili olan ve pıhtı oluşumu ve nötrofiller üzerinde toplayıcı etkisi olan nitrik oksid de yer alır. Kafa travmaları sonrası ortamda oluşan Nitrik oksiti sentezleyen enzimlerden olan endotelial kaynaklı nitrik oksit sentetaz serebral mikrosirkülasyonda vazodilatatör etki ile prognozu iyileştirici etki yaparken, nöronal kaynaklı olan ve inflamatuvar olaylarda indüklenen formları ile serbest radikaller oluşturarak mitokondrial fonksiyonları bozmakta ve DNA yıkımı ile direkt hücre ölümlerine sebep olmaktadır. [75,92]

Serbest oksijen radikallerin travmatik beyin hasarın fizyopatolojisinde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca travmatik beyin hasarı, sadece beyin dokusunu değil; Periferik organları da sistemik immün yanıtı uyandırmakla etkileyip multi organ hasarına yol açabilir. Sonuçta, bu immünopatolojik reaksiyonlar nedeniyle birincil travma sonrası aksonal yaralanmalar ve dejenerasyon üzerine ikincil hasar da eklenerek travmatik beyin yaralanmasında en önemli klinik tabloya yol açan, yaygın aksonal hasar ve yaygın beyaz cevher dejenerasyonuna neden olmaktadır. [75,92]

Günümüzde bu aşırı savunma mekanizmalardan kaynaklanan etkilere karşı bir tedavi protokolü mevcut değildir. [75], (Şekil 3), (Tablo 2)



**Şekil 3. Travmatik beyin hasarında mekanizmalar.**

New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury. J Neuroinflammation. 2012 Oct .de yapılan çalışmadan alınmıştır.[75]

**Tablo 1.** Travmatik beyin yaralanmasında önemli rolü olan inflamatuvar mediatörler: [New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury. J Neuroinflammation. 2012 Oct .de yapılan çalışmadan alınmıştır75]

Chemokines/ cytokines	Functions	Reference
CCL2	Macrophage infiltration	Stirling <i>et. al.</i> , 2004 [42]
CCL20	Inflammatory activator and immune cell attraction	Helmy <i>et. al.</i> , 2010 [43]; Comerford <i>et al.</i> , 2010 [44]; Das <i>et. al.</i> , 2011 [45]
CCL21	Neuromodulatory	Biber <i>et. al.</i> , 2002 [46]; de Jong <i>et. al.</i> , 2005 [47]
IL-1	Neuronal injury	Rothwell, 1999 [48]
IL-6	BBB dysfunction, neuroprotection	Kossmann <i>et.al</i> , 1995 [49]; Penkowa <i>et.al</i> , 2003 [50]
IL10	Neuroprotective	Kremlev and Palmer, 2005 [51]
TNF- $\alpha$	BBB breakdown, Cerebral inflammation,	Kim <i>et. al.</i> , 1992 [52] Ramilo <i>et. al.</i> , 1990 [53]
IL-8	Neutrophil infiltration	Whalen <i>et. al.</i> , 2000 [54]

## 2.5 Kafa Travmalarinin Mekanizması

İnsan vücudu günlük hayatta birçok değişik şekilde mekanik güçlerle karşılaşabilir.Uygulanan gücün şiddeti dokuların karşı koyma kapasitesini aşarsa doku hasarı oluşur. Gücün şiddeti genel fizik kurallarına uyar. Vücut dokuları üzerindeki aşırı mekanik gücün etkisi ile kompresyon, traksiyon, torsiyon oluşur ve sonuçta oluşan hasarın niteliği sadece mekanik güç ile orantılı değil aynı zamanda hedef dokunun yapısı ile de ilgilidir. [82]

Kafa travmalı hastalarda ortaya çıkan kompleks patofizyolojik fenomenler,beyin ve beyni çevreleyen yapılara dışarıdan uygulanan mekanik güçlere verildiği yanıtı göre değerlendirilir. Kafa travmasına yol açan mekanik faktörlerin anlaşılması hem etkin önlem stratejilerinin kurulması ve hem de kafa travmalarının kısa ve uzun dönemdeki olumsuz sonuçlarının azaltılması için gereklidir. Mekanik gücün yönü, büyüklüğü, uygulanım hızı, süresi ve yeri kafa travmasının tipinin ve ağırlığının belirlenmesini sağlar. [82,83]

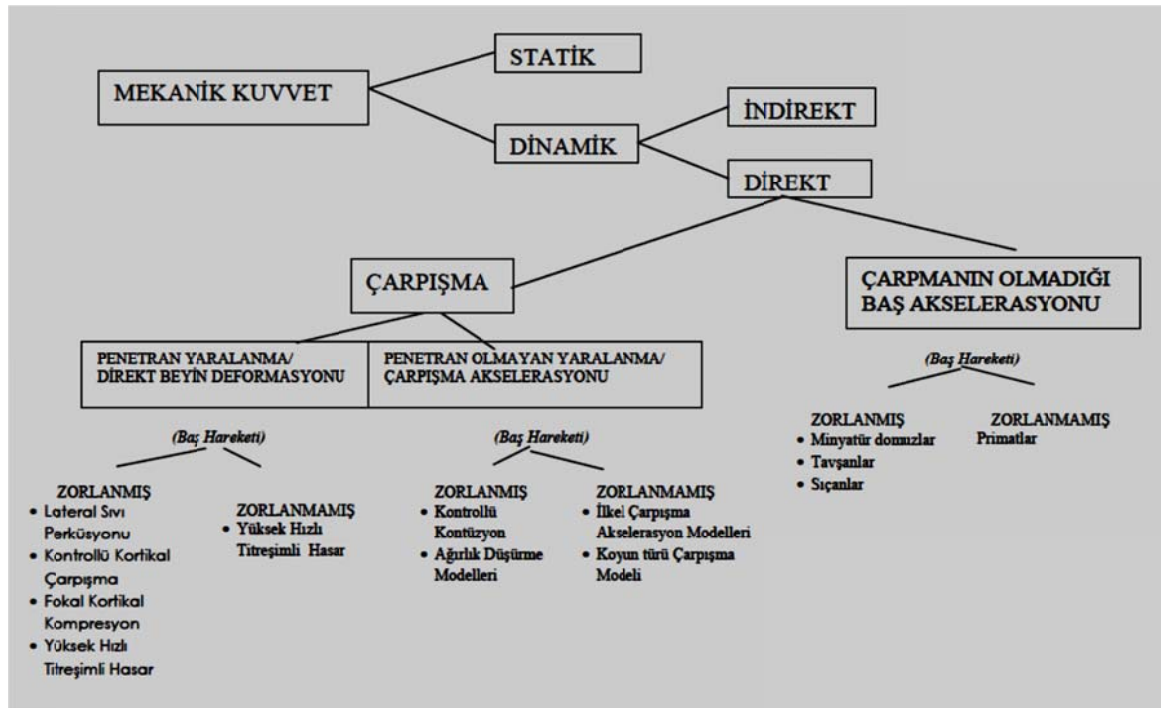
Kafaya yönelik mekanik güçler çok sayı ve şekillerde uygulanır: [13,82,86,90,92]  
 Travma sırasında kafaya yüklenen güçler iki şekilde uygulanabilir: Uygulanan gücün amplitüdü, hızı, süresi ve ivmesi, gücün biomekaniğini belirtmektedir. [86,90,92]

### 2.5.1 Travma Biomekaniği:

#### A. Statik yüklenme

#### B. Dinamik yüklenme

**Tablo 2.** Travmatik beyin yaralanma mekanizmaları



#### A. Statik yüklenme:

Statik modellerde mekanik güç; Belirli amplitüd ve süreye sahiptir, oysa hız ve ivme ile ilgisi yoktur. Doğal olarak, statik modellerde genellikle travma ile ilgili olan morfolojik ve



fonksiyonel özellikler üzerinde odaklanmaktadır. Bir kranial sinirin forceps nedeniyle belli bir zaman süresi için ezilmesi, bu tür yaralanma tipine verilmesi gereken uygun bir örnektir. [86]

Statik yüklenme yavaş ve tedricidir. Bu tür travmada gücün uygulanması, 200msn yada daha uzun bir süre içerisinde kafanın sıkışması ve etki altında kalmasına neden olur. Çığ, deprem gibi doğal afetler ile kafayı sert yapılara karşı sıkıştıran, yavaş hareket eden araçlarla bu tür güç yüklenmesi ortaya çıkabilir. [82] Statik güç yüklenmesi sonucu kubbe ve kaide kemiklerinde çok sayıda kırıklar oluşabilir. [83]

Bu tür travmada kafaya yüklenen enerjinin çoğunluğu kraniyumla abzorbe olup deprese fraktürler ve yüzeysel beyin doku hasarı ile sınırlı kalır. Bu esnada bilinç genellikle korunur. Beyin deformasyonuna yeterli olacak statik güç seviyesine ulaşmaya kadar nörolojik defisit ortaya çıkmaz. Bu noktadan sonra ölüme kadar varabilen ciddi beyin hasarları oluşur. [81]

### **B- Dinamik yüklenme ;**

Kafa travmasında en sık rastlanılan mekanizma tipidir. Zedelenme 20m/sn den daha az süre içerisinde oluşur. Uygulanan gücün belli miktarda amplitüd, hız, süre ve ivmeye sahip olması gerekmektedir. Transfer edilen enerjinin geçiş süresi kafada ne çeşit bir lezyon oluşacağını belirleyen kritik bir faktördür.

Dinamik güç aktarımı iki şekilde görülebilir: [14]

#### **a- İmpact (Darbe)**

#### **b- impulsive (Dalga)**

**Darbe gücü** çok daha sık rastlanan bir dinamik güç şeklidir.

**Dalga gücü** hareket halindeki kafanın durması yada duran kafanın hareket etmesi ile yüklenen güç olup; Bu esnada kafanın herhangi bir yere vurması gerekmektedir. Omuzlarından tutulan bir çocuğun ileri, geri şiddetli şekilde sarsılması örnek olarak verilebilir. Bu şekilde kafaya bir darbe olmamakla birlikte başın akselerasyon ve deselerasyonu (ivmelenme) ile beyin hasarı oluşmaktadır.

**Darbe ve dalga gücü** arasındaki etiyolojik farklılıklara rağmen kafatası ve beyin hasarı oluşumunda esas mekanizma aynıdır. Bu mekanizma kemik ve yumuşak dokuların fonksiyonel ve yapısal toleranslarının aşılmasıdır.

**Patlama** nedeniyle oluşan travmatik beyin yaralanmaları, günümüzde travma biomekaniğine yeni girilmiş olan gündemdir. Beyin hasarın mekanizması tam olarak tanımlanmamıştır ancak erken dönemde şiddetli beyin doku şişmesi, subaraknoid kanama ve belirgin vasospasm ile karakterizedir. [3,5,81]

### **Kontakt yaralanmalar ;**

Bu tür yaralanmalar, temas esnasında ortaya çıkangüçlerebağlı olarak kontakt fenomen sonucunda oluşur. Darbelerin büyük bir kısmı kafada az ya da çok bir hareket oluşturmaktadır ve çoğunlukla temas etkisinin üzerine atelet yaralanmaları da eklenir. Sonuç olarak travma nadiren tek bir mekanizma ile etkili olmaktadır. Kontakt güçler etkilerini darbenin olduğu yer ve yakınında ya da uzağında olmak üzere iki alanda gösterebilir. Her iki durumda da lokal lezyonlar oluşur, diffüz beyin yaralanması yapmazlar.

### **Lokal Kafatası Yaralanmaları ;**

Kontakt güçlerin lokal etkilerine, lineer (çizgisel), deprese (çökme) kafatası kırıkları, bazı bazis krani fraktürleri, epidural hematom ve kup kontüzyonlar örnek olarak verilebilir.

### **Uzak Kafatası Yaralanmaları ;**

Darbe alanının uzağında meydana gelen yaralanmalar iki mekanizma ile oluşur:

*a-* Lokal ve global kafatası şekil değişikliği

*b-* Stres (şok) dalgaları

Her iki mekanizma darbe noktasının uzağında kubbe ve kaide kırıkları ile kontur kup ve orta (intermediate) kup kontüzyonları oluşturabilir.

**İvmelenme Yaralanmaları ;** Darbe yada dalga gücü yüklenmesinde ortaya çıkan,kafanın hızlı hareketi sonucu oluşan atelet yaralanmaları genellikle akselerasyon deselerasyon yaralanmaları olarak adlandırılır. Mekanik olarak akselerasyon ve deselerasyon aynı fiziksel fenomen olup sadece yön açısından farklıdırlar. Kafanın sagittal planda arkadan öne (posteriordan anteriora) devinimi olan akselerasyon ile önden arkaya (anterioridan posteriora) devinimi olan deselerasyon arasındaki etkiler aynıdır. Kontakt yaralanmalara benzer şekilde atelet yaralanmaları da beyin dokusunda fonksiyonel ve yapısal hasarı iki mekanizma ile oluşturur.Temas ya da ivmelenme güçleri beyin dokuların yapısal toleransın ötesinde geçerse **Gerilme** fenomenine yol açar.

**Gerilme;** mekanik güçlerin yüklenmesi sonucunda dokuda ortaya çıkan deformasyon miktarı olarak tanımlanabilir. Üç tip gerilim vardır:

a- Kompresyon

b- Kopma

c- Kesilme.

Belirli bir güç aktarımı sonucu oluşan hasar, gerilimin tipi, lokalizasyonu, süresi,önü ve mevcut gerilime dokunun karşı koyma gücü ile bağlantılıdır. Kafa travmalarında, kompresyon, kopma ve kasmaya karşı toleransları farklı olan üç dokunun hasara uğraması söz konusu olup; Bunlar kemik, beyin ve vasküler dokular olarak ayrılmaktadır. Kemik, beyin ve damar dokusuna oranla daha dayanıklı olup; kopma oluşturabilmek için daha çok güce ihtiyaç vardır. Vasküler yapılar ise beyin dokusu gibi kompresyona karşı daha dayanıklıdır.

Beynin sıkıştırılmaz olması, Kopma-kesilmeye karşı çok az tolerans göstermesi, bununla birlikte kompresyona karşı dayanıklı olmasına bağlı olarak beyin hasarları oluşumunda temelde kopma ve kesilme mekanizmaları önemlidir. Aynı durum vasküler yapılar içinde geçerlidir. Ayrıca vasküler yapılar beyin dokusuna oranla enerji transferinden daha fazla etkilenir. [82,92,93]

Atalet (akselerasyon-deselerasyon) ve darbe (kafatası eğilmesi-şok dalgaları) güçlerine bağlı olarak gelişen gerilim olayı, doku yaralanmasının temel nedenidir. [82,93]

## **2.6. Travmatik Intrakranyal Lezyonlar**

### **2.6.1. Birincil Travmatik Lezyonlar**

#### **1- Birincil Nöronal Yaralanmalar**

a- Kontüzyon

b- Diffüz aksonal hasar

c- Birincil beyin sapı yaralanmaları

## **2- Birincil Kanamalar**

- a- Epidural hematoma
- b- Subdural hematoma
- c- İntraserebral hematoma
- d- Diffüz kanamalar

## **3- Travmatik Pia, Araknoid Yaralanmaları**

- a- Subdural higroma
- b- Posttravmatik araknoid kist

## **4- Birincil Vasküler Yaralanmalar**

## **5- Kranyal Sinir Yaralanmaları**

### **2.6.2. İkincil Travmatik Lezyonlar**

- 1- İnfarkt
- 2- Diffüz hipoksik hasar
- 3- Diffüz beyin şişmesi, ödem
- 4- Herniasyona bağlı basınç nekrozu

5- İkincil beyin sapı yaralanması

6- Diğerleri (pnömosefali, BOS fistülü, geç kanama)

Birincil beyin yaralanmaların iki tipte olabılabilmektedir:

**1.Fokal:** Buna örnek olarak kafatası kırığı, intrakranyal kanama, Laserasyon, kontüzyon ve penetre verilebilir.

**2.Diffüz** yaralanmalar da ise diffüz aksonal yaralanmalara işaret edebiliriz.<sup>90</sup>

### **2.6.3. Diffüz Beyin Şişmesi, Ödem**

Kafa travmasını takiben fokal veya diffüz beyin şişmesi meydana gelebilir. Kafa travması geçiren hastalarda beyin şişmesi bir kaç nedenden dolayı gelişmektedir: [92.99]

A. Kan-beyin bariyerin bozulması ve vazomotor otoregülasyonda bozulmaya bağı beyin dokusunun su içeriğinin artması.

B. Nörokimyasal ajanların salgılanma ve beyin dokusundaki etkileri

C. Kafa içi basınç artışı

Tüm beynin diffüz şişmesine, çocuk ve adölanlarda, yetişkinlerden daha sık rastlanır.<sup>99</sup> Patogenezi tartışmalıdır, vasomotor tonusun geçici kaybı sonucu beyin kan volümünün artmasıyla oluştuğı kabul edilmektedir. Diffüz beyin şişmesi bazı yayınlarda ödemden ayrı olarak tanımlanmaktadır. Bu yayınlarda posttravmatik dönemde ilk başta gelişen olayın vazodilatasyon ve artmış serebral kan akımı olduğu belirtilmekte ve bu diffüz beyin şişmesi olarak kabul edilmektedir. Serebral kanakımının artmaya devam etmesiyle

sıvının ekstrasvasküler aralığa geçmesi sonucu gerçek ödemin gelişebileceği söylenmektedir. [98]

#### **2.6.4. Ödem Sınıflaması**

Beyin ödemin sınıflandırması ilk kez 1967'de yapılmıştır. Buna göre vazojenik ve sitotoksik olmak üzere iki tip ödem mevcuttur. 1975'de bu sınıflamaya hidrosefalik hastalarda gözlenen interstisyel ödem ve osmotik dengenin bozulmasından kaynaklanan ozmotik ödem de eklenmiştir.101Ozmotik ödemde özellikle sodyum (Na+) gibi elektrolitlerin dengesindeki bozulma ve hücre içine su girişindeki artış söz konusudur. [103]

Vazojenik ve sitotoksik ödem oluşumunda birçok faktörün rolü olduğu belirtilmiştir. Bunlarrasında glutamat, NO, araşidonik asit ve metabolitleri, histamin, kininler, interlökinler,vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), laktat, serbest oksijen radikalleri, potasyum (K+), hidrojen (H+) ve kalsiyum (Ca2+) yer almaktadır. [102] , (Tablo 3)

Tablo 3. Ödem sınıflandırması [101]

	<i>Vazojenik</i>	<i>Sitotoksik</i>	<i>Ozmotik</i>	<i>İnterstisyel</i>
<i>Neden</i>	KBB hasarı, Akut: travma, inme, hemoraji, arteriyel hipertansiyon Kronik: Tümör, apse, ensefalit	İskemi, Anoksi, İntoksikasyon	Metabolik bozukluk: Diyaliz, Dehidratasyon, Diyabetik koma	Obstriktif hidrosefali
<i>Oluşumu</i>	Doku hasarı sonucu kapiller endotel hücrelerinin geçirgenlik artışı	1. Hücre zarında Na/K geçirgenliğinde artış 2. Na/K-ATPaz pompasında bozukluk 3. Osmotik maddelerin almında artma	Ozmotik gradient (plazma→doku)	Beyin- omurilik sıvısının geri emilimi ya da eflüksunun bozulması
<i>Geçirgenlik</i>	Artar	Değişmez	Değişmez	Değişmez
<i>Ödem sıvısının özelliği</i>	Proteinden zengin	Protein yok Elektrolitten zengin	Protein yok Elektrolit oranı çok yüksek veya çok düşük	Normal beyin omurilik sıvısı
<i>Morfoloji</i>	İnterstisyel boşlukta genişleme, hücreler şişmez; çoğunlukla beyaz madde etkilenir, sekonder olarak astrositlerde şişme gözlenir.	Hücreler şişer; İnterstisyel boşluk azalır	Hücreler şişer; İnterstisyel boşluk azalır	Sıvı hücreler arasıdır; İnterstisyel boşlukta genişleme



Son çalışmaların sonucunda; bu yaralanmalarda hakim olan ödem tipinin sitotoksik ödem olduğunu göstermiştir. Bu sonuçları başka araştırmalar doğrulamıştır. [101]

Travmatik beyin yaralanmasında iyonik disfonksiyon olduğu ve mekanik zarar ile eş zamanlı olarak ortaya çıkan depolarizasyon sonucunda ekstrasellüler  $K^+$ 'un geçici süre ile arttığı kanıtlanmıştır. Bu iyonik homeostaz kaybına, beraberinde sodyum hareketi eşlik etmelidir. [101]

Travmatik beyin yaralanmasının patofizyolojisinde; Nörotransmitter salınımı, mitokondri disfonksiyonu ve membran depolarizasyonu, normal iyon gradiyentlerinde değişikliğe neden olabilecek, olaylar kaskadını tetiklediği düşünülmektedir. Bu süreçte, eksitatuvar amino asitler salınır ve membran depolarizasyonu, iyonların elektrokimyasal gradiyentlerinden aşağıya doğru hareketine izin veren ligand kapılı iyon kanallarını aktive edebilir. İyon akımı ve travma sonucu membrane depolarizasyonu, voltaja duyarlı iyon kanallarını tetikleyebilir. Ardından iyon hareketine başka yollar sağlar. Bu iyonik bozukluklar, ekstrasellüler  $K^+$ 'da artış, beraberinde ekstrasellüler  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$  ve  $Cl^-$ 'da azalma ile belirlenir. İyonik homeostazı yeniden sağlanması  $Na^+-K^+$  adenosin trifosfataz,  $Na^+/K^+/2Cl^-$  cotransporter,  $Na^+-H^+$  transporter  $Na^+-Ca^{+2}$  değiştiricisi gibi enerjiye bağlı co- ve counter (birlikte ve karşılıklı) işlemler veya vasküler ya da BOS kompartmanına basit sürüklenme yolu ile olabilir. Beyin yaralanmasına eşlik eden iyonik hareketteki net dengenin ekstrasellüler boşluklardan hücrelerin içine katyon hareketine neden olduğundan kesin bir kanıt mevcut değildir.  $Na^+$  ve  $Ca^{+2}$  hareketini elektronötraliteyi korumak için, pasif olarak  $Cl^-$  ve bunu da izozmotik olarak su takip eder. Devam ederse bu iyonik bozukluklar kafa içi basınç artışının esas katılımcısı olduğu gösterilen, hücre şişmesi ve sitotoksik ödeme neden olabilir. [104]

## **2.7 Kafa Travmalı Hastaya Yaklaşım Ve Değerlendirilme**

Travmatik beyin hasarı; çevresel mekanik güçlerin beyin üzerine oluşturduğu etkilerden kaynaklanan bir kavramdır. Bilinç değişiklikleri ile eşlik eder ve bu yaralanma

sonucunda kalıcı veya geçici kognitif, fiziksel ve psikososyal fonksiyonlar oluşabilmektedir. Travmatik beyin hasarı için standard bir tarif mevcut değildir ve yazarlar arasında çeşitli şekilde tariflenmiştir. Norolöjik kayıplarla eşlik etmeyen kafa travması kavramının, norolöjik defisitleri ile beraber seyir eden beyin yaralanmasından farklı olduğunu unutmamalıyız. [92]

Kafa travmalı hastaya gerekli tedavinin acil olarak yapılabilmesi için beyin hasarının cinsi, yaygınlığı bilinmelidir; hastalar belirli zaman dilimleri içinde patofizyolojik değişmeler için sıkı takip edilmeliler. Norolöjik muayene, serebral hasarın şiddetini, yayılımını değerlendirmede ve zaman içinde nörolojik durumlardaki değişiklikleri belirlemede çok önemlidir.

Nörolojik muayenede bilinç, motor fonksiyonlar, pupillalar, göz hareketleri incelenir. Genel muayene ile travmanın yeri, şekli, potansiyel tehlikeleri ve vital fonksiyonlar belirlenir.

Serebral fonksiyonların değerlendirilmesinde en önemli kriter, basit emirleri uygulayabilme yeteneğidir. Beyin hasarının anatomik, patolojik ve fizyolojik tipi ve şiddetini acil olarak belirtecek tanı yöntemi, bilgisayarlı tomografidir. [100]

## **2.8 Kafa Travmalı Hastalarda Radyolojik Tanı Yöntemleri**

Bilgisayarlı tomografi, kafatası kırıkları ve intrakranial patolojileri görüntülemeye ilk yöntem olarak kullanılmaktadır. Yaygın bilateral serebral ödem bilgisayarlı tomografide tipik olarak gri-beyaz cevher arayüzünün kaybı ve parankimde dansite azalması şeklinde görülür. Diffüz serebral ödemdeki en güvenilir bulgu; yüzeysel sulkusların ve baziler subaraknoid alanların özellikle suprasellar ve perimezensefalik sistemlerin silinmesidir.. Serebellum, nisbeten korunması nedeni ile hiperdens görünümündedir. Kontrastlı bilgisayarlı tomografide diffüz kontrastlanma görülür. Kontrastlanmanın nedeni genişlemiş vasküler yapılardaki kandır [100].

MR görüntülemeler travmatik beyin hasarı sonrası beyin dokusunun detaylı incelenmesini sağlamaktadır. Travma sonrası geç dönem akson yaralanması konusunda değerli bilgiler vermektedir. Bunlara rağmen uzun sürmesi nedeniyle erken dönemde kullanılmamaktadır. Diffüz aksonal yaralanma sonrası MR görüntülemeleri ile hastalığın prognozu hakkında önemli veriler elde edilebilmektedir. [100,113]

## **2.9 Kafa Travmalı Hastaların Tedavi Yöntemleri**

Travmatik beyin hasarında genel yaklaşım; birincil hasarın tanımlanması ve tedavi edilmesi; ayrıca ikincil hasarın oluşumunun önlenmesi ve oluştuğu takdirde tedavi edilmesine yöneliktir.

### **2.9.1. Genel Müdahaleler**

Bu hastaların tedavisinde; yaşam desteğinin verilmesi, en önemli tedavidir. Hava yolunun açık tutulması, oksijenasyonu, ventilasyonu ve hipotansiyonun hızlı şekilde tedavi edilmesi, ilk yapılması gereken tedavilerdir. [1,5,6,7]

Hiperkarbi ve hipoksiden kesinlikle kaçınılmalıdır. Hiperkarbi ve hipoksik durumlarda intrakranial damarların vazodilatasyonuna ve ardına beyin kan hacmi ve akımının artışına yol açabilir ve bu da kafa içi basınç artışına yol açabilmektedir.  $PCO_2$  değerinin normalin en düşük seviyesinde tutulması ve  $PO_2$  değerinin 60mm Hg nin altına düşmemesine dikkat edilmelidir.[8,9] Endotrakeal entübasyonda kullanılan ilaçların aşağıdaki nedenlerden dolayı dikkatle seçilmesi önerilmektedir:

- Kafa içi basıncı arttırmayan
- Beyin oksijen metabolizma ve tüketimini üzerinde arttırıcı etkisi olmayan
- Hipotansiyona yol açmayan ilaçların seçilmesi

2012 yılında yayınlanan “Acute management of severe traumatic brain injury” kılavuzu Dünya Pediatrik Yoğun Bakım ve Erişkin Yoğun Bakım Fedarasyonu tarafından ikinci baskısı yayınlanmıştır. [15]

Travmatik beyin hasarındaki en önemli ilke beyin hasarının saptanması ve ikincil beyin hasarının önlenmesi ve tedavisidir. Bu sekönder beyin hasarına sebep olabilen ve tedavi edilebilen nedenler aşağıdaki şekildedir

- Hipoksemi
- Hipotansiyon
- Artmış kafaici basınca bağlı olarak ortaya çıkan intrakranial hipertansiyon
- Hiperkarbi ve ya hipokarbi
- Hiperglisemi ve ya hipoglisemi
- Elektrolit bozuklukları
- Hematom büyümesi
- Koagülopatiler
- Nöbet
- Hipertermi

### **İlk müdahaleler**

Ağır travmatik beyin hasarı (GKS:3-8) güncel temel yaşam desteği klavuzlarını izlemektedir. İlk olarak resütasyonun temel elementleri olan havayolunu açmak,

oksijenizasyonu ve ventilasyonu sağlamak ve dolasını sağlamak şeklindedir. Havayolu sağlanırken ilk basamak olarak uygun airway yerleştirilmesi, ağız içinin aspirasyonu ve orotrakeal entübasyondur. Tüm bunlar yapılırken servikal omurgalara ikinci zararın oluşmamasını sağlamaktadır. Hiperkarbi ve hipoksiden kaçınılmalıdır çünkü bunlar serebral vasodilatasyona sebep olarak beyine giden kanı arttırarak kafa içi basıncın artmasına sebep olmaktadır. orotrakeal entübasyon bilinç kaybı olan hastalarda havayolu açıklığının sağlanmasında daha iyi oksijenasyon ve ventilasyon sağlamaktadır.

Mevcut resusitasyon sırasında amaç normal sınırlarda CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub> 35-39 mmHg) ve hipoksinin engellenmesi olarak söylenebilir. Böylece travmaya bağlı ikinci beyin hasarı engellenebilir veya tedavi edilebilir. Servikal omurga hasarına bağlı olarak nazotrakeal entübasyondan kaçınılmalıdır. Ayrıca kafa tabanı kırığı olan hastalarda da nasotrakeal entübasyon direk beyin hasarı olusturabileceğinden dolayı kaçınılmalıdır.

Özel sinir sistemini koruyucu önlemlerin de alınması resütasyonu sırasında sağlanmalıdır. Bunlardan bazıları :

- İntrakranial basınç artışının engellenmesi
- Serebral oksijen kullanımının en aza indirilmesi
- Hipotansiyondan kaçınılması

### **Kullanılan İlaçlar**

Travmatik beyin hasarı olan hastalar entübe edilirken yaygın olarak günümüzde midazolam , fentanil, etomidate ya da licokaine ile birlikte nöromusküler blokerler kullanılmaktadır. Bu tedavilerin olası yan etkileri ise hipotansiyon, göğüs kafesinin rigiditesi, adrenal supresiyon ve miyoklonüstür.[113]

Tiopental eskiden entübasyonda kullanılırken artık amerıkada entübasyon amacı ile kullanılmaktadır. [155]

Propofol entübasyon için genel olarak önerilmemektedir nedeni de propofol infüzyonuna bağlı olusabilecek rhabdomyoliz, kalp yetmezliği , ağır metabolik asidoz, ve böbrek yetmezliğidir.Bu yan etkiler nadir olmasına rağmen genellikle uzun süreli infüzyonlara bağlı olarak görülmektedir hatta bazen ölümcül olabilmektedir. [155]

Ketaminden genel olarak kaçınılmaktadır çünkü ketaminin kafa içi basıncı arttırdığı düşünölmektedir. Ancak yakın zamanda yapılan prospektif kontrollü bir klinik çalışmada 82 ketamin infüzyonu olan, 30 ventilatöre bağlı entübe çocuk hastada intrakranial basıncı düşürdüğünü göstermiş aynı zamanda da intrakranial basıncı düşürürken kan basıncı düşüşüne ve serebral perfüzyon basıncını düşürmemiştir. Ancak bu hastalar, ketamin infüzyonundan önce diğer sedatifler almış olup, bazıları hiperosmolar tedavi almış, bazılarına ise dekompresif kraniektomi yapılmıştır. [156]

Bu hastalarda her çaba sırasında hipotansiyondan kaçınılmalıdır.çünkü hipotansiyonun morbidite ve mortaliteyi arttırdığı gösterilmiştir.övolemi sağlanmalıdır.Travmatik beyin hasarı nadiren hipotansiyona sebep olmaktadır. Travma kaynaklı diğer hipotansiyon sebeplerinden bazıları :

- İntraabdominal yaralanmalar
- Perikardial tamponad
- Hemotoraks
- Pnömotoraks
- Spinal şoka sebep olan spinal travmalar

Venöz obstrüksiyonu azaltmak amacı ile yapılan yatak içinden kafanın yükseltilmesi intrakranial basıncı azaltılmasına yardımcı olmaktadır. Başın 30 derece yükseltilmesi genel olarak önerilmektedir. Ancak intrakranial basınca göre baş derecesinin ayarlanması daha uygun görülmektedir. Travmatik beyin hasarı olan hastalara taşınırken olası bir servikal yaralanmaya karşı dikkatli olunmalıdır.

Post travmatik hipertermi ( $>38-38,5$ ) travmatik beyin hasarlı hastalarda görülebilen bir durumdur. Vücut sıcaklığının artması, serebral metabolizmayı ve oksijen tüketimini artırarak intrakranial basıncı arttırmaktadır. Ayrıca vücut sıcaklığının artması nöbet eşiğini düşürerek nöbet oluşmasına zemin sağlamaktadır. Buna bağlı olarak bütün çabalar vücut sıcaklığının düşürülmesi üzerine yoğunlaşmalıdır. Vücut sıcaklığının arttığı durumlarda diğer nedenlerde araştırılmalı ve bunlardan başlıcaları enfeksiyonlar ve ateletezidir. [157]

Sedasyon ve analjezikler intrakranial basıncın azaltılmasında önemli rol oynamaktadır. Ağrılı uyaran ve stres, metabolik ihtiyacı arttırmakta; böylece kan basıncını ve intrakranial basıncı arttırmaktadır. Ancak sedatifler ve analjezikler hipotansiyon gibi yan etkilerinin olmasından dolayı dikkatli seçilmelidir. Kısa etkili ve geri döndürülebilir analjezik olan fentaniller ise yaygın olarak kullanılmaktadır. Kısa etkili bezodiazepin olan midazolam sedasyon amacı ile yaygın olarak kullanılırken aynı zamanda da nöbet eşiğini yükselterek nöbet oluşmasını engellemektedir. [73]

### **İntrakranial mönitörleme**

Travmatik beyin hasarı olan ya da GKS:8 veya daha az olan ve intrakranial hipertansiyondan şüphelenilen hastalarda intraprankimal ya da intraventriküler monitör yerleştirilmelidir.

İntrakranial hipertansiyon düşük nörolojik sonuçla ilişkilidir.Yoğun bakım şartlarında intrakranial basıncın monitörize edilmesi, serebral perfüzyon basıncını düzenlemede yardımcı olmaktadır. Serebral perfüzyon basınç , ortalama arteriyal basınçtan intrakranial basıncın arasındaki fark olarak tanımlanmaktadır.

İntrakranial basıncın monitörizasyonu ile kontrollü bir çalışma olmamasına rağmen pediatrik kafa travma merkezlerinde gerekli bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmiştir. Yaş gruplarına göre intrakranial basınç belirlenmemekle birlikte genel kanı ve tedavi amaçları, intrakranial basıncı 20 mmHg'nın altında tutulması yönündedir.

İntrakranial basınç 3 yolla ölçülebilmektedir:

- Eksternal drenaj sistemi
- Kateter uçlu basınç sistemi
- Kateter uçlu fiberoptik sistemi

Eksternal drenaj sistemi, intrakranial basıncı boruların içindeki sıvılar arası iletim ile ölçüm yapar. Kateter uçlu sistemler; ayarlanmış sistemler olup, parankime ya da ventriküler kateter ucuna bağlanabilmektedir. Uzun kullanımlarında ölçümlerinde hatalı olabilirler. Bu sistemde en büyük komplikasyonu diğer sistemlerde olduğu gibi enfeksiyon ve kanamadır. İntrakranial basıncın değeri, serebral perfüzyon basıncının 40-50 mmHg aralığında tutulmalıdır. Yenidoğanlarda bu değer 40'a yakın istenirken erişkinde ise üst sınır olan 50'ye yakın olarak tutulması önerilmektedir. [113]

### **BOS Drenajı:**

Ventriküler drenajın uzun süreli hidrosefalisi olan hastalarda uygun drenaj sağladığı gösterilmiştir. İntrakranial basınç monitörizasyonunun ortaya çıkmasından sonra da yaygın



olarak kullanılmaya devam edimiştir. BOS drenajı, intrakranial hacmi azaltarak intrakranial basıncı azaltır ve serebral perfüzyon basıncını arttırmaktadır.

### **Nöromüsküler blokaj**

Eğer ki mevcut tedaviler intrakranial hipertansiyonu kontrol etmede başarısız olursa nöromüsküler blokaj bir tedavi seçeneği olarak düşünülebilir. Nöromüsküler blokajın faydaları ise titremenin engellenmesi; bu da metabolik ihtiyacı ve oksijen tüketimini azaltmaktadır. Hastanın solunumun ventilatörle çakışmasını engelleyerek daha iyi ventilasyon ve oksijenizasyonun sağlanmasına neden olur.

Nöromüsküler blokla ilgili şüpheler ve çekinceler ise :

- Yetersiz pulmoner drenaja bağlı olarak artmış nozokomial enfeksiyon riski
- Yetersiz sedasyon ve analjeziye bağlı olarak intrakranial basınç artışı
- Hastanın nörolojik takibini zorlaştırmasıdır. [113]

### **Hiperosmolar tedavi**

Hipertonik salin çözeltisi travmatik beyin hasarı olan ve intrakranial basıncı artmış çocuklarda etkili bir tedavi yöntemi olarak bilinmektedir.

Hipertonik salin, serum osmolaritesini arttırarak suyun intraselluler alandan intravasküler alana geçmesine ve böylece beyin ödeminde azalmaya neden olur. Teorik olarak hipertonik salin infüzyonu vasoregülasyonu, kardiyak output, immün modülasyonu ve plasma hacmini arttırdığı bilinmektedir. [158]

Hipertonik salin kullanımının riskleri:

- Kesildikten sonra rebound intrakranial hipertansiyon
- Artmış sodyum seviyelerine bağlı olarak serebral pontin miyelinozis
- Beyin büzüşmesine bağlı olarak köprü venlerinin yırtılması ve subaraknoid kanama
- Böbrek yetmezliği
- Metabolik asidoz
- Hipervolemi

Mannitol; özellikle erişkin travmatik beyin hasarı olan hastalarda uzun süredir İntrakranial hipertansiyon tedavisinde yer almaktadır.

Mannitol kullanımında dikkat edilecek husus ise travmatik beyin hasarı olan hastalarda kan beyin bariyerinin bozulmasına bağlı olarak hasarlı bölgelerde birikmesi ve tersine osmotik şift oluşturması ve intrakranial basıncı arttırmasıdır. Bu nedenle sürekli mannitol infüzyonu önerilmemekte ve bolus şekilde verilmesi önerilmektedir ayrıca mannitol erişkinlerde ve serum osmolaritesinin 320 mosm/l üstünde olduğu hastalarda böbrek yetmezliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak bu veri literatürce tam olarak desteklenmemektedir. Bu hastalarda övolemik hiperosmolar durum hedeflenmektedir. Mannitolun bir diüretik olmasına bağlı olarak mannitol alan hastalarda hipovolemi görülebilmekte buda hipotansiyon ve serebral perfüzyon basıncının düşmesine neden olmaktadır. [159]

### **Hiperventilasyon**

Hiperventilasyon hipokapniye sebep olarak refleks vasokonstriksiyona böylece kafa içi basıncın azaltılmasında fayda sağlamaktadır.vasokonstriksiyon serebral kan akımının

azalmasına, serebral kan hacminin azalmasına; tüm bunların sonucu olarak kafa içi basıncın azalmasını sağlamaktadır.

Herniyasyon varlığında intrakranial basıncı çocuklarda en hızlı azaltan yöntem hiperventilasyondur. Refrakter intrakranial hipertansiyon varlığında tüm tedavilere rağmen bir sonucun alınmadığı durumda hafif hiperventilasyon (pCO<sub>2</sub> 30-35 mm Hg) fayda sağlayabilmektedir.

Hiperventilasyon ile oluşabilecek potansiyel sorun; vazokonstriksiyona bağlı olarak serebral iskemi oluşmasıdır. Aşırı hipokapni vasokonstriksiyona bağlı iskemiye sebep olabilmektedir. Ayrıca hipokapniye bağlı olarak oluşan alkaloz hemoglobin oksijen eğrisini sola kaydırarak oksijenin hemoglobinden ayrılarak dokulara dağılmasını daha da zorlaştırmaktadır. Sonuç olarak travmanın ilk 48 saatinde aşırı hiperventilasyondan (pco<sub>2</sub><30mm hg) den kaçınılmalıdır.

Aşırı hiperventilasyon (pCO<sub>2</sub><30mm Hg) çok acil durumlarda örneğin herniasiyon varlığında ve ya Cushing triadının olduğu durumlarda kullanılabilir. Ancak refrakter intrakranial hipertansiyonun olmadığı durumlarda genel olarak uzun süreli kullanılmamaktadır. Uzun süreli aşırı hiperventilasyon kullanılacaksa, iskemi kontrolü ve beyin dokusunun oksijenizasyonunu gösterme amaçlı, juguler oksijen saturasyonunu gösteren monitörleme, transkranyal doppler önerilmektedir.[113]

### **Barbitüratlar**

Yüksek doz barbiturat tedavisi refrakter intrakranial hipertansiyon varlığında kullanılmaktadır. Barbituratlar beyin metabolizmasını azaltır, metabolik ihtiyacın yüksek olduğu bölgelerde kan akımını artırır, serebral kan akımını ve nöbet eşliğini arttırmaktadır.

Barbituratlar; en düşük dozda kullanılmalıdır.Barbituratların yan etkileri arasında miyokard depresyonu, sistemik vasküler rezistansın azalmasına ve hipotansyon yer almaktadır. Ayrıca bu ilaçlar nörolojik durumun değerlendirilmesini engellemektedir. [113]

### **Vücut ısısı kontrolü**

Hiperterminin (>38-38,5) sinir hasarına katkı sağladığı gösterilmiştir, buna karşılık olarak hipotermi (<35) ikincil beyin hasarına sebep olan nedenleri örnek olarak inflamasyonu, serebral uyarılabilirliği, serebral metabolizmayı azalttığı gösterilmiştir. Yakın zamanda çıkan çalışmalarda hipoterminin travmatik beyin hasarındaki etkileri incelenmiştir.

2005 yılında yayınlanan bir Faz 2 çalışmasında travmanın ilk 6-24 saatinde başlanmış ve 48 saat süren hafif hipoterminin (32-34 C) ağır travmatik beyin hasarı olan pediatrik grubu hastalarda kafa içi basıncı düşürdüğü gözlenmiştir. Çalışmadaki araştırmacılar hipoterminin aritmilere ve vücut sıcaklığının normale döndürüldükten sonra rebound intrakranial hipertansiyonun oluşmasına rağmen güvenli olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca rebound intrakranial hipertansiyon, hastaların vücut sıcaklığının arttırılmasından sonra ortaya çıktığı başka bir çalışmada da bildirilmiştir.[155,160,161]

2008 yılındı çok merkezli uluslararası bir çalışmada ilk 8 saatte başlanan ve 24 saat devam eden hipotermi (32,5 C) ile 37 C normotermi olan grubu karşılaştırmış ve hipotermi olan grupta mortalite ve morbiditenin arttığını bildirmişlerdir. Eğer ki hipotermi kullanılacak ise saate 0,5C/h ten fazla vücut ısısı düşürülmemelidir. [162]

Hipotermiye bağlı potansiyel komplikasyonlardan: aritmiler, elektrolit bozuklukları, kanama riski, ve enfeksiyon ve sepsis söylenebilir. [162]

### **Nöbet profilaksisi**

Travma sonrası nöbetin engellenmesi çok önemlidir. Çünkü nöbet hipertermiye ve kafa içi basınç artışına neden olmaktadır. Fenitoin; travma sonrası erken dönemde oluşabilecek nöbetleri engellemek amaçlı kullanılabilir. [155]

### **Dekompresif kraniektomi**

Refrakter kafa içi hipertansiyon varlığında veya herniasyon bulgularının görülmesi sebebiyle tedavi seçeneği olarak düşünülebilir.

### **2.9.2 Travmatik Beyin Hasarında Yeni Tedaviler**

Bu güne kadar, travmatik beyin ödeminin tedavisi, büyük bir ölçüde semptomatiktir. Günümüzde kullanılan tedavi yaklaşımların çoğunluğu, kafa içi basınç artışının azaltılmasına yöneliktir. Buna yönelik, en etkin tedavi stratejisi osmodiyuretikler; özellikle de manitolün uygulanmasıdır. Ancak halen travmatik beyin ödeminin oluşumu ve ilerlemesini azaltmak için güçlü bir ilaç gündeme çıkmamıştır. [74]

Eskiden; steroidlerin vazojenik beyin ödemin tedavisinde etkili olduğu düşünülürken, travmatik beyin ödemin patofizyolojisinde sitotoksik ödemin rolü öne çıkınca, bu ilaçların sınırlı derecede etkinliği öne sürdürülmüştür.[74] Bahsi geçen tedavilere rağmen, bu hasta gurubun kliniği ve prognozunda belirgin ve optimum yanıtlar gözlenmeyince[153], araştırmalar devam etmektedir.

Günümüzde peç çok deneysel ilacın kullanımı ile; örneğin nitrik oksit sentetaz inhibitörü [132], COX inhibitörleri [118], serbest radikal blokerleri [134], kalsiyüm kanal blokerleri [135], Glutamat inhibitörleri [128], sodyum-potasyum-klor kotransporter antagonistler [152], AVP V1 ve V2 reseptör blokerleri [129.130], Tromethamin [133],

Eritropoytin [128] , antiepileptikler [150] ve asetozolamid [151] , yeni tedavi metotların geliştirilmesine çalışılmıştır. Ancak hiç birinden optimum sonuçlar alınamamıştır.

Son yıllarda üzerinde bir çok çalışma yapılan AQP'ler, yeni arayışlar içerisinde önemli yer almakta olup; travmatik beyin yaralanması tedavi ve prognozuna ümit verici ufuklar göstermektedir.

## 2.10 Aquaporinler

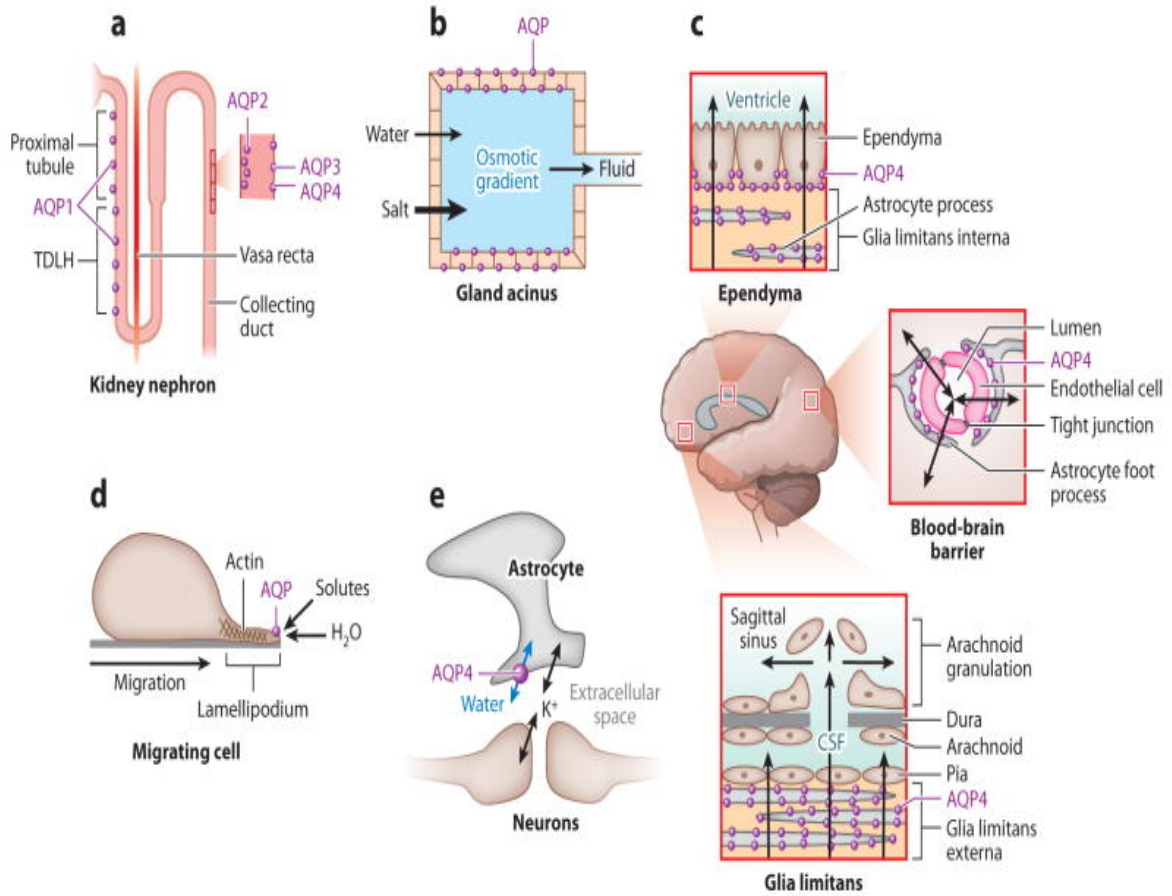
Aquaporinler (AQP) hücrelerin su içeriğinin kontrolunda kritik rol oynayan, membran su-kanal proteinlerdir<sup>28</sup>. İlk AQP,kırmızı kan hücreleri üzerinde1991 yılında tanımlanmıştır.<sup>138</sup> En az 13 tür su-kanal proteinleri memelilerin renal tübül ve toplamaya kanalleri, salgılayıcı bezleri, iskelet kası, kornea epiteli ve retinada, testis ,bağırsakta, pankreas, mide ve sindirim sisteminde, havayolu ve alveoler epitelinde, hücre göçünde (angiojenez, tümör metastazı vb) ve beyin dokusunda tespit edilmiştir. [25,26,139,140], (Şekil 4)

AQP-1, 2,4, 5 ve 8 sadece suya geçirgen olduğu; oysa, AQP-6'nın, klorür iyonlarının geçişine izin verdiği görülmüştür. [140,141]

AQP-3, 7, 9 ve 10, aquaglyceroporin olarak tanımlanmakta olup; gliserol ve su ile birlikte diğer küçük moleküllerin geçişine izin verirler. AQP-0, 11, ve 12 geçirgenliğine kesin kanıtlar mevcut değildir. [140]

Beyin dokusunda üç farklı AQP (1, 4, ve 9) tespit edilmiştir. AQP-1 ventriküler sistemi döşeyen koroid hücrelerinin içinde bulunur ve beyin omurilik sıvısı üretiminde önemli bir rol oynadığı düşünülür. [142]

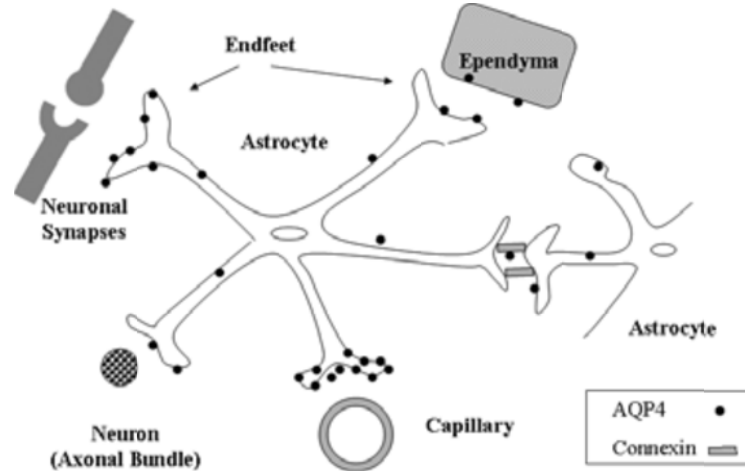
AQP-9 beyindeki enerji metabolizmasına dahil olduğu inanılıyor. Özellikle ventrikül duvarını düşeyen hücrelerde ve astrositlerde eksprese olmaktadır. Hidrosefalide rolü olduğu düşünülmektedir. [131]



**Şekil 4. AQP'lerin yoğunlukla bulunduğu yerler. a:Nefron, b:Salgi bezleri, c:Beyin dokusu, d:Hücre göçünde (angiyoenez, tümör metastazı vb.), e:Nöronlarla etkileşim, Konvülsiyon aktivitesi.** [Verkman AS, Aquaporins in clinical medicine, *Annual Review of Medicine* (2012) de yayınlanan makaleden alınmıştır.77]

Bugüne kadar, AQP-4, beyinde en bol bulunan AQP türü olarak tanımlanmış olup; özellikle astrositlerin hücre zarında, endim hücreleri ve hipotalamus'un osmosensory bölgelerinde tespit edilmiştir. [143,144]

Beyin AQP-4'ün su dengesi düzenlenmesinin yanı sıra, astrositler tarafından potasyum alımın ve salımı <sup>142</sup>, glial hücrelerin göçü ve astrositler arasında hücrel iletişimde önemli bir rol oynar. [145] ,şekil 5



**Şekil 5. AQP-4 ve astrositlerle etkileşimi.** [The role of aquaporin 4 in the brain.

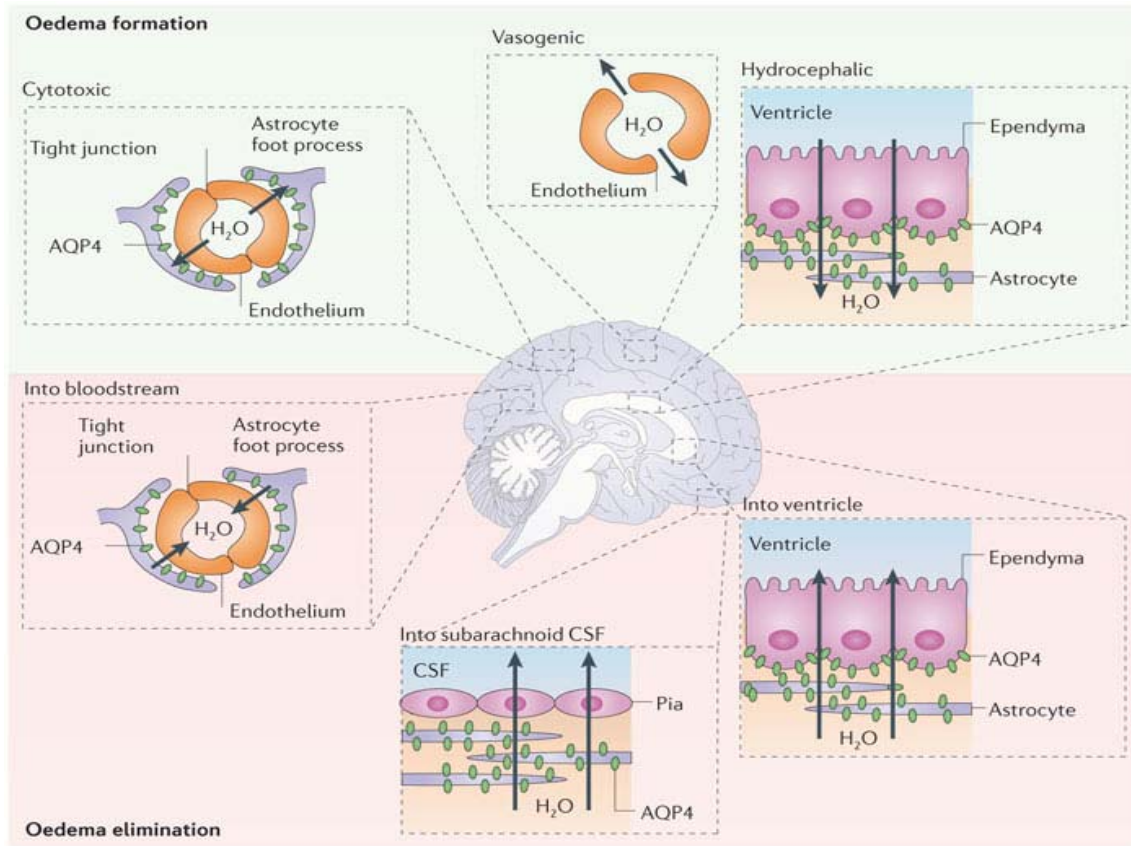
Vet Clin Pathol. 2012 Mar. de yayımlanan makaleden alınmıştır.128]

Beyindeki AQP-4 moleküllerin konumu ve sayısı, sıkı bir şekilde düzenlenir. Proteinler, hipoksi, ozmolarite değişiklikleri, amonyak üretiminde artış, beyin AQP-4'lerin uzun vadede regülasyonunu sağlar. [131]

Bununla birlikte; AQP-4 ün kısa süreli regülasyonunda rol oynayan müküllerinde tanımlanması söz konusudur. Kısa vadeli düzenlenme, çoğunlukla reseptörler aracılığıyla mümkün olmakta ve bunların çoğu, plazma membranında yerleştirilmiş olan G-protein reseptörleri olarak tanımlanmıştır. Bu reseptörlerin aktifleştiricilerinden, peptid hormonları, prostanoidler, katekolaminler ve amino asitlere vurgulanabilir. Reseptör-ligand etkileşimi sonucunda, fosforilasyon ve defosforilasyon meydana gelip; bu da AQP-4'lerin üzerinde değişikliklere sebep olmaktadır.[131] Bahsi geçen bilgilere rağmen, AQP-4 regülasyonunda başlatıcı ve tetikleyici mekanizmalar, tam olarak tanımlanmamıştır.

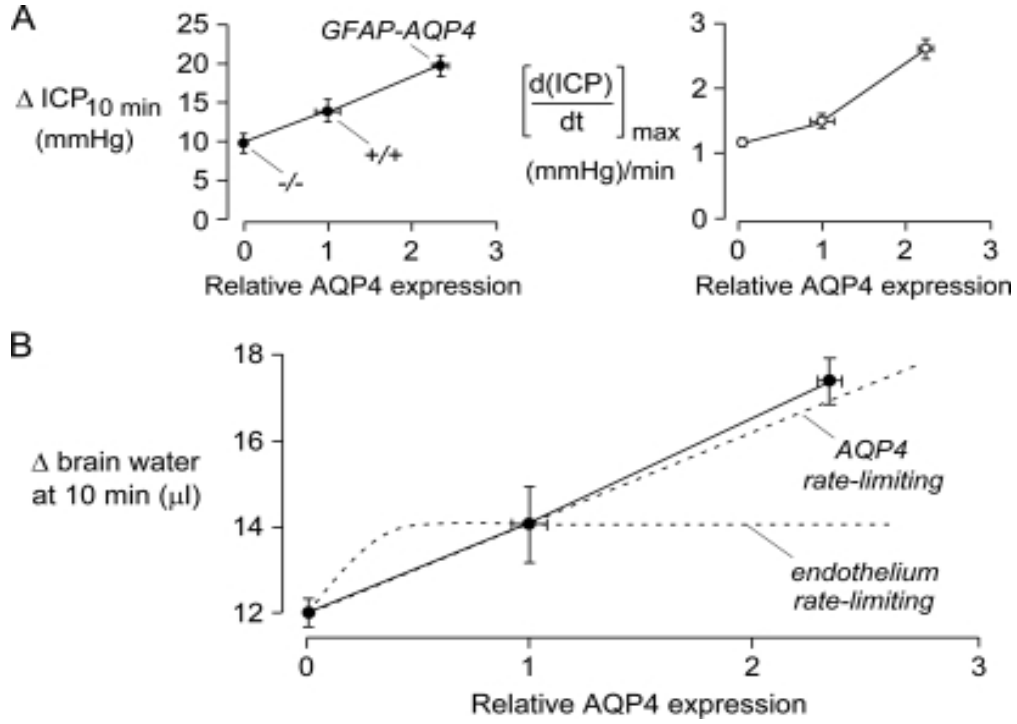


AQP-4'ün beyin ödemi [139.141], konvülsiyon [146], karaciğer ensefalopatisi [147] ve beyin tümörleri [148] patofizyolojisinde rolü olduğu tespit edilmiştir. AQP-4'ün sitotoksik ödem sırasında hücre içi su birikimini artırıcı, vazojenik ve interstisiyel ödemde ise beyin dokusundaki aşırı suyun uzaklaştırılmasını kolaylaştırıcı bir işlevi olduğunu göstermektedir.[77], (şekil 6) Bununla birlikte travma sırasında hasarın olduğu bölgede AQP-4 ekspresyonunda artış izlenirken, hasar etrafındaki dokuda ise azalma dikkati çekmektedir. Bu bulgular AQP-4'ün travma sonrası beyin ödeminde rolüne ilişkin karmaşık dengelerin söz konusu olduğuna işaret etmektedir. [76]



**Şekil 6.** AQP-4'ün sitotoksik ve vazojenik ödeminde rolü.[ Aquaporin water channels in the nervous system. April 2013.*Nature Reviews Neuroscience* de yayınlanan makaleden alınmıştır.149]

Yeni araştırmalarda, travmatik beyin yaralanmasında, sitotoksik ödemin vazojenik ödeme göre daha üstün rola sahip olduğu; AQP-4 ekspresyonunun sitotoksik ödem, beyin şişmesi ve kafa içi basınç artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. [127], (şekil 7)



**Şekil 7.** Beyin AQP-4 ve kafa içi basınç artışı ve beyin su içeriğinin artışı ile ilişkisi

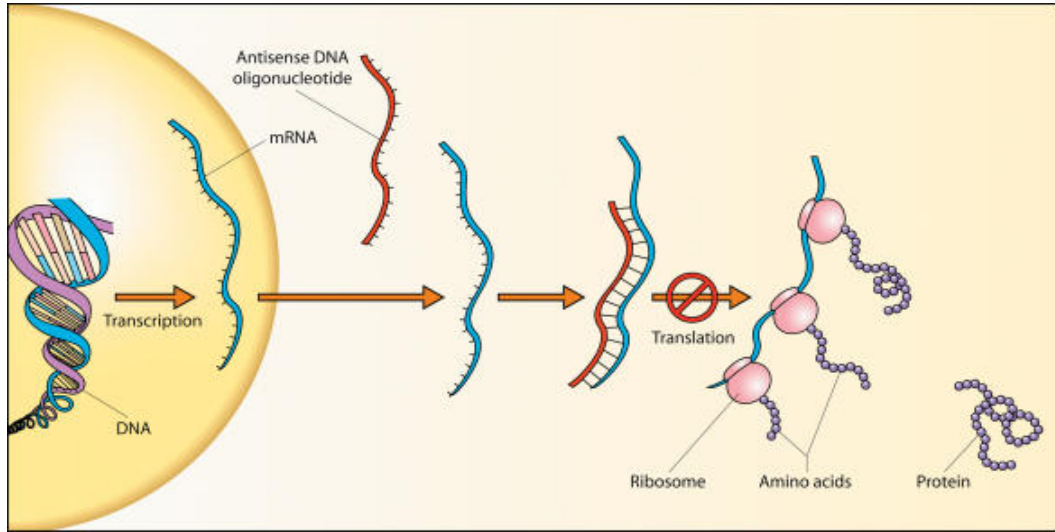
Astrositler üzerinde AQP-4'ün baskın olduğundan ,astrositlerin bu hastalıklara yönelik yeni tedavi seçeneklerin belirlenmesinde bir hedef hücre olmasına neden olmuştur. Buna ek olarak, AQP-4 üzerinde yapılan ilaç araştırmalar, AQP-4 ile ilgili bilginizin genişletilmesini, dolayısıyla daha da etkin tedavilerin üretilmesini sağlamaktadır.

## 2.11. Antisens

Antisens; Oligonükleotidlerden oluşan bir yapıya sahiptir. Bu oligonükleotidler; Hücre sitoplazmasında,mRNA transkripsiyonu sırasında, Aquaporin-4 transkripsiyonunu

engelleyerek hücre zarına yerleşilecek olan fonksiyonel Aquaporin-4ün oluşumunu engelleyebilir. [61] (şekil 8)

Antisensler; hedef moleküle göre sınıflanmaktadır. DNA bazlı,mRNA bazlı, Ribozomlara yönelik, çeşitli Antisens ilclar mevcuttur. Teorik olarak bunların çeşitli hastalıkların Tedavisinde örneğin kanser, kalp, diyabet ve Alzheimer; uygulanabileceği düşünülmektedir. Ancak piyasaya çıkıp onaylanmış tedaviler içerisinde yer alması için, invitro ve in vivo aşamalarından sorunsuz geçmeleri gerekmektedir. İnsan hücreleri üzerinde ne tür biomoleküler değişikliklere yola açabileceği henüz tam olarak bilinmemektedir. Hali hazırda FDA tarafından onaylanmış olan tek Antisens ilaç mevcuttur. Bu da HIV pozitif hastaların sitomegalovirüs göz enfeksiyonlarında kullanılan; Vitravene isimli DNA bazlı antisensdir.[61]



**Şekil 8. Antisens; hücre sitoplazmasında protein sentezi için özel kodları taşıyan mRNA'ya bağlanarak,mRNA'nın tercüme edilmesini engelliyor.** [RNAi therapeutics: how likely, how soon?, 2004 Jan. PLoS Biol. de yayınlanan makaleden alınmıştır. 61]

Antisens mRNA parçacıklarının her türlü hastalığın gen tedavisinde uygulanabileceği düşüncesiyle, Antisens tedavileri üzerinde araştırmalar devam etmektedir. [61]

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Deney Hayvanları ve Anestezi

Bu çalışmanın yürütülebilmesi için Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kuruluna başvurulmuş ve gerekli izinler alınmıştır.

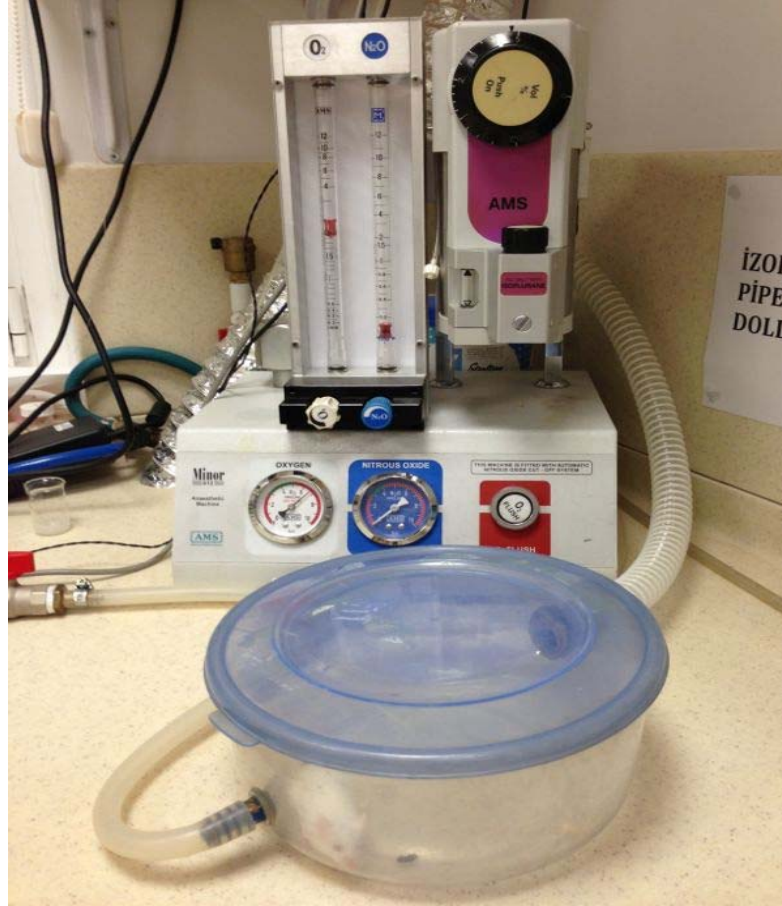
Çalışma; Hacettepe Üniversitesi Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlıkları 20-25 gram arasında değişen toplam 23 adet *Swiss albino* dişi fare kullanıldı. Fareler 18-22°C oda sıcaklığında 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ortamda, yiyecek ve suya serbest ulaşımı sağlanacak şekilde kafeslerde tutuldular ve deney öncesi bir gece aç bırakıldılar. Farelere ağırlık düşürülmesi protokolü uygulanmadan önce gerçekleştirilen tüm cerrahi işlemler sırasında inhalasyon yoluyla başlangıç dozu 5ml/dk, anestezi devamlılığı ise 2-3 mL/dk olacak şekilde izofloran anestezi ile uyutuldu. Deney süresince fareler 2 lt/dk oksijen desteğinde kendi solunumlarına bırakılarak izlendi. Rektal prob ile hayvanların sıcaklığı monitorize edilerek homeotermik battaniye kontrol ünitesi (Harvard Apparatus) ile vücut sıcaklığı 37.0±1°C'de sabit tutuldu ayrıca alt ekstremiteden nabız ve oksijen saturasyonu (V3304 Digital Table-Top Pulse Oksimetre, SurgiVet) takipleri yapıldı.

Çalışmamızda; tüm fareler, işlem öncesinde hassas teraziyle tartıldı. Her hayvanın ağırlığı kaydedilerek deney gruplarımızın ortalama ağırlıkları hesaplandı. (Şekil 9)



**Şekil 9. Travma öncesi deneklerin tartılması**

Daha sonra hayvanlar %2'lik izofloran içeren kovaya konulup; İzofloran inhalasyon anestezisi ile uyutuldu. Anestezi devamlılığını sağlamak amacıyla, kovaya giren gazın başlangıç dozu 5ml/dk indüksiyon dozundan verildi. İdame dozu 2ml/dk'dan devam edildi. Hayvanlar tam uyuyana kadar kovada bekletildi. şekil10



**Şekil 10.** İzofloran İnhalasyonu

Hayvanlar uyutulduktan sonra; fareler kovadan çıkartıldı ve hemen stereotaksik cihaza yerleştirildi. Stereotaksik cihazın sabitleyici aparatları hayvanın eksternal meatusuna yerleştirildi ve hayvanın nazal bölgesi ise bir delikli borunun üzerinde izofloran gazı inhalasyonu alacak şekilde sabitlendi. Anestezinin devamlığını sağlamak için bir tüp yolu ile izofloran inhalasyonuna 2ml/dk'dan devam edildi.

Hipotermik olayların yan etkilerinden kaçınılması için, hayvanın altına homeotermik battaniye konuldu. Şekil11



**Şekil 11.** Deneklerin Stereotaksik cihaza yerleştirilmesi

Vital bulguların optimum düzeylerde tutulması, hipoksi ve bradikardi ataklarının oluşumunu tespit etmek amacıyla, farenin bacağından pulse oksimetre cihazı ile vital bulguları takip edildi. Kalp atış hızı, parsiyel oksijen basıncı optimum değerler aralığında tutuldu. Vital bulguları stabil olmayan farelerde, izofloran dozu azaltılıp, fare uyanmayacak şekilde oksijenizasyonu sağlandı. Vital değerlerin normal düzeylere gelmesine kadar işlem durduruldu. Vital bulguları normal olunca izofloran idame dozuyla işleme devam edildi. Vital değerleri stabilleşmeyen hayvanlar deneyden çıkarıldı. şekil 12



**Şekil 12.** Deneklerin vital bulgularının monitorizasyonu

Makas ile hayvanların kafasında bir cilt flebi açıldı ve oksipital bölgeye doğru devrildi. Devrilen fleb, küçük bir Mosquito klempsi ile tutuldu. Bu aşamanın ardından mikroskopla sağ parietal kemiğin sınırları bulundu ve kraniyektomi yapılacak parietal kemiğin üzerinde bregma ve lambda arasındaki antero-posterior düzlemde 5mm'lik, lateralde ise orta hattın 1mm lateralinden başlayarak 2mm'lik bir dikdörtgen alan, kalem ile çizildi. Bregmanın üzerine de, lateral ventrikül içine antisens injeksiyonu yapılması için burr hole yapılacak nokta işaretlendi.

şekil13





**Şekil 13. Kraniektomi sınırlarının belirlenmesi**

Mikroskop altında ve Mikrodrill vasıtası ile kraniektomi yapılacak yerler turlandı. Turlanma aşamasında drill ucunun beyin dokusuna batmamasına, iyatrojenik ödemin oluşmamasına dikkat edildi. Drilin oluşturduğu termal etkiyi ortadan kaldırmak için belli

aralıklarıyla kemik üzerine normal salin sıkıldı ve soğutuldu. Kemik bütün bir şekilde kaldırıldı. Travmatize olan hayvanlar deneyden çıkarıldı. (şekil 14)

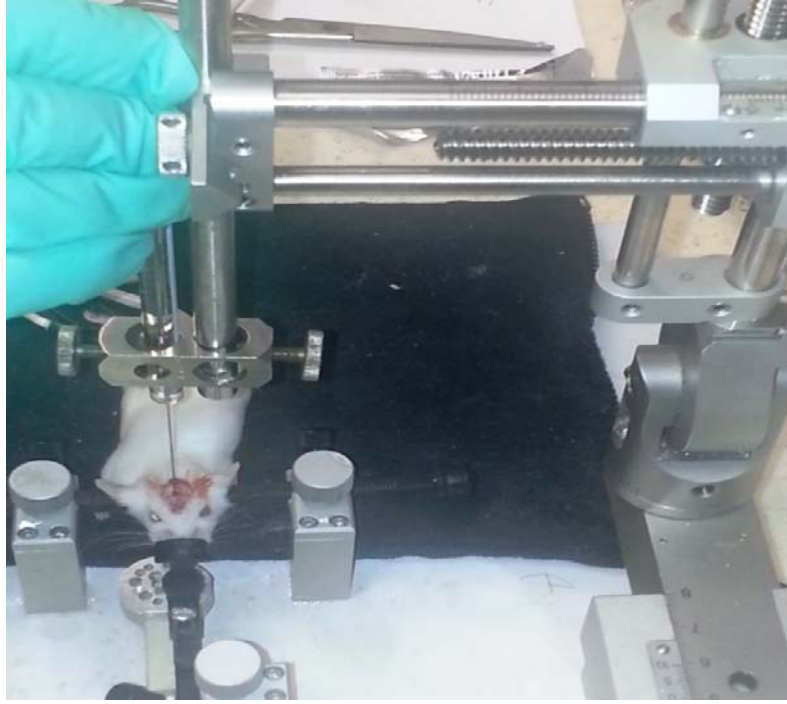


**Şekil 14.** Mikroskop altında yüksek hızlı drille kraniektomi

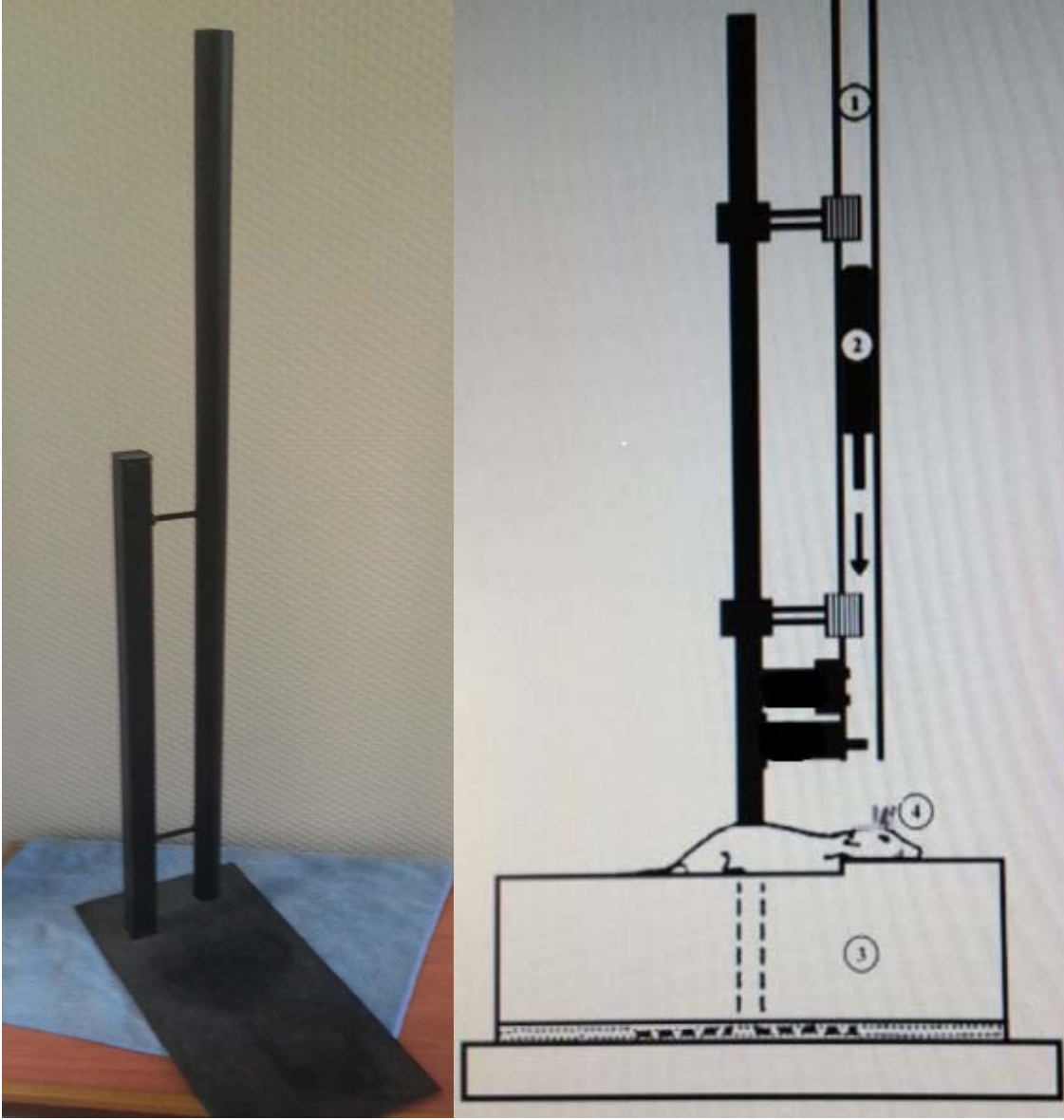
Sham grubunda, sadece kraniektomi yapıldı ve cilt flebi ile tekrar kapatıldı. Hayvanlar hemen streotaksik cihazdan ayrıldı, izofloran kesildi ve hayvanın uyanması beklendi. Hipoksi gelişmemesi için 2ml/dk'dan oksijen verildi. Dilin orofarenkse düşüp solunum yolu kapatmaması için farenin dili ağızından dışarıya alındı. Vital bulguları optimum değerlere gelince, hayvanlar kafeslerine konuldu.

Kontrol travma grubunda ise kraniektomi sonrası burr holeden çok yavaş şekilde Antisens çözeltisi ventrikül boşluğuna injekte edildi. Basınç etkisi nedeniyle iyatrojenik travma oluşumunun ve dolayısıyla beyin ödeminin artışının engellenmesi için,ventrikül içi injeksiyonlar oldukça yavaş uygulandı. Kontrol travma grubunda olan hayvanlar, bu aşamadan sonra, hemen steotaksik cihazdan ayrılarak, serbest ağırlık düşme cihazının altına konuldu. Bu arada farenin uyanmaması için hayvanın burnuna izofloran gazı tutuldu ve uyutulmaya devam

edildi. Nazal bölgeye 2cm'lik bir sünger yerleştirilerek kafatasının yere paralel kalması sağlandı. (Şekil16, şekil 17)



**Şekil 15.** İ.S.V. yolla antisans injeksiyonu



**Şekil 16.** Kafa travması oluşturulmasında kullanılan düzenek. 1.PVC boru. 2.35gr ağırlık 3. Sunger yatak 4. Kraniektomi bölgesi

Travma sonrası sıfırıncı dakika ve dördüncü saat tedavi grupları için de benzer metot uygulandı.

Ağırlık düşürme aparatın borusu, bir başka yardımcı tarafından kraniektomi alanın tam üzerine yerleştirildi ve ağırlığın açıkta olan beynin tam üzerine düşmesi ayarlandı. 35 gram, künt uçlu ağırlık, 70 cm'lik yükseklikten, PVC borunun içerisinde düşürüldü. PVC borunun içerisinde çentiksiz olması daha önceden kontrol edildi. Ağırlık düşürülmeden hemen önce izofloran gazı kesilip ve 2ml/dk'dan oksijen tedaviye başlandı. Buradaki amaç, İzofloran gazının, travma sonrası gelişen solunum depresyonuna katkıda bulunması ve beyin şişmesinin artışına sebep olmasının ortadan kaldırılmasıdır. Hayvan uyanmadan flep geri yerine çevrilip ve dikildi. Hayvanın tam uyanması ve vital bulguların optimum değerlere gelmesine kadar oksijen verilerek, pulse oksimetre ile fare gözlem altında tutuldu. Bu metod ile mortalite oranı düşürülmüş olup, sadece 2 hayvanda ölüm gerçekleşmiştir. Bu iki hayvanda travma sonrası resüsitasyona rağmen ölüm gerçekleşti. Fareler uyandıktan sonra kafeslerine geri konuldu.

Sıfırıncı dakikada Antisense tedavisi uygulanacak olan deney gruplarda ise aynı yöntemlerle antisense ventrikül boşluğuna injekte edildi. Aynı metod ile ağırlık serbest şekilde düşürüldü. Hava yollarının açık tutulmasına ve oksijenizasyon kuralları benzer yöntemlerle uygulandı.

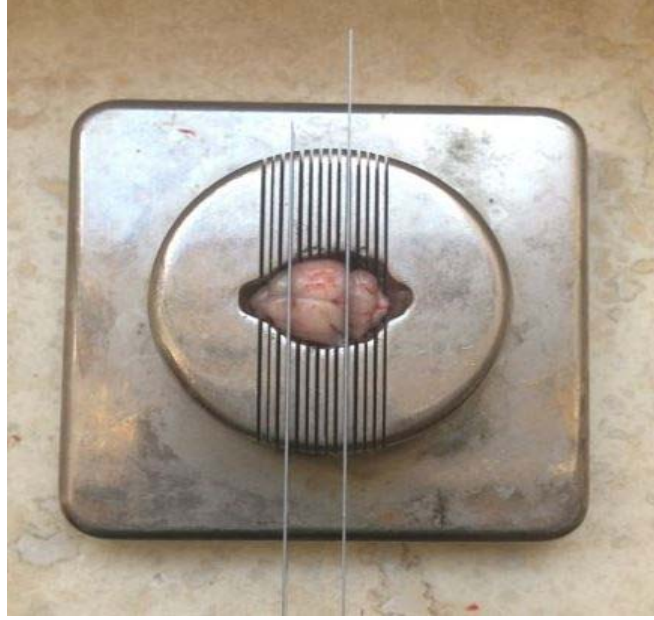
Dördüncü saat antisense tedavisi uygulanacak grup için tek farklı olan, ventrikül içi Antisense injeksiyonu travma sonrası tam dördüncü saatte uygulanmasıdır. İnjesiyon öncesi dikilmiş olan flep açılıp, devrilip, injeksiyon sonrası tekrar dikildi.

Bu işlemler sonrası, hayvanlarımızı 24 saatlik su ve yem içeren kafeslerde, standard koşullar sağlanarak beklettik; Belli aralıklarla hayvanların vital bulgularını takip ettik. İnleyen, huzursuz olan deneyler için ağrı kesici verdik. Ağrı kesici için; İntraperitoneal yolla 0.4 µg (10nM) dozun da naproksen, injekte edildi. Ağrı kesici; gerek hayvanın durumuna göre bazı deneklerde tekrar edildi.

24 saat sonunda tüm deneklerimize MRG çekildi ve ardından ötenazi uygulandı. Deneklerimiz; MRG çekilmesi amacıyla Hacettepe Üniversitesi deney hayvanları laboratuvarından Ankara Bilkent Üniversitesi UMRAM merkezinde bulunan 3 teslalı MR merkezine aktarıldı. Deneklerimizi MRG cihazına koymadan önce, 10mg/kg dozunda preanestezik ilaç olarak Ksilazin ve 100mg/kg dozunda anestezik ilaç olarak ketaminin intraperitoneal injeksiyonu ile genel anestezisi verildi. Hayvanlarımızın ayak reflekslerine bakılarak derin uyuduklarından emin olunduktan sonra MRG makinesine götürüldü ve farelere uygun boyutta tasarlanmış olan başlık-prob altında yatırılarak MRG çekildi. MRG görüntüleri, 3 ana sekans olarak Koronal, Aksial ve Sagittal kesitler alındı. Yaklaşık her fare için çekim süresi 10 dakika sürdü ve çekim sonrası hipotermiden kaçınılması için hayvanlarımızı hipertermik battaniye üzerinde 37C° derecede, pulse oksimetre cihazı ile vital bulguları takip edilerek oksijenizasyonu sağlandı. MRG sonrası farelerimizi tekrardan Hacettepe Üniversitesinde deney hayvanları laboratuvarına götürerek önce tekrar intraperitoneal yolla derin genel anestezisi uyguladık ve daha sonra ötenazi yapıldı.

Ötenazi sonrası; dekapite edilen hayvanın beyni çıkarılarak beyin dilimleyici aparata yerleştirildi. Daha önce kraniyektomi ile açıkta kalan beyin bölgesi, 20 numaralı bistüri yardımıyla koronal düzlemde çıkarıldı. Bu aşamada, kortikal bölge; beyaz cevherden sınırlanarak ayrıldı. Çıkarılmış olan bölge ise ağırlık düşürülen gruplarda; travmatik beyin bölgesi ve travmadan kaynaklanan değişiklikleri içermekte olan bölge olarak kabul edildi.

Şekil17.Şekil 18



**Şekil 17.** Beyin dokusunun dilimleyici aparata yerleştirilmesi

Alınan örneklerin oda koşullarında su içeriğini kaybedip kurumaması amacıyla hemen hassas terazi ile tartılıp, yaş ağırlık olarak kayıt altına alındı. Ardından 99 C° fırına konularak kurutuldu. Fırın içerisinde örnekler 24 saat kadar bekletildi. Tam kuruduktan sonra tekrar hassas terazi ile tartıldı. Bu değerler kuru ağırlık olarak kayıt altına alındı. Doku örneklerinden aşadaki formülü kullanılarak beynin su içeriğinin oranı hesaplandı.

### **3.2 Feeney'in Ağırlık Düşürme Metodu ile Travmatik Beyin Hasarı Modeli Oluşturulması**

Ağırlık düşürme metodu ile travmatik beyin hasarı oluşturulabilmesi için öncelikle Marmarou'nun ağırlık-düşürme metodu(115) iki farklı modifiye şekilde, farklı ağırlıklar ile uygulandı. İlk uygulamada farenin kafatasının üzerine merkez noktası bregma ile lamdanın tam ortasında ve tam orta hat üzerinde olacak şekilde daire şeklinde yerleştirilen metal pilağın tam üzerine ağırlık düşürülerek yapıldı. 20, 30, 35, 40, 50 gramlık ağırlıkların düşürülmesi ile oluşturulan travma modelinde 24 saat sonra MRG ve beynin su içeriği yöntemleri ile ödem miktarı araştırıldı. MRG ile tespit edilebilecek bir ödem oluşumu gözlemlenmezken, tüm beynin yaş ve kuru ağırlığının ölçülmesi ile oluşturulan beyin yüzde su içeriği miktarında da sham ve kontrol hayvanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yakalanamadı. İkinci uygulamada ise farenin sadece sağ parietal kemiğini kaplayacak şekilde yapıştırılan metal plakaya ağırlık düşürüldü; Bu uygulamada, sadece bu plakaya temas edebilecek sivri uçlu ağırlıklar kullanılarak yapıldı. 50, 60 ve 100 gramlık ağırlıkların düşürülmesi ile oluşturulan travma modelinde 24 saat sonra MRG ve beynin su içeriği yöntemleri ile ödem miktarı araştırıldı. MRG ile tespit edilebilecek bir ödem oluşumu gözlemlenmezken, tüm ipsilateral hemisferin yaş ve kuru ağırlığının ölçülmesi ile oluşturulan beyin su içeriği miktarında da sham ve kontrol hayvanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yakalanamadı. Bahsi geçen her iki optimizasyon çalışmasında da travmadan hemen sonra mortalite oranlarının oldukça yüksek tespit edildi.

Marmarou'nun ağırlık-düşürme metodu iki farklı şekilde uygulanmasına rağmen sham ve kontrol grubu arasında ödem miktarı açısından anlamlı bir fark yakalanamayınca, ağırlık düşürme metodu Feeney'in ağırlık-düşürme metodu ile değerlendirildi. Bu modelde ipsilateral hemisfer üzerinde belli alana kraniyektomi yapılarak, ağırlık bu alandaki açıkta kalmış beyin üzerine düşürüldü.



Bu çalışmada; anestezi sonrası stereotaksik cihaza yerleştirilmiş olan hayvanın sağ parietal kemiği üzerinde bregma ile lamda arasında uzanan ve orta hattan 2mm lateralde kalacak şekilde 5mm x 2mm büyüklüğünde bir alan kalem vasıtasıyla çizildi ve soğutmalı mikrodrill (Stoelting) vasıtasıyla drillendi. Drillemenin oluşturduğu mekanik ısınmayı azaltmak için işlem boyunca kafa kemiği sürekli olarak soğuk steril serum-fizyolojik ile soğutuldu. İşlemin tamamlanmasından sonra kemik pensi ile kemik çıkarıldı. Bu aşamada korteksi hasar alan ya da kanaması olan hayvanlar deneyden çıkartıldı. Daha sonra; AQP4 ONAS'i 1nM konsantrasyonda olacak şekilde serum içermeyen DMEM'de çözülüp i.s.v. yolla, bregmanın 0.1mm posterioru, 0.9mm laterali ve 3.1mm derinliğe mikrolitrelik şırınga (Hamilton) vasıtasıyla ventrikül boşluğuna 2µl toplam hacimde iki farklı sürede verildi. İlk deney grubunda; travma oluşturulmadan hemen önce sıfırncı dakika ve ikinci deney grubunda ise travma oluştuktan sonra 240' ıncı dakika sonrasında tedavi bahsi geçen i.s.v. yöntemle uygulandı. Kontrol grubuna ise yine i.s.v. yolla serum içermeyen DMEM verildi.

Kontrol ve sıfırncı dakika tedavi gruplarında i.s.v. enjeksiyonun hemen ardından, 240' ıncı dakika tedavi grubunda ise kraniyektominin hemen ardından, deney hayvanı izofloran anestezisinin devamlılığını bozmayacak şekilde, ağırlık düşürme düzeneğinin altında yer alan süngerin üzerine taşındı. Süngerin üzerindeki farenin kraniyektomi yapılmış beyin bölgesi plastik borunun tam altına gelecek şekilde ve hayvanın kafa bölgesi hareketsiz kalacak şekilde bir araştırmacı tarafından fare düzeneğin aşağı kısmına elle tutularak sabitlendi. Diğer bir araştırmacı tarafından ise 70 cm yükseklikten, açıkta olan beynin üzerine gelecek şekilde 35 gramlık künt uçlu metal ağırlık, plastik borunun içerisinden serbest düşme yapacak şekilde atıldı. Travmanın 24. saatinde yapılan MRG'de sham ve kontrol grubu arasında belirgin ödem oluşum farkı gözlenmedi. Ayrıca kraniyektomi yapılmış olan alanda bulunan korteksin yaş ve kuru ağırlığının ölçülmesi ile beynin su içeriği miktarında da sham ve kontrol hayvanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yakalanamadı. Böylelikle bu çalışmada Feeney'in ağırlık düşürme metodunun uygulanmasına karar verilerek, deney gruplarına geçildi.

### 3.3 Ağırlık Düşürme Modeli ile Yapılan Travmatik Beyin Hasarı Çalışmasında Kullanılan Deney Grupları

Tablo 3 de deney gruplarında bulunan hayvan sayısı gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Deney grupları ve sayıları

DENEY VE KONTROL GRUPLARI	KULLANILAN TOPLAM HAYVAN SAYISI
1. Grup 1: Antisens (Sham)	5
2. Grup 2: Travma (kontrol grup)	6
3. Grup 3: Travma, 0. dak. Antisens	6
4. Grup 4: Travma, 240. dak. Antisens	6

**Sham Grubu:** Beş adet *Swiss albino* farenin, sağ parietal kemiği üzerinde 5mm x 2mm' lik kraniektomi yapıldıktan sonra cild geri dikildi. Cerrahi işlemin beyin ödeme etkisi, 24 saat sonra magnetik rezonans görüntüleme (MRG) metodu ve beyin yüzde su miktarının hesaplanması metodları ile araştırıldı.

**Kontrol travma Grubu:** Altı adet *Swiss albino* farenin, sağ parietal kemiğin üzerinde 5mm x 2mm' lik kraniektomi yapıldıktan sonra, intraserebroventriküler (i.s.v.) yolla 2µl Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) verildi. Hemen sonrasında kraniektomi yapılmış olan kafa bölgesine 70cm yükseklikten 35 gram künt uçlu ağırlık serbest düşme metodu ile düşürüldü. Travma modelinin beyin ödeme etkisi, travmanın oluşturulmasından 24 saat sonra MRG metodu ve beyin yüzde su miktarının hesaplanması metodları ile araştırıldı.

### **3.4. Aquaporin-4 (AQP4) Oligonükleotid Antisens (ONAS) Sıfırncı Dakika Grubu**

Altı adet Swiss albino farenin, sağ parietal kemiği üzerinde 5mm x 2mm' lik kraniektomi yapıldıktan sonra, i.s.v. yolla 2µl DMEM içerisinde çözülmüş 1nM konsantrasyondaki ONAS verilip hemen sonrasında, kraniektomisi yapılmış olan kafa bölgesine 70cm yükseklikten 35 gram künt uçlu ağırlık serbest düşme metodu ile düşürüldü. Sıfırncı dakikada verilen AQP4 ONAS'ın beyin ödemeine etkisi, travmanın oluşturulmasından 24 saat sonra MRG metodu ve beyin yüzde su miktarının hesaplanması metodları ile araştırıldı.

### **3.5. Aquaporin-4 (AQP4) Oligonükleotid Antisens (ONAS) 240' ıncı Dakika Grubu**

Altı adet *Swiss albino* farenin, sağ parietal kemiği üzerinde 5mm x 2mm' lik kraniektomi yapıldıktan sonra, kraniektomi yapılmış olan kafa bölgesine 70cm yükseklikten 35 gram künt uçlu ağırlık serbest düşme metodu ile düşürüldü. Ağırlık düşürülme zamanı travma dakikası olarak alınıp, bundan tam 240 dakika (4 saat) sonra i.s.v. yolla 2µl DMEM içerisinde çözülmüş 1nM konsantrasyondaki ONAS verilip, verilen AQP4 ONAS'ın beyin ödemeine etkisi, travmanın oluşturulmasından 24 saat sonra MRG metodu ve beyin yüzde su miktarının hesaplanması metodları ile araştırıldı.

### **3.6 Beynin Yüzde Su İçeriğinin Hesaplanması**

Deney gruplarındaki hayvanların MRG görüntülemelerinin yapılmasından hemen sonra, yüksek dozda ketamin anestezi verilerek ötenazi yapıldı. Dekapite edilen hayvanların beyinleri çıkarılarak, yetişkin fare koronal beyin dilimliyiçi aparata (Bioseb in vivo Research Instruments) konuldu. Kraniektomi yapıldığı ve ağırlığın düşürüldüğü ipsilateral hemisferdeki antero-posterior düzlemde 5mm olacak şekilde beyin dilimlenerek, ipsilateral korteks bu

dilimlerden sıyırıldı. Korteks çıkarılır çıkarılmaz daha önceden darasının ağırlığı ölçülmüş ve su tutma özelliği olmayan kağıtlara konularak, dokunun su kaybına uğramasına mücadele etmeyecek bir hızla hassas terazide ağırlığı ölçüldü. Bu ağırlık beynin yaş ağırlığı olarak kaydedildi. Yaş ağırlığı kaydedilmiş ipsilateral korteksler 99°C'deki fırında 24 saat bekletildi. Fırından çıkarılan kortekslerin tekrar ağırlıkları hassas terazide ölçüldü ve bu ağırlık ise kuru ağırlık olarak kaydedildi. Kaydedilen yaş ve kuru beyin ağırlıklarından aşağıdaki formül kullanılarak beynin su içeriği hesaplandı.

$$\text{Beynin Su İçeriği} = ((\text{Yaş Ağırlık} - \text{Kuru Ağırlık}) / \text{Yaş Ağırlık}) \times 100$$

### **3.7 Magnetik Rezonans Görüntülemesi (MRG)**

Tümörün varlığını ve boyutunu belirlemek amacı ile Ulusal Manyetik Rezonans Araştırma merkezinde (UMRAM; Bilkent, Ankara, Türkiye) 3 tesla MR ile fareler görüntüledi.

Fareleri görüntülemek amacı ile el yapımı iki kanallı alıcısı olan, 3.5 cm çapında dairesel bir yapıya sahip olan taban koil geliştirildi. Dairesel parçalarının üzerinde dört adet manyetik olmayan kapasitör bulunmaktadır. Koil elemanları örtüşme tekniği ile birbirlerinden ayrıldı. Koil, farenin kafasını desteklemesi amacı ile bir yarım silindir gövdenin içine yerleştirildi. Düşük gürültülü amplifikatörler kullanılarak yaklaşık 20db değerine ulaşıldı.

Fareler ketamin ile uyutuldu. T2 ağırlıklı turbo spin-echo görüntüleme koronal, sagittal ve aksial düzlemlerde aşağıdaki parametrelere göre alındı: tekrar zamanı/echo zamanı 4420/94, görüş alanı 78x78 mm, kesit kalınlığı 2mm, kesitler arası boşluk 0, uyarılma sayısı 5.

Görüntüler parankimal hasarın varlığı ve boyutu açısından deneyimli bir radyolog (Dr.Kader Karlı Oğuz) tarafından değerlendirildi. Parankimal hasarın en büyük görüldüğü kesitlerde, en uzun boyutları ölçüldü.

### 3.8. İstatistiksel Yöntemler

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standard hata olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki beynin yüzde su içeriği kruskall- wallis testi ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık varsa grublardan sonra mann- whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

P  $\leq$ 0.005 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler "IBM SPSS Statistics" version 20 programı ile yapılmıştır.

### 3.9 AQP-4 İmmünohistokimyası

Sadece kraniektomi yapılmış fare (sham) ve hem kraniektomi yapılmış hem de ağırlık düşürülerek travma modeli oluşturulmuş fare (kontrol), kardiyak yolla %4 paraformaldehit ve %0.4 heparinli serum fizyolojik ile perfüze edilmiştir. Çıkarılan beyinler 24 saat süre ile %4'lük paraformaldehitte ve ardından 48 saat boyunca %30'luk sükröz solüsyonu içerisinde bekletilerek kriyoproteksiyon sağlanmıştır. Daha sonra kriyostatda (Leica CM1100) beyin dokularından 20 $\mu$ m'lik koronal kesitler poli-l-lizin ile önceden kaplanmış lamlara alınmıştır. Kesitler önce fosfat tamponlu salinde (PBS, pH=7.4) oda sıcaklığında bekletilmiş, ardından PBS ile %10 sulandırılmış normal keçi serumunda (İnvitrogen) oda sıcaklığında 10 dakika bloke edilmiştir. Ardından kesitler tavşan poliklonal AQP-4 (1:100, Chemicon) birincil antikoru ile gece boyu 4 derecelik buzdolabında inkübe edilmiştir. Ertesi gün 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkanan beyin kesitleri, keçi anti-tavşan Cy2 (1:200, Jackson Immunoresearch) ikincil antikoru ile oda sıcaklığında, 90 dakika inkübe edilmiş, böylelikle floresan işaretleme yapılmıştır. Kesitler tekrar 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkanmış ve Hoechst 33258 (Molecular Probes) ve 25mg/ml sodyum azid (Sigma) içeren gliserol (sigma)/PBS (1:1) ile kapatılmıştır. Daha sonra kesitler uygun filtreler kullanılarak floresan mikroskopta (Nikon Eclipse E600) değerlendirilmiştir. Yeşil floresan için eksitasyon 450-490nm, emisyon 520 nm; mavi floresan için eksitasyon 330-380nm, emisyon 420 nm olan filtreler (Nikon) kullanılmıştır. Elde edilen

mikroskop görüntüleri Nikon DXM 1200 dijital kamera ile görüntülenip, Nikon AR programında değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Yaş/Kuru ağırlık sonuçları

#### A. SHAM GRUBU

SHAM grubundaki toplam 5 adet hayvanın beyinleri çıkartıldıktan sonra ayrı ayrı yaş/kuru ağırlık yüzdeleri hesaplandı. SHAM 1 de bu yüzde 77.41, SHAM 2 de 75.90, SHAM 3 de 78.19, SHAM 4 de, 79.46 ve SHAM 5 de ise % 77.77 olarak elde edildi. Tablo1.

**Tablo 5.** Sham grubunun beyin su oranları

<b>Hayvan no</b>	<b>Su Oranı</b>
Sham 1	77.41
Sham 2	75.90
Sham 3	78.19
Sham 4	79.46
Sham 5	77.77
<b>Ortalama</b>	<b>77.75</b>
<b>Std sapma</b>	<b>1.29</b>
<b>Std hata</b>	<b>0.57</b>

#### B. KONTROL TRAVMA GRUBU

Bu grupta altı hayvan deneye alındı. Birinci hayvanda beyin Yaş.Kuru ağırlığı yüzdesi, 78.97 olarak hesaplandı. Kontrol grubun ikinci hayvanında ise %79.68, üçüncü hayvanda % 80.51, dördüncü hayvanda % 80.72, beşinci hayvanda %79.92 ve altıncı hayvan da ise %79.41 olarak elde edildi. Tablo2

Kontrol travma grubundan elde edilen ortalama Yaş/Kuru ağırlık yüzdesi, diğer gruplar için referans olarak kullanıldı.

**Tablo 6.** Kontrol travma grubun beyin su oranı

<b>Hayvan no</b>	<b>%Su Oranı</b>
Kontrol 1	78.97
Kontrol 2	79.68
Kontrol 3	80.51
Kontrol 4	80.72
Kontrol 5	79.92
Kontrol 6	79.41
<b>Ortalama</b>	<b>79.87</b>
<b>Std sapma</b>	<b>0.69</b>
<b>Std hata</b>	<b>0.31</b>

### **C. SIFIRINCI DAKİKA OLİGONÜKLEOTİD ANTİSENS GRUBU**

Tedavi gruplarında 6'şar hayvan deneye alındı. Travmadan hemen sonra antisens oligonükleotid uygulanan grupta sonuçlar şöyleydi: Oligonükleotid antisens ONAS 1 de Yaş/Kuru ağırlık oranı %78.18, OANS 2 de %79.15, OANS 3 de 78.84, OANS 4 de %78.50, OANS 5 de %79.71 ve OANS 5 de ise %78.47 olarak elde edildi. Tablo3:



**Tablo 7.** Sıfırıncı dakika tedavi grubunun beyin su oranı

<b>Hayvan no</b>	<b>%Su Oranı</b>
ONAS (0 min) 1	78.18
ONAS (0 min) 2	79.15
ONAS (0 min) 3	78.84
ONAS (0 min) 4	78.50
ONAS (0 min) 5	79.71
ONAS (0 min) 6	78.47
<b>Ortalama</b>	<b>78.81</b>
<b>Std sapma</b>	<b>0.59</b>
<b>Std hata</b>	<b>0.26</b>

#### **D. DÖRDÜNCÜ SAAT OLIGONÜKLEOTİD ANTİSENS GRUBU**

Travma sonrası 4. Saatte oligonükleotid antisens uygulanan grubun sonuçları ise şu şekildeydi: ONAS (4h) 1’de %79.29 oranında beyin su içeriği, ONAS (4h) 2 ise %79.83, ONAS (4h) 3’de %76.50 ve ONAS (4h) 4’de ise %80.38 beyin su yüzdesi hesaplandı. ONAS (4h) 5’in beyin su yüzdesi %80.40 ve ONAS (4h) 6’nın beyin su içeriği yüzdesi 78.28 olarak hesaplandı. Tablo4

**Tablo 8.** Dördüncü saat tedavi grubunun beyin su oranı

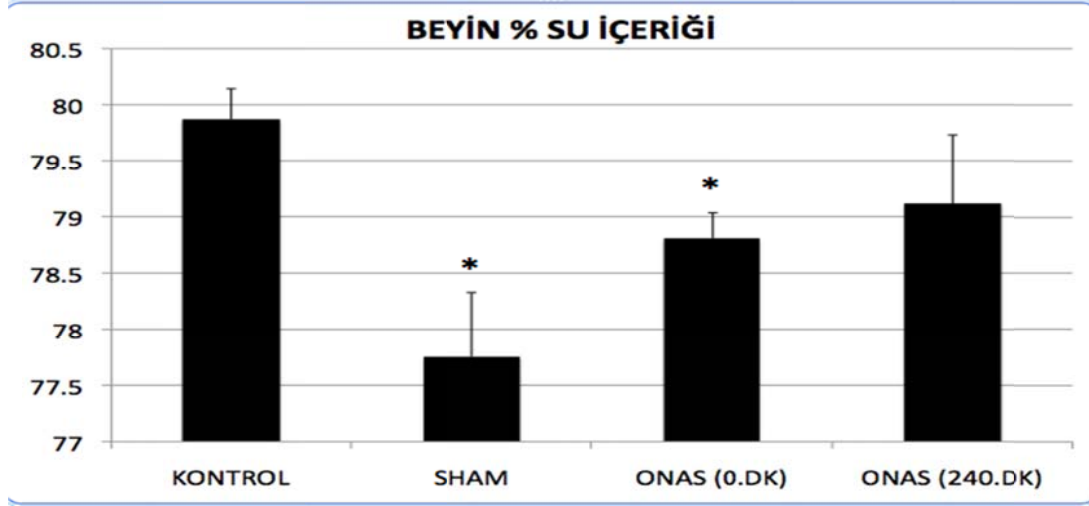
<b>Hayvan no</b>	<b>%Su Oranı</b>
ONAS (4 h) 1	79.29
ONAS (4 h) 2	79.83
ONAS (4 h) 3	76.50
ONAS (4 h) 4	80.38
ONAS (4 h) 5	80.40
ONAS (4 h) 6	78.28
<b>Ortalama</b>	<b>79.11</b>
<b>Std sapma</b>	<b>1.62</b>
<b>Std hata</b>	<b>0.72</b>

#### **Yaş/Kuru ağırlık yüzdeleri arasındaki farkın istatistiksel değerlendirmesi**

Çalışma sonucunda, istatistiksel değerlendirilmeler yapılmıştır. Sham grubunda ortalama beyin su içeriği % 77.75 iken, kontrol travma grubunda bu değer % 79.87 olarak ölçülmüştür. Bulgular istatistiksel açıdan anlamlıdır. (p=0.017).

Sıfırıncı dakika AQP-4 antisens tedavi grubunda beyin su içeriği %78.81 iken kontrol travma grubunda %79.87 olarak ölçülmüştür. Bulgular istatistiksel açıdan anlamlıdır. (p=0.026)

Dördüncü saat AQP-4 antisens tedavi grubunda beyin su içeriği %79.11 iken kontrol travma grubunda %79.87 olarak ölçülmüştür. Bulgular istatistiksel açıdan anlamlı değildir.(p=0.39). TABLO 9

**Tablo 9.** Deney grupların istatistiksel değeriendirilmesi

#### 4.2. Radyolojik Bulgular

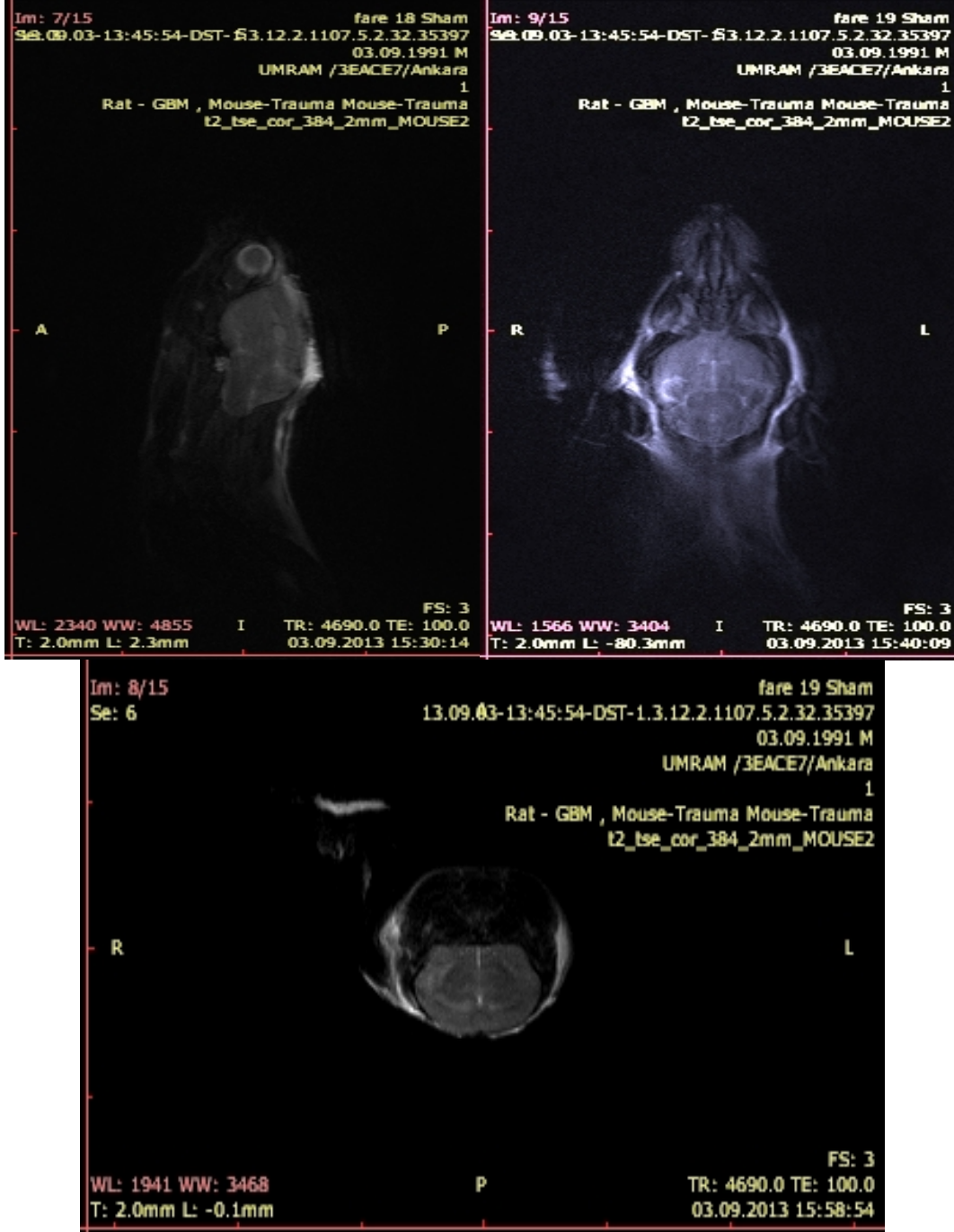
Deney gruplarının MR görüntüleri koronal, aksiyel ve sagittal olmak üzere üç farklı sekanda alındı. Böylece ödemin varlığı ve boyutunun güvenilir şekilde değeriendirilmesi sağlandı.

##### A. SHAM GRUBU

Sham grubun MR sonuçları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir. Tablo 10.şekil 18

**Tablo 10.** SHAM grubun MR bulguları

Hayvan	MRG BULGULAR
Sham 1	Kortikal düzeyde temasa bağlı ödem (1.7x0.9mm)
Sham 2	Ödem yok
Sham 3	Ödem yok
Sham 4	Ödem yok
Sham 5	Ödem yok



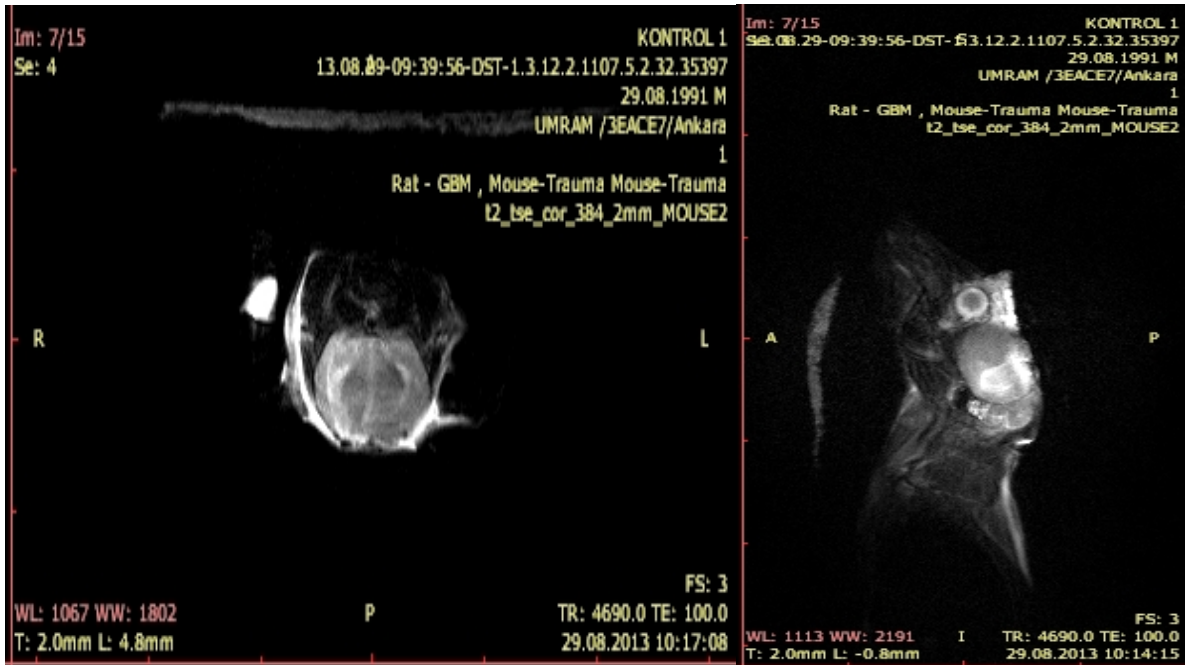
Şekil 18. Sham grubun MR görüntülemeleri

## B .KONTROL TRAVMA GRUBU

Kortikal ve subkortikal beyaz cevher alanlarda ödem tespit edildi. Bir kaç denekte ödem ile birlikte hemorajik alanlar ve hematoma görüntüledi. Bir denekte orta hat şifti tespit edildi. Bulgular, özellikle kraniyektomi alanının hemen altında daha belirgin şekilde izlendi. ‘Coup’ ve ‘Counter Coup’ kontüzyonlar da görüntüledi. İstatistiksel olarak anlamsız sonuçlar deney dışı bırakıldı. (Tablo 11)(Şekil 19)

**Tablo 11.** Kontrol travma grubun MR bulguları

Hayvan	MR bulguları
Kontrol 1	Ödem var
Kontrol 2	Ödem Yok
Kontrol 3	Ödem var, 1.6x1.1mm (transvers çap)
Kontrol 4	Ödem var, 0.9x2.3mm (A-P), 1.8x1.2 (transvers çap)
Kontrol 5	Ödem var, 2x4.3mm (transvers çap)
Kontrol 6	Ödem var, 2.6x2.4 mm(transvers çap)



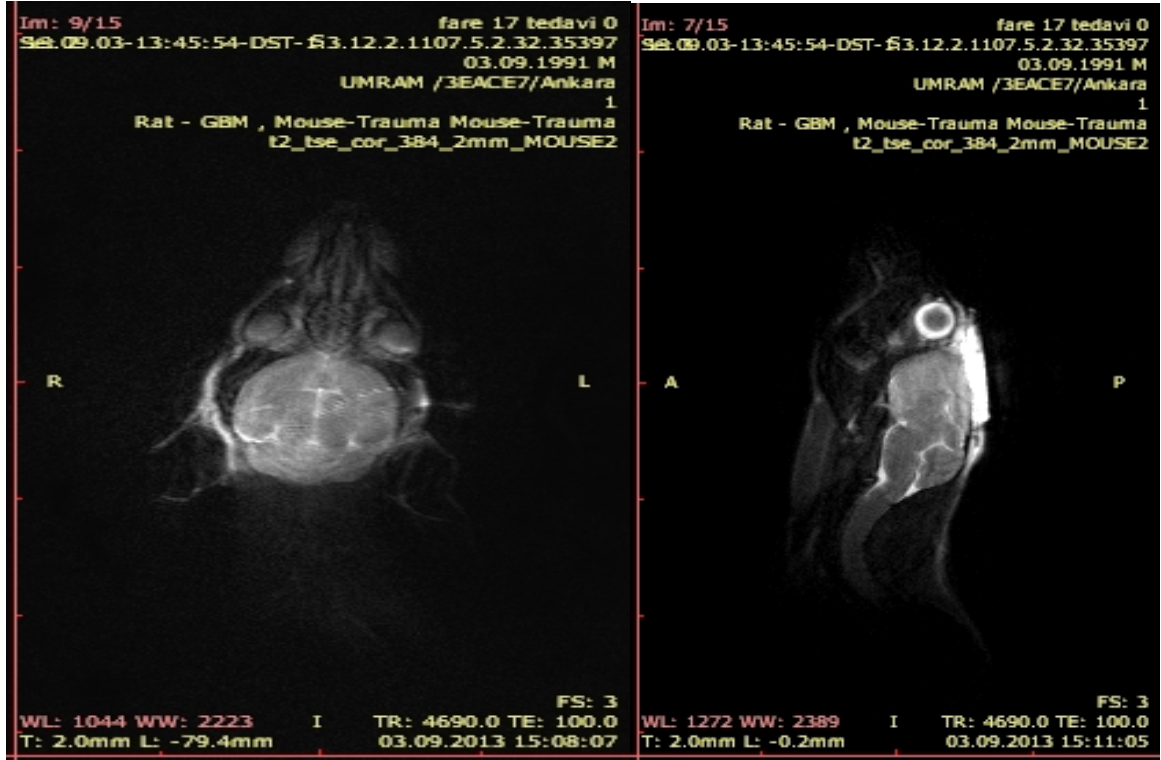
**Şekil 19.** Kontrol travma grubun MR görüntülemeleri

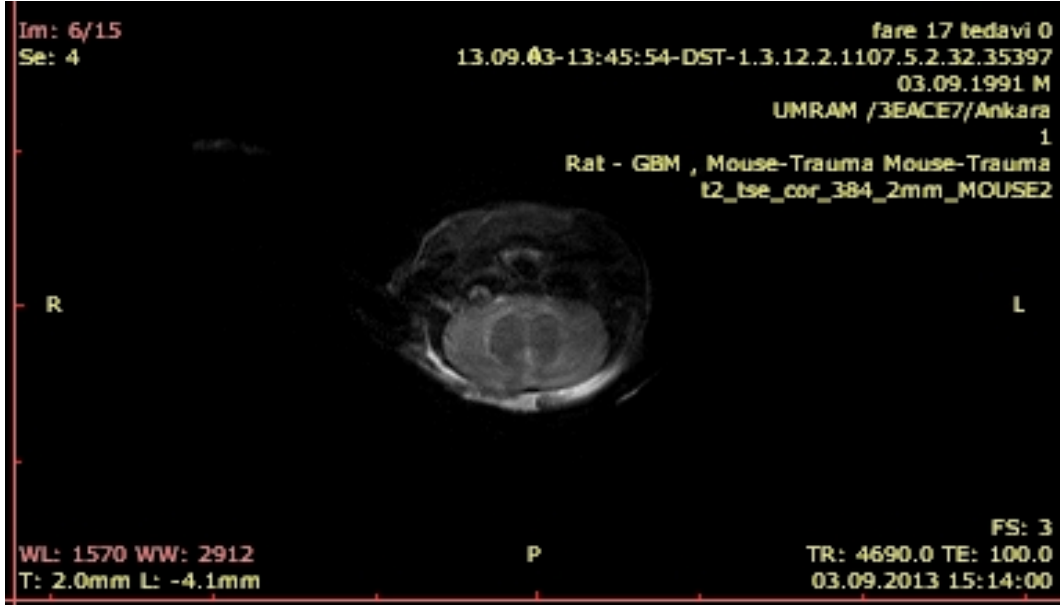
### C.SIFIRINCI DAKİKA OLİGONÜKLEOTİD ANTİSENSE GRUBU

Bir denek haricindekilerde ödem saptanmadı. Görüntüler sham grubu ile aynı nitelikteydi. (Tablo 12) (Şekil 20)

**Tablo 12.** Sıfırncı dakika tedavi grubun MR bulguları

Hayvan	MR bulguları
OANS0dk	Ödem mevcut,0.5x1 mm
OANS0dk	Ödem yok
OANS0dk	Ödem yok.
OANS0dk	Ödem yok, küçük kortikal temas hasarı, mühtemel kraniektomiye bağlı
OANS0dk	Ödem yok
OANS0dk	Ödem yok





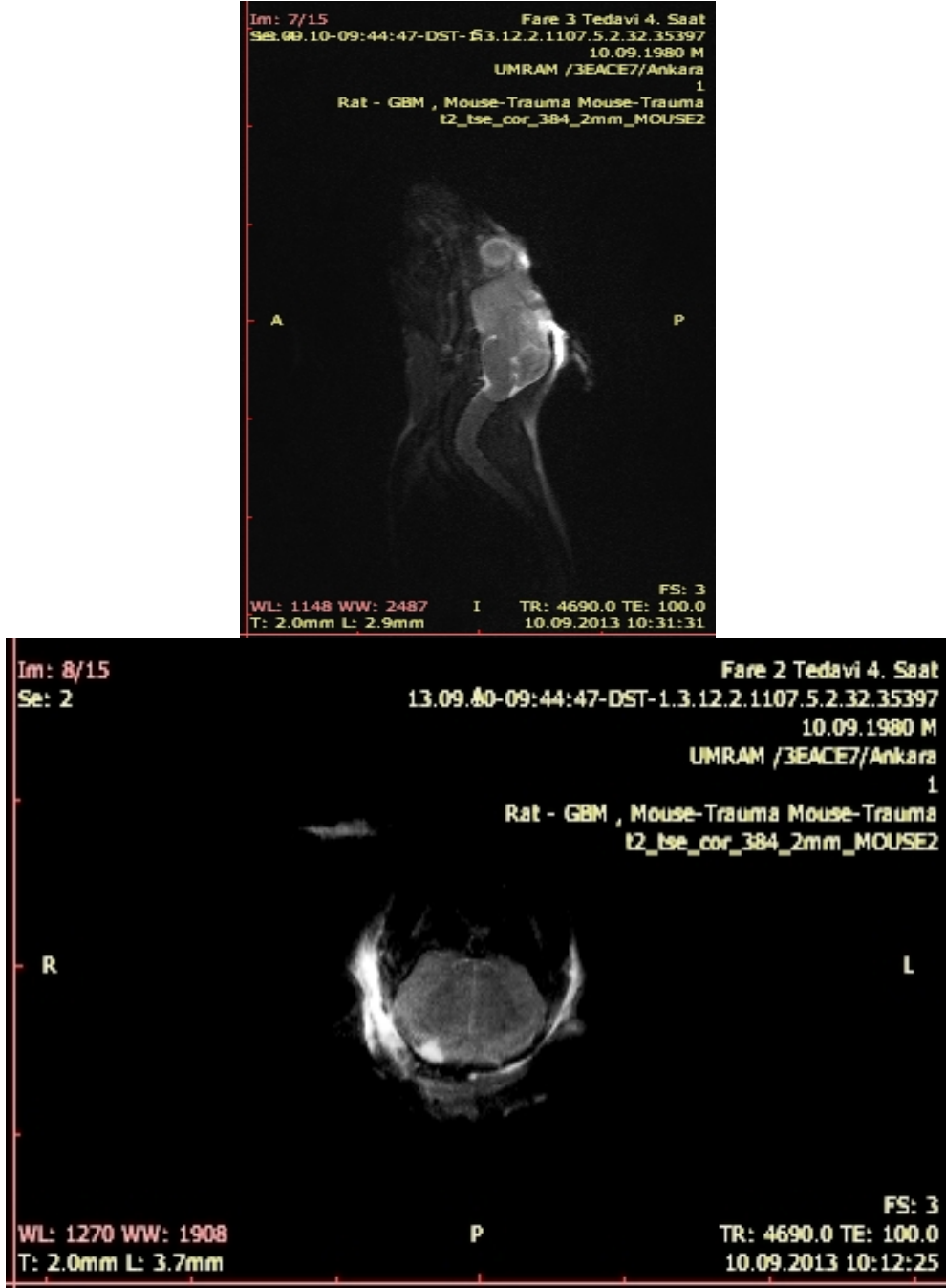
Şekil 20. AQP-4 sıfırncı dakika antisens grubun MR görüntülemeleri

#### D.Dördüncü saat oligonükleotid antisens tedavi grubu

Tüm deneklerde ödeme rastlandı. Kontrol travma grubuna kıyasla ödem büyüklüğünde fark bulunamadı. Bir denekte ekstraaksial hematom, birinde ödem alanın hemen komşuluğunda 1.3\*2.1 mm' lik intraserebral hematom tespit edildi. (Tablo 13) (Şekil 21)

Tablo 13. AQP-4 Dördüncü saat tedavi grubun MR bulguları

Hayvan no	MR Bulguları
ONAS (4h) 1	Ödem var, 1,9*2*2,7mm
ONAS (4h) 2	1*1,3mm ödem ve komşuluğunda 1,3*2,1mm hematom mevcut
ONAS (4h) 3	Ödem yok
ONAS (4h) 4	Ödem + ekstraaksial hematom, 0,8 * 2,3mm
ONAS (4h) 5	Ödem var, 1,8mm* 1,8mm
ONAS (4h) 6	Ödem var, 1,1mm * 2,2mm

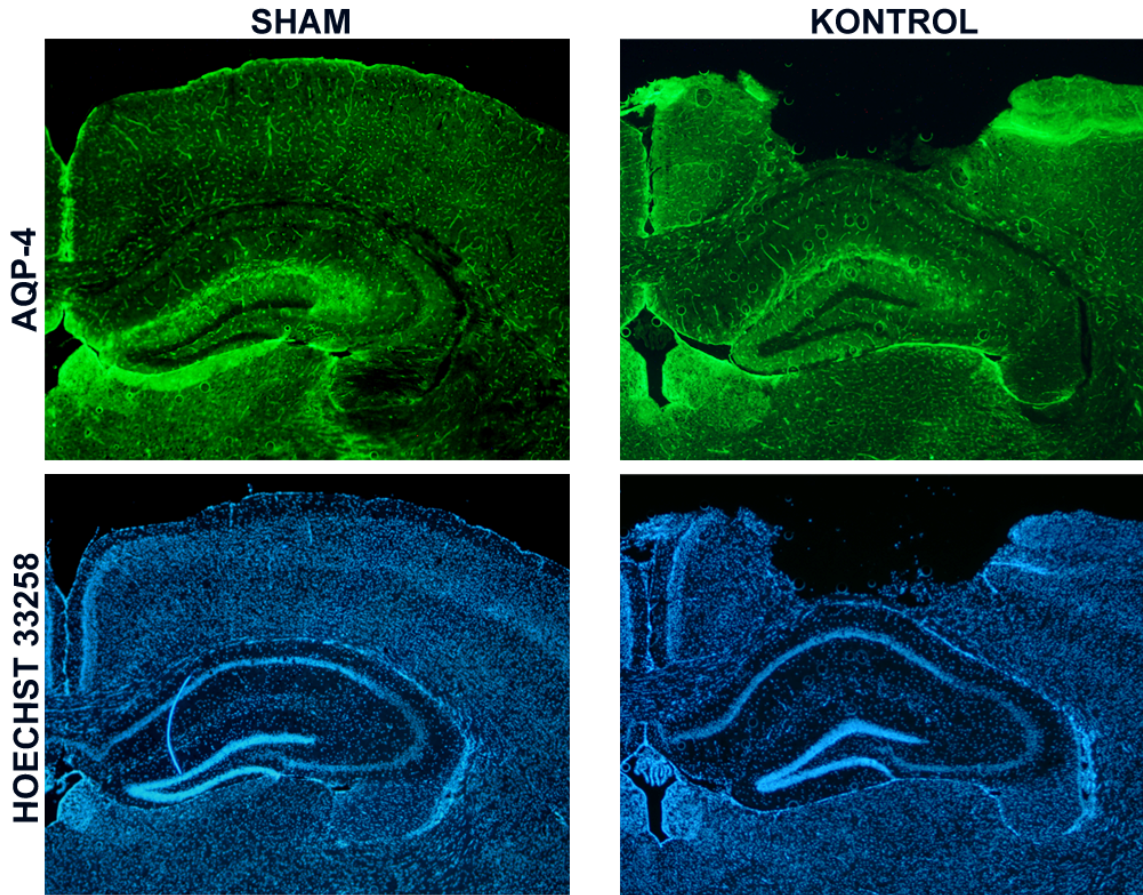


Şekil 21. AQP-4 antisens grubun MR görüntülemeleri



### 4.3. AQP-4 İmmünohistokimyası:

Sham ve kontrol travma grubunda Aquaporin-4 immünoreaktivitesi açısından anlamlı fark saptanmamıştır (Şekil 22). Kontrol travma grubunda travmanın uygulandığı beyin bölgesinin, kesitlerin alınması ve işlenmesi sırasında kaybedildiği dikkati çekmektedir. Bu nedenle değerlendirme yalnızca korunabilen beyin bölgeleri ile sham grubu arasında yapılabilmektedir.



**Şekil 22.** Fare beyin koronal kesitlerinde AQP4 ve nükleus boyaması (floresan mikroskopi, 4x büyütme; *üst* AQP4 boyaması, *alt* Hoechst 33258 ile nükleus boyaması)

## 5. TARTIŞMA

Modern tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişmesine rağmen, kafa travmalarına bağlı ölümler günümüzde hala sorun oluşturmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalar, çoğunlukla diffüz travmatik beyin hasarı sonrası ikincil patofizyolojik olayların önlenmesi ve etkin medikal tedavisinin uygulanmasına yöneliktir. [116,117]

Marmarou ve arkadaşları; travma sonrası beyin ödemi ve kafa içi basınç artışının nedenini serebral kan hacmindeki artıştan ziyade, serebral kan akımındaki azalmaya bağlamışlardır. Bu çalışma sonucunda beyin ödemi ve kafa içi basınç artışının, yaygın sitotoksik ödem ile ilgili olduğu gösterilmiştir. [127] Diffüz travmatik beyin yaralanmasının patofizyolojisinde sitotoksik ödemin, vazojenik ödemden daha baskın rola sahip olduğu düşünülmektedir.[127]

Deneysel travmatik beyin hasarında en sık kullanılan travma modeli Marmarou'nun ağırlık-düşürme metodudur. Bu metotla diffüz aksonal yaralanmanın biyomekanik değişiklikleri ve klinik özelliklerini oluşturmak; Akut travma sonrası beyin ödeminin ilk saatlerinde(6-24 saat) gelişimini gösterilmesini sağlamak mümkündür. Ayrıca Marmarou modeli kafa travmalı hastalarda gözlenen patofizyolojik değişikliklerin tümünü oluşturmuş olmasa da, travmatik beyin hasarı sonrası deneysel tedaviler için standart bir modeldir.[115] Bu metotla yaptığımız pilot çalışmalar sonucunda travmadan hemen sonra mortalite oranlarının oldukça yüksek olması, sham ve kontrol hayvanları arasında MRG ile tespit edilebilecek bir ödem oluşumunun gözlemlenmemesi; ayrıca yaş ve kuru ağırlığının ölçülmesi ile beynin su içeriği miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yakalanmaması nedeniyle ağırlık düşürme metodu Feeney'in ağırlık-düşürme metodu ile değiştirilmiştir.

Günümüzde deneysel kafa travması modellerin geliştirilmesi ("ağırlık düşürme," "sıvı perküsyon hasarı," ve "kontrollü kortikal çarpma") ile birlikte travmatik beyin hasarı modellerinden daha iyi sonuçların elde edilebileceği düşünülmektedir [80,119,120]

Kullandığımız kafa travması modelinin bilinen deneysel ağır kafa travması modelleri arasında en optimum model olmasa da; diğer modellere göre uygulanması kolay, ucuz ve kontrol edilebilir bir modeldir. Ayrıca deney sırasında hayvanların monitörizasyonu, vital bulguların tüm deney gruplarında optimum düzeylerde tutulması ve stabil olmayan ve standard protokol dışı travma alan hayvanların deney dışı bırakılması, travma dışında ek bir darbe oluşumunun engellenmesi, araştırmamızın standard kalıp içerisinde yürütülmesini sağlamıştır.

TBI modellerin mekaniğinin geliştirilmesi ve MRG kullanımının artması ile birlikte, sitotoksik ödemin TBİ patofizyolojisinde vazojenik ödemden daha ağırlıklı ve önemli rolü olduğu kanıtlanmıştır. Sitotoksik ödemin travma sonrası vazojenik ödemden daha erken dönemde başladığı ve etkisinin daha uzun süre sürdüğü gösterilmiştir. [74,115,119,120,121,124]

Travma sonrası ilk 24 saat içinde yapılan MRG çalışmalarında kan-beyin geçirgenliğinde kaçak bulgusuna rastlanmıştır. Ratlar üzerinde yapılan deneysel MR görüntülemelerinde; T2, diffüzyon ve ADC haritalanması ile diffüz beyin yaralanma sonrasında erken dönemde; İlk 6 saat içerisinde, kontüzyon alanın periferinde, hücresel şişmenin başladığı gösterilmiştir. [122,123,125,126] Bizim çalışmamızın da benzer metotla, ödemin en yoğun olduğu; travma sonrası 24 üncü saatte, MRG çekilmesi literatürle ne kadar benzerlik taşısa da; daha önceden fareler üzerinde yapılmamış olduğu için bir farklılık göstermektedir. Ancak gelecekte yapılacak olan araştırmalarla fareler üzerinde uygulanabilen koillerin geliştirilmesiyle bu tekniğin ek bilgiler sunabileceği düşünülüyor.

Son yıllarda tespit edilen ve üzerine çok sayıda araştırma yapılan AQP'ler ve özellikle serebral Aquaporin-4 (AQP-4), astrositlerin son ayaklarında bulunan bir çift yönlü transmembran su kanalı olarak görev yapmaktadırlar. AQP'lerin ve özellikle AQP-4 ün sitotoksik ödemin üzerinde önemli rolü oynadığı gösterilmiştir. [74,75,101] AQP-4 knock-out farelerde, sitotoksik ödemin baskın olduğu deney modellerinde; normal farelere oranla daha az

ödem ve daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir. Buna karşın vazojenik ödemin daha ön planda olduğu beyin tümörü gibi modellerinde ise transgenik farelerde daha kötü sonuçlar gözlenmiştir. Bu sonuçlar, iki yönlü su kanalı olarak görev yapan AQP4'ün sitotoksik ödem sırasında hücre içi su birikimini artırıcı, vazojenik ve interstisiyel ödemde ise beyin dokusundaki aşırı suyunu uzaklaştırılmasında, kolaylaştırıcı bir işlevi olduğunu göstermektedir.[52,77] Bununla birlikte travma sırasında hasarın olduğu bölgede AQP4 ekspresyonunda artış izlenirken, hasar etrafındaki dokuda ise azalma dikkati çekmektedir. Bu bulgular, AQP4'ün travma sonrası beyin ödemindeki rolüne ilişkin karmaşık dengelerin söz konusu olduğuna işaret etmektedir.[76] Bahsi geçen çalışmalar; travmatik beyin ödeminde AQP4'ün rolüne ilişkin bilgiler sağlasa da, AQP4 ekspresyonu sonucunda, beyin ödemi tedavisinde net sonuçlar sunmamaktadır.

Buna ek olarak, son yıllarda yapılan araştırmalar; deneysel ilaçların astrositler, AQP4 ve beyin su içeriği üzerindeki etkileri incelenmiştir.[128] Günümüzde pek çok deneysel ilacın kullanımı ile; yeni tedavi metotların geliştirilmesine çalışılmıştır. Ancak hiç birinden optimum sonuçlar alınamamıştır. AQP'lerin travma patofizyolojisinde rolü belirginleşince, yeni arayışlar gündeme gelmiştir.

Arginin vazopressinin ( AVP ), çeşitli dokularda; AQP4 ekspresyonunda, düzenleyici rola sahip olduğuna dair kanıtlar vardır. [129,130,131] Fare iskemik inme modelinde, AVP V1 reseptör antagonizması; AQP4 upregülasyonu ve beyin su içeriğinin, dolayısıyla beyin ödeminin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir.[129] Deneysel travmatik beyin hasarı modelinde de AVP V1 reseptör antagonizması ile benzer sonuçların oluştuğu gösterilmiştir.[130] Bu ve buna benzer deneysel tedavi modellerinde, membran AQP-4 oligonükleotitlerin direkt veya indirekt inhibisyonu; antikor aracılığıyla tasarlanmıştır; dolayısıyla bu deneyler sonucunda sadece hastalıklı doku değil tüm beyin dokusunda bulunan reseptör ve membran AQP-4 oligonükleotidler hedeflenerek, uygulanan tedavilerin hedefi kalmaktadır.[128] Bunun sonucu, normal dokularda da fonksiyon bozukluğuna yol açmakla birlikte; diffüz travmatik beyin hasarının sürecinde vazojenik ödemin patofizyolojisinde rolü olan AQP-4 lerin inhibisyonu

[124.126] , bu patofizyolojik süreçlerin daha da hızlandırılmasına, sonuçların daha da kötüye gitmesine sebep olabileceği düşünülmektedir. Oysa ki bizim çalışmamızda; travmaya maruz beyin dokusu bölgesinde; travma nedeniyle AQP-4 ekspresyonunun arttığı bölgede; [76] AQP4 ekspresyonunu engellemek ve sonucunda fonksiyonel kanal proteininin hücre membranına bağlanmasının baskılanması şeklinde tasarlanmıştır. Dolayısıyla uygulanan tedavinin, sağlıklı beyin dokusu bölgelerinde bulunan işlevsel membran AQP-4'leri etkilemeyip; fonksiyonlarını bozmamaktadır. Uyguladığımız tedavi sonucunda; mevcut AQP-4'lerin fonksiyonu ve sayısında herhangi bir değişikliğe sebep olmamakla birlikte, yeni sentezlenen; fonksiyonel AQP-4 lerin nükleotid dizilişini bozarak sitotoksik ödemin fizyopatolojisinde önemli bir tedavi seçeneği sunmakta olup; çalışmamızın üstün yanını göstermektedir. Ayrıca immünohistokimyasal boyalarda da görüldüğü üzere bütün beyinin AQP-4'den zengin bir doku olduğu; tedavi öncesi ve sonrası, AQP-4'ün sayısındaki azalmama, bunu desteklemektedir.

Deneyimizde, AQP-4 ekspresyonu sonucu oluşan fonksiyonel kanal proteininin, hücre membranına bağlanmasının, Antisense oligonükleotitler aracılığıyla baskılanması amaçlandı. Henüz yayımlanmamış olan; TÜBİTAK Projesinde yer alan(Proje No: 110S496, Proje Yürütücüsü: Prof.Dr. Yasemin Özdemir, Hacettepe Üniversitesi Hastanesi, Nöroloji anabilim dalı) AQP-4 antisens oligonükleotitlerinin kullanımı ile mRNA düzeyinde AQP4 su kanal proteinlerinin astrosit son ayaklarında yerleşiminin, dolayısıyla fonksiyonlarının fare astrosit kültüründe engellenebileceğini göstermiş [136] (western blot tekniği ile total AQP4 protein miktarının değişmediğini, immunhistokimya ile antisens tedavisi uygulanmış hücre gruplarında AQP-4 proteininin kanala yerleşmediği, sitoplazmada kalıp, fonksiyon kazanamadığı gösterilmiştir). Bunun ardından yine primer fare astrosit kültürlerinde, orta serabral arterin, flamen metodu ile tıkanması sonucu oluşturulmuş in vivo iskemi modeli üstünde çalışmış. Ardından reperfüzyon sonrası oluşan sitotoksik beyin ödeminin etkisini araştırmış ve enfark hacminde istatistiksel olarak son derece anlamlı farklar elde edilmiştir.<sup>137</sup> Bunun sonucunda da AQP-4 antisens oligonükleotitler ile beyin ödeminin azaltıcı yeni bir tedavi sistemi olabileceği ve özellikle de travmatik beyin hasarı sonucu oluşan beyin

ödeminde araştırılması gerektiği düşünöldü.

Antisens oligonökleotidlerin etki mekanizmasında; antisene oligonökleotidler mRNA'ya Watson-Crick baz çifti esasö ile bağlanarak sterik blokaj oluştururlar ve translasyonu engellerler. Antisens oligonökleotidi ile mRNA'nın oluşturduğu hibridin RNAaseH aktivasyonu sonucu enzimatik olarak yıkılması RNAaseH mekanizması olarak adlandırılır. Antisens oligonökleotidler fosfodiester yapı içerirler. Modifiye edilmemiş fosfodiester bağlı oligonökleotidlerin biyolojik sıvılarda endo ve ekzonökleazlar tarafından kısa sürede parçalandığı bilinmektedir. Degradasyonu önlemek ve daha uzun *in vivo* stabilite sağlamak amacıyla nükleotid yapısına yönelik çeşitli modifikasyonlar geliştirilmiştir.[61] Bu modifikasyonlardan en yaygın olanı fosfodiester bağlarındaki oksijen atomlarının sülfür ile yer değiştirmesi ile oluşturulan fosforotiyoat türevleridir. Bu sebeple yapılan çalışmalar çoğunlukla fosforotiyoat türevleri ile gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda AQP4'ün hücre membranına tutunma bölgesine karşı olarak dizayn edilmiş ve ön denemeleri yapılmış olan oligonökleotidin (5 /56-FAM/TCA TACGGAAGACAATACCTC-3) kullanılması tasarlanmıştır. Oligonökleotid daha önce bahsedilmiş olan fosforotiyoat modifikasyonu içerdiğinden ekzo ve endonökleaz aktiviteden korunacaktır.

Kullandığımız Oligonökleotid Antisens, hücre sitoplazmasında AQP-4 mRNA'nın transkripsiyonu esnasında, AQP-4 'ün hücre membranına bağlanmasını sağlayacak bölgesinin transkripsiyonunu engelleyebileceği, hücre zarına yerleşilecek fonksiyonel olan AQP4 'ün oluşumunu baskılayabileceği fakat AQP-4'ün ekspresiyonunu azaltmayacağı; böylelikle kanal fonksiyonunu azaltarak ödem üzerine olumlu etkide bulunacağı düşünöldü. Antisens oligonökleotid tedavi ile travmanın en erken dönemi, sıfırıncı dakikada ödemin azaldığı tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı değerler elde edildi ( $p<0.01$ ). Ancak uygulanan tedavi ile travmadan dört saat sonra anlamlı sonuçlar alınamadı. Bununda ; sitotoksik ödemin çok erken dönemde başladığı ve saatler içerisinde arttığından kaynaklanmış olduğu düşünölmekte olup; erken dönem tedavinin; patofizyolojik süreçlerin erkenden baskılanmasına yol açtığı için, daha etkili olduğuna inanılıyor.[74,115,119,120,121,124]

Ödemin en yüksek seviyeye ulaştığı düşünölen travmanın 24'ücu saati [122,123,125] ve daha sonrasındaki dönemde antisens uygulanmasının daha kötü sonuçlara neden olabileceği düşünölmektedir Travma sonrası 7. Gün [74,122] ve sonrası uygulamalarda antisensin bir etkisinin olamayacağı öngörölmüştür. Önerimiz; AQP-4, diffüz travmatik beyin yaralanması tedavisinde hedef molekül olacaksa, antisens tedavinin mümkün olduğu kadar erken dönemde başlanması, hatta kaza yerinde veya acil servislere gelmeden, taşıma sırasında uygulanması gerekir. Bunun yanında; gelecekte benzer modelin oluşturmasıyla; örneğin tümör, iskemi veya subaraknoid kanama modellerin ödem tedavisinde, antisens verilmesi denenebilir. Uygulanan antisens dozunun modifiye edilmesi veya deneyimizde yapılan sıfır ve dördüncü saat tedavilerin zaman aralıklarında değişim yapılmasıyla sonuçların hangi yönde değişebileceği denenebilir. Ayrıca intraserebroventriküler yolla uyguladığımız tedavinin farklı yolla uygulanarak sonuçların değişip değişmediğine bir sonraki araştırmalarla bakılabilir.

Kanser tedavisinde Antisens ilaçlar üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda; tümör hücrelerinin sayısında belirgin azalma tespit edilmiştir. İleri testler sonucunda, bu azalmanın asıl nedeni, Antisens ilaçların direkt etkisinden ziyade, tümör hücrelerine karşı uyarılan immün cevaptan dolaydır. [61] Antisens bazlı ilaçların tam mekanizmaları belli olmadığı için, ileriki araştırmalarla, alınan sonuçların, ilaç etkisine bağlı olup olmadığına bakılmasında fayda olabileceğini düşünöyoruz.

Bu çalışma toksisiteye yönelik bir deney değildir. AQP-4 oligonökleotid inhibitörünün teorik olarak bir yan etkisinin olmaması gerekir. Bizim uyguladığımız deneyde bu toksisiteye yönelik kontrol yapılmadı. Ancak gelecekteki yapılacak olan araştırmalarla, antisens oligonökleotidin toksisiteye yönelik yan etkisinin olup olmadığına bakılabilir.

Çalışmamızın bir başka farklığı da fareler üzerinde MRG yapılmasıdır. Daha önceki çalışmalarda kullanılan Ratlara karşılaştırıldığında bu çalışmada kullanılan farelerin anatomisi ve kafalarının küçük olmasına rağmen başarılı bi şekilde MR görüntölemeleri yapılabilmıştır.

Çalışmamız ülkemizde ve belki de uluslararası alanda AQP-4 gen tedavisinde bir başlangıçtır. Gelecek araştırmalar için yol gösterici olabilmesi ve diffüz travmatik beyin hasarında yeni tedavi ufukların gösterebilmesi açısından, değerli ve önem arz eden bir çalışma olduğunu düşünmekteyiz.



## 6. SONUÇ

1. Ödem oluşumu, yaş/kuru ağırlığı ölçümü ve MR görüntülemeleri ile değerlendirildi. Kontrol travma grubunun sonuçları, sham ve tedavi grupları ile karşılaştırıldı.

2. MR görüntülemeleri ile kontrol travma grubunda ödemin arttığı gözlemlendi. AQP-4 sıfırıncı dakika Antisens tedavi grubunda; ödem boyutunda belirgin biçimde azalma gözlenirken, AQP-4 dördüncü saat antisens tedavi grubunda ise ödem boyutunda anlamlı fark gözlenmedi.

3. Sakrifikasyon sonrası yaş/kuru ağırlığı ölçümleri yapılarak ödem değerlendirildi. AQP-4 sıfırıncı dakika Antisens tedavi grubunda; ödem miktarındaki azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunurken; AQP-4 dördüncü saat Antisens tedavi grubunda ödem miktarındaki azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Çalışmamız; diffüz travmatik beyin yaralanmasında, AQP-4 antisens oligonükleotidlerin beyin ödemi tedavisine yeni bir yaklaşım olduğunu göstermektedir. Yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden bu toplumsal sorunun çözümü için, gelecekte etkin medikal tedavilerin bulunmasına yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Faul M, Xu L, Wald MM, Coronado VG: **Traumatic brain injury in the United States: emergency department visits, hospitalizations, and deaths.** Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Injury Prevention and Control, Atlanta (GA): 2010.
2. Rostene W, et al: **Neurochemokines: a menage a trois providing new insights on the functions of chemokines in the central nervous system.** J Neurochem 2011, 118:680–694.
3. R.G. DePalma, D.G. Burris, H.R. Champion *et al.* **Blast injuries,** N Engl J Med, 352 (13) (2005), pp. 1335–1342
4. Galarneau MR, Woodruff SI, Dye JL, Mohrle CR, Wade AL: **Traumatic brain injury during operation Iraqi freedom: findings from the United States navy-marine corps combat trauma registry.** J Neurosurg 2008, 108: 950–957.
5. Macgregor AJ, Dougherty AL, Galarneau MR: **Injury-specific correlates of combat-related traumatic brain injury in Operation Iraqi Freedom.** J Head Trauma Rehabil 2011, 26:312–318.
6. Ettenhofer ML, Abeles N: **The significance of mild traumatic brain injury to cognition and self-reported symptoms in long-term recovery from injury.** J Clin Exp Neuropsychol 2009, 31:363–372.
7. Ettenhofer ML, Barry DM: **A comparison of long-term postconcussive symptoms between university students with and without a history of mild traumatic brain injury or orthopedic injury.** J Int Neuropsychol Soc 2012, 18:451–460.
8. Halldorsson JG, Flekkoy KM, Arnelsson GB, Tomasson K, Magnadottir HB, Arnarson EO: **The scope of early traumatic brain injury as a long-term health concern in two nationwide samples: prevalence and prognostic factors.** Brain Inj 2012, 26:1–13.
9. Ozen LJ, Fernandes MA: **Slowing down after a mild traumatic brain injury: a strategy to improve cognitive task performance?** Arch Clin Neuropsychol 2012, 27:85–100.
10. Griffin GD: **The injured brain: TBI, mTBI, the immune system, and infection: connecting the dots.** Mil Med 2011, 176:364–368.
11. Centers for Disease Control and Prevention: **Concussion and Mild TBI.** <http://www.cdc.gov/concussion>.

12. Kraus MF, Susmaras T, Caughlin BP, Walker CJ, Sweeney JA, Little DM: **White matter integrity and cognition in chronic traumatic brain injury: a diffusion tensor imaging study.** *Brain* 2007, 130:2508–2519.
13. McIntosh TK, Smith DH, Meaney DF, Kotapka MJ, Gennarelli TA, Graham DI: **Neuropathological sequelae of traumatic brain injury: relationship to neurochemical and biomechanical mechanisms.** *Lab Invest* 1996, 74:315–342.
14. Holbourn AHS. **The mechanics of brain injuries.** *Br Med Bull*; 3:147-149, 1945
15. DeKosky ST, Kochanek PM, Clark RS, Ciallella JR, Dixon CE: **Secondary injury after head trauma: subacute and long-term mechanisms.** *Semin Clin Neuropsychiatry* 1998, 3:176–185.
16. Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM: **The role of inflammation in CNS injury and disease.** *Br J Pharmacol* 2006, 147(Suppl 1):S232–S240.
17. Werner C, Engelhard K: **Pathophysiology of traumatic brain injury.** *Br J Anaesth* 2007, 99:4–9.
18. Utagawa A, Truettner JS, Dietrich WD, Bramlett HM: **Systemic inflammation exacerbates behavioral and histopathological consequences of isolated traumatic brain injury in rats.** *Exp Neurol* 2008, 211:283–291.
19. Lu J, Goh SJ, Tng PY, Deng YY, Ling EA, Moolchala S: **Systemic inflammatory response following acute traumatic brain injury.** *Front Biosci* 2009, 14:3795–3813
20. Tsukaguchi H, Shayakul C, Berger UV, et al. **Molecular characterization of a broad selectivity neutral solute channel.** *J Biol Chem.* 1998;273:24737–43
21. Wu B, Beitz E. **Aquaporins with selectivity for unconventional permeants.** *Cell Mol Life Sci.* 2007;64:2413–21.
22. Carbrey JM, Song L, Zhou Y, et al. **Reduced arsenic clearance and increased toxicity in aquaglyceroporin-9-null mice.** *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:15956.
23. Miller EW, Dickinson BC, Chang CJ. **Aquaporin-3 mediates hydrogen peroxide uptake to regulate downstream intracellular signaling.** *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:15681–86.
24. Musa-Aziz R, Chen LM, Pelletier MF, et al. **Relative CO<sub>2</sub>/NH<sub>3</sub> selectivities of AQP1, AQP4, AQP5, AmtB, and RhAG.** *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:5406–11.

25. Wang Y, Tajkhorshid E. **Nitric oxide conduction by the brain aquaporin AQP4. Proteins.** 2010;78:661–70.
26. Fujiyoshi Y, Mitsuoka K, de Groot BL, et al. **Structure and function of water channels.** *Curr Opin Struct Biol.* 2002;12:509–15.
27. Walz T, Fujiyoshi Y, Engel A. **The AQP structure and functional implications.** *Handb Exp Pharmacol.* 2009;190:31–56.
28. Khalili-Araghi F, Gumbart J, Wen PC, et al. **Molecular dynamics simulations of membrane channels and transporters.** *Curr Opin Struct Biol.* 2009;19:128–37.
29. Chepelinsky AB. **Structural function of MIP/aquaporin 0 in the eye lens; genetic defects lead to congenital inherited cataracts.** *Handb Exp Pharmacol.* 2009;190:265–97.
30. Yang B, Brown D, Verkman AS. **The mercurial insensitive water channel (AQP-4) forms orthogonal arrays in stably transfected Chinese hamster ovary cells.** *J Biol Chem.* 1996;271:4577–80.
31. Verkman AS. **Dissecting the roles of aquaporins in renal pathophysiology using transgenic mice.** *Semin Nephrol.* 2008;28:217–26.
32. Tradtrantip L, Tajima M, Li L, et al. **Aquaporin water channels in transepithelial fluid transport.** *J Med Invest.* 2009;56(Suppl):179–84.
33. Verkman AS, Rossi A, Zhang H, et al. **Aquaporin-4: CNS functions, orthogonal arrays and role in neuromyelitis optica.** *Acta Pharm Sinica.* 2011;32:702–10.
34. Verkman AS, Ruiz-Ederra J, Levin MH. **Functions of aquaporins in the eye.** *Prog Retin Eye Res.* 2008;27:420–33.
35. Hara-Chikuma M, Verkman AS. **Roles of aquaporin-3 in the epidermis.** *J Invest Dermatol.* 2008;128:2145–51.
36. Verkman AS. **Role of aquaporins in lung liquid physiology.** *Respir Physiol Neurobiol.* 2007;159:324–30.
37. Verkman AS, Thiagarajah JR. **Physiology of water transport in the gastrointestinal tract.** In: Johnson L, editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract.* 5. New York: Elsevier; 2011. In press.
38. Noda Y, Sohara E, Ohta E, et al. **Aquaporins in kidney pathophysiology.** *Nat Rev Nephrol.* 2010;6:168–78.

39. Ma T, Song Y, Yang B, et al. **Nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking aquaporin-3 water channels.** Proc Natl Acad Sci USA. 2000;97:4386–91.
40. Ma T, Yang B, Gillespie A, et al. **Generation and phenotype of a transgenic knockout mouse lacking the mercurial-insensitive water channel aquaporin-4.** J Clin Invest. 1997;100:957–62.
41. Ma T, Yang B, Gillespie A, et al. **Severely impaired urinary concentrating ability in transgenic mice lacking aquaporin-1 water channels.** J Biol Chem. 1998;273:4296–99.
42. Yang B, Gillespie A, Carlson EJ, et al. **Neonatal mortality in an aquaporin-2 knock-in mouse model of recessive nephrogenic diabetes insipidus.** J Biol Chem. 2001;276:2775–79.
43. King LS, Choi M, Fernandez PC, et al. **Defective urinary-concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1.** N Engl J Med. 2001;345:175–79.
44. Deen PM, Verdijk MA, Knoers NV, et al. **Requirement of human renal water channel aquaporin-2 for vasopressin-dependent concentration of urine.** Science. 1994;264:92–95.
45. Chou CL, Knepper MA, Hoek AN, et al. **Reduced water permeability and altered ultrastructure in thin descending limb of Henle in aquaporin-1 null mice.** J Clin Invest. 1999;103:491–96.
46. Pallone TL, Edwards A, Ma T, et al. **Requirement of aquaporin-1 for NaCl-driven water transport across descending vasa recta.** J Clin Invest. 2000;105:215–22.
47. Schnermann J, Chou CL, Ma T, et al. **Defective proximal tubular fluid reabsorption in transgenic aquaporin-1 null mice.** Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95:9660–64.
48. Khanna A. **Acquired nephrogenic diabetes insipidus.** Semin Nephrol. 2006;26:244–48.
49. Ma T, Song Y, Gillespie A, et al. **Defective secretion of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 water channels.** J Biol Chem. 1999;274:20071–74.
49. Song Y, Verkman AS. **Aquaporin-5 dependent fluid secretion in airway submucosal glands.** J Biol Chem. 2001;276:41288–92
50. Oshio K, Watanabe H, Song Y, et al. **Reduced cerebrospinal fluid production and intracranial pressure in mice lacking choroid plexus water channel aquaporin-1.** FASEB J. 2005;19:76–78.

51. Zhang D, Vetrivel L, Verkman AS. **Aquaporin deletion in mice reduces intraocular pressure and aqueous fluid production.** *J Gen Physiol.* 2002;119:561–69.
52. Manley GT, Fujimura M, Ma T, et al. **Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke.** *Nat Med.* 2000;6:159–63.
53. Papadopoulos MC, Verkman AS. **Aquaporin-4 gene disruption in mice reduces brain swelling and mortality in pneumococcal meningitis.** *J Biol Chem.* 2005;280:13906–12
54. Yang B, Zador Z, Verkman AS. **Glial cell aquaporin-4 overexpression in transgenic mice accelerates cytotoxic brain swelling.** *J Biol Chem.* 2008;283:15280–86.
55. Bloch O, Papadopoulos MC, Manley GT, et al. **Aquaporin-4 gene deletion in mice increases focal edema associated with staphylococcal brain abscess.** *J Neurochem.* 2005;95:254–62.
56. Papadopoulos MC, Manley GT, Krishna S, et al. **Aquaporin-4 facilitates reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema.** *FASEB J.* 2004;18:1291–93
57. Bloch O, Auguste KI, Manley GT, et al. **Accelerated progression of kaolin-induced hydrocephalus in aquaporin-4-deficient mice.** *J Cereb Blood Flow Metab.* 2006;26:1527–37.
58. Saadoun S, Bell BA, Verkman AS, et al. **Greatly improved neurological outcome after spinal cord compression injury in AQP4-deficient mice.** *Brain.* 2008;131:1087–98
59. Kimura A, Hsu M, Seldin M, et al. **Protective role of aquaporin-4 water channels after contusion spinal cord injury.** *Ann Neurol.* 2010;67:794–801
60. Li L, Zhang H, Varrin-Doyer M, et al. **Proinflammatory role of aquaporin-4 in autoimmune neuroinflammation.** *FASEB J.* 2011;25:1556–66
61. Robinson R. **RNAi therapeutics: how likely, how soon?** *PLoS Biol.* 2004 Jan;2(1):E28. Epub 2004 Jan 20.
62. Gentry LR. **Imaging of Closed Head Injury.** *Radiology* 1994; 1:1-17.
63. Gaylan LR, Tintinalli JE, Ruiz E, Krome LR. **Head Injury in: Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide.** 3 edition. McGraw Hill. New York. 1992; 913-921.
64. Masters SJ. **Evaluation of Head Trauma.** *AJR.* 135: 539-547, 1980.

65. V. G. Coronado, L. Xu, S. V. Basavaraju et al., “**Surveillance for traumatic brain injury-related deaths—United States, 1997-2007,**” *Morbidity and Mortality Weekly Report*, vol. 60, no. 5, pp. 1–36, 2011
66. M. Faul, L. Xu, M. M. Wald, and V. G. Coronado, “**Traumatic brain injury in the United States: emergency department visits, hospitalizations, and deaths,**” *Centers for Disease Control and Prevention*, National Center for Injury Prevention and Control, Atlanta, Ga, USA, 2010.
67. Hartings JA, Vidgeon S, Strong AJ, Zacko C, Vagal A, Andaluz N, Ridder T, Stanger R, Fabricius M, Mathern B, Pahl C, Tolias CM, Bullock MR; **Surgical management of traumatic brain injury: a comparative-effectiveness study of 2 centers.** *J Neurosurg.* 2013 Nov 1.
68. Erbençi A: **History and development of neurosurgery in Anatolia (part one).** *Turkish Neurosurgery* 3:1-5, 1993.
69. Gentry LR. **Imaging of closed head injury.** *Radiology* 191:1, 1994
70. Jennet WB, Teasdale G: **Management of head injury.** Philadelphia Davis. 1981
71. E. Zaloshnja, T. Miller, J. A. Langlois, and A. W. Selassie, “**Prevalence of long- term disability from traumatic brain injury in the civilian population of the United States 2005,**” *Journal of Head Trauma Rehabilitation*, vol. 23, no. 6, pp. 394–400, 2008.
72. P. Reilly, “**The impact of neurotrauma on society: an international perspective,**” in *Neurotrauma: New Insights into Pathology and Treatment*, J. T. Weber, Ed., pp. 5–7, Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, 2007.
73. Carli P, Orliaguet G. **Severe traumatic brain injury in children.** *The Lancet.* 2004;363(9409):584–585
74. Unterberg ve ark., **Edema and brain trauma**, Department of Neurosurgery, Ruprecht-Karls University of Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 400, D-69120 Heidelberg, Germany, *Neuroscience* 129 (2004) 1021–1029
75. Mahasweta Das, Subhra Mohapatra and Shyam S Mohapatra. Das et al **New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury.** *Journal of Neuroinflammation* 2012, 9:236
76. Sun ve ark., **Regulation of aquaporin-4 in a traumatic brain injury model in rats.** *J Neurosurgery* (2003) 98:565-569

77. Verkman AS, **Aquaporins in clinical medicine**, *Annual Review of Medicine* (2012) 63:303–16
78. Marios C. Papadopoulos & Alan S. Verkman, **Aquaporin water channels in the nervous system**, *Nature Reviews Neuroscience* 14, 265-277 (April 2013)
79. Xiong Y, Mahmood A, Chopp M, **Animal models of traumatic brain injury**, Department of Neurosurgery, Nat Rev Neurosci. USA 2013 Feb;14(2):128-42.
80. Zeguang Ren, Jeffrey J Iliff, Lijun Yang, Jiankai Yang, Xiaolin Chen, Michael J Chen, Rebecca N Giese, Baozhi Wang, Xuefang Shi<sup>4</sup> and Maiken Nedergaard, **Hit & Run' model of closed-skull traumatic brain injury (TBI) reveals complex patterns of post-traumatic AQP4 dysregulation**, *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* (2013) 33, 834–845 & 2013,
81. Maas AI, Stocchetti N, Bullock R, **Moderate and severe traumatic brain injury in adults**. Department of Neurosurgery, University Hospital Antwerp, Antwerp, Belgium. *Lancet Neurol*. 2008 Aug
82. Gennarelli TA, Meaney DF. **Mechanism of primary head injury**. In: Wilkins RH, Rengachary SS, (eds). *Neurosurgery*. USA: Mc Graw Hill, 1996: 2611-21.
83. Prof. J L Mathias, Dr. Yasmin Harman-Smith, Dr. Stephen Bowden, Dr. Jeffrey V Rosenfeld, and Erin D Bigler. **Contribution of psychological trauma to outcomes after traumatic brain injury: Assaults versus sporting injuries**. *Journal of Neurotrauma*, November 14, 2013
84. Reilly PL, Graham DI, Adams JH, **Patients with head injury who talk and die**. Jennett B. *Lancet*. 1975 Aug 30;2(7931):375-7.
85. **Traumatic brain injury: Can the consequences be stopped?** Canadian Medical Association, Eugene Park, PhD, Joshua D. Bell, BSc, and Andrew J. Baker, MD, *CMAJ*. 2008 April 22; 178(9): 1163–1170.
86. Ibolja Cernak, **Animal Models of Head Trauma**, *Department of Neuroscience Georgetown University Medical Center, Washington, D.C.* The American Society for Experimental NeuroTherapeutics July 2005.
87. **ANIMAL MODELSTraumatic Brain Injury**, J. W. FINNIE AND P. C. BLUMBERGS Veterinary Services Division, Institute of Medical & Veterinary Science (JWF), Division of Tissue Pathology, Institute of Medical & Veterinary Science (PCB), and Department of Pathology, University of Adelaide, Australia (JWF, PCB)



88. Maxwell WL, Watt C, Graham DI, et al. **Ultrastructural evidence of axonal shearing as a result of lateral acceleration of the head in non-human primates.** *Acta Neuropathol* 1993;86:136-44
89. Stein SC, Chen XH, Sinson GP, Smith DH. **Intravascular coagulation: a major secondary insult in nonfatal traumatic brain injury**, Department of Neurosurgery, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, USA *J Neurosurg.* 2002 Dec;97(6):1373-7..
90. M. Fikret Ergüngör. **Türk nöroşirürji derneği yayımları.** 2005 baskısı, kafa travmalarında patofizyoloji, sayfa 298-305
91. S Harhangi, EJO Kompanje, FWG Leebeek, AIR Maas, **Coagulation disorders after traumatic brain injury**, *Acta Neurochir (Wien)*, 150 (2008), pp. 165–175
92. Segun T Dawodu, MD, JD, MBA, LLM, FAAPMR, FAANEM; Chief Editor: Denise I Campagnolo, MD, MS, **Traumatic Brain Injury (TBI) - Definition, Epidemiology, Pathophysiology**, Updated: Mar 6, 2013, Medscape
93. Gennarelli TA, Adams JH, Graham DI. **Acceleration induced head injury in the Minkey, I: the model, its mechanical and physiological correlates.** *Acta neuropathol (Berl)*; Suppl VII: 23-25, 1981
94. Graham DI, **Neuropathology of the head injury.** In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT. eds. *Neurotrauma.* Mc Graw Hill: New York; p.43–58, 1996
95. Jennett B. **Skull x-rays after recent head injury.** *Clin Radiol* 1980; 31:463-465.
96. Ommaya AK, Grubb RL Jr, Naumann RA. **Coup and contre-coup injury: observations on the mechanics of visible brain injuries in the rhesus monkey.** *J Neurosurg.* Nov 1971;35(5):503-16.
97. Mac Donald CL, Johnson AM, Cooper D, Nelson EC, Werner NJ, Shimony JS, et al. **Detection of blast-related traumatic brain injury in U.S. military personnel.** *N Engl J Med.* Jun 2 2011;364(22):2091-100.
98. Bouma GJ, Muizelaar JP. **Cerebral blood flow, cerebral blood volume, and cerebrovascular reactivity after severe head injury.** *J Neurotrauma* 9: 333–348, 1992
99. Osborn AG. *Diagnostic Neuroradiology.* Boston: Mosby, 1994.100. Lange S, Grumme T, Kluge W, Ringel K, Meese W: **Cerebral and Spinal Computerized Tomography.** Schering AG, west Germany, 44-50, 1989.

100. Hofman PA, Nelemans P, Kemerink GJ, **Value of radiological diagnosis of skull fracture in the management of mild head injury: meta-analysis.** Department of Radiology, University Hospital Maastricht and the University Maastricht, J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2000 Apr;68(4):416-22.
101. E.A. Nagelhus, et al; **Immunogold evidence suggests that coupling of K<sup>+</sup> siphoning and water transport in rat retinal Muller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains;** *Glia*, 26 (1999), pp. 47–54
102. Toklu HZ. Doktora tezi. Danışmanlar: Prof. Dr. Meral Keyer Uysal, Doç. Dr. Levent Kabasakal. **Sıçanlarda sepsise bağlı ensefalopatide erken ve geç dönemde riluzolün etkilerinin araştırılması,** Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı .YÖK Tez no: 193720, 2006.
103. Kempinski O. **Cerebral edema.** *Semin Nephrol* 21(3): 303–307, 2001
104. Marmarou A. **A review of progress in understanding the pathophysiology and treatment of brain edema.** *Neurosurg Focus* 22(5): E1, 2007
105. Valadka AB, Narayan RK : **Emergency room management of the head injured patients.** In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT eds. *Neurotrauma.* McGraw Hill: New York 1996, pp 119-135.
106. Shutter L, Jallo JI, Narayan RK : **Clinical syndromes after traumatic brain injury.** In Batjer HH, Loftus CM, eds. *Textbook of Neurological Surgery.* Philadelphia: Lippincott William & Wilkins 2003, pp 2803-2814.
107. Teasdale G, Jennett B: **Assessment of coma and impaired consciousness: a practical scale.** *Lancet* 2:81-84, 1974.
108. Hahn YS, Chyung C, Bartel MJ et al.: **Head injuries in children under 36 months of age : demography and outcome.** *Childs Nerv Syst* 4:34-40, 1988.
109. Percival H Pangilinan Jr, MD, **Classification and Complications of Traumatic Brain Injury,** Department of Physical Medicine and Rehabilitation, University of Michigan Health System. *Medscape*, Jun 24, 2013
110. Russell WR. **Cerebral involvement in head injury.** *Brain.* 1932;55:549-603.
111. Foulkes MA, Eisenberg HM, Jane JA, et al. **The Traumatic Coma Data Bank: design, methods, and baseline characteristics.** *J Neurosurg.* 1991;75:S8-S13.

112. Thompson DO, Hurtado TR, Liao MM, Byyny RL, Gravitz C, Haukoos JS. **Validation of the Simplified Motor Score in the Out-of-Hospital Setting for the Prediction of Outcomes After Traumatic Brain Injury.** *Ann Emerg Med.* Nov 2011;58(5):417-25.
113. Felice Su, MD, FAAP, **Traumatic Brain Injury in Children**, American Academy of Pediatrics and Society of Critical Care Medicine, Medscape, Mar 19, 2013
114. Duhaime AC, Christian CW, Rorke LB, Zimmerman RA. **Nonaccidental head injury in infants--the "shaken-baby syndrome".** *N Engl J Med.* Jun 18 1998;338(25):1822-9
115. Marmarou A. **A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics.** *J Neurosurg* 1994;80:291-300
116. Ting P. **Indomethacin attenuates early postischemic vasogenic edema and cerebral injury.** *Adv Neurol* 1990;52:119-26.
117. Hewett SJ, Silakova JM, Hewett JA. **Oral treatment with rofecoxib reduces hippocampal excitotoxic neurodegeneration.** *J Pharmacol Exp Ther* 2006;319:1219-24.
118. Hurley SD, Olschowka JA, O'Banion MK. **Cyclooxygenase inhibition as a strategy to ameliorate brain injury.** *J Neurotrauma* 2002;19:1-15.
119. M.A. Foda, A. Marmarou, **A new model of diffuse brain injury in rats: Part II Morphological characterization.** *J Neurosurg*, 80 (1994), pp. 301–313
120. A. Marmarou, **Pathophysiology of traumatic brain edema: current concepts,** *Acta Neurochir Suppl*, 86 (2003), pp. 7–10
121. P. Barzo, A. Marmarou ve ark; **Biphasic pathophysiological response of vasogenic and cellular edema in traumatic brain swelling;** *Acta Neurochir Suppl (Wien)*, 70 (1997), pp. 119–122
122. T. Kawamata ve ark; **Heterogeneous mechanisms of early edema formation in cerebral contusion: diffusion MRI and ADC mapping study;** *Acta Neurochir Suppl*, 76 (2000), pp. 9–12
123. T. Maeda ve ark; **Ultra-early study of edema formation in cerebral contusion using diffusion MRI and ADC mapping;** *Acta Neurochir Suppl*, 86 (2003), pp. 329–331
124. C.E. Dixon; **A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat;** *J Neurosci Methods*, 39 (1991), pp. 253–262

125. R. Stroop, All; **Magnetic resonance imaging studies with cluster algorithm for characterization of brain edema after controlled cortical impact injury (CCII)**; Acta Neurochir Suppl (Wien), 71 (1998), pp. 303–305
126. A.W. Unterberg; **Characterisation of brain edema following “controlled cortical impact injury” in rats**; Acta Neurochir Suppl (Wien), 70 (1997), pp. 106–108
127. A. Marmarou; **Contribution of edema and cerebral blood volume to traumatic brain swelling in head-injured patients**; J Neurosurg, 93 (2000), pp. 183–193
128. Christine Iacovetta, et al. **The role of aquaporin 4 in the brain**. Animal Emergency Center and Specialty Services, Glendale, WI, USA. Veterinary Clinical Pathology ISSN 0275-6382
129. Liu X, Nakayama S, et al. **Arginine-vasopressin V1 but not V2 receptor antagonism modulates infarct volume, brain water content, and aquaporin-4 expression following experimental stroke**. Neurocrit Care. 2010;12:124–131.
130. Taya K, et al. **Modulation of AQP4 expression by the selective V1a receptor antagonist, SR49059, decreases trauma-induced brain edema**. Department of Neurosurgery, Virginia Commonwealth University Medical Center, 1101 East Marshall Street, P.O. Box 980508, Richmond, VA 23298-0508, USA. Acta Neurochir Suppl. 2008;102:425-9
131. Gunnarson E, Zelenina M, Aperia A. **Regulation of brain aquaporins**. Neuroscience. 2004;129:947–955.
132. Turgay KÖSE. **DENEYSSEL DİFFÜZ BEYİN HASARINDA NİTRİK OKSİT SENTETAZ İNHİBİTÖRÜ AMİNOGUANİDİN’İN ETKİLERİ**. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi. 2006
133. K. Yoshida. **Effect of THAM on Brain Oedema in Experimental Brain Injury**. Division of Neurosurgery and Radiation Physics, Medical college of Virginia. Richmond, Virginia, U.S.A. Brain Edema VIII, Acta Neurochirurgica, Volume 51, 1990, pp 317-319
134. Ferreira AP, et al. **The effect of NADPH-oxidase inhibitor apocynin on cognitive impairment induced by moderate lateral fluid percussion injury: Role of inflammatory and oxidative brain damage**. Laboratório de Bioquímica do Exercício, Departamento de Métodos e Técnicas Desportivas, Centro de Educação Física e Desportos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil; 2013 Sep 25

135. Xu GZ, et al. **A meta-analysis of treating acute traumatic brain injury with Calcium channel blockers.** Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Medical College of Xi'an Jiaotong University.2013 Oct 4.
136. Hacettepe üniversitesi araştırma destek birimi, TÜBİTAK projeleri. **AQP-4 antisens oligonükleotidlerinin kullanımı ile mRNA düzeyinde AQP4 su kanal proteinlerinin astrosit son ayaklarında yerleşiminin ve fonksiyonlarının engellenebilmesi.** Proje No: 110S496, Proje Yürütücüsü: Prof.Dr. Yasemin Özdemir
137. Hacettepe üniversitesi araştırma destek birimi, TÜBİTAK projeleri **.Serebral İskemi/Reperfüzyon Sonrası Kan Beyin Bariyeri Bütünlüğünün Astrosit Son Ayağı ve Endotel Düzeyinde İncelenmesi.** Proje No:104S254, Prof. Dr. Yasemin ÖZDEMİR,Hacettepe Üniversitesi hastanesi,Nöroloji anabilim dalı
138. Preston GM, Agre P. **Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons:member of an ancient channel family.** Proc Natl Acad Sci USA. 1991;88:11110–11114.
139. Griesdale DEG, Honey CR. **Aquaporins and brain edema.** Surg Neurol. 2004;61:418–421.
- 140.. Verkman AS. **More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins.** J Cell Sci.2005;118:3225–3232.
141. Papadopoulos MC, Verkman AS. **Aquaporin-4 and brain edema.** Pediatr Nephrol. 2007;22:778–784.
142. MacAulay N, Zeuthen T. **Water transport betweenCNS compartments: contributions of aquaporins and cotransporters.** Neuroscience. 2010;168:941–956.
143. Nielsen S, et al. **Specialized membrane domains for water transport in glial cells:high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain.** J Neurosci. 1997;17:171–180.
144. Jung JS,et al. **Molecular characterization of an aquaporin cDNA from brain: candidate osmoreceptor and regulator of water balance.** Proc Natl Acad Sci USA. 1994;91:13052–13056.
145. Saadoun S, et al. **Involvement of aquaporin-4 in astroglial cell migration and glial scar formation.**J Cell Sci. 2005;118:5691–5698.
146. Binder DK,et al. **Increased seizure duration and slowed potassium kinetics in mice lacking aquaporin-4 water channels.** Glia. 2006;53:631–636.

147. Rama Rao KV, et al. **Increased aquaporin-4 expression in ammonia-treated cultures astrocytes.** *NeuroReport.* 2003;14:2379–2382.
148. Papadopoulos MC, et al. **Molecular mechanisms of brain tumor edema.** *Neuroscience.* 2004;129:1011–1020.
149. Marios C. **Aquaporin water channels in the nervous system.** *Nature Reviews Neuroscience* 14, 265-277 (April 2013). Academic Neurosurgery Unit, St. George's, University of London, Tooting, London, SW17 0RE, UK.
150. Huber VJ. **Inhibition of aquaporin 4 by antiepileptic drugs.** *Bioorg Med Chem.* 2009;17:418–424.
151. Katada R, Nishitani Y, Honmou O, Mizuo K, Okazaki S, Tateda K, Watanabe S, Matsumoto H. **Expression of aquaporin-4 augments cytotoxic brain edema after traumatic brain injury during acute ethanol exposure.** Department of Legal Medicine and Molecular Alcoholology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo, Japan. *Am J Pathol.* 2011 Jan.
152. Lam TI. **Bumetanide reduces cerebral edema formation in rats with diabetic ketoacidosis.** *Diabetes.* 2005;54:510–516.
153. Royo NC. **Pharmacology of traumatic brain injury.** Head Injury Center, Department of Neurosurgery, University of Pennsylvania, 3320 Smith Walk, 105 C Hayden Hall, Philadelphia, PA 19104-6316, USA. *Curr Opin Pharmacol.* 2003 Feb;3(1):27-32
154. Dewey CE. **Emergency management of the head trauma patient.** *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2000;30:207–225.
155. Society of Critical Care Medicine. **Guidelines for the acute medical management of severe traumatic brain injury in infants, children, and adolescents.** *Pediatr Crit Care Med.* Jan 2012;13(1 Suppl):S1-82.
156. Bar-Joseph G, Guilburd Y, Tamir A, Guilburd JN. **Effectiveness of ketamine in decreasing intracranial pressure in children with intracranial hypertension.** *J Neurosurg Pediatr.* Jul 2009;4(1):40-6.
157. Badjatia N. Hyperthermia and fever control in brain injury. *Crit Care Med.* Jul 2009;37(7 Suppl):S250-7.
158. Khanna S, Davis D, Peterson B, et al. **Use of hypertonic saline in the treatment of severe refractory posttraumatic intracranial hypertension in pediatric traumatic brain injury.** *Crit Care Med.* Apr 2000;28(4):1144-51

159. Dominguez TE, Priestley MA, Huh JW. **Caution should be exercised when maintaining a serum sodium level >160 meq/L.** *Crit Care Med.* Jun 2004;32(6):1438-9; author reply 1439-40.
160. Adelson PD, Ragheb J, Kanev P, et al. **Phase II clinical trial of moderate hypothermia after severe traumatic brain injury in children.** *Neurosurgery.* Apr 2005;56(4):740-54; discussion 740-54.
161. Biswas AK, Bruce DA, Sklar FH, Bokovoy JL, Sommerauer JF. **Treatment of acute traumatic brain injury in children with moderate hypothermia improves intracranial hypertension.** *Crit Care Med.* Dec 2002;30(12):2742-51
162. Hutchison JS, Ward RE, Lacroix J, Hebert PC, Barnes MA, Bohn DJ. **Hypothermia therapy after traumatic brain injury in children.** *N Engl J Med.* Jun 5 2008;358(23):2447-56