

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA STEREOTAKTİK
SEREBROVENTRİKÜLER YÖNTEMLE
UYGULANAN ALBUMİN, MANNİTOL,
HİPERTONİK SODYUM KLORÜR, GLİSERİN
VE DEKSTRANIN DENEYSEL BEYİN ÖDEMİNE
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

**DR.TUNCAY ATEŞ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. S.ÇAĞATAY ÖNAL**

MALATYA-2011

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. S. Çağatay ÖNAL'a, uzmanlık eğitimim süresince bilgi, birikim ve deneyimlerini aktararak bu disiplinde yetişmemi sağlayan sayın hocalarım Prof. Dr. Ayhan KOÇAK, Prof. Dr. Süleyman R. ÇAYLI, Yrd. Doç. Dr. M. Arif ALADAĞ, Yrd. Doç. Dr. M. Namık ÖZTANIR'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ'e, Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ'e, Dr. Fatma ÖZYALIN ve Biyolog Sezin DEMİRTAŞ'a, Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Hakan PARLAKPINAR'a, Acil Tıp Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Neslihan YÜCEL'e, Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Metin GENÇ, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Cemil ÇOLAK'a, mesai arkadaşlarım Dr. Cengiz GÖLÇEK'e, Dr. Gökhan REŞİTOĞLU'na, Dr. A. Alper TAKMAZ'a, Dr. Ahmet YARDIM'a, Dr. Yener AKYUVA'ya, Dr. Ramazan PAŞAHAN'a ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma, maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme, ihtisas sürem boyunca sabır ve destekleri için sevgili eşime ve kızıma teşekkür ederim.

Dr. Tuncay ATEŞ

İÇİNDEKİLER	Sayfa
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii-iv
KISALTMALAR	v
TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. AMAÇ	2
3. GENEL BİLGİLER	3
3.1. Tanım ve Sınıflama	3
3.1.1. Vazojenik Ödem	3
3.1.2. İskemik Ödem	3
3.1.3. Osmotik Ödem	4
3.1.4. Sitotoksik Ödem	4
3.1.5. İnterstisyel Ödem	4
3.2. Vazojenik Ödem ve Evreleri	4
3.2.1. Oluşum ve Yayılım Dönemi	4
3.2.2. Dengelenme Dönemi	5
3.2.3. Çözülme Dönemi	5
3.3. Ödem Sıvısının Özellikleri	5
3.4. Deneysel Tedavi Modellerinin Değerlendirilmesi	6
3.5. Kullanılan Biyokimyasal Parametrelerle İlgili Genel Bilgiler	7
3.5.1. Glutasyon (GSH)	7
3.5.2. Malondialdehit (MDA)	8
3.5.3. Nitrik Oksit(NO)	8
3.6. Sitokinler	10
3.6.1. TNF- α ve IL-1 β	13
3.7. Klinik Tedavi	14
3.7.1. Pozisyonlanma	14
3.7.2. Solunum Desteği	14
3.7.3. Hiperventilasyon	14
3.7.4. Sıvı Tedavisi	14
3.7.5. Metabolik Fonksiyonların Düzenlenmesi	14

3.7.6. BOS Salgılanmasını Azaltıcı Tedavi	14
3.7.7. Ozmotik Tedavi	15
3.7.7.1. Mannitol	15
3.7.7.2. Furosemid	15
3.7.8. Sedatif ve Analjezikler	15
3.7.9. Paralitik Tedavi	15
3.7.10. BOS Tahliyesi	16
3.7.11. Barbitürat Tedavisi	16
3.7.12. Dekompresif Kraniyektomi	16
4. GEREÇ VE YÖNTEM	17
4.1. Anestezi	18
4.2. Travma Modeli	18
4.3. Deney Grupları	20
4.4. Perfüzyon ve Doku Örneklerinin Alınması	21
4.5. Biyokimyasal Analizler İçin Doku Örneklerinin Hazırlanması	21
4.5.1. Malondialdehit (MDA) Analizi	22
4.5.2. Redükte Glutasyon (GSH) Analizi	23
4.5.3. Nitrik Oksit (NO) Analizi	25
5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	27
6. BULGULAR	28
7. TARTIŞMA	31
8. SONUÇ	39
9. ÖZET	40
10. SUMMARY	41
11. KAYNAKLAR	42

KISALTMALAR

KBB:	Kan Beyin Bariyeri
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
KİB:	Kafa İçi Basıncı
GKS:	Glasgow Koma Skoru
MSS:	Merkezi Sinir Sistemi
TBH:	Travmatik Beyin Hasarı
pCO ₂ :	Parsiyel Karbondioksit Oranı
H ₂ O ₂ :	Hidrojen Peroksit
NO:	Nitrik Oksit
ONOO ⁻ :	Peroksinitrit
GSH:	Redükte Glutatyon
GSSG:	Okside Glutatyon
ROT:	Reaktif Oksijen Türleri
MDA:	Malondialdehit
TNF- α :	Tümör Nekroz Faktör -Alfa
IL -1 β :	İnterlökin -1 Beta
PMNL:	Polimorfonükleer Lökositler
IFN- γ :	İnterferon-Gama
NK:	Doğal Öldürücü Hücreler
TBA:	Tiyobarbitürik Asit
BPB:	Beyin Perfüzyon Basıncı
OAKB:	Ortalama Arteriyel Kan Basıncı
DS:	Dekstran Salın
VEGF:	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ**Sayfa**

Tablo 1: Grup numaraları ve travma sonrası sakrifiye edilen denek sayısı	21
Tablo 2: MDA düzeylerinin tayini	22
Şekil 1: MDA standart grafiği	23
Tablo 3: GSH düzeylerinin tayini	24
Şekil 2: GSH standart grafiği	24
Şekil 3: NO standart grafiği	26
Grafik 1: Beyin dokusunda ölçülen NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı	28
Grafik 2: Beyin dokusunda ölçülen GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı	29
Grafik 3: Beyin dokusunda ölçülen MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı	29
Grafik 4: Beyin dokusunda ölçülen IL-1β düzeylerinin gruplara göre dağılımı	30
Grafik 5: Beyin dokusunda ölçülen TNF-α düzeylerinin gruplara göre dağılımı	30

RESİMLER DİZİNİ**Resim 1: Travma Düzeneği****Sayfa****17****Resim 2: Stereotaksi Cihazına Yerleştirilmiş Rat****19**

1. GİRİŞ

Travmatik beyin yaralanması tüm dünyada halen ciddi bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir. Özellikle kafa travması sonrasında gelişen beyin ödeminin yönetimi ve tedavisi klinisyenler için önemli sorunlardan biridir. Travmatik beyin yaralanması, tüm popülasyonda ölüm nedenleri arasında, kardiyovasküler hastalıklar ve kanserden sonra beşinci sırayı almaktadır. Travmaya bağlı ölümlerde ise ikinci sıradadır. Bu durum, araştırmacıları beyin ödeminin oluş mekanizmasını ve tedavisini daha iyi anlamaya itmektedir (1,2).

Beyinde akut meydana gelen bir hasar, nöral dokuda birincil ve ikincil hasarların oluşmasına yol açar. Birincil hasar cilt, cilt altı, kafatası ve beyinde travmanın olduğu andaki zedelenmedir. Beyinde birincil hasarı takiben travma sonrası ilk birkaç günde gelişen iskemi, ödem ve kafa içi basınç artışı gibi durumlar sonrasında ortaya çıkan zararlar ise ikincil beyin hasarı olarak nitelendirilir. Bu hasar birincil hasarın etkilerinin daha da artmasına neden olan bir gelişim sürecidir ve birbiri içine girmiş karmaşık olaylar zincirinden oluşur. İkincil hasarın gelişmesinde rol oynayan başlıca sorumlu mekanizmalar; süperoksid radikal, hidrojen peroksit (H_2O_2), inflamatuvar mediatör olan nitroz oksidin (NO) salınımı, serbest oksijen radikallerinin anormal oluşumu ve eksitatör aminoasitlerin aşırı uyarımıdır (3).

Travma sonucu oluşan beyin ödemi tedavisinde en sık ozmotik diüretik tedavi uygulanmaktadır. Ancak bu tedavinin etkin olabilmesi için kan beyin bariyerinin korunmuş olması gerekir (4-7).

Kullanılan antiödem tedavi yöntemlerinin tüm olumlu ve olumsuz tarafları incelendiğinde tam etkin bir tedaviye ulaşmak için daha uzun bir yol kat etmek gerektiği ortaya çıkmaktadır (8,9).

2. AMAÇ

Sunulan deneysel çalışmada, yüksekten ağırlık düşürme yöntemiyle sıçanda beyin ödemi oluşturulmuş, rat stereotaksi cihazı kullanılarak serebroventriküler olarak uygulanan albumin, mannitol, hipertonic sodyum klorür çözeltisi, gliserin ve dekstranın ödemli dokudaki etkileri araştırılmıştır. Tedavi açısından anlamlı sonuçlara ulaşılması ve deneysel düzeyde doz zaman güvenilirliğinin doğrulanması durumunda travmatik beyin ödeminde serebroventriküler hiperonkotik/hiperosmotik ajanlar ile tedavi yönteminin uygulanabilmesi amaçlanmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. TANIM VE SINIFLAMA

Beyin ödemi, hücre içi ve/veya hücreler arası boşlukta su oranı artışı olarak tanımlanabilir. Beynin hacimsel artışı fizyopatolojik koşullar göz önünde bulundurulduğunda kan akımındaki artıştan kaynaklanabileceği gibi doku sıvılarındaki artıştan da kaynaklanabilir (8). Beyindeki damarsal yaralanma sonrası ortaya çıkan kafa içi basınç artışının gelişmesine beyinde su oranında artış ya da kan akımındaki artış aracılık eder (5,10,11). Ödeme bağlı kafa içi basınç artışının belirtilerini ortadan kaldırmak için beyin ödemi oluşumundaki dinamiği, damar geçirgenliği ve vazomotor işlevdeki değişiklikleri çok iyi anlamak gerekmektedir (5,8,9). Beyin ödeminin bir dizi fizyopatolojik tanımı yapılmıştır. Bu süreç ile ilgili ilk güncel yaklaşımlar, klasik deneyleri takiben Klatzo'nun (12) vazojenik ödemi tanımlaması ile başlar. Beyin dokusundaki şişmenin beş tipi vardır (5,10,12).

3.1.1. Vazojenik ödem

Damar duvarı endotelinde fiziksel zedelenme sonucunda kan beyin bariyeri (KBB) bütünlüğünün bozulması sonucu gelişir. KBB bütünlüğü bozulduğunda damar içi hidrostatik basınç, plazma türevlerini hücreler arası boşluğa geçirir. Geçişte suyu beraberinde sürükler. Birikim başlıca ak maddede olur (5,9,13,14). Ödematöz dokunun kimyasal analizi, elektrolit ve protein miktarlarının tayini ödemin tabiatı hakkında bilgiler verir. Vazojenik ödem travmatik beyin yaralanması sonrası, abse ve hematoma çevresinde, hipotansif serebrovasküler hasarda, tümör çevresinde ve cerrahi girişimden sonra görülür (5,14).

3.1.2. İskemik ödem

İskemik ödem başlıca hücre membranına enerji sağlayan sodyum–potasyum pompasının bozulması sonucu oluşur (15-17). Bu durum hücre içinde sodyum ve su, hücre dışında ise potasyum artışına neden olur. Kapiller endotel hücreleri iskemiye dirençlidir ve kan beyin bariyeri başlangıçta sağlamdır. Sonrasında damar yatağından hücreler arası sıvıya sodyum geçişi devam eder. Bu arada glial hücre zarında iyon alışverişi durmuştur. Bu durum hücreler

arası boşlukta giderek sodyum birikimine neden olur. Sonuçta hücre içi sıvı artışına ek olarak hücreler arası boşlukta da su birikimi tabloya eklenir. İskemik ödem başlıca serebral korteksi etkiler (17-19).

3.1.3. Osmotik ödem

Normalde beyin ekstrasellüler sıvısı ve beyin omurilik sıvısı (BOS) osmolalitesi plazmanınkinden hafifçe daha yüksektir. Plazma osmolalitesi düşerse, artan osmotik basınç farkıyla su beyin dokusuna geçer. Ödem tüm beyini tutar (17, 20-23).

3.1.4. Sitotoksik ödem

Kan beyin bariyeri bozulmadan hücre şişmesi meydana gelir (24). Sıklıkla metaboliktir. İskemi sonrası oluşan hipoksi (kan akımı < 12 mL/100 gm/dk) ve buna bağlı Na/K ATPaz pompasının bozulması sitotoksik ödem gelişmesine neden olur. Hücre içine sodyum girişi, hücre dışına potasyum çıkışı olur ve bunu pasif difüzyonla hücre içine su girmesi takip eder (25).

3.1.5. İnterstisyel ödem

Drenaj kanallarının bloke olmasının bir sonucu olarak ödem gelişir. Hücre dışı sıvı boşluğunda sıvı birikimi ve proksimal dokuların genişlemesi ile meydana gelir (26). Oluşan basınç farkı nedeni ile BOS ependimden periventriküler ak maddedeki hücreler arası sahaya geçer. Vazojenik ödemden sıvının BOS özelliğinde olması ve kan beyin bariyerinin sağlam olması ile ayırt edilir (5,17,20,21,23).

3.2. VAZOJENİK ÖDEM VE EVRELERİ

Başlıca üç dönemde incelenir (27) :

3.2.1. Oluşum ve yayılım dönemi

3.2.2. Dengelenme dönemi

3.2.3. Çözülme dönemi

3.2.1. Oluşum ve yayılım dönemi

Bu dönem, esas olarak damar içi alandan doku arasına büyük oranda protein ve çözünür maddelerin geçişi ile belirgin olan ve kan beyin bariyerinin bütünlüğünün kaybolduğu bir durumu belirtir (5,13). Kan beyin bariyeri hasarı nedeniyle artmış kapiller sıvı iletimi, plazma türevi sıvının dokuya yayılmasını sağlar. Bunun bir sonucu olarak, beyin dokusu içerisindeki basınç gradientleri en düşük seviyeye ulaşır. Sıvı ödemli bölge içerisine hareket etmeye devam eder (21,27). Ödem sıvısı değişken ağırlıklı pek çok madde içerir. Bunlar hasarlı bölgede doku basınç farkı nedeni ile ventriküllere ve subaraknoid aralığa doğru

yayırlar (17). Vazojenik ödemin lezyon bölgesinden yayılım hızını birkaç etmen belirler. Bunlar kan beyin bariyerindeki gerçek hasar alanı, arteriyel basınç ve ödemli doku ile BOS arasındaki basınç farkıdır (21). Kan beyin bariyerindeki hasar alanı en önemli etkidir (27). Etkilenen alan ne kadar büyük ise sızan sıvı hacmi de o denli çok olacaktır. Farkın artması ödem sıvısının temizlenmesini hızlandırırken, azalması ters etki oluşturur (5,13,14,27,28).

3.2.2. Dengelenme dönemi

Bu dönemde hasar bölgesinden sızan sıvı ile ödem alanından temizlenen sıvı dinamik bir denge oluşturur (14,17). Denge noktasında kan beyin bariyeri açık kalır. Hücre dışı mesafe genişlemiş ve bu nedenle doku içindeki basınç farkı en aza inmiştir. Bu koşullarda ödemli alana sıvı akımı devam eder (21). Ancak ödem sıvısının tahliyesi ile dengelendiğinden ödem alanında artış görülmez. BOS'da olan tahliye doku basınç farkları düştükçe azalır. Sıvı ve moleküllerin BOS'dan venöz sisteme boşalımı hidrostatik basınç, difüzyon ve kitle akımı aracılığı ile gerçekleşir (21,23,27). Ayrıca kapiller damar duvarından pinositoz yolu ile büyük moleküllerin ortamdaki uzaklaştırılması da ödem sıvısının başka bir tahliye yolu olarak bildirilmiştir (13,17,21,29).

3.2.3. Çözülme dönemi

Hasarlı olan kan beyin bariyeri, kapiller endotelinin onarılması sonrası normal işlevine kavuşur ve ödemin gelişmesi durur (27). Ödem sıvısının ortamdaki uzaklaştırılması dengelenme evresinde etkin tüm düzeneklerin yardımıyla sıvı tamamen çözülünceye kadar devam eder (13,17,21,22).

3.3. ÖDEM SIVISININ ÖZELLİKLERİ

Ödemli beyin dokusunun kimyasal bileşiminin belirlenmesi değişik ödem tiplerinin ayırt edilmesinde önemlidir (17). Kimyasal analiz yöntemi ile ödem sıvısının protein ve elektrolit içeriği saptanabilir (21). Bu yaklaşım doku tarafından emilen sıvının niteliği, başka bir deyişle; plazma türevi, plazma ultrafiltratı ya da plazma ile ilintisiz bir sıvı özelliği taşıdığına karar vermek açısından önem taşır. Su içeriğinin ölçülmesi, ödem varlığının doğrulanmasında hassas bir yöntemdir (5,13,17,30,33). Ödem miktarı 48'inci saate kadar artış gösterdikten sonra 72'inci saatte azalmaya başlar, yedinci günden sonra büyük oranda kaybolur (17,21).

Vazojenik ödeme bağlı sıvı ve elektrolit değişiklikleri ağırlıklı olarak hasarlı hemisferin akmadde hücre dışı mesafesi ile sınırlıdır. İlk üç günde su içeriğinde artma, sodyum düzeyinde yükseliş, potasyum düzeyinde düşüş gözlenir (13,17,27). Bu değişiklikler

plazmanın elektrolit içeriğini yansıtan yüksek sodyum ve düşük potasyum içerikli sıvının bölgeye sızması ile uyumludur (28,29). Vazojenik ödemde beyin dokusuna serum proteininin sızması doku su miktarından bağımsızdır (5). Ödem en yüksek olduğu dönemde ödem sıvısındaki protein miktarı, su artışına oranla umulandan daha az düzeydedir. Bu durumun nedeni ya proteinin metabolik yoldan atılımı, ya sadece suyu kapsayan hücre içi bir birikim ya da bu iki sürecin bir bileşimi sonucunda olabilir (13,34,35).

3.4. DENEYSEL TEDAVİ MODELLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Beyin ödemi tedavisine yönelik deneysel çalışmalarda en sık hiperonkotik ajanlar kullanılmaktadır. Bu maddelerin etkisi, iskemik ve travmatik beyin ödemi deneylerinde damar içi uygulamalarla araştırılmıştır (15,16,18,28,36). Mannitol, dekstran ya da tekrarlanan insan serum albumini dozlarının damar yolundan uygulanması buna iyi örneklerdir. Bu amaçla kullanılan insan serum albümininin molekül ağırlığı 69000 Dalton'dur. Pek çok maddeyi ve iyonu kanda taşıyabilme özelliği göz önünde bulundurularak bölgesel uygulama ile anti ödem amaçlı denenebilir. Yine molekül ağırlığı 40000 Dalton olan ve hiperonkotik bir solusyon olan Dekstran 40 (Rheomacrodex) ameliyat ve travma sonrası gelişen tromboembolik olayları düzeltmek amacıyla kullanılabilir.

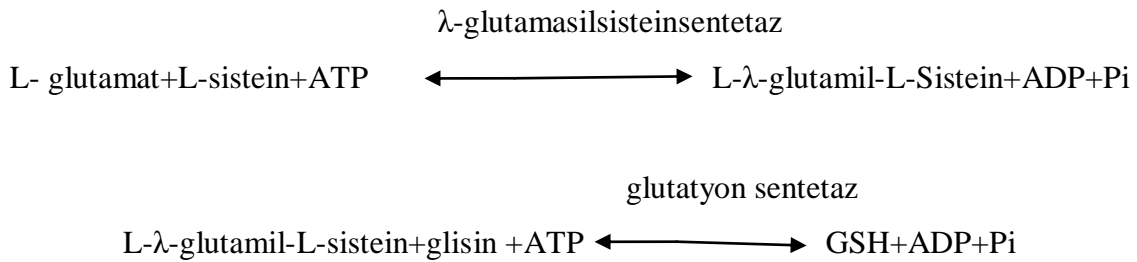
Oksijen kaynaklı radikallerin, özellikle membranlardaki lipid yapılarında bulunan doymamış yağ asitlerinin reaktif metilen gruplarından alilik bir hidrojen atomunu koparmaları ile başlayan lipid peroksidasyonu reperfüzyon hasarının en önemli nedenidir (37,38). Demapoulos ve arkadaşları (33) bazı nedenlerden dolayı merkezi sinir sisteminin serbest radikallere fazla duyarlı olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu nedenler arasında; merkezi sinir sistemindeki hücre membranlarının, doymamış yağ asitleri ve kolesterolden zengin olmaları nedeniyle serbest radikallere duyarlı olması sayılabilir. Beyin, serbest radikallere karşı koruyucu enzimlerden yoksundur. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden meydana gelen serbest radikallerdir (37,39). Süperoksit, peroksidaz ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikal oluşumları, doymamış yağ asitlerine oksitlenmektedir. Bu oluşumun da hücre zarında hasara yol açarak kan beyin bariyerinin yıkılması ile ödeme neden olduğu bazı deneylerde gösterilmiştir (40).

3.5.KULLANILAN BİYOKİMYASAL PARAMETRELERLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

3.5.1. GLUTATYON (GSH)

Bütün hücreler oksidan maddelere karşı, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşan bir düzeneğe sahiptir. Enzimatik olmayan maddelerden en önemlisi GSH'tır. GSH iç ve dış kaynaklı toksik kimyasallara karşı hücrel savunma sisteminde önemli bir rol oynar. Karaciğer GSH enziminin yapıldığı başlıca organdır (41,42). Bu madde, karaciğer hücrelerinin sitoplazmasında oluşturulduktan sonra dolaşım/taşıma sistemi ile farklı organlar ve alt hücre bölümlerine ulaştırılır.

Tripeptit tiyol olan glutatyon; metabolizma, taşıma, oksijen ve diğer bileşiklerin zararlı etkilerine karşı hücrelerin korunmasında önemli bir işleve sahiptir. GSH, glutamilsistein sentetaz ve glutatyon sentetazın etkileşimleri ile hücre içinde oluşturulur. Organizmadaki GSH sentezi aşağıdaki şekilde gerçekleşir.



GSH, iki farklı düzenekle hücrenin antioksidan etkinliğinde görev alır. Birincisi bu enzimin aracılığı olmaksızın oksidanlara doğrudan hidrojen göndererek etki gösterir. İkincisi GSH-Px katalizine enzim koenzimi olarak katılır ve H₂O₂'nin suya ve oksijene dönüşmesini sağlar. GSH, sitotoksik fenton reaksiyonu ürünü olan OH radikali, sitotoksik ürün diazot trioksit (N₂O₃) ve ONOO ile hızlıca ve enzimatik olmayan biçimde tepkimeye girer ve onları detoksifiye edebilir. Ayrıca GSH, H₂O₂'in ve lipid peroksitlerin detoksifikasyonunda işe karışır. GSH sentezi organizmada en azından üç faktör ile düzenlenmektedir:

- 1) Hücrede gamma-glutamilsistein sentetazın varlığı,
- 2) Substratların özellikle L-sisteinin mevcudiyeti,
- 3) Gamma-glutamilsistein sentetaz üzerine GSH'ın " feedback" baskılaması

GSH'ın hücre içi seviyesinin herhangi bir şekilde azalması, lipid peroksidasyonuna veya diğer hücrel hasarlara yol açabilmektedir (43).

Endojen GSH, proteinlerdeki tiyol gruplarını oksidasyondan korur, Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ile doğrudan tepkimeye girerek onları detoksifiye eder. GSH, DNA ve protein sentezi, enzim aktivitesinin düzenlenmesi gibi diğer hücresel işlevlerde de koruyucu rol alır. Araştırmacılar, azalan GSH üretiminin, hücresel savunma sisteminde oksidanlara karşı bir zaafiyet oluşturacağını bildirmişlerdir (43).

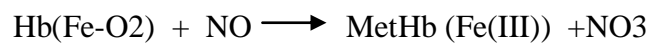
3.5.2. MALONDİALDEHİT (MDA)

Malondialdehid, hücre lipidlerinin okside edilerek yapılarının bozulması sonucu oluşan ana metabolittir. Doymamış yağ asidi oksidasyonunun yan ürünü olan MDA, proteinleri ve fosfolipidleri çapraz bağlayarak membranda polimerizasyona, iyon taşınmasının ve enzim işlevlerinin olumsuz yönde etkilenmesine neden olur. Hücre membran stabilizasyonunun bozulmasıyla, membran potansiyeli oluşturabilme yeteneği zarar görür. Hücre içinde aşırı kalsiyum birikir ve hücre ölür (44).

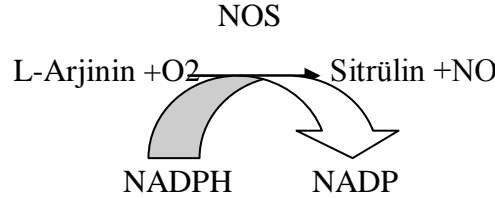
Serbest radikal etkinliği, hem plazmada hem de dokuda ölçülebilir ürünlerin oluşumuna neden olur. Peroksit ürünlerinin plazma seviyeleri ROT etkinliğinin göstergesi olarak kabul edilir. ROT ile lipidlerin peroksidasyonundan oluşan MDA, poliinsatüre yağ asitlerinden bir çift bağın yeniden düzenlenmesi ile elde edilir. Oksidasyon yan ürünü olan MDA'nın oluşumu ayrıntıları ile incelenmiş ve oksidatif hasarın bir göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaksiyonu yöntemi ile ölçmenin mümkün olduğu ortaya konulmuştur (44).

3.5.3. NİTRİK OKSİT (NO)

NO, düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik görev almaktadır. Kardiovasküler, sinir ve immün sistemlerde çok sayıda işlevi düzenleyen bir moleküldür. Hava ile alınan NO, oksijen ile reaksiyona girer ve NO₂'ye dönüşür. Bu, dokulara hasar veren bir bileşiktir. Bu yapı daha sonra daha kararlı bir yapı olan nitrata (NO₃) oksitlenir. NO'nun önemli bir diğer etkisi de oksihemoglobinle reaksiyona girerek methemoglobine ve NO₃'e dönüşümüdür (45). Bu tepkime aşağıdaki gibidir.



L-arjinin–NO yolu olarak isimlendirilen bir düzenele, üç farklı izoformu bulunan nitrik oksit sentaz tarafından, L-arjininden üretilir (46). Aşağıdaki reaksiyonda L-arjinin–NO yolu gösterilmiştir.



NOS enziminin üç izoformu vardır. TipI (nöronal NOS, nNOS), tipII (indüklenebilir NOS, iNOS) ve tip III (endotel NOS, eNOS). Tip I ve III, konstütif NOS (cNOS) olarak sınıflandırılır. Konstütif NOS (nNOS veya eNOS) özellikle damar endoteli, idrar yolu dokuları, periferik ve merkezi sinir sistemi gibi dokularda bulunur. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu arttığı zaman, kalsiyum kalmodulinle birleşerek konstütif NOS'u etkinleştirir ve L arjininden, NO sentezi gerçekleşir. İkinci enzim indüklenebilir izoformdur (iNOS).

Makrofajlardaki NOS izoformu, iNOS'tur ve aktivasyon olmadığı durumlarda makrofajlarda NOS proteini bulunmaz. İndüksiyondan sonra enzim sentezi ve dolayısıyla NO sentezi meydana gelmektedir. L-arjinin NO yolunun harekete geçirilmesi, saatlerce hatta günlerce devam eden NO yapımına neden olmaktadır. Ancak, aşırı NO sentezi, hücreler için oldukça zararlı etkiler meydana getirmektedir. Makrofaj kaynaklı NO; bakteri, parazit ve tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etki yapmaktadır. Bu etki hücre içi patojenlere karşı da başlıca savunma düzeneğidir (47,48). NO, tümör hücresi ve mikroorganizmalardaki Fe-S taşıyan enzimleri nitrozile ederek antimikrobial, antitümoral sitotoksik etki gösterir. NO, ferritinle reaksiyona girerek serbest demir salınımına yol açar, bu serbest demir de lipid peroksidasyonuna neden olabilir. NO, kararsız bir yapı özelliği gösterir ve biyolojik sistemlerde hemoglobin, oksijen, süperoksit ve transiyon metal iyonları ile reaksiyona girer. NO'nun hücreler üzerinde çok sayıda doğrudan ve dolaylı toksik etkileri bilinmektedir. NO, moleküler oksijenle reaksiyona girerek, DNA deaminasyonuna neden olan diazotrioksit (N₂O₃) şekline dönüşür. O₂ radikali ile reaksiyona girerek doku hasarına neden olan ONOO'ya dönüşür. NO'nun mutajenik etkileri de vardır. NO ve ROT, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, çeşitli enzim sistemlerinin aktive/inaktive edilmesine neden olan tiyollerin oksidasyonu, prostetik iyon gruplu enzimlerin inhibisyonu, ATP ve NADPH sentezinin baskılanması, kalsiyum ve diğer iyon taşıma sistemlerinin engellenmesi gibi bir çok patolojik olaya neden olabilir (48,49).

3.6.SİTOKİNLER

Son yirmi yılda yapılan çalışmalarda sitokinlerin immün sistem hücreleri dışında fibroblastlar, dendritik hücreler, parietal hücreler, osteoblast, düz kas hücreleri, hepatositler, çizgili kas ve sinir hücresi fonksiyonlarında da önemli düzenleyici görevler üstlendiği ortaya konulmuştur (50). İnflamasyon, serebral yaralanma, sonrasında çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Yaralanmayla başlayan ve devam eden kanama, ödem, nöroeksitotoksinlerin birikimi ve biyokimyasal değişiklikler, inflamasyonun santral sinir sistemi üzerindeki esas etkilerini belirlemede zorluklar yaratmaktadır. İnflamasyon, canlı dokunun her türlü zedelenmeye karşı gösterdiği ortak bir reaksiyondur. Bu olay, yaralanma alanındaki vasküler, nörolojik, hümorale ve hücresele yanıtları içerir. İnflamasyon, organizmanın zedeleyici etkeni çevreleyerek yok etme ve zararlı süreçleri sınırlandırmasını sağlayan ve takiben doku onarımına yol açan bir süreçtir (50). Akut inflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki vasküler yanıttır. Yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arterioller vazodilatasyon oluşur. Bu da kapiller yatağa daha fazla kan gelerek konjesyona ve takiben damar geçirgenliğinde artışa sebep olur.

Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) lezyon bölgesini birkaç saat içinde infiltre etmesiyle başlar ve travmanın ilk gününde en yüksek seviyeye ulaşır. Yapılan ışık ve elektron mikroskop çalışmalarında 4. saatten önce kan damarları dışında çok az sayıda PMNL bulunurken, 4. saatte bunların damar içinde sayıca çok arttıkları ve damar duvarından çıkarak dokuya girmeye başladıkları görülmektedir. 8 saatlik preparatlarda, gri cevherde PMNL kümeleşmeleri görülmekte ve beyaz cevherde PMNL'ler nöronların içindeki inklüzyonlar olarak belirmektedir. 24 saatlik preparatlarda, dejenere nöronların PMNL tarafından sarıldığı ve PMNL'ler arasında sellüler kalıntıların bulunduğu gösterilmiştir. PMNL'ler üçüncü günde kaybolurlar. Bu süre içinde granüler içeriklerini ortama salarak litik enzimlerinin etkisiyle vasküler, nöronal ve glial yaralanmayı daha da artırabilmektedirler. PMNL infiltrasyonu miktarı ile oluşan hemoraji miktarı korelasyon göstermektedir. Histamin, plazma proteazları, bradikinin, prostaglandinler, trombosit aktive edici faktör, lökotrienler, platelet aktive edici faktör, serbest oksijen radikalleri, serotonin gibi inflamasyon mediatörleri yaralanmış nöral dokuda lezyon bölgesinde birikirler. İnflamatuvar hücreler için kimyasal çekim özelliği olan bu maddeler doku yaralanmasının hızla ilerlemesine neden olurlar (50). Ortamdan kaybolan PMNL'lerin yerini mikroglyal hücrelerden ve dolaşımdan kaynaklanan makrofajlar almaktadır. Makrofajlar

myelin, hemorajik ve nekrotik doku kalıntılarını fagosite etmektedir. Aynı zamanda makrofajlar, anjiogenezi başlatan interlökin-1 benzeri sitokinleri de salgılamaktadırlar (50).

Sitokinler, genelde otokrin ve parakrin özelliklere sahip olan küçük proteinler olarak tanımlanabilir. Günümüzde ikiyüzün üzerinde insan sitokini tanımlanmıştır. Sitokinleri çalışmada karşılaşılan bir problem, moleküllerin nadiren tek başlarına salınmaları ve nadiren tek başlarına etki göstermeleridir. Bir sitokinin bir başkasının yapımı ve yanıtı üzerinde etkisi olabilir (51).

Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Belli bir sitokin çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır fakat aynı biyolojik etkiyi gösterirler. Sitokinlerin etkileri genel veya yereldir. Bazıları klasik hormon gibi davranırlar. Şöyle ki; belli hücreler tarafından kana veya çeşitli hücrel sıvılara salgılanıp vücudun diğer bölgelerindeki hücrel reseptörlerine bağlanırlar. Diğer sitokinler daha lokalize olmuş etkiler gösterirler. Bunlar otokrin (bir hücre tarafından salgılanan sitokinin aynı hücre üzerine etkisi) ve parakrin (belli bir hücre tarafından salgılanan sitokinin yakındaki komşu hücreye etkisi) etkilerdir (51).

Sitokinlerin tanımlanması çeşitli isimlendirme ve sınıflandırma sistemlerine dayandırılır. Bu sınıflandırma sitokinler arasındaki fonksiyonel benzerliklere ve etki mekanizmalarına dayanmaktadır.

Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır:

- 1) Doğal immunité mediatorleri olan sitokinler;
 - a) Tip 1 interferonlar
 - b) TNF (Tümör nekroz faktör)
 - c) İnterlökin-1 (IL-1)
 - d) İnterlökin-6 (IL-6)
 - e) Kemokinler
- 2) Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen sitokinler;
 - a) İnterlökin-2 (IL-2)
 - b) İnterlökin-4 (IL-4)
 - c) Transforming Growth faktör (TGF)
- 3) İnflamasyonda düzenleyici rol oynayan sitokinler;
 - a) İnterferon-gama (IFN- γ)
 - b) Lenfotoksin (Nötrofil aktivatörü)
 - c) İnterlökin-12 (IL-12)

- d) İnterlökin-10 (IL-10)
- 4) Hematopoezi uyaran sitokinler;
 - a) Stem cell faktör (SCF)
 - b) İnterlökin-3 (IL-3)
 - c) Monosit-makrofaj koloni stimule eden faktör (M-CSF)
 - d) Granulosit koloni stimule eden faktör (G-CSF)
 - e) İnterlökin-7 (IL-7)
 - f) İnterlökin-9 (IL-9)
 - g) İnterlökin-11 (IL-11) (52).

Sitokinler, hematopoietik sistemin de içinde bulunduğu, hedef hücrelerin aktivitelerini değiştiren veya düzenleyen protein ve/veya glikoprotein yapılı immünomodülatörlerdir. Hedef hücrelerdeki kendilerine ait spesifik ligandlara bağlanarak etki ederler. Bağlanma ile başlayan sinyal transdüksiyonu ve ikinci haberci iletimi, gen aktivasyonu, mitotik bölünme, büyüme ve farklılaşma, migrasyon veya apoptozise neden olur (53). Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolü, hematopoez ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, yaraların iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücrel metabolizmanın değiştirilmesi gibi biyolojik olaylarda rol oynamaktadır. Sitokinler immun ve inflamatuvar cevabın etkin mekanizmalarının çoğuna katılırlar (54).

Lenfokin, monokin, interlökin interferon olarak da adlandırılan sitokinlerin ortak karakteristik özellikleri (55,56):

1. Sitokinler doğal ve spesifik immunitenin efektör fazında yapılırlar.
2. Bir sitokin değişik tip hücreler tarafından yapılabilir.
3. Bir sitokin değişik tip hücreler üzerine etki gösterebilir.
4. Düşük moleküler ağırlıktadırlar.
5. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Bu etkilerin bazıları aynı anda, bazıları ise dakikalar saatler hatta günler sonra oluşabilir.
6. Birden fazla sitokin aynı etkiyi gösterebilir.
7. İki sitokin birbirlerinin etkisini ortadan kaldırabilir (antagonizm), arttırabilir (sinerji) hatta değişik bir etkiye yol açabilir.
8. Sitokin sentez ve sekresyonu kısa süreli olaylardır. Sentezleri genellikle yeni gen transkripsiyonu ile başlar, hücrede önceden yapılmış halde bekletilmezler.
9. Sitokinler hedef hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak etkilerini başlatırlar.
10. Belli bir biyolojik etkiyi sağlamak için gereken sitokin miktarı genellikle çok düşüktür.

11. İmmünite ve inflamasyon reaksiyonlarında vücut cevabının amplitüd ve süresini düzenlerler.

12. Daima geçici süre ile ve bölgesel olarak sentezlenirler.

13. Son derece potenttirler.

Sitokinler hücre yüzeyinde yer alan spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterirler. Süpressor etkiler reseptör yapımını aşağı çekebilir. Reseptör moleküller membrana bağlı oldukları gibi serbest halde bulunabilirler. Sitokin reseptörlerinin en önemli fonksiyonlarından biri ekstrasellüler bir sinyali spesifik bir sitokin varlığında intrasellüler bir sinyale dönüştürmektir.

Merkezi sinir sistemi açısından sitokinler spesifik bir rol oynarlar ve aşağıda sayılan durumlarda özellikle önemlidirler. Bunlar (56,57):

- 1- Embriyonik gelişim,
- 2- Ateş, nöroendokrin aktivasyon, davranış ve duygulanım değişiklikleri,
- 3- Beyin ve omurilik travması,
- 4- Yabancı antijene karşı immün cevabın düzenlenmesi,
- 5- Hücrel ve humoral immünite ile inflamatuvar cevapların gelişimi olarak sıralanabilir.

3.6.1. TNF- α VE IL-1 β

IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinler, proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtının ortaya çıkmasında rol alırlar. IL -1'in IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki alt tipi vardır. Bu iki form, farklı genler tarafından kodlanan 159 ve 153 aminoasitlik peptidlerdir. Birbirleri ile sadece %26 oranında benzer olmalarına rağmen biyolojik etkinlikleri ve potensleri aynıdır. Yine, aynı hücre yüzey reseptörlerine, benzer afinitelerle bağlanırlar. IL-1, TNF ile beraber antijen sunan hücrelerce T helper hücrelerin aktivasyonunu sağlar. Antijen ile temas eden antijen sunan hücreler tarafından salgılanan bu iki sitokin, birçok adezyon molekülünün ekspresyonunu artırır. IF- γ üretimi artar ve yüzeyde Büyük histokompatibilite kompleksi (MHC) Class II moleküllerinin ekspresyonu artar. Böylece helper hücreler tarafından antijen sunan hücreler bağlanabilir ve aktive olabilir. Aktive olan hücrelerde IL-2 salınımı ile IL-2 ve IFN- γ reseptörlerinin ekspresyonu artar, sonuçta duyarlı T helper hücrelerde klonal proliferasyon gerçekleşir. IL-1 ve TNF beraber hem humoral hem de hücrel immün cevabın ortaya çıkmasını sağlar. Nötrofil ve makrofajları stimüle eder, B hücre proliferasyonunu hızlandırır, hematopoezisi uyarır, birçok sitokin ve inflamatuvar mediatörün etkilerine aracılık

eder. IL-1'in uyardığı insan astroglial hücrelerinden TNF- α , koloni stimulan faktör ve IL-6 üretimi gösterilmiştir (57-59).

3.7. KLİNİK TEDAVİ

Kafa travmalarında tedavinin amacı; artmış kafa içi basıncını düşürmek, beyin dokusunu ilave hasarlar ve komplikasyonlardan korumak, beyni ikincil nöronal hasardan koruyucu tedbirler almak, beyin dokusunda iyileşme potansiyeli olan hücreler için en iyi biyolojik koşulları sağlamaktır. Bu amaçla beyin ödemi tedavisi hidrostatik, ozmotik ve onkotik güçlerin biçimlendirilmesi ilkesine dayanır. Bu terapötik hedeflerde fizyolojik sınırlardan herhangi bir sapma dikkatle izlenmeli ve olabildiğince hızla düzeltilmelidir. (9,21,60,61).

Klinikte uygulanabilecek anti ödem tedavi yöntemleri şu şekildedir:

3.7.1. Pozisyonlama

KİB'nı azaltmanın en etkin yöntemlerinden biri hastanın yatak baş kısmının 30 derece yükseltilmesidir. Bu sayede kafaiçi basıncının yanı sıra ortalama arter basıncı ve serebral perfüzyon basıncı düşer (9,62).

3.7.2. Solunum desteği

Solunum sıkıntısı içinde bulunan veya Glasgow Koma Skoru (GKS) 8'in altında olan hastalar entübe edilmelidirler (9).

3.7.3 Hiperventilasyon

pCO₂ düzeyi erişkinde 25-30 mm Hg, çocukta 15-25 mm Hg düzeyine gelene kadar hiperventile edilir. pCO₂ düzeyindeki bu düşüş kafa içi damarlarda daralma oluşturarak kafa içi volüm ve kafa içi basıncının azalmasına neden olur (63).

3.7.4 Sıvı tedavisi

Genel anlamda sıvı tedavisi; idame, kayıpların yerine konması ve defisitinin düzeltilmesi şeklinde olmalıdır. Beyin ödeminin tedavisindeki son gelişmeler tedavinin hipertonic-hiperonkotik çözeltilerle yapılması doğrultusundadır (4,5,9).

3.7.5 Metabolik fonksiyonların düzenlenmesi

Hipertansiyon kontrolünün sağlanması, arteryel yol ve sık arteryel kan gazları takibi önerilir. Kan şekeri düzenlenerek hiperglisemi ve hipoglisemiden korunmalıdır (64).

3.7.6 BOS salgılanmasını azaltıcı tedavi

Diüretik, steroid, karbonik asit inhibitörü gibi ajanlar kullanılarak BOS salgılanması azaltılabilir (65).

3.7.7 Ozmotik tedavi

Doku suyunu ve beyin ödemi azaltmanın en hızlı ve etkili yöntemi ozmoterapidir (21,65). İstirahattaki bir hastada 10 dakika süreyle kafa içi basıncı 20 mm Hg üzerinde olursa ozmotik tedaviye başlanır. Oral veya intravenöz yolla verilen üre, albumin ve gliserin gibi ajanlar beyin ödeminin tedavisinde uzun süre kullanılmış ancak böbrek işlevleri ve hemodinami üzerindeki olumsuz sistemik etkileri nedeni ile tedavide etkinlikleri sınırlı kalmıştır (66-68).

3.7.7.1. Mannitol

Travmatik beyin ödeminin tedavisinde en fazla kullanılan ajandır (68). Kafa içi basıncı azaltmak için kullanılır. Plazma ve beyin arasında bir ozmotik basınç farkı oluşturarak ödem sıvısının beyinden plazmaya geçişini sağlar (11,69,70). Kafaiçi basıncı düşürücü etkisinin başlaması 1-5 dakika arasındadır. Maksimum etkisi 20-60 dakikadır. 0,25 gr/kg mannitol dozunun bazı hastalarda KİB'ı azaltmada yeterli olduğu gösterilmiştir. Ancak doz 1 gr/kg'a kadar çıkılabilir. Önceki yüksek doz daha sonraki dozun etkinliğini azaltır. Bunun için en ufak etkin dozu kullanmak gerekir. Mannitolun etkinliği lup üzerinden etki eden diüretiklerin kullanımı ile birleştiği zaman sinerjik olarak artar. Serum ozmolaritesi 320 mOsm/L olduğu sürece etkilidir. Bu düzeyin üzerinde böbrek yetmezliği ve sistemik asidoz meydana gelebilir (11,13,62).

3.7.7.2. Furosemid

Loop diüretik sınıfındandır. Etkisini böbrek glomerüllerinde henle kulpunun kortikal çıkan kalın bacağına Na-K-Cl taşıyıcıları üzerine etki yaparak NaCl'nin geri emilimini engellemek yoluyla gösterir. Loop diüretikler serum tonisitesini artırarak ve ayrıca BOS yapımını yavaşlatarak kafa içi basıncını azaltırlar (71).

3.7.8. Sedatif ve analjezikler

Bu ilaçların akut durumlarda kafa içi basıncının döneysel yükselmelerine karşı etkili olduğuna inanılmaktadır. Akut dönemde en sık kullanılan sedatif analjezik ise intravenöz morfindir. Sedatif dozlarda özellikle ventilasyon kontrol altında iken güvenle kullanılabilir (62,72).

3.7.9. Paralitik tedavi

Kürar, vekuronium, pankuronium, süksinilkolin, atrokurium gibi kas gevşeticiler güvenli bir aralık içinde kafa travması sonrası kafaiçi basınç artışı olan olguların resussitasyon, entübasyon ve cerrahi anestezi işlemlerinde kullanılmaktadır (73).

3.7.10. BOS tahliyesi

Kafaiçi basıncını düşürmede önemli bir yeri vardır. İntraventriküler kateter yardımıyla 3-5 ml BOS boşaltılması kafaiçi basıncı azaltacak ve ödem sıvısının ventriküller içine geçişine olanak sağlayacaktır. Ayrıca lökotrien C4 ve IL-6 gibi proinflamatuvar kemokinlerin ortamdan uzaklaştırılması olanaklıdır (9,23,27).

3.7.11. Barbitürat tedavisi

Kafa travmalı hastalarda kontrolsüz artan kafa içi basıncından nöral elemanları korumak için kullanılmaktadır. Kafa içi basıncı 25 mmHg üzerine çıkarsa başlanması önerilir. Etkisini beyin metabolizmasını yavaşlatarak enerjiye olan ihtiyacı azaltması yoluyla gösterir. Böylece iskemi durumunda ve serebral komplians azaldığında kalıcı hasar gelişmeden endojen tamir mekanizmaları görev yapabilir (22).

3.7.12. Dekompresif kraniyektomi

Dekompresyon cerrahisi, tüm medikal tedavilerin uygulanmasına rağmen tedaviden fayda sağlanamıyorsa özellikle gençlerde önerilmektedir. Literatürde, iskemik olaylarda dekompresyonun infarkt alanını azalttığı bildirilmektedir (16,27).

Sözü edilen tüm medikal ve cerrahi yöntemlere rağmen halen etkin ve sonuç alıcı bir anti ödem tedavi protokolü üzerinde fikir birliği yoktur. BOS, ödem sıvısının tahliyesi ve venöz sisteme boşaltımı açısından önemli bir ortam oluşturur. Kuramsal olarak, hasar bölgesinden BOS'a boşalan ödem sıvısının akış dinamiği ventriküle verilecek sıvı çekici birtakım ajanlarla hızlandırılabilir.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi ve Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu kararıyla 15.03.2010 tarihinde 2010/22 araştırma protokol numarasıyla onaylanmış olup, Mayıs 2010-Ağustos 2010 tarihleri arasında yapılmıştır. Çalışmada daha önce herhangi bir deneyde kullanılmamış ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen dişi erişkin Spraque-Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar İnönü Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Laboratuvarından temin edildi. Çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Laboratuvarında cerrahi aletler, stereotaksi cihazı ve yüksekte ağırlık düşürme yöntemi için gerekli cihaz kullanılarak gerçekleştirildi.



Resim 1: Travma düzeneği

Sıçanlar çalışma öncesinde, çalışma sırasında ve sonrasında her kafeste en fazla dört hayvan bulunacak şekilde sabit oda sıcaklığında, her gün kafes temizliği ve beslenme (standart hayvan yemi ve yeterince su) gereksinimi sağlanmak şartı ile barındırıldı.

4.1. ANESTEZİ

Cerrahi işlem öncesi tüm sıçanlara 10 mg/kg dozunda xylazin (Bayer Birleşik Alman İlaç Fabrikaları, İstanbul) ve 75 mg/kg dozunda ketamin hiroklorür (Parke Davis, İstanbul) intraperitoneal yol ile uygulandı. Gereksinim duyulması durumunda başlangıçta uygulanan dozların %20'sini aşmayan dozlar aralıklı olarak tekrarlandı.

4.2. TRAVMA MODELİ

Travma modeli için Feeney'in tarif ettiği ağırlık düşürme tekniğinden faydalanılarak orta düzeyde kafa travması oluşturuldu (74). Feeney'in ağırlık düşürme modeli, 9 gr ağırlığındaki metal çubuğun, dış çapı 13 mm iç çapı 11 mm olan ve üzerinde hava kaçına olanak sağlayan delikleri bulunan bir cam tüpten dik olarak ve 50 cm yükseklikten bırakılması şeklinde uygulandı (Resim1). Silindirin yüksekliği ve düşürülecek ağırlık $E=mgh$ formülü ile hesaplandı. Böylece uygulanacak travma standardize edilmiş oldu. Kafa travması düzeneği uygulanmadan önce anestezi sonrası sıçanlar düz bir yüzey üzerine yatırıldı. Düz zemin üzerinde yatan sıçanlara orta hatta dikey olacak şekilde bir cilt insizyonu yapıldı. İnsizyondan sonra orta hat ve sol koronal sütür tanındı. Periost, sol tarafta ortaya konan sahada kemikten sıyrıldı. Temporal adale yapışma yerinden kesilerek temporal kemik üzeri serbestleştirildi. Dental tur yardımıyla sol paryetal kemiğin ortasında bir delik açıldı. Bu işlem sırasında beyin dokusunu ısı etkisinden korumak amacıyla uygulama bölgesi kısa aralıklarla serum fizyolojik ile yıkandı. Dura bütünlüğü bozulmadan açılan delik, kıvrık uçlu bir mini hemostat ile genişletildi. Temporal kemiğin paryetal komşuluğu da dahil olmak üzere orta hattın solunda, dura sağlam bırakılmak koşuluyla, 10x15 mm boyutlarında bir kraniyektomi sahası oluşturuldu. Gereğinde dura kanamaları için oksitlenmiş selüloz (Surgicel, Ethicon, İstanbul), kemik kanamaları için Bone-wax (Ethicon, İstanbul) kullanıldı. Kraniyektomiden sonra sıçan prone pozisyonunda köpük bir yatağın üzerine yerleştirildi. Daha sonra Feeney'in cihazı kullanılarak sıçanlara 450 gr/cm kuvvet uygulanarak kafa travması oluşturuldu. Kafa travmasından sonra cilt tek kat olarak kapatıldı. Bu işlemler yapılırken asepsi kurallarına uyuldu.

Kafa travması oluşturulan bu sıçanlardan tedavi grubundakiler, travmadan sonraki 6'ncı, 12'inci, 24'üncü saatlerde anestezi uygulamasını takiben serebroventriküler ilaç uygulamak amacıyla sıçan stereotaksi (ASI instruments small animal stereotaxic frame, İstanbul) cihazı kullanıldı. Denekler insizor bar interaural çizginin 5 milimetre üzerinde olacak şekilde stereotaksi cihazına konumlandı. Cihaza yerleştirdikten sonra stereotaksi cihazına monte edilen hamilton enjektörü (No:24) ile Pellegrino-Cushman (75,76) atlasında bildirilen koordinatlar dahilinde sol lateral ventrikül hedeflenerek travmadan 6'ncı, 12'inci ve 24'üncü saatlerde 2'şer mikrolitre dozda terapötik ajan serebroventriküler olarak verildi (Resim 2). Tedavi sonrası cilt tek kat kapatıldı. Uygulamalar sonrası tüm denekler gıda ve sıvı gereksinimi için serbest bırakıldı.



Resim 2: Sterotaksi cihazına yerleştirilmiş rat

4.3. DENEY GRUPLARI

Sıçanlar, her grupta eşit sayıda olacak şekilde, altı gruba (Tablo 1) gelişigüzel olarak ayrıldı. Planlanan sakrifikasyon zamanına kadar tüm gruplarda yaşayan sıçan sayısı 44 adettir.

1'inci grup (Albumin tedavi grubu): Albumin tedavi grubundaki sıçanlara kafa travması oluşturulduktan sonra 1ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı, stereotaksi cihazı ile 2 mikrolitre albumin 6'ncı, 12'nci ve 24'üncü saatlerde serebroventriküler olarak verildi.

2'inci grup (Mannitol tedavi grubu): Mannitol tedavi grubundaki sıçanlara kafa travması oluşturulduktan sonra 1ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı, stereotaksi cihazı ile 2 mikrolitre mannitol 6'ncı, 12'nci ve 24'üncü saatlerde serebroventriküler olarak verildi.

3'üncü grup (%3 sodyum klorür tedavi grubu): %3 sodyum klorür tedavi grubundaki sıçanlara kafa travması oluşturulduktan sonra 1ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı, stereotaksi cihazı ile 2 mikrolitre %3 sodyum klorür 6'ncı, 12'nci ve 24'üncü saatlerde serebroventriküler olarak verildi.

4'üncü grup (Gliserin tedavi grubu): Gliserin tedavi grubundaki sıçanlara kafa travması oluşturulduktan sonra 1ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı, stereotaksi cihazı ile 2 mikrolitre gliserin 6'ncı, 12'nci ve 24'üncü saatlerde serebroventriküler olarak verildi.

5'inci grup (Dekstran tedavi grubu): Dekstran tedavi grubundaki sıçanlara kafa travması oluşturulduktan sonra 1ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı, stereotaksi cihazı ile 2 mikrolitre dekstran 6'ncı, 12'nci ve 24'üncü saatlerde serebroventriküler olarak verildi.

6'ncı grup (Tedavisiz travma grubu): Kontrol grubu olan tedavisiz travma grubundaki sıçanlara anestezi verilerek kafa travması oluşturulduktan sonra 1 ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı. 6'ncı, 12'nci, 24'üncü saatlerde stereotaksi cihazında ponksiyon yapıldı; ancak terapötik ajan verilmedi.

Her grupta yer alan toplam 44 sıçan travmadan 48 saat sonra biyokimyasal analiz için sakrifiye edildi.

Gruplar	Yaşayan Sıçan Sayısı
1. grup (Albümin)	8
2. grup (Mannitol)	9
3. grup (%3 sodyum klorür)	7
4. grup (Gliserin)	7
5. grup (Dekstran)	7
6. grup (Tedavisiz travma grubu)	6

Tablo 1: Grup numaraları ve travmadan 48 saat sonra sakrifiye edilen sıçan sayısı

4.4. PERFÜZYON VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Tüm gruplarda yer alan sıçanlarda, önceden belirlenen süreç sonrasında, xylazine ve ketamin hidroklorür kullanılarak derin anestezi oluşturuldu. Derin anesteziyi takiben sıçanlara torakotomi uygulandı. Torakotomi sonrasında serum fizyolojik ile 5 dakika süreyle intrakardiyak perfüzyon yapıldı. Perfüzyondan hemen sonra beyin dokusu hızlı bir şekilde hasarsız olarak çıkarıldı. Travma uygulanan hemisferin hasar merkezi ve periferinden, karşı hemisferden olmak üzere doku örnekleri alındı. Travma yapılan taraftaki hemisferden alınan doku örnekleri daha önceden hazırlanmış ve her bir denek için numaralanmış kaplara alınarak biyokimyasal analiz yapılmak üzere -70°C 'de bekletildiler.

4.5. BİYOKİMYASAL ANALİZLER İÇİN DOKU ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI

Gruplardan alınan beyin numuneleri tartıldı ve üzerlerine %10'luk (w/v) homojenat oluşturacak şekilde fosfat tamponu (pH: 7.4, 50 mM) ilave edildi ve buz içinde 1–2 dakika süreyle 12000 devir/dakika homojenize (Ultra Turrax Type T25-B homogenizer, IKA Labortechnik, Germany) edildi. Elde edilen homojenatların bir kısmı MDA analizinde kullanıldı. Geriye kalan homojenatlar 5000 rpm'de, 4°C 'de, 30 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant örnekleri IL-1 β , TNF- α , GSH ve NO analizlerinde kullanıldı.

IL-1 β , rat Platinum ELISA kit ile çalışılmıştır (Platinum ELISA eBioscience, North America).

TNF- α , rat Platinum ELISA kit ile çalışılmıştır (Platinum ELISA eBioscience, North America).

4.5.1. MALONDİALDEHİT (MDA; Tiyoarbitürik Asit Reaktif Ürünleri, TBARS) ANALİZİ

İki molekül tiyoarbitürik asidin (TBA) bir molekül MDA ile asit ortamda reaksiyona girerek pembe renkli ürün oluşturması esasına dayanmaktadır. Oluşan bu bileşik 535 nm’de maksimum absorbanı vermektedir.

Kullanılan Reaktifler

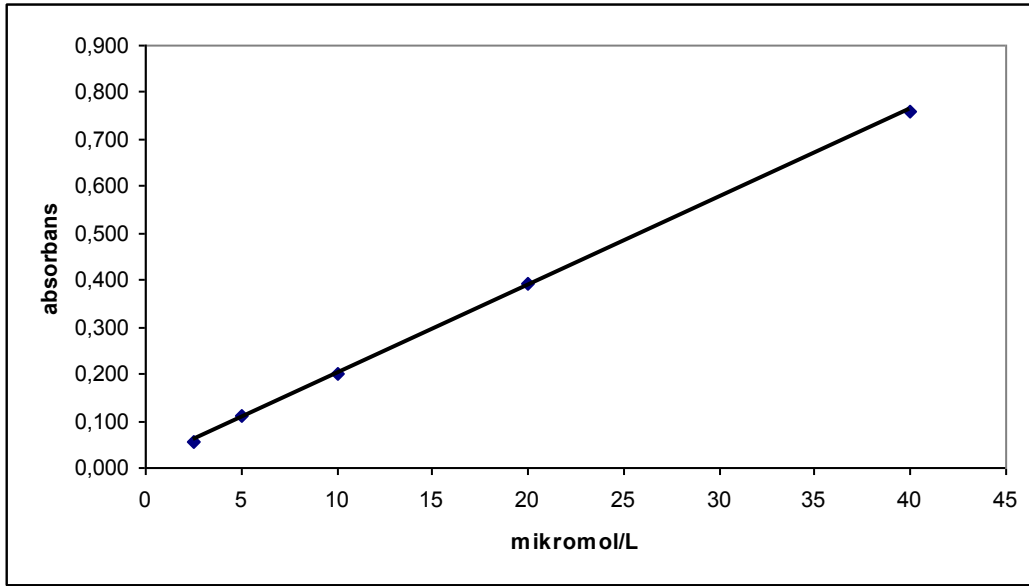
- 1) %1’lik fosforik asit
- 2) %0.6’lik tiyoarbutirik asit (TBA)
- 3) n-butanol (konsantre)
- 4) Standartlar için 1,1’,3,3’ tetraetoksipropan (kalibrasyon grafiği çiziminde kullanılmak üzere 2.5, 5, 10, 20, 40 mikromolarlık standartlar kullanıldı).

	Kör	Standart	Numune
Doku Homojenatı	-----	-----	250 µL
Standart	-----	250 µL	-----
%1’lik Fosforik Asit	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
%0.6’lik TBA	500 µL	500 µL	500 µL
Etanol	250 µL	-----	-----
Vortekslenip 45 dakika kaynar su banyosunda (95°C’de) inkubasyon ve soğutma			
n-butanol	2 mL	2mL	2 mL

Tablo 2:MDA düzeylerinin tayini

Hazırlanan çözeltiler yukarıdaki çalışma tablosunda belirtildiği şekilde vida kapaklı cam tüplere eklendi, çözeltilerin karışması için 5 dakika boyunca her bir tüp kuvvetlice vortekslendi. 5 dakikanın sonunda numuneler 3000 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant (n-butanol fazı) direkt olarak kuartz küvete alındı.

Oluşan pembe renkli süpernatantların absorbanları spektrofotometrede 535 nm’de okundu ve 1,1’,3,3’-tetraetoksipropan ile hazırlanan standart grafikten yararlanılarak µmol/L cinsinden MDA düzeyleri bulundu (Şekil 1). Sonuçlar nmol/g yaş doku olarak ifade edildi.



Şekil 1: MDA standart grafiği

4.5.2. REDÜKTE GLUTATYON (GSH) ANALİZİ

Süpernatant numunelerine %10'luk TCA çözeltisi ilave edildi, iyice karıştırıldı ve 3000 rpm'de 4°C'de 20 dakika santrifüj edilerek proteinlerin çökmesi sağlandı. Elde edilen açık renkli proteinsiz süpernatant numuneleri, GSH analizinde kullanıldı.

GSH analizi, Elman'ın tarif ettiği metoda göre yapıldı (77). Metodun GSH ölçüm prensibi, analiz tüpünde bulunan glutatyonun 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit ile reaksiyona girerek sarı-yeşilimsi renk vermesi ve oluşan bu rengin ışık şiddeti spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda okunarak redükte glutatyon miktarının tayin edilmesi şeklindedir.

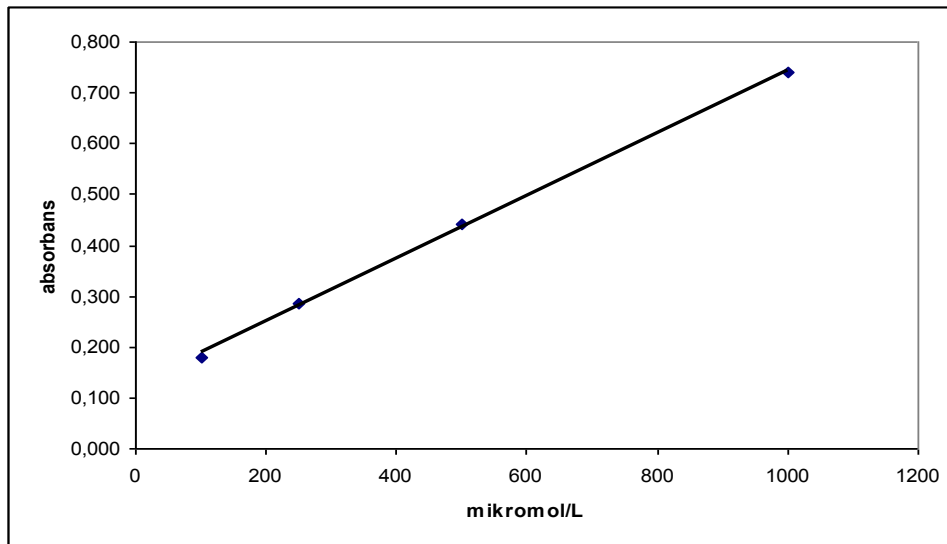
Kullanılan Reaktifler

- 1) %10'luk triklor asetik asit (TCA)
- 2) 0.3 M disodyum hidrojen fosfat
- 3) %0.4'lük 5,5'-Ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB)
- 4) %1'lik trisodyum sitrat (DTNB'yi çözmek için)
- 5) Redükte glutatyon standart çözeltileri: Kalibrasyon grafiğini oluşturmak üzere 125, 250, 500, 1000 mikromolarlık GSH standart çözeltileri kullanıldı.

	Kör	Standart	Numune
Proteinsiz Süpernatant	-----	-----	250µL
Standart çözeltiler	-----	250µL	-----
0.3 M Na ₂ HPO ₄	2 mL	2 mL	2 mL
%0.4'lük DTNB	250 µL	250 µL	250 µL
Distile su	250 µL	-----	-----

Tablo 3: GSH Düzeylerinin Tayini

Yukarıdaki tabloda belirtilen çalışma şemasına göre deney tüpleri hazırlandı, çözeltilerin karışması için tüpler vortekslendi. Spektrofotometre kör ile 410 nm'de sıfır absorbansa ayarlandı. Oda ısısında 5 dakika bekletilen numunelerde oluşan rengin şiddeti spektrofotometrede 410 nm'de okundu ve glutasyon standart grafiğinden yararlanılarak µmol/L cinsinden GSH düzeyleri bulundu (Şekil 2.). Sonuçlar nmol/g yaş doku olarak ifade edilmiştir.



Şekil 2. GSH Standart Grafiği

4.5.3. NİTRİK OKSİT (NO) ANALİZİ

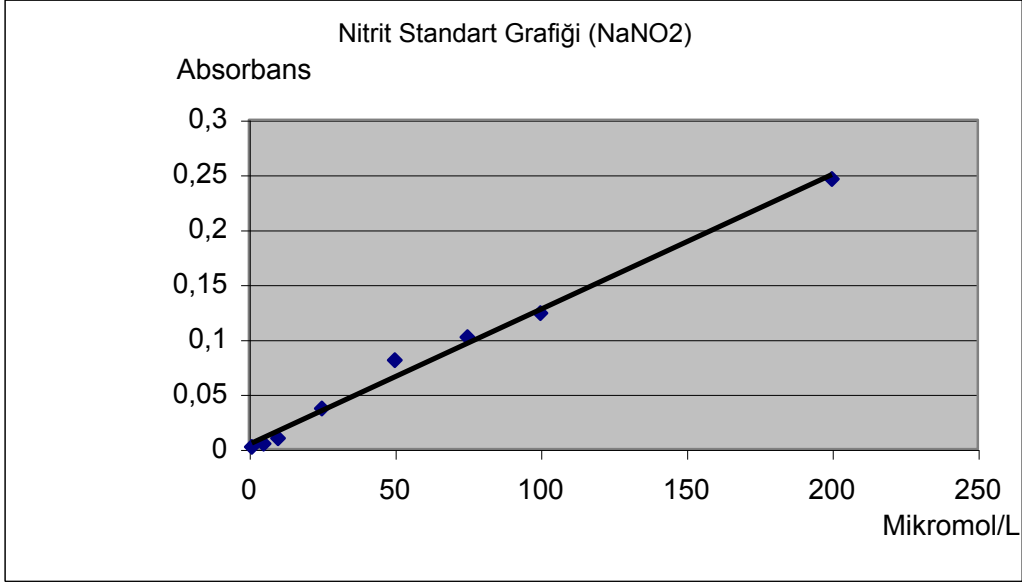
Numunelerin Deproteinizasyonu

Beyin dokularının homojenizasyonu sonrası elde edilen süpernatanttan 300 µL alınır, üzerine 600 µL 82 mM/L ZnSO₄ ilave edilir. 1 dakika vortekslenir ve 5 dakika oda ısısında bekletilir. 5 dk'nın sonunda 900 µL 55 mM/L NaOH ilave edilir 5 dakika vortekslenir, 5000 rpm'de 20 dakika çevrilir, proteinsiz süpernatant temiz bir tübe alınır (deproteinize olmuş numune). Proteinsiz süpernatant NO analizinde kullanılır.

Proteinsiz süpernatant numunelerinin nitrik oksit (NO) düzeyleri, enzimatik Greiss yöntemiyle total nitrit olarak ölçülmüştür. Total nitrit düzeyleri; endojen NO üretiminin indeksi olarak kabul edilmektedir (78,79).

Total nitrit ölçümü, Özbek ve ark. tarafından tarif edilen metoda göre yapılmıştır (80). Deproteinize edilmiş süpernatanttan 250 µl alınır ve 0.32 mol/L potasyum fosfat tamponundan (pH'sı 7.5 olan) 200 µl, nitrat redüktazdan (10 U/ml, Sigma) 25 µl, koenzim olarak NADPH (50 µmol/L) ve FAD (5 µmol/L) ile bunlara ilaveten 525 µl distile su bulunan toplam 750 µl sıvı içerisine ilave edildi ve 2 saat süreyle inkübasyona tabii tutuldu.

Nitratın, nitrat redüktaz tarafından nitrite indirgenmesinden sonra, bu indirgenmiş numunelerden ve Greiss reaktifinden (greiss reaktif; distile su içerisinde çözülmüş % 0.1'lik α-naftilamin ve % 5'lik fosforik asit içerisinde çözülmüş % 1'lik p-aminobenzen sülfamid'den 1:1 oranında alınarak hazırlanmıştır) eşit hacimler alınarak karıştırıldı. Örnekler 15 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldıktan sonra bir spektrofotometre yardımıyla 548 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu. 0 ile 200 µmol/L'lik bir aralıkta nitrit standartları hazırlanarak absorbans değerleri ölçüldü ve bir standart grafiği hazırlandı. Proteinsiz süpernatant örneklerinin absorbans değerleri, bu standart grafiğinden (Şekil 3.) yararlanılarak µmol/L nitrite çevrildi. Sonuçlar nmol/g yaş doku olarak ifade edildi.



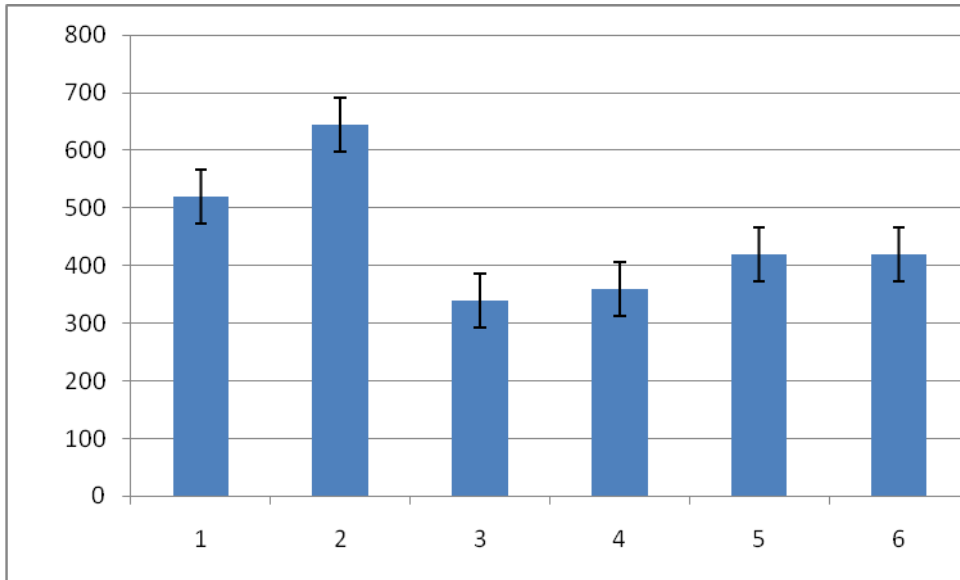
Şekil 3. Nitrik Oksit Standart Grafiği

5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmanın istatistiksel analizlerinde SPSS 15.0 programında tanımlayıcı veriler ortanca (Min-max) olarak verildi. Grupların ortancaların karşılaştırılmasında Kruskal wallis H testi normal dağılım varsayımı sağlanmadığı için kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmeli MannWhitney U testi ile yapıldı. Burada $P<0.005$ değeri önemli kabul edildi. $P<0.05$ anlamlı olarak alındı. Grafikler Mikrosoft Excel programında oluşturuldu.

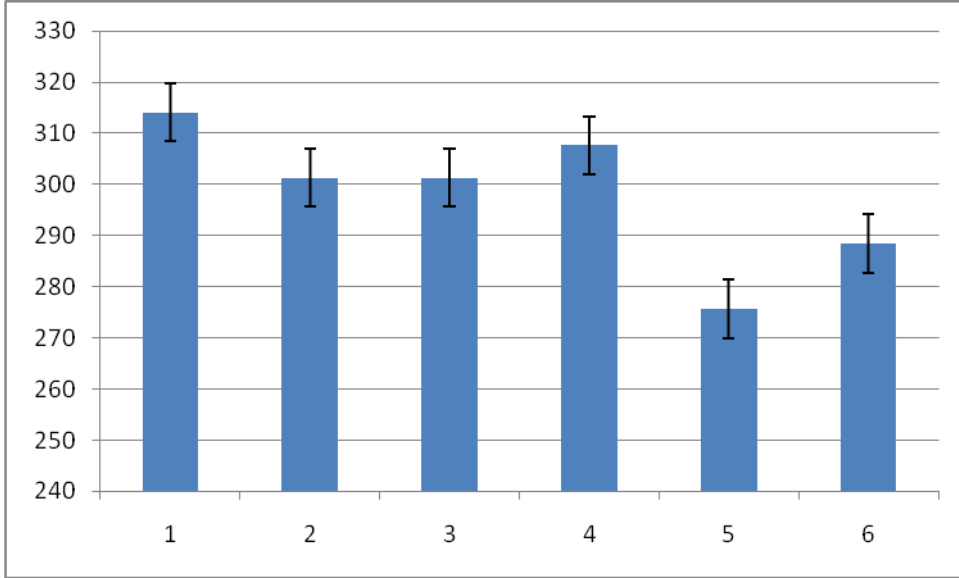
6. BULGULAR

Çalışmamızda oluşturulan TBH'da, özellikle %3 NaCl tedavili grupta (Grup 3) NO düzeylerinin düştüğü görüldü (Grafik 1).



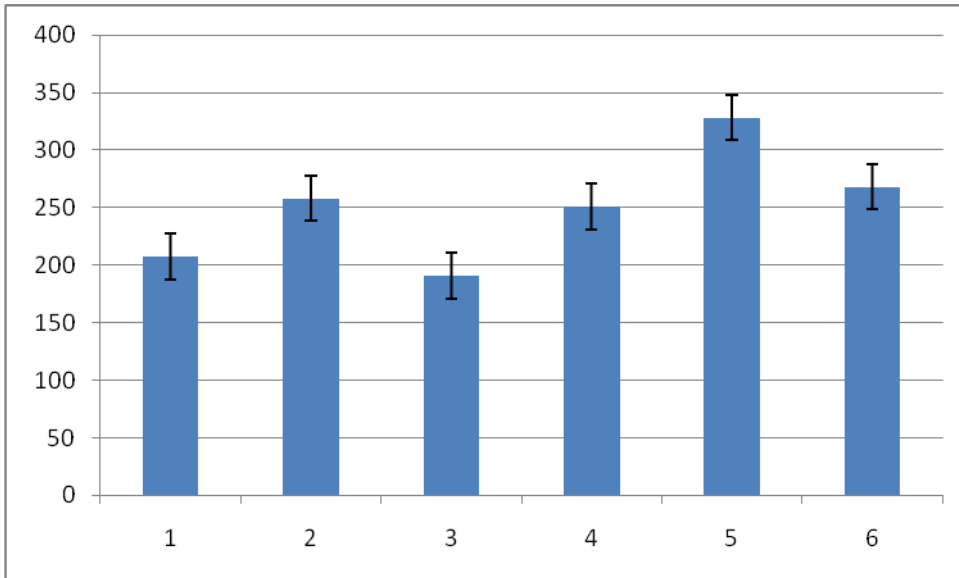
Grafik 1: Beyin dokusunda ölçülen NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Çalışmamızda albumin, mannitol, %3 NaCl ve gliserin tedavi gruplarında (Grup 1,2,3,4) GSH düzeyinde anlamlı artış görülmüştür. Dekstran tedavili grupta (Grup 5) bu artış saptanmamıştır (Grafik 2).



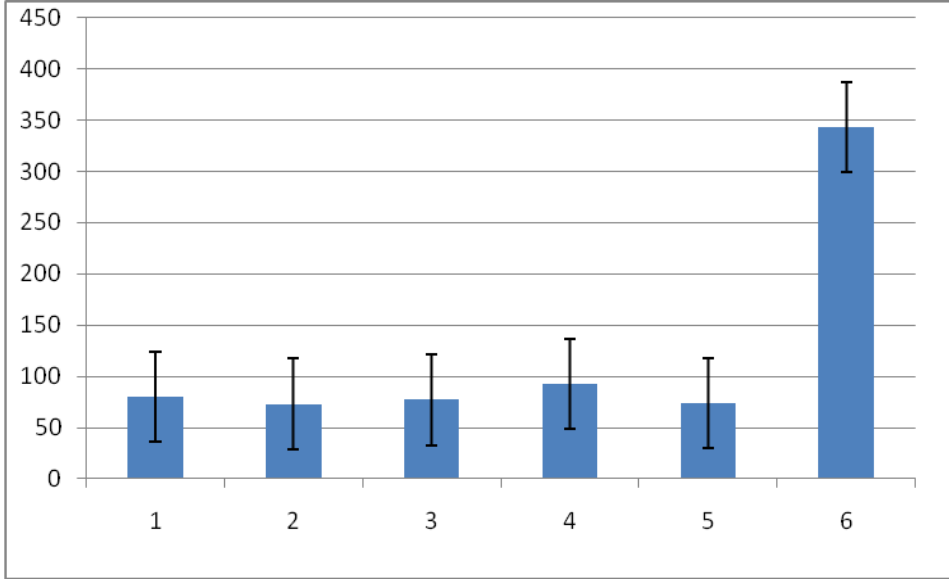
Grafik 2: Beyin dokusunda ölçülen GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Çalışmamızda kontrol grubuna göre, albumin, mannitol, %3 NaCl ve gliserin tedavi gruplarında MDA düzeylerinde düşüş görülmüştür (Grup 1,2,3,4) (Grafik 3).



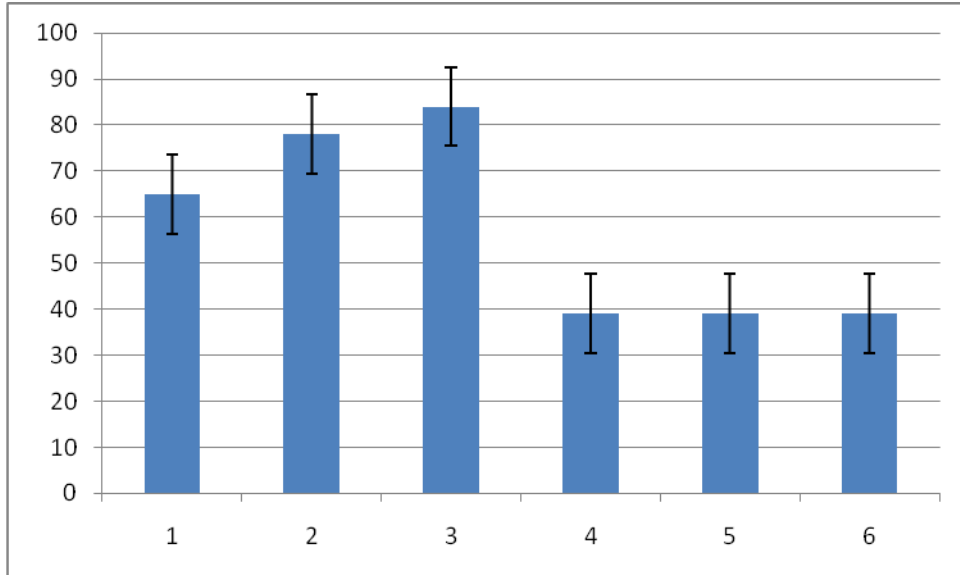
Grafik 3: Beyin dokusunda ölçülen MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı

TBH travmanın proinflatuar nitelikteki iki sitokini olan TNF- α ve IL-1 β düzeyleri beyin dokusunda incelenmiştir. IL-1 β değerinin travmadan sonra tedavisiz travma grubunda çok ciddi oranda arttığı görülmüş olup, tedavi gruplarında artışın önlendiği görüldü (Grup 1,2,3,4,5) (Grafik 4) (P=0.001).



Grafik 4: Beyin dokusunda ölçülen IL-1 β düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Aynı çalışmada beyin dokusunda aynı yöntemle bakılan TNF- α düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Grafik 5) (P=0.06).



Grafik 5: Beyin dokusunda ölçülen TNF- α düzeylerinin gruplara göre dağılımı

7. TARTIŞMA

Kafa travmasına ikincil olarak gelişen beyin ödemi nöroşirurji disiplininin halen ivedi çözüm bekleyen sorunlarından biridir. Son otuz yıl içinde radyolojik tanı yöntemlerinde ortaya çıkan hızlı gelişim, moleküler biyoloji alanındaki yoğun laboratuvar destek ve farmakolojik araştırmalardaki büyük atılım beyin ödemi fizyopatolojisinin daha önce anlaşılamayan pek çok yönünün ortaya çıkmasına yardımcı olmuştur.

Bu çalışmada kolay uygulanabilir olması, beyin sapı hasarı oluşturulmaksızın parankimal hasar oluşturulabilmesi, travmaya ikincil hipertansiyon oluşturulmaksızın hedeflenen harabiyetin gerçekleştirilebilmesi, insandaki kafa travmasında sık rastlanan yaygın aksonal harabiyetin oluşturulabilmesi gibi koşulları sağlayabilmesi nedeniyle çarpma akselerasyon travma modeli kullanıldı (74). Bu modelde insanda kafa travması sonrası sıklıkla gözlenen serebral ödem, intrakraniyal hipertansiyon ve serebral kan akımı değişiklikleri daha iyi oluşturulmaktadır. Ayrıca bu modelde istenilen kafa travması düzeyine belirgin beyin sapı hasarı oluşturulmadan ulaşılır. Deney hayvanı olarak, ucuz ve kolay sağlanabilir olması ve çevresel direncinin yüksek olması nedeniyle sıçan tercih edildi.

Travmatik beyin ödemi modellerinde yapılan çalışmalar, ödemin üçüncü saatten sonra belirginleştiğini, 48-72 saatler arası en üst düzeye çıktıktan sonra 7-10'uncu günü takiben çok büyük oranda azaldığını ortaya koymaktadır. Klinik deneyim de laboratuvar bulgularını desteklemektedir (13,17,34,81).

Kafa travmasından kısa süre sonra oluşmaya başlayan ve hızla ilerleyen beyin ödemi, birçok patolojik sürecin başlamasına neden olmaktadır. Bunlardan en önemlilerinden biri de hiç kuşkusuz damarsal yapıların baskı ile daralarak hipooksijenasyona ve sonuçta anoksiye neden olmasıdır. Beyin travmaya maruz kaldığında, serebral otonöregülasyon bozulmakta ve küçük serebral arterler genişlemekte, kapiller hidrostatik basınç artışıyla kan plazması intersellüler alana geçerek beyinde dolaşım bozukluğu meydana gelmektedir. Dolayısıyla travma sonrasında ardı sıra meydana gelen olaylar kısmen iskemi tablosuna benzemektedir (82).

İntrasisternal, intratekal ya da intraventriküler yolla yapılan tedavi çabalarının en önemli avantajı, uygulanan ajanın diğer tedavi seçeneklerinde olduğu gibi kan-beyin bariyerini aşamama olasılığının ortadan kaldırılmasıdır. Kafa travmalarında her ne kadar kan beyin bariyerinin bütünlüğü bozulmakta ve bu yolla bazı ajanların nöral doku ile teması kolaylaşmaktaysa da genelde tedavi amaçlı çabaların önemli bir kısmı beyin endotelial hücrelerinin sıkı bileşkelerini (tight junctions) arabinose ya da mannitol gibi ajanlar yardımıyla geçici bir süre için açmaya yöneliktir. Bu yaklaşım merkezi sinir sisteminin kemoterapi uygulamalarında etkin bir şekilde kullanılmaktadır (83).

Literatürde mannitolun serbest radikal temizleyici ve güçlü antioksidan etkisini öne süren yayınlar çoğunluktadır (84). Stratford (85) tarafından intravenöz tedavi sıvılarının antioksidan güçleri ile ilgili yapılan bir çalışmada mannitol solusyonunun antioksidan etkisinin olmadığı öne sürülmüştür. Bu sonuç, mannitolun ROT tüketimini gerçekleştirdiği ancak oluşan radikalin çok ve aktif olması nedeni ile oksidatif stresi arttırdığı şeklinde açıklanmıştır (85).

Bugüne kadar hipertonic Dextran Salin (DS) solüsyonu uygulaması, hemorajik şoktan kurtarma ile ilgili çalışmalarla sınırlı tutulmuştur. Sonuçlar hastaların bu tür bir tedaviden fayda görebileceğine işaret etmesine rağmen, kafa travmalı hastalar bu çalışmalara önceleri dahil edilmemişlerdir (86). Bu ajanların KİB'ni düşürdüğü, kafa travmalı hayvanlar üzerinde yapılan deneylerle doğrulanmıştır.

Berger ve arkadaşları (4), fokal serebral lezyon ve intrakranyal kitleye bağlı intrakranyal hipertansiyonu düşürmede hipertonic DS ile hipertonic mannitolü karşılaştırmış ve DS solüsyonunun mannitole göre daha yüksek BPB (beyin perfüzyon basıncı) sağladığını bildirmişlerdir. Ayrıca mannitol uygulandıktan sonra kısa süreli ve doza bağlı arteriyel hipotansiyon ortaya çıkmıştır (87). Mannitolün diğer dezavantajları arasında arteriyel pO_2 'nin düşmesi, pCO_2 'in artması ve sistemik asidoz da sayılabilir. DS solüsyonu verildikten sonra kan pH'ındaki azalma mannitolden sonra gelişen asidoz kadar ciddi bulunmamıştır. Hematokritteki nisbi düşüş her iki grupta da hemen hemen aynıdır. Kandaki pO_2 ve pCO_2 değerlerinde görülen eşzamanlı değişimlere bakarak akciğer ventilasyon/perfüzyon oranını etkileyen mekanizmaları mannitolün aktive ettiği söylenmektedir. DS solüsyonu ile mannitol deney koşullarında KİB'ni hemen hemen aynı şekilde etkilemelerine rağmen, doku dehidratasyonunun farklılığı KİB'ni düşüren mekanizmaların farklılığını düşündürmektedir. Mannitol travmatik hemisiferdeki beyin dokusunun su içeriğini, DS ise kontralateral hemisiferdeki dokunun su içeriğini daha etkili biçimde düşürmektedir. Ayrıca deneysel çalışmalar hipertonic salinin mannitole kıyasla BPB'yi daha iyi düzelttiğini göstermiştir (87).

Çünkü hipertonic salinin Ortalama Arteriyel Kan Basıncını (OAKB) arttırma potansiyeli daha fazladır. Halbuki mannitol OAKB'ı azaltır. Mannitol, multipl dozlardan sonra vazojenik ödemi ağırlaştırarak biçimde hasarlı beyin dokusunda birikim yapabilir. Ayrıca mannitol akut renal yetersizliğe, hiperkalemiye, hipotansiyona ve KİB'da rebound artışlara neden olabilmektedir. Berger ve arkadaşları (4), DS'nin, deneysel modelde artan KİBA'yı mannitol kadar etkili bir biçimde azalttığını bildirmişlerdir.

Muizelaar ve arkadaşları tarafından (88), beyin ödemi ve artmış KİB'i baz alınarak DS solüsyonu ile mannitol karşılaştırılmıştır. DS solüsyonu uygulandıktan sonra travmatize hemisferde beyin ödeminin, mannitol uygulamasına göre daha fazla azaldığını ve KİB kontrolünün daha iyi sağlandığını bildirmiştir.

Eksikliklerine rağmen hipertonic DS solüsyonu hem hemorajik şoka giren hastalarda hem de ciddi kafa travmasına maruz kalan hastalarda daha sık kullanılması gereken bir tedavi metodu olarak değerlendirilmelidir. Zira böyle bir tedaviyle kısa sürede yeterli kardiyovasküler fonksiyon sağlanıp sekonder serebral iskemi önlenecektir. Ayrıca bu tedavi, hastaların hastaneye güvenli bir biçimde naklini de sağlayacaktır. Bu kaza mahallinde hipertonic DS solüsyon infüzyonuyla resüsite edilen kafa travmalı hastalarda gözlenen yüksek survi oranlarına ilişkin klinik gözlemleri de desteklemektedir. Deneysel ve klinik tecrübeler, bu tür bir sıvı rejimi uygulamasının kafa travmalı hastalarda hemoraji ve beyin şişmesine neden olabileceğine ilişkin görüşleri doğrulamamaktadır. Tam tersine KİB'in DS solüsyonu yardımıyla düşürülmesi, hastaların kesin tedavileri yapılacak hastaneye ulaşmaya kadar stabil kalmalarına neden olmaktadır (4).

Serumda Na^+ düzeyi, deneysel kafa travma modelinde mannitol uygulandıktan sonra hipertonic DS'ye göre daha fazla artmıştır (4). Ozmolalite, hem hipertonic DS hem de mannitolde aşağı yukarı aynı miktarda yükselmiştir. Ayrıca hipertonic DS, idrar sodyum konsantrasyonunu mannitole kıyasla önemli ölçüde artırmıştır. Bu durum, bolus hipertonic solüsyon sonrası sodyumun kandaki etkin akışına bağlı olabilir. Hipertonic DS sonrası ortalama idrar ozmolalitesi ile mannitol sonrası ortalama idrar ozmolalitesi arasında belirgin bir fark yoktur. Hipertonic DS sonrası idrar çıkışı, mannitolden daha düşüktür. Mannitol diüretik olduğu için bu doğal görünse de hipertonic DS'nin daha az idrar çıkışıyla daha etkin bir KİB düşüşü sağlayabilmesi önemlidir.

Serbest radikaller, ağırlıklı olarak hücresel solunum ve normal metabolizma sırasında ortaya çıkan ileri derecede reaktif moleküllerdir. Serbest radikallerin hücresel üretimi ile hücrelerin kendilerini bunlara karşı koyabilme yetisi arasındaki dengesizlik oksidatif stres

olarak adlandırılır. Bu olay, akut santral sinir sistemi hasarının potansiyel oluşturuçularından biri olarak belirtilmektedir. Travma sonrası ROT üretimi, bazen birkaç değişik hücrel molekül yoldan doku hasarı oluşturuçak şekilde aşırı miktarda artar. Oluşan radikaller lipid, protein ya da nükleik asit gibi belli başlı hücrel bileşenlerde hasar oluşturuçarak nekroz ya da apoptosis yolu ile hücre ölümüne neden olurlar. Hasar, zayıflamış hücrel antioksidan savunma sistemlerine bağılı olarak daha büyüeyebilir. Akut beyin hasarı, glutamat gibi bazı eksitotoksik amino asit düzeylerini arttırarak ROT miktarının fazlalaşmasına neden olur. Bu olay, parankimal hasarın ilerlemesi sonucunu doğurur. Antioksidan tedavi teorik olarak doku hasarının ilerlemesini önler; hem yaşam süresinin uzamasını, hem de nörolojik iyileşmeyi destekler. TBH'dan sonra GSSG oluşumu ile düşen GSH düzeyleri apoptotik nöron ölümü ile ilişkilendirilmiştir. Travmadan sonra düşen GSH/GSSG oranı sistemdeki oksidatif ve/veya nitrozatif yükün göstergesidir. Endojen antioksidanların tükenmesiyle bir süre sonra savunma çökebilmektedir. Çalışmamızda albumin, mannitol, %3 NaCl ve gliserin tedavi gruplarında GSH düzeyinde anlamlı artış görölmesi, bu hiperonkotik/hiperosmotik ajanların travmadan sonra artan oksidatif ve/veya nitrozatif yükten beyin dokusunu koruduğı lehine yorumlanmıştır.

Travmanın ardından başlayan ikincil hasar kaskadında serbest oksijen radikallerinin üretimindeki ciddi artışın oksidatif sonuçlarından bir tanesi hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu, doymamış yağ asitlerinin herhangi bir radikale dönüşümünü tetikleyen temel mekanizma olup tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren bir madde olan MDA'nın ölçümü ile değerlendirilir. Çalışmamızda kontrol grubuna göre, albumin, mannitol, %3 NaCl ve gliserin tedavi gruplarında MDA düzeylerinin düşüş trendi göstermesi serebroventriküler yolla uygulanan hiperonkotik/hiperosmotik ajanların etkinliğini destekleyip, serbest oksijen radikallerinden beyin dokusunu koruduğunu desteklemektedir.

Belirli sayıda antioksidan maddenin hayvan modellerinde ve küçük boyutlu klinik çalışmalarda etkinliği gösterilmişse de, bu bulgular kontrollu ve geniş kapsamlı çalışmalarda doğrulanamamıştır. Halen tedavi açısından olumlu ve olumsuz sonuçların bir arada bildirilmesinin pek çok nedeni vardır. Antioksidan madde, hasara neden olan olay ile geri dönüşümsüz nöronal hasarın oluştuğı dönem arasındaki sürede uygulanabilmelidir. Tedavi uygulaması, oksidatif stres fizyolojisi ile uyumlu olmalıdır. Bu önerme, işleme giren ROT, oluşum yeri ve hasarın ağırlığını kapsar. Sistemik uygulamada antioksidanlar merkezi sinir sisteminde belirli bir tedavi dozuna ulaşabilmek için kan beyin bariyerini de aşmak zorundadırlar. Çalışmamızda, öne sürülen yöntem ile kan beyin bariyerinin tedavideki sınırlayıcı özelliğı mekanik açıdan aşılmıştır. Bu mekanik engel haricinde antioksidan

uygulamanın, beyin koruyucu tedavi açısından başarısız kalmasına neden olabilecek gerekçeler arasında kısa tedavi aralığı, uygulanan dozun yetersiz olması, hedef bölgeye ulaşan doz miktarının azlığı, ilaç mekanizmalarında ve eş zamanlı fizyopatolojik süreçlerdeki uyumsuzluk sayılabilir. Değişik antioksidanların nükleik asitleri, proteinleri ve lipidleri serbest radikal hasarından koruyucu farklı etkileri vardır. Ayrıca bazı yapılar, özgün hücre içi organellerde konumlanmış olabilir. Bu açıdan antioksidan bileşimleri ya da antioksidanla birleştirilmiş kalsiyum antagonistleri, glutamat antagonistleri ya da apoptotik ajanlar gibi bileşimler daha başarılı sinerjistik etki gösterebilirler. Travmatik beyin hasarındaki patolojik düzeneklerin daha iyi anlaşılması, ilaç uygulamaları için daha kesin hedefler belirleyecektir. Geliştirilmiş antioksidan kuramının başarısı; özgün zararlı serbest radikalın tanımlanması, hedef dokuya yeterli ulaşım, doz ve zaman aralıklarının iyi belirlenmesine bağlıdır (83,89-93).

VEGF, NO sentezini ve salınımını uyararak damar geçirgenliği artırır. Beyin hasarından sonra akut dönemde VEGF inhibisyonunun KBB geçirgenliğini azalttığı gösterilmiştir (105). Yapılan çalışmalarda, serebellumda hipoksiye yanıt olarak VEGF ve NO düzeylerinde artış olduğu, deneysel travmatik beyin hasarında VEGF ve reseptörlerinin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (94,95).

Normal metabolizma sırasında L-argininden NOS tarafından sentezlenen NO molekülü, beyinde KBB'nin işlevlerinde görevli iyonların ve diğer moleküllerin transportunu düzenleyerek birçok biyolojik mekanizmada rol alır. Ancak, TBH'dan sonra özellikle kalsiyumdan bağımsız bir form olan iNOS'un sentezlediği NO zararlı etkilere sahiptir. NO, KBB'nin geçirgenliğini arttırarak ikincil beyin hasarına ve vazojenik ödeme katkıda bulunur. Vazodilatasyon ve kan akımının artmasına yol açmasının yanında, eNOS'un VEGF'in uyardığı vasküler geçirgenlikte önemli rol aldığı ileri sürülmüştür (96).

Terpolilli ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada TBH'dan sonra, yeni bir NOS inhibitörü olan 4-amino-tetrahydro-L-biopterine verilmesinin iNOS oluşumunu engellediği beyin ödemi oluşumunda ve uzun dönem nörolojik disfonksiyonda belirgin azalma sağladığı gözlenmiştir (97).

TBH'da, NO'nun süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek oldukça reaktif nitratlayıcı türler olan (Peroksinitrit) ONOO⁻'leri oluşturduğu ve ONOO⁻'lerin de ölümcül hücresel süreçler olan aminoasitlerin aromatik halkalarının nitratlanmasına, lipid peroksidasyonuna ve DNA kırılmalarına neden olduğu bilinmektedir (98-100). Çalışmamızda TBH'da, belirli tedavi gruplarında tedavinin NO düzeylerini düşürmesi serebroventriküler yolla verilen hiperonkotik/hiperosmotik ajanların beyin dokusunu oksidatif stresten

koruduğunu düşündürmektedir. Özellikle %3 NaCl ile yapılan serebroventriküler tedavide bu sonucun alınması ümit vericidir.

Çeşitli immün ve immün olmayan hücrelerden sistemik ve intratekal üretilen sitokinler, periferden hematojen hücrelerin takviyesi, serebrovasküler geçirgenliğin artması ve MSS'deki kalıcı hücrelerin aktivasyonunun devam etmesi ile nöroinflamasyona aracılık ederler (101). Bu mediatörler yalnızca nöroinflamatuvar yanıtın yayılmasından sorumlu değil aynı zamanda onun varlığının bir göstergesidir. Sitokinler hasarla eş anlamlı değildir. Nöroprotektif ve nörotrofik etkileri gösterilmiş olmakla beraber sinir gelişimi ve normal MSS fonksiyonlarının sürdürülmesi için gerekli oldukları da iyi bilinmektedir (102).

TBH, son yıllarda MSS'nin nöroinflamatuvar bir hastalığı olarak değerlendirilmektedir. Beyinde erken inflamasyonun göstergeleri aktive mikrogliaların, nötrofillerin ve ödemin bulunmasıdır (103).

TBH'da salınımı artan, çeşitli immün ve immün olmayan hücrelerden sistemik ve intratekal üretilen ve nöroinflamasyona aracılık eden sitokinler nöroinflamatuvar yanıtın varlığının bir göstergesidir (101).

Deneyssel diffüz beyin hasar modellerinde, beyin dokusunda ekspresyon olmadan 24 saat içinde proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α 'nın hasar alanını infiltre ettiği ve serumda düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (104).

Travmaya maruz kalan hastalarda doku zedelenmesi, iskemi ve hemorajiye karşı akut fizyolojik bir yanıt olarak, genellikle ilk saatlerden itibaren inflamatuvar olaylar ortaya çıkar. Sitokinler ve diğer endojen mediatorlerin sentezini ve karmaşık bir etkileşimini içeren olaylar zinciri doğal iyileşme sürecini sağlamaya yöneliktir. İnflamatuvar yanıtın aşırı olması organizma aleyhine olup, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve multipl organ disfonksiyonu sendromu ile sonuçlanabilir. Travmaya sekonder ortaya çıkan inflamatuvar yanıtta primer rolü IL -1, IL-6 ve TNF- α oynar (105). Akut inflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki damarsal yanıttır. Yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arterioller vazodilatasyon oluşur. Bu da kapiller yatağa daha fazla kan gelerek konjesyona ve takiben damar geçirgenliğinde artışa sebep olur. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) lezyon bölgesini birkaç saat içinde infiltre etmesiyle başlar ve travmanın ilk gününde en yüksek seviyeye ulaşır. Sitokinler hücresel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Sitokinler immün ve inflamatuvar cevabın etkin mekanizmalarının çoğuna katılırlar. IL-1 β , IL-6 gibi sitokinler, proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar

değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtının ortaya çıkmasında rol alırlar. IL-6, akut faz cevabın asıl oluşturucusudur ve IL-1 ve TNF ile ortak olarak, ateşi oluşturan bir endojen pirojen sıfatıyla önemli rol oynar. Gram negatif bakteriyel infeksiyon ve inflamatuvar reaksiyonlardan sonra dolaşımdaki seviyeleri artmış bulunmuştur (106). İnterlökin 1 (IL-1)'in zararlı etkileri, fokal hasarda mikroglialardan, diffüz hasarda nöronlar ve travmanın erken dönemlerinde açığa çıkan reaktif astrositlerden eksprese edilen IL-1 reseptörü (IL-1R) aracılığı ile belirlenir (107,108). IL-1'den kaynaklanan hasar, yalnız sitokinin kendisine bağlı olmayıp daha çok TNF- α , siklooksijenaz-2, fosfolipaz A2 ve prostoglandinleri içeren diğer proinflamatuvar sitokinleri aktive etmesi, onlarla sinerjistik etki göstermesi ve glutamat aracılı eksitotoksisiteyi artırmasına bağlıdır.

TBH'da IL-1 başlıca proinflamatuvar ve nörotoksik molekül olsa da astrositlerdeki nöron büyüme faktörünü uyarması ile nöroprotektif özelliğe de sahiptir (109). IL-1 ile devam eden nöroinflamasyonun kötü prognoz ile ilişkili olduğu deneysel olarak gösterilmiştir. TBH olan hastalardan serebrospinal sıvılarında yüksek IL-1 düzeylerine sahip olanlarda GKS daha düşük bulunmuştur (110). TNF- α 'nın, IL-1 gibi, TBH çalışmalarında sadece proinflamatuvar bir sitokin olduğu düşünülürken, son yıllarda olası nöroprotektif özellikleri ortaya çıkmaya başlamıştır. TNF- α 'nın mikrogliaların üretimini ve hipertrofiye olmalarını arttırdığı, bu hücrel kaynaklardan parakrin etki ile kendi üretimini fazlalaştırdığı bilinmektedir. Ayrıca özellikle diffüz hasarda periferik dolaşımdan lökosit toplanmasını, KBB'nin bozulmasına yol açan proteolitik enzimlerin salınımını ve astrositik yeniden yapılanmanın ve nöronal rejenerasyonun inhibisyonunu destekler (111).

Fokal hasar modelleri, TNF- α 'nın proinflamatuvar sitokin mediatörü olarak etkilerinin yayılan özelliğini göstermektedir. Örneğin TNF- α ekspresyonu fokal hasarlı farede kontralateral korteks ve hipokampusta artmış olarak bulunmuştur; kontrollü kortikal çarpma modellerinde ise beyin ödemi en üst düzeye çıkmadan önce en yüksek seviyede saptanmıştır. Buna karşılık diffüz hasar modellerinde yapılan çalışmalar beyin dokusunda ekspresyon olmadan 24 saat içinde serum TNF- α düzeylerinin arttığını göstermiştir. Bu da diffüz hasarın çok farklı immün yanıtlara neden olduğu tartışmasına yol açmaktadır (104).

Sitokinler, hematopoietik sistemin de içinde bulunduğu, hedef hücrelerin etkinliklerini değiştiren veya düzenleyen protein ve/veya glikoprotein yapıları immünomodülatörlerdir. Hedef hücrelerdeki kendilerine ait spesifik ligandlara bağlanarak etki ederler. Bağlanma ile başlayan sinyal transdüksiyonu ve ikinci haberci iletimi, gen aktivasyonu, mitotik bölünme, büyüme ve farklılaşma, migrasyon veya apoptozise neden olur. Çalışmalar polimorfik yapıların, hematolojik habasetlerin sonuçlarını ve mortalite oranlarını etkilediğini

göstermiştir. İn vitro çalışmalar, mitojenle uyarılmış immun sistem hücrelerinin sitokin üretimlerinde bireysel farklılıklar olduğunu göstermiştir (113).

Beyindeki birçok hücre (mikroglia, astrosit, endotel hücresi, nöronlar) sitokin salgılayabilir. Kan-beyin engelini geçen sitokin oluşturma ve salgılama yetenekleri olan periferik kökenli mononükleer fagositler, T-lenfositler, doğal öldürücü hücreler (NK) ve polimorfonükleer hücreler beyin inflamasyon ve gliozisine katkıda bulunabilir. Enfeksiyon ve hipoksinin oluşturduğu sitokin yanıtı, beyindeki zedelenmede belirleyici olmaktadır. Sitokinler, NO, serbest oksijen radikalleri, benzer özellikteki diğer ajanlar nöronal ve glial gelişmeyi etkileyebilir. IL-6 ve TNF- α 'nın kuvvetli prokoagulan, trombojenik ve vazokonstriktör etkileri nedeniyle erişkinlerde enfarktüs ve inme (stroke) nedeni oldukları bilinmektedir. Sitokin kaynaklı hipotansiyon da beyin harabiyetinde etkili olabilir. İnterlökin-1 düşük konsantrasyonlarda nöroprotektif etkilidir. Aşırı üretildiği durumda nörodejenerasyon etkisinde kalan ratların kortekslerinde, kontrol grubuna göre sitokin düzeylerinin anlamlı derecede arttığı görülmüştür. Kortekste bakılan sitokin düzeyleri ile ilişkili olarak ratların kanlarında da sitokin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (114-116).

Arand ve ark. (117) 72 multipl travmalı ve 22 izole kafa travmalı hastada serum TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 düzeylerini travma sonrası ardışık olarak değişik sürelerde incelemişler ve TNF- α , IL-1, IL-8 düzeylerini travmanın hiçbir döneminde yüksek olarak saptamamışlardır.

TBH sonrası başlayan ve devam eden kanama, ödem, nöroeksitotoksinlerin birikimi ve biyokimyasal değişiklikler inflamasyonun MSS üzerindeki esas etkilerini belirlemede zorluklar yaratmaktadır. Diffüz hasarın çok farklı immün yanıtlara neden olduğu tartışmasına yol açmaktadır (104).

Bizim çalışmamızda da TNF- α 'nın tüm tedavi gruplarında artma eğilimi gösterdiği, IL-1 β 'nin ise tüm tedavi gruplarında düşük kaldığı görülmüştür. Bu da inflamatuvar sitokinlerin doku hasarı esnasında akut ve kronik inflamatuvar süreçlerde rol aldığını ve farklı immün yanıtlara neden olduğu tartışmasını doğrulamaktadır.

8. SONUÇ

TBH 'nın tedavisinde fizyolojik yönden uyumlu bir maddenin kullanılması organizma içi dengelerin korunması açısından oldukça önem taşımaktadır. Bu nedenle çalışmamızda organizmada değişik endikasyonlarda kullanıma uygun olan fizyolojik uyumlu maddeler kullanılmıştır. İntrasisternal, intratekal ya da intraserebroventriküler yolla yapılan tedavi çabalarının en önemli avantajı, uygulanan ajanın diğer tedavi seçeneklerinde olduğu gibi kan beyin bariyerini aşamama olasılığının ortadan kaldırılmasıdır.

Çalışmamızda onkoterapötik/osmoterapötik özellikleri olan ajanlar seçilmiş olup TBH da serebroventriküler olarak uygulanmış ve nöral NO, MDA, GSH, IL-1 β ve TNF- α düzeylerindeki sonuçları değerlendirilmiştir. Çalışmada ölçülen tedavi gruplarında nöral NO düzeylerinde istatistiksel bir anlamı olmamakla birlikte düşüş görülmesi, GSH düzeylerinde de istatistiksel olarak anlamlı fark saptanması ($P<0.001$) bu tedavilerin beyin dokusu üzerinde olumlu koruyucu etkileri olduğu lehine yorumlanabilir. Tedavi gruplarında MDA düzeylerinde istatistiksel anlamlılıkta düşüş gösterilmese de gruplar arası farklılıklarda düşüş eğilimi dikkati çekmiştir. Bu erken dönem sonuçların, deneklerin daha geç dönemde sakrifiye edilmesi durumunda daha belirgin hale gelmesi olasıdır.

Çalışmamızda, TBH'ında proinflamatuvar nitelikteki iki sitokin TNF- α ve IL-1 β düzeyleri beyin dokusunda araştırılmış olup tedavi etkinliğinin göstergesi olarak IL-1 β 'nın tüm gruplarda hem istatistiksel ($P=0.001$) hem de biyokimyasal ölçüm olarak anlamlı düşüş saptanmıştır. IL-1 β düzeyindeki ciddi düşüşlerden hareketle tedavi gruplarında kullanılan hiperonkotik/hiperosmotik ajanların inflamasyon sürecini engelleme yönünde katkısı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda kullandığımız bazı hiperonkotik/hiperosmotik ajanların antioksidan etkilerinin ve beyin dokusu üzerinde koruyucu etkilerinin gösterilmiş olması ile günümüzdeki tedavi yöntemlerine ek destekler ya da seçenekler sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu sonuçlar daha geniş gruplar ve uygun doz-zaman aralıkları ile yapılacak tedavi arayışlarına ışık tutacaktır.

9. ÖZET

RATLARDA STEREOTAKTİK SEREBROVENTRİKÜLER YÖNTEMLE UYGULANAN ALBUMİN, MANNİTOL, HİPERTONİK SODYUM KLORÜR, GLİSERİN VE DEKSTRANIN DENEYSEL BEYİN ÖDEMİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Deneysel kafa travması oluşturulan ratlarda gelişen beyin ödemi ve hasara karşı serebroventriküler olarak uygulanan albumin, mannitol, hipertonic NaCl, gliserin ve dekstran gibi hiperonkotik/hiperosmotik ajanların ödemli dokudaki etkilerinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Materyal ve Metod: Çalışmada ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 54 adet Spraque-Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Her biri 9 adet sıçan içeren 6 deney grubu oluşturuldu. Bütün sıçanlara kafa travması oluşturuldu ve tedavi gruplarına ilaçlar travmadan sonra 2 mikrolitre dozunda 6'ncı, 12'inci ve 24'üncü saatlerde stereotaktik olarak serebroventriküler yolla verildi. Travmadan 48 saat sonra sıçanlar sakrifiye edilerek beyin dokuları hasarsız olarak çıkarıldı. Travma uygulanan sol hemisferden GSH, NO, MDA, TNF- α ve IL-1 β analizleri yapıldı.

Bulgular: Kontrol grubuna göre, albumin, mannitol, %3 NaCl ve gliserin tedavi gruplarında GSH düzeyinin ileri derecede arttığı, beyin ödeminin ve lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA'nın değişik oranlarda azaldığı görüldü. Ayrıca %3 NaCl tedavi grubunda NO düzeyinin de düştüğü saptandı. Travmanın proinflatuar nitelikteki iki sitokini olan TNF- α ve IL-1 β analizinde; IL-1 β 'nin tüm tedavi gruplarında anlamlı oranda düştüğü, TNF- α düzeylerinde ise anlamlı fark bulunmadığı belirlendi.

Sonuç: Bu çalışmada, kafa travması oluşturulan sıçanlarda gelişen beyin ödeminin ve oksidatif stresin neden olduğu sekonder beyin hasarının tedavisinde hiperonkotik/hiperosmotik ajanların günümüzdeki tedavi yöntemlerine seçenekler sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kafa travması, Albumin, Mannitol, NaCl, Gliserin, Dekstran.

10. SUMMARY

THE COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECTS OF CEREBROVENTRICULAR ADMINISTRATION OF ALBUMIN, MANNITOL, HYPERTONIC SODIUM CHLORIDE GLYCERINE AND DEXTRANE ON EXPERIMENTAL BRAIN EDEMA

Scope: The aim of this study is the comparative evaluation of some hyperoncotic agents which are administered by stereotactic cerebroventricular means after experimental brain edema.

Material and Method: A total of six groups of rat – five experimental and one control – in similar conditions were used in the study. Standard brain trauma was obtained by means of weight drop method. In therapy groups, 2 microliters of therapeutic agent was administered 6, 12, and 24 hours after neurotrauma by cerebroventricular stereotactic route. The rats were sacrificed after 48 hours and brain tissue was extracted without extra damage. GSH, NO, MDA, TNF-alpha, and IL-1-beta analyses were performed on traumatic left hemispheres.

Results: GSH levels on all therapy groups excluding the dextrane group showed a statistically significant increase compared to the control group. MDA and NO levels had different ratios of decrease which showed a trend but no statistical significance. IL-1-beta had a significant decrease on therapy groups, but TNF-alpha analysis revealed no difference among control and treatment.

Conclusion: The results of the study showed that brain edema and secondary brain injury due to oxidative stress may be decreased by the use of some hyperoncotic/hyperosmotic agents in experimental basis. Further studies with these agents may be promising.

Key Words: Head trauma, Albumin, Mannitol, NaCl, Glycerine, Dextrane.

11. KAYNAKLAR

- 1) Unterberg AW, Stover J, Kress B, Kiening KL. 2004. Edema and brain trauma. *Neuroscience* 129:1021-1029.
- 2) Jess FK, David LM, Terry AS, Madhangi J. 1996. Epidemiology of brain injury, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). *Neurotrauma* McGraw Hill Companies. pp 13- 30.
- 3) Bullock R, Chesnut RM, Giffon G et al. 1996. Guidelines for the management of severe head injury. *J Neurotrauma* 13:639-734.
- 4) Berger S, Schürer L, Hartl R, Messmer K, Baethmann A. 1995. Reduction of post-traumatic intracranial hypertension by hypertonic/hyperoncotic saline/dextran and hypertonic mannitol. *Neurosurgery* 37: 98-108.
- 5) Hariri RJ. 1994. Cerebral edema. *Neurosurg Clin of North America* 5(4): 687-706.
- 6) Kaufmann AM, Cardoso ER. 1992. Aggravation of vasogenic cerebral edema by multiple-dose mannitol. *J Neurosurg* 77:584-589.
- 7) Miller JD, Leech P.1975. Effects of mannitol and steroid therapy on intracranial volume-pressure relationships in patients. *J Neurosurg* 42:274-281.
- 8) Duhaime AC. 1996. Conventional Drug Therapies For Head Injury. In Narayan RK, Wilberger Jr JE, Povlishock JT(eds): *Neurotrauma*. McGraw Hill, New York pp:365-374.
- 9) Greenberg MS. 1994. *Handbook of Neurosurgery*, 3.Baskı Greenberg Graphics Inc, pp;553-556.
- 10) Barie PS, Ghajar JB, Firlik AD, Chang VA, Hariri RJ. 1993. Contribution of increased cerebral blood volume to posttraumatic intracranial hypertension. *J Trauma* 35:88-96
- 11) Hartwell RC, Sutton LN. 1993. Mannitol, intracranial pressure and vasogenic edema. *Neurosurgery* 32:444-450.
- 12) Klatzo I. (1973). Pathophysiology of brain edema. *Pathological Aspects*. Schürmann K, Brock M, Reulen HJ, Voth D (Eds): *Advances in neurosurgery* 1, Brain Edema, Pathophysiology and Therapy, Springer Verlag, Berlin,pp 1-4.
- 13) Önal Ç. 1996. Deneysel beyin ödeminde ventrikül içi albumin uygulamasının etkisi. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- 14) Long DM. 1982. Traumatic brain edema. *Clin Neurosurg* 29: 174-202.
- 15) Betz AL, Coester HC 1990 Effect of steroid therapy on ischaemic brain oedema and blood to brain sodium transport, *Acta Neurochir Suppl* 51:256-258.

- 16) Matsui T, Sinyama H, Asano T. 1993. Beneficial effect of prolonged administration of albumin on ischemic cerebral edema and infarction after occlusion of middle cerebral artery in rats. *Neurosurgery* 33:293-300.
- 17) Pappius HM. 1989. Cerebral edema and the blood-brain barrier. Neuwelt EA(ed): *Implications of the blood-brain barrier and its manipulation*. Vol 1, Basic science aspects. New York, Plenum Medical Book Co, pp:293-309.
- 18) Cole DJ, Schell RM, Drummond JC, Reynolds L. 1993. Focal cerebral ischemia in rats. Effect of hypervolemic hemodilution with diaspirin cross-linked hemoglobin versus albumin on brain injury and edema. *Anesthesiology* 78(2):335-342.
- 19) Rennels ML, Gregory TF, Blaumanis OR, Fujimoto K, Grady PA: Evidence for a paravascular fluid circulation in the mammalian central nervous system provided by the rapid distribution of tracer protein throughout the brain from the subarachnoid space. *Brain Research* 1985,326:47-63.
- 20) Kimelberg HK. 1995. Current concepts of brain edema. Review of laboratory investigations. *J.Neurosurg* 83:1051-1059.
- 21) Pollay M. 1985. Blood-Brain Barrier; Cerebral Eedema. Wilkins RH, Rengachary SS(Eds): *Neurosurgery*, McGraw Hill, New York, Vol , 1 pp: 322-331.
- 22) Rosner MJ. 1994. Pathophysiology and management of increased intracranial pressure. In: Andrews BT(Ed): *Neurosurgical intensive care*. International edition. McGraw-Hill, Inc. pp.57-112.
- 23) Sullivan HG, Allison JD. 1985. Physiology of Cerebrospinal Fluid. Wilkins RH, Rengachary SS(Eds): *Neurosurgery*, McGraw Hill, New York, vol: 3, pp: 2125-2135.
- 24) Popp AJ, Feustel PJ, Kimelberg HK. 1996. sPathophysiology of traumatic brain injury. In. Wilkins RH, Rengachary SS (eds). *Neurosurg*. 2 nd ed. New York: McGraw-Hill, pp:2623-2637.
- 25) Oruçkaptan H, Benli K. 2004. Serebral kan akımı, iskemi ve fizyopatolojisi, serebral korunma: Temel Nörosirurji, Benli K (ed), Birinci basım. Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi Ankara, 3:25-48.
- 26) Özkan N. 2005. Beyin Ödemi, Aksoy K (ed) Temel Nörosirurji, 1. baskı Buluş Tasarım ve Matbaacılık Hizmetleri, Ankara, 2.cilt, s:924-929.
- 27) Alp H. 1997. Beyin ödemi. Temel Nöroşirürji Ankara p: 1-15.
- 28) Tominaga T, Ohnishi ST. 1995. Ion movements and edema formation in CNS injury. *Central Nervous System Trauma and Techniques*. Ohnishi ST, Ohnishi T(Eds), CRC Press-Boca Raton New York, pp. 85-94.

- 29) Cserr HF, Tang DT. 1975. Evidence for bulk flow of cerebral interstitial fluid and its possible contribution to cerebrospinal fluid production. Lundberg N, Ponten U, Brock M(Eds): Intracranial pressure II, Springer Verlag, Berlin, pp 24-27.
- 30) Baban N. 1980. Plazma proteinleri, protein biyokimyası. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul , pp, 80-85.
- 31) Del Bigio MR. 1989. Hydrocephalus-induced changes in the composition of cerebrospinal fluid. Review article. Neurosurgery 25:416-423.
- 32) Fujiwara K, Nitch C, Suzuki R, Klatzo I. 1981. Factors in the reproducibility of the gravimetric method for evaluation of edematous changes in the brain. Neurol Res 3:345-361.
- 33) Demopoulos HB, Flamm ES, Seligman ML, Ransohoff J. 1972. Possible molecular mechanisms of barbiturate-mediated protection in regional cerebral ischemia. Acta Neurol Scand Suppl. 64:150-1.
- 34) Aarabi B, Long DM. 1979. Dynamics of cerebral edema . J Neurosurg. 51:779-784.
- 35) Marmarou A, Tanaka K, Shulman K. 1982. An improved gravimetric measure of cerebral edema. J Neurosurg 56: 246-253.
- 36) Menzies FB, Anderson RE, Sundt TM, Yaksh TL. 1987. Treatment of experimental focal cerebral ischemia with mannitol. J Neurosurg 66:109-115.
- 37) Akkuş İ. 1995. Serbest Radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya, Mimoza Yayınları.
- 38) Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. 1992. Free radicals, antioxidants, and human diseases: where are we now? J Lab Clin Med 119:598-620.
- 39) Ikeda Y, Long DM. 1990. The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals. Neurosurgery 27(1):1-11.
- 40) Youmans Neurological Surgery (monograph on CD-ROM). 1992-1994. Folio Bound views, Copyright Folio Corp. Version 3. 1a.
- 41) Vina J, Estrela JM, Guerri C and Romero FJ. 1980. Effect of ethanol on glutathione concentration in isolated hepatocytes, Biochem J. 188:549-552.
- 42) Callans J, Wacker LS, Mitchell MC. 1987. Effects of ethanol feeding and withdrawal on plasma glutathione elimination in the rat. Hepatology, 7:496-501.
- 43)-Ignazio G, Giangliuigi V, Carlos S, Paolo B and Emenuale A. 1996. Oxidation of circulating proteins in alcoholics: Role of acetaldehyde and Xanthine oxidase. J. Hepatol, 25:28-36.
- 44) Erten SF. 1999. Deneysel medulla spinalis iskemisinde melatoninin antioksidan enzimler üzerine etkisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı, Malatya.

- 45) Dawson VL. 1995. Nitric oxide: Role Neurotoxicity. Clin Exp Pharmacol Physiol 22(4):305-8. (Australia).
- 46) Palmer RMJ, Aston DS, Moncada S. 1988. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature. 333:664-666.
- 47) Nishida J, Baker GL, McCuskey RS. 2000. Protective role of nitric oxide in the TNF- α mediated hepatic microvasculer inflammatory response following acute ethanol ingestion. Hepatol Res, 16:98-111.
- 48) Çiğremiş Y. 2003. Kronik alkol ve sigara kullanıma maruz bırakılan erkek ratların böbrek dokularının histolojik ve malondialdehid (MDA), Nitrik oksit (NO), Ksantin oksidaz (XO), Ksantin dehidrogenaz (XDH), Miyeloperoksidaz (MPO), Glutatyon (GSH) yönünden incelenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Malatya.
- 49) Beckmann JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. 1990. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. Proc. Natl.Acad.Sci. 87:1620-1624.
- 50) Uzun O, Unal S. 2002. Güncel Bilgiler Işığında Enfeksiyon Hastalıkları. Bilimsel Tıp, Ankara . 821-834.
- 51) Kuby. 1992. J. Immunology, W.H. Freeman and Company, 245.
- 52) Clemens, M.J. 1992. Cytokines, Oxford. Bios Scientific Publishers Ltd., 57 -75.
- 53) Bidwell J, Keen L, Gallagher G. et al. 1999. Cytokine gene polymorphism in human disease. Genes and Immunity 1: 3-19.
- 54) Beutler B, Cerami A. 1988. The Biology of cachectin/ TNF- α primary mediator of the host response. Annu Rev Immunol 7: 625 -655, 51.
- 55) Abraham RT. 1992. Lymphokines and cytokines. Mayo Medical School. Immunology Course Notes.
- 56) Balkwill FR, Burke F. 1989. The cytokines network. Immunology Today vol 10, no 9, 299-304.
- 57) Woodrofe MN, Cuzner ML. 1993. Cytokine mRNA expression in inflammatory MS lesions, detection by non-radioactive in situ hybridization. Cytokine. Nov, 5(6), 583-588.
- 58) Licinio L, Kling M, Hauser P.1998. Cytokines and brain function: Relevance of interferon- α induced mood and cognitive changes. Semin Oncol ; 25:30 -38.
- 59) Bethea JR, Chung IY, Sparacio SM, Gillespie GY, Beneveniste EN. 1992. Interleukin -1s induction of tumor necrosis factor-alpha gene expression in human astroglioma cells. J Neuroimmunol. 36:179 -191.

- 60) Bullock R, Chesnut RM, Giffon G et al. 1996. Guidelines for the management of severe head injury. *J Neurotrauma* 13:639-734.
- 61) Kelly DF, Doberstein C, Becker DP. 1996. General principles of head injury management: In Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). *Neurotrauma*. McGraw Hill Companies, pp 71-101.
- 62) Raslan A, Bhardwaj A. 2007. Medical management of cerebral edema. *Neurosurg Focus* 22(5):1-12.
- 63) Bhatia A, Gupta AK. 2007. Neuromonitoring in the intensive care unit. I. Intracranial pressure and cerebral blood flow monitoring. *Intensive Care Medicine* 33(7):1263-1271.
- 64) Sapolsky RM, Pulsinelli WA. 1985. Glucocorticoids potentiate ischemic injury to neuros: Therapeutic implications. *Science* 229:1397-1400.
- 65) Rengachary S, Duke D. 1994. Increased intracranial pressure, cerebral edema and brain herniation. In Wilkins RH, Rengachary SS(EDS): *Principles of Neurosurgery* New York . pp 465-482.
- 66) Gates EM, Craing WM. 1948. The use of serum albumin in cases of cerebral edema: Preliminary report. *Proc Staff Meet Mayo Clin.* 23:89-93.
- 67) Javid M, Settlage P. 1956. Effect of urea on cerebrospinal fluid pressure in human subjects: Preliminary report. *JAMA* 160:943-949.
- 68) Garretson HD, McGraw CP, O'Connor C et al. 1983. Effectiveness of Fluid Restriction, Mannitol and Furosemide in Reducing ICP. In *Intracranial Pressure* V, Ishii S, Nagai H and Brock M(eds), Springer-Verlag Berlin. pp:742-745.
- 69) Wise BL, Chater N. 1962. The value of hipertonic mannitol solution in decreasing brain mass and lowerig cerebrospinal-fluid pressure. *J. Neurosurg* . 19:1038-1043.
- 70) Kayaalp SO. 1998. *Tıbbi Farmakoloji* 2. Cilt 4. Bölüm Ankara. s 1421.
- 71) Greenberg MS, Head trauma. 2001. In *Handbook of Neurosurgery* Greenberg MS(ed) 5th ed, Greenberg Graphics, p:650-685. Lakeland.
- 72) Chiolerio RL, de Tribolet N. 1992. Sedatives and antagonists in the managment of severely head injured patient. *Acta Neurochir (wien)* 55:43-46.
- 73) McGill WA. 1992. Anesthesia, in Eichelberger MR(ed): *Pediatric Trauma: Prevention, Acute Care, Rehabilitation*. St Louis: Mosby-Year Book.217-225.
- 74) Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT. 1981. Responses to cortical injury. Methodology and local effects of contusions in the rat. *Brain Res.* 211:67-77.
- 75) Pellegrino LJ, Pellegrino AS, Cushman AJ. (1979). *A stereotactic atlas of the rat brain*. Plenum pres, New York.

- 76) Ohata K, Marmarou A. 1992. Clearance of brain edema and macromolecules through the cortical extracellular space. *J Neurosurg* 77:387-396.
- 77) Elman GL. 1979. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 95: 351–358.)
- 78) Jungersten L, Edlund A, Petersson AS, Wennmalm A. 1996. Plasma nitrate as an index of nitric oxide formation in man: Analyses of kinetics and confounding factors. *Clin Physiol*. 16: 369–79.
- 79) Zeballos GA, Bernstein RD, Thompson CI, et al. 1995. Pharmacodynamics of plasma nitrate/nitrite as an indication of nitric oxide formation in conscious dogs. *Circulation*. 91: 2982–8.
- 80) Ozbek E, Turkoz Y, Gokdeniz R, Davarci M, Ozugurlu F. 2000. Increased nitric oxide production in the spermatic vein of patients with varicocele. *Eur Urol*. 37(2):172-5.
- 81) Ünal F, Kırış T, Erkan K, Karalar T. 1998. The effect of intraventricular albumin osmotherapy on vasogenic edema and ICP. *Med Bull İstanbul*. 31(2).
- 82) Olanow CW. 1993. A Radical Hypothesis for Neurodegeneration. *Trends Neurosci*. 16:439–444.
- 83) Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. 2001. Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: The need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology*. 40: 959-975.
- 84) Tekiner A. 2001. İntrasisternal uygulanan hiperosmolar albuminin tavşanlarda oluşturulan beyin ödemeine etkisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Malatya.
- 85) Stratford N. 1997. Antioxidant potential of iv fluids. *British Journal of Anesthesia*. 78: 757-759.
- 86) Miller JD, Butterwirth JF, Gudeman SK, et al. 1981. Further experience in the management of severe head injury. *J Neurosurg* . 54:289-99.
- 87) Özben T. 1988. Pathophysiology of Cerebral Ischemia. Mechanisms Involved in Neuronal Damage. In *Free Radicals, Oxidative Stress, And Antioxidants* (Eds. Özben T). Plenum Press, New York . 163-87.
- 88) Bauma GJ, Muizelaar JP, Stringer WA, et al. 1992. Ultra early evaluation of regional blood flow in severely head injured patients using xenon-enhanced computerized tomography. *J Neurosurg*. 77:360-68.
- 89) Gilgun –Sherki Y, Rosenbaum Z, Melamed E, Offen D. 2002. Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: Current state. *Pharmacol Rev*. 54:271-284.

- 90) Park E, Bell JD, Siddiq IP, Baker AJ. 1998. An analysis of regional microvascular loss and recovery following two grades of fluid percussion trauma: A role for hypoxia-inducible factors in traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab.* 29:575–584.
- 91) Zhang ZG, Zhang L, Wang H, Sun FY. 1999. Intraventricular vascular endothelial growth factor antibody increases infarct volume following transient cerebral ischemia. *Zhonggou Yao Li Xue Bao.* 20: 313-318.
- 92) Forsythe JA, Jiang B-H, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD, et al. 1996. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol.*16:4591–4617.
- 93) Kaur C, Ling LC. 2008. Blood Brain Barrier in Hypoxic-Ischemic Conditions *Current Neurovascular Research* . 5:71–81.
- 94) Kaur C, Sivakumar V, Zhang Y, Ling EA. 2006. Hypoxia-induced astrocytic reaction and increased vascular permeability in the rat cerebellum. *Glia.* 54:826–839.
- 95) Sköld MK, von Gertten C, Sandberg-nordqvist AC, Mathiesen T, Holmin S. 2009. VEGF and VEGF receptor expression after experimental brain contusion in rat. *J Neurotrauma.* 22:353–367.
- 96) Fukumura D, Gohongi T, Kadambi A, Izumi Y, Ang J, Yun CO, et al. 2009. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98:2604- 2609.
- 97) Terpolilli NA, Zweckberger K, Trabold R, Schilling L, Schinzel R, Tegtmeier F. 2009. The novel nitric oxide synthase inhibitor 4-amino-tetrahydro-L-biopterine prevents brain edema formation and intracranial hypertension following traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma.* Jun 10. [Epub ahead of print]
- 98) Halliwell B, Zhao K, Whiteman M. 1999. Nitric oxide and peroxynitrite. The ugly, the uglier and the not so good: A personal view of recent controversies. *Free Radic Res.* 31:651 669.
- 99) Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. 1991. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys.* 288:481–487.
- 100) Dawson VL, Dawson TM. 2004. Deadly conversations: Nuclear-mitochondrial cross-talk. *J Bioenerg Biomembr.* 36:287–294.
- 101) Lucas S, Rothwell NJ, Gibson RM. 2006. The role of inflammation in CNS injury and disease. *Br J Pharmacol.*147:232–240.

- 102) Benveniste EN. 1998. Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine Growth Factor*. 9:259–275.
- 103) Kreutzberg G. 1996. Microglia: A sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci* 19:312–318.
- 104) Kamm K, Vanderkolk W, Lawrence C, Jonker M, Davis AT. 2006. The effect of traumatic brain injury upon the concentration and expression of interleukin-1 beta and interleukin-10 in the rat. *J Trauma* .60:152–157.
- 105) Mayhan WG. 1999. VEGF increases permeability of the blood-brain barrier via a nitric oxide synthase/cGMP-dependent pathway. *Am J Physiol*. 276:1148–1153.
- 106) Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. 2000. 117:1162 -1172
- 107) Csuka E, Hans VH, Ammann E, Trentz O, Kossmann T, Morganti-Kossmann MC. 2000. Cell activation and inflammatory response following traumatic axonal injury in the rat. *Neuroreport* . 11:2587–2590.
- 108) Lu KT, Wang YW, Yang JT, Yang YL, Chen HI. 2005. Effect of interleukin-1 on traumatic brain injury-induced damage to hippocampal neurons. *J Neurotrauma*. 22:885–895.
- 109) Rothwell N. 2003. Interleukin-1 and neuronal injury: mechanisms, modification, and therapeutic potential. *Brain Behav Immun*. 17:152–157.
- 110) Shiozaki T, Hayakata T, Tasaki O, Hosotubo H, Fujita K, Mouri T, et al. 2005. Cerebrospinal fluid concentrations of anti-inflammatory mediators in early phase severe traumatic brain injury. *Shock*. 23:406–410.
- 111) Shohami E, Ginis I, Hallenbeck JM. 1999. Dual role of tumor necrosis factor alpha in brain injury. *Cytokine Growth Factor Rev*. 10:119–130.
- 112) Kita T, Liu L, Tanaka N, Kinoshita Y. 1997 The expression of tumor necrosis factor-alpha in the rat brain after fluid percussive injury. *Int J Legal Med.*;110:305–311.
- 113) Bidwell J, Keen L, Gallagher G. et al. 1999. Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes and Immunity* 1: 3-19.
- 114) Zhu T, Yao Z, Yuan HN, Lu BG et al. 2004. Changes of interleukin-1 beta, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in brain and plasma after brain injury in rats. *Chin J Traumatol*. Feb;7(1):32-5.
- 115) Eklind S, Mallard C, Leverin AL, et al. 2001. Bacterial endotoxin sensitizes the immature brain to hypoxic-ischemic injury. *Eur J Neurosci*. 13: 1101-1106.
- 116) Rothwell NJ, Strijbos PJ. 1995. Cytokines in neuro degeneration and repair. *Int J Devl Neuroscience*. 3:179-185.s

117) Arand M, Melzner H, Kinzl L et al. 2001. Early inflammatory mediator response following isolated traumatic brain injury and other major trauma in humans. *Langenbak's Arch Surg.* 386:241-248.