

T.C
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Beyin Cerrahi Anabilim Dalı

DENEYSEL OMUR L K YARALANMASINDA
ENTERLÖK N-10'UN ENTERLÖK N 1-BETA ve ENTERLÖK N-6 ÜZER NE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Dr. Gönül AYDIN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Tamer KARAASLAN

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 1338 –TU-06
Proje numarası ile desteklenmiştir.

2007-İSPARTA

ÖNSÖZ

Uzmanlık e itimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandı ım de erli hocam Prof. Dr. A kın Görgülü'ye, tez çalı malarım da ve uzmanlık e itimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandı ım ve deste ini hiçbir zaman esirgemeyen de erli hocam Yrd. Doç. Dr. Tamer Karaaslan'a, uzmanlık e itimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandı ım de erli hocam Doç. Dr. Kudret Türeyen'e ve uzmanlık e itimime katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Baki Albayrak, Yrd. Doç. Dr. Özgür smailo lu'na,

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Biyokimya A.D.' dan Doç. Dr. Recep Sütçü ve Dr. Hicran Hiçyılmaz'a

Mesai arkadaş larım Dr. Berkant ahin, Dr. Deniz Kara, Dr. smail Gülen ve Dr. Muhammed Borcak'a

Asistanlık sürem boyunca sabır ve destekleri için sevgili aileme sonsuz te ekkür ederim.

Dr. Gönül Aydın

S MGE ve KISALTMALAR

SCI	: Spinal kord injürisi
IL-1	: İnterlökin 1 alfa
IL-1	: İnterlökin 1 beta
IL-10	: İnterlökin- 10
TNF-	: Tümör nekrozis faktör alfa
mRNA	: Messenger ribonükleik asit
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NMDA	: N metil D aspartat
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
NO	: Azot oksit
ICAM-1	: İntertrasellüler adezyon molekül-1
IgM	: İmmun globulin M
TGF	: Transforming Growth faktör
IFN-g	: İnterferon-gama
SCF	: Stem cell faktör
M-CSF	: Monosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör
G-CSF	: Granülosit koloni stimüle eden faktör
NK	: Natürel killer

Ç NDEK LER

ÖNSÖZ	i
S MGE ve KISALTMALAR	ii
Ç NDEK LER	iii
1. G R ve AMAÇ	1
2. GENEL B LG LER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Omurilik Yaralanmasının Mekanizmaları	6
2.2.1. Birincil Hasar Mekanizmaları	6
2.2.2. kincil Hasar Mekanizmaları	7
2.2.2.1. Sistemik Etkiler	8
2.2.2.2. Lokal Etkiler	9
2.3. Spinal Kord Yaralanmasının Patolojisi	15
2.3.1. Erken Dönem Patolojisi	16
2.3.2. Subakut Dönem Patolojisi	17
2.3.3. Kronik Dönem Patolojisi	18
2.4. Sitokinler	19
2.4.1. nterlökin-1 beta ve nterlökin-6.....	24
2.4.2. nterlökin-10.....	27
3. MATERYAL ve METOD	30
4. BULGULAR	35
5. TARTI MA ve SONUÇ	38
6. ÖZET	46
8. KAYNAKLAR.....	48

1. G R ve AMAÇ

Omurilik yaralanmaları mortalitesi ve morbiditesi yönünden bireysel, sosyal ve ekonomik ya ama kötü etkileri olan bir faciadır. Omurilik yaralanması paraparezi ile günlük i lerini yapabilen, hafif sakatlanmı bireyler yanında, tetraplejik, solunumu olmayan tamamen bakıma muhtaç bireyler do urabilir. Hepsinden önemlisi bu bireyler omurilik yaralanması öncesi aktif, bir ba kasına ba ımlı de il iken, aniden ba larına gelen bu de i iklik sonucu ya am mücadelesi vermelerinin yanı sıra, psikolojik sorunlarıyla da sava mak zorunda kalmaktadırlar. Bunun yanında bu hastaların yakınlarından rehabilitasyon a amasında b büyük fedakarlıklar yapmaları beklenmektedir(1).

Bu durumda travmatik spinal kord yaralanmasının toplum üzerindeki fiziksel, emosyonel ve sosyoekonomik etkileri ile birlikte, travmaya u ramı ki inin ya am kalitesindeki bozulma, çok ciddi problemler olarak kar ımıza çıkmaktadır (2).

Her yıl ABD'de ortalama 10.000-15.000 akut medulla spinalis yaralanmasına maruz kalan yeni vaka bildirilmekte, ço u ülkede insidans ın 20-40/1 000 000 arasında de i mesi ve bu vakaların ya ortalamasının 16-30 olması, olayın toplum üzerindeki yaratt ı travmanın büyüklü ü hakkında çok net bilgi vermektedir (3,4,5).

Akut omurilik yaralanmasının tedavisine yönelik ara tırma çabaları, ça da yakla ıma de erli katkılarda bulunmaktadır ancak kalıcı ve anlamlı derecede etkili ve aynı zamanda evrensel bir tedavi protokolü geli tirilebilmi de ildir (2,6,7).

Spinal kord travmasına maruz kalan hastalar lezyonun seviyesine ba lı olarak çe itli derecelerde motor ve duysal bozuklu a sahiptirler. Komplet yaralanma; zedelenen spinal kord seviyesinin altında total motor ve duysal fonksiyon kaybı ile karakterize iken, inkomplet yaralanmada lezyon altında motor veya duysal fonksiyonların kısmi mevcudiyeti söz konusudur (8). Bu tip yaralanmaların yakla ık yarısında lezyon seviyesi altında hiçbir motor ve duysal fonksiyonun bulunmad ı komplet yaralanmalanma mevcuttur (9).

Akut spinal kord yaralanmasına ba lı olu an kord yaralanmasının meydana gelmesinde iki mekanizma oldu u hipotezi ileri sürülmektedir. Bunlar; birincil mekanik

hasarlanma ve bunun tarafından tetiklenen, bir veya birçok etkenin rol oynadığı ikincil hasarlanma olarak tarif edilmektedir (10,11,12,13).

ikincil hasar mekanizması ilk olarak 1911 yılında Allen tarafından tanımlanmış ve travmatik spinal kord yaralanması sonrası oluşan hemorajik nekrotik materyalin içindeki toksik bir ajanın ikincil hasarıya neden olduğu düşünülmüştür (14,15).

Bu posttravmatik otodestruksiyonun ilk deneysel kanıtı olması ve bundan sonra spinal kordun travma sonrası ilerleyici yaralanmalarını açıklayıcı bir çok mekanizma tanımlanmıştır (9).

Travma sonrası spinal kord yaralanmasının yalnızca birincil mekanik hasarlanma değil, birçok ikincil patofizyolojik değişikliklere bağlı olduğu açıkça kabul görmektedir (9,16,17,18,19,20).

Birincil hasarın medikal ya da cerrahi tedavisi yoktur, ancak ikincil değişiklikleri anlamak ve engellemek teorik olarak mümkün görünmektedir (21).

Akut omurilik yaralanmasının modern tedavisi özellikle yaralanma sonrası ikincil patofizyolojik mekanizmalarla oluşan hasarın azaltılmasına odaklanmıştır (22).

Sitokinler, hematopoietik sistemin de içinde bulunduğu, hedef hücrelerin aktivitelerini deşiren veya düzenleyen protein ve/veya glikoprotein yapıları immünomodülatörlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışlarını etkilerler. Sitokinlerin etkileri sistemik veya lokaldir. Sitokinler immün ve inflamatuvar cevabın etkin mekanizmalarının çoğuna katılırlar (23,24,25,26,27).

Labaratuvar araştırmalarındaki hayvan modellerinin; uygulanmasının basit, kolay tatbik edilebilir, ucuz ve neden-sonuç ilişkisi dolayısıyla insanlarla benzerlik göstermesi nedeniyle kullanımı oldukça yaygındır (2).

Bizim çalışmamızda bir antiinflamatuvar sitokin olan interlökin-10'un, interlökin-1-beta ve interlökin-6 üzerine olan etkilerinin farelerde oluşturulan deneysel spinal kord travma modeli kullanılarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL B LG LER

2.1. Tarihçe

Akut omurilik yaralanması modern toplumu fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan derinden etkileyen, ciddi ve harap edici bir nörolojik problem olması ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememesi nedeniyle halen önemini devam ettirmektedir (2,28).

Spinal kordun yaralanmaları ve diğer hastalıklarının tanı ve tedavisi hakkında çalı şmalar antik döneme kadar uzanmaktadır (29).

Vertebromedüller yaralanmalar hakkında ilk yazılı belge günümüzden be bin yıl önce " Ehmotepe" tarafından yazıldı ı dü ünülen "Edwin Smith" cerrahi papirüsüdür. Bu belgede muhtelif olgular de erlendirilmekte ve hastalar tedavi edilebilecek olgular, tedavi edilmeye çaba gösterilmesi gerekenler ve umutsuz olgular olarak sınıflandırılmaktadır (30).

“Boynunda bir çıkı ı olup kollarını ve bacaklarını fark etmeyen, ereksiyon ve spontan ejakulasyonu olan, idrarını damla damla yapan, gözleri kızarmı , eti rüzgarlanmı olgu umutsuz olgudur, tedavisi ba arılamaz” (31).

Tedavisi umutsuz olguların klini i günümüzde *“komplet omurilik lezyonu”* tanımına uymaktadır.

Hipokrat ve Galen dönemine kadar önemli bir geli me söz konusu de ildir (32). Hipokrat paraplejiyi tarif etmi , ancak omurilik fonksiyonunu açıklamaktan daha çok, travma sonrası omurga deformitelerinin düzeltilmesi amacıyla traksiyon uygulamasını sa lamı tır. Galen ise deneysel olarak kesilen medulla segmentinin altında duyu ve hareket kaybı oldu unu göstermi tir (33).

Egeli Paulus (625-690) traksiyon ile omurilik yaralanmanın önlenemeyece ini dü ünümü ve ilk kez dekompresif cerrahi fikrini ortaya koymu tur. 19. yüzyıla kadar omurilik yaralanmalarında yaygın olarak konservatif yakla ım tercih edilmesine kar ın, Paulus'un dekompresif cerrahi fikrine dayanarak uygulanan cerrahi giri imlerde geli imini devam ettirmi tir (34).

Günümüze kadar insan omurilik yaralanmasını taklit edebilecek, tanı ve tedavide gelişmeler sağlanmasında yardımcı olacak, birçok deneysel omurilik yaralanma modeli geliştirilmiştir. 1911 yılında Allen; köpeklerde laminektomi sonrası omurilik üzerine ağırlık düzürerek kontüzyon tipi omurilik yaralanması oluşturmuştur ve uygulanan myelotominin ve posttravmatik hematomyelinin kaldırılmasının nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeyi sağladığını ortaya koymuştur. Bu çalışmada daha önce yapılmış olan deneysel çalışmaların belirli kriterlere bağlanmasını sağlamak amacıyla ayrıca ikincil hasar konseptinde öncülüğünü yapmıştır (9,35,36).

Allen'in ağırlık düzürme modelinden başka birçok deneysel spinal kord travma modeli tanımlanmıştır (Tablo 1) (35).

Tablo 1: Deneysel spinal kord yaralanma modelleri (35)

<p>A. Travmatik yaralanma</p> <ol style="list-style-type: none">1. Akut kinetik kompresyon: Kaf, klip, balon kompresyon, vertebral dislokasyon, impaktör2. Akut statik kompresyon: Ağırlık uygulama3. Çarpma veya ağırlık düzürme4. Akselerasyon-deselerasyon5. Distraksiyon6. Transseksiyon: Parsiyel veya komplet <p>B. Non travmatik yaralanma</p> <ol style="list-style-type: none">1. skemi: Aort oklüzyonu, selektif arteriyel veya venöz oklüzyon2. Tümör kompresyonu: Ekstradural3. Kimyasal veya fotokimyasal

Deneysel spinal kord yaralanması oluşturulan hayvanlarda, iyileşmenin takibi amacıyla birçok parametre geliştirilmiştir (Tablo 2) (36).

Bu parametrelerden biri olan Tarlov sistemi, klinik nörolojik muayenenin derecelendirilmesi esasına dayanan, subjektif bir yöntemdir. 1977 yılında Rivlin ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve objektif bir test olan Inclined Plane (eğik düzlem) ise, hayvanın eğik bir düzlem üzerine yatay pozisyonda yerleştirilmesinden sonra, düzlemin zeminle olan açısı giderek artırılır; hayvanın 5 saniye süresince devrilmeden durabildiği en yüksek açı, o hayvanın Inclined Plane derecesi olarak belirlenir.

Travmanın iddeti ve olu ekline ba lı olarak ortaya çıkan spinal kord yaralanmasına *primer hasar* denir. Birincil hasardan sonraki saatler ve günler içerisinde geli en bir dizi fizyopatolojik sürece ba lı olarak ortaya çıkan spinal kord yaralanmasına da *ikincil hasar* denir. Allen ile ba layan, ikincil hasar mekanizması kavramı bugün de hala incelenmekte ve etkili medikal tedavi yöntemleri ara tılmaktadır.

Tablo 2: Deneysel spinal kord yaralanmasında takip parametreleri (36)

1. Klinik muayene
a. Subjektif: Tarlov motor skalası gibi
b. Objektif: Inclined Plane gibi
2. Histolojik muayene
a. Subjektif
b. Objektif: Akson sayımı gibi
3. Görüntüleme: CT, MRI gibi
4. Anjiografik de erlendirme
5. Spinal kord kan akımı lm
6. Aksonal tarayıcılar ile de erlendirme
7. Biyokimyasal ölçümlerle de erlendirme
8. Nörofizyolojik de erlendirme: Uyarılmı potansiyeller gibi.

1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geli tirilen klip kompresyon modelinde omurilik e itli zaman aralıklarında anevriz ma klipleri ile klibe edilmekte ve bu sayede de i ik miktarlarda travma olu turulabilmektedir. Bu modelde klip kapanma gücü ve kompresyon süresi de i tirilerek istenen iddette yaralanma olu turulabilmektedir (9,35). Bu modelin avantajı omurili in tamamını n travmaya maruz bırakılarak, aynı zamanda iskemiye yol açmasıdır ki bu da insanlarda meydana gelen travma sonrası omurilik yaralanmasına benzer bir model olmaktadır (29).

Yaralanma sonrasındaki ilk birkaç gün içerisinde, omurilikte olu an lezyonun patolojik görüntüsündeki dramatik de i iklikler, klinik ve deneysel gözlemlerin en önemli noktasını olu turmaktadır (37).

Son yıllarda medulla spinalis yaralanmasının fizyopatolojisini açıklamak amacıyla yapılan deneysel çalışmaların artması sonucunda bu konuda ki bilgilerde belirgin bir artış olmuştur. Bu çalışmaların sonucunda saptanan en önemli özelliklerden biri de tüm medulla spinalis yaralanma modellerinde elde edilen fizyopatolojik değişikliklerin aynı olması ile birlikte tüm santral sinir sisteminin travmaya verdiği fizyopatolojik yanıtın birbirine benzemesidir.

2.2. Omurilik Yaralanmasının Mekanizmaları

2.2.1. Birincil Hasar Mekanizmaları

Medulla spinalise darbe olduğu ilk anda nöron ve aksonlarda oluşan mekanik yaralanma; birincil hasar olarak adlandırılmaktadır. Birincil hasar spinal kordun kendisine veya çevresindeki vertebral kolona ait çetnel travma etkilerini takiben gelişir ve oluşan yaralanmanın büyüklüğü birçok biyomekanik faktöre bağlıdır ve kırılan kemik fragmanının derecesiyle ilişkilili olmayabilir (36,38).

İnsan omurilik yaralanmasında en sık görülen mekanizma, bunlardan ilki yani darbe sonrası devam eden omurilik kompresyonudur. Bu özellikle akut disk rüptüründe, fraktür-dislokasyonda ve retropulse kemik fragmanının spinal korda bastırması patlamalı kırıklarında belirgindir. İkinci mekanizmada yalnızca darbenin geçici süresi ile oluşan kompresyon mevcuttur ve altta yatan dejeneratif servikal omurga hastalığı ön plandadır. Spinal kolonun aksiyal planda kuvvetle gerilmesine yol açan distraksiyon tipi üçüncü mekanizmada; spinal kord ve/veya onun kan akımını sağlayan elemanlarının gerilmesi ve yırtılması söz konusudur. Bu tip yaralanmada özellikle çocuklarda kartilajenöz vertebra cismi, kas yapısının tam gelişmemiş olması ve ligaman esnekliğinin predispozan olduğu, radyolojik olarak patolojinin bulunmadığı spinal kord yaralanması mevcuttur. Ayrıca bu tip yaralanmada erişkinlerde travmanın radyolojik kanıtının olmadığı ve altta yatan dejeneratif omurga hastalığının sıklıkla eşlik ettiği bir durum olarak ortaya çıkmaktadır. En son birincil hasar mekanizması laserasyon ve transeksiyondur. Laserasyon; mermi ile yaralanma, keskin kemik fragmanların dislokasyonu veya ciddi distraksiyon sonucu meydana gelir ve minör yaralanmadan komplet transeksiyona kadar çetnel de recelerde olabilir (28).

Medulla spinalis içindeki kanama ba langıç mekanik yaralanma sonrası erken dönemde ortaya çıkarken, kan akımının kesintiye u raması daha geç meydana gelir. Kan akımının kesilmesi hipoksi ve iskeminin neden oldu u lokal enfarkt sonu cunu do urur. Bu özellikle yüksek metabolik gereksinimi dolayısıyla gri cevherin yaralanmasına yol açar. Yaralanan alandan geçen nöronlar fiziksel olarak kesintiye u rar ve myelin kalınlıklarında azalma meydana gelir. Yaralanan alandaki ödem ve makrofajlar, sinir iletisinin bozulmasında di er etkenlerdir (39).

2.2.2. İkincil Hasar Mekanizmaları

Birincil mekanik yaralanma daha sonra hasarlanmanın büyümesine neden olacak ikincil mekanizmaların oluşmasında bir nidus ilevi görür. Kısacası ikincil hasar omurilikte birincil hasarın ba lantı ı ve zedelenmeyi artıran bir süreçtir (40).

Bu ikincil hasar mekanizmaları; nörojenik ok, hemoraji ve iskemi reperfüzyonu içeren damarsal problemler, eksitotoksitite, kalsiyumla ilgili ikincil hasar, sıvı elektrolit dengesizliği, immünolojik yaralanma, apoptoz ve mitokondrial disfonksiyonu içermektedir.

Spinal kord yaralanmalarında ikincil hasar mekanizmaları birbiriyle ilgili ve tetikleyen dört ana teoride toplanmıştır (28):

1. **Serbest Oksijen Radikalleri Teorisi:** kemik dokuda fazla miktarda biriken radikaller ve onların ürünleri doku yaralanmanın ilerlemesine neden olurlar.
2. **Kalsiyum Teorisi:** Serbest kalsiyum iyonlarının nörotransmitter kanallardan fazla miktarda geçmesi sonucu doku yıkım enzimleri olan fosfolipaz, proteaz ve fosfatazın aktive olmaları doku harabiyetine neden olur.
3. **Opiat Reseptör Teorisi:** Naloxone gibi opiat reseptör blokörleri nörolojik iyileşmeyi hızlandırır.
4. **Enflamasyon Teorisi:** Lipid enflamasyon mediatörleri ve diğer sitokinler lezyon sahasında birikirler ve takiben makrofaj ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonuna neden olurlar.

Bu teoriler baz alınarak spinal kord yaralanmalarının medikal tedavisinde nöroprotektör etkisi olduğu düşünülen pekçok madde denenmiştir. Opiat reseptör antagonistleri, steroidler (Metilprednizolon), antioksidan maddeler ve serbest radikal tutucular, gangliozidler, tirotropin salıcı hormon ve analogları, aradonik asit modülatörleri, glutamat reseptör blokerleri, monoamin modülatörleri, kalsiyum kanal antagonistleri, nonsteroidal antiinflamatuvarlar, immün supresifler, büyüme faktörleri, serotonin reseptör blokerleri ve sodyum kanal blokerleri bu amaçla kullanılmaktadır. Bunlar arasında sadece metilprednizolon klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır.

İncil hasar meydana gelmesine neden olan mekanizmalar sistemik ve lokal etkiler olmak üzere iki kısımda incelenmektedir (28,37).

2.2.2.1. Sistemik Etkiler

Akut omurilik yaralanması olası sistemik etkilerini nörojenik şok ve respiratuar yetmezlik olarak göstermektedir (28).

Nörojenik şok; vasomotor inputun ciddi paralizisinin neden olduğu yetersiz doku perfüzyonu olarak tarif edilmektedir. Bu tablo kardiyak output'un depresyonu ve periferel rezistanstaki azalma ile oluşan hipotansiyon ve bradikardi ile karakterizedir. Bu etkiler sempatik tonusun azalması ve artan vagal tonusa bağlı miyokardiyal fonksiyon bozulması ile ilişkilidir. Akut omurilik yaralanmasına bağlı gelişen spinal kord ve diğer organların iskemisine neden olan nörojenik şok tablosu, tedavi edilmezse nöral doku yaralanmasını iddetlendirir. Oluşan şokun derecesi meydana gelen omurilik yaralanmasının seviyesi ile ilişkilidir. Özellikle servikal düzeyde meydana gelen yaralanma çok ciddi bir nörojenik şok tablosu ortaya çıkarabilmektedir. Travmatik spinal kordun otoregülasyonu kaybetmesi nedeniyle oluşan sistemik hipotansiyon posttravmatik iskemiye iddetlendirmektedir ve bu yüzden hemen tedavi edilmelidir. Ancak intramedüller hiperemi ve hemorajiden kaçınmak amacıyla kan basıncı yalnızca normotansif seviyelerde tutulmalıdır (9).

2.2.2.2. Lokal Etkiler

Akut spinal kord travmasının başlangıcında ve daha sonra bunu takip eden amaldaki çeşitli mekanizmaların meydana getirdiği etkilerle, omurilik üzerinde vasküler yaralanma başlı ciddi değişiklikler olmaktadır. Bu vasküler yaralanma hemorajik ve iskemik haraplanmayı beraberinde getirmektedir (28). Başlangıç mekanik travmaya başlı olarak mikrosirkülasyonu oluşturan venüller ve kapiller'deki yaralanma özellikle travma bölgesinde olmaktadır ve rostral-kaudal olarak uzanım göstermektedir. Ayrıca nadiren direkt travmaya başlı anterior spinal arter gibi geni damarlarda yaralanma meydana gelmekte ve bu damarlar direkt mekanik travmadan genellikle kurtulmaktadır (41).

Tablo 3: kincil hasar mekanizmaları (37)

Sistemik etkileri

Kalp hızında kısa süreli artışı, daha sonra uzun süreli bradikardi

Kan basıncında kısa süreli artışı, sonra uzun süreli hipotansiyon

Periferik dirençte azalma

Kardiak debide azalma

Omurilik Dolaımında Lokal Vasküler Yaralanma

Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma

Özellikle gri cevherde hemoraji

Mikrodolaımda kayıp-mekanik, tromboz, vazospazm

Biyokimyasal Değişiklikler

Eksitotoksitite-glutamat

Nörotransmitter birikimi

Ketakolaminler-noradrenalin, dopamin

Araidonik asit salınması

Serbest radikal üretimi

Eicosonoid üretimi

Prostaglandinler

Lipid peroksidasyonu

Endojen opioidler

Sitokinler

Elektrolit Kaymaları

ntasellüler kalsiyumda artı

Ekstrasellüler potasyumda artı

ntrasellüler sodyumda artı

Yangısal Yanıt

Serbest Radikal üretimi

Makrofajlar

Aksonal Yıkım, Miyelin Artıklarının Salınımı

Sitokinlerin salınması

Glial hücre aktivasyonu

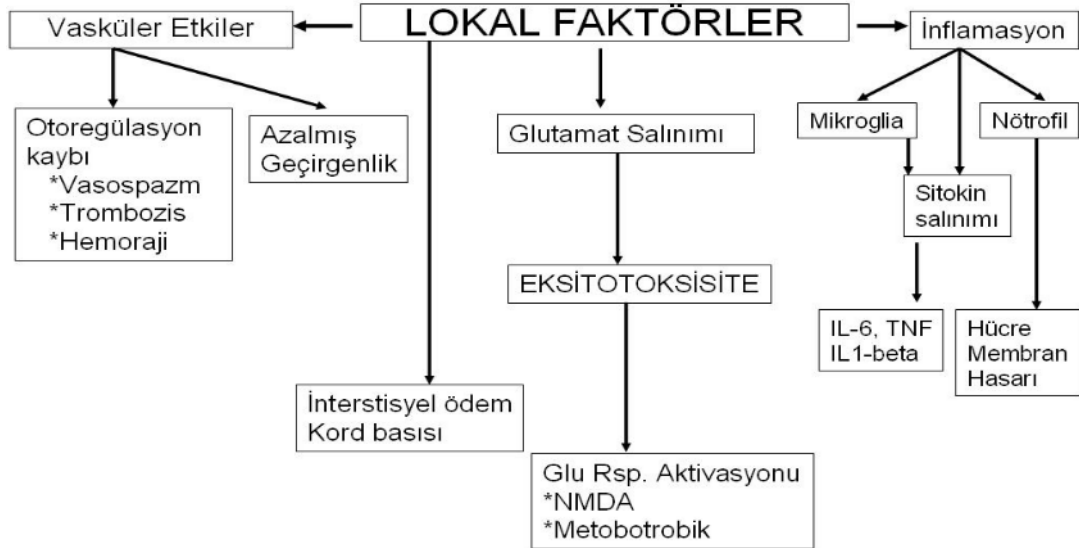
Wallerian dejenerasyon

Ödem

Apoptozis

Enerji mekanizmasında kayıp

ATP üretiminde azalma



ekil 1: kincil hasarda lokal faktörlerin etkisi

Mekanik travmaya ba lı yaralanmanın bu ilk fazında medulla spinalis içerisinde özellikle gri cevherde pete ial hemorajiler ortaya çıkar. Bu mikrosirkülasyondaki travmaya ba lı olarak damarlardan olu an proteinöz sızıntı spinal kordda ödeme yol açarak korddaki basıncın artmasına ve ka n akımının bozulmasına neden olur.

Progresif posttravmatik iskemi birçok yaralanma modelinde de i ik kan akımı ölçüm metodları kullanılarak gösterilmi tir (42).

Direk travmaya veya di er tetikleyici ajanlara ba lı olu an va zospazmın da iskemide önemli rol oynadı ı gösterilmi tir (28).

Ayrıca tromboksan A2 gibi bazı maddelerin salınması sonucunda olu an intravasküler trombozda, postravmatik iskeminin iddetlenmesine neden olmaktadır. Di er yapılan çalı malarda; spinal kord oteregülasyonu bozuk oldu undan, tr avma sonrası meydana gelen sistemik hipotansiyonun iskemiye iddetlendirdi i gözlenmi tir(36).

Süperoksid, hidroksil radikalleri, NO ve di er yüksek enerji oksidanları gibi oksijen derivesi serbest radikaller iskemi süresince ortaya çıkmakta ve erken reperfüzyon periyodunda ciddi oranda artarak ikincil hasardaki patoloji mekanizmasında önemli rol oynamaktadırlar. Özellikle bu moleküller mitokondrial respiratuar enzim, Glyseraldehit 3-Fosfat, Na⁺ membran kanal inaktivasyonu, Na⁺-K⁺ ATP'az inhibisyonu yaparlar ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar (36).

Na⁺-K⁺ ATP'az mekanizmasındaki yetersizlik, intrasellüler sodyum ve suyun artı na neden olurken, sitotoksik ödem ve intrasellüler asidoz ile yaralanmanın iddetlenmesine yol açar. Ayrıca artan ekstrasellüler K⁺ nöronların a ırı depolarizasyonu ve spinal ok olu umunda kritik bir nedensel faktör olmaktadır (28).

Posttravmatik iskemi, adenosin 5' trifosfat üretimini deprese ederek hüceresel homeostaziste önemli rol oynayan Na⁺, K⁺ pompası gibi enerji ba ımlı mekanizmaların disfonksiyonuna yol açar (36). kincil hasarda önemli rol oynadı ı dü ünülen posttravmatik iskemi konsepti, geri dönü lü ve tedavi edilebilir olması nedeniyle önem ta ımaktadır (38).

Memeli santral sinir sisteminde bazı aminoasitlerin, metab olik fonksiyonlarının yanında nörotransmitter görevlerinde oldu u bilinmektedir. Elektrofizyolojik

çalı malar nörotransmitter olarak i lev yapan aminoasit ileticilerin iki grupta toplanabilece ini göstermi tir.

Eksitatör aminoasitler iki karboksilik asit grubu içerirler (L-Glutamik asit ve L-Aspartik asit), inhibitör aminoasitler ise monokarboksiliktir (GABA, Glisin, Taurin, Prolin, B-Alanin) (38).

Glutamat santral sinir sisteminin en önemli eksitatör nörotransmitteridir(38). Spesifik membran reseptörleri ile etkile erek duysal enformasyonun iletilmesi, motor aktivite, spinal reflekslerin düzenlenmesi, hafıza ve ö renme gibi birçok fonksiyonda önemli rol oynar. Glutamat reseptörlerinin a ırı aktivasyonunun nöronal yaralanmaa yol açtı ı Olney ve ark. tarafından tanımlanmı ve eksitotoksitite olarak isimlendirilmi tir. Bu eksitotoksitenin epilepsi, norodejeneratif hastalıklar, travma, serebral iskemi gibi birçok nörolojik hastalıkta doku yaralanmasını arttırdı ı dü ünülmektedir. Eksitatör aminoasitlerin nörotoksik etkilerini açıklamak amacıyla birçok mekanizma ileri sürülmü tür. Eksitotoksinler tarafından tetiklenen hücre ölümü; akut nöronal i meye öncülük eden sodyum ve klor'un ve daha sonra gecikmi yaralanma neden olan kalsiyum'un hücre içine girmesini sa layan spesifik reseptörler tarafından yönetilir (39) .

Travmatik spinal kord yaralanması sonrası eksitotoksisiteye neden olan a ırı glutamat birikimi; hücre membran polarizasyonuna ba lı olarak sinaptik veziküller den glutamat salınımının uyarılması ve enerji yetmezli ine ba lı glutamat geri alım mekanizmalarının yeterli çalı mamasıdır (39).

Deneysel spinal kord yaralanması sonrası medulla spinalis içersinde ekstrasellüler eksitatuvar amino asid konsantrasyonun 15 dakika sonra toksik düzeye ula tı ı gösterilmi tir (22).

Yüksek intrasellüler kalsiyum konsantrasyonu, birçok mekanizma ile ikincil hasarın iddetlenmesine neden olur. Kalsiyum'un a ırı miktarda hücre içine giri i, santral sinir sisteminde "*toksik hücre ölümünün son ortak yolu*" olarak ortaya çıkmaktadır (28).

Ca⁺²'un travma sonrası hücre içine girmesi 3 yolla olmaktadır (38).

- 1) Yaralanma görmü hücre membranından
- 2) Voltaja duyarlı Ca⁺² kanallarından
- 3) Glutamat ile aktive olan Ca⁺² kanallarından

Hücre içinde a ırı kalsiyum birikimi sonucunda ; serbest ya asitlerinin salınımı, fosfolipaz A2 aktivasyonu, Ca⁺² ba ımlı Adenozin 5' trifosfotaz aktivasyonuna ba lı enerji rezervlerinin tükenmesi, toksik eikosonoid sentezi, serbest radikal olumu, reseptör proteinlerin kovalent modifikasyonu, hücre iskeletinin mikrotübüler ve nöroflament komponentlerinin modifikasyonu, mitokondrial oksidatif fosforilasyonun bozulması, aksonal dejenerasyon, proteaz, fosfotaz, endonüklaz gibi litik enzimlerin aktivasyonu meydana gelir (38).

Özellikle Ca⁺² iyonunun nükleaz stimülasyonu DNA yapımını bozarak, mekanizması halen tam ortaya konmamı olan programlanmı hücre ölümü diye adlandırılan apoptozise neden olur.

kincil hasarın önlenmesine yönelik Ca⁺² kanal blokörleri denenmi ve spinal kord kan akımını arttırarak iyile meyi olumlu yönde etkiledi ine dair çalı malar yapılmı tır (22).

Son yıllarda serbest radikallerin nöral doku iskemisini takiben meydana gelen patolojik de i ikliklerden sorumlu olabildi i gösterilmi tir. Serbest radikal dı yörüngesinde çiftlenmemi serbest elektron bulunduran kimyasal bile iktir. Bu elektron ba ka biyolojik moleküllere kolayca aktarılarak oksidasyona yol açar. Serbest radikaller normal ko ullarda mitokondride olu ur ve antioksidan sistemler ile zararlı etkileri engellenir. Serbest radikallerin a ırı artı ı, antioksidan sistemlerin yetersiz kalmasına ve hücre ölümüne neden olur. Yaralanmaya u ramı sinir sisteminde, travmadan birkaç dakika veya saatler sonra birçok sebepten dolayı süperoksid radikali olu ur. Bu mekanizmalar; ara idonik asit kaskadı, biyojenik amin nörotransmitterlerin otoenzimatik otooksidasyonu, mitokondrial ksantin oksidaz akt ivasyonu ve ekstravaze hemoglobin oksidasyonudur (22). Hücrenin maruz kaldı ı iskemi ve bunu takip eden reperfüzyon esnasındaki serbest oksije n radikali artı ı kar ısında, endojen

antioksidanlar, serbest oksijen radikal temizleyicileri ve peroksidazlar yetersiz kalmaktadır (39).

Hücre membranında meydana gelen lipid peroksidasyonu membran lipoproteinlerinin oksidasyonu ve yapısal bütünlü ün bozu lmasına yol açarak, anormal iyon giri iyle birlikte hücre ölümüne neden olur. Bu olayın kontrol edilememesi halinde olu an zincir reaksiyon ile hücrese l ölümün yayılması ortaya çıkar. Ayrıca olu an lipid peroksidasyonu ile birlikte mikrovasküler endotel yaralanması olu arak kan beyin bariyerinin bozuldu u deneysel çalı malarda gösterilmi tir (22,38).

Son yıllarda Apoptozun spinal kord yaralanması dahil bir çok nörolojik hastalı ın patobiyolojisinin programlı nöronal ölümü etkiledi i dü ünülmektedir. Apoptoz sitokinlerin salınımı, inflamatu ar yaralanma, serbest radikal yaralanması ve eksitotoksitete ye ba lı olarak tetiklenebilir. nsanlarda travmatik spinal kord yaralanması sonrası apoptozun varlı ı gösterilmi tir. Deneysel çalı malarda, apoptozun spinal kord yaralanmasını anlamlı derecede kötüle tirdi i görülmü tür (28).

Spinal kord yaralanmasında apoptotik kaskat nöronlarda, oligodendrositlerde, mikroglia ve astrositlerde aktive olmaktadır. Mikrogliaadaki apoptoz inflamatu ar ikincil hasarı kötüle tirmektedir (43).

Deneysel çalı malar; oligodendrositlerdeki apoptozun, spinal kord yaralanması sonrası ilk birkaç hafta içerisindeki demiyelinizasyon olu umunu iddetlendirdi ini dü ündürmektedir. Ayrıca apoptozun nöronal kaybı arttırarak sonuçları olumsuz yönde etkiledi i tahmin edilmektedir (28).

Spinal kordda travma sonrası bifazik lökosit cevabı mevcuttur. Ba langıçta nötrofil infiltrasyonu predominanttır. Bu lökositlerden salınan litik enzimler nöroglia ve kan damarlarındaki hasarı arttırır. kinci fazda ise makrofaj imigrasyonu ile birlikte hasarlı dokunun fagositozu söz konusudur.

mmunolojik aktivasyonun, santral sinir sistemi hasarından sonra ilerleyici doku hasarına ve/veya nöronal rejenerasyonun inhibisyonuna öncülük etti i tahmin edilmektedir. Lezyone spinal kordun içindeki immun hücrelerin fonksiyonel önemi tartışmalıdır. Makrofaj ve mikroglialar bir yandan nöronal rejenerasyonun integral parçaları olarak dü ünülürken, di er bir grup ise bu hücrelerin TNF ve NO sentezini

arttırarak oligodendrosit lizisi, nöronal ölüm ve demiyenilizasyonda rol oynadıkları dü üncesini savunmaktadır (28).

Lökosit infiltrasyonunun iki fazında, ayrılan aksonların demiyelinizasyonunu iddetlendirdi i ve bunun özellikle ilk 24 saat içerisinde ba layıp, takip eden birkaç gün içerisinde pik yaptı ı dü ünülmektedir. Bu süreç gri ve beyaz cevherdeki kavitasyonları belirgin hale getirmektedir. Daha sonra ise wallerian dejenerasyon ve skar olu umu meydana gelmektedir. Skar olu umu astrosit ve di er glial hücreler tarafından yönlendirilmektedir (44).

Hasarlı dokuya immun hücrelerin geli i birçok protein tarafından etkilenmektedir. Bu mediatörlerden biri intraselüler adezyon molekülü 1'dir. ICAM -1 dokuya nötrofil infiltrasyonunu ba larak immun cevabı kötüleştirir. Bununla birlikte akut Spinal kord travması sonrası ikincil hasardaki rolü çok iyi aydınlatılmı de ildir. ICAM-1'e kar ı olu an spesifik monoklonal antikoların ciddi derecede myeleperoksidaz süpresyonu yaptıkları, spinal kord ödemi azalttıkları ve spinal kord kan akımını arttırdıkları gösterilmi tir (45).

Spinal kord travmasındaki ikincil hasardan korunmada tedaviye hedef olabilecek di er önemli mediatörler; P-selectin gibi ba ka adezyon molekülleri, interlökin-1 beta, intelökin-6 ve tümör nekroz faktör gibi sitokinlerdir. IL-10'un ise Spinal kord yaralanması sonrası TNF üretimini azalttı ı mönosit ve di er immun hücrelerin aktivasyonuna kar ı inhibitör olarak görev yaptı ının gösterilmesi önemlidir(28).

Kemokinler ve onların reseptörlerinin spinal kord yaralanması sonrası arttı ı ve buna ba lı olarak sellüler infiltrasyonun ve ikincil hasarın kötüleşmesine neden oldukları dü ünülmektedir. Ayrıca; ara tırmalarda travmatik spinal kord yaralanması sonrası nükleer faktör kappa B aktivasyonunun tetiklendi i gösterilmi tir. S pinal kord travması sonrası olu an immun cevabın modülasyonu ikincil hasarın azaltılmasında önemli bir hedef olarak gözükmetedir (46).

2.3. Spinal Kord Yaralanmasının Patolojisi

Akut spinal kord yaralanmasında meydana gelen patolojik de işiklikler hakkındaki bilgiler az sayıdaki klinik çalı malardan daha ziyade yapılan deneysel

çalı malara dayanmaktadır. Burada dikkati çeken özellik deneysel ve klinik çalı malardaki patolojik de i ikliklerin benzerlik göstermesidir (Tablo 4) (37).

Medulla spinalis yaralanmalarında nöropatolojik bulgular yaralanmayı olu turan etkenin iddetine, süresine ve yaralanmadan sonra geçen zamana ba lı olarak de i iklikler göstermektedir (47).

Tablo 4: Akut Spinal Kord Yaralanmasının Patolojisi (37)

*Santral hemoraji: Kapiller, venüller ve arteriollerden özellikle gri cevher içine
*Hematomyeli
*Uzak kanamalar-özellikle venöz
*Santral hemorajik nekroz
*Post travmatik enfarkt
*Subaraknoid kanama
*Subdural veya ekstradural kanamalar -nadir
*Ödem: lokal, geni leyen
*Aksonal yaralanma: transeksiyon, aksolemma rüptürü, i me, dev aksonlar, organel kümelenmesi
*Myelin kılıf yaralanması: rüptür, veziküler ayrılma, periaksonal bo luklar
* nflamasyon: Makrofajlar, mikrogliya

2.3.1. Erken Dönem Patolojisi

Akut yaralanmanın en erken makroskopik bulguları zedelenmenin iddetine ba lı olarak kordda yumu ama, yuvarlakla ma ve pembe-kırmızı renk de i ikli i olu masıdır. Bu renk de i ikli i mikro kanamalara ve venöz staza ba lıdır (47).

Erken döneme ait morfolojik de i iklikler travmayı takiben 4. saatte ba lar, 8 ila 24 saat arasında nekroz ı ık mikroskobu ile görülebilir düzeydedir. İlk belirtiler gri cevherde pete ial kanamalar, beyaz cevherde ödemdir. Beyaz cevherde olu an ödem nöropilde vakuoler i me olarak izlenir. Travmayı takiben 12 -18 saatte maksimuma ula ır ve 3-5 günde iddetini kaybeder ancak yakla ık 15 gün özellikle beyaz cevherde belirgin kalabilir (47).

Ayrıca travma sonrası eritrosit ve lökositler damar dı na çıkarlar. Eritrositlerin ekstreva olmalarıyla pete ial kanamalar olu ur ve kanın di er ekilli elemanlarından

öncelikle Polimorfonükleer lökositler travma sonrası ortama hakimdir. Daha sonra ise lenfosit ve makrofaj hakimiyeti olur. Medulla spinalis parankimine ait travmatik değişiklikler olarak nöronlarda akson ve myelin kılıfının kesilmesi ve bütünlüğünün kaybı gözlenir (48).

Ultrastrüktürel düzeyde aksonlarda mikrotübül ve nöroflamanlarda kesilme ve parçalanma izlenir. Akson membranındaki yaralanmaya bağlı olarak iyon kanallarında fonksiyonel bozukluk ve vasküler endotelial yaralanma ortaya çıkar. Akson hafif idette yaralanmalarda kesilimi, bozulmasını ve kıvrımlanması dejenerasyon gösterirken, daha ağır yaralanmada kesintili damlacıklar şeklinde görülür. Aksonun tamamen yırtıldığı veya koptuğu noktada "terminal tanecik" adı verilen terminal kesilimi görülür. Miyelin kılıf da hafif yaralanmada vakuoler dejenerasyon gösterirken, ağır yaralanmada miyelin ve aksonun birlikte parçalanmaları ile serbest ya tanecikleri belirir(47,48).

Nöron hücresi öldüğünde 1-4 saat içinde hücre ve stoplazması üçgen şeklinde büzülür. Nüvede kromatin yapısının kabalağıp parçalanarak dağılması, stoplazmada nispete cisimciklerinin kaybı ve koyu eozinofilik boyanma şeklindeki "Kırmızı nöron" olarak adlandırılan değişiklikler olur. Ölen nöronlar makrofajlar ve mikro glialar tarafından fagosite edilirler ve bu olay travmadan 10-12 saat sonra ışık mikroskopunda saptanabilir (47,49).

2.3.2. Subakut Dönem Patolojisi

Travmayı takiben 2-3 hafta sonra akut dönemdeki değişiklikler azalmaya başlar. Ödem azalması ve küçük kanamalar rezorbe olur. Büyük kanamalar ise organizasyon ile giderilmeye çalışılır ve rekanalizasyon izlenir. Damarların çoğunun lümeninde fibrin trombüsleri vardır. Ortamda lipid ve hemosiderin yüklü makrofajlar mevcuttur. Fagositik hücreler yaralanmanın olduğu alanda özellikle damarlar çevresinde rozetler halinde gruplar oluşturur (47).

Myofibroblastların kollajen üreten fibrositlere dönüşümü ile nedbe dokusu oluşurken, astrositik glial hücre artışı ile gliosis izlenir. Eğer santral hemorajik nekroz oluşursa, onarım boru şeklinde kistik bölük olarak gerçekleşir. Aksonal bağlantısı kesilmiş nöronda "santral kromatolizis" olarak adlandırılan sitoplazmanın belirgin

homojenizasyona uğradığı ve iktisi, çekirdeğin ise kenara itildiği de iktikler görülür. Nöron hücrelerinin aksonunda kesik olduğu anda aksonun distal kısmında Wallerian dejenerasyon meydana gelir. Travmanın başında iktisi olan spinal kord onarım sonuna doğru inceltmiş ve atrofik görünüm almıştır. Deneysel çalışmalarda rejenerasyonun üç yıla kadar yavaş hızla devam ettiği gösterilmiştir (47,50).

2.3.3. Kronik Dönem Patolojisi

Travma sonrasında 6 ay ve daha geç dönemde izlenen de iktiklerdir (Tablo 5) (37). Travma bölgesinde medulla spinalis üzerinde dura mater ve araknoid membran kalınlaşmıştır. Meningeal zar, adeziv araknoidit olarak isimlendirilen korda veya duraya yapışıklık gösterir. Mikroskopik olarak fibrozis ve meningeal hücre proliferasyonu görülür. Medulla spinalis makroskopik olarak büzülerek küçülmüştür, gri ve sert kıvamlıdır. Skar dokusunun yanı sıra bazı nöronlarda aksonal rejenerasyon, Schwann hücrelerinde remiyelinizasyon görülebilir (47).

Tablo 5: Spinal kord yaralanmasının kronik dönem patolojisi (37)

Santral Kavite
Aksonların devamlı subpial rimi
Posttravmatik enfarkt
Posttravmatik syringomyeli
Kistik myelomalezi
Uzak nekrotik odak
Demyelinizasyon
inflamasyon
Wallerian dejenerasyon
Skar ve gliosis
Araknoidit
Atrofi
Rejeneratif süreçler-Aksonlar, Schwann hücreleri

2.4. Sitokinler

20. yüzyılın başlarında inflamasyonun kompleks etkileimleri hakkında ilk bildiriler ve görüşler ortaya atılmıştır. 1920 yılında Alexis Carrel lökositlerin yayılmasıyla mesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Sitokinlerin aktiviteleri ilk kez 1926'da Zinsser ve Tamiya tarafından tanımlanmış ve bunların lökositlerden salgılanan solübl ürünler oldukları, damar duvarı fonksiyonlarını etkiledikleri bildirilmiştir. 1930 yılında Rich ve Lewis makrofaj ve lökosit göçününün uygun antijenle stimüle edilmiş lenfoid hücre kültürlerinde inhibe edildiğini gösterdiler. 1966 yılında David, uygun şekilde sensitive ve stimüle edilmiş lenfositlerden salgılanan bir faktörün makrofaj göçündeki bu inhibisyonun sorumlu olduğunu göstermiştir (51). 1979'da 2. Uluslararası çalışmaları grubu birçok sitokin için sadece tek bir hücreden değil, birden fazla hücreden salgılandıklarını ve immün sistemindeki hücreleri arasında kompleks etkileim içinde bulduklarını vurguladı. Bu nedenle lökositlerden salınan birçok sitokin interlökin olarak adlandırılmaya başlandı (51).

Son 20 yılda yapılan çalışmalarda sitokinlerin immün sistem hücreleri dışında fibroblastlar, dendritik hücreler, parietal hücreler, osteoblast, düz kas hücreleri, hepatositler, çizgili kas ve sinir hücresi fonksiyonlarında da önemli düzenleyici görevler üstlendiği ortaya konmuştur (51).

Inflamasyon, spinal kord yaralanması sonrasında çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Yaralanmayla başlayan ve devam eden kanama, ödem, nöroeksitotoksinlerin akümüasyonu ve biyokimyasal değişiklikler, inflamasyonun Santral sinir sistemi üzerindeki esas etkilerini belirlemede zorluklar yaratmaktadır. Inflamasyon, canlı dokunun her türlü zedelenmeye karşı gösterdiği ortak bir reaksiyondur. Inflamasyon yaralanma alanındaki vasküler, nörolojik, humoral ve hücresele yanıtları içerir. Inflamasyon, organizmanın zedeleyici etkeni çevreleyerek yok etme ve zararlı süreçleri sınırlandırmasını sağlayan ve takiben doku onarımına yol açan bir süreçtir (51).

Akut inflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki vasküler yanıttır. Yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arterioller vazodilatasyon olur. Bu da kapiller yatağa daha fazla kan gelerek konjesyona ve takiben vasküler permeabilitede artışa sebep olur.

Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) lezyon bölgesini birkaç saat içinde infiltre etmesiyle beraber ve travmanın ilk gününde en yüksek seviyeye ulaşır. Yapılan ışık ve elektron mikroskopi çalışmaları 4. saatten önce kan damarları dışında çok az sayıda PMNL bulunurken, 4. saatte bunların damar içinde sayıca çok arttıkları ve damar duvarından çıkarak dokuya girmeye başladıkları görülmektedir. 8 saatlik preparatlarda, gri cevherde PMNL kümelemeleri görülmekte ve beyaz cevherde PMNL'ler nöronların içindeki inklüzyonlar olarak belirmektedir. 24 saatlik preparatlarda, dejenere nöronların PMNL tarafından sarıldığı ve PMNL'ler arasında sellüler kalıntıların bulunduğu gösterilmiştir. PMNL'ler üçüncü günde kaybolurlar. Bu süre içinde granüller içeriklerini ortama salarak litik enzimlerinin etkisiyle vasküler, nöronal ve glial yaralanmayı daha da arttırmaktadırlar. PMNL infiltrasyonu miktarı ile oluşan hemoraji miktarı korelasyon göstermektedir. Histamin, plazma proteazları, bradikinin, prostaglandinler, trombosit aktive edici faktör, lökotrienler, platelet-aktive edici faktör, serbest oksijen radikalleri, serotonin gibi inflamasyon mediatörleri yaralanmış spinal kordda lezyon bölgesinde birikirler. inflamatuvar hücreler için kemoatraktan oluşan bu maddeler doku yaralanmasının hızla ilerlemesine neden olurlar (51). Ortamdan kaybolan PMNL'lerin yerini mikroglial hücrelerden ve dolaşımdan kaynaklanan makrofajlar almaktadır. Makrofajlar myelin, hemorajik ve nekrotik doku kalıntılarını fagosite etmektedir. Aynı zamanda makrofajlar, angiogenezi başlatan interlökin-1 benzeri sitokinleri de salgılamaktadırlar (51).

Sitokinler, genelde otokrin ve parakrin özelliklere sahip olan küçük proteinler olarak tanımlanabilir. Günümüzde 200'ün üzerinde insan sitokini tanımlanmıştır. Sitokinleri çalışmada kullanılan bir problem, moleküllerin nadiren tek başlarına salınmaları ve nadiren tek başlarına etki göstermeleridir. Bir sitokinin bir başkasının yapımı ve yanıtı üzerinde etkisi olabilir (52).

Sitokinler hücre sel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyaranlara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Belli bir sitokin çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır fakat aynı biyolojik etkiyi gösterirler. Sitokinlerin etkileri sistemik veya lokaldir. Bazıları klasik hormon gibi davranırlar. öyle ki; belli hücreler tarafından kana veya çeşitli hücre sel sıvılara salgılanıp vücudun diğer bölgelerindeki hücre sel reseptörlerine bağlanırlar. Diğer sitokinler daha lokalize olmaları etkiler gösterirler. Bunlar otokrin (bir hücre

tarafından salgılanan sitokinin aynı hücre üzerine etkisi) ve parakrin (belli bir hücre tarafından salgılanan sitokinin yakındaki komşu hücreye etkisi) etkilerdir (52).

Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. Bu sınıflandırma sitokinler arasındaki fonksiyonel benzerliklere etki mekanizmalarına dayanmaktadır.

Sitokinler başlıca üç ana gruba ayrılmaktadır:

- 1) Doğal immünite mediatörleri olan sitokinler;
 - a) Tip 1 interferonlar
 - b) TNF (Tümör nekroz faktör)
 - c) İnterlökin-1 (IL-1)
 - d) İnterlökin-6 (IL-6)
 - e) Kemokinler
- 2) Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen sitokinler;
 - a) İnterlökin-2 (IL-2)
 - b) İnterlökin-4 (IL-4)
 - c) Transforming Growth faktör (TGF)
- 3) İnflamasyonda düzenleyici rol oynayan sitokinler;
 - a) İnterferon-gama (IFN-g)
 - b) Lenfotoksin (Nötrofil aktivatörü)
 - c) İnterlökin-12 (IL-12)
 - d) İnterlökin-10 (IL-10)
- 4) Hematopoezi uyaran sitokinler;
 - a) Stem cell faktör (SCF)
 - b) İnterlökin-3 (IL-3)
 - c) Monosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör (M-CSF)
 - d) Granülosit koloni stimüle eden faktör (G-CSF)

- e) İnterlökin-7 (IL-7)
- f) İnterlökin-9 (IL-9)
- g) İnterlökin-11 (IL-11) (53).

Sitokinler, hematopoietik sistemin de içinde bulundu u, hedef hücrelerin aktivitelerini de i tiren veya düzenleyen protein ve/veya gl ikoprotein yapıllı immünomodülatörlerdir. Sitokinler hedef hücrelerdeki kendilerine ait spesifik ligandlara ba lanarak etki ederler. Ba lanma ile ba layan sinyal transdüksiyonu ve ikinci haberci iletimi, gen aktivasyonu, mitotik bölünme, büyüme ve farklıla ma, migrasyon veya apoptozise neden olur (54).

Sitokinler hücre bölünmesi ve farklıla masının kontrolü, hematopoez ve ba ı klık sisteminin regülasyonu, yaraların iyile mesi, kemik formasyonu ve hücrel metabolizmanın de i tirilmesi gibi biyolojik olayla rda rol oynamaktadır.

Sitokinler immün ve inflamatuvar cevabın etkin mekanizmalarının ço una katılırlar. IL-2 ve IFN gama gibi yardımcı T lenfosit T hepler-1 grubundan salınan sitokinler hücrel immünitede, IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 gibi T hepler-2 tip sitokinler humoral immün cevaplarda etkilidirler (55).

Lenfokin, monokin, interlökin interferon olarak ta adlandırılan sitokinlerin ortak karakteristik özellikleri (56,57)

1. Sitokinler do al ve spesifik immunitenin efektör fazında yapılırlar.
2. Bir sitokin de i ik tip hücreler tarafından yapılabilir.
3. Bir sitokin de i ik tip hücreler üzerine etki gösterebilir.
4. Dü ük moleküler a ırlıktadırlar.
5. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Bu etkilerin bazıları aynı anda, bazıları ise dakikalar saatler hatta günler sonra olu abilir.
6. Birden fazla sitokin aynı etkiyi gösterebilir.
7. ki sitokin birbirlerinin etkisini ortadan kaldırabilir (antagonizm), arttırabilir (sinerji) hatta de i ik bir etkiye yol açabilir.

8. Sitokin sentez ve sekresyonu kısa süreli olaylardır. Sentezleri genellikle yeni gen transkripsiyonu ile yapılır, hücrede önceden yapılmı halde bekletilmezler.

9. Sitokinler hedef hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak etkilerini gösterirler.

10. Belli bir biyolojik etkiyi sağlamak için gereken sitokin miktarı genellikle çok düşüktür.

11. İmmünite ve inflamasyon reaksiyonlarında vücut cevabının amplitüd ve süresini regüle ederler.

12. Daima geçici süre ile ve lokal olarak sentezlenirler.

13. Son derece potentirler.

14. İmmünite ve inflamasyon reaksiyonlarında vücut cevabının amplitüd ve süresini regüle ederler.

15. Daima geçici süre ile ve lokal olarak sentezlenirler.

Sitokinler hücre yüzeyinde yer alan spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterirler. Supressör etkiler reseptör yapımını azaltabilir. Reseptör moleküller membrana bağlı oldukları gibi serbest (soluble) halde bulunabilirler. Sitokin reseptörlerinin en önemli fonksiyonlarından biri extrasellüler bir sinyali spesifik bir sitokin varlığında intrasellüler bir sinyale dönüştürmektir. Reseptör moleküllerin ekspresyonu da sitokinlerin kontrolü altında bulunur.

Sitokin moleküllerinin etkisini ortadan kaldıran veya azaltabilen 6 grup molekül vardır (57);

1. Reseptör antagonistleri: Bu moleküller reseptör moleküllerine bağlanarak sitokin etkisini bloke ederler.

2. Solubl sitokin reseptörleri: Solubl reseptörler genellikle sitokinleri serumda bağlayarak hücreye olan etkisini ortadan kaldırır.

3. Sitokin otoantikorları: Sitokinleri spesifik olarak nötralize ederler.

4. İnhibitör sitokinler: IL-10 ve IL-4'ün tip1 sitokinler için, IL-2 ve IFN- γ 'nın tip 2 sitokinler için baskılayıcı etki gösterdikleri bilinmektedir.

5. Sitokin reseptörünün yokluğu: Bunun en tipik örneği IFN- γ reseptörlerinin mutasyon sonucu silinmesiyle IFN- γ 'nın makrofajları aktive etmesinin önlenmesidir.

6. İnhibitor proteinler: Bazı insan proteinleri de sitokinlere bağlanarak suretiyle onların biyolojik etkilerini azaltabilirler.

Santral sinir sistemi açısından sitokinler spesifik bir rol oynarlar ve ağızda sayılan durumlarda özellikle önemlidirler. Bunlar (58)

- 1- Embriyonik gelişim,
- 2- Ateşi, nöroendokrin aktivasyon, davranış ve affekt değişiklikleri,
- 3- Beyin ve omurilik travması,
- 4- Yabancı antijene karşı immün cevabın regüle edilmesi,
- 5- Hücre ve humoral immünite ile inflamatuvar cevapların gelişimi olarak sıralanabilir.

2.4.1. İnterlökin-1 beta ve İnterlökin-6

IL-1 beta, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler, proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtının ortaya çıkmasında rol alırlar. IL-1'in IL-1 alfa ve IL-1 beta olmak üzere iki alt tipi vardır. Monositler, lenfositler, endotel hücreleri ve mikroglialar gibi bağışıklık sistemi hücrelerinden salınır. İnflamasyon, sepsis, diyabet, otoimmün hastalıklar ve osteoporoz oluşumunda etkisi oldukları düşünülmektedir.

Vücuttaki tüm çekirdekli hücreler tarafından IL-1 üretilmektedir. İnsanda IL-1a ve IL-1b olmak üzere iki farklı formda bulunmaktadır. Bu iki form, farklı genler tarafından kodlanan 159 ve 153 aminoasitlik peptidlerdir. Birbirleri ile sadece %26 oranında benzer olmalarına rağmen biyolojik aktiviteleri ve potensleri identiktir. Yine, aynı hücre yüzey reseptörlerine, benzer afinitelerle bağlanırlar. Birçok hücre tarafından biyolojik olarak inaktif olan, ancak reseptörlere bağlanma için IL-1 molekülleri ile yarı arak kompetitif inhibisyon yapan IL-1 reseptör antagonist (IL-1Ra) olarak bilinen proteini kodlayan üçüncü bir gen ekspres edilmektedir.

Her iki IL molekülünün etkilerini göstermesi için hücre yüzeyinde yer alan transmembran glikoproteinleri olan reseptörlerine bağlanmaları gerekir. IL-1a ve

IL-1b'yi e it olarak ba layan iki tip IL-1 reseptörü tanımlanmıştır: Tip I reseptör (IL-1RI), IL-1'e duyarlı olan tüm hücrelerde sinyal iletimini sa larken, Tip II reseptör (IL-1RII) IL-1b'ya daha kuvvetli ba lanır ve inflamasyon bölgesinde IL -1b'nın endojen inhibitörü olarak davranır.

IL-1, TNF ile beraber antijen sunan hücrelerce T Helper hücrelerin aktivasyonunu sa lar. Antijen ile temas eden antijen sunan hücreler tarafından salgılanan bu iki sitokin, birçok adezyon molekülünün ekspresyonunu artırır. IFN gama üretimi artar ve yüzeyde MHC Class II moleküllerinin ekspresyonu artar. Böylece T Helper hücreler tarafından antijen sunan hücreler ba lanabilir ve aktive olabilir. Aktive olan hücrelerde IL-2 salınımı ile IL-2 ve IFN gama reseptörlerinin ekspresyonu artar, sonuçta duyarlı T Helper hücrelerde klonal proliferasyon gerçekleşir. IL-1 ve TNF beraber hem humoral hem de hücreyel immün cevabın ortaya çıkmasını sa lar. Nötrofil ve makrofajları stimüle eder, B hücre proliferasyonunu hızlandırır, hematopoiezisi stimüle eder, birçok sitokin ve inflamatuvar mediatörün etkileri ne aracılık eder.

IL-6 de i ik dokuların büyümesini ve farklılaşmasını düzenleyen, bir çok i levi olan bir sitokindir. Hedef hücreye ba lı olarak büyümeyi uyaran, büyümeyi inhibe eden ve farklılaşmayı sa layan etkinli e sahiptir. Sistemik inflamatuvar yanıt sırasında ortaya çıkan akut faz reaktanları arasında interlökin-6, inflamatuvar olaylarda mononükleer fagositlerden mikrobik uyarılara direkt yanıt olarak ve tümör nekroz faktörü ile interlökin-1 üretiminin sonucunda salınan bir sitokindir. Travma nedeniyle yo un bakım deste ine gereksinim duyan hastalarda ate , ta ikardi, hiperventilasyon ve lökositoz gibi bulguların travmaya mı, yoksa enfeksiyonamı ba lı oldu unu ortaya koyabilmek, antibiyotik kullanılacak hastaların ayırt edilebilmesi için son derece önemlidir.

nsan IL-6'sı ilk kez, fitohemaglutinin veya antijen ile uyarılmış periferik mononükleer hücrelerin kültür süpernatantlarında B hücre farklılaşma faktörü olarak bulunmu tur. 1985 yılında insan IL-6'sı safla tırılmış ve 1986'da IL-6 DNA'sının aminoasid dizisi ortaya konmu tur.

IL-6 nın:

1- Dört -helikal uzun zincir içermektedir.

2- Lenfoid ve non-lenfoid birçok hücre tipi tarafından üretilen pleiotropik bir sitokindir.

3- T ve B hücre fonksiyonlarının ayarlanması, Ig sekresyonu

4- Akut faz inflamasyon reaksiyonları

5- Hematopoez gibi bir çok biyolojik etkisi vardır.

IL-6 ve reseptörü kromozomal yerle imi 7p21-14(IL-6) genleriyle kodlanmaktadır. IL-6; T ve B lenfositleri, monositler/makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreler, epitel hücreler, mast hücreleri, nöronal hücreler, astrositler, mikroglia, mezengial hücreler, osteoblastlar, epidermal langerhans hücreleri dentritik hücreler ve keratinositler gibi çok geni bir hücre grubu tarafından üretilmektedir (58,59).

Endotoksinler, IL-1 ve TNF- IL-6 sekresyonunu artırır. Tip 3 Grup B Streptokok'un komponentleri IL-6 düzeyini güçlü bir şekilde artırır ve Grup B Streptokok infeksiyonu süresince doku inflamasyonunun gelişmesinde önemli rol oynayabilmektedirler. Komplemanı aktive eden kompleman 5a'nın periferik kan mononükleer hücreleri tarafından sentezlenen IL-6'yı arttırdığı gösterilmiştir. Bu, gram negatif bakteriyemide IL-6 sentezinin düzenlenmesinde önemlidir çünkü lipopolisakkaridin IL-6 salınımını uyardığı bilinmektedir (59,60). Biyolojik fonksiyonları IL-6, B hücrelerinin farklılaşmasında ve Ig sentezinin uyarılmasında etkilidir.

IL-6'nın akut faz cevap sırasındaki etkileri IL-1 ve TNF gibi birkaç diğer sitokin ile sinerjik aktiviteyi içermektedir. IL-6, T hücrelerinin ve timositlerin kostimulatörüdür. T lenfositlerin farklılaştırıcı faktörü ve erken kemik iliği hematopoetik stem hücrelerinin gelişimi için bir kofaktördür. IL-10 üretimi, insan T hücreleri içinde IL-6 ve IL-12 tarafından artırılmaktadır. IL-6, lenfositlerin yapımını arttırmak için endotel hücreleri üzerine etki göstermektedir. Ayrıca bu sitokinin kemotaksis inhibitör etkiye sahip olduğu da ortaya çıkarılmıştır (58). Dentritik hücrelerin ve epidermal langerhans hücrelerinin IL-6'nın önemli bir kaynağı olduğunu gösteren çalışmalar kutanöz immüninflatuar cevapların oluşumunu açıklamaktadır. IL-1 ve TNF ile ortak olarak, IL-6; ateşli oluşturan bir endojen pirojen olarak önemli rol

oyunur. Gram negatif bakteriyel infeksiyon ve inflamatuvar reaksiyonlardan sonra sirkulasyondaki seviyeleri artmış bulunur. Son çalımlar IL-6'nın ölümcül infeksiyonlara karşı koruyucu olduğunu göstermektedir ve bu etkiye de kısmen de olsa nötrofillerin aracılık ettiği öne sürülmektedir. Bu konularda IL-6 kanda kolaylıkla ölçülebilen sitokinlerden biridir (60).

IL-6, akut faz cevabının asıl oluşturucusudur ki bunu C-reaktif protein, kompleman bileşenleri, orosomukoid, haptoglobulin, fibrinojen, proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinleri sentez etmek için hepatositleri aktive ederek sağlar. C-reaktif protein (CRP) infeksiyon, inflamasyon, malignensi ve otoimmün hastalıklar gibi birçok durumda serum seviyesi yükselen bir akut faz proteindir. Karaciğerde interleukin-6'nın kontrolü altında sentezlenir. Diabetes mellitusun akut faz yanıtı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Tip 2 diyabette sialik asit, sialik asit glikoprotein, CRP, serum amyloid A gibi akut faz reaktanlarının ve mediyatör sitokin IL-6'nın artmış olduğu gösterilmiştir (61,62).

IL-6'nın bağımlı seviyeleri arasında, B hücrelerinin farklılaşması (immünglobulin salınımı), diğer B hücrelerinde büyümeyi uyarma, hepatik akut faz yanıtına yol açma, makrofajlar ve T hücrelerinin etkinleşmesi ve farklılaşması ile nöronal farklılaşması sayılabilir. Sitokinler arasında zengin iletişim (sitokin ailesi) IL-6 üretimini düzenler (59).

IL-1'in uyardığı insan astroglial hücrelerinden TNF- α , koloni stimulan faktör ve IL-6 üretimi gösterilmiştir (60).

Farelerde IL-1'in serebrovasküler enjeksiyonu sonucu serbest lenfositlerin uyardığı natural killer (NK) sayısında azalma ve IL-6 salınımında artma olduğu gösterilmiştir (60,61)

2.4.2. Interleukin-10

Interleukin-10 insan immün yanıtında bulunan en önemli antiinflamatuvar sitokindir. Kromozom 1 üzerinde bir genle kodlanır. Primer olarak T lenfositleri, monositler, makrofajlar, B lenfositleri ve nötrofiller tarafından sentezlenen ve süpresif bir sitokin olan IL-10 konakçının gram negatif sepsiste organ yetmezliği ve ölümden korunmasında kritik bir rol oynar. IL-10 koruyucu aktivitesini IL-1 beta, TNF alfa,

IL-8, interferon gama, IL-6 ve prostaglandin metabolitleri gibi inflamasyon mediatörlerini inhibe ederek gösterir. IL-10 immün cevabın önemli bir regülatörüdür. IL-10 birçok sistemik hastalıkta ve inflamatuvar durumlarda dolaşımda ölçülebilir. Otoimmün, malign, enfeksiyöz hastalıkları disregüle ettiği düşünülen önemli bir sitokindir (62, 63).

Interlökin-10 ilk kez fare helper T (tip 2) lenfositlerinden köken alan sitokin olarak tanımlanmış ve T hepler-1 (TH1) hücrelerinde sitokin yapımını inhibe etmesi nedeniyle "Sitokin yapımını inhibe eden faktör" olarak isimlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar T hepler-2 (TH2) ve CD 8 T lenfositlerinin, monosit/makrofajların, aktive olmuş B lenfositleri ile Epstein Barr Virüsü tarafından transforme edilen B lenfositlerinin IL-10 üretim kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir (64, 65).

Interlökin-10'un hematopoietik hücre dizileri üzerine multiple biyolojik etkileri vardır. İnsanlarda B lenfositleri için büyüme ve differansiye edici faktör olarak fare modellerinde T lenfositleri için büyüme faktörü olarak etki gösterir. Bu özellikleri dışında immunosupresif etkileri de belirlenmiştir. T hepler-1 hücrelerinden IL-2 ve IFN gamma yapımını, antijen spesifik T hücre aktivasyonunu bloke eder, ayrıca monosit ve makrofajlardan sitokin yapımını inhibe edebilir (64).

Çeşitli tümörlerde IL-10 seviyesi artmıştır. Bu nedenle T killer aktivitesi, MHC antijen sunumu, IL-12 üretimi ve IFN-gama üretimi azalmıştır, ayrıca tümör iliği antijen sunumu da azalmıştır. Yüksek IL-10 seviyesi kötü prognozla ilişkilendirilmiştir ve hızlı tümör büyümesine neden olduğu düşünülmektedir. Tümör hücrelerinde;

T hücre yanıtı zayıf

T hücre anergisi

Tümör ile indüklenen immunosupresyonda yer almaktadır.

IL-10'nun *M.tuberculosis*'e karşı konakçı direncini baskıladığı bildirilmiştir (59).

Primer tüberküloz, progresif primer tüberküloz ve miliyer tüberkülozda IL-10'nun konakçı direncinin temelini oluşturan makrofajların fonksiyonunu ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını inhibe ederek hastalığın gelişiminde rolü olabileceği bildirilmiştir (63).

Santral sinir sistemindeki iskemi durumlarında inflamatuvar mediatörlerin salınması söz konusudur. Hipoksi- iskemi, immatür ve erişkin ratlarda IL-1, IL-6 ve TNF alfa ekspresyonu ile karakterize bir inflamatuvar yanıt nedeni olur. Deneysel beyin yaralanması modellerinde BOS ve serumda TNF alfa ve IL-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (63).

Santral sinir sistemindeki birçok hücre (mikroglia, astrosit, endotel hücreleri, nöronlar) sitokin sekrete edebilir. Kan beyin bariyerini geçen sitokin sentez ve sekresyon yetenekleri olan periferik kökenli mononükleer fagositler, T lenfositleri, polimorfonükleer hücreler beyin enflamasyon ve gliozisine katkıda bulunabilir (59).

Travmaya maruz kalan hastalarda doku zedelenmesi, iskemi ve hemorajiye karşı akut fizyolojik bir yanıt olarak, genellikle ilk saatlerden itibaren inflamatuvar olaylar ortaya çıkar. Sitokinler ve diğer endojen mediatörlerin sentezini ve karmaşık bir etkileşimi içeren olaylar zinciri doğal iyileşme sürecini sağlamaya yöneliktir. inflamatuvar yanıtın aırı olması organizma aleyhine olup, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve multipl organ disfonksiyonu sendromu ile sonuçlanabilir. Travmaya sekonder ortaya çıkan inflamatuvar yanıtta primer rolü IL-1, IL-6 ve TNF alfa rol oynar(63).

3. MATERYAL ve METOD

Deney Planı

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yapıldı ve burada üretilmiş 50 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Her grupta kullanılan ratların ağırlıkları 250-320 gram arasında değişmekteydi ve ortalama ağırlık 290 gramdı.

Çalışma 5 ana grup olarak planlandı.

1.grup; sham grubu (n=10); laminektomi

2.grup; travma grubu 1. saat (n=10); laminektomi+ travma 1. saat

3. grup; tedavi grubu 1. saat (n=10); laminektomi+ travma+ tedavi 1. saat

4.grup; travma grubu 6. saat (n=10); laminektomi+ travma 6. saat

5.grup; tedavi grubu 6. saat (n=20); laminektomi + travma + tedavi 6. saat

1.grup; sham (kontrol) grubu; Bu grupta 10 adet rat kullanıldı. Hayvanlara T10-12 düzeyine laminektomi yapılarak omurilikleri sakrifiye edildi ve kanları alındı. Omurilik dokularında ve serumlarında interlökin-1 beta ve interlökin-6 düzeylerine bakılmak üzere alınan omurilik dokuları inceleme için fosfat tamponu içine konularak derin dondurucuya (-80 °C) yerleştirildi.

2.grup; travma grubu-1.saat; Bu grupta 10 adet rat kullanıldı. Hayvanlara T10-12 laminektomi uygulandıktan sonra Rivlin ve Tator'un klip yöntemi ile 1 dakika süreyle klip uygulanarak spinal kord yaralanması oluşturuldu. Travmadan 1 saat sonra ratların kanları alındıktan sonra omurilikleri sakrifiye edildi. Omurilik dokularında ve serumlarında interlökin-1 beta ve interlökin-6 düzeylerine bakılmak üzere alınan omurilik dokuları inceleme için fosfat tamponu içine konularak derin dondurucuya (-80°C) yerleştirildi.

3.grup; tedavi grubu-1.saat; (laç- interlökin-10, 5 µg) Bu grupta 10 adet rat kullanıldı. Tüm hayvanlara T10-12 laminektomi uygulandıktan sonra Rivlin ve Tator'un klip yöntemi ile 1 dakika süreyle klip uygulanarak spinal kord yaralanması oluşturuldu. İlaç sonrası 30. dakikada intraperitoneal interlökin-10 (5µg) uygulandı. IL-10 verildikten 1 saat sonra ratların kanları alınarak, omurilikleri sakrifiye edildi.

Omurilik dokularında ve serumlarında interlökin-1 beta ve interlökin-6 düzeylerine bakılmak üzere alınan omurilik dokuları inceleme için fosfat tamponu içine konularak derin dondurucuya (-80°C) yerle tirildi.

4.grup; travma grubu-6.saat; Bu grupta 10 adet rat kullanıldı. Hayvanlara T10-12 laminektomi uygulandıktan sonra Rivlin ve Tator'un klip yöntemi ile 1 dakika süreyle klip uygulanarak spinal kord yaralanması olu turuldu. Travmadan 6 saat sonra ratların kanları alındıktan sonra omurilikleri sakrifiye edildi. Omurilik dokularında ve serumlarında interlökin-1 beta ve interlökin-6 düzeylerine bakılmak üzere alınan omurilik dokuları inceleme için fosfat tamponu içine konularak derin dondurucuya (-80 °C) yerle tirildi.

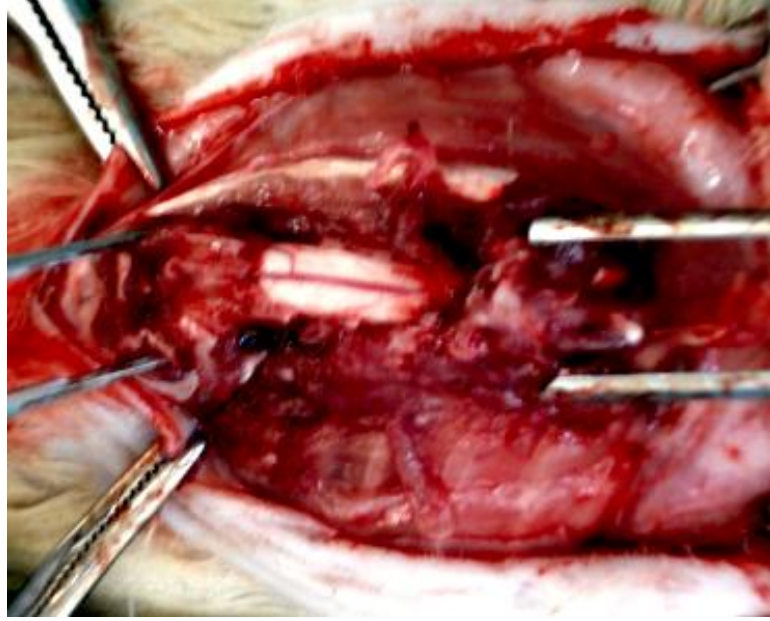
5.grup; tedavi grubu-6.saat; (laç- nterlökin-10, 5 µg) Bu grupta 10 adet rat kullanıldı. Tüm hayvanlara T10-12 laminektomi uygulandıktan sonra Rivlin ve Tator'un klip yöntemi ile 1 dakika süreyle klip uygulanarak spinal kord yaralanması olu turuldu. lem sonrası 30. dakikada intraperitoneal nterlökin-10 (5 µg) uygulandı. IL-10 verildikten 6 saat sonra ratların kanları alınarak, omurilikleri sakrifiye edildi. Omurilik dokularında ve serumlarında interlökin-1 beta ve interlökin-6 düzeylerine bakılmak üzere alınan omurilik dokuları inceleme için fosfat tamponu içine konularak derin dondurucuya (-80°C) yerle tirildi.

Anestezi

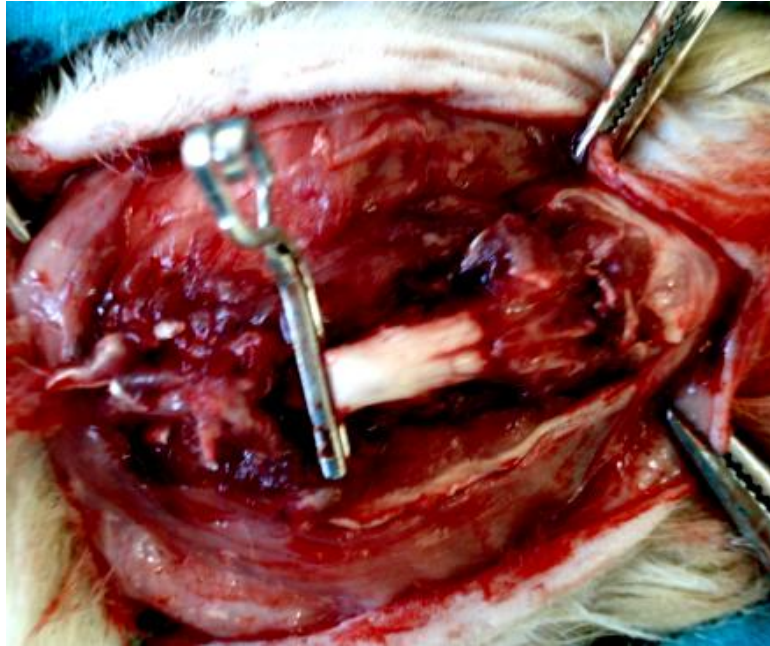
Cerrahi i lem öncesi tüm gruplardaki hayv anlara 60 mg/kg dozunda Ketamin (Ketalar)® ve 10 mg/kg dozunda Xylazine (Alfazyne)® uygulanarak anestezi sa landı.

Cerrahi lem

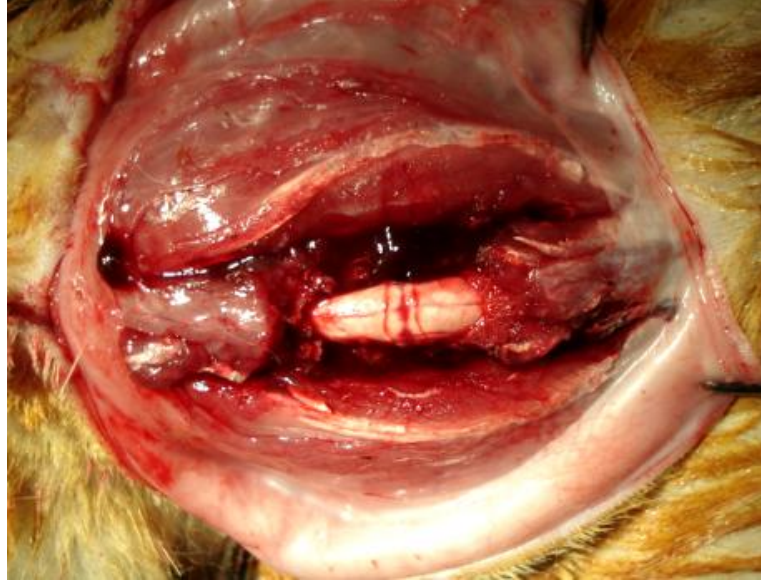
Tüm hayvanların genel anestezi altında sırt bölgesi tra edilerek Polyvidon iyot (Batticon, Adeka, Samsun) ile lokal antisepsi uygulandı. nterskapuler mesafe referans alınarak prone pozisyonda T9-L1 seviyesinde cilt, cilt altı dokular geçildi. Paravertebral kas fasyası geçilerek kaslar laterale künt diseksiyon ile sıyrıldı. Torakal 10-12 laminaları görülerek total laminektomi uygulandı (Resim 1). Bu i lem yapılırken hayvanların dura materlerinin zedelenmemesine dikkat edildi. Daha sonra grup 2, 3, 4 ve 5 grup deneklere ekstradural olarak 1 dakika süreyle klip (Sugita no:07-934-11, kapanma basıncı; 1.37-1.72 N) uygulanarak spinal travma olu turuldu (Resim 2, 3). Hemostazı takiben tabakalar anatomisine uygun olarak 3/0 ipek ile kapatıldı.



Resim 1. Laminektomi sonrası görünüm



Resim 2. Kliplleme sonrası görünüm



Resim 3. Klip kaldırıldıktan sonraki görünüm

Spinal Travma Olu turulması

Çalı mada T10-12 total laminetomi sonrası hayvanların dura materleri sa lam olarak ortaya konuldu. Standart travma amacıyla anevrizma klipi (Sugita no:07-934-11, kapanma basıncı; 1.37-1.72 N) ile dura ve spinal kord çepeçevre olarak klibe edildi (Resim 2). Burada Tator ve Rivlin'in tarif etti i kliplleme yöntemi kullanıldı.

laç Uygulanması

Bu çalı mada kullanılan nterlökin-10 (Recombinant Human IL-10, Biosource USA, catalog no:PHC0105) spinal kord travmasını takiben 30. dakikada 5 µg olacak ekilde ratlara intraperitoneal olarak uygulandı.

Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

EL*50 Autostrip washer cihazında yıkandı.

E1x808 Ultra microplate reader (Bio-tek Instruments, Inc. Highland Park USA) cihazında okutuldu.

Protein Aorest 2000 cihazında ölçüldü. Birimi mg/dl

IL-1 beta ve IL-6 tayini

IL-1 beta Biosource rat ELISA kit (Biosource USA, catalog no KRC0011) ile çalı ılmı tır.

(IL-1 beta birimi: pg/mg protein)

IL-6 Biosource rat ELISA kit (Biosource USA, catalog no KRC0061) ile çalışılmıştır.

(IL-6 birimi:pg/mg protein) (87,88)

Doku Homojenizatının Hazırlanması

Medulla spinalis tartılarak, 1/9 oranında 0.1 M fosfat tamponuyla karıştırılarak buz üzerinde, homojenizatörle 10.000 devir/dk'da 1dk homojenize edildi. Homojenize edilen örnekler 5000 g' de +4°C'da soğutmalı santrifüjde 5 dakika santrifüj edildi. Homojenize edilen örneklerin süpernatantlarında Biorad Dc Protein Assay kiti kullanılarak aeroset cihazında protein tayini yapıldı (88).

Kanlar 4000 devir/ dk da 4 dakika süreyle santrifüj edildi ve bekletilmeden serumları alındı (87).

statistiksel Analiz

Bu çalışmanın istatistiksel analizlerinde SPSS 15.0 programında tanımlayıcı istatistik (median, min-max, standart deviasyon) değerleri, Kruskal Wallis Testi, Mann Whitney U Testi ve Wilcoxon Testi yapıldı. Tüm gruplar arasında doku interlökin 1- beta/protein, doku interlökin 6/protein, serum interlökin 1- beta/protein, serum interlökin 6/protein oranı Kruskal Wallis testiyle analiz edildi. Bu gruplar arası farkı incelemek için ikili karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanıldı (grup sayısı n<30 olduğundan dolayı non parametrik test uygulandı). Grafikler Microsoft Excel® programında oluşturuldu.

4. BULGULAR

Kontrol grubunda (G-1) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein (15.2 ± 8.2), IL-6/protein (62.7 ± 51.6) düzeyleri ve serumlarında bakılan IL-1 beta/protein (13.8 ± 4.2), IL-6/protein (30.8 ± 33.1) düzeyleri ile travma sonrası 1. saatte (G-2) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein (14.01 ± 5.9), IL-6/protein (44.3 ± 29.8) düzeyleri ve serumlarında bakılan IL-1 beta/protein (15.6 ± 6.3), IL-6/protein (11.1 ± 5.04) düzeyleri karşılaştırıldı. Travma sonrası 1. saatte istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmadı (Tablo-6). Bu nedenle travmanın 1. saatinde IL-1 beta ve IL-6 düzeylerinin anlamlı olmadığı düşünüldü.

Kontrol grubunda (G-1) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein (15.2 ± 8.2), IL-6/protein (62.7 ± 51.6) düzeyleri ile travma sonrası 6. saatte (G-4) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein (49.1 ± 86), IL-6/protein (132 ± 74) düzeyleri karşılaştırıldı. Travma sonrası 6. saatte IL-6 düzeylerindeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.013$).

Travma sonrası 1. saatte (G-2) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein (14.01 ± 5.9), IL-6/protein (44.3 ± 29.8) düzeyleri ile travma sonrası 6. saatte (G-4) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein (49.1 ± 86), IL-6/protein (132 ± 74) düzeyleri karşılaştırıldı. Travma sonrası 6. saatte IL-6'nun travma sonrası 6. saatte 1. saate göre anlamlı düzeyde arttığı görüldü ($p=0.002$).

Travma sonrası 1. saatte (G-2) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein (14.01 ± 5.9), IL-6/protein (44.3 ± 29.8) düzeyleri ile tedavinin 6. saatinde (G-5) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein (20.2 ± 5.7), IL-6/protein (103 ± 42.4) düzeyleri karşılaştırıldı. Travma sonrası 6. saatte IL-6 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir düşüş görüldü ($p=0.004$) (tablo6-7, grafik 1).

Tablo 6. Ara tırma gruplarının tanımlayıcı istatistiksel de erleri (median, minimum - maksimum ve standart deviasyon de erleri)

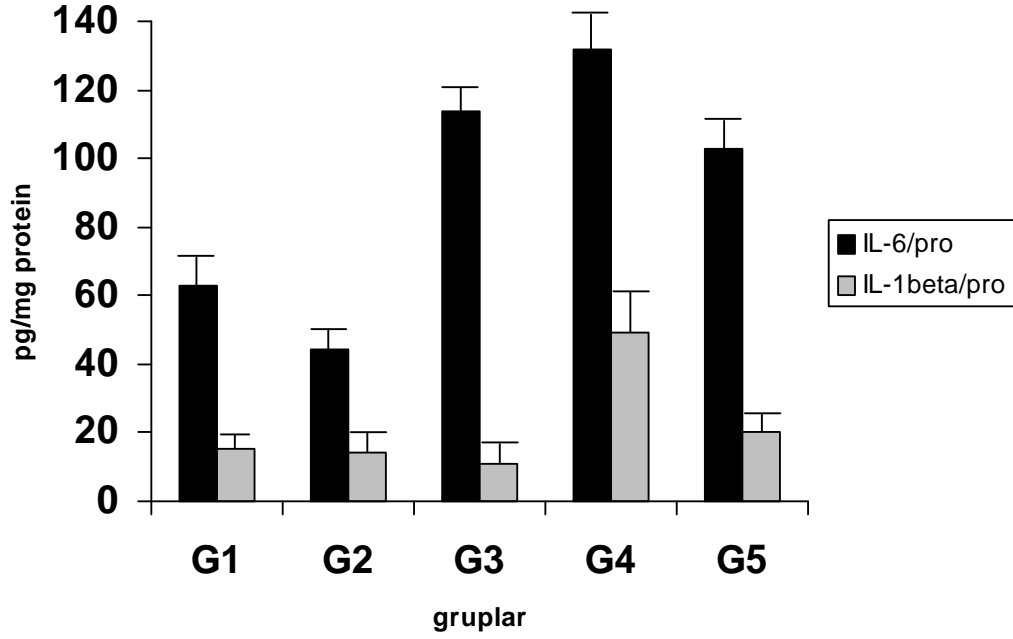
Gruplar	A ırık	Doku		Serum	
		IL -6/protein	IL- /protein	IL-6/protein	IL-1 /protein
Grup-1	288 ± 15.07 (263-314)	62.7 ± 51.6 (24.8-182)	15.2 ± 8.2 (1.1-26.7)	30.8 ± 33.1 (6.4-89.6)	13.8 ± 4.2 (8.4-23.3)
Grup-2	281 ± 14.8 (264-311)	44.3 ± 29.8 (7.1-104)	14.01 ± 5.9 (7.7-25.1)	11.1 ± 5.04 (5.3-21.01)	15.6 ± 6.3 (4.3-24.9)
Grup-3	259 ± 31 (224-313)	114 ± 11.6 (97-120.5)	10.9 ± 8.6 (0.25-26)	3.6 ± 2.2 (4.9-9.2)	15.9 ± 11.04 (4.9-44.3)
Grup-4	283 ± 20.1 (260-320)	132 ± 74 (44.9-203)	49.1 ± 86 (7.3-291)	19.7 ± 14.5 (2.6-43.9)	14.8 ± 5.7 (7.05-24.9)
Grup-5	286.9 ± 11.7 (265-300)	103 ± 42.4 (44.9-203)	20.2 ± 5.7 (0.87-70.1)	14.3 ± 21 (0.86-70.1)	14.8 ± 4.5 (9.8-22.5)
Toplam	279.7 ± 21.7 (224-320)	91.6 ± 74.8 (7.1-245)	21.9 ± 40 (0.25-291)	15.9 ± 20.3 (0.86-89)	15.02 ± 6.5 (4.3-44.3)

Tablo 7. Ara tırma gruplarının tanımlayıcı istatistiksel de erleri (median, minimum - maksimum ve standart deviasyon de erleri)

Gruplar	Doku		Serum	
	IL -6/protein	IL- /protein	IL-6/protein	IL-1 /protein
G1-G2**	0.406	0.496	0.597	0.384
G1-G4**	0.013	0.364	0.705	0.910
G2-G3**	0.049	0.326	0.001	0.545
G2-G4**	0.002	0.143	0.280	0.739
G2-G5**	0.004	0.028	0.290	0.762
G4-G5**	0.496	0.940	0.131	0.970
Tüm Gruplar*	0.0003	0.061	0.002	0.955

* Kruskal-wallis testi p<0,05

** Mann Whitney U testi p<0,05 olanlar istatistiksel olarak anlamlıdır



Grafik 1: Deneklerin omurilik dokularında 1 ve 6. saat IL-6 ve IL-1 beta düzeylerinin karşılaştırılması

G1: Kontrol grubu (laminektomi)

G2: Laminektomi + travma 1. saat

G3: Laminektomi + travma + tedavi sonrası 1. saat

G4: Laminektomi + travma 6. saat

G5: Laminektomi + travma + tedavi sonrası 6. saat

*Travma sonrası 6. saatte (G4) IL-6/protein düzeylerinde kontrol grubuna (G1) göre istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p=0.013$)

*Tedavinin 6. saatindeki (G5) IL-6/protein düzeylerinde travma grubuna (G2) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir düşüş görüldü ($p=0.004$)

5. TARTI MA ve SONUÇ

Akut omurilik yaralanması; toplumda görülme sıklığının yüksekliği, fiziksel psikososyal ve ekonomik açıdan olumsuz yaralanmanın büyüklüğü ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememesi olması nedeniyle günümüzde halen önemini sürdürmektedir. Bununla bağlantılı olarak özellikle travma sonrası akut nöral yaralanmanın azaltılması ve motor fonksiyonların korunmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde klinik çalışmalar devam etmektedir (22).

Geliştirilmeye çalışılan etkin farmakolojik tedavi yöntemleri travma sonrası gelişen süreçlerin patofizyolojisinin anlaşılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Yaralanma sonrasındaki ilk birkaç gün içerisinde omurilikte akut lezyonun patolojik görüntüsündeki dramatik değişiklikler klinik ve deneysel gözlemlerin en önemli noktasını oluşturmaktadır (38). İlk olarak 1911 yılında Allen köpeklerde olumsuz kontüzyon tipi omurilik yaralanması sonrası uygulanan myelotomi ve posttravmatik hematomyelinin kaldırılmasının nörolojik fonksiyonlarda iyileşmesini sağlama daha önce bu konu ile ilgili yapılan deneysel çalışmaları belirli kriterlere bağlanmasını sağlamış ve aynı zamanda ikincil hasar konseptinde öncülüğünü yapmıştır (9,15,35).

Birçok travma spinal kord yaralanmasına neden olabilir. Travma, omurilik kendisini veya etrafındaki vertebral kolonu etkileyebilir. Yaralanmanın boyutu, çeşitli biyomekanik faktörlere dayanır. Fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyonla ilgili distraksiyonel kuvvetlerin hepsi, nöral elemanların kendisinde veya spinal kord damarlarında gerilme veya yırtılmaya sebep olur. Diğer olası mekanik etkiler, kemik kısımlardan, ligamanlardan veya spinal kanal içindeki hematomlardan kaynaklanan kompresyonu içermektedir. Bu kuvvetler, sadece yaralanma esnasında akut olarak değil; aynı zamanda kalıcı deformiteye sekonder, kronik olarak da omuriliği tahrip edebilirler. Mekanik instabilite, kompresif veya distraktif ek kuvvetler yükleyen posttravmatik kifoz gibi daha ileri yapısal deformasyonlara götürebilir ve nörolojik defisitte daha fazla kötüleşmeye neden olabilir (66,67,68).

Medulla spinalise darbe olduğu ilk anda nöronlarda akut yaralanma birincil hasar olarak adlandırılmakta ve birincil hasarın tetiklediği birçok mekanizmayla akut nörolojik yaralanma ise ikincil hasar olarak tarif edilmektedir (39).

Akut omurilik yaralanmasının tedavisine adanan ara tırma çabaları, ça da yakla ıma de erli katkılarda bulunmaktadır ancak kalıcı ve anlamlı derecede etkili ve aynı zamanda evrensel bir tedavi protokolü geli tirilebilmi de ildir (2,6,7).

Travmaya maruz kalan hastalarda doku zedelenmesi, iskemi ve hemorajiye kar ı akut fizyolojik bir yanıt olarak, genellikle ilk saatlerden itibaren inflamatuvar olaylar ortaya çıkar. Sitokinler ve di er endojen mediatörlerin sentezini ve karma ık bir etkile imini içeren olaylar zinciri do al iyile me sürecini sa lamaya yöneliktir. nflamatuvar yanıtın a ır ı olması organizma aleyhine olup, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve multipl organ disfonksiyonu sendromu ile sonuçlanabilir.

Travmaya sekonder ortaya çıkan inflamatuvar yanıtta primer rolü IL -1, IL-6 ve TNF alfa rol oyar (63).

Akut inflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki vasküler yanıttır. Yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arterioler vazodilatasyon olu ur. Bu da kapiller yata a daha fazla kan gelerek konjesyona ve takiben vasküler permeabilit ede artı a sebep olur. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) lezyon bölgesini birkaç saat içinde infiltre etmesiyle ba lar ve travmanın ilk gününde en yüksek seviyeye ula ır.

Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çe itli uyarılara kar ı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranı ını etkilerler. Sitokinler immün ve inflamatuvar cevabın etkin mekanizmalarının ço una katılırlar.

IL-1 beta, IL-6 gibi sitokinler, proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar de i ikliklerin olu masında, patojenin eliminasyonunu sa layan hızlı ba ı ıklık yanıtının ortaya çıkmasında rol alırlar. IL-6, akut faz cevabın asıl olu turucusudur ve IL-1 ve TNF ile ortak olarak, IL-6; ate i olu turan bir endojen pirojen olarak önemli rol oynar. Gram negatif bakteriyel infeksiyon ve inflamatuvar reaksiyonlardan sonra sirkülasyondaki seviyeleri artmı bulunmu tur.

nterlökin-10 insan immün yanıtında bulunan en önemli antiinflamatuvar sitokindir. IL-10 antiinflamatuvar etkisini IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, interferon gama, IL-6 ve prostaglandin metabolitleri gibi inflamasyon mediatörlerini inhibe ederek gösterir (63).

Ba 1 ıklık sistemi ve santral sinir sistemi arasında hormonlar, peptidler ve nörotransmitterler aracılı ı ile do rudan bir etkile im vardır. Ba 1 ıklık sistemiyle ili kili hastalıklara ruhsal stresin ve major depresyonun etkileri birçok çalı mada ara tırılmı tır. Bu alı malardaki ortak görü stres ve depresyonun ba 1 ıklık sistemi üzerine olumsuz etki gösterdi i yönündedir. Ba 1 ıklık sisteminde ortaya çıkan de i ikliklerin stresin akut ya da kronik olu una göre farklılık gösterebilece i bildirilmektedir (69). Ruhsal stresin sitokin salınımını etkiledi i, travma ve enfeksiyonun y anı sıra ruhsal stresin sitokin salınımını etkiledi i bilinmektedir. Weiss ve arkadaş ları, stres modeli olu turdukları farelerde lenfositlerden in vitro IL-2 ve IL-6 yapımının stres altında olmayan farelerden oldukça fazla oldu unu bulmu lardır (70).

Sitokinlerin merkezi ve periferik uygulanması ate , uyku, yeme davran ı , hareket ve duygu durum üstüne etki eder. Ba 1 ıklık sisteminin etkinle mesi ve interlökin-1, interlökin-6, tümör nekroz faktör-alfa gibi proinflamatuvar sitokinlerin a rı salınması ile depresyonun etyolojisi arasında nedensel bir ili ki oldu una ili kin kanıtlar gittikçe artmaktadır. Deneysel alı malarda, stresi izleyen ba 1 ıklık sistemi baskılanmasının depresyondakine benzer oldu u dikkat çekmektedir. Stres ve depresyon lökosit ve nötrofil miktarında artı la ve lenfosit miktarında azalmaya neden olur. İnsan alı malarında, uzay yolculu u yapanlarda lenfosit proliferasyonu baskılanmakta ve lökosit ve nötrofilleri artırmakta iken, acı çeken, yakınlarını kaybeden veya bo anan ki ilerde (kronik travmatik ya antılar) hücresele ba 1 ıklık i levlerinde azalma gösterilmi tir (71). Depresif hastalarla yapılan ara tırmalar ba 1 ıklık sisteminin depresyondaki rolüne ili kin yeni kanıtlar sa lamı tır. Bu alı malarda, proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-6 ve TNF-alfa) ve ba 1 ıklık hücrelerinin etkinliklerinin göstergesi olan akut faz reaktanlarının arttı ı, bununla birlikte di er ba 1 ıklık sistemi i levlerinde de de i iklikler oldu u bildirilmektedir (71).

B ve T lenfositleri, endotel hücreler, mesangial hücreler, fibroblastlar ve epitelyel hücreler tarafından yapılır. Yapılan alı malarda böbrek kesitlerinde mesangial ve epitelyel hücrelerde yaygın olarak IL-6 m RNA bulundu u tesbit edilmektedir. Glukokortikoidler IL-6 yapımını bloke ederler. Horii ve arkadaş ları IL-6'ya kar ı olu turulmu monoklonal antikorlar kullanarak Proliferatif glomerulonefrit mesangial hücreler içinde IL-6 bulundu unu fakat Membranöz glomerulonefrit ve Minimal de i iklik hastalı nda ise bulunmadı nı göstermi lerdir (72). IL-1 membranöz

glomerulonefrit, IgA nefropatisi ve Lupus modellerinde, Rapidly Progressif glomerulonefritte böbrekte tesbit edilmiştir. IL-1 ve TNF'nin verilmesi ile Lupus ve IgA nefropatisinde renal zedelenmeyi arttırdığı anlaşılmıştır. IL-1 endotel hücreleri aktive eder, T ve B hücrelerini stimüle ederek birçok başka interleokinlerin salınmasına neden olur. Mesangioproliferatif glomerulonefrit ve Rapidly Progressif glomerulonefritte, fokal ve segmental glomerulonefritte, lupus nefritinde IL-1'in rolü oldukça fazladır. Glomerüllerde oldukça fazla sayıda bulunan makrofajlar IL-1'in esas kaynağıdır. IL-1 yapımı deneysel ve insanlardaki glomerulonefritlerin erken safhasında böbrekte artmış miktarda tespit edilmiştir (72).

Akut myelositer lösemi, erken hematopoetik hücrelerde bir dizi genetik defektler sonucunda normal hematopoetik büyüme ve farklılaşmanın bozulup, kemik iliği ve periferik kanda çok sayıda anormal immatür myeloid hücrenin birikimi ile karakterize olan bir hastalıktır. Blastik hücrelerin bölünme ve proliferasyon özellikleri devam ederken, matür hücrelere farklılaşma kapasitelerinde kayıp söz konusu olmaktadır. Akut myelositer lösemi gelişiminde genetik defektlerin (tümör süpresör gen kaybı, onkogen mutasyonu gibi) yanı sıra hematopoetik sitokinlerin de spesifik hücre yüzey reseptörleri yoluyla lösemilerde hücre farklılaşmasının düzenlenmesinde, prognozunda ve patobiyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (73).

Sitokinler, hematopoetik sistemin de içinde bulunduğu, hedef hücrelerin aktivitelerini düzenleyen veya düzenleyen protein ve/veya glikoprotein yapıları immünomodülatörlerdir. Hedef hücrelerdeki kendilerine ait spesifik ligandlara bağlanarak etki ederler. Bağlanma ile başlayan sinyal transdüksiyonu ve ikinci haberci iletimi, gen aktivasyonu, mitotik bölünme, büyüme ve farklılaşma, migrasyon veya apoptoza neden olur. Çalınmalar polimorfik yapıların hematolojik malignitelerin sonuçlarını ve mortalite oranlarını etkilediğini göstermiştir. In vitro çalınmalar mitojenle stimüle edilen immün sistem hücrelerinin sitokin üretimlerinde bireysel farklılıklar olduğunu göstermiştir (74).

Kanserle bağışıklık sistemi ve dolayısıyla sitokinler arasında son derece karmaşık ve çok faktörlü bir ilişki söz konusudur. Çoğu kanserli hastada zayıf ve güçsüz bağışıklık yanıtı olmaktadır ve kanserli hücrelerin temizlenmesine yeterli olmamaktadır. Kanser immunoterapisini anlamak için öncelikle kanser ve bağışıklık

sistemi arasındaki karılıklı etkilemler güncel bilgiler ışığında tartışılmı , ardından tedavi yaklaşımları irdelenmiştir. Metastatik böbrek hücreli karsinom ve malign melanomda yüksek bazal IL-6 düzeyinin immunoterapiye yanıtla ters korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (75).

Yapılan bir çalışmada adezyon molekülleri ile proinflamatuvar ve immünomodülatuar sitokinler (IL-1, IL-2, IL-4, IL-10, TNF-alfa ve IFN-gama) de iki dönemlerdeki Multipl Skleroz lezyonlarında ve Multipl Skleroz dışı nörolojik hastalıklarda (inflamatuvar ve non-inflamatuvar) araştırılmıştır. Sonuçta; non-inflamatuvar hastalıklar da dahil tüm nörolojik hastalıklarda, incelenen moleküller pozitif bulunmuştur. Non-inflamatuvar hastalıklarla karşılaştırıldığında zaman, Multipl Sklerozda sadece IL-4, IL-1 beta ve TNF-alfa'nın istatistiki olarak anlamlı bir yükselme gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada Multipl Skleroz için spesifik olabilecek bir sitokin ekspresyon paterni saptanamadığı gösterilmiştir. Sitokinler inflamatuvar sürecin erken dönemlerinde endotel hücre aktivasyonuna yol açabilirler. Özellikle, TNF-alfa'nın endotel hücreleri üzerindeki etkisi kan-beyin bariyeri geçirgenliğini artırır ve bu da aktive T hücrelerinin periferik kandan Santral sinir sistemine geçişini mümkün kılar (muhtemelen Multipl Skleroz relapsları sırasında). İlk T hücre cevabı santral sinir sistemi içinde de lokal olarak oluşabilir. Sonrasında, TNF-alfa; IFN-gama ve IL-1 beta ile sinerjik bir aktivite göstererek, monosit-makrofaj toksisitesine yol açar. Negatif sonuçlar da bildirilmiş olmasına rağmen, genellikle elde edilen veriler sitokinlerin Multipl Sklerozda hastalık aktivitesini belirlemek ve terapötik yaklaşımları yönlendirmek açısından önemli olduğunu göstermektedir (76,77).

IL-1 beta ve TNF-alfa tüberkülozda M.tüberkülozise karşı konak cevabında rol alan proinflamatuvar sitokinlerdendir. IL-1 beta ve TNF-alfa monosit, makrofaj ve dendritik hücreler tarafından salgılanırlar. Tüberküloz hastalarında IL-1 beta fazla miktarda salgınır. IL-1 beta ve IL-1 alfa yapamayan farelerde mikobakteriler aırı miktarda ürer ve ayrıca granülom oluşumu defektlidir. IL-6'nın tüberkülozda proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin özellikleri vardır. Enfeksiyon yerinde mikobakteriyel enfeksiyonun erken devrinde oluşur. IL-6 mikobakteriyel enfeksiyonlarda zararlı olabilir; çünkü TNF-alfa ve IL-1 beta salgınımını inhibe eder ve Mikobakterium avium'un in vitro üremesini artırır. Bazı diğer raporlar IL-6'nın

koruyuculu una i aret eder. IL-6 eksikli i olan farelerin mikobakteri infeksiyonlarına kar ı artmı duyarlılık gösterdikleri yapılan çalı malarda gös terilm i tir (78,79).

Perinatal enfeksiyonda en sık gösterilen IL-6 yüksekli idir. Özdemir ve arkadaş ları 10 sa lıklı yenido an, 10 sa lıklı eri kine oranla 10 septik yenido anda IL -1 beta, IL-6 ve TNF-alfa gibi proinflamatuvar sitokinlerin arttı mı gösterm i lerdir (80).

Kantar ve arkadaş ları septik prematürlerde sa lıklı yenido anlardan yüksek ve tedavi ertesine normale dönen IL-6 yüksekli ini saptamı lardır (81).

Gebeli in 19-20.günlerinde E.coli lipopolisakkaritleri verilen sıçanların yenido an yavrularında beyinde IL-6, IL-1 beta, TNF-alfa sitokin yanıtının arttı ı ve bunun da hipertermi, hipotansiyon, serebral kan akımı azalması, iskemi ve asidoz yoluyla serebral zedelenmeye yol açtı ı bulunmu tur (82).

Beyindeki birçok hücre (mikroglia, astrosit, endotel hücresi, nöronlar) sitokin sekrete edebilir. Kan-beyin engelini geçen sitokin sentez ve sekresyon yetenekleri olan periferik kökenli mononükleer fagositler, T-lenfositler, NK hücreler ve polimorfonükleer hücreler beyin inflamasyon ve gliozisine katkıda bulunabilir (83,84). Enfeksiyon ve hipoksinin olu turdu u sitokin yanıtı beyindeki zedelenmede belirleyici olmaktadır. Sitokinler, NO, serbest oksijen radikalleri, di er ajanlar nöronal ve glial geli meyi etkileyebilir. IL-6 ve TNF nın kuvvetli prokoagülan, trombojenik ve vazokonstriktör etkileri ile eri kinlerde enfarktüs ve inme (stroke) nedeni oldukları bilinmektedir. Sitokin kaynaklı hipotansiyon da beyin zedelenmesinde etkili olabilir . nterlökin-1 dü ük konsantrasyonlarda nöroprotektif, a ırı üretildi inde nörodejenerasyonda etkili olarak ikili etki yapabilece i belirtilmi tir. Beyin zedelenmesinden sorumlu oldu unu dü ündü ümüz sitokinlerin zedelenmi dokuda bulunmalarının tamir mekanizmasında yer almaları ile açıklanması bugün için eldeki verilerle açıklanamayan bir konudur (85,86).

Bir çok çalı mada sitokinlerin santral sinir sistem travmaları sonrası ve iskemi, Multipl Scleroz, Alzheimer hastalı ı vb. gibi birçok Santral sinir sistemi hastalıklarında arttı ı gösterilm i tir. IL-1 beta, IL-6, TNF alfa gibi sitokinlerin travma sonrası anlamlı düzeyde arttı ı ve bunda travmaya sekonder ortaya çıkan tabloyu a ırla tırdı ı, ate , ok, ödem, dissemine intravasküler koagülasyon, duygu -durum bozuklukları, depresyona yol açabilece i bilinmektedir.

Zhu Tao ve arkadaşları Fluid percussion travma modeli ile kafa travması uyguladıkları ratlar ile yaptıkları çalışmada travmadan 8 saat sonra travmaya maruz kalan ratların kortekslerinde kontrol grubuna göre sitokin düzeylerinin anlamlı derecede arttığını ve kortekste bakılan sitokin düzeyleri ile korele olarak ratların kanlarında da sitokin düzeylerinin arttığını göstermişlerdir (87).

Bizim çalışmamızda; Rivlin ve Tator tarafından 1978 yılında geliştirilmiş olan klip kompresyon modeli kullanılmıştır. Ratlara laminektomi yapıldıktan sonra 1 dakika süreyle Sugita anevrizma klipi ile travma uygulandı. Travma sonrası 1. ve 6. saatte omurilik dokuları ve serumları alınarak IL-6 ve IL-1 beta düzeylerine bakıldı. Tedavi grubunda ise laminektomi sonrası ratlara 1 dakika süreyle Sugita anevrizma klipi ile travma uygulandıktan 30 dakika sonra 5 mikrogram dozda IL-10 intraperitoneal olarak uygulandı. Tedavi sonrası 1. ve 6. saatlerde omurilik dokuları ve serumları alınarak IL-6 ve IL-1 beta düzeylerine bakıldı.

Kontrol grubu (Laminektomi uygulanan grup) (G1) ile travma sonrası 1. saat (G2) grubu ratların omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein, IL-6/protein düzeyleri ve serumlarında bakılan IL-1 beta/protein, IL-6/protein düzeyleri karşılaştırıldığında travma sonrası 1. saatte istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmadı. Bu nedenle travmanın 1. saatinde IL-1 beta ve IL-6 düzeylerinin anlamlı olmadığını düşünülür.

Kontrol grubu (Laminektomi uygulanan grup) (G1) ile travma sonrası 6. saat (G4) grubu ratların omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein, IL-6/protein düzeyleri ve serumlarında bakılan IL-1 beta/protein, IL-6/protein düzeyleri karşılaştırıldığında travma sonrası 6. saatte omurilik dokusundaki IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0.013$).

Travma sonrası 1. saatte (G2) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein, IL-6/protein düzeyleri ile travma sonrası 6. saatte (G4) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein, IL-6/protein düzeyleri karşılaştırıldığında IL-6'nın travma sonrası 6. saatte 1. saate göre anlamlı düzeyde artış görüldü ($p=0.002$). Ligun Yang ve arkadaşlarının orta ve iddetli spinal kord travmasına maruz bırakılan ratlar ile yaptıkları çalışmada sitokin düzeylerinin özellikle IL-1, IL-6 ve TNF alfa mRNA'nın anlamlı olarak arttığını, travma sonrası 6. saatte pik yaptıkları gösterilmiş (88,89). Bizim

çalı mamızda travma sonrası 1. saatteki interlökin düzeylerinde anlamlı bir de i iklik görülmezken, travma sonrası 6. saatteki interlökin düzeylerinde (özellikle IL -6 düzeyinde) anlamlı bir artı saptandı.

Travma sonrası 1. saatte (G2) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein, IL-6/protein düzeyleri ile tedavinin 6. saatinde (G5) omurilik dokularında bakılan IL-1 beta/protein, IL-6/protein düzeyleri kar ıla tırıldı ında tedavinin 6. saatinde IL-6 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir dü me görüldü (p=0.004). IL-10, spinal kord travması sonrası ortaya çıkan sistemik inflamatuvar yanıtta potent bir rol oynadı ı ve ortaya çıkan inflamasyonu sınırlayarak klinik ve nörolojik düzelmeye neden oldu u in vivo çalı malarda gösterilmi tir (90,91).

Sonuç olarak bizim çalı mamız , omurilik travması sonrası omurilik dokusunda proinflamatuvar interlökinlerin (özellikle IL -6) zaman ba ımlı olarak yükseldi ini ve antiinflamatuvar özelli i olan IL-10'un IL-1 beta ve IL-6 düzeylerini anlamlı düzeyde dü ürdü ünü ortaya koymaktadır.

Daha uzun süreli deneysel çalı malar yapılarak interlökinlerin omurilik travması üzerine olan etkileri ve tedavideki yeri incelenebilir.

6. ÖZET

Amaç

Çalı mamızda, bir antiinflamatuvar sitokin olan interlökin-10'un, interlökin 1-beta ve interlökin-6 üzerine olan etkilerinin gösterilmesi amaçlanmı tır.

Materyal ve Metod

Bu çalı mada a ırlıkları 250-320 gram olan 50 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Çalı ma 5 ana grup olarak planlandı. Her bir grupta 10 adet rat kullanıldı. 1.grup ratlara sadece laminektomi yapıldı. 2. grup ratlara travma uygulandı ve travma sonrası 1. saatte sakrifiye edilerek omurilik dokuları ve kanları alındı. 3. grup ratlara travma uygulandıktan 30 dakika sonra tedavi (IL-10, 5 µg) verildi ve tedavi sonrası 1. saatte sakrifiye edilerek omurilik dokuları ve kanları alındı. 4. grup ratlara travma uygulandı ve travma sonrası 6. saatte sakrifiye edilerek omurilik dokuları ve kanları alındı. 5. grup ratlara travma uygulandıktan 30 dakika sonra tedavi (IL-10, 5 µg) verildi ve tedavi sonrası 6. saatte omurilik dokusu ve kanları alındı. Daha sonra serum ve omurilik dokularında Elisa kiti ile IL-1 beta ve IL-6 de erleri çalı ıldı.

Bulgular

Travmanın 1. saatinde (G2) ve tedavi sonrası 1. saatte (G3) serum ve omurilik dokularında bakılan interlökin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmadı. Travma sonrası 6. saatte (G4) omurilik dokularında bakılan nterlökin düzeylerinde (özellikle IL-6) kontrol grubuna (G1) göre anlamlı artı elde edildi ($p=0.013$). IL-10 verildikten sonra 6. saatte (G5) bakılan interlökin-6 düzeylerinde travma (G2) grubuna göre anlamlı dü ü görüldü ($p=0.004$). Alınan serum örneklerinde ise interlökin düzeylerinde anlamlı bir de i iklik tespit edilmedi.

Sonuç

Sonuç olarak çalı mamız, omurilik travması sonrası verilen IL-10'un, daha çok IL-6 üzerine olmakla birlikte hem IL-1 beta hem de IL-6 üzerine dü ürücü etkisi oldu unu ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Omurilik travması, inflamasyon, interlökin

7. SUMMARY

Aim

In our study it was aimed to show the effects of interleukin 1-beta and interleukin-6 on interleukin-10 which is an antiinflammation cytokine.

Materials and Method

In this study 250-320 grams weight of 50 Wistar Albino type male rats were used. The study was planned as five groups. In each group 10 rats were used. On the first group only laminectomy was performed. On the second group, spinal cord traumatization was performed and they were sacrificed after the first hour of trauma, and spinal cord tissues and blood samples were collected. On the third group, rats were treated with the IL-10 (5 µg) after 30 minutes of the trauma, and they were sacrificed after the first hour of the treatment, spinal cord tissues and blood samples were collected. On the fourth group, spinal cord traumatization was performed and they were sacrificed after the sixth hours of trauma, and spinal cord tissues and blood samples were collected. On the fifth group, rats were treated with the IL-10 (5 µg) after 30 minutes of the trauma, and they were sacrificed after the sixth hours of the treatment, spinal cord tissues and blood samples were collected. IL-1 beta and IL-6 were studied in the samples of the serums and spinal cord tissues with Elisa kit.

Results

Any difference in IL levels were detected statistically in the serum samples and spinal cord tissues at the first hour of the trauma (G2) and after the first hour of the treatment (G3). Especially IL-6 was found to be increased at the sixth hour after trauma (G4) compared to control group (G1) on spinal cord tissues ($p=0.013$). At the sixth hours of the treatment (G5), IL-6 levels were decreased in the group of treated with IL-10 compared to trauma group (G2) ($p=0.004$). But any difference in IL levels were detected in the serum samples of the groups.

Conclusion

In this study we found that IL-10 treatment after spinal cord trauma has a decreasing effect on the levels of IL-1 beta and especially an IL-6.

Key words: Spinal cord trauma, inflammation, interleukin

8. KAYNAKLAR

1. Kraus JF incidence of traumatic spinal cord lesions. J Chronic Dis 28:471-492, 1975)
2. Dumont AS, Dumont RJ, Oskouian R: Will improved understanding of the pathophysiological mechanisms involved in acute spinal cord injury improve the potential for therapeutic intervention? Current Opinion in Neurology 2002; 15:713-720)
3. Legos JJ, Gopez JJ, Young WF: Non-surgical management of spinal cord injury. Expert Opin. Invest. Drugs. 2002; 11(4):469-482
4. Kraus J, Franti CE, Riggins RS: incidence of traumatic spinal cord lesions. J Chronic Dis. 1975; 28:471-492
5. Gutierrez PA, Young RR, Vulpe M: Spinal cord injury. An overview. Urol. Clin. North Am. 1993; 20(3):373-382
6. Swab ME: Repairing the injured spinal cord. Science 2002; 295:1029-1031
7. Fehlings MG: Summary statement: the use of methylprednisolone in acute spinal cord injury. Spine 2001; 26:S55)
8. Simpson RK, Hsu CY, Dimitrijevic MR: The experimental basis for early pharmacological intervention in spinal cord injury. Paraplegia 1991; 29:364-372
9. Tator CH, Fehlings MG: Review of secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms J Neurosurg 1991; 75:15-26
10. Brodkey JS, Richards DE, Johnson DO, et al: Reversible spinal cord trauma in cats. Additive effects of direct pressure and ischemia. J Neurosurg 1972; 37:591-593
11. Collins WF: A review and update of experimental and clinical studies of spinal cord injury. Paraplegia 1983; 21:204-219
12. Sandler AN, Tator CH: Effect of acute spinal cord compression injury on regional spinal cord blood flow in primates. J Neurosurg 1976; 45:670-676
13. Sandler AN, Tator CH: Review of the effect of spinal cord trauma on the vessels and blood flow in the spinal cord. J Neurosurg 1976; 46:638-646)
14. Allen AR: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. A preliminary report. JAMA; 57:878-880
15. Allen AR: Remarks on the histopathological changes in the spinal cord due to impact. An experimental study. J Nerv Dis 1914; 41:141-147
16. Anderson DK: Chemical and cellular mediators in spinal cord injury. J. Neurotrauma 1992; 9(2):143-145
17. Anderson DK, Hall ED: Pathophysiology of spinal cord trauma. Ann. Emerg. Med. 1993; 22(6):987-992

18. Fehlings MG: Role of sodium in the pathophysiology of secondary spinal cord injury. *Spine* 1995; 20(20):2187-2191
19. Tator CH: Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol.* 1995; 5(4):407-413
20. Janssen L, Hansebout RR: Pathogenesis of spinal cord injury and newer treatments. *Spine* 1989; 14:23-32
21. Barut , Canbolat A, Bilge T, Aydın Y, Çokne eli B, Kaya U: Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury: time-level relationship. *Neurosurgery Rev.* 1993; 16:53-59
22. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ: Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology* 2001; 24(5):265-279
23. Kubly J. *Immunology.* 1992 W.H.Freeman and Company 245)
24. Bidwell J, Keen L, Gallagher G. et al. Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes and Immunity* 1: 3-19, 1999.
25. Warzocha K, Ribeiro P, Bienvenu J. et al. Genetic polymorphisms in the tumor necrosis factor locus influence non-Hodgkin's lymphoma outcome. *Blood* 91: 3574-3581, 1998.
26. Beutler B, Cerami A. The Biology of cachectin/TNF- α : primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol* 7: 625-655, 1998.
27. Clemens, M.J. *Cytokines*, Oxford, 1991 Bios Scientific Publishers Ltd., 57-75.
28. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J: Acute spinal cord injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. *Clin. Neuropharmacology* 2001; 24(5):254-264
29. Xarchas K, Bourandas J: Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* 2003; 28(13):1481-1484
30. Hughes JT: The Edwin Smith Surgical Papyrus: An analysis of the first case reports of spinal cord injuries. *Paraplegia* 1988; 26:71-82
31. Elsberg CA: The Edwin Smith Surgical Papyrus and diagnostic treatment of injuries to the skull and spine. *Ann Med. Hist.* 1931; 3:271-279).
32. Marketos SG, Skiadas P: Hippocrates. *Spine* 1999; 24:1381-1391).
33. Sonntag VKH: History of degenerative and traumatic disease of the spine. In a history of neurosurgery. Greenblatt SH. American Association of Neurological Surgeons 1997 pp355-357
34. Ohry A, Ohry KK: Spinal cord injuries in the 19th century. Churchill Livingstone, Edinburgh 1989; pp9-35
35. Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W: Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine* 2002; 27(14):1504-1510
36. Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 44 (5)1027-1040

37. Tator CH in. Wilkins RH, Rengachary SS (ed): Neurosurgery. McGraw-Hill, 2 nd edition 1996; pp2847-2859)
38. Tator CH: Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. Neurochirurgie 1991; 37:291 -302
39. Young W: Secondary injury mechanisms in acute spinal cord injury. J Emerg Med. 1993; 11:13-22
40. plikçio lu C. Omurilik yaralanmalarının fizyopatolojisi. Zileli M, Özer F. (ed). Omurilik ve omurga cerrahi si. zmir Saray yayınevi, 459-465,1997.
41. Hancı M. Vertebromedüller yaralanmanın Tarihçesi. In. Hancı M, Aydıngöz Ö, ed. Medulla spinalis yaralanmaları. stanbul: Logos tıp yayıncılı ı. 1-4 2000.
42. Dohrmann GJ, Wagner FC, Bucy PC: The microvasculature in trans istory traumatic paraplegia: An electron microscopic study in the monkey. J Neurosurg 1971; 35:263-271
43. Shuman SL, Bresnahan JC, Battie MS: Apoptosis of microglia and oligodendrocytes after experimental spinal cord contusion in rats. J Neurosci Res 1997; 50 :798-808
44. Schwab ME, Bartholdi D: Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. Physiol Rev. 1996; 76:319 -370
45. saksson J, Farooque M, Olsson Y: Spinal cord injury in ICAM -1 deficient mice: assessment of functional and histopathological outcome. J Neurotrauma 2000; 17:333-344
46. Bethea JR, Castro M, Keane RW: Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor kappa B activation. J Neurosci 1998; 18:3251 -3260
47. Öz B: Medulla spinalis yaralanmalarında patoloji. In Hancı M; Medulla spinalis yaralanmaları 2000 pp137-142
48. Ducker TB, Kindt GW, Kepme LG: Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. J Neurosurg. 1971; 35:700 -708
49. Fried L, Goodkin R: Microangiographic observations of the experimentally traumatized spinal cord. J.Nerosurg. 1971; 35:709-714
50. Anderson T: Spinal cord contusion injury: experimental dissociation of hemorrhagic necrosis and subacute loss of axonal conduction. J.Neurosurg. 1985;62:115 -119
51. Uzun Ö, Ünal S. Güncel bilgiler ı ı nda Enfeksiyon hastalıkları. Bilims el Tıp, Ankara 2002;821-834
52. Kubly, J. Immunology, 1992 W.H. Freeman and Company, 245.
53. Clemens, M.J., Cytokines, Oxford, 1991 Bios Scientific Publishers Ltd., 57 -75.
54. Bidwell J, Keen L, Gallagher G. et al. Cytokine gene polymorphism in human disease. Genes and Immunity 1: 3-19, 1999.
55. Beutler B, Cerami A. The Biology of cachectin/ TNF - primary mediator of the host response. Annu Rev Immunol 7: 625-655, 1998.

56. Abraham RT. Lymhokines and cytokines. Mayo medical school. Immunology course notes, 1992.
57. Balkwill FR, Burke F. The cytokines network. *Immunology Today* 1989, vol 10, no 9, 299-304
58. Woodröfe MN, Cuzner ML. Cytokine mRNA expression in inflammatory MS lesions, detection by non-radioactive in situ hybridization. *Cytokine*, 1993 Nov, 5(6), 583-588.
59. Licinio L, Kling M, Hauser P Cytokines and brain function: relevance of interferon - induced mood and cognitive changes. *Semin Oncol* 1998; 25:30 -38
60. Bethea JR, Chung IY, Sparacio SM, Gillespie GY, Beneveniste EN Interleukin -1s induction of tumor necrosis factor-alpha gene expression in human astroglioma cells. *J Neuroimmunol* 1992; 36:179-191
61. Tweardy D, Mott P, Glazer E Monokine modulation of human astroglial cell production of granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony stimulating factor, I: effects of IL-1 and IL-1s. *J Immunol* 1990; 144:2233-2241
62. Weiss JM, Sundar SK, Becker KJ, Cierpial MA Behavioral and neural influences on cellular immune responses: effects of stress and interleukin -1. *J Clin Psychiatry* 1989; 50:43-53
63. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. 2000,117:1162 -1172
64. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C: Cytokines: Basic and Clinical Immunology. Stites DP, Terr AI, Parslow TG (Eds). Appleton and Lange, Connecticut, California, Eight Edition, 1994 p:105 -123.
65. Burdin N, Peronne C, Banchereau J, Rousset F: Epstein -Barr virus transformation induces B lymphocytes to produce human IL -10. *J Exp Med.*177:295,1993
66. Tator CH. Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol* 5.407–413, 1995.
67. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with special emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 75.15 –26, 1991.
68. Young W. Secondary CNS injury. *J Neurotrauma* 5.219 –221, 1988.
69. Miller AH, Spancer RL, McEwen BS Depression adrenal steroids, and the immune system. *Ann Med* 1993;25:481 -487
70. Miller AH Neuroendocrine and immune system interaction in stress and depression. *Psychiatr Clin North Am* 1998;21:443 -463
71. Maes M Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 1995;19:11 -13
72. Ian W. Main and R. Atkins. The role of T-cells in inflammatory kidney disease. *Current Opinion in Nephro& Hyperten* 4:354 -357; 1995

73. Graf M, Hecht K, Reif S, et al. Expression and prognostic value of hemopoetic cytokine receptors in acute myeloid leukemia (AML): implications for future therapeutical strategies. *Eur J Haematol* 72:89-106, 2004.
74. Bidwell J, Keen L, Gallagher G. et al. Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes and Immunity* 1: 3-19, 1999.
75. Rosenberg SA. *Biologic Therapy of Cancer*. 3rd edition, Lippincot Williams&Wilkins, Philadelphia, 2000.
76. Cannella B, Raine CS. The adhesion molecule and cytokine profile of MS lesions. *Ann Neurol* 1995 Apr, 37, 424-435.
77. Carrieri PB. The role of cytokines in the pathogenesis of MS. *Int MS Journal* 1994, vol 1, no 2, 53-59.
78. Flad HD, Grage-Griebenow E, Petersen F, Scheuerer B, Brandt E, Baran J, Pryjma J, Ernst M. The role of cytokines in monocyte apoptosis. *Pathobiology* 1999;67:291 - 3
79. Kocaba A. Akci er tüberkülozu, Willke Topçu A, Söyletir G, Do anay M, (eds) *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 1, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002:538-91*
80. Özdemir A, Oygür N, Gültekin M, Co kun M, Ye in O. Neonatal TNF, IL -1 beta, IL-6 response to infection. *Am J Perinatol* 1994; 11: 282 -285.
81. Kantar M, Kültürsay N, Kütükçüler N, Akısü M, Çetingül N, Ça layan S. Plasma concentration of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-6 in septic and healthy preterms. *Eur J Pediatr* 2000; 159: 156-157.
82. Saliba H, Henrot A. Inflammatory mediators and neonatal brain damage. *Biol Neonate* 2001; 79: 224-227.
83. Saliba E, Rousset C, Potin J, et al. Inflammation, cytokines and perinatal brain injury. *Biol Neonate* 2002; 82: 291 -302.
84. Levene MI. Causes and prevention of perinatal brain injury. *Biol Neonate* 2002; 82: 271-302.
85. Eklind S, Mallard C, Leverin AL, et al. Bacterial endotoxin sensitizes the immature brain to hypoxic-ischemic injury. *Eur J Neurosci* 2001; 13: 1101 -1106.
86. Rothwell NJ, Strijbos PJ. Cytokines in neuro-degeneration and repair. *Int J Devl Neuroscience* 1995: 3:179-185.
87. Zhu t, Yao Z, Yuan HN, Lu BG et al. Changes of interleukin -1 beta, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in brain and plasma after brain injury in rat . *Chin J. Traumatol* 2004 feb.7(1):32-5
88. Ligun Yang, Nigel R. Jones et al. Severity -dependent expression of pro-inflammatory cytokines in traumatic spinal cord injury in the rat. *Journal of Clinical Neuroscience* 2005 276-284

89. J.R. Bethea, M. Castro, R. W. Keane, W. D. Dietrich and R. P. Yeziarski, Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor KAPPA-B activation. *J. Neurosci.* 18 (1998), pp. 3251–3260.
90. Bethea, J. R, M. Acosta, C. Briceno, F. Gomez, A. E. Marcillo, H. Nagashima, and, W. D. Dietrich, Systemically administered interleukin-10 (IL-10) attenuates injury-induced inflammation and is neuroprotective following traumatic spinal cord injury, *J. NeuroTrauma*, (in press).
91. Kori L. Brewer, John R. Bethea and Robert P. Yeziarski Neuroprotective Effects of Interleukin-10 Following Excitotoxic Spinal Cord Injury *Experimental Neurology* 159 484-493(1999)