



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAPSAİSİN'İN FARELERDE TRAVMATİK BEYİN HASARI
SONRASI NÖROPROTEKTİF ETKİLERİ**

BERİL GÜL HELVACI

SİNİRBİLİM ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üye. TAHA KELEŞTEMUR

İSTANBUL-2022

TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi
Programın Seviyesi: Yüksek Lisans (X) Doktora ()
Anabilim Dalı : Sinirbilim
Tez Sahibi : Beril Gül HELVACI
Tez Başlığı : Kapsaisin'in Farelerde Travmatik Beyin Hasarı Sonrası
Nöroprotektif Etkileri
Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversitesi Kuzey Yerleşkesi
Sınav Tarihi : 27.07.2022

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

<u>Danışman</u>	<u>Kurumu</u>	<u>İmza</u>
Dr.Öğr.Üyesi Taha KELEŞTEMUR	İstanbul Medipol Üniversitesi	
<u>Sınav Jüri Üyeleri</u>		
Prof.Dr. Ertuğrul KILIÇ	İstanbul Medipol Üniversitesi	
Dr.Öğr.Üyesi Duygu SARI AK	Sağlık Bilimleri Üniversitesi	

Yukarıdaki jüri kararıyla kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../ tarih ve/..... - sayılı kararı ile şekil yönünden Tez Yazım Kılavuzuna uygun olduğu onaylanmıştır.

Prof.Dr. Neslin EMEKLİ

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Beril Gül HELVACI

İTHAF

*“Bu tez
Sevgili anne ve babam, Mehtap-Müjdat Helvacı’ya ithaf edilmiştir.”*

TEŞEKKÜR

Bilgi ve desteğini esirgemeden her zaman yanımızda olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ertuğrul Kılıç'a teőekkürü bir borç bilirim. Böylesine güzel ve gelişmiş bir laboratuvar ortamında bulunma ve bilimsel anlamda kendimi geliőtirmeme olanak sağladığı için ayrıca bir teőekkürü borç bilirim. Sadece hoca olarak değil aynı zamanda babacan tavırlarıyla her zaman her konuda destek oluşu sebebiyle de bir kez daha teşekkür ederim.

Akademik bilgi ve deneyimini her koşulda paylaşan ve daha iyisini yapabilmek için her zaman beni teşvik eden saygıdeğer danışmanım Dr. Öğr. Üye. Taha Keleştemur'a teőekkürü bir borç bilirim.

Parçası olmaktan gurur duyduğum Kılıç Lab ekibine katkı ve yardımlarından ötürü çok teşekkür ederim.

Hayat boyu verdiğim her kararda yanımda olan ve destekleyen, başarımlarım konusunda asla şüpheye düşmeyen annem Mehtap Helvacı, babam Müjdat Helvacı ve kardeşim İdil Helvacı'ya sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	i
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI	ii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
1.ÖZET.....	1
2.ABSTRACT	2
3.GİRİŞ VE AMAÇ	3
4.GENEL BİLGİLER.....	6
4.1.TBI.....	6
4.2.TBI Etkileri.....	7
4.2.1.Birincil beyin asarı.....	7
4.2.1.1.Fokal hasar	7
4.2.1.1.1.Kafatası kırığı	7
4.2.1.1.2.Kortikal kontüzyon	7
4.2.1.1.3.İntraparankimal hemoraji	7
4.2.1.1.4.Subdural hematoma.....	7
4.2.1.1.5.Epidural hematoma	8
4.2.1.2.Diffüz hasar	8
4.2.1.2.1.Diffüz vasküler hasar.....	8
4.2.1.2.2.Diffüz aksonal hasar.....	8
4.2.2.İkincil beyin hasarı.....	8
4.2.2.1.Serebral ödem.....	8

4.2.2.1.1.Sitotoksik ödem	8
4.2.2.1.2.Vazojenik ödem	8
4.2.2.1.3.TBI-ödem ilişkisi	9
4.2.2.1.4.Beyin ödemi mediyatörleri	10
4.2.2.2. İnflamasyon	12
4.2.2.2.1.Nörojenik inflamasyon	13
4.3.TBI Biyomekaniği	14
4.4.Kapsaisin	15
4.4.1.Kapsaisin'in etki mekanizması	15
4.4.2.Kapsaisin'in insandaki klinik uygulamaları	16
4.4.3.Kapsain-ödem ilişkisi	16
5.MATERYAL-METOD	18
5.1.Deney Grupları ve Deney Dizaynı	18
5.2. TBI.....	20
5.3.İntraperitoneal Enjeksiyonlar	20
5.4.Deneyin Sonlandırılması	21
5.5.Beyin Kesitlerinin Alınması	21
5.6.Cresyl Violet(Nissl) Boyaması ve Ödem Analizi	21
5.7.Protein İzolasyonu	22
5.8.Protein Konsantrasyon Ölçümü.....	22
5.9.Protein Örneklerinin Yüklenmesi.....	23
5.10.Jelden Membrana Protein Transferi	23
5.11.Antikor ile İnkübasyon	24
5.12.Görüntüleme ve Değerlendirme	25
5.13.İstatiksel Analiz	25
6.BULGULAR	26

6.1. Kapsaisin ile Hasar Hacmi İlişkisi	26
6.2.Kapsaisin Beyin Ödemi İlişkisi	27
6.3.Protein Seviyeleri Analizi	28
6.3.1.GAP43	28
6.3.2.GFAP	28
6.3.3.ICAM	29
6.3.4.NCAM	30
6.3.5.IL1 β	30
6.3.6.IL6.....	31
6.3.7.BDNF.....	32
6.3.8.NF- κ B	32
6.3.9.Nrf2.....	33
7.TARTIŞMA	34
8.SONUÇ.....	40
9.KAYNAKLAR	41
10.ETİK KURUL ONAYI.....	52
11.ÖZGEÇMİŞ.....	53

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AMT	Aminometil Transferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
AQP	Akuaporin
BBB	BBB
βME	Betamerkaptoetanol
CAP	Kapsaisin
CBF	Serebral Kan Akışı
CCI	Kontrollü Kortikal Etki
CGRP	Kalsitonin Geni İlişkili Peptit
CSF	Beyin Omurilik Sıvısı
CT	Bilgisayarlı Tomografi
CNS	Merkezi Sinir Sistemi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EtOH	Etil Alkol
FPI	Sıvı Perküsyon Hasarı
GAP43	Büyümeyle İlişkili Protein 43
GCS	Glasgow Koma Skoru
GFAP	Glial Fibriler Asidik Protein
HRP	Yaban Turpu Peroksidaz
HMGB1	Yüksek Mobilite Grubu Proteini 1
ICAM	Hücre İçi Adhezyon Molekülü-1
ICP	Kafaiçi Basıncı
IL1β	İnterlökin1 β

IL6	İnterlökin6
MAPK	Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinaz
MMP	Matriks Metalloproteinaz
MPO	Miyeloperoksidaz
MR	Manyetik Rezonans
NCAM	Nöral Hücre Adezyon Molekülü
NFκB	Nükleer Faktör Kappa B
NKA	Nörokinin A
NKB	Nörokinin B
Nrf2	NFE2 İlişkili Protein
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
PBI	Gömülen Balistik Hasar
PFA	Paraformaldehit
PNS	Periferik Sinir Sistemi
PVDF	Poliviniliden Florür
RMT	Reseptör Aracılı Taşıma
RNA	Ribonükleik Asit
SP	P Maddesi
TBI	Travmatik Beyin Hasarı
TBS-T	Tween 20 ve Tris Tamponlu Salin Karışımı
TGS	Tris\Glisin\Sodyum Dodesil Sülfat Yürütme Tamponu
TIMP-1	Doku İnhibitör Metalloproteinaz 1
TLR	Toll Benzeri Reseptör
TRPA1	Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı Alt Ailesi A1
TRPV1	Geçici Reseptör Potansiyel Vanilloid 1
WD	Ağırlık Düşürme Hasarı

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil.4.1.TBI sonrası beyin ödemi gelişim fizyolojisi	9
Şekil.4.2.Kapsaisin'in kullanım alanları	16
Şekil.4.3.TRPV1 reseptör aktivasyonunun ödem ve inflamasyonla ilişkisi.....	17
Şekil.5.1. Deney dizaynı	18
Şekil.5.2. Çalışma özeti.....	19
Şekil.5.3.Hasar konumu.....	20
Şekil.6.1. Hasar hacmi analizi.....	26
Şekil.6.2. Ödem analizi.....	27
Şekil.6.3.1. GAP43 protein analizi.....	28
Şekil.6.3.2. GFAP protein analizi.....	28
Şekil.6.3.3.ICAM protein analizi.....	29
Şekil.6.3.4..NCAM protein analizi.....	30
Şekil.6.3.5. IL1 β protein analizi.....	30
Şekil.6.3.6. IL6 protein analizi.....	31
Şekil.6.3.7. BDNF protein analizi.....	32
Şekil.6.3.8. NF κ B protein analizi.....	32
Şekil.6.3.9. Nrf2 protein analizi.....	33

1.ÖZET

KAPSAİSİN'İN FARELERDE TRAVMATİK BEYİN HASARI SONRASI NÖROPROTEKTİF ETKİLERİ

Travmatik beyin hasarı (TBI), künt veya penetran bir kuvvetin kafatasında oluşturduğu hasardır. Kafatası kırığı, kortikal kontüzyon, hemoraji, hemotoma gibi birincil hasarlara neden olabilir. Birincil hasar sebebiyle gelişen hücresel süreçler ikincil hasar olarak adlandırılır. Ödem ve inflamasyon, ikincil hasarın sonuçlarıdır. Ödem, serebral ve vasküler olarak ikiye ayrılır. Serebral ödem, hasar sonrası fonksiyonelliğini yitiren adenosin trifosfat (ATP) bağımlı Na^+K^+ pompaları sebebiyle hücre içine su girişidir. Vasküler ödem, vasküler içeriğin vaskülatürden beyin parankimine sızmasıdır. İnflamasyon ise kan beyin bariyeri (BBB) geçirgenliğini arttırarak ödem oluşumuna sebep olabilir. Ödem hacmi küçülmesinin bilişsel ve motor işlevleri iyileştirdiği bilinmektedir. Bu sebeple TBI sonrası ilgili patolojik fazın saptanıp doğru tedavi uygulanması çok önemlidir. Bu tez çalışmasında, kriyojenik metot kullanılarak TBI modeli oluşturulmuştur. Kapsaisin (CAP) antioksidan, antikarsinojen, anti-inflamasyon ve analjezik etkilere sahip çok yönlü bir alkaloiddir. Bu kapsamda deney grubuna 10 mg/kg kapsaisin ve kontrol grubuna %5 etanol (EtOH) intraperitoneal enjeksiyonu yapılmıştır. Gruplar arasındaki hasar alanları, ödem hacimleri, inflamatuvar ve nöroprotektif proteinlerin seviyeleri karşılaştırılmıştır. Böylece kapsaisinin TBI'da inflamasyon ve beyin ödemi nasıl etkilediği, inflamasyon belirteçleri aracılığıyla incelenmiştir. Çalışma sonucunda, inflamatuvar protein ifadelerinin kontrol grubunda ve nöroprotektif proteinlerin ifadesinin ise kapsaisin grubunda daha fazla olduğu saptanmıştır. Hasar alanının kapsaisinin grubunda daha küçük olduğu görülmüştür. Kapsaisinin beyin ödemi için anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlenmiştir. Beyin ödemi ve inflamasyon arasındaki ilişkinin nasıl olduğu tam olarak bilinmemektedir. Protein analizleri, kapsaisinin nöroprotektif ve antiinflamatuvar etkileri olduğunu göstermiştir. Kapsaisin ve beyin ödemi ilişkisini bu tez çalışması dışında detaylı inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın kapsaisin ve beyin ödemi ilişkisinin anlaşılmasında yol gösterici olması beklenmektedir.

Anahtar kelimeler: Beyin ödemi, inflamasyon, kapsaisin, , nöroprotektif, TBI

2.ABSTRACT

NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF CAPSAICIN AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY IN MICE

TBI is damage that is a consequence of penetrating or blunt forces. It can be the reason for primary injuries such as hemorrhage, cortical contusion, and hematoma. Secondary injury is the cellular process that results from primary injury. Edema and inflammation occur during the secondary injury. Edema has two types including vascular and cerebral. Cerebral edema is the influx of water into the cell result of ATP-dependent Na^+K^+ pumps which lost function. Vascular edema is the leak of vasculature content to the brain parenchyma. Inflammation can increase the blood-brain barrier permeability and cause edema formation. Edema volume reduction is known to improve cognitive and motor functions. For this reason, it is crucial to determine the relevant pathological phase after TBI and apply the correct treatment. In this thesis, the TBI model was created using the cryogenic method. Capsaicin is a versatile alkaloid with antioxidant, anticarcinogen, anti-inflammatory, and analgesic effects. In this context, 10 mg/kg of capsaicin was injected into the experimental group and 5% EtOH was injected into the control group. Damage areas, edema volumes, and levels of inflammatory and neuroprotective proteins were compared between the groups. Thus, how capsaicin affects inflammation and brain edema in TBI was investigated through inflammation markers. As a result of the study, it was determined that the expression of inflammatory proteins was higher in the control group and the expression of neuroprotective proteins was higher in the capsaicin group. It was observed that the damaged area was smaller in the capsaicin group and capsaicin did not make a significant difference in cerebral edema. The exact relationship between brain edema and inflammation is not known. Protein analyzes have shown that capsaicin has neuroprotective and anti-inflammatory effects. Apart from this thesis study, no study has been found that examines the relationship between capsaicin and brain edema in detail. This study is expected to guide the understanding of the relationship between capsaicin and brain edema.

Key Words: Brain edema, capsaicin, inflammation, neuroprotective, TBI

3.GİRİŞ VE AMAÇ

Kriyojenik beyin hasarı, lokal beyin lezyonlarına neden olur. Dura mater üzerinden hasar verilmek istenen ilgili lokasyona aseton ve kuru buzla doldurulmuş bakır prob temas ettirilir. Bir diğer yöntem ise kafatasına sıvı nitrojenle soğutulmuş bakır prob uygulamasıdır. Uygulama süresinin uzunluğuna göre çeşitli hasar dereceleri elde edilebilir (1,2). Lokal hasar sonucu, BBB geçirgenliği bozulur. Birincil lezyonun çevresi, sitotoksik ve vasküler ödem, nöronal hücre ölümü gibi ikincil hasar faktörleri etkisiyle lezyon alanının büyüdüğü penumbral bölge ile çevrilidir. İkincil hasar aynı zamanda astrosit aktivasyonu ve inflamasyona neden olur. Bu model nörodejenerasyonu geciktirmesi ve epileptik semptomlara neden olması sebebiyle epilepsi modellemesinde de kullanılır (3,4). Esas olarak kriyojenik beyin hasarı modeli, TBI-BBB geçirgenliği ve vazojenik beyin ödemi incelenmesi için uygundur. Fakat bu modelde, insanda kafa hasarı sonucu meydana gelen kontrakap (countrecoup) ve diffüz aksonal hasar etkileri oluşmamaktadır. Bu modelin avantajları; kriyojenik yaralanma sonucu oluşan lezyonların sınırlı olması, ikincil hasarın boyut, patofizyolojik süreçleri ve lokasyonunun tekrar edilebilir olmasıdır. Kortikal lezyonun yüksek orandaki tekrarlanabilirliği fokal beyin hasarı sonrası farmakolojik tedavilerin veya gen nakavtlarının ikincil lezyon gelişimi üzerindeki etkisini gözlemlemek için önemlidir (5).

Motor kazaları, çarpmalar, düşmeler gibi kraniyal olmayan yaralanmalar eş zamanlı tedaviler gerektirir. Yaralanma sonrası omurilik ve damarların zarar görmemesi için immobilizasyon sağlanmalıdır. Hastanede Glasgow Koma Skoru (GCS) ve pupil reaksiyonu, kan basıncı, nabız ve sıcaklık kontrolleri yapılır. Bu unsurlardaki herhangi bir değişim ikincil hasar gelişimini etkileyebileceği için çok önemlidir. Özellikle GCS, hasarın şiddetinin ve tedavi yönteminin belirlenmesi için çok önemlidir. Bu süreçte yeterli pulmoner gaz değişimi ve beyin perfüzyonunun sağlanması da önem teşkil etmektedir. Hipoksi, hiperkapni, hipotansiyon ve artan kafaiçi basıncı (ICP) seviyesine yapılan erken müdahaleler, ikincil komplikasyonların oluşumunu engeller. Hipertermi, hiponatremi, hiperglisemi ve sıvı dengesizliği de bu süreçte kontrol edilmesi gereken unsurlar arasındadır (6,7).

TBI tedavisi için son 30 yıldır farmakolojik ajanlar ve diğer stratejileri de içeren birçok klinik deneme yapılmaktadır. Fakat başarı oranları oldukça sınırlıdır. Günümüzde kırktan fazla nöroprotektif ajanın, TBI sonrası morfolojik ve fonksiyonel iyileşmeyi sağladığı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar faz 2 ve faz 3 denemelerinde başarısız olmuşlardır. Akut evrede sinir koruma ve onarımını geliştirme çalışmalarında nöroprotektif ajanlar çok az klinik fayda gösterdiği için, büyük ilaç şirketleri operasyonlarını sonlandırmışlardır. Farmasötik endüstri raporunda, klinik araştırmanın çeşitli alanlarında yer alan sadece 8 ilaç olduğunu ve bunlardan yalnızca bir tanesinin faz 3 aşamasında olduğunu sunulmuştur. Heterojen ve karmaşık bir sistemik bozukluk olan TBI için başarılı bir farmasötik ajanın belirli bir mekanizmayı veya sinyal yolunu hedeflemesi gerektiği varsayımı pek doğru değildir. Bu durum, büyük klinik denemelerin başarısız olmasının nedenlerini saptamayı da zorlaştırmaktadır. TBI'nın sadece bir yönünü hedef alan moleküllerin klinik başarı gösterememesi normaldir. Bu sebeple, ikincil hasar süreçlerini hedef alan reseptör veya ilaç kombinasyonlarının daha yararlı olacağı düşünülmektedir (8,9).

TBI modellemesinde asıl sorun, klinik kafa hasarının laboratuvar şartlarında tam olarak taklit edilememesidir. Bir diğer sorun ise çalışmaların rodentler üzerinde yürütülmesidir. İnsan beyni ve rodent beyni bir çok farklılıklar gösterir: Beyaz-gri madde oranları, beyin boyutu, lizensefali. Daha yüksek türlerle yapılan çalışmalar çok azdır (10,11). Deneysel TBI çalışmalarında, farmakolojik ajanlar hasar öncesi veya hemen sonrasında kullanılmaktadır. Klinikte ise hastalar, TBI'dan saatler sonra bakım ünitesine ulaşır. Birçok çalışmada farmakoterapiler klinikteki kullanımları kısıtlı olan oral, intraperitonel veya intraserebroventriküler yollarla uygulanmaktadır. Ayrıca çalışmalarda klinikteki düşük dozlu sürekli infüzyonun aksine yüksek dozda tek bir uygulama yapılmaktadır. Bu farklılıklar, deneysel bulguların klinikteki uygulamaları ve başarı oranlarını olumsuz etkilemektedir (10,12,13).

Geçici reseptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1), ağırlıklı olarak duyuşal nöronlarda eksprese edilen ve seçici olmayan bir katyon kanalıdır. TRPV1, kapsaisin, resiniferatoksin, endojen lipid anandamid ve diğer endojen kapsaisin benzeri maddeler gibi çeşitli kimyasal ligandlar, ağrı yapıcı ajanlar, protonlar ve ısı

tarafından aktive edilebilir (14). TRPV1'in ilk kez klonlanmasından sonra, dorsal kök gangliyonlarda diğer TRP türleri olan TRPV2, TRPV3, TRPV4, geçici reseptör potansiyel katyon kanalı alt ailesi A1 (TRPA1) ve geçici reseptör potansiyel katyon kanalı alt ailesi M üyesi 8 (TRPM8) tanımlanmıştır. TRPV1 inflamatik durumlarda hem koruyucu hem de pronosiseptif özelliklere sahiptir. İltihaplanma sırasında aktive olur ve regülasyonu arttırılır (15). Vanilloid agonistleri TRPV1'e bağlanarak kanalın aktive olmasını sağlar. Ağırlıklı olarak Ca^{+2} 'dan oluşan katyon akışı meydana gelir ve depolarizasyon gerçekleşir. Membran depolarizasyonu eşik seviyeyi aştığında aksiyon potansiyeli oluşturulur. Duyusal sinir uçlarından proinflamatuvar nöropeptit salınımı gerçekleşir ve inflamasyon başlatılır. Bu durum ağrı veya kaşıntı hissiyatına neden olur. Devamında reseptörlerin çeşitli uyarılara yanıtızsız kaldığı bir refrakter dönem başlatılır. Reseptör aktivitesi hızla düşer ve vanilloide duyarlı nöronlarda hissizleşme meydana gelir. Bu hissizleşme, agonist dozuna ve uygulama lokasyonuna bağlı olarak kalıcı olabilir (16).

Vanilloid reseptörleri, aksoplazmik taşımayı inhibe etmeleri, Ca^{+2} akışı sebebiyle proteazların aktivasyona neden olmaları ve apoptotik etkileri sebebiyle nörotoksik etkiye sahiptirler (16–18). Kapsaisin nörotoksositeye neden olduğu için dozaj belirlenmesi son derece önemlidir. Yüksek doz kapsaisin uygulamasının dorsal kök gangliyonları yok ettiği in vivo ve in vitro çalışmalarla kanıtlanmıştır (19).

Bu çalışmada, kapsaisinin beyin ödemi ve inflamatuvar-nöroprotektif proteinler üzerindeki etkisinin saptanması amaçlanmıştır. Bu çalışmanın beyin ödemi ve kapsaisin ilişkisinin moleküler detaylarının aydınlatılmasında yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

4.GENEL BİLGİLER

4.1.TBI

Kafa hasarı ve TBI sıklıkla karıştırılan kavramlardır. Kafa hasarı terimi, yüz, kafa derisi ve kalvaryumda meydana gelen sıyrık, kırık, kontüzyon veya laserasyonları kapsayan, spesifik olmayan ve TBI'yla ilişkisi olması zorunlu olmayan hasarları kapsar. TBI ise kafaya gelen penetran veya künt bir kuvvetin sebep olduğu ve çoğunlukla kafa karışıklığı, bilinç düzeyinde değişiklik, koma veya nöbetlerin gözlemlendiği ve beyin fonksiyonunda değişimlere sebep olan duyuşsal veya motor nörolojik rahatsızlıktır. Hafif travmatik beyin hasarlarında ise dikkat çekmeyen davranışsal ve nöropsikolojik değişimler bu durumun tek semptomu olabilirler (20).

TBI insidansı, gelişmiş ülkelerde risk altındaki populasyonda her 100.000 kişide 200'dür. Erken çocukluk, geç ergenlik\erken yetişkinlik ve yaşlılık dönemlerinde yaygındır. Yaş artışıyla TBI insidansı arasında pozitif korelasyon vardır. Bu yüksek insidans, motor kazaları; düşme, bilinç ve bilişsel bozukluklar, motor ve duyuşsal işlevlerdeki bozukluklarla ilişkilendirilir. Bu sebeple 85 yaş üstü bireyler en yüksek insidansa sahip olan yaş gruplarıdır. Ayrıca TBI insidansı cinsiyete göre farklılık gösterir ve erkeklerde daha yaygın olarak görülür. Erkek\kadın arasındaki insidans oranının en fazla olduğu dönem ergenlik ve genç erişkinlik dönemleridir. Epidemiyolojik çalışmalarda TBI'nın ırksal insidansı incelendiğinde bu durumun ırkla bir fark oluşturmadığı ve daha çok sosyoekonomik düzeye göre fark gösterdiği görülmüştür. Bu çalışmalarda yukarıdaki duruma bağılı olarak gençlik döneminde siyah erkeklerde siyah olmayan erkeklere göre daha yaygın insidansa sahip olduğu gösterilmiştir (4,9,20,21).

TBI şiddeti, uzun yıllardan beri kullanılan ve günümüzde de geçerli olan GCS kullanılarak sınıflandırılır. GCS hastanın çeşitli uyaranlara pupil reaksiyonu, sözel ve motor fonksiyon tepkilerine dayanmaktadır. Çoğu zaman, 13 ila 15 puan hafif, 9 ila 12 puan orta ve <9 ciddi TBI olarak kabul edilir. Bununla birlikte, yaralanmadan sonra geçen süre, hemodinamik parametreler ve sarhoş edici maddeler genellikle GCS puanlamasında karışıklığa neden olur. TBI şiddeti yüzdeleri %80 oranında hafif, %10 oranında orta ve %10 oranında şiddetlidir. TBI, travmatik ölümlerin yaklaşık üçte biri ila yarısı kadarını oluşturmaktadır. Tüm TBI ölümlerinin yaklaşık

yarısı olay yerinde, ambulansla nakil sırasında veya hastaneye kabul edilmeden önce tedavinin acil tıbbi aşamasında meydana gelir (20).

4.2.TBI Etkileri

TBI, hasarın artan şiddetine göre hafif-orta-şiddetli şeklinde sınıflandırılabilceği gibi hasarın türüne göre birincil veya ikincil beyin hasarı olarak da sınıflandırılabilir (9).

4.2.1.Birincil beyin asarı

4.2.1.1.Fokal hasar

4.2.1.1.1.Kafatası kırığı

Kafatası kırığı, hasarın ciddiyetini gösterir. Kafatası tabanındaki kırıklar, sinir, arter ve diğer yapılara zarar verirse önemli problemlere neden olur. Sinüslere uzanan bir kırık, beyin omurilik sıvısının (CSF) kulaklar ve burundan sızmasına neden olabilir. Kırıklar beyne saplanabilir ve operasyon gerektirebilir (22).

4.2.1.1.2.Kortikal kontüzyon

TBI ilişkili kontüzyonlar genelde düzensiz kemik çıkıntılarının bulunduğu ve beyin ile kafatasının iç kısmının direkt temas ettiği anatomik lokasyonlarda oluşur. Bu çıkıntılar kafatası tabanında yaygındır ve frontal lobların alt kısmında, frontal kutupta ve temporal lobların inferolateral bölgesinde bu tür kontüzyonlara rastlanır .Bu hasarlar tam darbe bölgesinin altında veya tam karşı lokasyonunda yer alabilir (23).

4.2.1.1.3.İntraparankimal hemoraji

TBI ilişkili kanamalar, vasküler hasar sebebiyle meydana gelir. Etkilenen damara ve kanın sızma hızına bağlı olarak, kan beyinde bir alan kaplar. Böylece ICP artar, fitiklaşma görülebilir (23).

4.2.1.1.4.Subdural hematoma

Kanın, dura mater ve araknoid mater arasında birikimine subdural hematoma denir. Bu alanda oluşan hacim, ICP'yi artırır ve bilinç kaybına neden olabilir (23).

4.2.1.1.5.Epidural hematoma

Kanın, kafatası ve dura mater arasında birikmesi sebebiyle oluşur. Etkileri subdural hematoma ile aynıdır (23).

4.2.1.2.Diffüz hasar

4.2.1.2.1.Diffüz vasküler hasar

Genellikle ölümlü sonuçlanan ciddi TBI hasarlarında görülür. Kılcal yırtılmaların neden olduğu mikro hemorajilerdir. Mevcut görüntüleme yöntemlerinin hassasiyetleri, bu tür ufak kanamaları saptamaya yetmediği için tehlikelidir (9).

4.2.1.2.2.Diffüz aksonal hasar

Nöral doku elastiktir ve normal kafa hareketlerinde dahi hasara uğrayabilir Ani hızlanma/yavaşlama, dokunun elastikiyet kapasitesini aşabilir ve beyaz cevherde aksonal hasarlara neden olabilir (24).

4.2.2.İkincil beyin hasarı

4.2.2.1.Serebral ödem

4.2.2.1.1.Sitotoksik ödem

Serebral ödem, vazojenik ödem ve sitotoksik ödem olmak üzere iki ana sınıfa ayrılır. Sitotoksik ödem, ozmotik değişimlere yanıt olarak hücre içine su girişiyle karakterizedir. Serebral iskemi, anoksik-iskemik ensefalopati ve şiddetli TBI sebebiyle görülen enerji yetersizliği ATP'ye bağımlı Na^+/K^+ pompalarının işlevlerini yerine getirememesine neden olur. Bu durum, hücre içi iyonik içerik konsantrasyonunda ve hücre osmolaritesinde artışla sonuçlanır. Bunu izleyen süreçte hücre içine su girişi gerçekleşir. Kafatasında hâlihazırda bulunan su, böylece bir gradyan alta kaydırılmış olur. Sitotoksik ödem kendi başına beyin su içeriği konsantrasyonunu değiştiremediğinden, beyinde şişme ve ICP artışına neden olmaz. Sadece hücre içi metabolit konsantrasyonunu değiştirdiği için hücre fonksiyonelliğini olumsuz yönde etkiler (25).

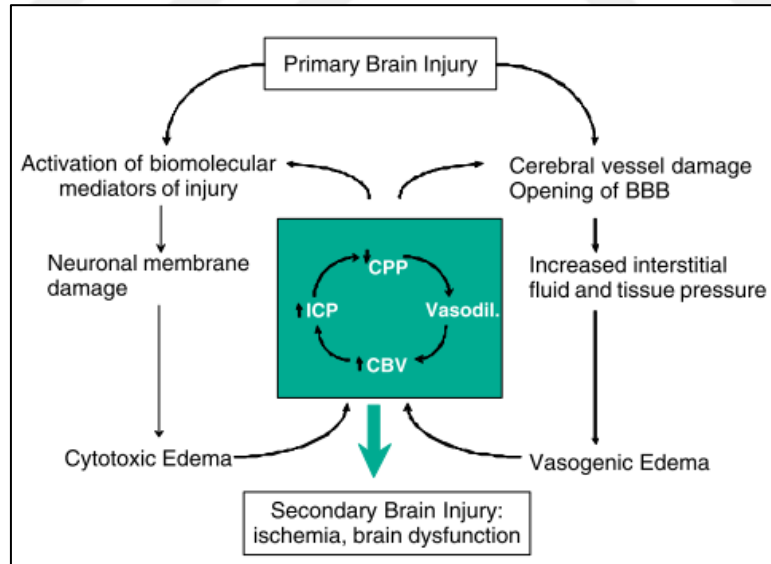
4.2.2.1.2.Vazojenik ödem

Vazojenik ödem, vasküler içeriğin beyin parankimine sızması sonucu oluşan ozmotik gradiyent nedeniyle suyun vaskülatürden hücre dışı boşluğa geçişi ile meydana gelir. Vasküler ödem, TBI, beyin tümörleri, enfeksiyon, intraserebral

kanama ve inflamasyon durumlarında gözlenen açık BBB'nin sonucudur. Beyin su içeriğinde değişikliğe neden olması sebebiyle, beyin dokusunda şişme ve ICP artışına neden olur (25).

4.2.2.1.3.TBI-ödem ilişkisi

Vazojenik ödem, TBI'dan sonraki ilk birkaç saat içinde gelişir ve manyetik rezonans (MR) ile ölçülebilen artan su difüzyon mesafesi yöntemiyle tespit edilebilir. Sitotoksik ödem ise daha yavaş gelişimlidir ve bu süre hasar sonrası birkaç günden iki haftaya kadar uzayabilir (26). Yapılan BBB geçirgenlik ölçümlerince, TBI sonrası birkaç saat içinde BBB'nin büyük plazma proteinlerine açıldığı ve sonrasında hemen kapanmadığı, kapanışının kademeli olarak gerçekleştiği kanıtlanmıştır. TBI sonrası yedi güne kadar BBB, küçük vasküler içeriklere geçirgendir. BBB, TBI sonrası 4-6 saatten 7 güne kadar maksimum seviyede geçirgenliğe sahiptir. Bu durumun hasar sonrası endotel hücrelerin iskeletinde meydana gelen bozulmalardan kaynaklı olduğu düşünülse de tam olarak açıklanamamaktadır (27).



Şekil.4.1.TBI sonrası beyin ödemi gelişim fizyolojisi (28)

Yapılan çalışmalarca beyin su içeriğinin ve ICP' in TBI'dan 2-3 gün sonra en yüksek seviyeye ulaştığı kanıtlanmıştır. Matematiksel olarak bu zaman aralığında

maksimum yoğunluğa ulaşması için ikinci bir BBB açılması önerilse de hasar sonrası 6. güne kadar olan küçük vasküler içeriğe olan geçirgenlik yukarıdaki teoriyi kanıtlar niteliktedir. Bu nedenle, BBB'nin ilk geçici açılmasının, sitotoksik ödem gelişmesine neden olan kısa bir saf vazojenik ödem dönemi ile ilgili olduğu düşünülmektedir (29).

Sitotoksik ödem, hücrel hasarın ilerleyen etkileriyle meydana gelir ve etkilenen hücre sayısına göre ciddi seviyede ve kalıcı olabilir. İyonlar ve suyun hücre dışından hücre içine girişi, vasküler sistemden daha fazla su ve iyonun hücre içine girişine olanak sağlar. Bu durum BBB'nin küçük moleküllere geçirgen olmasını kolaylaştırır. Sonucunda işlevsiz ve sitotoksik olan hücre sayısı artar. Saf vazojenik faz yerini sitotoksik vazojenik faza bırakır (30).

4.2.2.1.4. Beyin ödemi mediyatörleri

Akuaporinler

Akuaporinler (AQP), memeli hücre zarlarında porlar oluşturan integral proteinlerdir. Memelilerde 13 çeşit akuaporin ekspresyonu olduğu bilinmektedir. AQP1, AQP4 ve AQP9 beyinde yüksek düzeyde eksprese edilir. Diğer AQPler ise beyinde çok düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır (31).

AQP4 ağırlıklı olarak astrositik uç ayaklarında, ventrikül ara yüzeylerinde ve intraserebral damarların proksimal bölgelerinde ifade edilir. AQP9 da AQP4 ile birlikte astrositik uç ayaklarında ifade edilir. AQP1 ise koroid pleksus epiteli ve ganglion duyu nöronlarında bulunmaktadır. Yapılan deneysel ve klinik beyin hasarı çalışmalarında AQP4 ekspresyonunun değiştiği ve akuaporin kanallarında görülen genetik varyasyonların ödem seviyesini etkilediği saptanmıştır (32,33). İlerleyen çalışmalarda aynı durumun AQP1 ve AQP9 için de geçerli olduğu rapor edilmiştir (34,35).

TBI'dan sonra görülen AQP ekspresyonlarındaki artışın, ödem oluşumuna sebep olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle AQPlerin teröpatik inhibisyonlarının, ödem oluşumunun kontrol altına alınmasında önemli olduğu varsayılmaktadır. AQP4 aktivatörleri ödemin vazojenik bileşeninin temizlenmesini kolaylaştırma

potansiyeline sahipken, AQP4 inhibitörleri ise beyin sitotoksik ödemden korunmasında önemli potansiyele sahiptir (36).

Matriks metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar (MMP), BBB'deki sıkı bağlantı proteinleri ve nörovasküler bazal lamina olmak üzere birçok hücre dışı matriksi parçalama yeteneğine sahiptir. Çeşitli fizyolojik süreçleri takiben dokunun yeniden şekillenmesinde görev alan çinko bağımlı enteropeptidazlardır (37,38).

TBI, felç gibi nörodejenerasyona bağlı sinaptik kayıp ve BBB bozulmasının gerçekleştiği süreçlerde, MMPlerin aktivasyon ve ekspresyonlarında değişiklikler olduğu saptanmıştır. TBI'da MMP2, MMP3 ve MMP9'un ekspresyonları artar ve BBB bütünlüğünde bozulma meydana gelir. Devamında vazojenik ödem ve hücre ölümü gerçekleşir (39). MMP9 geninden yoksun farelerle yapılan TBI çalışmalarında, beyin ödemi ve BBB bozulmalarındaki artışın azaldığı ve inflamatuvar yanıtın azaldığı saptanmıştır (40). Hayvan modeli çalışmalarında, minosiklin ve doku inhibitör metalloproteinaz 1 (TIMP-1) gibi MMP inhibitörlerinin beyin ödemi ve hücre ölümünü bloke ettiği gösterilmiştir (41).

Vazoaktif ajanlar

Vazoaktif ajanlar, BBB geçirgenliğini ve dolayısıyla serebral ödemi arttırabilirler (42). Kinin ailesine ait olan bradikininler, TBI sonrası ödem gelişimiyle yakından ilişkilidir. Bradikinin, B1 ve B2 olmak üzere iki reseptöre sahiptir. Kininojenin, bu reseptörler ve kallikrein aracılığıyla parçalanmasından bradikininler oluşur (43). Farelerde yapılan çalışmalarda, TBI sonrası ikinci saatte bradikinin maksimum seviyeye ulaştığı ve ilk 24 saatte B1 ve B2 reseptörlerinin regülasyonlarının arttığı bildirilmiştir. TBI sonrası her iki reseptörde de artış gözlenilmesine rağmen yalnızca B2 reseptörünün nakavt edildiği farelerde, ödem miktarının önemli oranda azaldığı gözlenmiştir (44). Sıçanlara fokal kontüzyon modeli uygulanarak yapılan bir çalışmada, B2 reseptör antagonisti kullanımının ICP ve kontüzyon hacmini düşürdüğü gösterilmiştir (45).

Kinin ailesine ait olan mediyatörlerden bir diğeri nörojenik inflamasyonda rol oynayan taşikininlerdir (46). Nörojenik inflamasyon, vazodilasyon, plazma

ekstravagasyonu ve nörojenik hipersensitiviteyi kapsayan çok yönlü bir süreçtir. Vazodilatasyonda, kalsitonin geni ilişkili peptit (CGRP) görev alır. P maddesi (SP) ise plazma ekstravagasyonunu artırır (47).

İnsanda yapılan TBI çalışmalarında, TBI sonrası SP immünoreaktivasyonu gözlenmiştir. TBI sonrası bir hafta içinde ölüm gerçekleşmiş postmortem beyinlerde yapılan incelemelerde, kortikal mikrovaskülatürde SP'nin immünoreaktivitesinin artmış olduğu rapor edilmiştir (48).

4.2.2.2. İnflamasyon

Mekanik etki sonucu gelişen hücre hasarı deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA), ısı şoku proteinleri ve yüksek mobilite grubu protein 1 (HMGB1) gibi endojen faktörlerin salınmasına neden olur. Bu moleküller, toll benzeri reseptörlere (TLR) bağlanarak, nükleer faktör kappa b (NFκB) ve mitojenle aktifleştirilen protein kinaz (MAPK) yolağını aktive ederler (49). Buna bağlı olarak sitokinler, kemokinler ve immün reseptörler gibi proinflamatuvar faktörler salgılanır. TLRler, astrosit, mikroglia ve serebral endotel hücreler olmak üzere merkezi sinir sistemine yardımcı hücrelerde ekspresyona sahiptir. Hasarlı nöronal dokudan salınan kemokinler aracılığıyla immün hücreleri bu alana doğru yönelirler. Yaralanmaya karşı oluşturulan yanıt, hasarın diffüz ya da fokal olmasına göre değişim gösterir. Fokal hasar, mikroglia, astrosit, lenfosit ve makrofajların hasarlı bölgeye göçleri sonucu nötrofillerin erken dönem infiltrasyonu ile karakterizedir. Diffüz hasarda ise nötrofil infiltrasyonu görülmez, beyaz cevherde mikroglial birikim ve astrositoz ile karakterizedir (50,51).

Mikroglialar, M1 ve M2 olmak üzere iki alt popülasyona sahiptir. M1 mikroglialar, proinflamatuvar sitokinler ve oksidatif metabolitlerin salınımını yaparken, M2 mikroglialar, inflamatuvar yanıtı bastırmada ve doku yeniden şekillendirilmesinde görevlidir (52–54). TBI'nın ilk haftasında M2 aktivasyonu daha çok görülse de ilerleyen zamanda yerini artmış M1 aktivasyonuna bırakır. Yaşlı farelerle yapılan bir çalışmada, M2 mikrogliaların hasarlı olduğu fare beyinlerinde lezyon boyutlarının arttığı gösterilmiştir (55,56). M1 aktivasyonu, metalloproteinaz ve sıkı bağlantılarda modifikasyonlara neden olabilir ve bu durum BBB

geçirgenliğinin artmasıyla sonuçlanabilir. Devam eden M1 aktivasyonu, iyileşmeyi geciktirir ve doku hasarının yıllarca sürmesine neden olabilir (52).

4.2.2.2.1.Nörojenik inflamasyon

Zararlı uyarılara maruz kalan miyelinsiz duyu nöronları SP, nörokinin A (NKA), nörokinin B (NKB) ve CGRP gibi nöropeptitleri eş zamanlı olarak salgılar. Bu salınımlar nörojenik inflamasyonu başlatır (57). CGRP vazodilatasyon, SP ise plazma ekstrasvazasyonu indüklemekten sorumludur. SP merkezi, periferik ve enterik sinir sistemleri boyunca yaygın olarak dağılmıştır. Merkezi sinir sisteminde (CNS), omuriliğin dorsal kök ganglion nöronlarında, hipokampus, korteks, bazal ganglionlar, hipotalamus, amigdala ve kaudat çekirdek dahil olmak üzere beyin birçok bölgesinde bulunur. Gri cevherde beyaz cevhere göre daha fazla bulunur (58,59).

Kapsaisin ile yapılan ve ilgili nöropeptitlerin deplesyonunu baz alan bir çalışmada, BBB geçirgenliğinin ve ödem oluşumunun azaldığı gözlenmiştir (60). TRPV1 ve TRPA1, TRP reseptör ailesine aittirler ve tetramer yapı oluşturarak kation geçirgen özellikte porlar oluştururlar. TBI'yı takiben salınan SPler sayesinde aktive olarak, Na⁺ ve Ca⁺² başta olmak üzere kationların ve nöropeptitlerin salınımını indüklerler. TRPV1 ve TRPA1, çok çeşitli uyarılarla aktive edilebilen polimodal reseptörlerdir. TRPV1, kapsaisin, ısı, protonlar, bradikinin, prostaglandin ve araşidonik asit gibi metabolitlerle, TRPA1 ise vasabi ve tarçın ekzojen zararlı metabolitler, okside lipit, proton ve soğuk (<17 °C) uyarılır (61).

BBB klauidin, oklidin, zona okludens ve bağlantısal adezyon moleküllerinin oluşturduğu sıkı bağlantılara sahip endotel hücrelerden oluşur. Astrosit uç ayakları, sıkı bağlantıları fiziksel destek oluşturur ve bağlantıları güçlendirir. Serebral endotel hücreleri, temel moleküllerin çift yönlü transselüler geçişini ve potansiyel olarak nörotoksik maddelerin, atık ürünlerin dışarı akışını sağlayan sıkı bir şekilde kontrol edilen mekanizmalara sahiptir (62). Daha küçük moleküller, taşıyıcı aracılı veya iyon pompaları yoluyla taşınırken, pozitif yüklü makromoleküller spesifik olmayan bir şekilde serebral-endo boyunca reseptör aracılı taşıma (RMT) veya adsorptif aracılı taşıma (AMT) olan transsitozu kullanır (63).

TBI sonrası transsitoz artar ve taşıma özellikleri değişir. BBB'deki bozulma protein ve çözeltilerin serebral vaskülatürden hücre dışı boşluğa ekstravagasyonuna ve dolayısıyla ödeme yol açar. Ödem, inflamatuvar yanıtı sürdürür ve daha fazla nöronal hasar oluşur (64).

Kaveolin-1, kan damarlarının proteinlere olan geçirgenliğini arttıran bir proteindir. Sıçanlarla yapılan kriyojenik hasar modellerinde, kaveolin-1 ekspresyonunun arttığı, okludin ve klaudin-5 proteinlerinin ekspresyonlarının ise azaldığı gözlenmiştir (64).

4.3.TBI Biyomekaniği

TBI biyomekaniği tarihsel süreçte temel iki fenomen etrafında şekillenmiştir. Bunlar lineer hızlanma ve rotasyonel kafa hareketidir. Lineer hızlanma kuvvetlerinin yüzeysel beyin lezyonlarına yol açtığı, rotasyonel hareketlerin ise daha derin beyin lezyonlarını ve sarsıntı mekanizmasını açıklayabildiği düşünülmektedir. Lineer veya rotasyonel kuvvetler tarafından indüklenen doku gerginliği, zaman-mekansal gradyanlar yaratır. Beyin içyapısal desteği olan viskoelastik bir organ olması sebebiyle bu kuvvetleri düşük seviyede tolere edebilir. Beyin yüzeyine en yakın olan gri madde tabakası bu kuvvetlere en duyarlı tabakadır ve sonucunda kontüzyon veya kanamalar meydana gelebilir. Daha derinde yer alan serebral beyaz cevher aksonları, dönme kuvvetleri tarafından fizyolojik ve mekanik olarak zarar görebilir. Bu durum difüz aksonal yaralanma olarak adlandırılır. Orta beyin ve beyin sapındaki derin gri madde çekirdekleri ve aksonal yollar da rotasyonel kuvvetler tarafından zarar görebilir.

Lineer ve rotasyonel ivme teorileri, yüzeysel serebral yapılarda yaralanma olmadığında daha derin kortikal yapılardaki hasarı yeterince açıklayamayabilir. Bu sebeple TBI'da streotaktil teorisi daha çok kabul görür. Stereotaktil teori, kafatası-beyin bağıl hareketlerinin ve kafatası titreşimlerinin düzeninde kraniyal kubbenin küresel şeklini ve bunların ikincil basınç dalgaları üretme yeteneklerini dikkate alır. Beyin dokusu eşmerkezli düzlemlerde genellikle aynı yoğunluğa sahip olduğundan, bu dalgalar küresel bir dalga cephesi olarak yayılabilir. Bu dalga cephesinin küresel doğası ve basınç gradyanı yayılır ve enerjisini daha derin beyin yapılarına odaklar (65).

İlk travmadan kaynaklanan kuvvetlerin yanı sıra, beyin ödemi ve hematomların uzun süreli kompresif kuvvetleri, beyin dokularını bozarak, ICP'yi yükselterek ve beyin kan akışını (CBF) azaltarak beyin fonksiyonunu daha da bozabilir. Penetran beyin hasarı, doğrudan mermi yolunda olan beyin dokularına açıkça zarar verir, ancak ortaya çıkan patlama etkisi aynı zamanda bitişik dokularda önemli yapısal hasara neden olur. Penetran yaralanmada, yaranın gidişatı ve yeri, sonuçtaki en önemli faktörlerdir (9).

4.4.Kapsaisin

Kapsinoidler, acı biber meyvesinin keskin aromasına sebep olan bileşikleridir. Acı biberde en fazla miktarda bulunan kapsinoid, kapsaisindir (66). Cins adı olan kapsikum Yunanca ısırma anlamına gelen *-kapsa*'dan türemiştir (67). Kapsaisin (trans-8-metil-N-vanilil-6-nonenamid) moleküler formülü $C_{18}H_{27}NO_3$ olan kokusuz, renksiz, lipofilik ve kristal yapıda bir alkoloiddir. Molekül ağırlığı 305,40 g/moldür. Alkolde, yağda ve yağda çözünen bileşiklerde çözünebilir (68). Kapsaisin, yapısında bulundurduğu çift bağ nedeniyle cis\trans izomerisi gösterir. Doğada bulunan tüm kapsaisinler, trans izomerisinde bulunmaktadır. Bilinen kapsaisinodiler, biber meyvelerinin plasentasında, bir yağ asidi sentazı tarafından uzatılan vanililamin ve farklı büyüklükteki yağ asidi zincirlerinin enzimatik yoğunlaşmasından doğal olarak sentezlenir. Farklı kapsaisin formları, yan zincir (R) deki C atomu sayısı ve yağ asitlerinin doymunluğuna bağlı olarak oluşmaktadır (69).

Kapsaisinoidler, gıda ve ilaç endüstrisinde önemli yere sahiptir. Bu sebeple birçok araştırmacı, kimyasal sentez, enzimatik sentez veya hücre-doku kültürü gibi alternatif yöntemlerle biber bitkisi yetiştirme koşullarını iyileştirmeye çalışmaktadır (70).

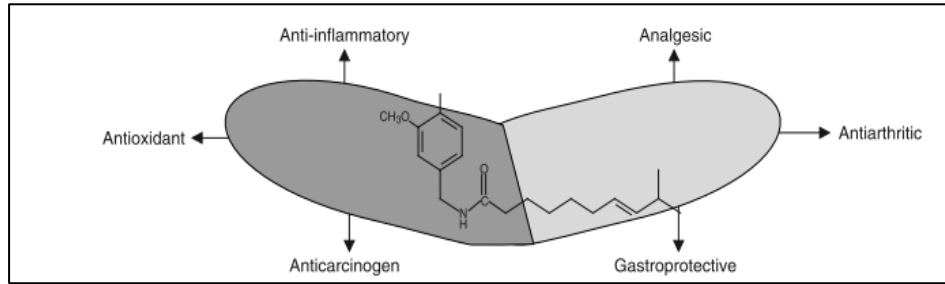
4.4.1.Kapsaisin'in etki mekanizması

Kapsaisin daha önceleri vanilloid reseptörü şu an ise TRPV1 olarak adlandırılan reseptöre bağlanır (16). TRPV1 95 kDa molekül ağırlığına sahip, altı transmembran domain içeren ve seçici olmayan bir reseptördür (14). TRPV1 beyin dokularında, mesanede, böbreklerde, bağırsaklarda, epidermis keratinositlerinde, glial hücrelerde, karaciğerde, polimorfonükleer granülositlerde, mast hücrelerinde ve makrofajlarda bulunan geniş dağılımlı bir reseptördür. Esas olarak, nosiseptif

nöronların küçük fiberlerinde bulunan ve ligand aracılığıyla çalışan katyonik kanallardır (71). Ayrıca kapsaisinın neden olduğu acının hissedilmesinden sorumlu olan ısıya duyarlı bir alt üniteye sahiptir. TRPV1'e bağlanan kapsaisin, hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun artmasına ve CGRP gibi nöropeptitlerin salınımına neden olur. Kapsaisin ve duyu sinirleri etkileşimi, ağrı, inflamasyon ve lokalize bir ısı hissi üretir. Kapsaisin'in sinir sistemi üzerindeki etkisi sadece analjezik değildir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarca CGRP, somatostatin ve endotelin salınımında rol oynadıkları gösterilmiştir (72–74). Tekrar eden kapsaisin maruziyetlerinde, duyu nöronu SP üretmeyi durdurur. Bu sebeple ağrıya duyarlılık kaybolur. Maruziyet bittiğinde SP yeniden üretilmeye başlar ve ağrı hassasiyeti geri gelir (75).

4.4.2.Kapsaisin'in insandaki klinik uygulamaları

Kapsaisin'in farmakolojik faydalarından antik çağlardan beri yararlanılmaktadır. Günümüzde de kilo kaybı, antioksidan, antikarsinojen, antiartritik, anti-inflamasyon, mide koruyucu ve analjezik etkileri sebebiyle bir çok alanda kullanılır. Ayrıca kapsaisin, cilt tahrişine neden olabilmesine rağmen, farklı nöropatik ağrı durumlarının hafifletilmesini amaçlayan topikal tedavilerde kullanılmaktadır. Kapsaisin ve analogları, post-herpetik nevralji, kas-iskelet ağrısı, diyabetik nöropati, osteoartrit ve romatoid artrit gibi kronik ağrı sendromlarını tedavi etmek için topikal olarak uygulanmaktadır (76).

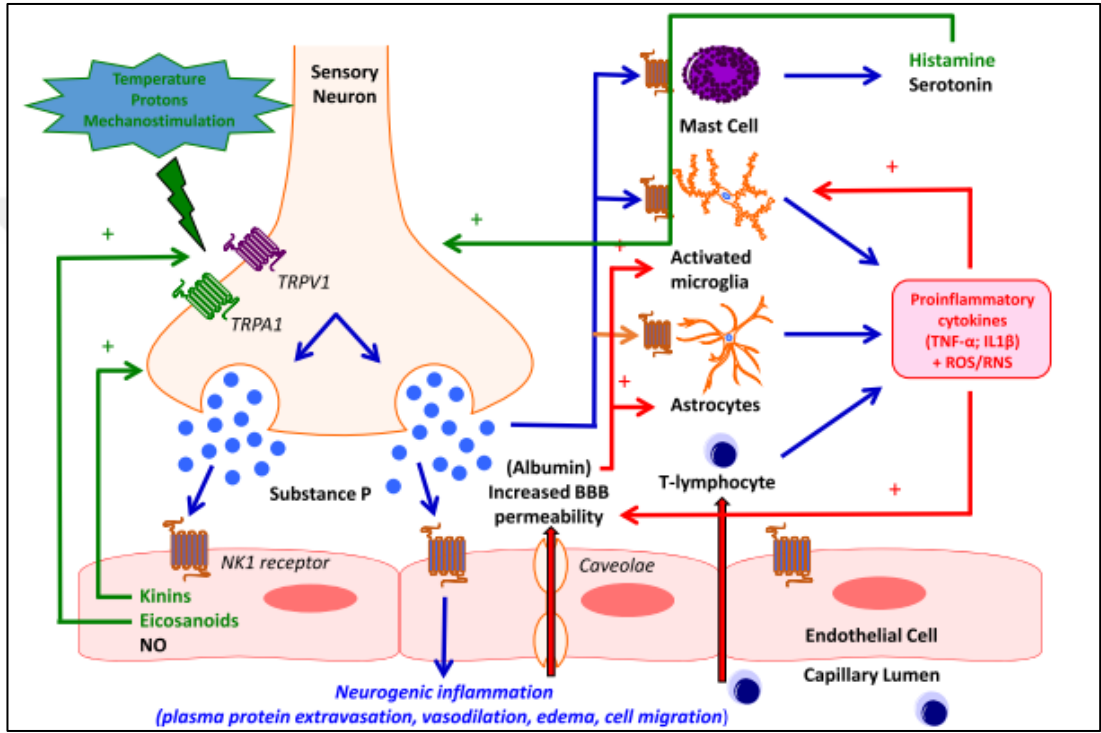


Şekil.4.2.Kapsaisin'in kullanım alanları (77).

4.4.3.Kapsain-ödem ilişkisi

Yapılan çalışmalarda, kapsaisinın, duyuşal C liflerini aktive ettiği ve devamında CGRP ve SP gibi nöropeptitlerin salınımında rol aldığı gösterilmiştir (78). Yetişkin hayvanlarla yapılan tekrarlanan kapsaisin uygulamalarında, nöropeptit depolarının geçici olarak tükendiği ve 3 haftaya kadar nörojenik inflamasyonun

inhibe olduğu gözlenmiştir (79). Geçmiş çalışmalarda merkezi sinir sisteminde oluşan nörojenik inflamasyonun ödem oluşumunda rol oynadığı saptanmıştır. İskemik beyinde gelişen ödemin, endotelde yer alan nöropeptit reseptörlerin aktivasyonu ile ilgili olduğu da geçmiş araştırmalarda gösterilmiştir. Bununla birlikte, kapsaisin TBI ilişkili ödemdeki rolünü kapsamlı olarak inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır (80).



Şekil.4.3. TRPV1 reseptör aktivasyonunun ödem ve inflamasyonla ilişkisi (60)

5.MATERYAL-METOD

5.1.Deney Grupları ve Deney Dizaynı

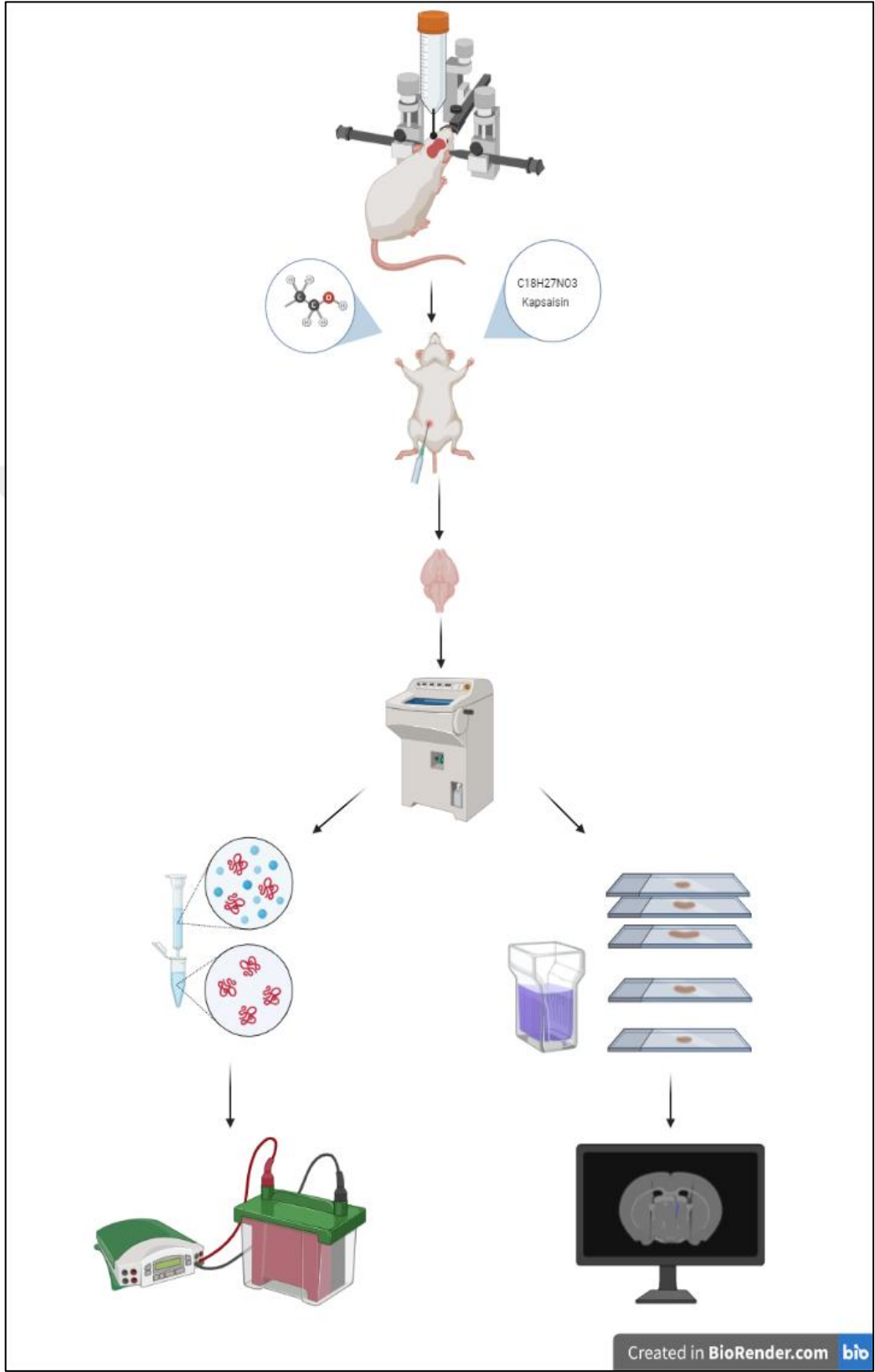
Bu çalışmada yapılan tüm işlemler, İstanbul Medipol Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu onayı alınarak, ulusal ve uluslararası kurallara uygun şekilde yürütülmüştür. Deneylerde ağırlıkları 20-25 g olan 8-12 haftalık genç yetişkin Balb/c erkek fareler kullanılmıştır. Fareler 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık fotoperiyodunda tutulmuştur. Yemek ve suya erişimleri ad libitum şeklindedir. Fareler çalışma için iki gruba ayrıldı. Ayırma işlemi randomize olarak yapıldı.

Deney Grupları;

- 1.Grup: TBI sonrası izotonik salin içinde %5 EtOH enjeksiyonu (i.p)
- 2.Grup: TBI sonrası 10 mg/kg Kapsaisin enjeksiyonu (i.p)



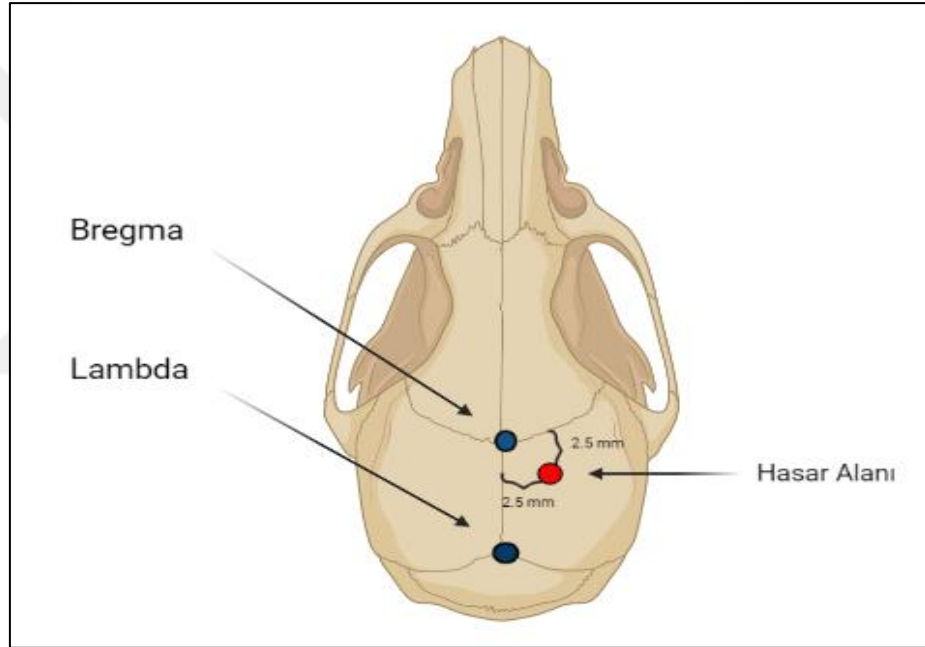
Şekil.5.1. Deney dizaynı. Kriyojenik modelin 60 s uygulanmasıyla orta şiddette TBI oluşturulmuş, 30 dk sonrasında gruplara taşıyıcı\CAP enjeksiyonu (i.p) yapılmıştır. Tam bir günlük posttravmatik iyileşme süresinden sonra deney sonlandırılmıştır. İzole edilen beyinler immünohistokimyasal ve protein analizleri yapılmıştır.



Şekil.5.2. Çalışma özeti

5.2. TBI

Farelerde TBI oluşturmak için kriyojenik beyin hasarı modeli kullanılmıştır. Hayvanlar, ketamin hidroklorür-ksilazin hidroklorür karışımıyla anestezi etkisi altına girdikten sonra stereotaksik alete (World Precision Instruments) sabitlenmiştir. Deney süresince vücut sıcaklıkları hemotermik sistem (Harvard Apparatus) ile 36,5-37,0 aralığında sabit tutulmuştur. Dental dril kullanılarak 3 mm çapında ve bregmanın 2,5 mm posteriolateralinde delik açıldı. Çapı 2,5 mm olan sıvı nitrojenle soğutulmuş bakır prob, bu açıklığa indirilerek 60 s bekletilmiştir. Daha sonra prob, kafatasından uzaklaştırılmış ve kafa derisine dikiş atılmıştır.



Şekil.5.3.Hasar konumu. Bregmanın 2,5 mm posteriolaterali olarak belirlenmiştir.

5.3.İntraperitoneal Enjeksiyonlar

TBI uygulamasından 30 dk sonra, kontrol grubuna izotonik salin içinde çözülmüş %5'lik EtOH ve deney grubuna da 10 mg/kg kapsaisin intraperitoneal intraperitoneal enjeksiyonu yapılmıştır. Taşıyıcı ve etken madde her iki gruba da eşit ve 100 µl olarak verilmiştir. Hayvanlar, travma sonrası iyileşmeleri için 24 saat boyunca kafeslerinde bekletilmiştir. Bu sırada beslenme-su ad libitum ve fotoperiyodları 12 saat ışık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır.

5.4.Deneyin Sonlandırılması

24 saatlik dinlenme süresi sonrası, fareler %4'lük izofloran (%30 O₂, geri kalan N₂O) ile anesteziye alınmış ve servikal dislokasyon yoluyla ötenazi edilmiştir.

5.5.Beyin Kesitlerinin Alınması

Ötenazi sonrası vakit kaybetmeden beyinler çıkarılmış ve kuru buz üzerinde dondurulmuştur. Kriyostat cihazında (CM1950, Leica, Almanya), iç sıcaklık 22 °C'de sabit tutularak immünolojik boyama ve protein analizleri için striatum ve hipokampus bölgelerinden 18 µm'lik kesitler alınmıştır.

5.6.Cresyl Violet(Nissl) Boyaması ve Ödem Analizi

Solüsyon A, 1.63 g sodyum asetatı(Sigma, 32319) 60 ml dH₂O içerisinde çözdürülmesiyle hazırlanmıştır. Solüsyon B, 2,9 ml asetik asitin(Merck, 10063) 237,1 ml dH₂O içinde çözdürülmesiyle hazırlanmıştır. Solüsyon B'nin tamamı solüsyon A'ya eklenmiştir. Sonrasında karıştırılmış ve pH'ı 3,8 olarak ayarlanmıştır. Karışım üzerine 1,5 g cresyl violet asetat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda ışık görmeyecek şekilde bir gece inkübe edilmiştir. Kullanım öncesi süzölmüştür ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

-80 C'de bulunan beyin kesitleri, oda sıcaklığında 30 dk bekletilmiştir. Sonrasında %4'lük paraformaldehit (PFA, 158127, Sigma-Aldrich, ABD) bulunan şalede, üzerileri ışıkla temaslarını önlemek üzere alüminyum folyo ile örtülü şekilde 7 dk bekletilerek fikse olmaları sağlanmıştır. Ardından içinde dH₂O bulunan şaleye bir kere daldırılıp çıkartılmıştır. Bunu takiben, çalkalayıcı (Unimax 1010; Heidolph, Almanya) üzerinde her biri beşer dk olmak üzere 3 kere fosfat tamponlu salin (PBS; 0,1 M, pH 7,4) yıkaması yapılmıştır. Sonrasında yine bir kez dH₂O bulunan şaleye daldırılıp çıkarılmıştır. Örnekler, içinde cresyl bulunan şalede üzerileri alüminyum folyo ile örtülerek ışıkla temas etmeleri engellenmiş biçimde 2 dk bekletilmiştir. Ardından şale, çalkalayıcı üzerine alınmıştır ve yine üzerileri alüminyum folyo ile örtülü şekilde 13 dk inkübe olmaları sağlanmıştır. Örnekler dışarı alınarak, fazla boya hızlıca süzdürülmüştür. İçlerinde temiz dH₂O bulunan üç şaleye sırayla birer kez daldırılıp çıkartılmışlar ve sonrasında fazla suyun giderilmesi amacıyla hızlıca süzdürülmüştür. İçlerinde %70, %90, %95 ve %100 olmak üzere 4 farklı etanol (Sigma, ABD) konsantrasyonu bulunan alkol şalelerine sırasıyla daldırılmış ve her

birinde 15 s bekletilmiştir. Böylece fazla koyu olan boya renginin açılarak istenen tona getirilmesi sağlanmıştır. Sonrasında çeker ocak içinde, ksilen (108684, Merck, ABD) bulunan şalelere daldırılıp, 1. şalede 3 dk, 2. şalede 1 dk olmak üzere bekletilmişlerdir. Dokular kurumalarını önlemek amacıyla birer birer alınıp, peçete yardımıyla etraflarındaki fazla ksilen kalıntıları temizlenmiştir. Ardından cam çubuk yardımıyla hava kabarcıkları önlenerek entellan (Merck Millipore, ABD) damlatılmış ve üzerileri lamel ile kapatılmıştır. Oda sıcaklığında bir gün boyunca bekletilerek örneklerin kuruması sağlanmıştır. Sonrasında kesitler tarayıcı yardımıyla taratılmış ve Image J programıyla (Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü, NIH, ABD) hasar ve ödem hacimleri analizi yapılmıştır.

5.7. Protein İzolasyonu

Her doku örneği başına 200 µl olacak şekilde toplam liziz tamponu -fosfat proteaz inhibitörü karışımı(1 M Tris-HCl, 5 M NaCl, Triton-X-100, 0,5M EDTA) hesaplanmıştır. Toplam hacmin 1:100'i kadar fosfat proteaz inhibitörü(5178, Cell Signalling, ABD) eklenmiştir. Doku başına 3 manyetik bilye kullanılmıştır. Homojenizatörde(BeadBug™ microtube homogenizer, Benchmark Scientific, ABD) 300 rpm'de her biri 10 s olmak üzere 3 kez homojenizasyon yapılmıştır. Her seferinde tüplerin ısınmasını önlemek için buza gömülmüştür. Takiben buz üzerinde 25 dk inkübe edilmiştir. Sonrasında 3300 rpm'de +4 °C'de 15 dk santrüfj edilmiştir. Süpernatantlar (saflaştırılmış protein fazı) alınarak yeni tüplere konulmuştur.

5.8. Protein Konsantrasyon Ölçümü

Qubit solüsyon hazırlama formülüne göre Qubit solüsyonu hazırlanmıştır. Standartlar için Qubit tüplerine, 190 µl Qubit solüsyonu ve 10 µl standart solüsyonu eklendiştir. Protein örnekleri için, Qubit tüplerine 198 µl Qubit solüsyonu ve 2 µl ise 1\50 oranında seyreltilmiş protein örneği eklenmiştir. Pipetaj yapılarak solüsyon ve örneklerin homojen karışımları sağlanmıştır.

Protein seyreltme işlemi, 0,5'lik tüplerde gerçekleştirilmiştir. Her bir tüpe 98 µl otoklavlanmış ddH₂O ve 2 µl protein örneği eklenmiş ve tüpler vortekslenerek (541-10000-00, Heidolph, Almanya) tüp içinde homojen karışım oluşması sağlanmıştır. Ölçüm için hazırlanan tüpler, vortekslenmiş ve kısa süreli mikrosantrifj edilmiştir. Oda sıcaklığında, üzerileri alüminyum folyo ile örtülü halde 15 dk inkübe edilmiştir.

Sonrasında sırasıyla ilk standartlar sonra protein örnekleri olmak üzere Qubit 3.0 Fluorometer Invitrogen, Life Technologies Corporation, ABD) cihazıyla konsantrasyon ölçümü yapılmıştır. Protein örneklerinin konsantrasyonları, başlangıçta 1\50 oranında seyreltildikleri için ölçüm sonrasında 50 ile çarpılarak daha sonraki deneyler için protein stok konsantrasyonu belirlenmiştir.

5.9. Protein Örneklerinin Yüklenmesi

Konsantrasyonları ölçülen protein örnekleri, her bir kuyucukta 20 µg\10µl protein olacak şekilde hesaplanmıştır. Her bir protein örneği, kendi tüpünde 5 µl aktifleştirilmiş 2X Laemmli solüsyonu (161-0737; Bio-Rad, ABD), ilgili konsantrasyonu verecek hacimde protein ve geri kalanı ddH₂O olacak şekilde hazırlanmıştır.

Laemmli tamponu, 190 µl 2X Laemmli ve üzerine 10 µl beta merkaptto etanol (βME) eklenerek aktifleştirilmiştir. Boş olacak kuyucuk için ise 5 µl ddH₂O ve 5 µl 2X Laemmli olacak şekilde tüp hazırlanmıştır. Tüpler, vortekslenmiş ve ısı bloğunda 95 °C’de 5 dk bekletilmiştir. Sonrasında tüpler kısa süreli mikrosantrifüj yapılarak, ısı etkisiyle kapakta kümelenen örnek damlacıklarının alta inmesi sağlanmıştır.

Elektroforez düzeneği (Mini-PROTEAN® Tetra Vertical Electrophoresis Cell, Bio-Rad, ABD) kurulmuş ve jeller (Any kD™ Mini-PROTEAN, 456-9036, Bio-Rad, ABD) arasına 200 ml 1X Tris\Glisin\Sodyum Dodesil Sülfat Yürütme Tamponu(TGS) tamponu eklenmiştir. Tankın içine ise 720 ml soğuk ddH₂O ve 80 ml 10X TGS tamponu eklenmiştir. Kuyucuklar kendi solüsyonlarından arındırılması için yürütme solüsyonuyla ikişer defa pipetaj yapılarak yıkanmıştır. İlk kuyucukta β aktin belirteci 5 µl , her bir örnek ise 10 µl olacak şekilde kuyucuklara yükleme yapılmıştır. Elektroforez , ilk 5 dk 50 V olacak şekilde yürütme yapılarak proteinlerin kuyucuklara oturması sağlanmıştır. Sonrasında 150 V’da 80 dk yürütme yapılarak, proteinler ağırlıklarına göre ayrışmaları sağlanmıştır.

5.10. Jelden Membrana Protein Transferi

Elektroforez sonrası jeller tanktan çıkarılmış ve içerisinde ddH₂O bulunan kaba konulmuştur. Mini Poliviniliden diflorit(PVDF) RTA Transfer Kiti (170-4272; Bio-Rad, ABD) kullanılmıştır. Membranlar aktifleşmeleri için EtOH içinde 2 dk

bekletilmiştir. Filtre kağıtları, 120 ml dH₂O, 40 ml EtOH ve 40 ml Transfer solüsyonu eklenerek oluşturulan transfer karışımında bekletilmiştir. Transfer kasetine ilk filtre kağıdı konulmuş ve üzeri transfer solüsyonuyla muamele edilmiş rulo ile düzlenerek hava kabarcıklarının yok edilmesi sağlanmıştır. Sonrasında alkolden alınan membranlar kısa süre transfer karışımında bekletilmiş ve filtre kağıtlarının üzerine konulmuştur. Jeller dH₂O'dan alınmış ve fazlalık kısımları spatula yardımıyla kesilerek uzaklaştırılmıştır. Sonrasında jel, membranın üzerine konulmuş ve en üst yüzeye de son filtre kağıdı tabakası eklenmiştir. Yüzey rulo ile düzleştirilerek kaset tamamlanmıştır. Transfer solüsyonunun fazlası, peçete yardımıyla süzdürülmüştür. Kaset, Bio-Rad Transblot Turbo sistemine (1704150 Trans-Blot® Turbo™ Transfer System, Bio-Rad, ABD) yüklenmiş ve proteinlerin ağırlıklarına uygun seçenек olan 7 dk tercih edilerek proteinlerin membrana transferinin gerçekleşmesi sağlanmıştır.

5.11. Antikor ile İnkübasyon

Transfer sonrası membranlar, ilgili antikor incelemesi için proteinlerin ağırlıklarına göre jiletle kesilerek bölümlere ayrılmıştır. Membranlar kısa bir süre 1X Tween 20 ve Tris tamponlu salin karışımında (TBS-T, T1503; Sigma, ABD) bekletilmiştir. Her bölüm için 10 ml içinde 0.5 g yağsız süt tozu (Blotto, sc-2325; ChemCruz, ABD) çözdürülerek bloklama solüsyonları hazırlanmıştır. 1X TBS-Tler serolojik pipetle toplanmış ve membranlara 10 ml bloklama solüsyonu verilmiştir. Çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında bir saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonrası 1\1000 oranında seyreltilmiş olan primer antikorlar (interlökin 1 beta (IL1 β), nükleer faktör kappa B (NF κ B), glial fibriler asidik protein (GFAP), interlökin 6 (IL6), NFE2 ilişkili protein (Nrf2), büyümeyle ilişkili protein 43 (GAP43), beyin türevli nörotrofik faktör (BDGF), nöral hücre adezyon molekülü (NCAM), hücre içi adezyon molekülü (ICAM), (Abcam, Cambridge, UK) direkt olarak bloklama solüsyonuna verilmiş ve iyice pipetaj yapılarak homojen karışım olması sağlanmıştır. Bir gece boyunca +4 °C'de çalkalayıcıda inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi sabah karışım serolojik ile toplanmış ve membranlar, 1X TBS-T ile her biri beşer dk olmak üzere çalkalayıcı üzerinde yıkanarak spesifik olmayan bağlanmaların önüne geçilmeye çalışılmıştır. Ardından 10 ml yağsız süt tozu ve yaban turbu peroksidaz (HRP) konjuge tavşan antijenine karşı keçide üretilmiş ikincil antikor karışımı

(Abcam, Cambridge, UK) ile çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası ikincil antikorların bulunduğu solüsyon toplanılmış ve her biri beşer dk olmak üzere 3 kere 1X TBS-T yıkaması yapılmıştır.

5.12.Görüntüleme ve Değerlendirme

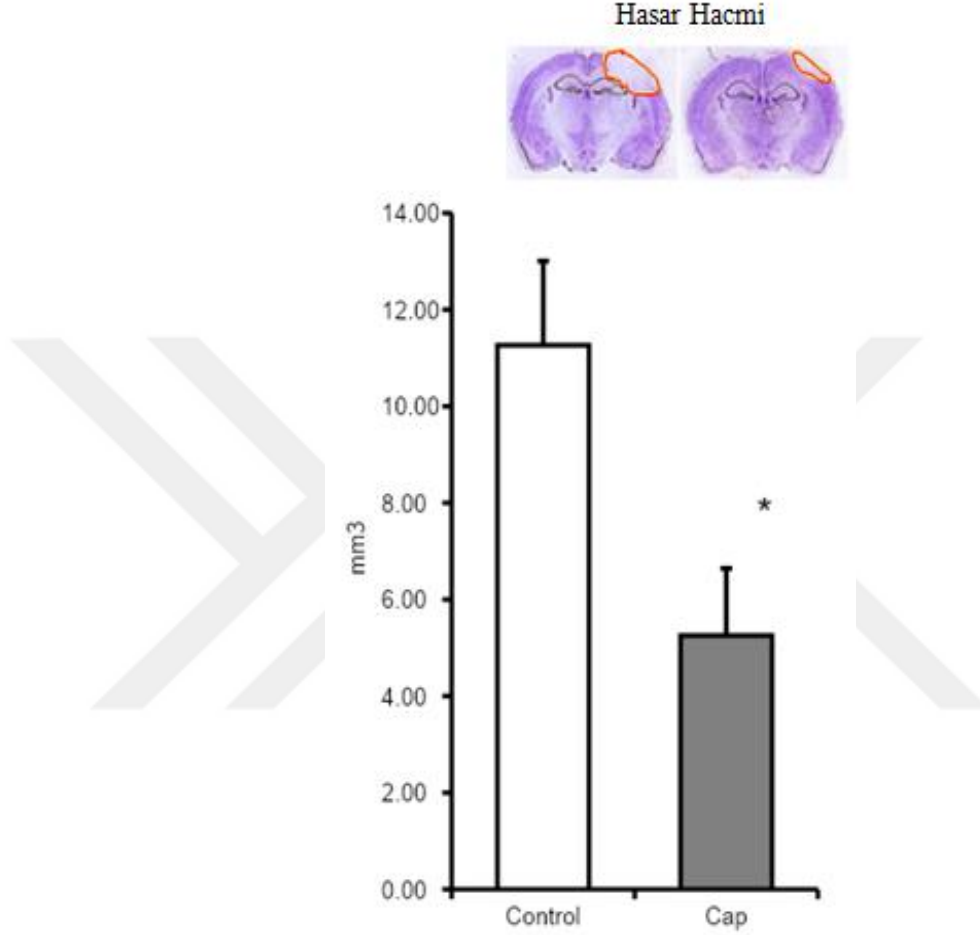
Membranlar, BioRad Western ECL görüntüleme solüsyonu (1705060, Biorad Life Sciences Research, ABD) ve 1 ml 1X TBS-T karışımı ile 5 dk çalkalayıcı üzerinde inkübe edilmiştir. Görüntülenecek membranlar, hava kabarcığı oluşması engellenerek iki asetat kağıdı arasına alınmıştır. Chemidoc MP görüntüleme sistemi (1708280, Biorad Life Sciences Research, ABD)ile membranlar görüntülenmiştir. Sonrasında membranlar, platelerin içinde üzerilerini kaplatacak kadar 1X TBS-T eklenerek ve etrafları parafilmle sarılarak +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

5.13.İstatiksel Analiz

Gruplar arasındaki farklılıklar, SPSS programında (SPSS for Windows; SPSS Inc., USA) t-testi kullanılarak belirlenmiştir. Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

6.BULGULAR

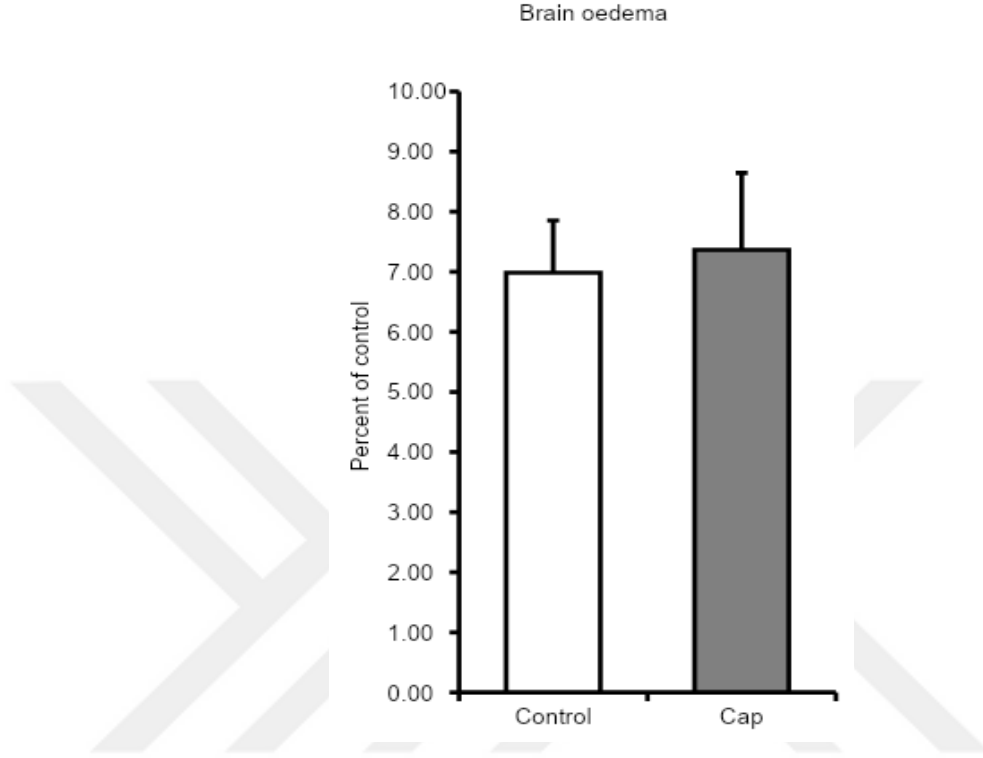
6.1. Kapsaisin ile Hasar Hacmi İlişkisi



Şekil.6.1. Hasar hacmi analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin hasar hacimlerinin değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak hesaplanmıştır. * $p < 0.05$ kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

Kriyostatta striatum seviyesinden başlanmak üzere, hasar başlangıcı, ortası ve sonu olacak şekilde farklı seviyelerden 18 μ m kalınlığında kesitler alınmıştır. Bu kesitlerin cresyl violet boyası ile boyanarak, hasar hacminin belirlenmesi sağlanmıştır. Boyama sonrası kesitler oda sıcaklığında bir gece inkübe edilmişlerdir. Sonrasında tarayıcı yardımıyla taratılmıştır. Bu görüntüler Image J programıyla analiz edilmiştir. Analizde hasarlı bölgeler ölçülüp ortalamaları alınmıştır (Şekil.6.1.).

6.2.Kapsaisin Beyin Ödemi İlişkisi

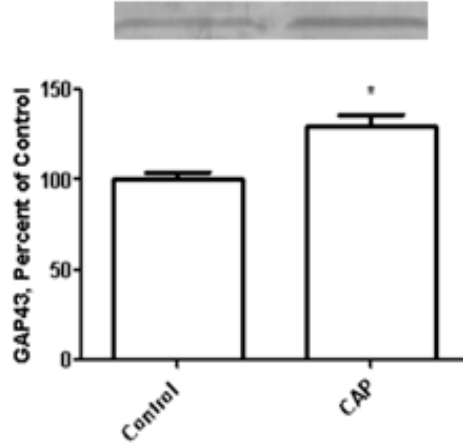


Şekil.6.2. Ödem analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin ödem hacimlerinin değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasında beyin ödem hacimleri bakımından istatistiksel bir anlamlılığa rastlanmamıştır.

Kriyostatta striatum seviyesinden başlanmak üzere, hasar başlangıcı, ortası ve sonu olacak şekilde farklı seviyelerden 18 μ m kalınlığında kesitler alınmıştır. Bu kesitlerin cresyl violet boyası ile boyanarak, ödem hacminin belirlenmesi sağlanmıştır. Kesitler taratılmış ve Image J programı yardımıyla analiz edilmiştir. Ödem hacimi, ipsilateral hemisfer alanından kontralateral hemisfer alanının çıkarılmasıyla hesaplanmıştır. Analiz sonucuna göre kapsaisin ve taşıyıcı uygulana gruplar arasında beyin ödemi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil.6.2).

6.3. Protein Seviyeleri Analizi

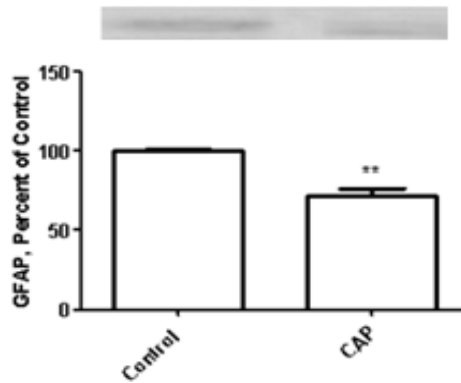
6.3.1. GAP43



Şekil.6.3.1. GAP43 protein analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin GAP43 protein seviyeleri değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak hesaplanmıştır. * $p < 0.05$ kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

TBI sonrası intraperitoneal kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin GAP43 seviyeleri Western Blot ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki GAP43 seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı (* $p < 0.05$) şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.1.).

6.3.2. GFAP

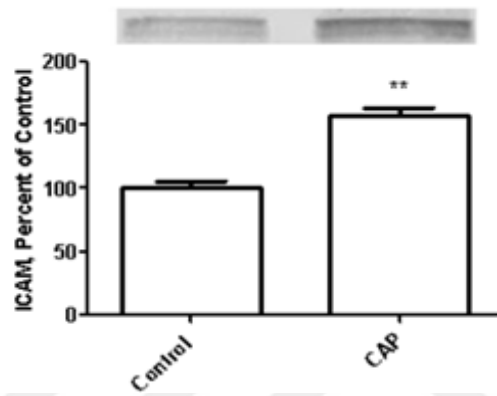


Şekil.6.3.2. GFAP protein analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin GFAP protein seviyeleri değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama

± standart sapma olarak hesaplanmıştır. **p<0.01 kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

TBI sonrası intraperitoneal kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin GFAP seviyeleri Western Blot ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki GFAP seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı (**p<0.01) şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.2.).

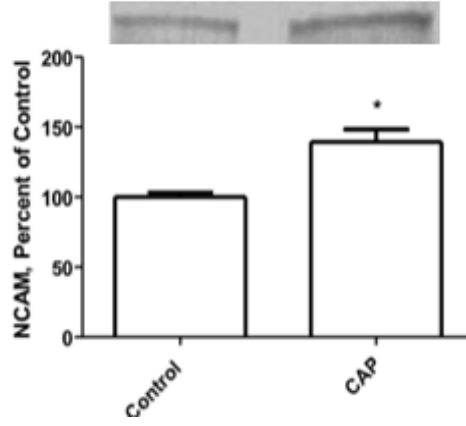
6.3.3.ICAM



Şekil.6.3.3. ICAM protein analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin ICAM protein seviyeleri değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak hesaplanmıştır. **p<0.01 kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

TBI sonrası intraperitoneal kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin ICAM seviyeleri Western Blot ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki ICAM seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı (**p<0.01) şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.3.

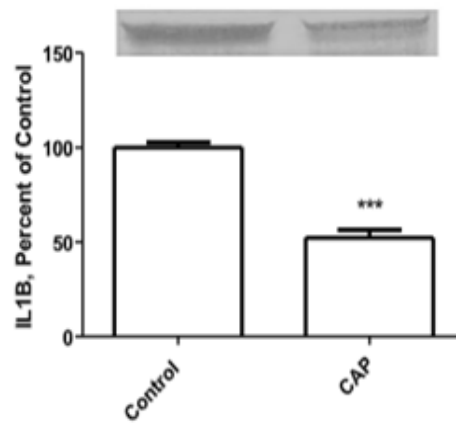
6.3.4.NCAM



Şekil.6.3.4. NCAM protein analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin NCAM protein seviyeleri değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak hesaplanmıştır. * $p<0.05$ kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

TBI sonrası intraperitoneal kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin NCAM seviyeleri Western Blot ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki NCAM seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı (* $p<0.05$) şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.4.).

6.3.5.IL1 β

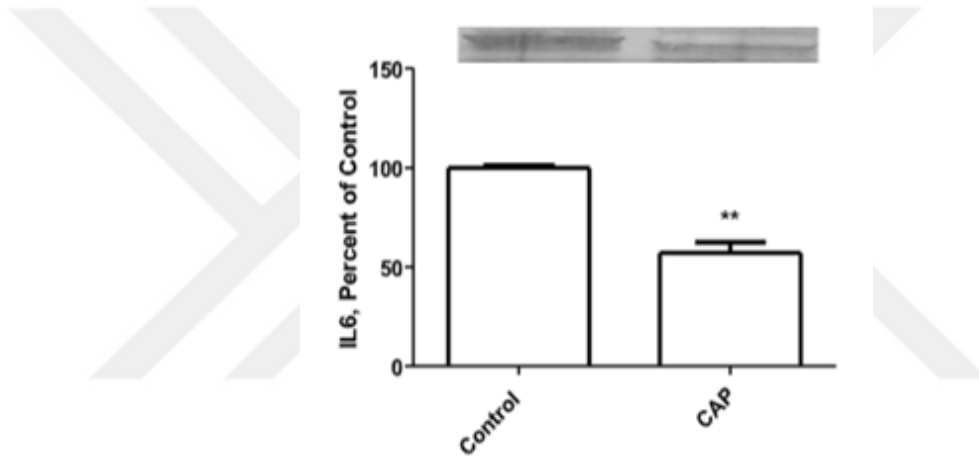


Şekil.6.3.5. IL1 β protein analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin IL1 β protein seviyeleri değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama \pm

standart sapma olarak hesaplanmıştır. *** $p < 0.001$ kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

TBI sonrası intraperitoneal kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin IL1 β seviyeleri Western Blot ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki IL1 β seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı (** $p < 0.001$) şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.5.).

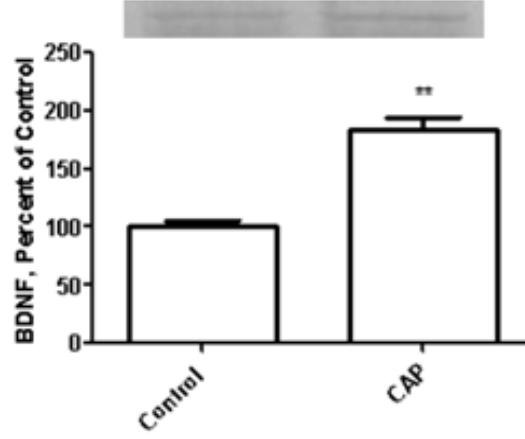
6.3.6.IL6



Şekil.6.3.6. IL6 protein analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin IL6 protein seviyeleri değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak hesaplanmıştır. ** $p < 0.01$ kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

TBI sonrası intraperitoneal kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin IL6 seviyeleri Western Blot ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki IL6 seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı (** $p < 0.01$) şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.6.).

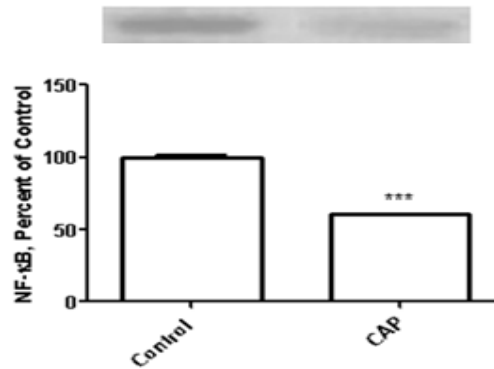
6.3.7.BDNF



Şekil.6.3.7. BDNF protein analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin BDNF protein seviyeleri değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak hesaplanmıştır. $**p < 0.01$ kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

TBI sonrası intraperitoneal kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin BDNF seviyeleri Western Blot ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki BDNF seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı ($**p < 0.01$) şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.7.).

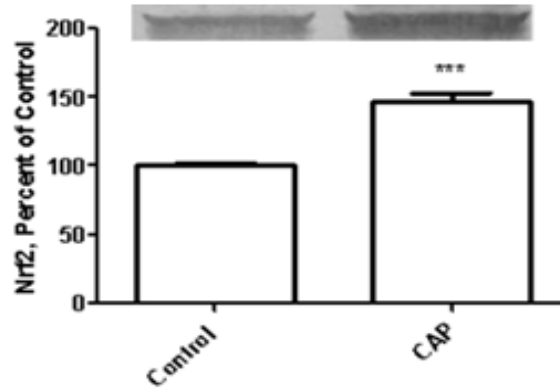
6.3.8.NF- κ B



Şekil.6.3.8. NF- κ B protein analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin NF- κ B protein seviyeleri değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak hesaplanmıştır. $***p < 0.001$ kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

TBI sonrası intraperitoneal kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin NF-κB seviyeleri Western Blot ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki NF-κB seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı (**p<0.001) şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.8.).

6.3.9.Nrf2



Şekil.6.3.9. Nrf2 protein analizi. TBI sonrası kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin Nrf2 protein seviyeleri değerlendirilmesi. Tüm sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak hesaplanmıştır. ***p<0.001 kontrol (EtOH, taşıyıcı) grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

TBI sonrası intraperitoneal kapsaisin ve taşıyıcı enjeksiyonu yapılan farelerin Nrf2 seviyeleri Western Blot ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki Nrf2 seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı (**p<0.01) şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.9.).

7.TARTIŞMA

TBI, sanayileşmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ölüm ve sakatlığa neden olan başlıca faktördür. Deneysel çalışmaların klinikteki uygulamalarının başarı oranının düşük olması sebebiyle de büyük bir sağlık sorunu teşkil etmeye devam etmektedir (81). TBI, bir dış kuvvet maruziyeti sonucu beyin dokusunda meydana gelen mekanik bozulmalar ve gecikmiş patolojik süreçlerin eşlik ettiği nörodejeneratif süreçlerdir. Beyin hasarı tiplerinin, dağılımlarının ve mekanizmalarının çok çeşitli olması sebebiyle heterojen bir hastalıktır. Hasar sonrası hızlı bir şekilde gerçekleşen ani hücre ölümü geri döndürülemez bir hasardır ve ikincil hasarı tetikler. Birincil hasar, yaralanma şekline göre diffüz veya fokal olabilir. Başa doğrudan çarpma sonucu fokal hasar oluşur ve sonucunda kontüzyon, vasküler yaralanma ve hematoma görülebilir. Hızlanma\yavaşlama kuvvetlerinin neden olduğu hasar ise diffüz beyin hasarıdır ve sonucunda aksonal hasar meydana gelir. Birincil hasar, ikincil hasarı tetikler. Fakat ikincil hasar mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (21,82). Bu sebeple tedaviler genellikle ikincil hasarın inhibisyonuna yöneliktir. Hayvan modelleri kullanımı ikincil hasar mekanizması araştırmalarında önemlidir. TBI'nın bütüncül araştırılması için daha büyük hayvan modelleriyle gerçekleştirilen çalışmalar gerekli olsa da günümüzde fare ve sıçan en yaygın kullanılan türlerdir (5).

TBI, şiddetin sürekliliğine göre hafif, orta ve şiddetli olmak üzere 3 şekilde sınıflandırılır. TBI şiddeti, bireyin bilinç düzeyi ve amnezi süresine göre belirlenir. GCS bu amaçla kullanılan yaygın bir sınıflandırma sistemidir. GCS, bireyin sözlü-motor tepkileri ve göz hareketlerini değerlendirir. Bu değerlendirme sonuçlarına göre kişinin bilişsel işlev durumu ile ilgili ilkel bir tahminde bulunur. GCS skorunun 13-15 olması hafif, 9-12 orta, 8 ve daha düşük skorlar şiddetli TBI'na işaret eder (9).

Bu tez çalışmasında genç erişkin farelerde (8-12 haftalık, C57BL/6j) kriyojenik TBI modeli oluşturularak, kapsaisin TBI sonrası nöroprotektif etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, stereotaksik cihaza sabitlenen farelerin bregma 2,5 mm posteriolateral noktasına 60 s boyunca sıvı azot uygulaması yapılarak in vivo orta şiddetli TBI modellenmesi oluşturulmuştur. Hasar oluşumundan 30 dk sonra kontrol grubuna %5 EtOH (salin içinde çözdürülmüş) ve deney grubuna 10 mg/kg kapsaisin intraperitoneal enjeksiyon yoluyla verilmiştir. Sonrasında hayvanlar, ad libitum

yemlenme-su ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyodunun uygulandığı operasyon sonrası müdahale odasında 24 saat dinlendirilmiştir. Daha sonra beyinler ivedilikle çıkarılıp, kuru buz üzerinde dondurulmuştur. Dondurulan beyinlerden kryostat ile 18 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Bu kesitler hasar hacmi ve beyin ödemi analizi için immünohistolojik boyamada ve protein analizi için Western blotta kullanılmıştır.

Bu tez çalışmasında hasar alanı, kontralateral hemisfer alanından ipsilateraldeki hasarsız alanın çıkarılmasıyla hesaplanmıştır. Kapsaisin uygulanan gruptaki hasar alanı, kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde daha az olduğu görülmüştür (Şekil.6.1.). Tez çalışmamızdaki modelin uygulandığı bir araştırmada, rapamisin uygulanan gruptaki hasar alanının, uygulanmayan gruba göre daha az olduğu saptanmıştır (83). Metamorfın uygulanarak yapılan benzeri bir çalışmada, metamorfın uygulanan gruptaki hasar alanının kontrol grubuna oranla daha az olduğu görülmüştür (84). Analiz sonucumuz ilgili literatürle uyumludur. İleri araştırmalarda azalan hasar alanının fonksiyonel iyileşmeyle ilişkisi gösterilmiştir (83). Bu durum kapsaisinin TBI sonrası tedavi edici ajan olarak kullanılabileceğini destekleyen niteliktedir.

Çalışmamızda, kapsaisin ve kontrol gruplarındaki ödem seviyelerinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil.6.2.). PB hasar metodunu kullanan bir çalışmada, kapsaisin verilen gruptaki beyin ödeminin daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu grupta davranışsal ve motor faaliyetlerde kötüleşme olmadığı görülmüştür (85). Çalışma sonucumuzdaki farkın nedeni, farklı hasar yöntemi uygulaması olabilir. Kriyojenik hasar fokal etkilere neden olurken, hızlı darbe yaralanması diffüz hasara ve vazojenik hasara neden olur. Bu sebeple farklı ödem türleri ve kapsaisinin bu ödem türleri üzerindeki etkilerinin farklı olması beklenebilir. Sonucumuzla uyumlu başka bir çalışmada, kapsaisinin ödem gelişimi üzerinde önemli bir etkisi olmadığı saptanmıştır (59). Benzer şekilde, kapsaisin denervasyonunun, intertisyel sıvı basıncını etkilemediği gösterilmiştir (80).

Bu tez çalışmasında, kapsaisin uygulanan deney grubundaki GAP43 seviyesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.1.). Aynı TBI modelinin kullanıldığı bir çalışmada,

NCAM'den türevlenmiş bir peptit olan P2 ile tedavi edilen gruptaki GAP43 seviyesinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur (86). Kriyojenik hasar oluşturulmuş bir başka çalışmada, metamorfin enjeksiyonu yapılan gruptaki GAP43 seviyesinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır (84). Analiz sonucumuz ilgili literatürle uyumludur. Aynı şekilde GAP43 proteininin temel alındığı ve çeşitli TBI modellerinin uygulandığı çalışmalarca da benzer sonuçlar elde edilmiştir (87–89). Laboratuvarımızca yapılan benzer bir çalışmada da tedavi ajanı uygulanan grupta daha yüksek GAP43 seviyesi gözlenmiştir (90). Bu durum kapsaisin TBI sonrası tedavi edici ajan olarak kullanılabileceğini destekleyen niteliktedir.

GFAP, beyin ve omurilikteki astrositlerde sentezlenen ara filament elemanlarından biridir. Bu astrositler, CNS'de en çok görülen hücre tipidir. BBB oluşumu, nöronlara metabolik ve fiziksel destek oluşturma, uyarılara karşı sitokin ve nörotrofik faktör salınımı gibi birçok hücre fonksiyonundan sorumludur (91). Bu tez çalışmasında, kontrol grubundaki GFAP seviyesinin kapsaisin uygulanan deney grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.2.). TBI sonrası kapsaisin uygulanmasının yapıldığı bir çalışmada, taşıyıcı uygulanan gruptaki GFAP düzeyinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (92). TBI geçirmiş kişilerden hasar sonrası birkaç saat içinde alınmış kan örnekleriyle yapılan bir çalışmada, bilgisayarlı tomografi (CT) sonuçlarında anormallikler gözlenen kişilerin kanlarındaki GFAP düzeyinin CT sonuçları normal hastalara göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Fokal kontüzyon görülen vakalarda da GFAP düzeyinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Hasardan 6 ay sonra yapılan analizlerde, iş yaşamına geri dönme oranının GFAP düzeyinin yüksek olduğu grupta daha düşük olduğu görülmüştür (93). Hasarın şiddeti arttıkça, GFAP seviyesi de artış gösterir(94). Bu sonuç, benzer diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur (83,95–97). Kapsaisin'in anti-inflamatuar özelliği sebebiyle deney grubunda GFAP seviyesinin düşük olması beklenmiştir (Şekil.6.3.2.).

İkincil hasar; birincil hasar sebebiyle meydana gelen ödem, kan-beyin geçirgenliğinin bozulması, periferik kan hücrelerinin infiltrasyonu ve sitokin benzeri immünolojik mediyatörlerin intratekal salınımını içerir. Bu olgulara cevap olarak; akut inflamasyon geliştirilir. TBI in vivo modellerinde, hasardan 4-8 saat sonra

hasarlı bölgeye nötrofil akışının olduğu ve yaralanmadan sonraki ilk 48 saat içinde bu seviyenin tepe noktaya ulaştığı gösterilmiştir (98,99). Nötrofiller, yuvarlanma hareketleri nedeniyle vasküler endotele düşük afiniteyle bağlanırlar. Bu hareket, endotel yüzeyinden salınan selektin ve ilişkili adhezyon molekülleri aracılığıyla gerçekleşir. Sonucunda mikroçevrede kemokin, sitokin ve lipitler üretilir. Bu moleküller, ICAM gibi endotel adhezyon moleküllerinin ekspresyon düzeylerini arttırarak, yüksek afiniteyle bağlanmayı gerçekleştirir (100,101). Kriyojenik hasar modelinin uygulandığı çalışmamızda, intraperitoneal EtOH enjeksiyonu yapılmış kontrol grubu ve kapsaisin enjeksiyonu yapılmış deney gruplarının ICAM protein seviyelerinin karşılaştırıldığı Western blot analizinde, kontrol grubundaki ICAM seviyesinin daha az olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.3.). TBI'nın in vivo modellenmesi için bir çok method kullanılmaktadır. Bunlar; kontrollü kortikal etki (CCI), ağırlık düşürme (WD), kriyojenik hasar, sıvı perküsyon hasarı, patlama modeli, gömülen balistik hasar (PBI) olmak üzere ayrılmaktadır. Bu modellerin oluşturdukları immünolojik, histolojik ve bilişsel etkiler farklıdır (5,102). WD metoduyla oluşturulan bir çalışmada, kontrol ve hasar gruplarının, hasar sonrası 4.saatteki ipsilateral ICAM ekspresyonları incelendiğinde, hasar grubundaki vasküler endotel hücrelerinde ICAM ekspresyonunun anlamlı düzeyde arttığı ve bu durumun hasar sonrası 24, 48 ve 72 saatlerde de devam ettiği gösterilmiştir (103). Miyeloperoksidaz (MPO), nötrofil kümelenmesini ölçen spesifik bir metoddur. Nötrofil akışının farklı TBI modelleme türleri üzerindeki etkisini gösteren bir çalışmada, WD ve CCI metodları karşılaştırıldığında hasar sonrası 24. ve 48.saatlerde, MPO aktivitesinin WD metodunda daha fazla olduğu saptanmıştır (99). Analiz sonucumuz ve literatürdeki farklılığın sebebi kullanılan TBI modeli olabilir. Yapılan benzeri çalışmalarda CCI ve WD modelleri kullanılmıştır (98–101,104). Bu modellerin oluşturduğu hasar şiddeti değişkendir ve bu durum ilgili modellerin dezavantajıdır. Bizim çalışmamızda kullanılan kriyojenik hasar modelinde uygulama süresi olan 60 s orta derecede hasar oluşturmasına neden olmaktadır. Hasar şiddetlerinin farklı olması, ikincil hasarı, bu hasarda etkilenen mekanizmaları ve etkilenme seviyelerinde değişikliğe neden olmaktadır (102).

Tez çalışmamızda, kapsaisin grubundaki NCAM seviyesinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.4.). Bu sonuç, daha önce

laboratuvarımızda yapılan ve çeşitli tedavi edici ajanların kullanıldığı çalışmamızla uyumludur (90).

IL1 β , DNA fragmentasyonu ve apoptoza neden olarak BBB hasarı ve lökosit infiltrasyonuna neden olabilir (105). Bu tez çalışmasında, kontrol ve deney gruplarının IL1 β düzeyi karşılaştırılması sonucu kontrol gruplarında IL1 β düzeyinin kapsaisin uygulamasının yapıldığı deney grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır (Şekil.6.3.5). sıvı perküsyon hasarı (FPI) modeliyle yapılan bir çalışmada, hasar grubundaki IL1 β düzeyinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır (106). Kapsaisin ve resveratrol kombin uygulamasında, IL1 β seviyesinin uygulama yapılan grupta daha az olduğu saptanmıştır (107). Daha önce laboratuvarımızda yapılan ve çeşitli tedavi edici ajanların kullanıldığı çalışmamızda da benzeri sonuçlar elde edilmiştir (90). İlgili çalışmalarca elde edilen bulgular, tez çalışmasındaki analiz sonucumuz ile uyumludur. Kapsaisin'in anti-inflamatuar özelliği sebebiyle deney grubunda IL-1B seviyesinin düşük olması beklenmiştir (Şekil.6.3.5).

Bu tez çalışmasında, kontrol ve deney grubunun IL6 düzeyi karşılaştırılması sonucu kontrol gruplarında IL6 düzeyinin kapsaisin uygulamasının yapıldığı deney grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır (Şekil.6.3.6). Diğer metotların uygulandığı çalışmalarda da, hasar çevresinde IL6 eksprese eden hücrelerin yer aldığı gözlenmiştir (106,108–111). Bu durum, tez çalışmasındaki analiz ile uyumludur. Kapsaisin'in anti-inflamatuar özelliği sebebiyle deney grubunda IL6 seviyesinin düşük olması beklenmiştir (Şekil.6.3.6).

Çalışmamızda kontrol grubundaki BDGF düzeyinin kapsaisin enjeksiyonu yapılan deney grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır (Şekil.6.3.7.). TBI'na sahip insan popülasyonu ve sağlıklı kontrol gruplarının CSF ve serumlarındaki BDGF seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, kontrol grubundaki BDGF düzeyinin daha yüksek olduğu görülmüştür (112). FPI modeli kullanılan çalışmalarda, deney grubunda ipsilateraldeki BDGF seviyesinin kontralaterale göre daha düşük olduğu ve kontrol grubundaki BDGF düzeyinin deney grubundakine oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır (113,114). Bu sonuçlar, tez çalışmamızdaki BDGF analizimizle uyumludur. Bu durum kapsaisinin TBI sonrası nöroprotektif etkisini destekleyen niteliktedir (Şekil.6.3.7.).

Analiz sonuçlarımızda, kontrol grubundaki NFκB seviyesinin kapsaisin grubuna göre daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.8.). WD metoduyla yapılan bir çalışmada, NFκB inhibisyonunun IL1β ve diğer inflamasyon belirteçlerinin ekspresyonlarını artırdığı görülmüştür (115). Daha önce laboratuvarımızda yapılan ve çeşitli tedavi edici ajanların kullanıldığı çalışmamızda da benzeri sonuçlar elde edilmiştir (90). Bu sonuç NFκB ve IL1β analizlerimiz ile de uyumludur. Kapsaisinin antiinflamatuvar etkisi nedeniyle uygulama grubunda daha düşük NFκB beklenmiştir.

Bu tez çalışmasında, kapsaisin grubundaki Nrf2 seviyesinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil.6.3.9.). Edaravon ile TBI tedavisi ve Nrf2 seviyesinin ölçüldüğü bir çalışmada, tedavi uygulanan gruptaki Nrf2 seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (116). Dimetil fumarat antioksidanı ile yapılan bir çalışmada, tedavi alan grubun almayan gruba göre daha fazla Nrf2 eksprese ettiği gözlenmiştir (117). Farklı TBI modellemesinin kullanıldığı benzeri bir çalışmada da çalışmamızla uyumlu sonuçlar elde edilmiştir (118). Bu sonuç, daha önce laboratuvarımızda yapılan ve çeşitli tedavi edici ajanların kullanıldığı çalışmamızda da uyumludur (90). Sonuç olarak ilgili analizler, kapsaisinin TBI sonrası tedavi edici ajan olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

8.SONUÇ

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular incelendiğinde, kapsaisin enjeksiyonu yapılan gruptaki hasar alanının taşıyıcı grubuna göre daha küçük olduğu görülmüştür. Her iki grup arasında, beyin ödemi açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir. İnflamatuar protein seviyesinin bir istisna hariç (ICAM) taşıyıcı grubunda daha fazla olduğu bulunmuştur. Nöroprotektif protein seviyesinin ise kapsaisin enjeksiyonu yapılan grupta daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızın amacı, beyin ödemi ve kapsaisin arasındaki ilişkinin nöroprotektif ve proinflamatuar proteinler aracılığıyla detaylı incelenmesidir. Benzeri çalışmalarda, kapsaisinin ödem hacmi ve hasar alanını azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca kapsaisin anti-inflamatuar ve nöroprotektif etki gösterdiği saptanmıştır. TBI tedavisinde deneyden kliniğe geçebilen çok az farmakolojik ajan bulunmaktadır. Bu sebeple kapsaisinin detaylı incelenmesi sonucu klinikte kullanılacak yeni bir farmakolojik ajan elde edilebilir. Bu çalışmanın ayrıca beyin ödemi ve kapsaisin ilişkisini gösteren detaylı bir rehber olacağı düşünülmektedir.

9.KAYNAKLAR

1. Raslan F, Schwarz T, Meuth SG, Austinat M, Bader M, Roosen K, et al. Inhibition of bradykinin receptor B1 protects mice from focal brain injury by reducing blood – brain barrier leakage and inflammation. 2010;1477–86.
2. Kis Z, Lur G, Farkas T. Evans Blue fluorescence permits the rapid visualization of non-intact cells in the perilesional rim of cold-injured rat brain. 2007;(May 2014).
3. Penkowa M, Giralt M, Lago N, Camats J, Carrasco J, Molinero A, et al. Astrocyte-targeted expression of IL-6 protects the CNS against a focal brain injury. 2003;181:130–48.
4. Flenley P, Prasad BCN, Shrivastava R, Ravishankar GA, Carney N, Totten AM, et al. Traumatic brain injury. *Molecules* [Internet]. 1st ed. 2013;21(1):109–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-016-0738-9>
5. Albert-Weissenberger C, Sirén AL. Experimental traumatic brain injury. *Exp Transl Stroke Med.* 2010;2(1):1–8.
6. Mcilvoy LH. The Effect of Hypothermia and Hyperthermia on Acute Brain Injury. 2005;16(4):488–500.
7. Valente SM, Fisher D. Traumatic brain injury. *J Nurse Pract.* 2011;7(10):863–70.
8. Maas AIR, Marmarou A, Murray GD, Teasdale GM, Steyerberg EW. Prognosis and clinical trial design in traumatic brain injury: The IMPACT study. *J Neurotrauma.* 2007;24(2):232–8.
9. Gardner AJ, Zafonte R. Neuroepidemiology of traumatic brain injury [Internet]. 1st ed. Vol. 138, *Handbook of Clinical Neurology.* Elsevier B.V.; 2016. 207–223 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802973-2.00012-4>
10. Statler KD, Jenkins LW, Dixon CE. Experimental Traumatic Brain Injury Research to the Bedside. *J Neurotrauma.* 2001;18(11):1195–206.
11. Gennarelli TA. Animate Models of Human Head Injury. *J Neurotrauma.* 1994;11(4):357–68.
12. Citerio G, Cormio M. Sedation in neurointensive care: Advances in understanding and practice. *Curr Opin Crit Care.* 2003;9(2):120–6.

13. Rhoney DH, Parker D. J. Use of sedative and analgesic agents in neurotrauma patients: Effects on cerebral physiology. *Neurol Res.* 2001;23(2–3):237–59.
14. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature.* 1997;389(6653):816–24.
15. Szallasi A, Cortright DN, Blum CA, Eid SR. The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept. *Nat Rev Drug Discov.* 2007;6(5):357–72.
16. Cortright DW, Szallasi A. Biochemical pharmacology of the vanilloid receptor TRPV1: An update. *Eur J Biochem.* 2004;271(10):1814–9.
17. Kawakami T, Hikawa N, Kusakabe T, Kano M, Bandou Y, Gotoh H, et al. Mechanism of inhibitory action of capsaicin on particulate axoplasmic transport in sensory neurons in culture. *J Neurobiol.* 1993;24(5):545–51.
18. Han P, McDonald HA, Bianchi BR, Kouhen R El, Vos MH, Jarvis MF, et al. Capsaicin causes protein synthesis inhibition and microtubule disassembly through TRPV1 activities both on the plasma membrane and intracellular membranes. *Biochem Pharmacol.* 2007;73(10):1635–45.
19. Chard PS, Bleakman D, Savidge JR, Miller RJ. Capsaicin-induced neurotoxicity in cultured dorsal root ganglion neurons: Involvement of calcium-activated proteases. *Neuroscience.* 1995;65(4):1099–108.
20. Andelic N. The epidemiology of traumatic brain injury. *Lancet Neurol.* 2013;12(1):28–9.
21. Maegele M, Engel D, Bouillon B, Lefering R, Fach H, Raum M, et al. Incidence and outcome of traumatic brain injury in an urban area in western Europe over 10 years. *Eur Surg Res.* 2007;39(6):372–9.
22. Tseng WC, Shih HM, Su YC, Chen HW, Hsiao KY, Chen IC. The association between skull bone fractures and outcomes in patients with severe traumatic brain injury. *J Trauma - Inj Infect Crit Care.* 2011;71(6):1611–4.
23. Roberts GW, Gentleman SM, Lynch A, Graham DI. β A4 amyloid protein deposition in brain after head trauma. *Lancet.* 1991;338(8780):1422–3.
24. Smith DH, Wolf JA, Lusardi TA, Lee VMY, Meaney DF. High tolerance and delayed elastic response of cultured axons to dynamic stretch injury. *J Neurosci.* 1999;19(11):4263–9.
25. Nag S, Manias JL, Stewart DJ. Pathology and new players in the pathogenesis of brain edema. *Acta Neuropathol.* 2009;118(2):197–217.

26. Marmarou A, Corwin F, Barzó P, Fatouros P, Hayasaki K. Contribution of vasogenic and cellular edema to traumatic brain swelling measured by diffusion-weighted imaging. *J Neurosurg.* 1997;87(6):900–7.
27. Luh C, Kuhlmann CR, Ackermann B, Timaru-Kast R, Luhmann HJ, Behl C, et al. Inhibition of myosin light chain kinase reduces brain edema formation after traumatic brain injury. *J Neurochem.* 2010;112(4):1015–25.
28. Başkaya MK, Rao AM, Doğan A, Donaldson D, Dempsey RJ. The biphasic opening of the blood-brain barrier in the cortex and hippocampus after traumatic brain injury in rats. *Neurosci Lett.* 1997;226(1):33–6.
29. Habgood MD, Bye N, Dziegielewska KM, Ek CJ, Lane MA, Potter A, et al. Changes in blood-brain barrier permeability to large and small molecules following traumatic brain injury in mice. *Eur J Neurosci.* 2007;25(1):231–8.
30. Pasantes-Morales H, Cruz-Rangel S. Brain volume regulation: Osmolytes and aquaporin perspectives. *Neuroscience* [Internet]. 2010;168(4):871–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.11.074>
31. Aoki K, Uchihara T, Tsuchiya K, Nakamura A, Ikeda K, Wakayama Y. Enhanced expression of aquaporin 4 in human brain with infarction. *Acta Neuropathol.* 2003;106(2):121–4.
32. Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin-4 and brain edema. *Pediatr Nephrol.* 2007;22(6):778–84.
33. Ding JY, Kreipke CW, Speirs SL, Schafer P, Schafer S, Rafols JA. Hypoxia-inducible factor-1 α signaling in aquaporin upregulation after traumatic brain injury. *Neurosci Lett.* 2009;453(1):68–72.
34. Tran ND, Kim S, Vincent HK, Rodriguez A, Hinton DR, Bullock MR, et al. Aquaporin-1-mediated cerebral edema following traumatic brain injury: Effects of acidosis and corticosteroid administration. *J Neurosurg.* 2010;112(5):1095–104.
35. Manley GT, Fujimura M, Ma T, Noshita N, Filiz F, Bollen AW, et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med.* 2000;6(2):159–63.
36. Grossetete M, Phelps J, Arko L, Yonas H, Rosenberg GA. Elevation of matrix metalloproteinases 3 and 9 in cerebrospinal fluid and blood in patients with severe traumatic brain injury. *Neurosurgery.* 2009;65(4):702–8.
37. Hayashi T, Kaneko Y, Yu SJ, Bae EK, Stahl CE, Kawase T, et al. Quantitative analyses of matrix metalloproteinase activity after traumatic brain injury in adult rats. *Brain Res* [Internet]. 2009;1280:172–7. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2009.05.040>

38. Vilalta A, Sahuquillo J, Rosell A, Poca MA, Riveiro M, Montaner J. Moderate and severe traumatic brain injury induce early overexpression of systemic and brain gelatinases. *Intensive Care Med.* 2008;34(8):1384–92.
39. Asahi M, Wang X, Mori T, Sumii T, Jung JC, Moskowitz MA, et al. Effects of matrix metalloproteinase-9 gene knock-out on the proteolysis of blood-brain barrier and white matter components after cerebral ischemia. *J Neurosci.* 2001;21(19):7724–32.
40. Donkin JJ, Vink R. Mechanisms of cerebral edema in traumatic brain injury: Therapeutic developments. *Curr Opin Neurol.* 2010;23(3):293–9.
41. Abbott NJ. Inflammatory mediators and modulation of blood-brain barrier permeability. *Cell Mol Neurobiol.* 2000;20(2):131–47.
42. Plesnila N, Schulz J, Stoffel M, Eriskat J, Pruneau D, Baethmann A. Role of bradykinin B2 receptors in the formation of vasogenic brain edema in rats. *J Neurotrauma.* 2001;18(10):1049–58.
43. Trabold R, Erös C, Zweckberger K, Relton J, Beck H, Nussberger J, et al. The role of bradykinin B1 and B2 receptors for secondary brain damage after traumatic brain injury in mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010;30(1):130–9.
44. Zweckberger K, Plesnila N. Anatibant®, a selective non-peptide bradykinin B2 receptor antagonist, reduces intracranial hypertension and histopathological damage after experimental traumatic brain injury. *Neurosci Lett.* 2009;454(2):115–7.
45. Geppetti P, Bertrand C, Ricciardolo FML, Nadel JA. New aspects on the role of kinins in neurogenic inflammation. *Can J Physiol Pharmacol.* 1995;73(7):843–7.
46. Donkin JJ, Nimmo AJ, Cernak I, Blumbergs PC, Vink R. Substance P is associated with the development of brain edema and functional deficits after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* [Internet]. 2009;29(8):1388–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2009.63>
47. Zacest AC, Vink R, Manavis J, Sarvestani GT, Blumbergs PC. Substance P immunoreactivity increases following human traumatic brain injury. *Acta Neurochir Suppl.* 2009;106(106):211–6.
48. Manson J, Thiemermann C, Brohi K. Trauma alarmins as activators of damage-induced inflammation. *Br J Surg.* 2012;99(SUPPL. 1):12–20.
49. Farina C, Aloisi F, Meinl E. Astrocytes are active players in cerebral innate

- immunity. *Trends Immunol.* 2007;28(3):138–45.
50. Gurley, Catherine et al. “Microglia and Astrocyte Activation by Toll-Like Receptor Ligands: Modulation by PPAR-gamma Agonists.” *PPAR research* vol. 2008 (2008): 453120. doi:10.1155/2008/453120
 51. Kumar A, Stoica BA, Sabirzhanov B, Burns MP, Faden AI, Loane DJ. Traumatic brain injury in aged animals increases lesion size and chronically alters microglial/macrophage classical and alternative activation states. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2013;34(5):1397–411. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.11.013>
 52. Colton CA. Heterogeneity of microglial activation in the innate immune response in the brain. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2009;4(4):399–418.
 53. David S, Kroner A. Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2011;12(7):388–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3053>
 54. Jin X, Ishii H, Bai Z, Itokazu T, Yamashita T. Temporal changes in cell marker expression and cellular infiltration in a controlled cortical impact model in adult male C57BL/6 mice. *PLoS One.* 2012;7(7):1–13.
 55. Wang G, Zhang J, Hu X, Zhang L, Mao L, Jiang X, et al. Microglia/macrophage polarization dynamics in white matter after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* [Internet]. 2013;33(12):1864–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2013.146>
 56. Escott KJ, Connor HE, Brain SD, Beattie DT. The involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and substance P in feline pial artery diameter responses evoked by capsaicin. *Neuropeptides.* 1995;29(3):129–35.
 57. Maggi CA, Giuliani S. Role of tachykinins as excitatory mediators of NANC contraction in the circular muscle of rat small intestine. *J Auton Pharmacol.* 1995;15(5):335–50.
 58. Schlereth T, Schukraft J, Krämer-Best HH, Geber C, Ackermann T, Birklein F. Interaction of calcitonin gene related peptide (CGRP) and substance P (SP) in human skin. *Neuropeptides* [Internet]. 2016;59:57–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.npep.2016.06.001>
 59. Nimmo AJ, Cernak I, Heath DL, Hu X, Bennett CJ, Vink R. Neurogenic inflammation is associated with development of edema and functional deficits following traumatic brain injury in rats. *Neuropeptides.* 2004;38(1):40–7.
 60. Corrigan F, Mander KA, Leonard A V., Vink R. Neurogenic inflammation after traumatic brain injury and its potentiation of classical inflammation. *J*

- Neuroinflammation [Internet]. 2016;13(1):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-016-0738-9>
61. Cecchelli R, Berezowski V, Lundquist S, Culot M, Renftel M, Dehouck MP, et al. Modelling of the blood - Brain barrier in drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov*. 2007;6(8):650–61.
 62. A L, C A, F G, K G, P C. Tight junctions at the blood-brain barrier: physiological architecture and disease-associated dysregulation. *Fluids Barriers CNS*. 2012;9:23.
 63. Badaut J, Ajao DO, Sorensen DW, Fukuda AM, Pellerin L. Caveolin expression changes in the neurovascular unit after juvenile traumatic brain injury: Signs of blood-brain barrier healing? *Neuroscience* [Internet]. 2015;285:215–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.10.035>
 64. Nag S, Manias JL, Stewart DJ. Expression of endothelial phosphorylated caveolin-1 is increased in brain injury. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2009;35(4):417–26.
 65. Mark W. Greve, MD and Brian J. Zink M. Pathophysiology of Traumatic Brain Injury. *Mt SINAI J Med*. 2009;76:97–104.
 66. Bernal MA, Calderón AA, Pedreño MA, Muñoz R, Barceló AR, de Cáceres FM. Capsaicin Oxidation by Peroxidase from *Capsicum annuum* (Var. *annuum*) Fruits. *J Agric Food Chem*. 1993;41(7):1041–4.
 67. Govindarajan VS. Capsicum-production, technology, chemistry, and quality Part 1: History, botany, cultivation, and primary processing. *C R C Crit Rev Food Sci Nutr*. 1985;22(2):109–76.
 68. Nelson EK, Dawson DE. The constitution of capsaicin, the pungent principle of capsicum. III. *J Am Chem Soc*. 1923;45(9):2179–81.
 69. Barbero GF, Molinillo JMG, Varela RM, Palma M, Macías FA, Barroso CG. Application of Hansch's model to capsaicinoids and capsinoids: A study using the quantitative structure-activity relationship. A novel method for the synthesis of capsinoids. *J Agric Food Chem*. 2010;58(6):3342–9.
 70. De Lourdes Reyes-Escogido M, Gonzalez-Mondragon EG, Vazquez-Tzompantzi E. Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. *Molecules*. 2011;16(2):1253–70.
 71. Tominaga M, Tominaga T. Structure and function of TRPV1. *Pflugers Arch Eur J Physiol*. 2005;451(1):143–50.

72. Purkiss J, Welch M, Doward S, Foster K. Capsaicin-stimulated release of substance P from cultured dorsal root ganglion neurons: Involvement of two distinct mechanisms. *Biochem Pharmacol.* 2000;59(11):1403–6.
73. Szolcsányi J, Oroszi G, Németh J, Szilvássy Z, Tósaki Á. Endothelin release by capsaicin in isolated working rat heart. *Eur J Pharmacol.* 1999;376(3):247–50.
74. Dutta A, Deshpande SB. Mechanisms underlying the hypertensive response induced by capsaicin. *Int J Cardiol [Internet].* 2010;145(2):358–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2010.02.034>
75. Gamse R, Leeman SE, Holzer P, Lembeck F. Differential effects of capsaicin on the content of somatostatin, substance P, and neurotensin in the nervous system of the rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1981;317(2):140–8.
76. Backonja MM, Malan TP, Vanhove GF, Tobias JK. NGX-4010, a High-Concentration Capsaicin Patch, for the Treatment of Postherpetic Neuralgia: A Randomized, Double-Blind, Controlled Study with an Open-Label Extension. *Pain Med.* 2010;11(4):600–8.
77. Prasad BCN, Shrivastava R, Ravishankar GA. Capsaicin: A promising multifaceted drug from *Capsicum* spp. *Evidence-Based Integr Med.* 2005;2(3):147–66.
78. Dray A. Neuropharmacological mechanisms of capsaicin and related substances. *Biochem Pharmacol.* 1992;44(4):611–5.
79. Kashiba H, Ueda Y, Senba E. Systemic capsaicin in the adult rat differentially affects gene expression for neuropeptides and neurotrophin receptors in primary sensory neurons. *Neuroscience.* 1996;76(1):299–312.
80. Woie K, Reed RK. Neurogenic inflammation and lowering of interstitial fluid pressure in rat trachea is inhibited by α -trinositol. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150(4):924–8.
81. Gaetz M. The neurophysiology of brain injury. *Clin Neurophysiol.* 2004;115(1):4–18.
82. Mock C, Joshipura M, Goosen J, Lormand JD, Maier R. Strengthening trauma systems globally: The essential trauma care project. *J Trauma - Inj Infect Crit Care.* 2005;59(5):1243–6.
83. Fan Y, Nan F, Guo B, Liao Y, Zhang M, Guo J, et al. Neuroscience Letters Effects of long-term rapamycin treatment on glial scar formation after cryogenic traumatic brain injury in mice. *Neurosci Lett [Internet].*

- 2018;678(December 2017):68–75. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.05.002>
84. Fan Y, Wang Y, Guo J, Wu M, Zhang M, Niu B, et al. Delayed metformin treatment improves functional recovery following traumatic brain injury via central AMPK-dependent brain tissue repair. 2020;164(August):146–56.
 85. Vink R, Young A, Bennett CJ, Hu X, Connor CO, Cernak I, et al. Neuropeptide release influences brain edema formation after diffuse traumatic brain injury. *Acta Neurochir Suppl.* 2003;(86):257–60.
 86. Klementiev B, Novikova T, Korshunova I, Berezin V, Bock E. The NCAM-derived P2 peptide facilitates recovery of cognitive and motor function and ameliorates neuropathology following traumatic brain injury. 2008;27:2885–96.
 87. Shi W, Gong P, Fan J, Hua Y. The expression pattern of ADP-ribosyltransferase 3 in rat traumatic brain injury. 2012;37–47.
 88. Cao, T et al. “Morphological and genetic activation of microglia after diffuse traumatic brain injury in the rat.” *Neuroscience* vol. 225 (2012): 65-75. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.08.058
 89. Hulsebosch CE, Dewitt DS, Jenkins LW, Prough DS. Traumatic brain injury in rats results in increased expression of Gap-43 that correlates with behavioral recovery. 1998;255:83–6.
 90. Caglayan B, Kilic E, Dalay A, Altunay S, Tuzcu M, Erten F, et al. Allyl isothiocyanate attenuates oxidative stress and inflammation by modulating Nrf2/HO-1 and NF-κB pathways in traumatic brain injury in mice. *Mol Biol Rep* [Internet]. 2019;46(1):241–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-018-4465-4>
 91. Middeldorp J, Hol EM. GFAP in health and disease. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2011;93(3):421–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.01.005>
 92. da Silva Fiorin F, do Espírito Santo CC, do Nascimento RS, Cassol G, Plácido E, Santos ARS, et al. Capsaicin-sensitive fibers mediate periorbital allodynia and activation of inflammatory cells after traumatic brain injury in rats: Involvement of TRPV1 channels in post-traumatic headache. *Neuropharmacology.* 2020;176(May).
 93. Metting Z, Wilczak N, Rodiger LA, Schaaf JM, Van Der Naalt J. GFAP and S100B in the acute phase of mild traumatic brain injury. *Neurology.* 2012;78(18):1428–33.

94. Okonkwo DO, Yue JK, Puccio AM, Panczykowski DM, Inoue T, McMahon PJ, et al. GFAP-BDP as an acute diagnostic marker in traumatic brain injury: Results from the prospective transforming research and clinical knowledge in traumatic brain injury study. *J Neurotrauma*. 2013;30(17):1490–7.
95. Nylén K, Öst M, Csajbok LZ, Nilsson I, Blennow K, Nellgård B, et al. Increased serum-GFAP in patients with severe traumatic brain injury is related to outcome. *J Neurol Sci*. 2006;240(1–2):85–91.
96. Susie Zoltewicz J, Scharf D, Yang B, Chawla A, Newsom KJ, Fang L. Characterization of antibodies that detect human GFAP after traumatic brain injury. *Biomark Insights*. 2012;7:71–9.
97. Pelika LE, Kroepfl A, Leixnering M, Buchinger W, Raabe A, Redl H. GFAP versus S100B in serum after traumatic brain injury: Relationship to brain damage and outcome. *J Neurotrauma*. 2004;21(11):1553–61.
98. Schoettle RJ, Kochanek PM, Magargee MJ, Uhl MW, Nemoto EM. Early Polymorphonuclear Leukocyte Accumulation Correlates with the Development of Posttraumatic Cerebral Edema in Rats. *J Neurotrauma*. 1990;7(4):207–17.
99. Clark RS b., Schiding JK, Kaczorowski SL, Marion DW, Kochanek PM. Neutrophil Accumulation After Traumatic Brain Injury in Rats: Comparison of Weight Drop and Controlled Cortical Impact Models. *J Neurotrauma*. 1994;11(5):499–506.
100. Carlos T, Harlan J. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood*. 1994;84(7):2068–101.
101. Smith CW. Endothelial adhesion molecules and their role in inflammation. *Can J Physiol Pharmacol*. 1993;71(1):76–87.
102. Xiong Y, Mahmood A, Choop M. Models of Tbi Nat Neurosci 2013.Pdf. *Nat Rev Neurosci*. 2013;14(2):128–42.
103. Carlos TM, Clark RSB, Franicola-Higgins D, Schiding JK, Kochanek PM. Expression of endothelial adhesion molecules and recruitment of neutrophils after traumatic brain injury in rats. *J Leukoc Biol*. 1997;61(3):279–85.
104. Muller WA, Weigl SA, Deng X, Phillips DM. PECAM-1 is required for transendothelial migration of leukocytes. *J Exp Med*. 1993;178(2):449–60.
105. Helmy A, De Simoni MG, Guilfoyle MR, Carpenter KLH, Hutchinson PJ. Cytokines and innate inflammation in the pathogenesis of human traumatic brain injury. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2011;95(3):352–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.09.003>

106. Taupin V, Toulmond S, Serrano A, Benavides J, Zavala F. Increase in IL-6, IL-1 and TNF levels in rat brain following traumatic lesion. Influence of pre- and post-traumatic treatment with Ro5 4864, a peripheral-type (p site) benzodiazepine ligand. *J Neuroimmunol.* 1993;42(2):177–85.
107. Lee JG, Yon JM, Lin C, Jung AY, Jung KY, Nam SY. Combined treatment with capsaicin and resveratrol enhances neuroprotection against glutamate-induced toxicity in mouse cerebral cortical neurons. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2012;50(11):3877–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.040>
108. Rhodes JKJ, Andrews PJD, Holmes MC, Seckl JR. Expression of interleukin-6 messenger RNA in a rat model of diffuse axonal injury. *Neurosci Lett.* 2002;335(1):1–4.
109. Shohami E, Novikov M, Bass R, Yamin A, Gallily R. Closed head injury triggers early production of TNF α and IL-6 by brain tissue. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1994;14(4):615–9.
110. Hans VHJ, Kossmann T, Lenzlinger PM, Probstmeier R, Imhof HG, Trentz O, et al. Experimental axonal injury triggers interleukin-6 mRNA, protein synthesis and release into cerebrospinal fluid. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999;19(2):184–94.
111. Kossmann T, Hans V, Imhof HG, Trentz O, Morganti-Kossmann MC. Interleukin-6 released in human cerebrospinal fluid following traumatic brain injury may trigger nerve growth factor production in astrocytes. *Brain Res.* 1996;713(1–2):143–52.
112. Chiaretti A, Piastra M, Polidori G, Di Rocco C, Caresta E, Antonelli A, et al. Correlation between neurotrophic factor expression and outcome of children with severe traumatic brain injury. *Intensive Care Med.* 2003;29(8):1329–38.
113. Hicks RR, Li C, Zhang L, Dhillon HS, Prasad MR, Seroogy KB. Alterations in BDNF and trkB mRNA levels in the cerebral cortex following experimental brain trauma in rats. *J Neurotrauma.* 1999;16(6):501–10.
114. Griesbach GS, Hovda DA, Molteni R, Gomez-Pinilla F. Alterations in BDNF and synapsin I within the occipital cortex and hippocampus after mild traumatic brain injury in the developing rat: Reflections of injury-induced neuroplasticity. *J Neurotrauma.* 2002;19(7):803–14.
115. Mettang M, Reichel SN, Lattke M, Palmer A, Abaei A, Rasche V, et al. IKK2/NF- κ B signaling protects neurons after traumatic brain injury. *FASEB J.* 2018;32(4):1916–32.

116. Li X, Yu J, Ma D, Weng X. Edaravone improves the post-traumatic brain injury dysfunction in learning and memory by modulating Nrf2/ARE signal pathway. *Clinics*. 2021;76(15):1–7.
117. Krämer T, Grob T, Menzel L, Hirnet T, Griemert E, Radyushkin K, et al. Dimethyl fumarate treatment after traumatic brain injury prevents depletion of antioxidative brain glutathione and confers neuroprotection. *J Neurochem*. 2017;143(5):523–33.
118. Zhu W, Ding Y, Kong W, Li T, Chen H. Docosahexaenoic Acid (DHA) Provides Neuroprotection in Traumatic Brain Injury Models via Activating Nrf2-ARE Signaling. *Inflammation*. 2018;41(4):1182–93.

10.ETİK KURUL ONAYI



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İmü-Hadyek) Kararı

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
23/05/2022	32		Prof. Dr. ERTUĞRUL KILIÇ

"Kapsaisin'in Farelerde Travmatik Beyin Hasarı Sonrası Nöroprotektif Etkileri" başlıklı bilimsel araştırma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna "**Oybirliği**" ile karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 5 yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Çağlar BEKER	
Üye	Doç. Dr. İlknur KESKİN	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Neşe AYŞIT	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Arzu ŞAKUL	
Üye	Uzm.Vet. Hek. Ekrem Musa ÖZDEMİR	
Üye	NİLAY ATEŞ	
Üye	Cem GÜNEŞ	
Üye	Burak Sefa DERİBAŞ	