



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**LİTYUMUN AKUT VE KRONİK DÖNEMDE TRAVMATİK BEYİN
HASARI SONRASI BEYİN HASARI VE DAVRANIŞ ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİ**

ELVAN ÇİFTÇİ

SİNİRBİLİM ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. ERTUĞRUL KILIÇ

İSTANBUL-2020

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimim başlangıcından itibaren, üzerimde emeği geçen, değerli bilgi ve deneyimlerini aktararak mesleki eğitimime ve kişisel gelişimime katkı sağlayan Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde başta Prof. Dr. Turgay Dalkara, Prof. Dr. Yasemin Özdemir, Prof. Dr. Müge Yemişçi Özkan olmak üzere tüm değerli hocalarıma, çalışanlarına ve arkadaşlarıma ve İstanbul'a gelişimle tez aşaması için yatay geçişime yardımcı olan Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde Prof. Dr. Gürkan Öztürk ve tüm hocalarıma, bu tezdeki tüm deneyleri yapabilmemi, sonuçları değerlendirebilmemi ve yazabilmemi sağlayan, mesai sonrası çalışmalarımı birçok zorluğa rağmen destekleyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Ertuğrul Kılıç'a en derin saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Kılıç laboratuvarında çalışan bu süreçte destek olan, fikir veren, çalışmanın yapılmasına yardımcı olan Ahmet Burak Çağlar, Mustafa Çağlar Beker, Berrak Çağlayan, Taha Keleştemur, Esra Yalçın, Serdar Altunay, Aysun Dilden, Elif Sertel, Arman Dalay, Zeynep Balçıkan, Reyda Karaçay, Mehmet Özgen Altıntaş ve Nilay Ateş olmak üzere tüm ekibe teşekkür ediyorum.

İstanbul Medipol Üniversitesi REMER ve MEDİTAM bünyesinde çalışan Ali Şenbahçe ve Musa Ekrem Özdemir yardımcı olan, yol gösteren herkese teşekkür ederim.

Tez sürecini birlikte geçirdiğimiz, varlıkları ile mutlu eden, desteklerini esirgemeyen Hanife Pekel ve Metehan İlter'e teşekkür ederim.

Ayrıca beni yetiştiren, maddi manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, değerli anneme ve babama, halama, kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	I
BEYAN	II
TEŞEKKÜR	III
TABLolar LİSTESİ	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
1- ÖZET	1
2- ABSTRACT	2
3-GİRİŞ VE AMAÇ	3
4-GENEL BİLGİLER	4
4.1. Travmatik beyin hasarının patofizyolojisi	5
4.1.1.Akut, birincil hasar..	5
4.1.2.Nöroinflamasyon mekanizması	6
4.1.3.Network bozulması	7
4.1.4.Travmatik beyin hasarının uzun dönem sonuçları.....	8
4.1.5.Travmatik beyin hasarında geç nöropatoloji.....	10
4.2. Travma sonrası depresyon	11
4.3. Hücre ölüm çeşitleri	13
4.3.1. Apoptoz	14

4.3.2. Nekroz	14
4.3.3. Otofaji.....	14
4.4. Fonksiyonel geri kazanım	14
4.4.1 Plastisite.....	14
4.5. Travmatik beyin hasarında olası klinik	
tedaviler.....	15
4.5.1. Antiinflamatuvar Ajanlar	15
4.5.2. Eritropoietin.....	16
4.5.3. Statin.....	16
4.5.4. Biyofarmösitikler.....	17
4.5.5. Girişimsel Olmayan	
Müdahaleler.....	17
4.5.6. Lityumun Etkileri... ..	17
4.6. Travmatik Beyin Hasarı ve	
GSK3.....	18
4.7. Lityum tuzlarının nöroprotektif ve terapötik potansiyeline yeni bir bakış	19
4.7.1. Preklinik kanıt ve moleküler	
mekanizma.....	19
4.7.2. Lityumve GSK-	
3.....	<u>20</u>
5-MATERYAL VE METOT	25
5.1. Deney dizaynı ve deneysel	
gruplar.....	25
5.2. Deneysel travmatik beyin hasarı	
modeli.....	25
5.3. Deneyin sonlandırılması ve beyinden örnek	
alınması.....	<u>26</u>
5.4. Cresyl Violet	
Boyanması.....	26

5.5. DNA kırıklarının In-situ Hücre Ölüm Kiti (TUNEL) ile belirlenmesi.....	
.....27	
5.6. Hücre içi sinyal yolları ile ilgili proteinlerin seviyelerinin Western Blot yöntemiyle belirlenmesi	27
5.6.1. Protein İzolasyonu	27
5.6.2. Protein konsantrasyonlarının ölçülmesi	28
5.6.3. Western Blot.....	28
5.6.4. Stripleme.....	29
5.6.5. Hipokampüste Çift Immün Boyama ile Nörogenez Analizi.....	29
5.6.6. Değerlendirme ve İstatistik.....	29
5.7. Fonksiyonel geri kazanım ile ilgili testi.....	30
5.7.1. RotaRod ile motor koordinasyonun değerlendirilmesi	30
5.7.2. Aydınlık- Karanlık testi ile anksiyetenin değerlendirilmesi.....	30
5.7.3. Kuyruktan Asma testi ile depresyonun değerlendirilmesi	30
5.8. İstatistik.....	31
6-BULGULAR	32
6.1. Akut dönemde hasar hacmi.....	32
6.2. Akut dönemde TUNNEL ile apoptotik hücre tespiti	33
6.3. Akut dönemde protein miktarındaki değişimler (Western blot Sonuçları)	
35	
6.4. Kronik dönemde fonksiyonel geri kazanım ile ilgili testler	39
6.5. Kronik dönemde Cresyl- violet ile beyin alanlarının karşılaştırılması.....	41
6.6. Hipokampüste Çift Immün Boyama ile Nörogenez Analizi.....	46

6.7.Ölüm	
Oranları.....	47
7-TARTIŞMA	48
8-SONUÇ.....	55
9-KAYNAKLAR.....	56
10-ETİK KURUL ONAYI.....	73
11-ÖZGEÇMİŞ.....	75



Tablolar Listesi

Tablo 1 : Travmatik beyin hasarının uzun dönem sonuçları
.....8

Şekiller Listesi

Şekil 6.1.1: Akut dönem grubunda hasar hacimlerinin karşılaştırması.....32

Şekil 6.2.1: Akut dönemde kortekste TUNNEL(+) hücre sayısı.....33

Şekil 6.2.2: Akut dönemde hipokampüste TUNNEL(+) hücre sayısı.....34

Şekil 6.3.1: Fosforile/ toplam Akt yüzdeleri.....35

Şekil 6.3.2: Fosforile/ toplam Erk-1 yüzdeleri
.....35

Şekil 6.3.3: Fosforile/ toplam Erk-2
yüzdeleri..... 34

Şekil 6.3.4.: Fosforile/ toplam Jnk- 1
yüzdeleri..... 36

Şekil 6.3.5 : Fosforile/ toplam Jnk- 2 yüzdeleri
.....37

Şekil 6.3 6: Fosforile/ toplam p38 yüzdeleri
.....37

Şekil 6.3.7: Fosforile/ toplam p53 yüzdeleri.....	38
Şekil 6.3.8: Fosforile/ toplam Gsk-3 α yüzdeleri.....	38
Şekil 6.3.9: Fosforile/ toplam Gsk-3 β yüzdeleri.....	39
Şekil 6.4.1: Kuyruktan asma testi hareketlilik süreleri.....	39
Şekil 6.4.2: Kuyruktan asma testi hareketsizlik süreleri.....	40
Şekil 6.4.3: Motor koordinasyon testi.....	40
Şekil 6.4.4: Aydınlık- karanlık testi karanlıkta geçen süre.....	39
Şekil 6.5.1: Kronik dönemde beyin hacimleri.....	41
Şekil 6.5.2: Kronik dönemde hasar hacimleri.....	42
Şekil 6.5.3: Kronik dönemde ipsilateral striatum hacimleri.....	42
Şekil 6.5.4: Kronik dönemde kontralateral striatum hacimleri.....	43
Şekil 6.5.5: Kronik dönemde ipsilateral korpus kallosum hacimleri	43
Şekil 6.5.6: Kronik dönemde kontralateral korpus kallosum hacimleri	44

Şekil 6.5.7: Kronik dönemde ipsilateral hipokampus hacimleri	44
Şekil 6.5.8: Kronik dönemde kontralateral hipokampus hacimleri	45
Şekil 6.5.9: Kronik dönemde ipsilateral hemisfer hacimleri.....	45
Şekil 6.5.10: Kronik dönemde kontralateral hemisfer hacimleri	46
Şekil 6.5.11 : Kronik dönemde hipokampuste hücre profilerasyonun ve nörogenezin BrdU/ NeuN immunohistokimyasal boyama ile gösterilmesi.....	46
Şekil 8.1: Lityumun etki yolları.....	55

1. ÖZET

LİTYUMUN AKUT VE KRONİK DÖNEMDE TRAVMATİK BEYİN HASARI SONRASI BEYİN HASARI VE DAVRANIŞ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Travmatik beyin hasarı, glutamatın aşırı salınmasına sebep olarak serbest radikal oluşumu ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Lityum, bipolar tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ilaç olup nörodejeneratif hastalıklarda hayvan modellerinin birçoğunda nöroprotektif etkilere sahiptir. Travmatik beyin hasarında akut ve kronik lityum tedavisinin, davranışsal ve hücresel düzeyde etkileri incelenmiştir. Travmatik beyin hasarından hemen sonra (akut) ve travma öncesinde 3 gün (profilaktik) lityum tedavisi (2 mmol/kg) hasar hacmini, korteks ve hipokampüste apoptozu azaltmıştır. Akut grupta, hasar sonrası 24. saatte fosforile Akt, Erk-1 / 2, GSK-3 α / β seviyeleri artmış, fosforile JNK-1/ 2, p38 ve p53 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler gözlenmemiştir. Kronik sette (lityum 0,2- 2 mmol/kg ve kontrol grubu, 35 günlük takip), kuyruktan asma testinde en hareketli, dolayısıyla en az depresif lityum 2 mmol/kg grubu olarak gözlenmiştir. Motor koordinasyon rotarod testi ile değerlendirilmiş olup üç grup istatistiksel olarak benzer olup lityum 2 mmol/kg grubunun en iyi motor koordinasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Anksiyete seviyeleri aydınlık- karanlık testinde değerlendirildi, üç grubun anksiyete seviyeleri zaman içinde azalmış olup lityumun karanlıkta geçen süre, anksiyete üzerinde hiç bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Hasarın olduğu tarafta, korpus kallozum ve striatum alanlarının lityum 2 mmol/kg grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede korunduğu gözlemlenmiştir. Hemisfer ve hipokampus alanları lityum tedavisinden etkilenmediği görülmüştür. Elde ettiğimiz bulgularımız, lityumun Akt, Erk 1/ 2, Gsk 3 α / β mekanizmaları üzerinden travmatik beyin hasarında özellikle korteks ve hipokampüste nöroprotektif etkilerinin olduğunu göstermektedir. Kronik / Subakut grubunda hasar hacminin yüksek doz lityum grubunda belirgin olarak azaldığı görülmüştür. Lityum, nöronları TBH'dan korurken, uzun süre düşük doz lityum kullanımı hipokampal atrofi ve nörogenezde azalmaya sebep oldu.

Anahtar Sözcükler: Hücre sinyal iletimi ,Hipokampal hacim, Lityum, Travmatik beyin hasar

2. ABSTRACT

EFFECTS OF LITHIUM ON BRAIN INJURY AND BEHAVIOUR AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY BOTH IN ACUTE AND CHRONIC TIME PERIOD

Traumatic brain injury (TBI) causes excess glutamate release and free radical formation, as a result cell death. Lithium is widely used in the treatment of bipolar disorder and have unexpected neuroprotective effects in a variety of animal models of neurodegenerative diseases. Acute and chronic treatment with lithium for traumatic brain injury, both behavioral and cellular level effects were evaluated in this study. Just after traumatic brain injury (acute) and pretreatment (prophylactic for 3 days) with lithium (2 mmol/kg) had reduced injury volume, apoptosis both in cortex and hippocampus. In the acute group, phosphorylated Akt, Erk-1 / 2, GSK-3 α / β levels were increased, phosphorylated Jnk-1/ 2 , p38, p53 levels had not changed statistically important at the 24 hour after injury. In the prophylactic group, only GSK-3 α / β levels decreased statistically important. In the chronic set (lithium 0,2- 2 mmol/kg and control groups, 35 days followup), lithium 2 mmol/kg group was the most mobile so least depressed in the tail suspension test. Motor coordination was assessed by rotarod test, three groups were similar statistically but lithium 2 mmol/kg group has the best motor coordination. Anxiety levels were assessed by light-dark test, with time all groups' anxiety levels were decreased, but lithium had no effect on the time passed in the dark. Injury volume has decreased in the lithium 2 mmol/kg statistically different, but not statistically different in lithium 0,2 mmol/ kg. Ipsilateral to injury site, corpus callosum and striatum areas were the biggest in the lithium 2 mmol/ kg statistically different. Hemisphere and hippocampus areas had not affected from lithium treatment. As a conclusion, our findings indicate that lithium treatment has neuroprotective effect on the cortex and hippocampus via Akt, Erk 1/ 2, Gsk 3 α / β signaling. Lithium treatment protects neurons from TBI. However, long term particularly low-dose lithium causes hippocampal atrophy and decreased neurogenesis.

Keywords: Cell signaling, Hippocampal volume, Lithium, Traumatic brain injury

3.GİRİŞ VE AMAÇ

Travmatik beyin hasarı (TBH), dünya genelinde önemli bir sağlık ve sosyoekonomik problemdir [1], [2]. Yüksek gelirli ülkelerde gençlerde ölüm ve sakatlığın önde gelen sebeplerindendir ve düşük ve orta gelirli ülkelerde motor kullanımında artışa bağlı dünya genelinde TBH'nın insidansı hızla artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, 2020 yılına kadar, trafik kazaları dünya genelinde üçüncü en önemli hastalık ve yaralanma sebebi olacağını öngörmektedir [3]. TBH; glutamatın aşırı salınmasına bağlı olarak serbest radikal oluşumu ve hücre ölümüne sebep olmaktadır. TBH'nın karışık patolojisi birçok hayatta kalım ve ölüm yollarını etkileyen bir ajan ile tedaviyi gerektirmektedir[4]. Lityum, 60 yıldır bipolar bozukluğun(BB) tedavisinde kullanılmaktadır. Birçok yolağı etkilemesi sebebiyle, hayvan modellerinde nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde de etkili olduğu gösterilmiştir [5].

Bu tezde lityumun travmatik beyin hasarı sonrası *in vivo* şartlarda akut dönemde; i) nöronal hayatta kalım, hasar hacmi, ii) apoptotik hücre ölümü, iii) ölüme ve hayatta kalıma aracılık eden sinyal iletim yolları; kronik dönemde; iv) beyin alanları ve hasar hacmi, v) işlevsel düzelme ve davranışsal değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda sıvı nitrojenle soğuk travmatik beyin hasarı [6]–[8] kullanılarak, lityumun TBH üzerindeki etki mekanizmaları incelenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular ile, travmatik beyin hasarı gibi nöropsikolojik ve nörodejeneratif hasara karşı tedavide lityumun ya da alt mekanizmasındaki moleküllerin katkı sağlaması beklenmektedir.

4.GENEL BİLGİLER

TBH, toplum için ciddi ekonomik yüke sebep olan uzun dönem sakatlık ve ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Epidemiyolojik araştırmalar, TBH için değişen hasar belirteçleri ve farklı yollar ile tanımlama yöntemleri olup altın standart tanı yöntemi olmadığı için, TBH'nı heterojen bir halk sağlığı sorunu olarak tanımlamaktadır. Hem olay hem de tekrarlayan TBH'dan kaynaklanan hasar yüküne bağlı diğer bir heterojen sonucun ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Ancak, birçok çalışma atletler üzerinde odaklandığı için genel toplumda tekrarlayan TBH'nın epidemiyolojik karakteri ayrıntılı olarak araştırılmamıştır. Tekrarlayan hasar hafif olduğunda, daha kötü sonuçlara sebep olabilmektedir. Akut fazda, tek TBH maruziyeti ile karşılaştırıldığında tekrarlayan TBH ya maruz kalan bireylerde daha uzun sürede daha fazla hasar geliştiği bilinmektedir. Daha şiddetli konküzyon sonrası belirtiler ve psikiyatrik komorbiditeler de açığa çıkabilmektedir. Uzun dönemde, tekrarlayan kafa travmaları, artmış intihar ve kronik travmatik ensefalopati riskine de neden olabilmektedir [9].

TBH sağlık ve iyi olma üzerinde yaşamboyu ve dinamik etkilere sahiptir[10]. Uzun dönemdeki etkilerini vurgulayan çalışmalar, birçok hasta için kronik sağlık sorunu olarak ele almıştır. TBH sonrası fonksiyonel sonuçların hasar sonrası 20 yıla kadar gelişme ve gerilemelerin olduğunu ve belirli nedenlere bağlı tüm ölümlerin birçok yıl boyunca yüksek kaldığı gösterilmiştir. TBH, epilepsi, inme, nörodejeneratif hastalıkları da içeren nörolojik hastalıkların birçoğu için risk faktörü oluşturmaktadır. TBH sonrası nörodejenarasyona atfen, kronik travmatik ensefalopatiyi içeren, en iyi polipatoloji olarak ifade edilebilen uzun dönemde hasar sonrası nöropatoloji hakkındaki postmortem çalışmalar, karışık devam eden ve gelişen anomaliler tanımlamıştır [10].

TBH için hastanede tedavi görenlerden yola çıkarak yapılan tahminler, US toplumunda %1.1'inde yaşamboyu bu hasara bağlı sakatlık olduğunu, hastaneye başvurmayanlarla birlikte bu oranın üç katından daha fazla olduğu tahmin edilmektedir [11].

4.1.Travmatik beyin hasarının patofizyolojisiİki ayrı faza sahiptir [12], [13]

- 1) Akut, Birincil Hasar
- 2) Gecikmiş, İkincil Hasar

4.1.1.Akut, birincil Hasar

Birincil hasar, tam olarak hasar esnasında ve beyini oluşturan hücrelerin bütünlüğünün mekanik güçlerle bozulmasından kaynaklanır[14]. Şiddeti subklinikten hafif- orta- şiddetliye doğru gelişir. Subklinik ve hafif birincil nöronla hasar, plazma membranında gerilmeye bağlı bir dizi zarar veren olaydan oluşur[15]. Membranın hızla gerilmesi ile iyonların akım düzeni bozulup Na^+ içeri, K^+ dışarı çıkışı dahil iyon dengesi düzensizleşir, Ca^{++} iyonlarının hücre içinde artar. Subklinik ve hafif TBH ile ilişkili kalsiyum düzensizliği, hücre içinde birçok yankılanmaya sebep olmaktadır. Kalsiyum, sitozolik proteinleri parçalayan kalpaini aktive eder, N-methyl-D-aspartate (NMDA) aktivasyonu ile glutamat salınımı ile sitozolik ve mitokondriyal kalsiyum seviyeleri artar[13]. Artmış mitokondriyal kalsiyum mitokondriyal disfonksiyona sebep olur, yetersiz oksidatif fosforilasyon, reaktif oksijen(ROS) birikimi, kaspaz aktivasyonu ve nöronal apoptoza sebep olmaktadır. Artmış ROS lipid peroksidasyonu, sağkalımla ilgili normal membran sinyal yollarında (ör:Rho GTPases and TrkB sinyali) değişkenliğe sebep olmaktadır [16]. Yetersiz oksidatif fosforilasyon, laktat üretiminde artış, asidoz, artmış serebral kan akımı, ödem, iskemi ve daha da artan nöronal hasara sebep olmaktadır. Mitokondriyal disfonksiyon enerji üretiminde dengesizliğe sebep olmaktadır. İyonik homeostazı düzenlemeye yönelik, nöronlar membran iyon pompa aktivitesinde artırarak glukoz tüketiminde artış, hücresel enerji azalması, mitokondriye kalsiyum giriş artışı, mitokondriyal ve sellüler disfonksiyon döngüsünü amplifiye eder.

Hafif TBH

Nöronlarda, tekrarlayan hafif TBH, anormal protein agregatları ve nörofibriller tangle (taupathy) birikimiyle ilişkili olup aksonal taşınımı bozar.

Bozulmuş aksonal taşıma birçok nörodejeneratif hastalık için ortak alt mekanizmadır. Tekrarlayan hafif TBH'ı dementia pugilistica and pugilistic parkinsonism gibi durumlarla ilişkilidir. Hasara hassas yapılar sadece nöronlar değildir, mikrogliaların hasara maruziyeti sonucu, diğer bağışıklık hücrelerini çeken ve aktive eden sitokinler salınır, hasar bölgesinde inflamatuvar kaskadı başlatır. Kan beyin bariyeri (KBB)'de endotel hücrelere olan hasar, tight junctionların gevşemesine, ödem artışına, kafa içi basıncın artmasına, BOS azalmasına, iskemi artışına ve hücre ölümüne sebep olmaktadır. Hasarlı astrositler, TGF-B reseptörü aracılığıyla albumin alınmasına sebep olmaktadır. Bu da elektrolit imbalansı ve nöbet eşiğinde düşmeye sebep olmaktadır. Aynı zamanda, hasarlı astrositler glutamat metabolizmasında bozulmaya ve eksitotoksositeye sebep olur. Agregatlarda, artmış nöbet frekansı ve glutamata bağlı hasar, nöronal ölümü daha da artırır. TBH, mitotik (mikroglia ve astrosit) ve non-mitotik hücrelerde(nöronlarda) hücre döngüsünü indükler [17]. Bu da, mikroglia ve astrositlerde nöroinflamasyona ve glial skar oluşumuna sebep olur, nöronlarda apoptoza yol açar.

Orta ve ağır derece TBH

Orta ve ağır derece TBH'ı kafatası kırığı, hematoma, nöron, glia ve endotel hücrelerinde beyin dokusunda ani hasarlanmaya sebep olmaktadır [18]. Hücreler hasarda sadece kaybolmaz, aynı zamanda toksik maddelerin komşu hücrelere salınmasına sebep olmaktadır. Sitokin, ROS, nörotransmitter ve matriks metalloproteinazlarla sınırlı olmayan bazı toksinleri içerir. Bu maddelerin salınması hasarları artırır. Hasarlı kortekste, proapoptotik proteinlerin artışıyla birlikte mikroRNA'ların ekspresyonu uyarılır.

4.1.2. Nöroinflamasyon Mekanizması

KBB, sistemik dolaşım sistem bileşenlerini kısıtlamak için SSS'e girişi kısıtlar. Tek istisna, normal fizyolojik koşullar altında beyin parenkiminde yer alan yerleşik mikroglia, hücresel atık ve toksik maddelerin fagosit aracılığıyla temizlenmesini sağlar. Debris ve toksinlerin temizlenmesi, mikroçevrenin homeostazını dengeler ve sinaptik budanmaya yardımcı olur. Hasara kadar, tekrarlayan hafif TBH veya tek orta ya da şiddetli TBH, nöron, mikroglia ve

astrositlerden birçok maddenin salınmasına sebep olur. Bazı salınan maddeler antiinflamatuvar (nörotrofin, IL-4, IL-13, prostaglandin) diğerleri ise proinflamatuardır[19], [20]. KBB, TBH'a bağlı ikincil hasarın gelişmesinde anahtar roldedir[20]. KBB bileşenleri hasara karşı hassas olan endotel hücrelerini, perisitleri ve astrositleri içerir. Daha önce de bahsedildiği gibi, endotel hücre hasarı, sıkı bağlantıların gevşemesine, occludin ve claudin tight bağlantı proteinlerinin sentezinde azalmaya sebep olarak bu fenotipe katkı yapar. Perisit hasarı, sitokin, NO, MMP salınmasına sebep olur [21], [22].

Aktive mikroglia salınımı, astrositleri aktive eden sitokinleri etkiler[20] Mikroglialar gibi, aktive astrositler hem yapıcı hem de yıkıcı etkilere sahiptir. Eksitotoksik glutamat salınımı seviyelerinin düzenlenmesi gibi, nörotrofik faktörlerin salınımı artırarak[23] nöronal ölüme karşı korur ve gelecek aksonal büyüme için rehberlik yapar. Uzamış astrosit aktivasyonunun yıkıcı sonucu, glial yara oluşumudur. Bu glial skar, aksonal rejenerasyonu inhibe eden nöronal ağlar arasında fiziksel ve kimyasal bariyeri oluşturur. Nöronal network arasında bağlantı bozukluğu, dikkat, hafıza ve yürütücü fonksiyonlar gibi TBH'a bağlı bilişsel hasarlara katkı yapar[24], [25].

4.1.3. Network bozulması

TBH'daki hasarlar, fokal ve difüz multifokal olarak ayrılır. Fokal hasarın şiddeti, TBH sonrası zayıf klinik çıktısı için pozitif prediktördür. Difüz aksonal hasar (DAH), TBH sonrası süregelen bilişsel bozulma ile iyi korelasyon gösterir. DAH ve klinik çıktı arasındaki güçlü ilişki, yüksek bilişsel işlevlerin beyin networkleri arasında iyi iletişimini gerektirir[26].

Yüksek düzeyde bilişsel işlevler için iki network kritiktir.

- 1) Beynin Varsayılan Durum Ağı (Default Mode Network) (DMN)
- 2) Dikkat çekicilik Şebekesi (Salience network) (SN)

DMN için iki çekirdek nod, posterior singulat korteks ve ventromedial prefrontal kortekstedir. DMN aktivasyonu, iç odaklanma esnasında otomatik görevlerin

gerçekleştirilmesinde etkindir[27]. SN, odak dışı uyarana doğru yönlendirildiğinde gerçekleşir. İçsel uyarana azaldığında, dış uyarana karşı dikkat yön değiştirir. SN ile DMN arasındaki iletişim, bu yeniden yönlendirme için kritiktir. Dışsal uyarılar esnasında, SN, DMN ile etkileşerek onun aktivitesini azaltır. TBH sonrası, SN, DMN ile iletişim açısından zayıflar, içerden dışarıya odağın kayması bozulur. SN bu yetersizliği, DMN'i downregüle edip TBH ile ilişkili bilişsel bozulmalara sebep olur. Tüm bunların kökeninde, aksonal hasara ikincil bozulma ve bağlantı bozukluğu vardır. Bu iki ağın arasındaki bağlantıyı artırmaya yönelik terapiler TBH'a bağlı bilişsel eksikliklerin kuvvetlendirilmesinde umut vaat eden stratejidir [28], [29].

4.1.4. Travmatik beyin hasarının uzun dönem sonuçları

Tablo1: Travmatik beyin hasarının uzun dönem sonuçları[12]

.....

Travmatik beyin hasarının uzun dönem sonuçları

Hareketlilikte kısıtlama ve sakatlık

Sosyal katılımda azalma (ör: İşsizlik)

Bilişsel eksiklikler

Duygusal sorunlar

Davranışsal değişiklikler

Hastalıklar

Hafif bilişsel bozulma

Nörodejeneratif hastalıklar

-Alzheimer hastalığı veya demans

-Parkinson hastalığı veya parkinsonism

- Lewy cisimcikli demans

- Frontotemporal Demans

- Amyotrofik Lateral Skleroz

-Kronik Travmatik Ensefalopati

Posttravmatik epilepsi

İnme

Nöroendokrin hastalıklar

Psikiyatrik hastalıklar

Ölüm

Sporda karşılaşılan tekrarlayan konküzyonların uzun dönemdeki etkisi en son dikkat çeken alan olmuştur. Konküzyonun olası etkileri, TBH'nın uzun dönemde nörolojik hastalıkların bir risk faktörü olarak anlaşılmasına sebep olmuştur.

Tahmin edilebileceği gibi, hasar sırasında daha yaşlı olmak daha olumsuz sonuçlar ve işlevsellikte daha hızlı düşüş ile ilişkilendirilmiştir. US toplumunda akut yatan hasta rehabilitasyonunda, hasar sonrası beş yılda yaklaşık beş kişiden biri ölmüş; yaşayanların %12 si kurumsal şartlarda yaşamış; %50'si hastaneye yeniden başvurmuştur [30]. Yaşayanların çoğunluğu orta derecede ya da ağır derecede sakatlanmış, üçte birinden fazlası hasar sonrası daha da kötüleşmiştir. Kötüleşmenin tüm yaş gruplarında olması, bunun basit bir şekilde sadece yaş bağımlı olmadığını göstermektedir.

Zaman içindeki işlevselliğin değerlendirilmesi için bireysel büyüme eğrileri, Glasgow Sonuç Ölçümü-Genişletilmiş, TBI Model Systems (TBIMS) ulusal veritabanının tümünde, tipik yörüngenin yaklaşık 10 yılda yavaşça ilerlediğini, plato ve daha sonra gerilediğini gösterir[31]. Uzun dönem uzunlamasına çalışmaların

sonuçları TBH sonrası hem gerileme hem de ilerlemenin olduğunu göstermiştir. Azalmadan tek başına yaşın sorumlu olmadığı ve birincil sebebin sadece bozulmuş biliş olmadığı görülmüştür.

Orta derece ve ağır hasar sonrası, artmış ölüm riski uzun yıllar boyunca devam ettiği görülmüştür, rölatif riskin en fazla 15- 19 yaş arası gençlerde olduğu görülmüştür [30]. Gençler daha çok ikincil hasara bağlı kazalardan- bozulmuş yürütücü işlevleri gösteren; yaşlılar ise kronik tıbbi durum ve komorbiditelere bağlı hayatını kaybetmiştir. Ölüm için risk faktörleri, işlevsel bağımlılık, yaş, hasar öncesi ilaç ve alkol kötüye kullanımı ve hasar öncesi epilepsidir.

Akıl karıştıran bir gözlem ise hafif TBH sonrası da yüksek ölüm oranlarının gözlenmesidir. Bu grupta, ölümün ana belirleyicilerinin, sosyoekonomik düzey ve risk alan davranışlar gibi daha önceden var olan durumun ve yaşam şekli faktörlerinin olduğunu Glasgow çalışması [32] göstermiştir.

Tek bir TBH ile nörodejeneratif hastalık arasındaki ilişki, muhtemelen en yüksek Parkinson hastalığı için iken, Alzheimer hastalığı için bu ilişki daha az kesindir [33].

4.1.5. Travmatik beyin hasarında geç nöropatoloji

Corsellis ve ark[34], 1973'te yaptığı çalışmada boksörlerde dementia pugilisticayı tanımlamıştır. TBH'da geç dönem nörodejerasyon [35], sadece spor veya çevre veya sadece hasar şiddeti ve sıklığına ile ilişkili değil, bu patoloji şu anda kronik travmatik ensefalopati[36](KTE) olarak tanımlanmıştır. KTE için birçok rapor tau nöropatolojisi üzerinde odaklansa da, patoloji karışık gözükmekte amiloid beta ve TDP-43 birikimi, nöroinflamasyon, aksonal dejenerasyon, beyaz cevher dejenerasyonu, nöronal ölüm, kan beyin bariyeri bozulması gibi anomalileri içermektedir[10], [37].

TBH sonrası demans gelişimi, tipik Alzheimer hastalığından daha farklı bir klinik sendrom olarak gözükmektedir, belki de KTE ile ilişkisi daha çoktur [35], [38]

4.2. Travma sonrası depresyon

TBH sonrası en yaygın durumlardan biri depresyondur, ciddi sonuçları olmasına rağmen tedavisiz kalmaktadır[39]. Posttravmatik depresyon (PTD) tedavisi, biyolojik yollardan psikososyal ayarlanmaya kadar uzanan multifaktöryel etiolojisinden dolayı karışıktır. Orta ve ağır dereceli hasarlar arasında, ilk yıl içinde PTD nokta yaygınlığı %30-50 arasında tahmin edilmektedir. PTD, daha fazla hastane yatışı, daha fazla bakımveren yüküne sebep olması, işe dönüşleri azaltması ve sosyal ilişkileri etkilemesi, hayat kalitesini etkilemektedir. En önemlisi hasar sonrası inflamasyona bağlı olmak üzere biyolojik değişikliklerin direk ve indirekt yolla bir sonucu, hasar öncesi kişilik özellikleri ve hasar sonrası sakatlığa uyum içeren psikolojik ve psikososyal faktörler aracılığıyla PTD gelişebilir. Şu andaki etkin tedaviler kısıtlı olmasına rağmen, en iyi yanıtın antidepresan ve bilişsel davranışsal müdahaleler ile olduğunu gösterilmiştir[39].

Psikiyatrik hastalıklar, ilk 5 yıl içinde %75.2'sinde duygudurum, kaygı ve madde kullanım bozuklukları, travmatik beyin hasarı sonrası yaygındır [40]. Bunların %77.7 ilk yıl içinde, yetişkinlerin %42 'si klinik olarak önemli psikiyatrik belirtilerin hasar sonrası 6 ayda açığa çıktığını belirtmektedir. Tüm psikiyatrik hastalıkların %56.5'si, PTD 2/3'ü ilk tanılardır. Orta ve ağır derecede hasar sonrası, birçok zamanda %30 nokta yaygınlığı tahmin edilmektedir[41]. TBH ile ilişkili bireylerde intihar girişimi (5 kat risk artışı) ve tamamlanması genel popülasyona göre daha fazladır.

Depresyon ve TBH; yorgunluk, zayıf dikkat ve uyku bozulması gibi somatik belirtileri paylaşır. Jorge ve ark[42], 66 yetişkin ile yaptığı çalışmada, nerdeyse tüm yetişkinlerde depresif semptomlarda depresif duygudurum var olduğunu göstermiştir. Depresyonu olan ve olmayan bireyleri en iyi ayırt edenin hasar sonrası zamana göre değiştirdiğini; uykuda bozulma ve zayıf dikkat belirtilerinin gruplar arasında hasardan 6 ay sonra belirginleştiğini gösterdi. Depresyona ait en yaygın belirtilerin yorgunluk, distraktibilite, ruminasyon, kendini eleştirme, suçluluk 10 yıl sonrasında depresyonu olan ve olmayan bireyleri en iyi ayırt etmiştir [43]. TBH sonrası depresyonun üzüntü ve ağlamaklıktan daha çok irritabilite, kızgınlık ve öfkeye meyille karakterize olduğu bulunmuştur[43]. Depresyon davranışsal bozukluğu

öncesinde gelir ve zayıf katılım sonuçlarının önemli belirleyicisi davranışsal bozukluktur.

PTD'nun kişisel tedavi yaklaşımlarında ilk adım risk faktörleri ve altta yatan sebeplerin heterojenitesinin anlaşılmasıdır.

TBH sonrası birçok biyolojik mekanizma ile depresyon gelişebilir. Sitokin ve inflamatuvar hücre düzeyi işaretleyicileri, SSS [44], [45] ile yükselebilir. Bu markerlar; nörolojik olarak sağlam yetişkinler, yaşlı yetişkinler, TBH'ını içeren inflamasyonla ilişkili kronik durumlar ile PTD'da ilişkili bulunmuştur. Akut serebral spinal sıvı inflamasyonu, travma sonrası ilk yılda ilişkili bulunmuştur. VCAM-1, sICAM-1, sFAS travma sonrası 6 ayda; akut IL-12'nin beyin omurilik sıvısında 12 ayda artışı depresyon riskiyle ilişkili bulunmuştur[46].

TBH sonrası akut inflamasyon, depresyonla enerji- ilgi azlığı ve iştah azalması gibi benzer özellikler içeren maladaptif 'hastalık davranışı' aracılığıyla depresyona sebep olabilir[47]. Hastalık davranışı başlangıçta adaptif ve vücudu akut hasara/enfeksiyona karşı koruyorken, 3-6 haftadan daha fazla sürdüğünde maladaptif olur[47]. Bu zaman dilimi, akut/adaptif davranıştan kronik/ maladaptif davranışa doğru gelişen depresyonu işaret eder. IL-6 ve TNF-a gibi sinyal molekülleri major depresif dönem(MDD) ile ilişkili bulunmuştur [46]. IL-6 TBH sonrası 3 aya kadar yüksek olup MDD için güvenilir bir biyomarker olarak düşünülmekte iken, PTD için biyomarker olması ile ilgili çalışılması gerekmektedir. Adaptif immün yanıtın [48] oluşması için lenfoproliferatif işlevlerde etkili IL-7'nin PTD ile ilişkisi , preliminary çalışmalarda gösterilmiştir[49]. İlk hafta IL-7 BOS seviyesi, PTD'nun gelişimiyle ters orantılıdır. IL- 6 ve TNF-a kronik strese Brain derived neurotrophic factor (BDNF) seviyelerini etkiler, depresyonun gelişmesine sebep olur[50]. Bir bütün olarak, BDNF risk sınıflandırması ve PTD'un hem önlenmesi hem de tedavisi için olası bir biyomarkerdir.

4.3. Hücre Ölüm Çeşitleri

4.3.1. Apoptoz

Programlı hücre ölümü işlemi, farklı morfolojik karakteristik ve enerji-bağımlı biyokimyasal mekanizmlar ile karakterizedir. Apoptoz, normal hücre döngüsü, immün sistemin uygun gelişim ve işlev görmesi, hormona bağımlı atrofi, embryonik gelişim ve kimyasal tarafından indüklenmiş hücre ölümünü içeren birçok işlev için hayati rolü vardır. Uygun olmayan apoptoz (az veya çok), nörodejeneratif hastalıklar, iskemik hasar, otoimmün hastalıklar ve birçok kanser için gibi durumlarda önemli bir faktördür [51].

İskemi sırasında ekzitotoksisite ile birlikte NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılması sonucu içeri giren Ca^{+2} iyonu mitokondri membranında bulunan anti-apoptotik protein Bcl-2'nin parçalanmasını ve pro-apoptotik protein Bid'in aktive olmasını sağlar[52]. Aktive olan Bid, Bad-Box proteinleri ile birlikte mitokondri membranında delikler oluşturur ve bunun sonucunda mitokondriyel sitokrom c ve apoptoz indükleyici faktör (AIF) mitokondri membranından sitozole çıkar. Sitozole çıkan sitokrom c proteini apoptotik proteaz aktifleyen faktör 1 proteini ve pro-kaspaz 9'a bağlanarak apoptozom kompleksini oluşturur. Sitokrom c'nin ortamda bulunması ve apoptozom kompleksinin oluşması sonucunda kaspaz-3 proteaz enzimi aktive olur ve bu enzimin aktivasyonu sonucunda hücrede DNA hasarı ve apoptotik hücre ölümü meydana gelir. Bu enzimin aktive olmasının dışında kaspazlardan bağımsız bir şekilde AIF'nin nükleusa girmesi DNA'da kırıkların meydana gelmesine sebep olur ve sonrasında apoptotik hücre ölümü meydana gelebilir[53].

Ekstrinsik uyarıda ise, TNF ailesinden herhangi bir ligandın hücre membranında bulunan reseptörlere bağlanarak reseptörü aktive etmesi gerekir. Bu uyarı sonrasında sitokrom c'nin mitokondriden salınmasından bağımsız olarak kaspazlar aktive olup hasarı başlatabilir[54]. Aktive olan reseptörler kaspaz kaskadını başlatır,sırasıyla kaspaz 8 ve kaspaz 10 enzimleri aktive olur ve son olarak kaspaz 3 enzimini aktive ederler. İntrinsik yolda da olduğu gibi kaspaz 3'ün aktive olması, mitokondri membranının bozulmasına, DNA kırıklarının oluşmasına ve hücre ölümüne neden olur [55].

4.3.2. Nekroz

Apoptozdan farklı olarak nekrotik hücre ölümünde sitoplazma vaküüllü bir hale gelir, hücre membranı parçalanır. Parçalanmış hücre membranından hücre içi organellerin ve enflamasyonla ilgili moleküllerin dışarı salınması ile birlikte ölen hücrenin etrafında enflamasyon başlar. Apoptozla kıyaslandığında, nekrozun kontrolsüz hücre ölümü olduğu düşünülse de nekrozda da bazı sinyal yollarının aktive olduğu ve hücre içi moleküller ve biyokimyasal olaylar arasındaki ilişkiyle kontrol edildiği literatürde yapılan bir çalışmada önerilmiştir[56].

4.3.3. Otofaji

Otofaji kısaca hücre membranının organelleri ve sitoplazmadaki makro molekülleri içine alacak şekilde içeri doğru katlanarak, otofagozom oluşturması ve içindeki materyallerin parçalanması için lizozoma taşınması olarak açıklanabilir[57].

4.4. Fonksiyonel geri kazanım

Fonksiyonel iyileşmede görev alan fizyolojik mekanizmalar tam olarak bilinmese de hasarın neden olduğu sürecin önemli rolü olduğu düşünülmektedir.

Plastisiteyi kısaca dışarıdan gelen uyarılara karşı beynin kendi iç nöronal bağlantılarını değiştirmesi olarak tanımlayabiliriz.

4.4.1. Plastisite

Hem olgunlaşmamış hem de yetişkin beyninde hasar sonrası çevresel zenginleştirme denilen (*environmental enrichment, EE*)[58], pozitif bir çevrede bulunmanın hasarın zararlı sonuçlarını azalttığı bilinmektedir. Çevresel zenginleştirmenin nörojenezi, dendritik morfolojinin artırılmasını ve yeni akson uzamasını sağlayarak azalttığı gösterilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalarda beyin-türevli nörotrofik faktör ve sinaptofizin gibi proteinlerin sadece morfolojik değişikliklere sebep olmadığı aynı zamanda iskemi sonrası kognitif parametrelerde de iyileşme sağladığı

gösterilmiştir[59]–[61]. Buna rağmen literatürde çevresel zenginleştirme ve plastisitede rol alan mekanizmalarla ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır.

4.5.Travmatik beyin hasarında olası klinik tedaviler

Antiinflamatuvar, hücre döngüsü inhibitörleri, cAMP’i artıran ajanlar, egzersiz terapisi gibi girişimsel olmayan yöntemler, transkranyal manyetik uyarmı, kök hücre, peptid terapisi ve gen terapisini içeren biyolojik yöntemleri içerir[4], [62].

4.5.1. Antiinflamatuvar Ajanlar

İkincil hasara en iyi katkı, kronik mikroglial aktivasyondan kaynaklanan nöroinflamasyondur. Antiinflamatuvar ve hücre döngüsü durduran ajanlar, TBH’dan kaynaklanan ikincil hasarın ilerlemesini azaltır.

Minosiklin, ikinci jenerasyon tetrasiklin olup nöroprotektif ve potent antiinflamatuvar özellikleri vardır. Özellikle, minosiklin proinflamatuvar sitokinleri (IL-1B ve IL-6), mikrogliozisi inhibe eder, TBH ve spinal kord hasarında nöronal apoptozun önlenmesinde etkili bulunmuştur. Minosiklin tedavisi, spinal kord hasarı olan bir grupta, serum nörofilamentlerini azaltmıştır. Birçok klinik çalışma, minosiklin ile uzun dönem davranış gelişmeleri gösterse de, bazıları sadece nörolojik çıktı da geçici düzelme göstermiştir[63]. Diğer anti-inflamatuvar birleşik ve potansiyel terapötik ajanlar, sentetik peroksizom proliferatör aktive reseptörleri agonistleri (PPAR) dir. Aktivasyonla birlikte, PPAR gen düzenlenmesi için, nucleusa transloke olur. Bazı kanıtlar, PPAR aktivasyonu, iki proinflamatuvar olan iNOS ve COX2’i baskılar. Fenofibrat[64], bir PPARa reseptör agonisti, TBH sonrası inflamasyonu, oksidatif stresi, serebral ödemi azaltmış, davranışları geliştirmiştir. PPAR gama reseptör agonistleri, piaglitazon ve rosiglitazon mikroglial aktivasyonu azaltır, potansiyel olarak IL-4 bağlı mikroglial aktivasyon üzerinden antioksidan ve nöroprotektif şaperon proteinlerini artırır ve davranış ve histolojik çıktıları geliştirir. Bu, hasar çevresini koruyacak, böylece doku yenilenmesi, nörorejenerasyonu artıracak, ikincil hasarın ilerlemesini azaltacaktır. Mikroglial ve astrosit çoğalması, TBH sonrası artacaktır. Ek bir yaklaşım da, hücre süklusu inhibisyonu aracılığıyla glial çoğalmayı önlemektir. Nöronlar gibi postmitotik hücreler hasar sonrası hücre siklusu aktivasyonuna gidecek, eğer kontrol edilemezse nöronal apoptoza yol açacaktır.

Flavopiridol gibi hücre siklus inhibitörleri, siklik- bağımlı kinaz (CDK) inhibisyonu aracılığıyla, nöron, astrosit ve mikrogliaları bloklayarak TBH'a bağlı hasar hacmini azaltmakta etkilidir[65]. Diğer ek hücre siklus inhibitörleri, roscovitine, direkt olarak CDK üzerinden etki göstererek mikroglial aktivasyon, nöroinflamasyon ve nörodejenerasyonu azaltır[65]. Minosikline ek olarak, hücre siklus inhibitörleri klinikte etkin ajanlardır.

4.5.2.Eritropoietin

Eritropoietin (EPO), apoptozu inhibe eden, inflamatuvar, antioksidatif stres, proanjioenez, artmış nörotrofik sinyal gibi birçok selüler ve subselüler mekanizma yoluyla etki eden nöroprotektif bir ajandır. EPO, prelinik hayvan modellerinde nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir[66].

4.5.3. Statin

Mikrovaskülarizasyon üzerinde, statinler TBH'a karşı NO artışı ve vasküler inflamasyonda azalma yoluyla koruma sağlar. Ancak, statinlerin biliş ve davranış üzerindeki etkileri hakkında büyük tartışmalar vardır[67], [68]. Vaka çalışmaları, dikkat eksikliği, azalmış psikomotor hız, azalmış nöropsikolojik performans ve hafıza kaybını gösterir.

Uzun dönem atorvastatin tedavisi (7 ay) davranış ve biliş azaltarak, hippokampal biyokimya değiştirip presinaptik veziküler proteinler subselüler (syntaksin, sinaptofizin) azaltır [69].

Hasar sonrası, aksonal filizlenme ve büyüme, endojen beyin tamirinde önemli rol oynar. Artmış filizlenme ve büyüme, endojen beyin tamirinde önemli bir rol alır. Artmış filizlenme, TBH sonrası fonksiyonel kayıplardan sorumludur. TBH sonrası, cAMP sinyalinde (CREB fosforilasyonu azalarak) belirgin azalma vardır. Fosfodiesteraz inhibisyonu aracılığıyla cAMP artışı nöronal filizlenme, kortekste nöronlarda yeniden düzenlenme, hasar sonrası motor fonksiyon tamirini indükler.

Forskolin, PDE inhibitörleri (rolipram, dipiridamol), selektif seratonin reuptake inhibitörleri ve seratonin dopamin reuptake inhibitörleri hasar sonrası fonksiyonel düzelmeyi iyileştirir [70].

4.5.4. Biyofarmasötikler (Biyolojik veya Biyolojik Tıbbi Ürünler)

Biyolojik (kök hücre, peptid terapi, gen terapisi (DNA, RNA, microRNA, antagomir), eksojen büyüme faktörleri, peptid), TBH ile ilişkili komplikasyonlarla savaşmayı sağlar [71]. Nöral kök hücre ve mezenkimal kök hücre terapisi, nörorestoratif ve nörorejeneratif potansiyel üzerinde odaklanmıştır. Lateral ventrikül komşuluğunda subventiküler bölge ve hippokampal dentat girusta subgranular bölgede yaşla birlikte azalır. Travma sonrası veya yaşa bağlı nörodejeneratif durumlarda, hücre yenilenmesi tedavisi için büyük ihtiyaçla yer değiştirir.

4.5.5. Girişimsel olmayan Müdahaleler

Travma sonrası terapötik potansiyeli olan beyin stimülasyonu ve fiziksel egzersiz iki tip vardır. Transkranyal manyetik uyarım (TMU), prelinik ve klinik çalışmalarda, nöroplastik değişiklikleri uyararak fonksiyon iyileşmesi ve öğrenmede gelişme sağlar. TMU, ekstrakranyal manyetik bobin kullanır, düşük- frekans (<1 Hz) tekrarlayan TMU eksitabiliteyi baskılar veya yüksek frekans (>1 Hz) veya intermitan teta patlamaları ise eksitabiliteyi artırır [72]. Noninvasiv olması yanında, TMU fizyolojik ölçümler ve nörogörüntüleme teknikleri rehberliğinde motor uyarılmış potansiyel veya hasta aracılı egzersizlerde kullanılır. TMU kullanan in vitro çalışmalar, nöronlarda BDNF-TrkB sinyal yolaklarının aktivasyonunu güçlendirir.

4.5.6. Lityumun Etkileri

Lityum hücrede birçok şaşırtıcı aktiviteye sahiptir [73]. Gerçekte; toksinler, stres, iskemi ve hasara karşı hücreler çeşitli hücresel mekanizmalar ile tasarlanmıştır. Hücreleri korumak yanında, büyüme faktörleri, hücre yenilenmesi, rejenerasyon genleri dönüştürür. Lityum, hücresel hasarın biyolojisinin anlaşılmasına önderlik edecek olarak gözüküyor. Lityumun en önemli etkisi, onun kök hücreleri uyarmasıdır. Lityumun bu etkisi ilk olarak beyaz kan hücrelerinde görülmüştür. Kemik iliğindeki pluripotent kök hücrelerini uyararak ve hücresel oluşumun farklılaşmasını lenfositten çok granülosite doğru yapar. Bu granülositopeni ile ilişkili kemoterapide lityum etkin bir tedavi olmasını sağlar. Lenfosit oluşumunu baskılar, lenfositlerin immün aktivitesini güçlendirir. Lityum, viral aşılarda immün modülatör olarak ve otoimmün hastalıkları tedavi etmek için kullanılır[73].

Lityum; inflamasyon, metabolizma, reseptör hassaslığı, adenil siklazları içeren sistemleri etkileyen kinaz ve fosfatazları inhibe eder [73]. Uzun yıllar boyunca, lityum GSK3B inhibe eder, transkripsiyon faktörlerini etkileyerek genleri kontrol eder. Tüm mekanizmalar GSK3B'yi inhibe etmekte birleşmiş gözükmekte, tau ve amiloid proteinlerinin Alzheimer ve Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, alkol ile indüklenmiş nöronal dejenerasyon ve prion ile ilişkili diğer nörodejeneratif hastalıklara katkı yapmaktadır [73]. Lityum, ALS üzerinde de gelişimi yavaşlattığı görülmektedir.

4.6. Travmatik Beyin Hasarı ve GSK-3

TBH; geç hücre ölümü ve değişken nöronal yapısı gibi biyokimyasal değişiklikler kaskadı oluşturur. Çalışmalar, GSK-3B inhibisyonunun apoptozu azalttığını göstermiştir. TBH, birincil ve ikincil hasarı içeren karışık bir patofizyolojidir. Birincil patolojiler, travmatik beyin hasarı sonrası hızla gelişen farmakolojik müdahalelere tipik olarak uygun yanıt vermezken; ikincil patolojiler ise birincil hasarın yol açtığı patolojiler sonrası zamanla gelişir. Hipokampus beyne olan hasarlara karşı çok hassastır [74]. Glikojen sentaz kinase 3 (GSK-3), glikojen metabolizması için bir düzenleyici olarak tanımlandı [75]. Görevi, protein sentezi, hücre çoğalması, hücre farklılaşması, mikrotübül dinamikleri, hücre hareketi ve apoptoz, sirkadyen değişimlere kadar genişledi [76]. GSK-3 aktivitesi; prion proteinleri, p53 ile indüklenmiş apoptoz ve amiloid B toksisitesi gibi bir dizi uyaran ile indüklenmiş nöronal hasara genişledi [77]–[79]. Apoptozda GSK-3 aktivitesi, GSK-3B'nin seçici küçük moleküler inhibitörleri hücreleri proapoptotik uyarılara karşı korur. Wnt ve Akt (aynı zamanda protein kinaz B olarak da bilinen), GSK-3 aktivitesini düzenlediği gösterilen iki ana sinyal yolağıdır. Birçok hücrede, GSK-3, Axin, APC ve kazein kinase 1a ile birlikte protein kompleksi oluşturur. Uyaran eksikliğinde, GSK-3 yapısal olarak aktif ve Axin, adenomatous poliposis coli (APC) ve kazein kinase 1a ile kompleks oluşturur ve B-catenin'i fosforilleyerek yıkımına sebep olur. Wnt'nin Frizzled reseptörlerine bağlanması GSK-3'ün plazma membranına translokasyonuna, burada Frizzled koreseptörü lipoprotein ilişkili protein-6 (LRP6) fosforlanmasına ve inaktivasyonuna sebep olur. GSK-3'ün translokasyonu, B-catenin fosforilasyon ve yıkımını azaltır, B-catenin birikmesine ve

gen ekspresyonuna sebep olur. Büyüme faktörleri Akt'yi aktive eder, bu da direkt fosforilasyon ile GSK-3 aktivitesinin inhibe olmasına, apoptozun azalmasına yol açar [80].

4.7. Lityum Tuzlarının Nöroprotektif ve Terapötik Potansiyeline Yeni Bir Bakış

Bipolar bozuklukta; bozulmuş nörogenez, hücrel plastisite ve dayanıklılık yanında beynin özel bölgelerinde hücre atrofisi ve hücre kaybına işaret eder[81]. Ölçümsel beyin görüntüleme çalışmaları, prefrontal bölgeler (ör. Anterior singulat ve subgenual prefrontal korteks) yanında hippokampal ve amigdala hacminin hem yetişkin hem de pediatrik bipolar bozukluk hastalarında sağlıklılara göre azalmış olduğunu tespit etmişlerdir[82]–[84]. Bu değişikliklerin tespiti de bipolar bozukluğun nörogelişimsel, nörodejeneratif veya kombine bozukluk olmasına bağlı olup olmadığı konusunda tartışmalara sebep olmuştur[5], [85]. İlaçların olası nöroprotektif etkilerine odaklanmasına ve lityumla ilgili ilginç bulgulara sebep olmuştur. In vitro ve in vivo çalışmalardan gelen prelinik kanıtlar, apoptozu önleyen, nörotrofinleri ve hücre yaşamda kalma moloküllerini artıran ve hücrel sinyal mekanizması üzerindeki farklı etkilerini bildirmiştir [81]. Lityum, bipolar bozukluk [86] akut ve kronik dönem tedavisinde, iyi belgelenmiş antimanik [87], antisuisidal [88] ve profilaktik özellikleri ve major depresyonda güçlendirici tedavi etkileri sebebiyle ilk tercih edilen tedavidir. Lityumun nörogenez, beyin yeniden modellenmesi, anjiyogenez, mezenkimal kök hücre işlevleri ve inflamasyon üzerinde pozitif etkileri gösterilmiş, GSK-3 (serin-trenin kinaz) inhibisyonu anahtar yoluyla birçok nöropsikiyatrik hastalıkta rol aldığı görülmüştür. Yeni çalışmalar, nörodejeneratif hastalıklar, nörogelişimsel bozukluklar ve hipoksi-iskemi/ travmatik beyin hasarında, geleneksel antimanik dozlardan daha küçük dozdaki lityumun olumlu etkilerini göstermiştir [81].

4.7.1. Prelinik kanıt ve moleküler mekanizma

Prelinik in vitro ve in vivo çalışmalar, lityumun çeşitli hasarlara karşı etkisini apoptozu önlemesi, nörotrofin atılmasını artırması yoluyla etkidiğini göstermiştir. Otofajinin ve oksidatif stresin modülasyonu, mitokondriyal işlevlerin

düzenlenmesi diğer ek nöroprotektif mekanizmalardır [89]. İnflamasyonu modüle ederek, proinflamatuvar durumu azalttığı görülmektedir [90].

4.7.2. Lityum ve GSK-3

Lityum GSK-3a ve GSK-3b'yı inhibe ettiği gösterilmiş, nörotrofinleri ve hücre ayakta kalma moleküllerini (ör, B-cell lymphoma 2/ Bcl-2), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) / tropomyosin receptor kinase (TrkB), cyclic adenosine monophosphate- responsive element binding protein (CREB), heat shock protein (Hsp 70 ve B-catenin) artırdığı, proapoptotik aktivite (ör, eksitotoksisite, p53, Bcl-2- ilişkili X protein, caspase, cytochrome c salınması, B-amiloid peptid üretimi ve tau hiperfosforilasyonu); NMDA reseptörlerinin inaktivasyonu, inositol monophosphate (IMP) inhibisyonu; phosphatidylinositol-3- kinaz (PI3K)/ protein kinase B(Akt) hücre ayakta kalma yollarını aktive ettiği gösterilmiştir [91].

Lityumun GSK-3 inhibisyonu, enzimin direkt magnezyum hassas bölgesine bağlanmakla ve indirekt özel N-terminal serine alt bölgelerinin fosforillenmesinin artırılmasıyla olmaktadır [92]. Transkripsiyonel seviyede doz bağımlı GSK-3B ekspresyonu lityum modülasyonunun mRNA transkripsiyonunun inhibisyonu sonucunda olmaktadır. GSK-3, serotonerjik, dopaminerjik, kolinerjik ve glutamaterjik nörotransmitter sistemlerini direkt olarak düzenler [93]. Bu nörotransmitter sistemlerindeki değişikliklere bağlı, disregüle GSK-3 depresyon, BB ve şizofreni ile ilişkilendirilmiştir [94].

GSK-3; Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı (PH), Spinocerebellar Ataksi tip 1, multiple skleroz, frajil X sendromu, Down sendromu, travmatik beyin hasarı ve iskemik inme gibi birçok nöropsikiyatrik hastalığın patogenezinde rol almıştır [73]. Beyinde atipik hiperfosforile tau proteininden sorumlu kinaz ve AH'da çekirdek patoloji olan amiloid birikiminden sorumludur. Lityumun terapötik konsantrasyonları, GSK-3 inhibisyonu aracılığıyla, yaşayan hücrelerde ve nöronlarda tau fosforilasyonunu önemli miktarda azaltarak agregat olmuş, çözünmeyen tau seviyelerini azaltır [95].

GSK-3B'nin azalması ve B-cateninin artması, kanonik Wnt sinyal mekanizmasının [96] iki birimini olup lityumun uyardığı hipokampal progenitör

hücre çoğalmasında etkilidir. GSK-3, uzun dönemli depresyon ve uzun dönemli potensiyasyon ile öğrenme ve hafızayı etkileyerek bilişsel işlevleri düzenler. Periferik ve santral sinir sisteminde pro ve antiinflamatuvar sitokin üretimini dengeleyen, T-hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve hayatta kalımı etkileyen kinaz olup inhibisyonu antiinflamatuvar yanıt oluşturur. GSK-3 inhibisyonu ve genetik inaktivasyonu, hayvan modellerinde, antidepresana benzer yanıtlar ve güçlü antimanik yanıtlar oluşturmuştur. B-catenini overexpress eden transgenik hayvanlar ile lityum verilen hayvanlar karşılaştırılarak elde edilen davranışsal değişiklikler, lityumun terapötik etkisinin GSK-3 inhibisyonu ve ardıl B-catenin artışıyla etkiğini göstermektedir [97].

Bcl-2'nin lityum aracılığıyla upregülasyonu, insan beyninde gri cevher hacminin artarak nöropil genişlemesini ve sadece antiapoptotik değil aynı zamanda hasar sonrası axonal yenilenmeyi de uyardığı görülmüştür. İlginç olarak, küçük doz lityum verilmesi (plazma seviyesi 0,35mM) frontal kortekste Bcl-2 seviyesinin artmasına ve BDNF mRNA ve BDNF promoter IV aktivitesinin ve aynı zamanda BDNF reseptörlerinin (TrkB) sıçan korteksi nöron kültüründe aktive olduğunu göstermiştir. BDNF seviyelerinin hipokampus, frontal ve temporal kortekste kronik lityum ve valproate tedavisi sonrası arttığı bildirilmiştir. BB hastalarında lityumun BDNF seviyelerini koruması ve artırdığı, lityum profilaktik etkinliği ile seviyeleri arasında ötimik hasta popülasyonunda ilişki bulunduğu bildirilmiştir. Lityumun in vivo ve in vitro prelinik çalışmalarda, nöronal ayakta kalım ve plastisitede etkili diğer nörotrofinlerin (nerve growth factor(NGF), glial cell line-derived neurotrophic factor, vascular endothelial growth faktör(VEGF) ekspresyonunu artırır [98].

Lityum, siklik adenzin monofosfat sinyal iletim yolunu etkileyerek nörotrofik etkiler üretir. Bu etki bazal adenil siklaz aktivitesinin artması ve aynı zamanda reseptör tarafından uyarılmış cevapların azalması yoluyla olduğu prelinik ve klinik çalışmalarda gösterilmiştir. cAMP'ın fizyolojik etkileri primer olarak protein kinaz A, santral sinir sisteminde ana hedeflerinden birisi CREB, glutamaterjik sinapsların adaptif yanıtlarında ana rol oynar, nörotrofinler için nöroprotektif ve uzun dönem nöroplastisitede etkilidir. Gerçekte, CREB aracılığıyla extracellular-regulated kinase (ERK)/ mitogen-activated protein kinase (MAPK)

yolağı, BDNF transkripsiyonunu başlatır ve Bcl-2 ekspresyonu indükler. Terapötik olarak etkili konsantrasyonlarda, lityum ve valproate ERK/ MAPK kaskadın insan nöroblastom SH- SY57 hücrelerinde in vitro, sıçan beyinlerinde hipokampus ve frontal korteks nörotrofik etkileri aktive eder [99].

Deneyisel çalışmalar kronik lityum verilmesinin, primer serebellar, serebral korteks ve hipokampal nöron kültürlerinde, nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol alan NMDA reseptör (NMDAR) aracılı eksitotoksisteye karşı neredeyse tama yakın koruma sağladığını buldu. Bu nöroprotektif etki, küçük doz (0.1-0.6 mM) lityum ile elde edilip NMDAR ile ilişkili kalsiyum içeri girişinin inhibisyonu ile ilişkilidir. Lityum etki mekanizması, NMDAR2B subunitinin yapısal fosforilasyonun azalmasına, Fyn ile katalize olan, Src tirozin kinaz ailesi üyesidir [91]. Beyin iskemisi, NR2A'nın Src- ilişkili tirozin fosforilasyonu artırmakla bilinir, NR2A'nın Src ve Fyn ile ilişkisi postsinaptik densite 95'i mediyeye eder. Lityum, serebral iskemi sonrası sıçan hipokampusunda NR2A fosforilasyonunu ve postsinaptik densite 95 ile ilişkili Src ve Fyn'i azalttığı gösterilmiştir [100]. Kronik lityum tedavisi, glutamatın indüklediği c-Jun-N- terminal kinaz, p38 kinaz ve aktivatör protein-1 transkripsiyon faktör bağlanmasını antagonize ederek sitotoksisteye üzerinde ana rol oynar, serebellar granül nöronlarında glutamat tarafından uyarılmış CREB fosforilasyonunu baskılar.

İnozitol tükenme hipotezine göre, fosfatidilinozitol yolağı lityum terapötik etkileri için ana yolaktır. Lityum; enzimin katalitik bölümünden yarışmalı olarak Mg^{++} 'un ayrılmasını sağlar, IMP ve inositol polyphosphate-1 aktivitesini direkt olarak inhibe eder. IMP ve inositol polifosfat-1 inhibisyonu, inozitol geri alımını engeller, intrasellüler seviyelerinin azalmasına ve fosfoinozitol döngüsünün inhibisyonuna sebep olur. Myo-inositol seviyelerinde azalma, IMP inhibisyonu ile indüklenmiş diacylglycerol üretimi yoluyla, protein kinaz C seviyelerini ve aktivitesini azaltan alt yolağa sahiptir [101]. Kronik lityum tedavisi sonrası, protein kinaz C seviyesi ve aktivite azalması hücrelerde ve sıçanlarda gösterilmiştir. Protein kinaz C inhibisyonu, antimanik etkileri üretmekten sorumludur.

Son zamanlarda, lityum IMP aktivitesini inhibe edip ve inozitol-1,4,5 trifosfat seviyelerini azaltıp otofajiyi indükleyen mekanizması bulunmuştur.

Otofaji, sitoplazmik proteinlerin ve organellerin parçalandığı, hücresel strese birincil yanıtta tanınan, nöronal işlev ve hayatta kalmada önemli bir düzenleyicidir. Hatalı katlanmış hastalığa sebep olan proteinlerin birikimiyle karakterize nörodejeneratif hastalıklarda (AH, PH, Huntington, ALS) kalite kontrol işlevlerinde faydalı olduğuna inanılmaktadır.

Lityumun iki hedef inhibisyonu, IMP ve GSK-3B otofaji üzerinde ters etkiler gösterir, bu doz bağımlıdır. Lityum, IMP'yi küçük dozlarda inhibe edip otofajiyi indüklerken; yüksek dozlarda GSK-3B'nın inhibisyonu indükleyerek mammalian target of rapamycin (mTOR) aktivasyonu ile otofajiyi azaltır.

Hücre ayakta kalmasında rol oynayan kinaz PI3K inhibisyonu, anti-apoptotik serin-threonine Akt-1 kinaz aktivasyonu bloklayarak nöronal hasara sebep olur. Bu apoptotik yolak, primer serebellar nöronlarda PI3K aktivitesini artırarak kronik lityum maruziyeti ile önlenir. Akut lityum maruziyeti kortikal nöronları, fosfolipaz C yolağı ile PI3K ile düzenlenmiş intrasellüler kalsiyum artışı ile kortikal nöronları korur[102].

Son çalışmalar, lityum tedavisinin mitokondriyal solunum hızını artırdığı, oksidatif stresi azalttığı, oksidatif strese karşı DNA'yı koruduğu, mitokondriye kalsiyum girişini modüle ettiğini göstermektedir. Akut maninin lityum ile tedavisinde ve lityum verilmesi sonrası depresif belirtilerde klinik iyileşme pro-oksidatif stres markerında azalma ile ilişkilidir. Sağlıklı kişilerde lityum oksidatif stresi antioksidanları artırıp prooksidanları azaltarak etkiler. Nitrik oksit (NO), oksidatif stresi aktive eden en önemli intrasellüler ikincil messengerlardandır. NMDAR aktivasyonu, NO üretimini sorumlu NO sentaz aktivasyonu artırırır [103].

Hasar sonrası nöronal hayatta kalımı artırmakla, lityum hipokampal nörogenezisi artırır [104]. Memelilerde, yeni nöronlar subventriküler bölge ve hipokampal dentat girusta üretilmeye devam etmiştir. Daha önce var olan olgun dentat granül hücreleri ile yenidoğan nöronlar bilişsel işlevlerde primer rol alan DG'ta hipokampus işleyişinde önemli olan ayrıcalıklı elektrofizyolojik özelliklerde (ör. Artmış intrinsik kolay uyarılabilirlik, artmış sinaptik plastisite, GABAerjik inhibisyona azalmış hassasiyet) LTP indüksiyonu için düşük eşik seviye rol alır. Bozulmuş yetişkin

nörogenezis nöropsikiyatrik hastalıklar ve nörogelişimsel hastalıklarda gözlenmiştir. Yetişkin hipokampal kök hücrelerde azalmış çoğalma ve farklılaşma kapasitesi, hafıza disfonksiyonu ile ilişkili olup yetişkin nörogenezisin hastalıkla ilişkili bilişsel bozuklukların terapötik hedefidir. Birçok prelinik çalışma, lityumun nöronal progenitor hücrelerin farklılaşmasını, olgunlaşmasını ve işlev görmesini uyardığı görülmüştür[105].



5. MATERYAL VE METOD

5.1. Deney dizaynı ve deneysel gruplar

İstanbul Medipol Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı sonrası farelere bütün müdahaleler ve deneyler yapılmıştır. Deneyler öncesinde ve sonrasında fareler 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde kendilerine ayrılmış odalarda tutulmuştur. Fareler, standart pelet yem ve musluk suyu ile kısıtlamasız beslendi. Bu çalışmada kullanılan 8-12 haftalık erkek Balb-C (28-42 gr) suşu fareler rastgele olarak gruplara ayrılmıştır.

Akut dönem etkilerin tespiti için, travmatik beyin hasarının hemen sonrası tek doz kontrol (saline, 2mmol/kg, intraperitoneal (ip) , n=8), lityum klorid (2 mmol/kg ip, n=8) tedavileri verilmiştir. Travmatik beyin hasarında profilaktik lityumun etkisinin tespiti için, hasardan önceki 3 gün boyunca 24 saat aralıklarla lityum klorid (2 mmol/kg,ip, n=8) verilmiş, son dozdan 24 saat sonra hasar uygulanmıştır.

Kronik dönem için; travmatik beyin hasarı hemen sonrası ve 48. saatten başlayarak her gün, 35 gün boyunca üç ayrı grupta; kontrol (saline, 2mmol/kg, n=10), lityum klorid (2 mmol/kg ip, n=10) ve lityum klorid (0,2 mmol/kg ip, n=10) tedavisi uygulanmıştır.

5.2.Deneysel travmatik beyin hasarı modeli

Travmatik beyin hasarının kliniğinin heterojen doğasından yola çıkarak, birçok hayvan modelleri oluşturulmuştur. Çalışmalarda en çok kullanılanları, sıvı perküsyon hasarı, kortikal vuru hasarı, ağırlık düşüşü vuruşu hızlandırma hasarı, patlama hasarıdır [106].

Çalışmamızda, sıvı nitrojenle soğuk travmatik beyin hasarı daha önce uygulanmış olan protokolün şekillendirilmesi sonrası yapılmıştır [8]. Balb-C farelerde; ketamin hidroklorid (4 mg/kg) ve xylazine hidroklorür (11 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi altına alındıktan sonra, sterotaksik araca yerleştirilir. Rektal ısı homotermik battaniye ile 36,5- 37, 0 C'de tutulur. Dura üzerine 60 saniye,

bregmanın 2,5 mm posteriorundan 2,5 mm e lateraline doğru, sıvı nitrojenle dondurulmuş-bakır prob aracılı (uç yarıçapı= 2,5 mm) oluşturulan travma modeli uygulanmıştır. Daha sonra kafa derisine dikiş atılmıştır.

5.3. Deneyin sonlandırılması ve beyinden örnek alınması

Akut dönem grubunda son dozdan 24 saat sonra; kronik dönem üçlü grubunda ise 35. gün son dozları verildikten 3 saat sonra sakrifiye edilmiştir. Post-travmatik iyileşme sürecinde beslenmeye devam eden akut dönem grubundaki hayvanlar; travmadan 24 saat sonra 4% isofloran ile derin anestezi sonrası dekapite edilip beyinleri çıkarılmış, kuru buz üzerinde dondurulmuş ve bregma seviyesinden koronal kriyostat ile 18 µm dilimlere ayrılmıştır.

5.4.Cresyl Violet Boyaması

Cresyl violet, nöronlar ve hücre çekirdeklerindeki nissl taneciklerini göstermek için kullanıldı. Nissl tanecikleri hücrenin protein sentezinin yapıldığı alanları belirler. Ana bileşen ribosomlardır. Boyanan bölgeler aktif protein sentezinin devam etmesini ya da hücrenin canlılığını gösterir. Nöronun karşılaştığı her türlü hasara karşı hassastır, basofilik nissl cisimcikleri parçalanır. Alınan kesitlere, belirtilen protokol çerçevesinde cresyl violet boyaması yapıldı.

Tüm gruplardaki her bir hayvan için, beyin haritalandırmasında belirlenen dört ayrı seviyeden alınan her bir kesit için klasik immünohistokimya yöntemi ile boyama yapılmıştır. -20 °C buzdolabında korunan kesitler, 30 dakika oda sıcaklığında kurutulmuştur. Şalelere yerleştirilen slaytlar 7 dakika PFA ile bekletilip dH₂O ile yıkanıp şaleler değiştirildi. Çalkalayıcı kullanılarak 5 dakika PBS ile yıkanıp tekrar dH₂O ile yıkandı. Slaytlar 2 dakika masa üzerinde, 13 dakika çalkalayıcı üzerinde Cresyl Violete maruz bırakıldı. Slaytlar önceden hazırlanan ve sırasıyla %70, %90, %95, %100 (5 sn) alkolden geçirilip, 2 tane Xylene şalesi hazırlanarak 1. Şalede 2-3 dakika, 2. şalede ise 1-2 dakika bekletildi ve son olarak üzerlerine cam pastör pipet ile mounting medium damlatılarak kurutmaya bırakıldı. Boyanan kesitlerin hasar alanı, Image J programı (National Institute of Health,

Bethesda) kullanılarak belirlendi, kontralateralinden ipsilateralin çıkarılması ile birlikte hasar sonrası oluşan atrofi hesaplanmıştır [107].

5.5.DNA kırıklarının *In-sitü* hücre ölüm kiti (TUNEL) ile belirlenmesi

DNA kırıklarının *in situ* olarak tanınması ve hücre ölümünün belirlenmesi için TUNEL kiti (11684795910, Roche, ABD) kullanılarak apoptotik hücre tayini yapılmıştır. -80 °C'den çıkarılan kesitler, 30 dakika oda sıcaklığında kurumaya bırakılmış, sonrasında %4'lük PFA solüsyonu içerisinde önce oda sıcaklığında 10 dakika daha sonra da +4 °C'de 10 dakika bekletilmiştir. Fiksasyon bitiminde PBS çözeltisinde yıkanarak, membran geçirgenliğini sağlayabilmek için kesitler 2 dakika buz üzerinde Triton-X-100 (X100, Sigma Aldrich, ABD) deterjanı ve tri-sodyumsitrat di-hidrat (1.064.481.000, Merck, ABD) içeren solüsyonda, sonra 1 dakika boyunca 750 Watt mikrodalga içerisinde tri-sodyumsitrat di-hidrat pH 6,0 solüsyonda inkübe edilmiştir. Kesitler PBS çözeltisinde yıkanmıştır. Oda sıcaklığında bloklama solüsyonunda 30 dakika inkübe edilip enzim ve substrat içeren TUNEL karışımı içerisinde 70 dakika 37 °C'de inkübe edilmiştir. Son olarak hücre çekirdeğinin görüntülenebilmesi için DAPI boyaması yapılmıştır. Her hemisfer için; kortekste eşit büyüklükte dokuz ayrı alanda; hipokampusta Ca1 bölgesi için dört, Ca2 bölgesi için bir, Ca3 bölgesi için bir, DG (dentat girus) için dört alanda; striatumda beş ayrı alanda; hipotalamusta iki ayrı alanda hücre sayımı yapılmıştır. TUNEL (+) hücreler sayılarak her grup için ortalama değerler hesaplanmıştır.

5.6. Hücre içi sinyal yolları ile ilgili proteinlerin seviyelerinin Western Blot yöntemiyle belirlenmesi

Protein ekspresyon çalışmaları için travmatik beyin hasarından 1 gün ve 35 gün sonra sakrifiye edilen farelerin hasarlı ve hasarlı olmayan hemisferleri izole edilmiştir. Dokular protein izolasyonuna kadar -80°C'de saklanmıştır.

5.6.1. Protein İzolasyonu

-80 °C' den çıkartılan dokulara lizis solüsyonu (1 M Tris-HCl, 5 M NaCl, Triton-X-100, 0,5 M EDTA, *protease inhibitor cocktail*; 20-201, Millipore, ABD)

ilave edilip ve homojenize (Silent Crusher S.; Heidolph, Almanya) edilmiştir. Örnekler 20 dakika buz üzerinde inkübasyonun ardından 14000 rpm' de +4 °C'de 15 dakika santrifüj edilmiş, süpernatantlar (üst faz) pelletlerden ayrılarak alikotlanmıştır [107], [108].

5.6.2. Protein konsantrasyonlarının ölçülmesi

Protein konsantrasyonları Qubit® Protein çalışma kiti (Q33211; Invitrogen, ABD) kullanılarak Qubit Fluorometer 2.0 (Q32866; Invitrogen, ABD) cihazı ile ölçülmüştür. Konsantrasyon ölçümlerine göre eşitlenip 20µg/10 µl olacak şekilde hesaplanmış, 2X Laemmli buffer (161-0737; Bio-Rad, ABD) ile karıştırılıp 70 °C'de 10 dakika bekletildikten hemen sonra +4 °C'deki kırık buzun üzerine alınmıştır.

5.6.3. Western Blot

Any kD™ Mini-PROTEAN jelin (456-9036, Bio-Rad, ABD) kuyucuklarına 20 µg/10 µl'er olacak şekilde yüklenerek 50 V'da 5 dakika, daha sonra 100 V'da bir saat ve en son 150 V'da bir saat daha yürütülmüştür. Ardından Bio-Rad Transblot Turbo sistemi ve RTA Mini PVDF Transfer Kiti kullanılarak (170-4272; Bio-Rad, ABD) jeller poliviniliden diflorit (PVDF) membranlara transfer edilmiştir. Membranlar, tris tamponlu salin-Triton-X-100 (TBS-T) ile hazırlanmış % 5'lik yağsız süt tozu çözeltisinde (sc-2325; ChemCruz, ABD) 1 saat bloklamının ardından +4 °C'de gece boyu bloklama solüsyonunda seyreltilen primer antikor (P-GSK3-3α/β(#8566, Cell Signaling Technologies), GSK3-3α/β(#5676, Cell Signaling Technologies), p-Akt(#4060, Cell Signaling Technologies), Akt (#9272, Cell Signaling Technologies), p-Erk(#9101, Cell Signaling Technologies), Erk(#9102, Cell Signaling Technologies), p-p38(#9211, Cell Signaling Technologies), p-38(#9212, Cell Signaling Technologies), p-p53(#9289, Cell Signaling Technologies), p-53(#9282, Cell Signaling Technologies), p-Jnk(#9255, Cell Signaling Technologies) ve Jnk (#9252, Cell Signaling Technologies) ile inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün TBS-T ile 3 kere beşer dakika boyunca yıkanan membranlara bloklama solüsyonunda hazırlanan sekonder antikor ilave edilmiş ve membranlar oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir. Deteksiyon solüsyonu (

Clarity™ Western ECL Substrate, 1705060, Bio-Rad, ABD) eklenip membranlar, ChemiDoc MP (Biorad) görüntüleme sistemi kullanılarak görüntülenmiştir.

5.6.4. Stripleme

Membranlar strip solüsyonu ile muamele edilerek 50 °C sıcaklıktaki su banyosunda 20 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. TBS-T ile 3 kere beşer dakika boyunca yıkanarak, bloklama aşamasından itibaren izlenen protokol farklı bir antikor (t-p44/-42, 9102, CST; t-p38, 9212, CST veya Beta-aktin, 4970, CST) kullanılarak tekrar edilmiştir.

5.6.5. Hipokampüste Çift Immün Boyama ile Nörogeniz Analizi

Aynı hayvanın komşu beyin kesitleri, %4 PFA'da sabitlenir. PBS ile kalan PFA'lar yıkanır. 1 saat boyunca, % 0.3 Triton X-100 (PBS-T) ve % 10 normal keçi serumu (G9023, Sigma) içeren 0.1 mol/l PBS içinde bloklandı. Kesitler 4° C derecede, Alexa Fluor 555 konjuge monoklonal tavşan anti-NeuN (MAB377A5; Millipore) inkübe edildi. Ertesi gün, kesitler BrdU boyaması için 37 ° C derecede HCl ile geçirgen hale getirildi. Daha sonra, kesitler tekrar bloklandı. Daha sonra tekrar, 90 dakika boyunca sıçan anti-BrdU (ab6326; Abcam) ve ardından 1 saat boyunca keçi anti-sıçan Alexa Fluor 488 (A110006; Thermo Fisher Scientific) ile inkübe edildi. Daha sonra kesitler, 4',6- diamidino-2-phenylindole (DAPI) ile karşıt boyandı ve konfokal mikroskop (LSM 780, Carl Zeiss, Jena, Germany) kullanarak analiz edildi. Hipokampüste, BrdU/NeuN pozitif hücrelerin ortalama sayısı, her bir ilgilenen bölgenin alanı (ROI= 62,500 µm²) olacak şekilde analiz edildi.

5.6.6. Değerlendirme ve istatistik

Tüm sonuçlar ImageJ programında analiz edilmiştir. Her bir proteinin optik yoğunluk değerinden arka plan (*background*) çıkartıldıktan sonra, değerler endojen kontrol olarak kullanılan beta-aktin proteinine göre optimize edilmiştir. Kontrol, lityum klorid hemen hasar sonrası, lityum klorid profilaksi tedavi grupları arasındaki zamana bağlı değişimler tek-yönlü varyans analizi (*One-Way ANOVA*) ve akabinde borderzLSD post-hoc testi kullanılarak SPSS programında yapılmıştır. p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5.7. Fonksiyonel geri kazanım ile ilgili testler

İlk davranış testleri, travmatik beyin hasarı öncesi taban çizgi (*baseline*) oluşturmak amacıyla yapılmıştır. Fonksiyonel nöropsikiyatrik iyileşme operasyondan sonra 3., 14., 28. ve 35. günlerde yapılan davranış testleri ile değerlendirilmiştir.

5.7.1. RotaRod ile motor koordinasyonun değerlendirilmesi

Travmatik beyin hasarı sonrasındaki motor koordinasyonlarındaki değişimlerin belirlenmesi amacıyla, fareler kendi çevresinde hızı giderek artan (4' den 40 rpm' e 245 saniyede) bir silindir üzerinde kalabildikleri süre (en fazla 300 saniye) değerlendirilmiştir. Her test 5 kez tekrarlanmış ve ortalama değer alınmıştır. Operasyon öncesi ve sonrası 3., 14., 28. ve 35. günlerde gruplar arasında ve zamana göre karşılaştırılmıştır [107].

5.7.3. Aydınlık- Karanlık testi ile anksiyetenin değerlendirilmesi

Parlak ışıkla aydınlatılmış alanlara karşı içsel kaçınma ve hafif stresörlere karşı spontan araştırma davranışlarının araştırılmasına yönelik testtir. Test aygıtı iki eşit parçaya bölünmüş, karanlık güvenilir bölüm ve aydınlık kaçınılan bölümden oluşmaktadır. Anksiyete benzeri davranışların değerlendirilmesinde anahtar, aydınlatılmış, korunmayan alanı keşfetme isteğidir. 10 dakika test sürecinde, iki bölüm arasındaki giriş- çıkış sayısında ve her bir bölümde harcanan zamana bunun etkileri yansır. Operasyon öncesi ve sonrası 3., 14., 28. ve 35. günlerde gruplar arasında ve zamana göre karşılaştırılmıştır.

5.7.3. Kuyruktan Asma Testi ile depresyonun değerlendirilmesi

Depresyon değerlendirilmesinde kullanılan bir test olup fareler kuyruklarından bağlandıktan sonra hareketli kaldıkları zamanın değerlendirilmesinden ibarettir. Beş dakika boyunca farelerin kaçma benzeri davranışları ölçümlenir [109].

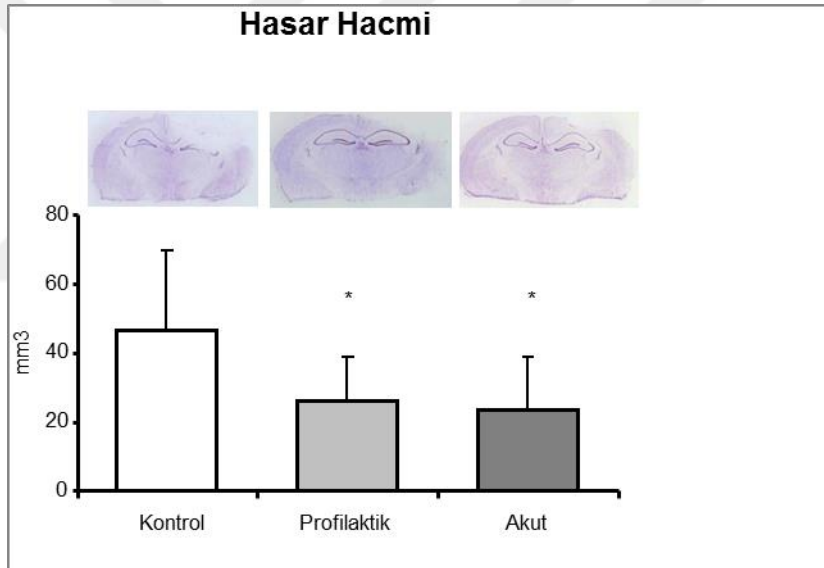
5.8. İstatistik

SPSS programı kullanılarak istatistiksel testler yapılmıştır. Gruplar arasındaki farklar tek yönlü (*one-way*) varyans analizi (*Analysis of variation, ANOVA*) kullanılarak, en düşük anlamlı farklılık testiyle analiz edilmiştir (*least significant difference, LSD test*). Davranış deneylerinde sonuçların zamana bağlı olarak değerlendirilmesi için tekrarlı ölçümler varyans analizi (*repeated measurements, ANOVA*) yapılmıştır. Bütün değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiş. * işareti kontrol grubuna göre işaretli grubun, # işareti kontrolün dışındaki diğer gruba göre işaretli grubun istatistiksel olarak $p<0,05$ düzeyinde farklı olduğu ifade edilmiştir. * $p<0,05$ ve ** $p<0,01$ istatistiksel anlamlı olarak kabul edilmiştir [107].

6. BULGULAR

6.1. Akut dönemde hasar hacmi

Akut dönemde, travmatik beyin hasarının etkilerinin belirlenmesi için bir günlük deney setinin kesitlerine *crystal violet* boyaması yapılmıştır. Boyama sonrası kesitler fotoğraflanmış, hasarlı ve hasarsız hemisfer, korpus kollozum, striatum, hipokampus alanları Image J programı kullanılarak ölçülmüştür. Hasarlı hemisferin olması gereken alanından, hasarsız hemisfer alanın çıkarılmasından yola çıkarak ödem oranı hesaplanmış ve grupların ortalaması alınmıştır. Hasar hacmi ise, hasarsız hemisfer alanından, hasarlı hemisferin hasarsız hacminin çıkarılması ile hesaplanmıştır.



Şekil 6.1.1: Akut dönem grubunda hasar hacimlerinin karşılaştırması (Mean± SD)

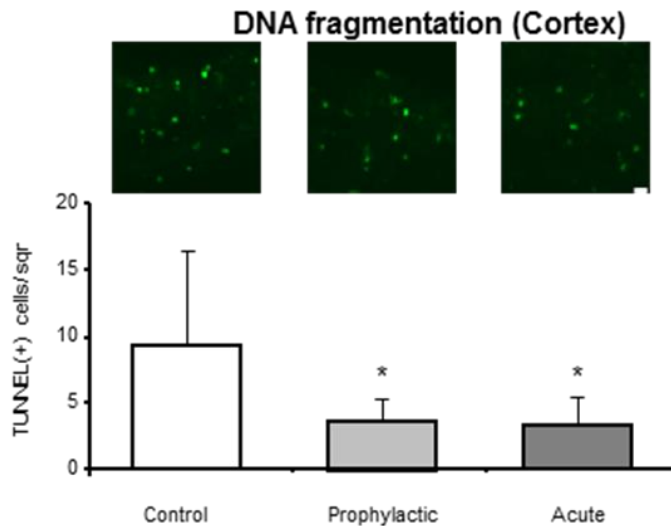
Şekil 6.1.1’de görüldüğü üzere, akut dönemde, kontrol saline- hasar sonrası hemen tek doz lityum 2 mmol/kg- hasar öncesi 3 günlük profilaktik 2 mmol/kg lityum tedavi gruplarında hasar alanı ve hasar hacmi travmatik beyin hasarından 24 saat sonra ölçüldü. Kontrol grubu hasar hacmi 46,85± 23,2 mm³ olarak ölçüldü ve özellikle hasar sonrası hemen tek doz lityum grubunda hasar hacminde %50’ye yakın bir azalma gözlemlendi. Akut lityum grubunda 23,8± 14,92 mm³, profilaktik lityum grubunda 26,16 ± 12,51 mm³ hasar hacmi ölçüldü. Akut lityum grubu ile kontrol

grubu arasında istatistiksel olarak ($p= 0.025$) anlamlı farklılık gözlemlendi. Fakat kontrol ile profilaksi ve lityum ile profilaksi grupları arasında bir farklılık görülmedi.

Akut dönemde, kontrol saline - hasar sonrası hemen tek doz lityum 2 mmol/kg- hasar öncesi 3 günlük profilaktik 2 mmol/kg lityum tedavi gruplarında ödem hacmi travmatik beyin hasarından 24 saat sonra hesaplandı. Kontrol grubu ödem hacmi $0,98 \pm 1,75 \text{ mm}^3$, Lityum grubunda $18,87 \pm 11,87 \text{ mm}^3$, profilaktik lityum grubunda $1,73 \pm 7,57 \text{ mm}^3$ hasar hacmi ölçüldü. Lityum grubu, profilaktik lityum ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı gözlemlendi ($p<0,01$). Lityum grubunda kontrole göre ve profilaktik lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha fazla ödem izlenmiştir.

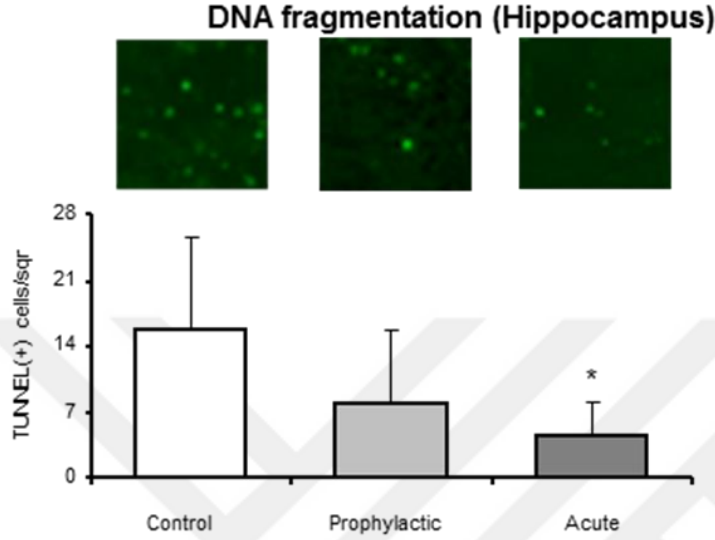
6.2. Akut dönemde TUNNEL ile apoptotik hücre sayısının tespiti

Akut dönemde kontrol (kontrol), üç günlük profilaktik lityum (profilaksi) ve travma sonrası lityum (akut lityum) gruplarında, TUNNEL boyama ile travma sonrası apoptotik hücre sayısı tespit edilmiştir. Her hemisfer için; kortekste eşit büyüklükte dokuz ayrı alanda; hipokampusta Ca1 bölgesi için dört, Ca2 bölgesi için bir, Ca3 bölgesi için bir, DG (dentat girus) için dört alanda; striatumda beş ayrı alanda; hipotalamusta iki ayrı alanda hücre sayımı yapılmıştır. Şekillerde korteksten ve hipokampüsten tüm alanlardan elde edilen sonuçlar verilmiştir.



Şekil 6.2.1: Akut dönemde kortekste TUNNEL(+) hücre sayısı (Mean ± SD)

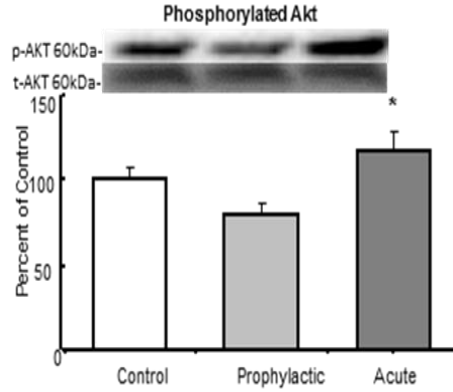
Şekil 6.2.1de görüldüğü üzere, akut dönemde kortekste, profilaktik ($3,62 \pm 1,68$) ve akut lityum ($3,41 \pm 2,07$) verilen gruplarda kontrol grubuna ($9,26 \pm 7,2$) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde apoptotik hücre sayısında azalma tespit edilmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 6.2.2: Akut dönemde hipokampüste TUNNEL(+) hücre sayısı (Mean ± SD)

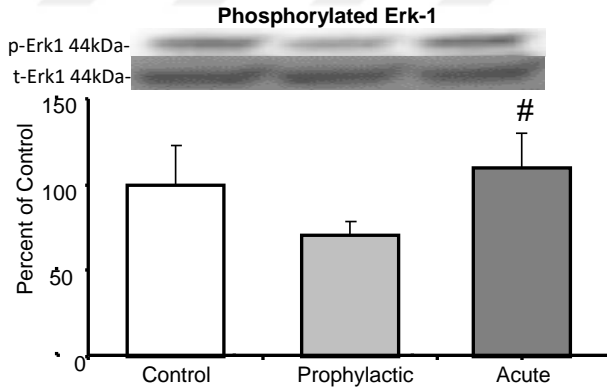
Şekil 6.2.2’de görüldüğü üzere, akut dönemde hipokampüste, akut lityum ($4,5 \pm 3,73$) verilen gruplarda kontrol grubuna ($15,66 \pm 10,04$) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde apoptotik hücre sayısında azalma tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Profilaktik lityum grubunda ($7,92 \pm 7,9$) ise kontrol grubuna göre apoptotik hücre sayısında azalma izlenirken, istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$).

6.3. Akut dönemde protein miktarındaki değişimler (Western Blot Sonuçları)



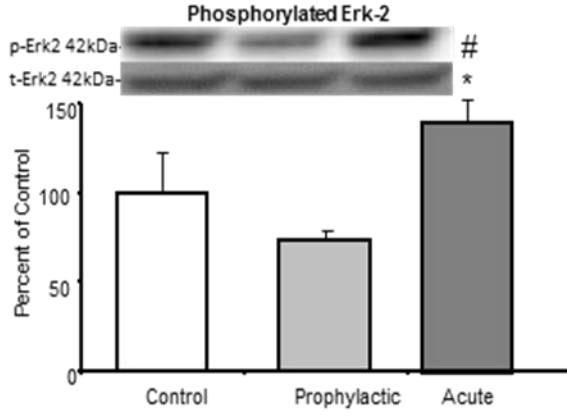
Şekil 6.3.1: Fosforile/ toplam Akt yüzdeleri

Şekil 6.3.1’de görüldüğü üzere, lityum grubunda p-Akt/t-Akt, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur($p<0,05$). Profilaksi grubunda ise, kontrol ve lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha düşük bulunmuştur($p>0,05$).



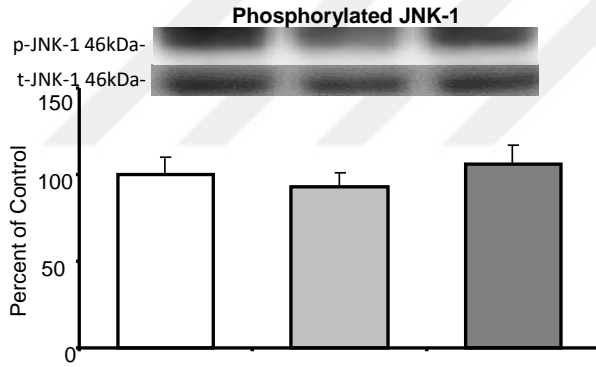
Şekil 6.3.2: Fosforile/ toplam Erk-1 yüzdeleri

Şekil 6.3.2’de görüldüğü üzere, lityum grubunda, p-Erk-1 /t-Erk kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Profilaksi grubunda ise, kontrol ve lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha düşük bulunmuştur($p>0,05$).



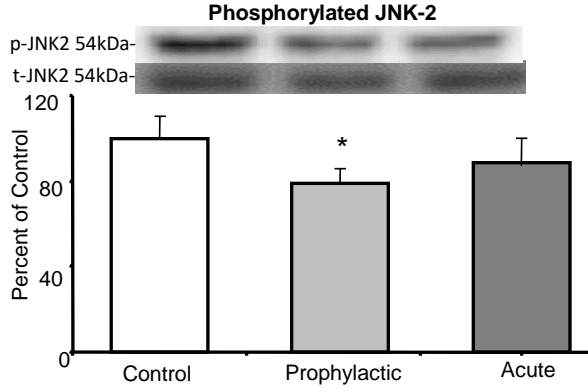
Şekil 6.3.3: Fosforile/ toplam Erk-2 yüzdeleri

Şekil 6.3.3'te görüldüğü üzere, lityum grubunda, p-Erk-2 /t-Erk kontrolve profilaksi grubuna göre istatiksels olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Profilaksi grubunda ise, kontrol ve lityum grubuna göre istatiksels olarak anlamlı olmasa da daha düşük bulunmuştur ($p > 0,05$).



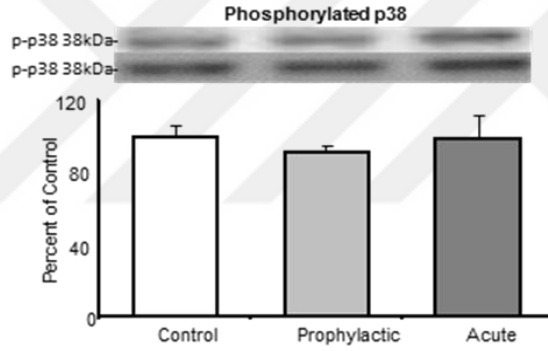
Şekil 6.3.4.: Fosforile/ toplam Jnk- 1 yüzdeleri

Şekil 6.3.4'de görüldüğü üzere, P-Jnk- 1 / t-Jnk üç grup arasında istatiksels olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).



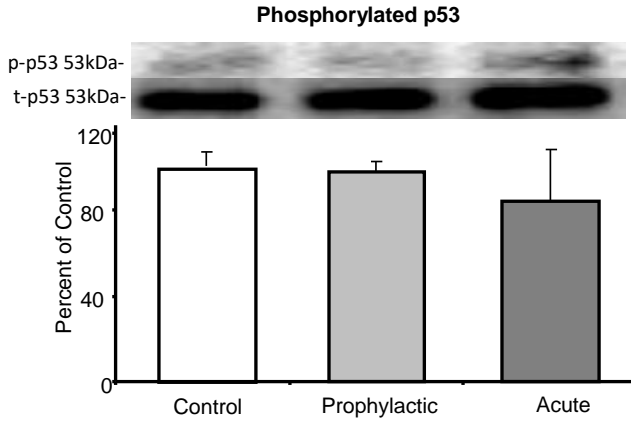
Şekil 6.3.5 : Fosforile/ toplam Jnk- 2 yüzdeleri

Şekil 6.3.5'te görüldüğü üzere, lityum grubunda, P-Jnk-2/ t-Jnk kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). P-Jnk-2/ t-Jnk için profilaksi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük saptanmıştır ($p < 0,05$).



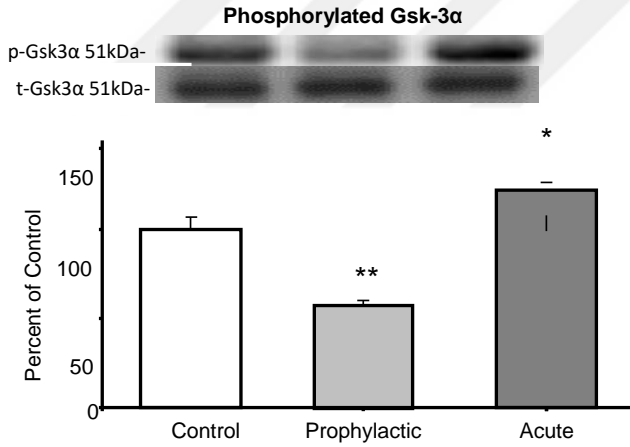
Şekil 6.3 6: Fosforile/ toplam p38 yüzdeleri

Şekil 6.3.6'da görüldüğü üzere, p-p38/ t-p-p38 için üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).



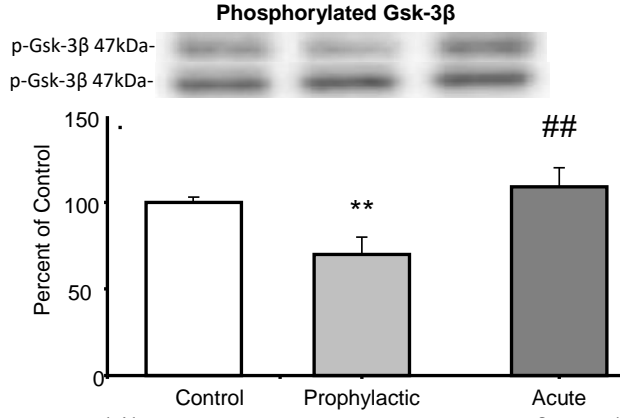
Şekil 6.3.7: Fosforile/ toplam p53 yüzdeleri

Şekil 6.3.7’de görüldüğü üzere, p-p53/ t-p-p53 için üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).



Şekil 6.3.8: Fosforile/ toplam Gsk-3 α yüzdeleri

Şekil 6.3.8’de görüldüğü üzere, lityum grubunda, p- Gsk3 α / t-Gsk3 α , kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek düzeyde saptanmıştır($p<0,05$). Profilaksi grubunda, p- Gsk3 α / t-Gsk3 α kontrole ve lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük bulunmuştur ($p<0,01$).

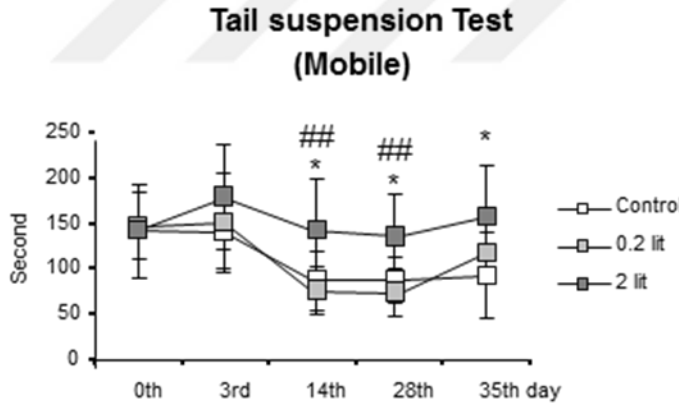


Şekil 6.3.9: Fosforile/ toplam Gsk-3 β yüzdeleri

Şekil 6.3.9’da görüldüğü üzere, lityum grubunda p- Gsk3 β / t-Gsk3, kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek düzeyde saptanmıştır(p<0,01). Profilaksi grubunda, p- Gsk3 β / t-Gsk3 β kontrole ve lityum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük bulunmuştur (p<0,01).

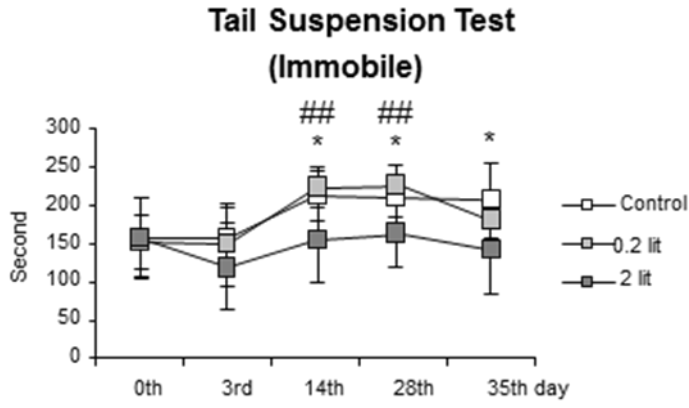
6.4. Kronik dönemde fonksiyonel geri kazanım ile ilgili testler

Kuyruktan Asma Testi İle Hareketlilik Zamanının Değerlendirilmesi



Şekil 6.4.1: Kuyruktan asma testi hareketlilik süreleri

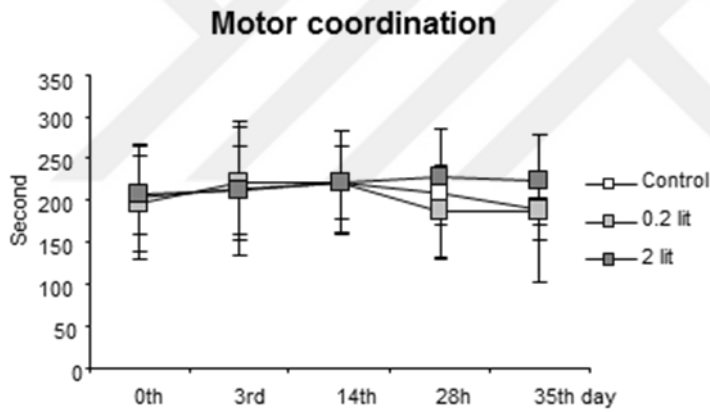
Şekil 6.4.1’de görüldüğü üzere, üç grup birbiriyle karşılaştırıldığında 35. günde, lityum 2 mmol/kg grubunun lityum 0,2 mmol/kg ve kontrole göre hareketlilik süresinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Anlamlı farklılıklar ise, 14. günde kontrol ile lityum 2 mmol/ kg grubu arasında (p< 0,01) ve 28. günde lityum 2 mmol/ kg ile lityum 0,2 mmol/kg (p< 0,01) arasında görülmüştür.



Şekil 6.4.2: Kuyruktan asma testi hareketsizlik süreleri

Şekil 6.4.2’de görüldüğü üzere, en az hareketsizlik süresi olan grup lityum 2 mmol/kg olarak izlenmiştir.

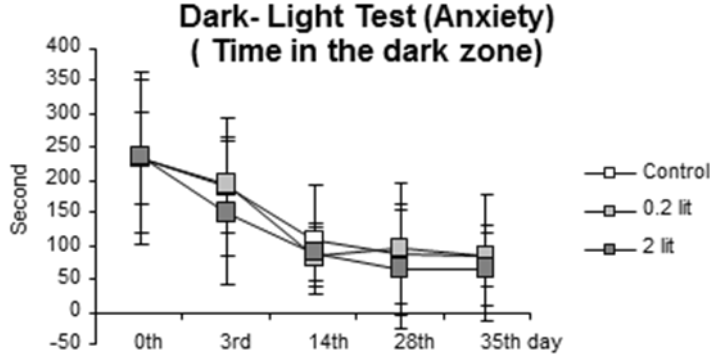
Rotarod Testi İle Motor Koordinasyonun Değerlendirilmesi



Şekil 6.4.3: Motor koordinasyon testi

Şekil 6.4.3’te görüldüğü üzere, üç grup birbiriyle karşılaştırıldığında benzer eğilim izlediği görülmüştür. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir. Lityum 2 mmol/kg grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha iyi motor koordinasyon izlenmiştir($p>0,05$).

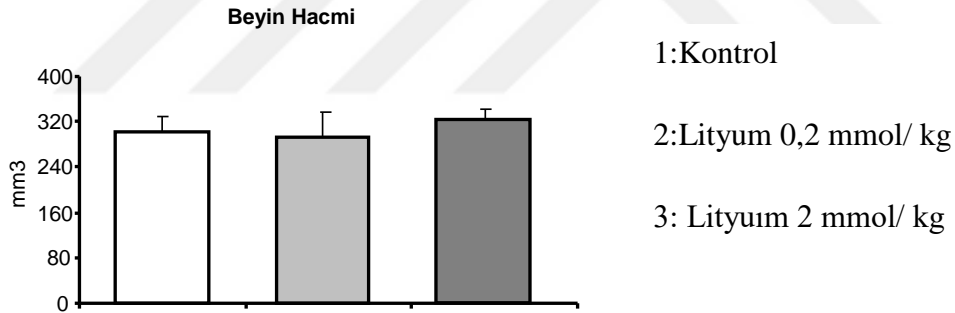
Aydınlık- Karanlık Testi ile Açık Alanda Geçirilen Zamanın Değerlendirilmesi



Şekil 6.4.4: Aydınlik- karanlık testi karanlıkta geçen süre

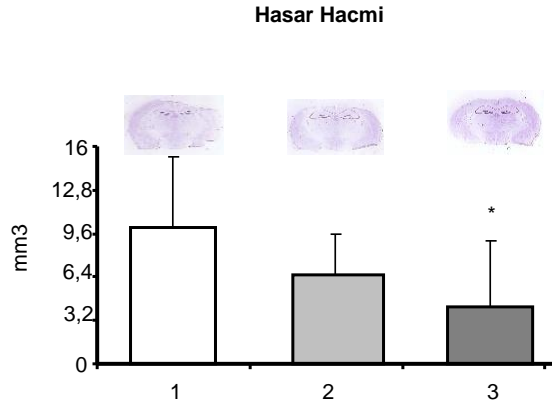
Şekil 6.4.4'te görüldüğü üzere, karanlıkta alanda geçirilen sürenin, 35. günde birbirine benzer olduğu, bazeline göre azaldığı gözlenmiştir. Gruplar arasında her gün için istatistiksel olarak fark izlenmemiştir.

6.5.Kronik dönemde Cresyl- Violet ile beyin alanlarının karşılaştırılması



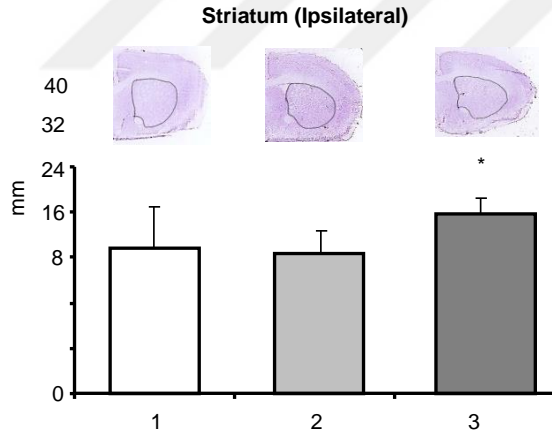
Şekil 6.5.1: Kronik dönemde beyin hacimleri

Şekil 6.5.1'de görüldüğü üzere, beyin hacimleri karşılaştırıldığında, üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).



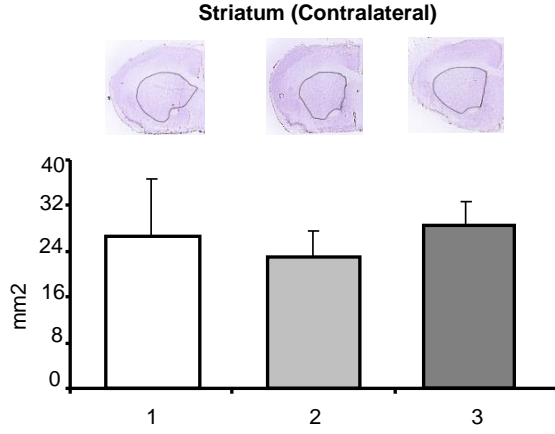
Şekil 6.5.2: Kronik dönemde hasar hacimleri

Şekil 6.5.2’de görüldüğü üzere, üç grup arasında hasar hacimleri karşılaştırıldığında, lityum 2 mmol/kg grubu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha küçük hacme sahiptir($p < 0,05$). Lityum 0,2 mmol/kg grubu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha küçük hacme sahiptir($p > 0,05$).



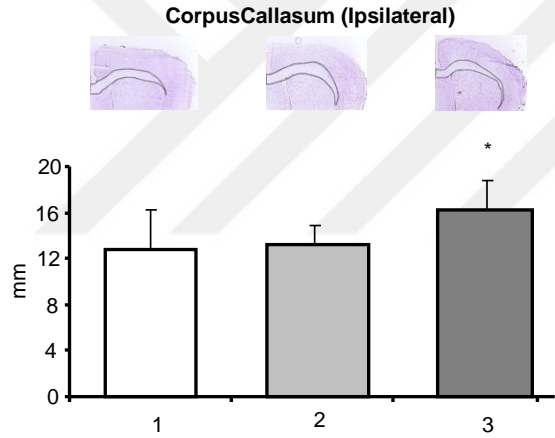
Şekil 6.5.3: Kronik dönemde ipsilateral striatum hacimleri

Şekil 6.5.3’te görüldüğü üzere, ipsilateral striatum alanları karşılaştırıldığında, lityum 2 mmol/kg grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha büyük bir alana sahip olduğu gözlenmiştir($p < 0,05$). İpsilateral striatum alanı, lityum 0,2 mmol/ kg grubu ile kontrol grubu birbirine benzerdir.



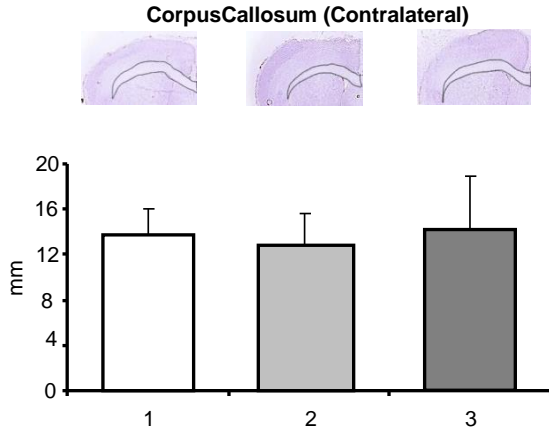
Şekil 6.5.4: Kronik dönemde kontralateral striatum hacimleri

Şekil 6.5.4'te görüldüğü üzere, kontralateral striatum alanları karşılaştırıldığında, üç grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).



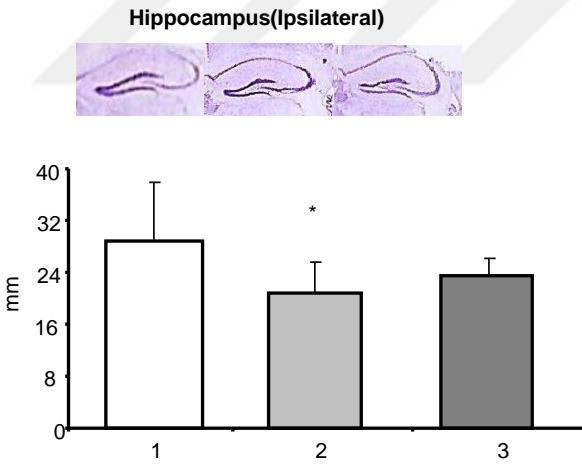
Şekil 6.5.5: Kronik dönemde ipsilateral korpus kallosum hacimleri

Şekil 6.5.5'te görüldüğü üzere, ipsilateral korpus kallosum alanları karşılaştırıldığında; lityum 2 mmol/kg grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha büyük alana sahip olduğu ($p<0,05$); lityum 0,2 mmol/kg grubu kontrol grubuna göre benzer korpus kallosum alanına sahip olduğu görülmüştür ($p>0,05$).



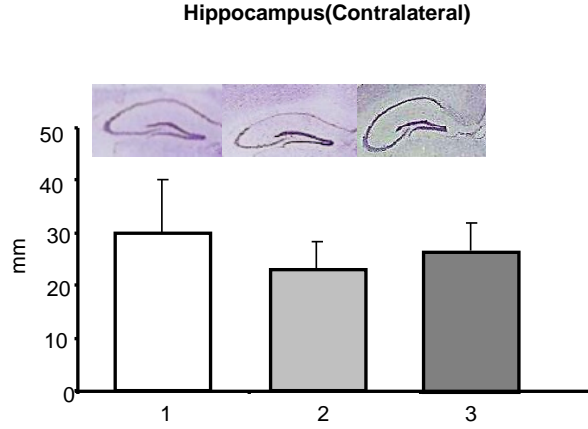
Şekil 6.5.6: Kronik dönemde kontralateral korpus kallosum hacimleri

Şekil 6.5.6'da görüldüğü üzere , üç grup arasında, kontralateral korpus kallosum alanları arasında fark gözlenmemiştir ($p>0,05$)



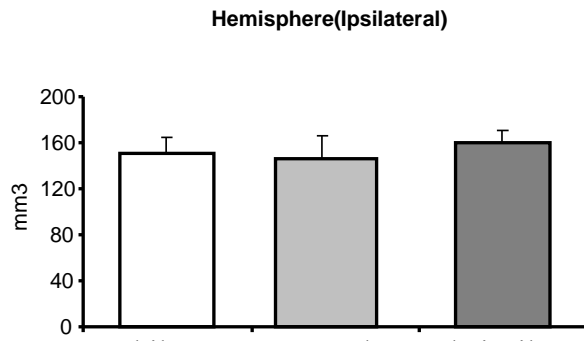
Şekil 6.5.7: Kronik dönemde ipsilateral hipokampus hacimleri

Şekil 6.5.7'de görüldüğü üzere, ipsilateral hipokampus alanları karşılaştırıldığında, lityum 0,2 mmol/kg grubu kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı daha küçük hacme sahip olduğu gözlenmiştir($p<0,05$). Lityum 2 mmol/kg grubu, kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha küçük hacme sahip olduğu gözlenmiştir($p>0,05$).



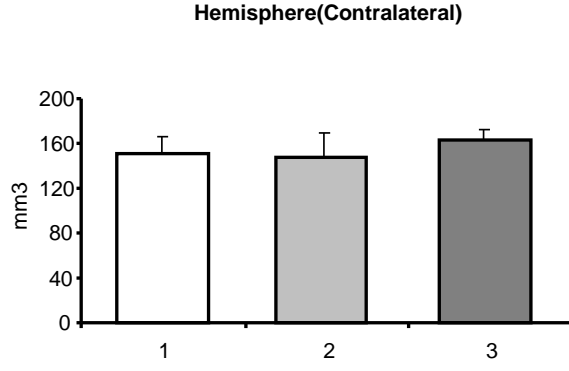
Şekil 6.5.8: Kronik dönemde kontralateral hipokampus hacimleri

Şekil 6.5.8’de görüldüğü üzere, kontralateral hipokampus alanları karşılaştırıldığında, üç grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$), ancak lityum 0,2 ve 2 mmol/kg grupları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha küçük hacme sahiptir.



Şekil 6.5.9: Kronik dönemde ipsilateral hemisfer hacimleri

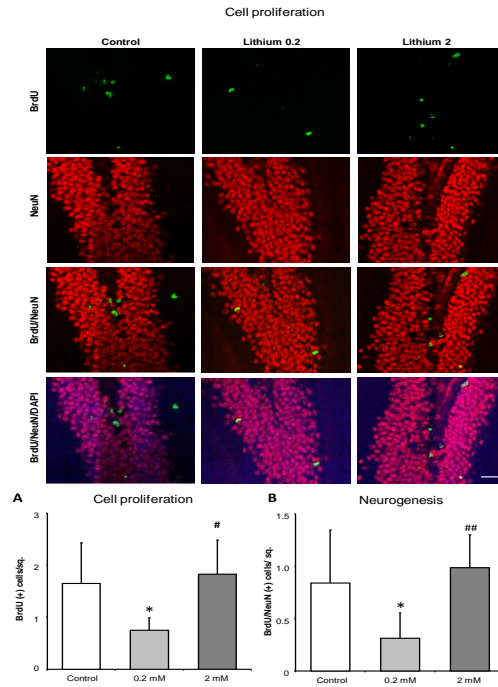
Şekil 6.5.9’da görüldüğü üzere, ipsilateral hemisfer alanları karşılaştırıldığında, üç grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).



Şekil 6.5.10: Kronik dönemde kontralateral hemisfer hacimleri

Şekil 6.5.10'da görüldüğü üzere, kontralateral hemisfer alanları karşılaştırıldığında, üç grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

6.6. Hipokampüste Çift Immün Boyama ile Nörogenez Analizi



Şekil 6.5.11 : Kronik dönemde hipokampüste hücre profilerasyonun ve nörogenezin BrdU/ NeuN immunohistokimyasal boyama ile gösterilmesi

Hipokampüste atrofinin tanınmasından sonra, hipokampüste nörogenez analizi yapıldı. Hücre çoğalması, olgun nöronları belirten NeuN boyaması ile hipokampus seviyesinde koronal kesitte analiz edildi. NeuN pozitif hücrelerin sayısı, hipokampüste on iki farklı ROI'den elde edildi. BrdU'nun hücre bölünmesi sırasında, hücresel DNA'ya bağlanmasını gösteren BrdU pozitif hücrelerin yüzdesi, 0.2 mM lityum grubunda, hem lityum 2 mM hem de kontrol grubundan anlamlı ölçüde daha azdı. Benzer şekilde, nörogenez, ipsilateral hemisferde NeuN+BrdU pozitif hücrelerin yüzdesi, 0.2 mM lityum grubunda, hem lityum 2 mM hem de kontrol grubundan anlamlı ölçüde daha azdı (Veri ort \pm SS, * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre, # $p < 0.01$ / ## $p < 0.01$ 0.2mM lityum grubu ile kıyaslandığında).

6.7. Ölüm Oranları

Akut dönemde, kontrol grubuna dahil olan 9 fareden biri ilk 24 saat içinde ölmüştür. Hasar sonrası tek doz lityum verilen 11 hayvandan bir tanesi operasyon sırasında kanamaya bağlı, iki tanesi ilk 24 saat içinde ölmüştür. Profilaksi grubundaki 6 hayvanda ölüme rastlanmamıştır. Kronik dönemde, her üç gruba 10'ar hayvan dahil edilmiş olup lityum 2 mmol/ kg grubunda ilk 24 saat içinde 3 hayvan, lityum 0,2 mmol/kg grubunda ise 1 hayvan ilk 24 saat içinde ölmüştür. İlk 24 saat içinde kontrol grubunda ölüme rastlanmamıştır. Kontrol grubunda 13. Günde 1 hayvan, 19. Günde 1 hayvan; Lityum 0,2 mmol/kg grubunda 15. Günde 1 hayvan ölmüştür.

7.TARTIŞMA

Bu tezde lityumun travmatik beyin hasarı sonrası *in vivo* şartlarda akut dönemde; i) nöronal hayatta kalım, hasar hacmi, ii) apoptotik hücre ölümü, iii) ölüme ve hayatta kalıma aracılık eden sinyal iletim yolları, kronik dönemde; iv) beyin alanları ve hasar hacmi, v) işlevsel düzelme ve davranışsal değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır.

Akut dönemde hasar hacmi ve apoptotik hücre ölümü

Travmatik beyin hasarının farmasötik tedavisi için birçok kapsamlı çalışma yapılmış olsa da, FDA tarafından onaylanan herhangi bir ilaç şu ana kadar bulunamamıştır [4], [110]. Akut lityum 2 mmol/kg'ın travmatik beyin hasarı sonrası hemen enjeksiyonu, profilaktik lityum grubuna benzer şekilde hasar hacmini azalttığı gözlenmiştir. Çalışmamızda profilaktik 3 gün boyunca uygulanmıştır. Profilaktik lityum 5-7 gün kadar daha uzun süre verilmesi, ilacın stabil plazma konsantrasyonuna ulaşip hasar hacminin daha çok azalmasını sağlayabilir. Lityumun orta dereceli kontrollü TBH öncesi 14 gün boyunca günlük 1 mmol/kg ip olarak verildiği çalışmalardan birinde, kronik lityum tedavisinin hemisferik doku kaybını azalttığı gösterilmiştir [111]. Lityum glutamat eksitotoksitesini, oksidatif stresi, NMDA reseptör aktivasyonunu azaltma kapasitesine sahiptir [112]. NMDA reseptörüne bağlı kalsiyumun içeri girişini inhibe ederek, lityum kalsiyum homeostazına katkıda bulunur ve kalsiyuma bağlı proapoptotik sinyal yollarının aktivasyonunu azaltır [113]. Akut ve profilaktik lityum kullanımı hipokampus ve kortekste apoptotik hücre ölümünü azalttı. Lityum, akut fazda apoptoz için en çok travmatik beyin hasarının olduğu bölgede hücre sayısı azaltmakta etkindi. Profilaktik lityum grubunda apoptozdaki azalma akut lityum grubuna göre daha azdı. Akut ve profilaktik lityum uygulanmasının, apoptotik hücre sayısı ile hasar hacminde azalma üzerindeki sonuçları birbirine benzer seyirde izlendi.

Akut dönemde hayatta kalım yolları

Travmatik beyin hasarında lityumun kullanılmasıyla, hücrenin ayakta kalma yollarında neler değişiyordu? Lityumun akut ya da profilaktik olarak verilmesi nasıl etkiler ? Lityum GSK- 3 direkt olarak inhibe eder, indirekt olarak Akt, protein

kinaz A ve C'nin serin fosforilasyonunun artırılması GSK-3' ü inhibe eder[113]. Akt ve Erk yolları iki ayrı hayatta kalım yolağı olsa da, lityumun her üç grupta iki yolak üzerinde de benzer şekilde davrandığı gözlenmiştir. Lityum, MEK(mitojen aktive kinaz)- ERK(ekstrasellüler regüle kinaz) sinyal yolağı aracılığıyla nöronal işlev, sinaptik plastisite ve hayatta kalım düzenlenmesiyle ilgili olarak düzenlediği görülmektedir[114]. Lityum, ERK ve protein kinaz B fosforilasyonu artırır ve fare N2a nöroblastom hücrelerinde (N2a) nörit büyümesini tetikler. MEK inhibitörü ile MEK/ ERK sinyal yolağında MEK inhibisyonu nörit büyümesini inhibe eder, ama lityum tedavili N2a hücrelerinde Akt aktivasyonu artırır. Dahası, fosfoinositol-3-kinaz (PI3K)/ Akt sinyal yolağının PI3K inhibitörü ile inhibisyonu, lityum ile uyarılmış ERK aktivasyonu ve lityum ile indüklenmiş nörit büyümesini artırır. N2a hücrelerinde lityum ile uyarılmış nörit büyümesi, MEK/ ERK ve PI3K/ Akt sinyal yolları arasında karşılıklı etkileşim ile düzenlenir ve MEK/ ERK yolağının aktivasyonunu gerektirir[115]. MEK/ ERK yolağının aktivasyonu, LiCl indüklenmiş nörit büyümesi için gereklidir. Lityumun akut kullanımifosforile Akt ve Erk 1/ 2 seviyelerini artırırken; profilaktik lityum kullanımı seviyelerini azaltır.

GSK3 α ve GSK3 β genel olarak biyolojik rolleri benzeşmektedir, birçok bağlamda işlevsel olarak fazlasıyla gösterilmiştir [116]. İki izoformun kinaz altbirimleri %98 oranında benzer aminoasit dizilimlerini paylaşır, kinaz inhibitörleri GSK3 α ve GSK3 β ayırımı sağlayamayacak gibi gözükmektedir[75]. Sadece lityum direkt olarak GSK3 aktivitesini (hem α hem de β) teröpatik seviyede inhibe eder [92]. Akut lityum grubunda, fosforile GSK- 3 α ve GSK3 β kontrol grubundan daha fazla iken, profilaktik lityum grubunda kontrol grubuna göre daha azdır. ERK, GSK- 3 β gibi birçok altyolak efektör sistemlerini düzenler [5]. Lityum aynı zamanda iyi bilinen GSK- 3 β fosforilasyonu MEK/ ERK yolağı aracılığıyla etkiler, böylece ribozom S6 kinaz aracılığıyla bu kinazı inhibe eder[117].

c- Jun N-terminal kinaz (JNK, stres ile aktive olmuş kinaz olarak da adlandırılır) ve p38 kinaz, MAP kinazların ERK ailesini birlikte oluştururlar. JNK in vitro ve beyinde, nöronda apoptoz ve dejenerasyonun potent etkileyicileridir[118]. JNK-1'in fosforile seviyeleri üç grup arasında farklılık göstermezken, akut lityum grubunda hafif bir artış gözlenmektedir. Profilaktik grupta JNK-2 fosforile formları

kontrolden daha az izlenmiştir. GSK- 3, c- Jun stres cevabını pozitif yönde etkilerken şu anda bu etkileşimin nasıl olduğu bilinmemektedir. Nöronlarda, c- Jun stres cevabının GSK- 3 ile düzenlenmesi indirekt olarak, c- Jun'un GSK-3 ile direkt fosforilasyonunu sağlayarak c-Jun DNA bağlanmasını azaltır [119]. Lityum, kanonik JNK/ c- Jun stres yolağını nöronlarda inhibe eder [120]. Yüksek doz glukoz tarafından indüklenmiş nörotoksisite üzerinde, işlem öncesi lityum (1 mmol/ kg/ 7 gün) tedavisinin PC12 hücrelerinde mitokondrial apoptozu, JNK ve p38 MAPK yolağını inhibe ettiği gösterilmiştir [121]. Çalışmamızda, fosforile p38 seviyeleri üç grup arasında farklılık izlenmemiştir.

Çalışmamızda, profilaktik ya da akut lityum uygulanması ilk gün fosforile p53 seviyelerini değiştirmemiştir. İşlem öncesi 7 gün lityum tedavisi, glutamat tarafından indüklenmiş p53 ve Bax ekspresyonundaki artışı önlemiştir ve Bcl-2 seviyesi yüksek seviyede kalmasına sebep olmuştur[122]. Lityumun terapötik seviyeleri(0.5–1.0 mM) proapoptotik p53 mRNA seviyelerini azaltır, daha yüksek seviyeler daha belirgin azalmaya sebep olmuştur. P53 kaybı, tedavi sonrası ilk günde gözlemlendi ve 5-7 günde en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Fosforile p38, Jnk-1, p53 seviyelerinde akut ve profilaktik lityum seviyelerinde fark bulunmamasının sebebi, ilacın doz ve uygulama süresi ile değerlendirmenin yapıldığı zamana bağlı olduğu düşünülmüştür.

Kronik dönemde davranış deneyleri

Travmatik beyin hasarından 3 gün sonra, kontrol grubunda hareketlilik zamanı istatistiksel olarak anlamlı olmasa azaldı. 14. Günde, hareketlilik zamanı lityum 2 mmol/ kg dışındaki gruplarda belirgin olarak azaldı. Lityum 2 mmol/ kg grubu, hem 14. Günde hem de 28. Günde lityum 0,2 mmol/ kg ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha hareketli olarak tespit edildi. Lityum 2 mmol/kg grubunu, kuyruktan asma testinde 35. günde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı, lityum 0,2 mmol/kg grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da en fazla hareketlilik zamanına sahip olan grup olarak izlendi. Hafif TBH sonrası, 24 saat kadar kısa bir sürede depresyon tetiklenmiş olarak gözlemlendi [97]. Gsk-3 inhibitörleri, lityum, L803- mts işlem öncesinin verilmesi hafif TBH sonrası tetiklenmiş depresyonu önler [97]. Selektif GSK- 3 inhibitörlerinin kullanımı, proapoptotik hasara karşı nöroprotektif etki göstermektedir [123] ve antidepresif etkiler üretmiştir[124]. TBH, ERK 1/2 ve JNK'

yı içeren MAPK üyelerinin aktivasyonunu tetikler[125] ve profilaktik lityum bunların aktivasyonunu önlese de selektif inhibisyonları depresyon üzerinde etkisini gösterecektir. Hipokampal dentat girusun nörogenezde ve anksiyete ve depresyon ile ilişkili davranışların düzenlenmesinde yer aldığıyla ilgili kanıtlarla desteklenmektedir[126].

Rotarod testinde motor koordinasyon değerlendirildiğinde, 0., 3. ve 14. Günde kronik setin üç grubunda da benzerdi. 28. Ve 35. Günde, 2 mmol/ kg motor koordinasyonu diğerlerinden daha iyi olsa da, bu performans bizim çalışmamızda beligin izlenmedi. Lityum, TBH sonrası rotarod ve ışın yürüme performansında kısa ve uzun dönemli motor defisitleri azaltmıştır [127]. İnce motor koordinasyonu ölçen ışın yürüme testinde, lityumun subeffektif dozunun hasar sonrası 14 ve 21. Günde yararlı etkileri gözlenmiştir [22].

Anksiyete seviyelerinin tespiti için aydınlık/ karanlık testinde aydınlıkta geçen sürenin kronik setin her üç grubunda da ilk gün itibariyle azaldığı gözlenmiştir. Ancak lityumun düşük ve yüksek dozlarının anksiyete seviyeleri üzerinde herhangi bir etkisi tespit edilmemiştir. 10. Günde 2 mm lik hasar sonrası, açık alan testinde merkezde geçirilen süreden saptanan lityuma bağlı anksiyeteyi azalttığı görülmüştür [127]. Bu farklılık, anksiyete seviyelerinin tespiti için farklı metodların kullanılmasından kaynaklanmış olabilir.

Kronik dönemde beyin bölgeleri ve hasar hacmi

Kronik sette üç grup, beyin hacmi ve özel beyin bölgeleri açısından değerlendirildiğinde, her üç grupta da beyin hacimlerinin benzer olduğu gözlenmiştir. Lityum 2 mmol/kg, hasar hacmini lityum 0,2 mmol/kg a göre daha fazla azaltmıştır. Hasar sonrası 1,5, 2 ve 3 mEq/ kg lityum uygulanması, TBH sonrası hasar hacmini belirgin olarak azaltmıştır [127]. Lityumun, kronik hasar öncesi ve sonrası uygulanmasıyla birlikte hasar hacminin azaldığı gözlenmiştir [128]. Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, subeffektif lityum ve valproik asitin tek başına uygulanması, hasar hacmini azaltmada ve kan beyin bariyerinin bozulmasının azalmasındaki etkisinin yetersiz olduğu görülmüştür [22]. Lityum 0,2 mmol/ kg hasar hacmini azaltmış olmasına rağmen, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında

istatistiksel olarak farklı değildir. Hasarın ipsilateralinde, striatum ve karpus kallozum alanlarının her ikisinde lityum 2 mmol/kg kontrole göre daha fazla alana sahiptir. Bu farklılık hipokampüste gözlenmedi. Düşük doz lityum tedavisi, nörodejenarasyon ve nöroinflamasyonun kalıcı inhibisyonunu sağlayarak yararlı etkiler oluşturabilir ancak bu istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadı. Akut değil ancak kronik lityum verilmesi, hipotalamus, hipokampus veya beyin sapı değil ancak substantia nigra, frontal korteks ve nukleus akkumbens gibi substance-P içeren dopaminle ilişkili bölgelerin alanında artışa sebep olmuştur [129].

Kronik dönemde, lityumun davranış üzerindeki etkileri incelendiğinde; kontrol grubuna göre rotarod ile değerlendirilen motor koordinasyonda daha önce yapılan çalışmalardakine benzer şekilde etkilemediği görülmüştür. Depresyonun değerlendirilmesinde kullanılan kuyruktan asma testinde ise, 35. günde aralarında anlamlı fark olmasa da lityum 2 mmol/kg'ın lityum 0,2 mmol/kg ve kontrolden daha etkili olduğu görülmüştür. Daha önceki yapılan çalışmalarda lityumun etkin dozlarda depresyon üzerindeki etkisi gösterilmiştir. Örneklem sayısının artırılması ve özellikle lityum 2 mmol/kg grubunda karşılaşılan hayvanların bazı davranışlarının yorumlanması bu etkinin daha iyi gösterilemesine yardımcı olacaktır. Açık alan testinde ise, hareketlilik zamanları arasında herhangi bir farklılık izlenmemiştir. Lityum 2 mmol/kg grubunda, 35. Günde araştırmacı davranışların belirginleştiği gözlenmiştir. Açık-karanlık alan testinde ise, yine açık alanda harcanan zamanlar benzerdir. Giriş çıkış sayılarının karşılaştırılması, daha önceki çalışmalarda olduğu gibi daha değerli bilgiler verebilir.

Hipokampüste Çift Immün Boyama ile Nörogeniz Analizi

Lityumun limbik ve subkortikal gri cevherde hacimlerinde etkisi bipolar hastalarında kısa dönemde amigdala üzerinde, uzun dönemde her iki yapı üzerinde de izlenmiştir[130]. Lityum tedavisinin uzun dönemli etkisi, Bipolar- 1 hastalarında görülen yararlı etkisi, uzun dönem tedavide kalıcı iken[131] kısa dönemli tedavide kalıcı değildir[132]. Kronik lityum uygulanması strese bağlı dentritik budanmayı her iki bölgede[133,134] glutamerjik sinyalin azalması ile yenilerken, lityumun akut karıncı enjeksiyonu kalsiyuma bağlı NO3 seviyelerini azaltır[135]. Aksine, kısa dönemli lityum tedavisi, hipokampüste glutamatın indüklediği kalsiyum seviye

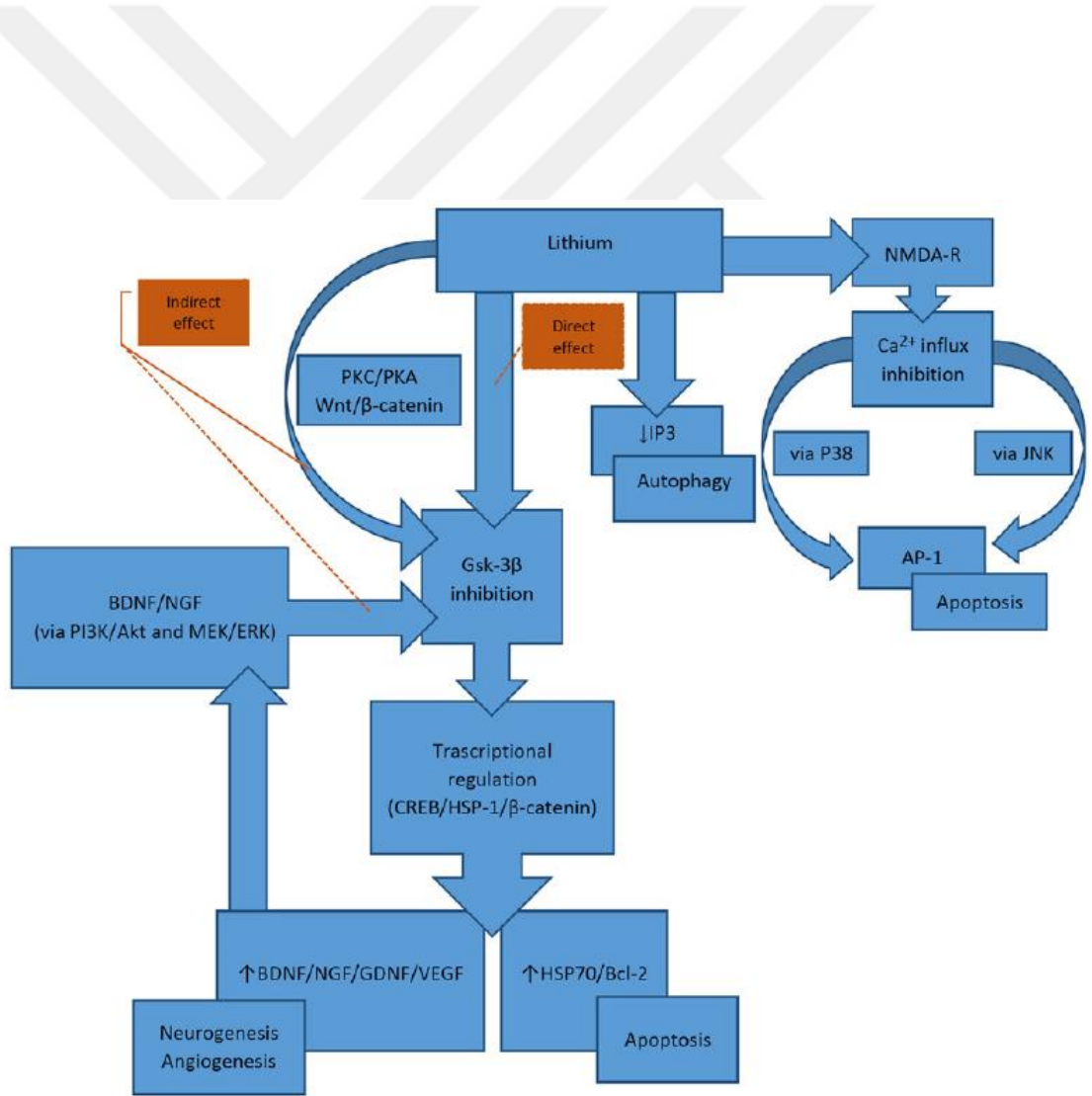
artışını verimli bir şekilde düzenlemez[136]. Bipolar hastalık mekanizmasında, sinaptik plastisite ile ilgili önemli ölçüde kanıt vardır[137,138]. Hipokampal küçülmede etkili bir diğer faktör, TBH'nın parietal korteks üzerine uygulanması sonucu, indirekt olarak hipokampüsteki sinaptik plastisiteyi etkilemiş olmasıdır. Shim vd çalışmasında, dentritik dalların lityum ile 4 hafta boyunca tedavi edilerek lityuma bağlı uzun dönemli potansiyelizasyonun artırıldığı gözlenmiştir[139,140]. O'Leary vd. lityumun ventral hipokampüste hücre çoğalmasını stres altında artırdığı gözlenmiştir. Lityum tarafından indüklenmiş hücre çoğalması, yeni doğan hücrelerin başlangıçta azalmasına yanıt olarak oluşmuştur[141]. Yenidoğan hücrelerin çoğalmaktan ziyade devri, stres ile ilişkili hastalıkların uzaysal ve hafıza ile ilişkili bozukluklarının tedavisinde etkilidir[142,143]. Lityumun, yenidoğan hücreler üzerinde çoğalması ve ayakta kalması hakkında bilgiler yeterli değildir. Kronik stres altında yenidoğan hücrelerin ayrılma ve yeniden doğuşu, yaşa bağlı ve farklılaşan özel cevaplarına göre değişir. Lityum tedavisi ventral hipokampüste dorsal hipokampüse oranla daha belirgin etkisini gösterir[144]. Kronik lityum tedavisi sıçan hipokampüsünde apoptotik hücre sayısını artırmış, halen hücre sayısında net bir kazanç elde edilmesine neden olmuştur, bu da lityumun devinimindense hücre çoğalmasını artırdığını göstermiştir[145]. Diğer çalışmalar, lityumun dentat girusta BrDU işaretli yenidoğan hücre sayısını artırdığını göstermiştir[146,147]. Tüm bu çalışmalar lityumun hücre ayakta kalmasında, iki yönlü etkisi olduğunu ve nöroprotektif etkinin baskın olduğunu göstermiştir. Hipokampal atrofiye yol açanın hipokampal toksisite neden olduğunu söylemektense, 35 günlük lityum tedavisinin hücre apoptozu ve yeni hücre oluşması arasındaki dengenin daha az hacme sebep olan yeniden şekillenme işlemine neden olduğu hipotez edilebilir. Alternatif olarak beyin hacmi sabit olduğu için, hipokampüsteki artış striatum ve korpus kallozumdaki artışa oranla az olması sebebi ile hipokampüs hacminin azalmış olarak hesaplanmış olmasıdır. Hipokampal hücre çoğalmasının bazal artışı C57BL/6'de BALB/c farelerine göre daha fazladır[148, 149, 150]. Diğer taraftan,sadece düşük doz lityum grubunda azalmış nörogenez izlenmiştir. Yüksek doz lityum grubunun aksine, depresyona benzer davranışlar düşük doz lityum grubunda etkilenmemiştir. Sonuçlarımız, nörogenezin düşük doz lityum grubunda azalmış olduğunu

göstermesine rağmen, yüksek doz grubunda görüldüğü gibi depresyona benzer davranışların gelişmesi ile de kompanze edilebilir.

Moleküler, hücresel ve klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar, bipolar bozukluk nöroplastisite teorisini önerir, bu TBH patofizyolojisinde yer alan nöronal devreler içindeki bozulmuş sinaptik iletişiminin hastalık tarafında uyarılmış nöroplastisiteye neden olduğu noktadır[151,152]. Lityum patolojik süreci durdurur, sinaptik plastisiteyi uyarır, bu da hastalığa bağlı nöroplastisitenin yenilenmesine sebep olur[140]. Bipolar bozukluk hipokampal beyin MRI'ları üzerinde yapılan çalışmalar, olası karıştırıcı faktörler sebebi ile tutarsızdır[153]. Kısa dönem lityuma maruziyet, hipokampal hacimlerde artış ile ilişkili gözükürken[154], hastalık maruziyetinin hipokampus üzerindeki negatif etkisinin lityum etkisi gözetlenerek test edilmesi gerekiyor[155]. Lityum kısa dönemde nöroprotektif etkilere sebep olurken uzun dönemde nörotoksik etkilere sebep olduğu belirtildi. Bu durumda, kortikal atrofi ve bilişsel bozuklukların uzun dönem lityum kullanımı ile ilişkisi olduğu[156] ve bunların yaşlanmaya bağlı inflamasyon ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Tsai vd süregen inflamasyonun yaşlı bipolar hastalarda, hipokampus ve gri cevher hacimlerinde azalma ile ilişkili olabileceğini, bu durumun hastalık süresinden, lityum ve antipsikotik tedavisinden bağımsız olduğu gösterdi[157]. Uzun süreli lityum tedavisi gören Bipolar- I hastalarında, hipokampus, talamus ve amigdala hacimlerinde tedavi görmeyen ve sağlıklı kişilerle[158] kıyaslandığında artış olduğu; kısa dönemli değil ancak uzun dönemli lityum tedavisinin özel hipokampus altbölgeleri üzerinde hastalık ilerlemesi ile ilişkili nöroprotektif etkileri olduğu gösterildi[159].

8. SONUÇ

Sonuçlarımız, lityumun Akt, Erk 1/ 2, Gsk 3 α/β mekanizmaları üzerinden travmatik beyin hasarına göre zamanlamasına göre, özellikle korteks ve hipokampüste nöroprotektif etkilerinin olduğunu göstermiştir. 24 saatten sonra, proapoptotik protein seviyelerindeki değişimlerin gözlenmesi için yeni çalışmalar gerekmektedir. Yüksek doz lityumun kronik uygulanması, özellikle depresyon üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu, az miktarda motor koordinasyonu etkilediği, anksiyete üzerinde ise herhangi bir etkisinin olmadığı gözsterilmiştir. Yüksek doz lityum korpus kallozum alanlarını artırmış, ilginç olarak hipokampus alanlarını değiştirmemiştir.



Şekil 8.1: Lityumun etki yolları (Quartini vd. [130]'dan alınmıştır.)

KAYNAKLAR

- [1] J. Ghajar, "Traumatic brain injury.," *Lancet*, vol. 356, pp. 923–929, 2000.
- [2] T. B. Cole, "Global road safety crisis remedy sought: 1.2 Million killed, 50 million injured annually," *Journal of the American Medical Association*, vol. 291, no. 21. pp. 2531–2532, 2004.
- [3] S. R. Finfer and J. Cohen, "Severe traumatic brain injury.," *Resuscitation*, vol. 48, no. 1, pp. 77–90, 2001.
- [4] S. Margulies and R. Hicks, "Combination Therapies for Traumatic Brain Injury: Prospective Considerations," *J. Neurotrauma*, vol. 26, no. 6, pp. 925–939, 2009.
- [5] C.-T. Chiu, Z. Wang, J. G. Hunsberger, and D.-M. Chuang, "Therapeutic potential of mood stabilizers lithium and valproic acid: beyond bipolar disorder.," *Pharmacol. Rev.*, vol. 65, no. 1, pp. 105–42, Jan. 2013.
- [6] K. Murakami, T. Kondo, G. Yang, S. F. Chen, Y. Morita-Fujimura, and P. H. Chan, "Cold injury in mice: a model to study mechanisms of brain edema and neuronal apoptosis.," *Prog. Neurobiol.*, vol. 57, no. 3, pp. 289–99, Feb. 1999.
- [7] G. Grasso, A. Sfacteria, F. Meli, V. Fodale, M. Buemi, and D. G. Iacopino, "Neuroprotection by erythropoietin administration after experimental traumatic brain injury," *Brain Res.*, vol. 1182, pp. 99–105, Nov. 2007.
- [8] T. Kelestemur *et al.*, "Targeting different pathophysiological events after traumatic brain injury in mice: Role of melatonin and memantine," *Neurosci. Lett.*, vol. 612, no. November 2015, pp. 92–97, 2016.
- [9] J. D. Corrigan and F. M. Hammond, "Traumatic brain injury as a chronic health condition," *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, vol. 94, no. 6, pp. 1199–1201, 2013.
- [10] L. Wilson *et al.*, "The chronic and evolving neurological consequences of traumatic brain injury," *Lancet Neurol.*, vol. 16, no. 10, pp. 813–825, 2017.
- [11] E. Zaloshnja, T. Miller, J. A. Langlois, and A. W. Selassie, "Prevalence of long-term disability from traumatic brain injury in the civilian population of the United States, 2005," *J Head Trauma Rehabil*, vol. 23, no. 6, pp. 394–400, 2008.
- [12] A. I. Maas, N. Stocchetti, and R. Bullock, "Moderate and severe traumatic

- brain injury in adults,” *Lancet Neurol.*, vol. 7, no. 8, pp. 728–741, Aug. 2008.
- [13] C. Werner and K. Engelhard, “Pathophysiology of traumatic brain injury,” *Br. J. Anaesth.*, vol. 99, no. 1, pp. 4–9, Jul. 2007.
- [14] R. A. Laskowski, J. A. Creed, and R. Raghupathi, “Pathophysiology of Mild TBI,” in *Brain Neurotrauma: Molecular, Neuropsychological, and Rehabilitation Aspects*, CRC Press/Taylor & Francis, 2015, pp. 35–43.
- [15] S. Yarham and A. Absalom, “Anesthesia for Patients with Head Injury,” in *Essentials of Neuroanesthesia and Neurointensive Care*, Elsevier, 2008, pp. 150–154.
- [16] T. K. McIntosh, D. H. Smith, D. F. Meaney, M. J. Kotapka, T. A. Gennarelli, and D. I. Graham, “Neuropathological sequelae of traumatic brain injury: relationship to neurochemical and biomechanical mechanisms,” *Lab. Invest.*, vol. 74, no. 2, pp. 315–42, Feb. 1996.
- [17] D. H. Smith, V. E. Johnson, and W. Stewart, “Chronic neuropathologies of single and repetitive TBI: substrates of dementia?,” *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 9, no. 4, pp. 211–221, Apr. 2013.
- [18] Y. Lai *et al.*, “Autophagy is Increased after Traumatic Brain Injury in Mice and is Partially Inhibited by the Antioxidant γ -glutamylcysteinyl Ethyl Ester,” *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 28, no. 3, pp. 540–550, Mar. 2008.
- [19] O. I. Schmidt, C. E. Heyde, W. Ertel, and P. F. Stahel, “Closed head injury—an inflammatory disease?,” 2005.
- [20] A. Kumar and D. J. Loane, “Neuroinflammation after traumatic brain injury: Opportunities for therapeutic intervention,” *Brain. Behav. Immun.*, vol. 26, no. 8, pp. 1191–1201, Nov. 2012.
- [21] N. Tajiri *et al.*, “Intravenous Transplants of Human Adipose-Derived Stem Cell Protect the Brain from Traumatic Brain Injury-Induced Neurodegeneration and Motor and Cognitive Impairments: Cell Graft Biodistribution and Soluble Factors in Young and Aged Rats,” *J. Neurosci.*, vol. 34, no. 1, pp. 313–326, Jan. 2014.
- [22] M. Neurobiology, M. Health, N. Institutes, R. Medicine, and H. Sciences, “Posttrauma cotreatment with lithium and valproate: reduction of lesion volume, attenuation of blood-brain barrier disruption, and improvement in

- motor coordination in mice with traumatic brain injury,” vol. 119, no. September, pp. 766–773, 2013.
- [23] L. J. Martin, N. A. Al-Abdulla, A. M. Brambrink, J. R. Kirsch, F. E. Sieber, and C. Portera-Cailliau, “Neurodegeneration in excitotoxicity, global cerebral ischemia, and target deprivation: A perspective on the contributions of apoptosis and necrosis.,” *Brain Res. Bull.*, vol. 46, no. 4, pp. 281–309, Jul. 1998.
- [24] A. E. Manktelow, D. K. Menon, B. J. Sahakian, and E. A. Stamatakis, “Working Memory after Traumatic Brain Injury: The Neural Basis of Improved Performance with Methylphenidate.,” *Front. Behav. Neurosci.*, vol. 11, p. 58, 2017.
- [25] S. Yu *et al.*, “Severity of controlled cortical impact traumatic brain injury in rats and mice dictates degree of behavioral deficits,” *Brain Res.*, vol. 1287, pp. 157–163, Sep. 2009.
- [26] A. R. Mayer, M. V. Mannell, J. Ling, C. Gasparovic, and R. A. Yeo, “Functional connectivity in mild traumatic brain injury,” *Hum. Brain Mapp.*, vol. 32, no. 11, pp. 1825–1835, Nov. 2011.
- [27] M. E. Raichle and A. Z. Snyder, “A default mode of brain function: A brief history of an evolving idea,” *Neuroimage*, vol. 37, no. 4, pp. 1083–1090, Oct. 2007.
- [28] V. Bonnelle *et al.*, “Salience network integrity predicts default mode network function after traumatic brain injury,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 109, no. 12, pp. 4690–4695, Mar. 2012.
- [29] S. De Simoni *et al.*, “Disconnection between the default mode network and medial temporal lobes in post-traumatic amnesia,” *Brain*, vol. 139, no. 12, pp. 3137–3150, 2016.
- [30] J. D. Corrigan *et al.*, “US population estimates of health and social outcomes 5 years after rehabilitation for traumatic brain injury.,” *J. Head Trauma Rehabil.*, vol. 29, no. 6, pp. E1-9, 2014.
- [31] C. R. Pretz and K. Dams-O’Connor, “Longitudinal Description of the Glasgow Outcome Scale-Extended for Individuals in the Traumatic Brain Injury Model Systems National Database: A National Institute on Disability

- and Rehabilitation Research Traumatic Brain Injury Model Systems Study,” *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, vol. 94, no. 12, pp. 2486–2493, Dec. 2013.
- [32] T. M. McMillan, C. J. Weir, and J. Wainman-Lefley, “Mortality and morbidity 15 years after hospital admission with mild head injury: A prospective case-controlled population study,” *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 85, no. 11, pp. 1214–1220, 2014.
- [33] P. K. Crane *et al.*, “Association of Traumatic Brain Injury With Late-Life Neurodegenerative Conditions and Neuropathologic Findings,” *JAMA Neurol.*, vol. 73, no. 9, p. 1062, Sep. 2016.
- [34] J. A. Corsellis, C. J. Bruton, and D. Freeman-Browne, “The aftermath of boxing,” *Psychol. Med.*, vol. 3, no. 3, pp. 270–303, Aug. 1973.
- [35] K. Dams-O’Connor, L. Spielman, F. M. Hammond, N. Sayed, C. Culver, and R. Diaz-Arrastia, “An exploration of clinical dementia phenotypes among individuals with and without traumatic brain injury,” *NeuroRehabilitation*, vol. 32, no. 2, pp. 199–209, 2013.
- [36] J. Hay, V. E. Johnson, D. H. Smith, and W. Stewart, “Chronic Traumatic Encephalopathy: The Neuropathological Legacy of Traumatic Brain Injury,” *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, vol. 11, no. 1, pp. 21–45, May 2016.
- [37] C. P. Doherty *et al.*, “Blood–Brain Barrier Dysfunction as a Hallmark Pathology in Chronic Traumatic Encephalopathy,” *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, vol. 75, no. 7, pp. 656–662, Jul. 2016.
- [38] N. Sayed, C. Culver, K. Dams-O’Connor, F. Hammond, and R. Diaz-Arrastia, “Clinical Phenotype of Dementia after Traumatic Brain Injury,” *J. Neurotrauma*, vol. 30, no. 13, pp. 1117–1122, Jul. 2013.
- [39] S. B. Juengst, R. G. Kumar, and A. K. Wagner, “A narrative literature review of depression following traumatic brain injury: prevalence, impact, and management challenges,” *Psychol. Res. Behav. Manag.*, vol. 10, pp. 175–186, 2017.
- [40] T. Hart *et al.*, “Early Trajectory of Psychiatric Symptoms after Traumatic Brain Injury: Relationship to Patient and Injury Characteristics,” *J. Neurotrauma*, vol. 31, no. 7, pp. 610–617, Apr. 2014.
- [41] O. D. Guillaumondegui *et al.*, *Traumatic Brain Injury and Depression*. Agency

for Healthcare Research and Quality (US), 2011.

- [42] R. E. Jorge, R. G. Robinson, and S. Arndt, "Are there symptoms that are specific for depressed mood in patients with traumatic brain injury?," *J. Nerv. Ment. Dis.*, vol. 181, no. 2, pp. 91–9, Feb. 1993.
- [43] R. T. Seel, S. Macciocchi, and J. S. Kreutzer, "Clinical Considerations for the Diagnosis of Major Depression After Moderate to Severe TBI," *J. Head Trauma Rehabil.*, vol. 25, no. 2, pp. 99–112, Mar. 2010.
- [44] D. J. Loane and K. R. Byrnes, "Role of microglia in neurotrauma.," *Neurotherapeutics*, vol. 7, no. 4, pp. 366–77, Oct. 2010.
- [45] A. S. Easton, "Neutrophils and stroke – Can neutrophils mitigate disease in the central nervous system?," *Int. Immunopharmacol.*, vol. 17, no. 4, pp. 1218–1225, Dec. 2013.
- [46] S. B. Juengst, R. G. Kumar, M. D. Failla, A. Goyal, and A. K. Wagner, "Acute Inflammatory Biomarker Profiles Predict Depression Risk Following Moderate to Severe Traumatic Brain Injury," *J. Head Trauma Rehabil.*, vol. 30, no. 3, pp. 207–218, 2015.
- [47] M. Maes, M. Kubera, E. Obuchowiczwa, L. Goehler, and J. Brzeszcz, "Depression's multiple comorbidities explained by (neuro)inflammatory and oxidative & nitrosative stress pathways.," *Neuro Endocrinol. Lett.*, vol. 32, no. 1, pp. 7–24, 2011.
- [48] S. D. Katzman *et al.*, "Opposing functions of IL-2 and IL-7 in the regulation of immune responses," *Cytokine*, vol. 56, no. 1, pp. 116–121, Oct. 2011.
- [49] S. M. Lehto *et al.*, "Serum IL-7 and G-CSF in major depressive disorder," *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry*, vol. 34, no. 6, pp. 846–851, Aug. 2010.
- [50] L. Yang *et al.*, "Low serum BDNF may indicate the development of PSD in patients with acute ischemic stroke," *Int. J. Geriatr. Psychiatry*, vol. 26, no. 5, pp. 495–502, May 2011.
- [51] S. Elmore, "Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death," *Toxicol. Pathol.*, vol. 35, no. 4, pp. 495–516, Jun. 2007.
- [52] V. Nikolettou, M. Markaki, K. Palikaras, and N. Tavernarakis, "Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy," *Biochim. Biophys. Acta - Mol.*

- Cell Res.*, vol. 1833, no. 12, pp. 3448–3459, Dec. 2013.
- [53] B. R. S. Broughton, D. C. Reutens, and C. G. Sobey, “Apoptotic Mechanisms After Cerebral Ischemia,” *Stroke*, vol. 40, no. 5, pp. e331–e339, May 2009.
- [54] G. del Zoppo, I. Ginis, J. M. Hallenbeck, C. Iadecola, X. Wang, and G. Z. Feuerstein, “Inflammation and stroke: putative role for cytokines, adhesion molecules and iNOS in brain response to ischemia.,” *Brain Pathol.*, vol. 10, no. 1, pp. 95–112, Jan. 2000.
- [55] D. R. Green, “Apoptotic Pathways: Ten Minutes to Dead,” *Cell*, vol. 121, no. 5, pp. 671–674, Jun. 2005.
- [56] C. Fiuza *et al.*, “Inflammation-promoting activity of HMGB1 on human microvascular endothelial cells,” *Blood*, vol. 101, no. 7, pp. 2652–2660, Apr. 2003.
- [57] F. Adhami *et al.*, “Cerebral Ischemia-Hypoxia Induces Intravascular Coagulation and Autophagy,” *Am. J. Pathol.*, vol. 169, no. 2, pp. 566–583, Aug. 2006.
- [58] C. O. Bondi, K. C. Klitsch, J. B. Leary, and A. E. Kline, “Environmental Enrichment as a Viable Neurorehabilitation Strategy for Experimental Traumatic Brain Injury,” *J. Neurotrauma*, vol. 31, no. 10, pp. 873–888, May 2014.
- [59] O. L. Gobbo and S. M. O’Mara, “Impact of enriched-environment housing on brain-derived neurotrophic factor and on cognitive performance after a transient global ischemia,” *Behav. Brain Res.*, vol. 152, no. 2, pp. 231–241, 2004.
- [60] K. Hirata *et al.*, “Gene and protein analysis of brain derived neurotrophic factor expression in relation to neurological recovery induced by an enriched environment in a rat stroke model,” *Neurosci. Lett.*, vol. 495, no. 3, pp. 210–215, May 2011.
- [61] H. Sun, J. Zhang, L. Zhang, H. Liu, H. Zhu, and Y. Yang, “Environmental enrichment influences BDNF and NR1 levels in the hippocampus and restores cognitive impairment in chronic cerebral hypoperfused rats.,” *Curr. Neurovasc. Res.*, vol. 7, no. 4, pp. 268–80, Nov. 2010.
- [62] Y. Xiong, A. Mahmood, and M. Chopp, “Emerging treatments for traumatic

- brain injury.,” *Expert Opin. Emerg. Drugs*, vol. 14, no. 1, pp. 67–84, Mar. 2009.
- [63] J. Y. Ding, C. W. Kreipke, P. Schafer, S. Schafer, S. L. Speirs, and J. A. Rafols, “Synapse loss regulated by matrix metalloproteinases in traumatic brain injury is associated with hypoxia inducible factor-1 α expression,” *Brain Res.*, vol. 1268, pp. 125–134, May 2009.
- [64] X. R. Chen, V. C. Besson, B. Palmier, Y. Garcia, M. Plotkine, and C. Marchand-Leroux, “Neurological Recovery-Promoting, Anti-Inflammatory, and Anti-Oxidative Effects Afforded by Fenofibrate, a PPAR Alpha Agonist, in Traumatic Brain Injury,” *J. Neurotrauma*, vol. 24, no. 7, pp. 1119–1131, Jul. 2007.
- [65] A. Faden and S. Kabadi, “Selective CDK inhibitors: promising candidates for future clinical traumatic brain injury trials,” *Neural Regen. Res.*, vol. 9, no. 17, p. 1578, Sep. 2014.
- [66] G. D. Anderson *et al.*, “Effect of Traumatic Brain Injury, Erythropoietin, and Anakinra on Hepatic Metabolizing Enzymes and Transporters in an Experimental Rat Model,” *AAPS J.*, vol. 17, no. 5, pp. 1255–1267, Sep. 2015.
- [67] E. F. Wible and D. T. Laskowitz, “Statins in traumatic brain injury.,” *Neurotherapeutics*, vol. 7, no. 1, pp. 62–73, Jan. 2010.
- [68] D. Lu *et al.*, “Atorvastatin Reduces Neurological Deficit and Increases Synaptogenesis, Angiogenesis, and Neuronal Survival in Rats Subjected to Traumatic Brain Injury,” *J. Neurotrauma*, vol. 21, no. 1, pp. 21–32, Jan. 2004.
- [69] J. M. Schilling *et al.*, “Long-term atorvastatin treatment leads to alterations in behavior, cognition, and hippocampal biochemistry,” *Behav. Brain Res.*, vol. 267, pp. 6–11, Jul. 2014.
- [70] N. Villalba *et al.*, “Traumatic brain injury disrupts cerebrovascular tone through endothelial inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide gain of function.,” *J. Am. Heart Assoc.*, vol. 3, no. 6, p. e001474, Dec. 2014.
- [71] A. Mendes Arent, L. F. de Souza, R. Walz, and A. L. Dafre, “Perspectives on molecular biomarkers of oxidative stress and antioxidant strategies in traumatic brain injury.,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2014, p. 723060, 2014.
- [72] A. Demirtas-Tatlidede, A. M. Vahabzadeh-Hagh, M. Bernabeu, J. M. Tormos,

- and A. Pascual-Leone, “Noninvasive brain stimulation in traumatic brain injury.,” *J. Head Trauma Rehabil.*, vol. 27, no. 4, pp. 274–92, 2012.
- [73] W. Young, “Review of lithium effects on brain and blood,” *Cell Transplant.*, vol. 18, no. 9, pp. 951–975, 2009.
- [74] J. E. S. Pierce, D. H. Smith, J. Q. Trojanowski, and T. K. McIntosh, “Enduring cognitive, neurobehavioral and histopathological changes persist for up to one year following severe experimental brain injury in rats,” *Neuroscience*, vol. 87, no. 2, pp. 359–369, 1998.
- [75] B. W. Doble and J. R. Woodgett, “GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase.,” *J. Cell Sci.*, vol. 116, no. Pt 7, pp. 1175–86, Apr. 2003.
- [76] T. D. Gould, A. M. Picchini, H. Einat, and H. K. Manji, “Targeting glycogen synthase kinase-3 in the CNS: implications for the development of new treatments for mood disorders,” *Curr Drug Targets*, vol. 7, no. 11, pp. 1399–1409, 2006.
- [77] M. Perez, A. I. Rojo, F. Wandosell, J. Diaz-Nido, and J. Avila, “Prion peptide induces neuronal cell death through a pathway involving glycogen synthase kinase 3,” *Biochem J*, vol. 372, no. Pt 1, pp. 129–136, 2003.
- [78] S. Hu *et al.*, “GSK3 inhibitors show benefits in an Alzheimer’s disease (AD) model of neurodegeneration but adverse effects in control animals,” *Neurobiol. Dis.*, vol. 33, no. 2, pp. 193–206, 2009.
- [79] P. Watcharasit *et al.*, “Direct, activating interaction between glycogen synthase kinase-3 and p53 after DNA damage,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 99, no. 12, pp. 7951–7955, 2002.
- [80] P. K. Dash *et al.*, “Involvement of the glycogen synthase kinase-3 signaling pathway in TBI pathology and neurocognitive outcome,” *PLoS One*, vol. 6, no. 9, 2011.
- [81] C. Carmassi, C. Del Grande, C. Gesi, L. Musetti, and L. Dell’Osso, “A new look at an old drug: neuroprotective effects and therapeutic potentials of lithium salts,” *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, vol. Volume 12, pp. 1687–1703, Jul. 2016.
- [82] J. Crawley and F. K. Goodwin, “Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines.,” *Pharmacol.*

- Biochem. Behav.*, vol. 13, no. 2, pp. 167–70, Aug. 1980.
- [83] W. C. Drevets *et al.*, “Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders,” *Nature*, vol. 386, no. 6627, pp. 824–827, Apr. 1997.
- [84] G. J. Moore, J. M. Bebchuk, I. B. Wilds, G. Chen, H. K. Manji, and H. K. Menji, “Lithium-induced increase in human brain grey matter,” *Lancet (London, England)*, vol. 356, no. 9237, pp. 1241–2, Oct. 2000.
- [85] S. Selvaraj *et al.*, “Grey matter differences in bipolar disorder: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies,” *Bipolar Disord.*, vol. 14, no. 2, pp. 135–145, Mar. 2012.
- [86] L. N. Yatham *et al.*, “Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) collaborative update of CANMAT guidelines for the management of patients with bipolar disorder: update 2013,” *Bipolar Disord.*, vol. 15, no. 1, pp. 1–44, Feb. 2013.
- [87] A. Yildiz, E. Vieta, S. Leucht, and R. J. Baldessarini, “Efficacy of antimanic treatments: meta-analysis of randomized, controlled trials,” *Neuropsychopharmacology*, vol. 36, no. 2, pp. 375–89, Jan. 2011.
- [88] R. J. Baldessarini, L. Tondo, P. Davis, M. Pompili, F. K. Goodwin, and J. Hennen, “Decreased risk of suicides and attempts during long-term lithium treatment: a meta-analytic review,” *Bipolar Disord.*, vol. 8, no. 5p2, pp. 625–639, Oct. 2006.
- [89] B. S. Diniz, R. Machado-Vieira, and O. V. Forlenza, “Lithium and neuroprotection: Translational evidence and implications for the treatment of neuropsychiatric disorders,” *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, vol. 9, no. April 2016, pp. 493–500, 2013.
- [90] B. S. Diniz, R. Machado-Vieira, and O. V. Forlenza, “Lithium and neuroprotection: Translational evidence and implications for the treatment of neuropsychiatric disorders,” *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, vol. 9, no. April, pp. 493–500, 2013.
- [91] R. Hashimoto, N. Takei, K. Shimazu, L. Christ, B. Lu, and D.-M. Chuang, “Lithium induces brain-derived neurotrophic factor and activates TrkB in rodent cortical neurons: an essential step for neuroprotection against glutamate

- excitotoxicity.," *Neuropharmacology*, vol. 43, no. 7, pp. 1173–9, Dec. 2002.
- [92] W. Jonathan Ryves, E. C. Dalton, A. J. Harwood, and R. S. Williams, "GSK-3 activity in neocortical cells is inhibited by lithium but not carbamazepine or valproic acid.," *Bipolar Disord.*, vol. 7, no. 3, pp. 260–5, Jun. 2005.
- [93] J.-M. Beaulieu, R. R. Gainetdinov, and M. G. Caron, "Akt/GSK3 Signaling in the Action of Psychotropic Drugs," *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 49, no. 1, pp. 327–347, Feb. 2009.
- [94] L. Freland and J.-M. Beaulieu, "Inhibition of GSK3 by lithium, from single molecules to signaling networks.," *Front. Mol. Neurosci.*, vol. 5, p. 14, Jan. 2012.
- [95] F. Yu, Y. Zhang, and D.-M. Chuang, "Lithium reduces BACE1 overexpression, β amyloid accumulation, and spatial learning deficits in mice with traumatic brain injury.," *J. Neurotrauma*, vol. 29, no. 13, pp. 2342–51, Sep. 2012.
- [96] L. Ciani and P. C. Salinas, "WNTs in the vertebrate nervous system: From patterning to neuronal connectivity," *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 6, no. 5, pp. 351–362, 2005.
- [97] M. Shapira, A. Licht, A. Milman, C. G. Pick, E. Shohami, and H. Eldar-Finkelman, "Role of glycogen synthase kinase-3 β in early depressive behavior induced by mild traumatic brain injury," *Molecular and Cellular Neuroscience*, vol. 34, no. 4, pp. 571–577, 2007.
- [98] T. Dwivedi and H. Zhang, "Lithium-induced neuroprotection is associated with epigenetic modification of specific BDNF gene promoter and altered expression of apoptotic-regulatory proteins.," *Front. Neurosci.*, vol. 8, p. 457, 2014.
- [99] P.-X. Yuan, L.-D. Huang, Y.-M. Jiang, J. S. Gutkind, H. K. Manji, and G. Chen, "The Mood Stabilizer Valproic Acid Activates Mitogen-activated Protein Kinases and Promotes Neurite Growth," *J. Biol. Chem.*, vol. 276, no. 34, pp. 31674–31683, Aug. 2001.
- [100] J. Ma and G.-Y. Zhang, "Lithium reduced N-methyl-D-aspartate receptor subunit 2A tyrosine phosphorylation and its interactions with Src and Fyn mediated by PSD-95 in rat hippocampus following cerebral ischemia.,"

- Neurosci. Lett.*, vol. 348, no. 3, pp. 185–9, Sep. 2003.
- [101] P. H. Silverstone, B. M. McGrath, and H. Kim, “Bipolar disorder and myo-inositol: a review of the magnetic resonance spectroscopy findings,” *Bipolar Disord.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–10, Feb. 2005.
- [102] H. J. Kang, J. S. Noh, Y. S. Bae, and B. J. Gwag, “Calcium-Dependent Prevention of Neuronal Apoptosis by Lithium Ion: Essential Role of Phosphoinositide 3-Kinase and Phospholipase C,” *Mol. Pharmacol.*, vol. 64, no. 2, pp. 228–234, Aug. 2003.
- [103] H. Honar *et al.*, “Lithium inhibits the modulatory effects of morphine on susceptibility to pentylenetetrazole-induced clonic seizure in mice: involvement of a nitric oxide pathway,” *Brain Res.*, vol. 1029, no. 1, pp. 48–55, Dec. 2004.
- [104] S. Ibrahim, W. Hu, X. Wang, X. Gao, C. He, and J. Chen, “Traumatic Brain Injury Causes Aberrant Migration of Adult-Born Neurons in the Hippocampus,” *Sci. Rep.*, vol. 6, no. November 2015, pp. 1–12, 2016.
- [105] J. W. Kim, J. E. Lee, M. J. Kim, E.-G. Cho, S.-G. Cho, and E.-J. Choi, “Glycogen synthase kinase 3 beta is a natural activator of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase kinase 1 (MEKK1).,” *J. Biol. Chem.*, vol. 278, no. 16, pp. 13995–4001, Apr. 2003.
- [106] Y. Xiong, A. Mahmood, and M. Chopp, “Animal models of traumatic brain injury.,” *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 14, no. 2, pp. 128–42, Feb. 2013.
- [107] E. Kilic *et al.*, “HMG-CoA Reductase Inhibition Promotes Neurological Recovery, Peri-Lesional Tissue Remodeling, and Contralesional Pyramidal Tract Plasticity after Focal Cerebral Ischemia,” *Front. Cell. Neurosci.*, vol. 8, 2014.
- [108] M. C. Beker *et al.*, “Effects of normobaric oxygen and melatonin on reperfusion injury: role of cerebral microcirculation.,” *Oncotarget*, vol. 6, no. 31, pp. 30604–14, 2015.
- [109] J. F. Cryan, C. Mombereau, and A. Vassout, “The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice,” *Neurosci. Biobehav. Rev.*, vol. 29, no. 4–5, pp. 571–625, Jan. 2005.

- [110] E. D. Hall, Y. D. Bryant, W. Cho, and P. G. Sullivan, "Evolution of Post-Traumatic Neurodegeneration after Controlled Cortical Impact Traumatic Brain Injury in Mice and Rats as Assessed by the De Olmos Silver and Fluorograde Staining Methods," *J. Neurotrauma*, vol. 25, no. 3, pp. 235–247, 2008.
- [111] Z. F. Zhu, Q. G. Wang, B. J. Han, and C. P. William, "Neuroprotective effect and cognitive outcome of chronic lithium on traumatic brain injury in mice," *Brain Res. Bull.*, vol. 83, no. 5, pp. 272–277, 2010.
- [112] M. Basselin, L. Chang, J. M. Bell, and S. I. Rapoport, "Chronic lithium chloride administration attenuates brain NMDA receptor-initiated signaling via arachidonic acid in unanesthetized rats," *Neuropsychopharmacology*, vol. 31, no. 8, pp. 1659–1674, 2006.
- [113] C.-T. Chiu and D.-M. Chuang, "Molecular actions and therapeutic potential of lithium in preclinical and clinical studies of CNS disorders," *Pharmacol. Ther.*, vol. 128, no. 2, pp. 281–304, 2010.
- [114] S. S. Grewal, R. D. York, and P. J. S. Stork, "Extracellular-signal-regulated kinase signalling in neurons," *Current Opinion in Neurobiology*, vol. 9, no. 5, pp. 544–553, 1999.
- [115] Z. F. Wang, E. B. Fessler, and D. M. Chuang, "Beneficial effects of mood stabilizers lithium, valproate and lamotrigine in experimental stroke models," *Acta Pharmacol. Sin.*, vol. 32, no. 12, pp. 1433–1445, 2011.
- [116] A. A. Asuni, C. Hooper, C. H. Reynolds, S. Lovestone, B. H. Anderton, and R. Killick, "GSK3 α exhibits β -catenin and tau directed kinase activities that are modulated by Wnt," *Eur. J. Neurosci.*, vol. 24, no. 12, pp. 3387–3392, 2006.
- [117] A. ur R. M. Abdul, B. De Silva, and R. K. Gary, "The GSK3 kinase inhibitor lithium produces unexpected hyperphosphorylation of β -catenin, a GSK3 substrate, in human glioblastoma cells," *Biol. Open*, p. bio.030874, 2017.
- [118] K. Mielke and T. Herdegen, "JNK and p38 stresskinases--degenerative effectors of signal-transduction-cascades in the nervous system.," *Prog. Neurobiol.*, vol. 61, no. 1, pp. 45–60, May 2000.
- [119] W. J. Boyle *et al.*, "Activation of protein kinase C decreases phosphorylation of

- c-Jun at sites that negatively regulate its DNA-binding activity,” *Cell*, vol. 64, p. 573–584., 1991.
- [120] V. Hongisto, N. Smeds, S. Brecht, T. Herdegen, M. J. Courtney, and E. T. Coffey, “Lithium blocks the c-Jun stress response and protects neurons via its action on glycogen synthase kinase 3.,” *Mol. Cell. Biol.*, vol. 23, no. 17, pp. 6027–36, 2003.
- [121] A. Aminzadeh, A. R. Dehpour, M. Safa, S. Mirzamohammadi, and A. M. Sharifi, “Investigating the Protective Effect of Lithium Against High Glucose-Induced Neurotoxicity in PC12 Cells: Involvements of ROS, JNK and P38 MAPKs, and Apoptotic Mitochondria Pathway,” *Cell. Mol. Neurobiol.*, vol. 34, no. 8, pp. 1143–1150, 2014.
- [122] R. W. Chen and D. M. Chuang, “Long term lithium treatment suppresses p53 and Bax expression but increases Bcl-2 expression. A prominent role in neuroprotection against excitotoxicity.,” *J. Biol. Chem.*, vol. 274, no. 10, pp. 6039–42, Mar. 1999.
- [123] D. A. E. Cross, A. A. Culbert, K. A. Chalmers, L. Facci, S. D. Skaper, and A. D. Reith, “Selective small-molecule inhibitors of glycogen synthase kinase-3 activity protect primary neurones from death,” *J. Neurochem.*, vol. 77, no. 1, pp. 94–102, 2001.
- [124] O. Kaidanovich-Beilin, A. Milman, A. Weizman, C. G. Pick, and H. Eldar-Finkelman, “Rapid antidepressive-like activity of specific glycogen synthase kinase-3 inhibitor and its effect on beta-catenin in mouse hippocampus.,” *Biol. Psychiatry*, vol. 55, no. 8, pp. 781–4, 2004.
- [125] N. Otani *et al.*, “Differential activation of mitogen-activated protein kinase pathways after traumatic brain injury in the rat hippocampus,” *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 22, no. 3, pp. 327–334, 2002.
- [126] M. Adachi, M. Barrot, A. E. Autry, D. Theobald, and L. M. Monteggia, “Selective Loss of Brain-Derived Neurotrophic Factor in the Dentate Gyrus Attenuates Antidepressant Efficacy,” *Biol. Psychiatry*, vol. 63, no. 7, pp. 642–649, 2008.
- [127] F. Yu, Z. Wang, F. Tchantchou, C.-T. Chiu, Y. Zhang, and D.-M. Chuang, “Lithium Ameliorates Neurodegeneration, Suppresses Neuroinflammation,

- and Improves Behavioral Performance in a Mouse Model of Traumatic Brain Injury,” *J. Neurotrauma*, vol. 29, no. 2, pp. 362–374, 2012.
- [128] Q. Li *et al.*, “Lithium reduces apoptosis and autophagy after neonatal hypoxia-ischemia,” *Cell Death Dis.*, vol. 1, no. 7, pp. 1–9, 2010.
- [129] C. Le Douarin, A. Oblin, D. Fage, and B. Scatton, “Influence of lithium on biochemical manifestations of striatal dopamine target cell supersensitivity induced by prolonged haloperidol treatment,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 93, no. 1–2, pp. 55–62, Sep. 1983.
- [130] G. Sani, A. Simonetti, D. Janiri, N. Banaj, E. Ambrosi, P. De Rossi, V. Ciullo, D.B.Arciniegas, F. Piras, G. Spalletta, Association between duration of lithium exposure and hippocampus/amygdala volumes in type I bipolar disorder, *J Affect Disord* 232 (2018) 341-348.
- [131] K. Yucel, M.C. McKinnon, V.H. Taylor, K. Macdonald, M. Alda, L.T. Young, G.M. MacQueen, Bilateral hippocampal volume increases after long-term lithium treatment in patients with bipolar disorder: a longitudinal MRI study, *Psychopharmacology (Berl)* 195(3) (2007) 357-67.
- [132] D. Kropf, B. Muller-Oerlinghausen, Changes in learning, memory, and mood during lithium treatment. Approach to a research strategy, *Acta Psychiatr Scand* 59(1) (1979) 97-124.
- [133] J.D. Gray, B.S. McEwen, Lithium's role in neural plasticity and its implications for mood disorders, *Acta Psychiatr Scand* 128(5) (2013) 347-61.
- [134] S.A. Johnson, J.F. Wang, X. Sun, B.S. McEwen, S. Chattarji, L.T. Young, Lithium treatment prevents stress-induced dendritic remodeling in the rodent amygdala, *Neuroscience* 163(1) (2009) 34-9.
- [135] G.E. Wood, L.T. Young, L.P. Reagan, B. Chen, B.S. McEwen, Stress-induced structural remodeling in hippocampus: prevention by lithium treatment, *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(11) (2004) 3973-8.
- [136] S. Maruta, E. Suzuki, M. Yokoyama, T. Sato, K. Inada, S. Watanabe, H. Miyaoka, Effects of intraperitoneally injected lithium, imipramine and

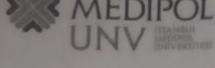
- diazepam on nitrate levels in rat amygdala, *Psychiatry Clin Neurosci* 59(3) (2005) 358-61.
- [137] G. Sanacora, New understanding of mechanisms of action of bipolar medications, *J Clin Psychiatry* 69 Suppl 5 (2008) 22-7.
- [138] R.J. Schloesser, J. Huang, P.S. Klein, H.K. Manji, Cellular plasticity cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder, *Neuropsychopharmacology* 33(1) (2008) 110-33.
- [139] H. Son, I.T. Yu, S.J. Hwang, J.S. Kim, S.H. Lee, Y.S. Lee, B.K. Kaang Lithium enhances long-term potentiation independently of hippocampal neurogenesis in the rat dentate gyrus *J Neurochem*, 85 (4) (2003), pp. 872-881
- [140] S.S. Shim, M.D. Hammonds, C. Tatsuoka, I.J. Feng, Effects of 4-weeks of treatment with lithium and olanzapine on long-term potentiation in hippocampal area CA1, *Neurosci Lett* 524(1) (2012) 5-9.
- [141] A. Javadpour, G.S. Malhi, B. Ivanovski, X. Chen, W. Wen, P. Sachdev Hippocampal volumes in adults with bipolar disorder *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 22 (1) (2010), pp. 55-62
- [142] S.S. Shim, M.D. Hammonds, R.F. Mervis, Four weeks lithium treatment alters neuronal dendrites in the rat hippocampus, *Int J Neuropsychopharmacol* 16(6) (2013) 1373-82.
- [143] D. Dupret, A. Fabre, M.D. Dobrossy, A. Panatier, J.J. Rodriguez, S. Lamarque, V. Lemaire, S.H. Olier, P.V. Piazza, D.N. Abrous, Spatial learning depends on both the addition and removal of new hippocampal neurons, *PLoS Biol* 5(8) (2007) e214.
- [144] M. Sairanen, G. Lucas, P. Ernfors, M. Castren, E. Castren, Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus, *J Neurosci* 25(5) (2005) 1089-94.

- [145] O.F. O'Leary, R.M. O'Connor, J.F. Cryan Lithium-induced effects on adult hippocampal neurogenesis are topographically segregated along the dorso-ventral axis of stressed mice *Neuropharmacology*, 62 (1) (2012), pp. 247-255
- [146] R. Silva, A.R. Mesquita, J. Bessa, J.C. Sousa, I. Sotiropoulos, P. Leao, O.F. Almeida, N.Sousa, Lithium blocks stress-induced changes in depressive-like behavior and hippocampal cell fate: the role of glycogen-synthase-kinase-3beta, *Neuroscience* 152(3) (2008) 656-69.
- [147] G. Chen, G. Rajkowska, F. Du, N. Seraji-Bozorgzad, H.K. Manji, Enhancement of hippocampal neurogenesis by lithium, *J Neurochem* 75(4) (2000) 1729-34.
- [148] G. Rajkowska, G. Clarke, G. Mahajan, C.M. Licht, H.J. van de Werd, P. Yuan, C.A. Stockmeier, H.K. Manji, H.B. Uylings, Differential effect of lithium on cell number in the hippocampus and prefrontal cortex in adult mice: a stereological study, *Bipolar Disord* 18(1) (2016) 41-51.
- [149] J.S. Kim, J. Jung, H.J. Lee, J.C. Kim, H. Wang, S.H. Kim, T. Shin, C. Moon Differences in immunoreactivities of Ki-67 and doublecortin in the adult hippocampus in three strains of mice *Acta Histochem*, 111 (2) (2009), pp. 150-156
- [150] G. Kempermann, H.G. Kuhn, F.H. Gage, Genetic influence on neurogenesis in the dentate gyrus of adult mice, *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(19) (1997) 10409-14.
- [151] S. Navailles, P.R. Hof, C. Schmauss, Antidepressant drug-induced stimulation of mouse hippocampal neurogenesis is age-dependent and altered by early life stress, *J Comp Neurol* 509(4) (2008) 372-81.
- [152] Z. Fisar, J. Hroudova, Intracellular signalling pathways and mood disorders, *Folia Biol (Praha)* 56(4) (2010) 135-48.

- [153] F. Kapczinski, B.N. Frey, M. Kauer-Sant'Anna, R. Grassi-Oliveira, Brain-derived neurotrophic factor and neuroplasticity in bipolar disorder, *Expert Rev Neurother* 8(7) (2008) 1101-13.
- [154] K. Yucel, V.H. Taylor, M.C. McKinnon, K. Macdonald, M. Alda, L.T. Young, G.M. MacQueen, Bilateral hippocampal volume increase in patients with bipolar disorder and short-term lithium treatment, *Neuropsychopharmacology* 33(2) (2008) 361-7.
- [155] T. Hajek, J. Cullis, T. Novak, M. Kopecek, C. Hoschl, R. Blagdon, C. O'Donovan, M. Bauer, L.T. Young, G. Macqueen, M. Alda, Hippocampal volumes in bipolar disorders: opposing effects of illness burden and lithium treatment, *Bipolar Disord* 14(3) (2012) 261-70.
- [156] A. Evrensel, B.O. Unsalver, M.E. Ceylan, G. Comert, Lithium-induced cortical atrophy and cognitive dysfunction, *BMJ Case Rep* 2014 (2014).
- [157] S.Y. Tsai, A.G. Gildengers, J.L. Hsu, K.H. Chung, P.H. Chen, Y.J. Huang, Inflammation associated with volume reduction in the gray matter and hippocampus of older patients with bipolar disorder, *J Affect Disord* 244 (2019) 60-66.
- [158] C. Lopez-Jaramillo, C. Vargas, A.M. Diaz-Zuluaga, J.D. Palacio, G. Castrillon, C. Bearden, E. Vieta, Increased hippocampal, thalamus and amygdala volume in long-term lithium-treated bipolar I disorder patients compared with unmedicated patients and healthy subjects, *Bipolar Disord* 19(1) (2017) 41-49.
- [159] A. Simonetti, G. Sani, C. Dacquino, F. Piras, P. De Rossi, C. Caltagirone, W. Coryell, G. Spalletta, Hippocampal subfield volumes in short- and long-term lithium-treated patients with bipolar I disorder, *Bipolar Disord* 18(4) (2016) 352

10. ETİK KURUL ONAYI

EK-1 ETİK KURUL ONAYI

 **MEDİPOL UNV**
T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 38828770-604.01.01-E.28943
Konu : Etik Kurulu Kararı

E-İmza
24/08/2017

Sayın Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapmış olduğunuz "Lityumun akut ve kronik dönemde travmatik beyin hasarı sonrası beyin hasarı ve davranış üzerindeki etkilerinin araştırılması" isimli başvurunuz incelenmiş olup etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYEK) Başkanı

EK:
-Karar Formu (1 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 24.08.2017 tarihinde e-İmzalanmıştır.
Evrakınızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden F2ED5B7CXD kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi
Kavacak Mah. Ekinçiler Cad.No:19 Kavacak Kavşağı 34810
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr



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

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
23/08/2017	51		Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ

“Lityumun akut ve kronik dönemde travmatik beyin hasarı sonrası beyin hasarı ve davranış üzerindeki etkilerinin araştırılması” başlıklı bilimsel araştırma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna “Oybirliği” ile karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 01/01/2018-3yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK	
Üye	Prof. Dr. Mustafa ÖZTÜRK	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Turan DEMİRCAN	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Sultan Sibel ERDEM	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Mehmet OZANSOY	
Üye	Öğr. Gör. Taha KELEŞTEMUR	
Üye	Uzm.Vet. Hek. Ekrem Musa ÖZDEMİR	
Üye	Özge Şeyda DURGUT	
Üye	Fahriye ŞENBAHÇE	

11. ÖZGEÇMİŞ

EK-2 ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Elvan	Soyadı	Çiftçi
Doğum Yeri	Denizli	Doğum Tarihi	16.08.1988
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti	TC Kimlik No	
E-mail	elvanlci@tci@gmail.com	Tel	5557040198

Eğitim Düzeyi

	Mezun olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	Medipol Üniversitesi/ Erenköy RSHEAH	2018-
Yüksek Lisans	Hacettepe Üniversitesi	2012
Lisans	Hacettepe Üniversitesi	2012
Lise	Aydın Fen Lisesi	2006

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl – Yıl)
1.	Postdoc Araştırmacı	University of Alberta	2019-2020
2.	UzmanDoktor- Psikiyatri	Şırnak Cizre Dr.Selahattin Cizrelioğlu Devlet Hastanesi	2018-2019
3.	Asistan Doktor	Erenköy RSHEAH	2013-2018
4.	Pratisyen hekim	Eleşkirt DH	2012

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	İyi

Yabancı Dil Sınavı Notu

ÜDS	YDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
82,5								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	89,021	84,312	79,174
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanım becerisi
Microsoft Word, Excel, Powerpoint	Çok iyi
Adobe Photoshop	Orta

Uluslararası Yayınlar

İzci F, İzci V, İzci S, Ciftci E, Koc Mİ, Bilici R, Bestepe EE Intravenous Lipid Emulsion as a Treatment of Sinus Tachycardia Induced by Synthetic Cannabinoid Intoxication: Two Case Reports. Journal of Dependence, 2015; 16(4); 210-213

İzci F, Ciftci E An old patient whom colloidal cyst exists in the 3rd ventricle with catatonic depression and bipolar affective disorder American Journal of Oral Medicine and Radiology, January 2015

Çiftçi E, Kaya H, Güleç H and Salah AA The Turkish Audio-Visual Bipolar Disorder Corpus 2018 First Asian Conference on Affective Computing and Intelligent Interaction (ACII Asia)

Çiftçi E, Kaya H, Güleç H and Salah AA Potential audio treatment predictors for bipolar mania Psychiatry and Clinical Psychopharmacology Supplementary

Elvan C, Reyda K, Aysun C, et al. Neuroprotective effect of lithium in cold-induced traumatic brain injury in mice [published online ahead of print, 2020 May 29]. Behav Brain Res. 2020;112719.

doi:10.1016/j.bbr.2020.112719

Posterler

7th International Congress on Psychopharmacology & 3rd International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology with Poster presentation, 2015
‘Chiari malformation-type I in a patient with atypical psychosis’, Zuclopenthixol acetate induced epilepsy, tachycardia and dystonia: A case report’

8th International Congress on Psychopharmacology & 4th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology, 2016 with poster presentation
‘Comparison of serum level of sodium valproate between acute manic bipolar disorder, substance use disorder and substance induced psychosis’: Poster Award Presentation, ‘Association of psychiatric disorders and sleep apnea: a case report, confusion associated with valproate and quetiapine combination: a case report’, ‘Orbital Edema associated with quetiapine: a case report, Psychogenic dysphonia: a case report’, ‘Sleep Disordered Breathing and Hypertension: A Case report’, ‘Buprenorphin/naloxone therapy in the opioid-dependent elderly: case series’; attendance

Women in Data Science, Calgary, 2 Mart, 2020, “Sex Optimized Diagnostic Approaches in Bipolar Disorder” –Poster

Kurslar

Summer internship in Medical Biology Laboratory; 2008, Hacettepe University Faculty of Medicine, ANKARA

Seminar Series about Psychosexual Stages of Development, Children’s Mental Health Society, Hacettepe University

National Neurobiology Summer School: Highest Functions of Nervous System (supported by TUBITAK), Ege University Faculty of Medicine, IZMIR, 2008

Summer internship in Clinical Pharmacology, University Medical Center Groningen (UMCG), Netherlands, 2009

Attending the National Neurophilosophy Symposium IV: Knowledge and Memory with oral presentation ‘Genetic Memory’, Gazi University, ANKARA, 2009

Study in Neuroscience Laboratory, 2010

Hacettepe University Faculty of Medicine, ANKARA

Uluslararası Teknoloji Bağımlılığı Kongresi (26-27th October,2013)

‘İki Uçtan Uçsuzluğa: İki Uçlu Bozukluk Tedavisi’ (23rd November)

‘Psikiyatrik Muayene ve Semiyoloji’: Course(16th March)

‘Depresyonun Üç Hali’ : Course (29th March)

Erenköy Psikoterapi Sempozyumu- Dr. David Bell (29th November)

VIII. Psikiyatri Atölyeleri- İTF (13-14th December)

8. Nöropsikiyatri Günleri (20-21th March,2015 Istanbul) 7th International Congress on Psychopharmacology &3rd International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology with Poster presentation, 2015 ‘‘Chiari malformation-type I in a patient with atypical psychosis”, Zuclopenthixol acetate induced epilepsy, tachycardia and dystonia: A case report’ and attendance ‘BAP Masterclass in Bipolar Disorder’ (15-19th April)

Psikanalitik Bakışlar 9 ‘İçimizdeki Şiddet, İçinde Yaşadığımız Şiddet’ (5-6th December)

IV. Kognitif ve Davranış Terapileri Derneği Ulusal Kongresi attendance ‘Sanat ve Bilimin Işığında Obsesif Kompulsif Bozukluk Tedavisinde Kognitif ve Davranış Terapileri Çalışma Grubu’ (5-8th November)

‘Psikoanalitik Dinleme- Salman Akthar’ (5th October)

Supportive Psychotherapy Theoretical Education and ongoing supervision (Main Educator: Prof. Dr. Cem Kaptanoğlu, Supervisor: Dr. Nurdan Eren Bodur)