

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**ERKEN OMURİLİK HASARI SONRASI PROGESTERONUN
İNFLAMATUAR SİTOKİNLER ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Berkant ŞAHİN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Aşkın GÖRGÜLÜ

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 1301-TU-06
proje numarası ile desteklenmiştir**

ISPARTA- 2007

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Aşkın Görgülü'ye, ihtisas sürem boyunca bana emeği geçen Doç. Dr. Kudret Türeyen, Yrd. Doç. Dr. Tamer Karaaslan, Yrd. Doç. Dr. Baki Albayrak, Yrd. Doç. Dr. Özgür İsmailoğlu'na,

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Biyokimya A.D.'dan Doç. Dr. Recep Sütçü ve Dr. Hicran Hiçyılmaz'a, Halk Sağlığı A.D.'dan Yrd. Doç. Dr. Ersin Uskun'a ve katkılarından dolayı SDÜ BAP yönetim birimine,

Deney aşamasındaki katkılarından dolayı eşim Günferah Şahin, E. Hilal Evcil, Fatma Coşar, Dr. İsmail Gülşen'e,

Mesai arkadaşlarım Dr. Gönül Aydın, Dr. Deniz Kara, Dr. Muhammed Borcak'a

Asistanlık sürem boyunca sabır ve destekleri için sevgili eşim ve kızıma ve bu günlere gelmemde bana karşı maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Berkant Şahin

SİMGE VE KISALTMALAR

AMPA	: Amino hidroksi metil izoksazola propionik asit
ATP	: Adenozin trifosfat
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
Ca	: Kalsiyum
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksi ribonükleik asit
EAA	: Eksitatör aminoasit
Fe	: Demir
GABA	: Gama amino bütirik asit
3 β-HSD	: 3 beta hidroksisteroid dehidrogenaz
ICAM-1	: İntersellüler adezyon molekül-1
IgM	: İmmun globulin M
IL-1 α	: İnterlökin 1 alfa
IL-1 β	: İnterlökin 1 beta
IL-1 ra	: İnterlökin 1 reseptör antagonisti
LTB4	: Lökotrien B4
MDA	: Malondialdehid
MHC-class 1	: Major histokompatibilite-sınıf 1
mRNA	: Messenger ribonükleik asit
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NMDA	: N metil D aspartat
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PMNL	: Polimorfo nötrofil lökosit
SF	: Serum fizyolojik
SIRS	: Sistemik inflamatuvar cevap sendromu
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
SİMGE VE KISALTMALAR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Omurilik Yaralanmasında Fiziopatoloji.....	6
2.2.1. Omurilik Yaralanmasında Primer Mekanizmalar	6
2.2.2. Omurilik Yaralanmasında Sekonder Mekanizmalar	7
2.2.3. Sekonder Hasar Mekanizmasının Patofizyolojisi	8
2.2.3.1. Sistemik Etkiler	8
2.2.3.2. Lokal Mikrovasküler Yaralanma	8
2.2.3.3. Elektrolit Bozuklukları.....	9
2.2.3.4. Biyokimyasal Değişiklikler.....	10
2.2.3.5. Nötrofil Kaynaklı Hücre Hasarı	14
2.2.3.6. Apoptoz.....	14
2.2.3.7. İnflamasyon.....	15
2.3. Sitokinler	17
2.3.1. İnterlökin-1 Beta (IL-1 beta).....	18
2.3.2. Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF-alfa)	20
2.4. Progesteron.....	23
3. MATERYAL VE METOD	26
3.1. Materyal	26
3.1.1. Deney Hayvanları ve Deney Planı	26
3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler.....	30
3.1.3. Doku Homojenizatının Hazırlanması.....	30
3.2. Metod	30
3.2.1. TNF alfa ve IL-1 Beta Tayini	30
3.2.2. İstatistiksel Analiz.....	31
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	36

6. ÖZET	42
7. SUMMARY	43
8. KAYNAKLAR	44

1. GİRİŞ

Medulla spinalis yaralanması, mortalitesi ve morbiditesi yönünden bireysel, sosyal ve ekonomik yaşama kötü etkileri olan bir durumdur. Tedavi ve bakım masrafları, işgücü ve gelir kayıpları açısından hastayı, ailesini ve ülke ekonomisini etkileyen ciddi bir sağlık problemidir (11). Hastaların %61'inin 16-30 yaşları arasında olması, problemin önemini daha da arttırmaktadır (10). Yılda yaklaşık 100.000 kişide 50 oranında gerçekleşen kazaların %3'ünde doğrudan medulla spinalis yaralanması ölüme neden olurken, %2'lik grupta ise multipl travmanın bir parçası olarak medulla spinalis yaralanması görülmektedir (15).

Spinal kord yaralanması Kuzey Amerika'da yılda yaklaşık 13.000 kişiyi etkilemekte ve yüksek oranlarda mortalite ve morbidite ile sonuçlanabilmektedir. Spinal kord yaralanmalı hastaların yaklaşık %50'sinde komplet spinal kord hasarı, %40'ında ise morbidite görülebilmektedir. Komplet hasarın %54'ü kuadripleji, %46'sı parapleji şeklindedir (10). Hayatta kalanların hastanede kalış süreleri ve rehabilitasyonları uzun süreli ve tekrarlayıcıdır. Tedavi sonrası hayat kalitesi, sosyal ve ekonomik hayata dönüş düşük sınırlardadır. Insurance Institute for Highway Safety'nin yaptığı araştırmalara göre, otomobil kazası ile ilişkili spinal kord yaralanması olan bir hastanın 1984 yılı itibariyle ülke ekonomisine olan yıllık maliyeti 400.000 A.B.D. dolarıdır (16). Son yüzyılda ulaşım araçlarının gelişimiyle kazaların artması, silah teknolojisinin gelişimiyle savaşların daha şiddetli olması spinal kord yaralanması insidansının artmasına sebep olmuştur. Ayrıca spor yaralanmaları, düşmeler, iş kazaları ve yaralanma bölgesinden hastaneye transport, mortalite ve morbiditede önemli rol oynamaktadır. Travmatik spinal kord yaralanmalarının en yaygın nedenleri sıklık sırasına göre; motorlu araç kazaları (yaklaşık %50), düşmeler, ateşli silahlar veya kesici-delici aletlerle oluşmuş penetran yaralanmalar ve spor kazalarıdır. En sık servikal bölge ve dorsolomber birleşim bölgesindeki spinal kord etkilenir (10,16).

İlkyardım yöntemlerinin gelişmesi, görüntüleme yöntemlerinin ilerlemesi, omurga cerrahisindeki gelişmeler spinal kord hasarı olan hastaların daha iyi prognoza sahip olmasını sağlamıştır. Ancak nörolojik iyileşmeyle ilgili ciddi gelişmeler sağlanamamıştır. Bu travmatik sürecin direkt veya primer hasarla birlikte

indirekt veya sekonder hasarla ilgili olduğunu düşündürmüŖ ve çalışmaların ikinci nedene yönelmesine neden olmuştur. Bu ilerleyici otodestrüktif mekanizmaların fizyopatolojisinde ödem formasyonu, vasküler değişiklikler, inflamatuvar reaksiyonlar, nöron plazma membranının lipid peroksidasyonu ve serbest radikal reaksiyonları ile destrüksiyon gibi birçok etken sorumlu tutulmuştur (17,18). İlk hasar, dakikalar içinde oluşan ve günler ya da haftalar süren bir moleküler ve hücrenel değişimler kaskadını tetikler. Hasarlı nöronların yaşamlarına devam etmeleri, aksonların uygun hedeflere uzanması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması rejenerasyonda asıl basamaklardır. Halen ağır spinal kord yaralanmasından sonra klinik olarak düzelme olmamasına rağmen, yapılan çeşitli hayvan deneylerinden olumlu sonuçlar alınmaya başlanmış olması çalışmaların artarak devam etmesi yönünde cesaretlendirici olmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Omurga ve medulla spinalis travmaları yüzyıllardır bilinen, tarihi bakış açısına göre bütünüyle farklı olarak ele alınabilen fakat hangi açıdan bakılırsa bakılsın trajik bir olaylar dizisidir. Gerçi son yıllarda olan gelişmeler ile olayın omurga komponenti çözümlenmiş gibi görünse de medulla spinalis komponenti hala çözümlenmeyi bekleyen önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Spinal kord yaralanmalarıyla ilgili bilinen ilk yazılı eser, beş bin yıl öncesi yazılmış olup 1930'da Breasted tarafından tercüme edilmiş olan Edwin Smith Papirüsü'dür (1, 2). İmhotep (MÖ 2686–2613) bu papirüsde sözü edilen ilk cerrahdır. İmhotep, omurga ile ilgili 48 kemiksel lezyonu anlatarak, ligaman hasarını, vertebral sublüksasyon ve dislokasyonu tanımlamış; üst ve alt servikal vertebra yaralanmalarında kuadrupleji ve parapleji olacağını belirtmiştir (2). Mevcut kayıtlar MÖ. 400 yıllarında Hipokrat'ın, bal, eşek sütü ve beyaz şaraptan oluşan yüksek hacimli sıvı tedavisi önerdiğini göstermektedir. Hipokrat kırık ve dislokasyonları redükte etmek için kendine özgü bir traksiyon cihazı imal etmiş ve paraplejiyi tarif etmiştir. MÖ 150 yıllarında Galen, gladyatörlerin resmi hekimi olduğu için birçok anatomik ve nörofizyolojik çalışma yapma fırsatı bulmuş ve spinal kordda uzunlamasına yapılan kesilerin fonksiyon değişikliği yapmazken, enine kesilerin fonksiyon kaybına neden olduğunu göstermiştir (3). 7. yüzyılda Aegina'lı Paulus omuriliğe bası yapan kırıkların tedavisinde ilk defa laminektomi yapan hekimidir (2). Eski Yunanda Celsus servikal bölge yaralanması geçiren hastaların, torakolomber bölge yaralanması geçirenlere göre daha hızla kaybedildiğini belirtmiş; Areatus ise spinal yaralanma ile paralizinin aynı tarafta ortaya çıktığını, Galen de deneysel olarak kesilen medulla segmentinin altında duyu ve hareket kaybının oluştuğunu saptamıştır (12).

Vertebral kolon ve spinal kord yaralanmaları tarih boyunca ilgi çekici bir konu olmakla birlikte, ilk fizyopatolojik çalışma ancak 1890 yılında Schamus tarafından yapılabilmıştır (4). Schamus, tahtalardan hazırladığı bir düzeneği kullanarak tavşanların sırtına travma uygulamış; travmadan sonra spinal kord içinde dejenerasyon ve kavitasyonların oluştuğunu gözlemiştir (4). 1897'de Lundberg

kobay kordunda kontüzyonu takiben anterolateral beyaz cevher dejenerasyonunun geliştiğini bildirmiştir (4). Traksiyon ile yapılan tedavilerde gelişmeler kaydedilmiş ve 1929'da Taylor servikal dislokasyon olgusunu suboksipital-submandibuler halter traksiyonu ve alçı ceketini ile tedavi etmiştir. 1933 yılında Crutchfield iskelet traksiyonunu, 1948'de de Vinke günümüzde de yaygın olarak kullanılan Gardner-Wells traksiyon cihazlarını geliştirmişlerdir (13).

19. yüzyılda spinal kord yaralanmasının mekanizmaları hakkında modern temeller atılmaya başlanmış ve takiben tedavi metodları geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu dönemde, insan spinal kord zedelenmelerini taklit eden deneysel akut spinal kord travma modelleri geliştirilmiştir. 1911 yılında Alfred Reginald Allen tarafından hala da en çok kullanılan modellerden birisi olan ağırlık düşürme metodu geliştirilmiştir (5). Bu model duramateri açılmamış spinal kord üzerine değişik ağırlıkların düşürülmesi ve takiben, ağırlıkların hemen uzaklaştırılmasını temel alan çarpma modeline dayanır. Allen köpeklerde torasik laminektomi yaptıktan sonra, hayvanların durasının yüzeyine dik açıyla bir tüp yerleştirmiş, bu tüp aracılığı ile spinal kordun üzerine farklı miktarlarda ağırlıklar düşürmüş, böylece farklı şiddette travmalar oluşturmuştur. Ağırlık düşürme modeli olarak bilinen bu modelde travmanın şiddeti; ağırlık ile yüksekliğin çarpımıdır. Şiddetin değeri ise gr-cm'dir. Allen, köpekte 345 gr-cm şiddetindeki travmanın orta şiddette yaralanmaya, 420 gr-cm'de spastik parapareziye, 450 gr-cm'nin de kalıcı paraplejiye yol açtığını tespit etmiştir (6). Bugüne kadar birçok araştırmacı tarafından kullanılan halen de yaygın olarak kullanılmakta olan bu modelin en büyük dezavantajı, posterior kord kompresyonu oluşturmasıdır; halbuki insanlarda anterior kord kompresyonu daha yaygındır. Buna karşın bu model, insanlardaki spinal kord yaralanmasının biyomekaniğini çok iyi taklit eder. Bu durum özellikle lezyonun gross histolojik görünümünde çok belirgindir (4,7-10). Allen'in ağırlık düşürme modelinden başka birçok deneysel spinal kord travma modeli tanımlanmıştır (11). Bunlardan en sıklıkla, travmatik yaralanma modelleri (özellikle akut kinetik kompresyon, akut statik kompresyon ve çarpma) kullanılmaktadır. Kinetik kompresyon 1 saniyeden daha kısa bir sürede, statik kompresyon ise 1 saniyeden daha uzun bir sürede gerçekleştirilen spinal kord kompresyonudur. Tamamen farklı bir model olan fotokimyasal modelde ise, spinal kord vasküler endotelinde fotokimyasal hasar

oluşturulur; buna bağlı olarak sırasıyla tromboz, iskemi ve vazojenik ödem meydana gelir. Bu modelin en önemli avantajı laminektomi gerektirmemesidir (10,11).

Rivlin ve Tator 1978 yılında klip kompresyon modelini geliştirmişlerdir (11). Laminektomi sonrası omuriliğin lateralinden konan anevrizma klipi belli bir süre omuriliği komprese eder. Önceden belirlenmiş şiddette yaralanma yaratabilir. Klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek değişik şiddetlerde yaralanma oluşturulabilir. Kompresyon çevresel olduğu için insanda olan travma tipine daha uygundur. Bunun yanında yalnız küçük hayvanlara uygulanabilir. Mekanik yaralanma yanında iskemiye de yol açar. Ağırlık düşürme ve balon kompresyon modeline göre daha güvenilir bir yöntemdir (14).

Deneysel Spinal Kord Yaralanma Modelleri (11)

A. Travmatik yaralanma

1. Akut kinetik kompresyon: Kaf, klip, balon kompresyon, vertebral dislokasyon, impaktör
2. Akut statik kompresyon: Ağırlık uygulama
3. Çarpma veya ağırlık düşürme
4. Akselerasyon-deselerasyon
5. Distraksiyon
6. Transseksiyon: Parsiyel veya komplet

B. Non travmatik yaralanma

1. İskemi: Aort oklüzyunu, selektif arteriyel veya venöz oklüzyon
2. Tümör kompresyonu: Ekstradural
3. Kimyasal veya fotokimyasal

2.2. Omurilik Yaralanmasında Fizyopatoloji

Son yıllarda medulla spinalis yaralanmasının fizyopatolojisini açıklamak amacıyla yapılan deneysel çalışmaların artması sonucu bu konudaki bilgilerde belirgin bir artış olmuştur. Bu çalışmalar sonucunda 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 (19).

2.2.1. Omurilik Yaralanmasında Primer Mekanizmalar

Birçok travma spinal kord yaralanmasına neden olabilir. Travma, omuriliğin kendisini veya etrafındaki vertebral kolonu etkileyebilir. Hasarın 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 deformeğe sekonder 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. Yaralanmanın yaygınlığı ayrıca kuvvet uygulanan düzeyde spinal kanalın göreceli boyutlarına da dayanmaktadır. Öyle ki, spinal kanalın genişliğinde herhangi bir mekanik strese bir tampon sağlayabilse de, dar kanallarda böyle bir rezerv yoktur. Konus medullarisle ilişkisine göre yaralanmanın anatomik yerleşimi de kısmen prognostik öneme sahip bir faktördür. Kauda ekuina yaralanmaları, omuriliğin kendisine göre daha iyi bir iyileşme prognozuna sahiptir, zira alt motor nöronlar travmaya daha dirençlidirler (20,21,22).

Primer yaralanmayı travmanın şiddeti ve oluş şekli belirler. Ancak bunların dışında daha birçok etkenin primer yaralanma üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (23). Tator ve arkadaşları torakal fraktürlerde %53 olan nörolojik hasar oranının, servikal fraktürlerde sadece %39-47 olduğunu; torakal bölge lezyonlarında %77.5 olan komplet hasar oranının ise, torakolomber bölge lezyonlarında %64.7, servikal

bölge lezyonlarında ise %60.4 olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumun, torakal bölgenin kan akımının zayıflığı kadar, aynı bölgede spinal kanalın dar oluşuyla da ilgili olduğu ileri sürülmektedir (24,25).

2.2.2. Omurilik Yaralanmasında Sekonder Mekanizmalar

Allen 1911'de, kısa süreli spinal kord travmasına maruz kalan hayvanlarda ilerleyici klinikle birlikte ilerleyici doku hasarı olduğunu bildirmiştir. Bu durumun açıklanması için çeşitli patofizyolojik mekanizmalar öne sürülerek ikincil hasar kavramı gelişmiştir. Spinal kord yaralanması sonrasında spinal kordda hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekroz ile kavite oluşumu ve infarkt ile sonlanan bir seri patolojik değişiklikler oluşur. Bu patolojik durum “santral hemorajik nekroz” olarak tanımlanır (5).

1978'de Nemecek, ışık mikroskopunda yaralanmış dokudaki intravasküler trombusları göstermiş ve bu ciddi nekrozu “otodestruksiyon” olarak tanımlamıştır (26).

Spinal kord yaralanmalarında sekonder hasar mekanizmaları birbiriyle ilişkili ve tetikleyen dört ana teoride toplanmıştır:

1. Serbest Oksijen Radikalleri Teorisi: İskemik dokuda fazla miktarda biriken radikaller ve onların ürünleri doku hasarının ilerlemesine neden olurlar.

2. Kalsiyum Teorisi: Serbest kalsiyum iyonlarının nörotransmitter kanallardan fazla miktarda geçişi 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, araşidonik asit modölatörleri, glutamat reseptör blokerleri, monoamin modölatörleri, kalsiyum kanal antagonistleri, nonsteroidal antiinflamatuvarlar, immüsupresifler, büyüme faktörleri, serotonin reseptör blokerleri ve sodyum kanal blokerleri bu amaçla kullanılmışlardır. Bunlar arasından sadece metilprednizolon klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır (27-31).

2.2.3. Sekonder Hasar Mekanizmasının Patofizyolojisi

2.2.3.1. Sistemik Etkiler

Spinal kord yaralanmasının şiddeti ve seviyesi, spinal kord kanlanmasını etkileyen lokal travmanın yanında, oluşan nörojenik şokun ağırlığıyla da yakın ilişkilidir. Nörojenik şok; sempatik tonus azalması, vagusun anormal kardiyak etkisi ve bradikardi gelişmesi sebebi ile ortaya çıkar. Servikal düzeydeki bir spinal kord yaralanması ciddi hipotansiyon ve bradikardi yapabilir. Periferik rezistans ve kardiyak output azalırken tüm hemodinamik dengeler bozulur (32).

2.2.3.2. Lokal Mikrovasküler Yaralanma

İnsan spinal kord yaralanmalarında ve deneysel modellerde, spinal kord hasarının en önemli sebeplerinden birisi posttravmatik iskemidir. Posttravmatik spinal kord iskemisi travma şiddeti ile lineer korelasyon göstermektedir. Oluşan patolojilerin hepsi, azalmış doku perfüzyonu ve enerji azalmasından kaynaklanmaktadır. Spinal kord yaralanmalarında en sık görülen bulgu özellikle gri cevher ve omuriliğin santralindeki hemorajidir (33,34). Mekanik darbenin ilk etkisi ile kapiller, venüller ve bazı arteriollerde yırtılmalar olur. Deneysel çalışmalarda anterior spinal arter ve anterior sulkal arterin akımının mekanik travma sonrasında da devam ettiği görülmüştür (35). Ancak omuriliğin santral kısmının kanlanmasının büyük kısmını sağlayan anterior sulkal arterlerde vazospazm oluştuğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (31,33). Yine angiografik çalışmalarda, büyük arteriol ve arterlerin de etkilenmediği gösterilmiştir (35,36). Mikrosirkülasyon bozukluğu sadece yaralanma bölgesinde kalmamakta, rostral ve kaudal olarak da ilerlemektedir. Mikrosirkülasyonun bozulmasına, direkt mekanik etkiye bağlı vazospazmın yanında glutamat, prostaglandinler, katekolaminler gibi travmaya sekonder salgılanan

biyokimyasal ajanlarla oluşan vazospazm da sebep olmaktadır (21). Yine kan ve kan ürünlerinin de direkt etki ile vazospazmı artırdığı bilinmektedir. Bu olay, kan yıkım ürünleri ile karşılaşan damar duvarındaki değişiklikler ile hemoglobinin yıkılarak methemoglobin oluşma sürecinde ortaya çıkan süperoksit radikallerine bağlanmıştır (37). İnvasküler tromboz ile vazospazm ve sonucunda oluşan iskemiden tromboksan-A₂ sorumlu bulunmuştur. Araştırmacılar, spinal kord yaralanması sonrası spinal kord kan akımı otoregülasyon mekanizmalarının bozulduğunu bildirmişlerdir. Normalde spinal kord kan akımı, sistemik kan basıncı değişikliklerinden etkilenmez. Otoregülasyonun bozulması spinal kord iskemisini artırır. Spinal kord yaralanması sonrası, otoregülasyon bozukluğu sebebi ile hiperemiler ve sekonder hemorajiler oluşabilir. Oluşan bu reperfüzyon, serbest radikal ve diğer toksik maddelerin oluşumunu artırarak, doku hasarını arttırabilmektedir (5).

2.2.3.3. Elektrolit Bozuklukları

Spinal kord yaralanmasının ardından hücre içi ve dışı kompartmanlar arasında ciddi elektrolit değişiklikleri olmaktadır. Kalsiyumun hücre içi artışı özellikle iskemi ve travmada daha fazla olmak üzere, tüm nöral yaralanmalarda başrol oynamaktadır. Hücre içi kalsiyum girişi merkezi sinir sisteminde “toksik hücre ölümünün son ortak yolu” olarak isimlendirilmektedir (38). Kalsiyum iyon konsantrasyonu ekstrasellüler aralıkta hücre içine göre 1000 kat daha fazladır. Spinal kord yaralanmasında, bu büyük gradient farkı ile hücre içine kalsiyum iyon girişi olur. Kalsiyumun travma sonrası hücre içine girişi 3 yolla olmaktadır:

- 1) Hasar görmüş olan hücre membranından,
- 2) Voltaja duyarlı kalsiyum kanallarından,
- 3) Glutamat ile aktive olan kalsiyum kanallarından.

Kalsiyumun hücre içine girmesi nörotoksisiteyi tetikler. Kalsiyum iyonları hücre içinde fosfolipazları, proteazları ve fosfatazları aktive ederek hücre hasarının ilerlemesine neden olur (38).

Hücre içine giren kalsiyum, proteinkinaz C enzimini aktive ederek nöroflaman ve mikrotübül parçalanmasına yol açar. Fosfolipaz C enzimini aktive

ederek hücre membranını oluşturan yağ asitlerini yıkar. Ayrıca yaralı mikrosirkülasyonda düz kas kasılmasına sebep olarak vazospazma ve dolayısıyla iskemiye neden olmaktadır (39). Benzer biçimde, araşidonik asit metabolizmasını başlatmakta ve siklooksijenaz yolunun diğer ürünleri olan serbest radikal üretimine de katkıda bulunmaktadır. Serbest radikallerin etkisiyle de araşidonik asit metabolizması, hücre yıkımını ve iskemiye arttıran prostanoid üretiminin artışıyla sonuçlanmaktadır (40).

Spinal kord yaralanmasından sonra meydana gelen miyelin hasarı ile miyelin kılıfı tarafından sarılmış olan hızlı potasyum kanallarının aktivitesi artar ve membran potansiyeli potasyum denge potansiyeline yaklaşır. Sonuçta aksonal ileti bloğu oluşur (41).

Beyaz cevher yaralanması sonucu oluşan anoksi, ATP ve membran depolarizasyonunun kaybına sebep olarak Na^+ kanallarından hücre içine Na^+ akışını sağlar. İntrasellüler Na^+ konsantrasyonundaki bu artış, membran depolarizasyonu ile birlikte olunca, $Na^+ - Ca^{+2}$ değiştiricinin ters çalışmasına sebep olur. Bu da hücre içine zararlı miktarda Ca^{+2} girişini sağlar (29).

2.2.3.4. Biyokimyasal Değişiklikler

Eksitotoksisite

Spinal kord yaralanmasıyla oluşan iskemi, eksitator aminoasitlerden (EAA) olan glutamat ve aspartatın artarak “eksitotoksisite” mekanizmasının aktive olmasına neden olur. Her iki aminoasit de spinal kord ve beyinde düzensiz dağılım gösterirler. Glutamat spinal kordda özellikle arka köklerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Glutamatın duyuşal iletimin sağlanmasında, ayrıca motor aktivite ve spinal reflekslerin düzenlenmesinde rol aldığı düşünölmektedir. Aspartatın da spinal kordda eksitator ara nöronlarda iletilici olması, motor ve spinal reflekslerin düzenlenmesinde rol alması olasıdır (42).

İskemi, adenoşin 5- fosfat azalmasına neden olarak, hücre homeostazını sağlayan Na-K ATPaz pompası benzeri enerji bağımlı mekanizmaların çalışmalarını engeller. Ekstrasellüler ve intraselüler alanlardaki iyonik kompozisyon değişiklikleri, membran polarizasyonunu değiştirerek, sinaptik keselerden EAA'ların salınmasına

neden olur. EAA salınımı, nöron ve glial hücrelerin enerji bağımlı olan geri-alım mekanizmasının da çalışmaması nedeniyle dengelenemez (42).

Yapılan çalışmalar EAA'in neden olduğu geç doku hasarında glutamat reseptörlerinin önemini vurgulamışlardır (43). Son yıllarda glutamat reseptörleri "iyonotropik" ve "metabotropik" olarak iki ana grupta toplanmaktadır.

İyonotropik reseptörler farmakolojik özelliklerine göre, N-metil-d-aspartat (NMDA), α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazola-propionik asit (AMPA) ve kainat reseptörleri olarak gruplara ayrılırlar. Metabotropik reseptörler ise guanozin-5-trifosfat-bağlayıcı proteinlerini ya da siklik nukleotid benzeri intraselüler sekonder mesajcılar bağlantısıyla transmembran proteinlerini etkileyen reseptörler olarak ayrılmaktadırlar. Kafa travmasında en güçlü eksitotoksik etki NMDA reseptörleri vasıtasıyla olurken, travmatik spinal kord yaralanmasında AMPA ve kainat gibi non-NMDA reseptörleri üzerinden olmaktadır (44). AMPA reseptörlerinin aktive olması ağırlıklı olarak sodyumun ve eşlik eden kalsiyumun hücre içine girişine neden olur. AMPA reseptörlerinin aktivasyonu elektrofizyolojik olarak, NMDA reseptörlerinin de aktivasyonunu sağlar. NMDA reseptörlerinin aktivasyonu hücre içi kalsiyum birikimi ile sonuçlanır. Glutamat eş zamanlı olarak metabotropik reseptörleri de etkileyerek, inozitol fosfolipidlerin metabolize olmasına sebep olur. Ayrıca hücre içi kalsiyum depolarının serbest kalmasına ve hücre duvarı, mitokondri ya da endoplazmik retikulum da bulunan kalsiyum pompalarının inaktivasyonuna da sebep olarak daha sonra glutamat düzeyleri normale dönse bile, hücre içi kalsiyum miktarı irreversibl olarak yükselir. Böylece hücre içi kalsiyum artışı, kalsiyum bağımlı-proteaz ve lipazların aktive olması ve hücre iskeletinin yıkımına ve hücre membranının bozulmasına neden olur (40,43,45).

Araşidonik Asit ve Metabolizması

Travmanın direkt etkisi ile ya da kalsiyumun anormal hareketi, membran fosfolipidlerinden, fosfolipaz aktivitesi ile araşidonik asit salınımını artırmakta; o da siklooksijenaz tarafından hızla metabolize edilerek, prostanoidler ve prostasiklin haline dönüştürülmektedir.

Prostaglandin A₂ güçlü bir vazokonstriktör maddedir. Tromboksan benzeri prostanoidler, trombositlerin endotele yapışmasını artırırken, intravasküler trombosit

agregasyonuna, mikrovasküler tromboembolilere ve vazokonstriksiyona neden olur. Prostatiklin ise tam tersi etki göstermektedir. Ancak yapımı siklooksijenaz yolunun ürünlerinden olan serbest radikaller tarafından selektif olarak engellenmektedir. Bu yüzden ortamda vazospazm ve iskemi daha da ilerleyebilmektedir.

Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu

Serbest radikal, dış yörüngesinde tek sayıda, yani serbest elektron bulunan atom ya da molekül anlamına gelmektedir (46). Bu tek elektron, çiftlenme eğiliminde olduğu için ileri derecede reaktiftir ve canlı hücrede bulunan tüm moleküllerle reaksiyona girebilir. İnsan vücudunda pekçok serbest radikalın varlığı gösterilmekle birlikte, en yaygın olanı oksijen kaynaklı serbest radikallerdir. Günümüzde, serbest oksijen radikalleri (SOR) yerine daha kapsamlı olarak, reaktif oksijen türevleri tanımı kullanılmaktadır.

Serbest radikaller protein yapılarla, nükleik asitler ve DNA'yla, hücrenin enerji kaynağı olan karbonhidratlarla reaksiyona girerek, orijinal yapıyı bozarlar. Poliansatüre membran lipidlerinin serbest radikallerle peroksidasyonu iskemik nöronal hasarın gelişmesinde önemli bir mekanizmadır. Sonuç, fonksiyonu kaybolmuş ve antijenitesi değişmiş hücre membranı ve hücre yapısındaki yıkımdır.

İskeminin ve reperfüzyonun serbest radikal oluşumundaki rolleri tam olarak açığa kavuşturulmamakla birlikte, iskemi sırasında artan hücre içi Ca^{+2} 'un fosfolipaz- A_2 enzimini aktive ettiği ve karboksijenaz ve lipojenazların etkisiyle prostaglandinler ve lökotrienler oluşurken ortaya çıkan SOR'nin oluşumunda major rol oynadıkları düşünülmektedir.

İskeminin neden olduğu hasarın önemli bir kısmının reperfüzyon sırasında, post-iskemik dönemde olduğu düşünülmektedir. Esas hasarın, hipoksi döneminde değil dokunun tekrar moleküler oksijenle karşılaştığı dönemde olduğu kabul edilmektedir (17,40). Reperfüzyona, doku pH'sının azalmasına neden olan laktat benzeri asit metabolitlerin neden olduğu öne sürülmüştür (17).

Lipid Peroksidasyon

Plazma membranındaki doymamış yağ asitleri, fosfolipidler, glikolipidler, gliserid ve steroller, okside olabilen aminoasit içeren transmembran proteinleri,

glukoz, mannitol ve deoksi-şekerler serbest radikal hasarına çok duyarlıdır. Reaksiyonlar içinde en önemlisi hidroksil radikalının membran lipidleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatmasıdır. Lipid peroksidasyon, poliansatüre lipidlerin oksidatif yıkımıdır (47). Bu yıkım, genişleyen bir zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Plazma membranı ve hücre içi organellerde lipid peroksidasyon hemen tüm serbest radikal kaynakları tarafından stimüle edilebilir ve ortamdaki demir ve bakır gibi transizyonel metallerin varlığında potansiyalize edilebilir. Bu reaksiyon tüm yeni oluşmuş kimyasal serbest radikaller tükeninceye kadar devam eder. Hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinin kaybı, lipid peroksit oluşumu, lipid preparasyonlar tarafından oksijen tüketimi peroksidasyonu gösterir. Membran yağ asitlerinin peroksidasyonundan sonra oluşan kısa zincirli yağ asitleri, membran permeabilitesini ve viskozitesini önemli ölçüde etkiler (47).

Reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest radikallerin nöronal hücre, plazma ve organel membranları, vasküler endotel hücre membranı ve myelinde başlattıkları lipid peroksidasyonudur. Radikal aracılı bir zincir reaksiyon mekanizması şeklinde gelişen lipid peroksidasyonu sırasında, doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerinde yeniden düzenlenme söz konusudur (48).

Lipid peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopması ile aldehid yapısında yıkım ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu sitotoksik metabolitler, malondialdehid (MDA) gibi alkaneller, 4 hidroksinonenal gibi hidroksi alkanellerdir. Malondialdehid sınıfından olan tiyobarbitürik asid ile reaksiyon veren maddeler, iskemi reperfüzyon olayında lipid peroksidasyonunun en duyarlı göstergelerindedir (49).

Lipid peroksidasyonu, ortamda doymamış yağ asitleri, oksijen ve metal katalizörler (Fe^{2+} , Cu^{+}) bulunduğu sürece logaritmik olarak artarken yeni serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon dönemi, lipid peroksidasyonu için gerekli koşulları sağlaması bakımından çok uygundur (48). Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı ve fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır.

2.2.3.5. Nötrofil Kaynaklı Hücre Hasarı

İskemik dokuda, serbest radikaller de dahil olmak üzere diğer bazı kemoatraktanların etkisi ile göç eden nötrofiller, bazı mekanizmalarla reperfüzyonda doku hasarının ilerlemesine yol açmaktadırlar.

Salgıladıkları proteazlar (elastaz, jeletinaz vb.) ile endotel hücre parçalanmasına neden olurlar.

Reperfüzyon döneminin en önemli mikrovasküler patolojisi olan kan akışının geri dönmemesi fenomenine (no reflow phenomen), aktive olmuş nötrofillerin yol açtığı ve nötrofillerin kapillerlerdeki agregasyonları ile kan akımının geri dönmesine engel olan kapiller tıkaçları oluşturduğu bildirilmiştir (50).

Salgıladıkları vazokonstrüktör ajanlar ve trombosit aktive edici faktör (PAF) ile daha büyük damarlarda da (arteriyol, prekapiller damarlar) daralmaya neden olmaktadır.

Bir araşidonik asid metaboliti olan lökotrien B4 (LTB4) salgılayarak, süperoksid anyon radikali üretimine ve nötrofillerin kemotaksisine neden olmaktadır. Böylece bir geri beslenme mekanizması ile toplanmış olan nötrofillerden salgılanan kemotaktik faktörler yeniden serbest radikal üretimine ve nötrofil infiltrasyonuna neden olmaktadır (4). Hartmann ve arkadaşları nötrofillerce üretilen süperoksid anyon radikalininin, eritrositlerin agregasyonunu da hızlandırdığını ve bu etkinin nötrofil agregasyonu ile birlikte kapiller tıkanmayı daha arttırıcı olabileceğini savunmuşlardır (51).

2.2.3.6. Apopitoz

Apopitoz terimi, terminolojiye ilk defa 1972'de Kerr tarafından girmiştir. Hücrelerin asla sebepsiz ve bilinmeyen bir yolla ölmediği, bir program dahilinde bu sürecin gerçekleştiği 1951'de Glücksman, 1974'te de Saunders tarafından öne sürülmüş ve araştırılmıştır. Lockshin 1974'te tüm bu süreci "programlanmış hücre ölümü" olarak tanımlamıştır (52).

Apopitoz, embriyolojik gelişim, immün sistem, kimyasal nedenli hücre ölümü, hormon bağımlı atrofi ve normal hücre yaşamı gibi çok çeşitli farklı biyolojik sistemlerde önemli ve normal bir süreçtir. Uygunsuz apopitoz ise, insanda;

Alzheimer ve Huntington hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıklarla, iskemik hasarlarla, otoimmün hastalıklarla ve kanserin birçok formu ile ilişkilidir.

Apopitoz, hücrelerin parçalanması için endojen hücresele enzimlerin aktif katılımını gerektiren otonom hücre ölüm süreci olarak tanımlanmaktadır (52). Bu süreç morfolojik olarak, hücre ölümünün major formu ve dramatik bir yok olma fazıdır. Bu faz, hücre volüm kaybını, plazma membran şişmesini, sıklıkla endoplazmik retikulumun dilatasyonunu, nükleer kromatinin ve sitoplazmik organellerin yoğunlaşmasını içermektedir. Tüm bu stereotipik morfolojik değişiklikleri takiben, hücresele komponentler apoptotik cisim olarak adlandırılan membran ile kaplanmış veziküller haline getirilerek, komşu hücreler tarafından hızla fagosite edilirler. Bu otonomik hücre ölüm süreci, kaspaz olarak adlandırılan bir enzim grubunun proteolitik olarak birbirlerini ve birçok intrasellüler anahtar hedef proteini bölerek aktiflemesi ile hücre ölümünün gerçekleştirilmesi esasına dayanır.

Apopitozise bağlı olarak hücrede büzüşme, çekirdeğin küçülmesi ve piknotik bir hal alması, kromatin kondensasyonu ve apoptotik cisimcik oluşumları ortaya çıkar ve hücre sonunda parankimal hücreler veya fagositlerce ortadan kaldırılır. Bu biçimde oluşan hücre kaybı esnasında, nekrozun aksine çevre hücreler bu ölümden etkilenmez ve ortaya inflamatuvar bir yanıt çıkmaz. Apopitoziste amaç, ekstrasellüler ortama salındıklarında, immünogenetik, otoreaktif ve inflamatuvar istenmeyen etkiler oluşturabilecek sitoplazmik komponentlerin zararsızca uzaklaştırılmalarını sağlamaktır. Böylece hücre, çevredeki hiçbir hücreye zarar vermeden ortadan kaldırılmış olur (53).

2.2.3.7. İnflamasyon

İnflamasyon, spinal kord yaralanması sonrasında çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Yaralanmayla başlayan ve devam eden kanama, ödem, nöroeksitotoksinlerin akümüasyonu ve biyokimyasal değişiklikler, inflamasyonun MSS (merkezi sinir sistemi) üzerindeki esas etkilerini belirlemede zorluklar yaratmaktadır. İnflamasyon, canlı dokunun her türlü zedelenmeye karşı gösterdiği ortak bir reaksiyondur. İnflamasyon yaralanma alanındaki vasküler, nörolojik, hümmoral ve hücresele yanıtları içermekle birlikte organizmanın zedeleyici etkeni

çevreleyerek yok etme ve zararlı süreçleri sınırlandırmasını sağlayan ve takiben doku onarımına yol açan bir süreçtir (5,10).

Akut inflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki vasküler yanıttır. Yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstrüksiyon ve ardından arterioler vazodilatasyon oluşur. Bu da kapiller yatağa daha fazla kan gelerek konjesyona ve takiben vasküler permeabilitede artışa sebep olur. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, polimorfonükleer granulositlerin (PMNL) lezyon bölgesini birkaç saat içinde infiltre etmesiyle başlar ve travmanın birinci gününde en yüksek seviyeye ulaşır. Yapılan ışık ve elektron mikroskopi çalışmalarında 4. saatten önce kan damarları dışında çok az sayıda PMNL bulunurken, 4. saatte bunların damar içinde sayıca çok arttıkları ve damar duvarından çıkarak dokuya girmeye başladıkları görülmektedir (10). 8 saatlik preparatlarda, gri cevherde PMNL kümeleşmeleri görülmekte ve beyaz cevherde PMNL'ler nöronların içindeki inklüzyonlar olarak belirmektedir. 24 saatlik preparatlarda, dejenere nöronların PMNL tarafından sarıldığı ve PMNL'ler arasında sellüler kalıntıların bulunduğu gösterilmiştir. PMNL'ler üçüncü günde kaybolurlar. Bu süre içinde granüler içeriklerini ortama salarak litik enzimlerinin etkisiyle vasküler, nöronal ve glial hasarı daha da artırabilmektedirler. PMNL infiltrasyonu miktarı ile oluşan hemoraji miktarı korelasyon göstermektedir. Histamin, plazma proteazları, bradikinin, prostaglandinler, lökotrienler, platelet aktive edici faktör (PAF), serbest oksijen radikalleri, serotonin gibi inflamasyon mediatörleri yaralanmış spinal kordda lezyon bölgesinde birikirler. İnflamatuvar hücreler için kemoatraktan olan bu maddeler doku hasarının hızla ilerlemesine neden olurlar (10). Ortamdan kaybolan PMNL'lerin yerini mikroglial hücrelerden ve dolaşımdan kaynaklanan makrofajlar almaktadır. Makrofajlar myelin, hemorajik ve nekrotik doku kalıntılarını fagosite etmektedir. Aynı zamanda makrofajlar, anjiogenezi başlatan interlökin-1 (IL-1) benzeri sitokinleri de salgılamaktadırlar.

Travma hastalarında doku zedelenmesi, iskemi ve hemorajiye karşı akut fizyolojik bir yanıt olarak, genellikle 6-12 saat içinde inflamatuvar olaylar ortaya çıkar. Sitokinler ve diğer endojen mediatörlerin sentezini ve karmaşık bir etkileşimini içeren olaylar zinciri doğal iyileşme sürecini sağlamaya yöneliktir. İnflamatuvar yanıtın aşırı olması organizma aleyhine olup, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve

multipl organ disfonksiyonu sendromu ile sonuçlanabilir. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, travma hastalarında infeksiyonlara bağlı olarak da gelişebilir ve sepsis olarak tanımlanır.

Doku zedelenmesi yada infeksiyonların tetiklediği sistemik inflamatuvar yanıt sendromunda rol alan başlıca sitokinler; TNF-alfa (tümör nekroz faktör), IL-1, IL-8, interferon gama ve PAF'tır. Ayrıca prostoglandin ve lökotrienler gibi araşidonik asit metabolitleri sentezlenir. Koagulasyon ve kinin sistemi aktive olur. IL-6 akut inflamatuvar yanıtta modülatör rolü oynar. Travma hastalarında değişik düzeylerdeki hiperinflamatuvar olayları kompensatuvar bir hipoinflamasyon dönemi ve immünoşüpresyon dönemi izler. Bu dönemde nötrofil kemotaksisi, fagositoz ve hücre içi öldürme işlevlerinde yetersizlik, monosit/makrofaj işlevlerinde azalma, T lenfositlerinde işlev anomalileri, B lenfositlerinde ve başta IgM olmak üzere immünglobulin sentezinde azalma, opsonik aktivitede yetersizlik ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılık testlerinde negatifleşme saptanmıştır.

Katoh ve arkadaşları omurilik yaralanması ile başvuran hastalarda ilk 4 gün kan beyaz küre değerleri yüksek seyredenlerde nörolojik kötüleşmenin, normal seyreden hastalara göre daha fazla olduğunu göstermiştir (54). SSS (santral sinir sistemi) travması sonrasında, PSS (periferik sinir sistemi) ile karşılaştırıldığında, makrofajların toplanmasının sınırlı tutulması ile karakterize immün mekanizmalar bozulabilir (55). Rapalino ve arkadaşları yakın zaman önce, periferik sinir segmentleri ile uyarılmış homolog makrofajların, tam kesiye uğratılmış omurilik içine lokal implantasyonunun, elektrofizyolojik aktivite kadar motor aktivitede de parsiyel iyileşme ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir (56). Metilprednizolon, PAF antagonistleri, siklooksijenaz ve lipojenazların hepsi etkilerini inflamatuvar cevapları kısmen azaltarak ya da tamamen inhibe ederek göstermektedirler. Klorokin ve kolşisinin kullanımı, omurilikte iskemi sonrası inflamatuvar değişiklikleri ve doku hasarını azaltmıştır (57).

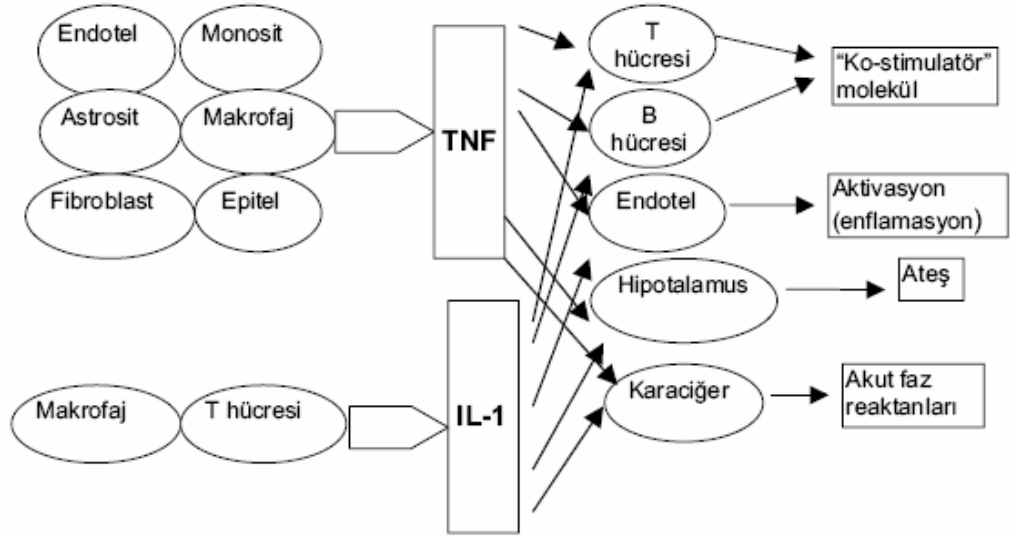
2.3. Sitokinler

Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve

sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır:

1. Büyüme faktörleri
2. Lenfokinler (interlökin-1 alfa ve beta, interlökin 2,3,4...)
3. Koloni stimüle eden faktörler
4. Transforme edici büyüme faktörleri
5. Tümör nekroz faktörleri (TNF-alfa ve beta)
6. İnterferonlar (58,59).

İL-1 ve TNF gibi sitokinler, proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtının ortaya çıkmasında rol oynarlar.



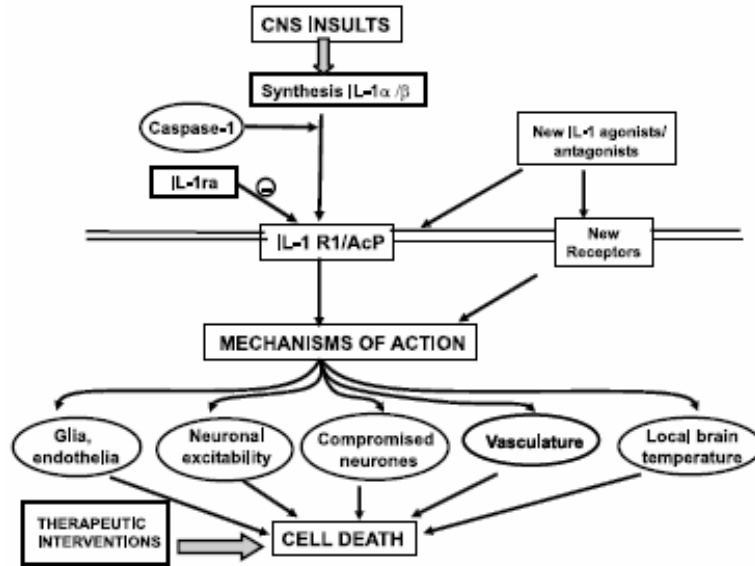
Şekil: 1 (60)

2.3.1. İnterlökin-1 Beta (IL-1 beta)

İL-1 monositler, lenfositler, endotel hücreleri ve mikroglialar gibi bağışıklık sistemi hücrelerinden salınır. İnflamasyon, sepsis, diabet, otoimmün hastalıklar ve osteoporoz oluşumunda etkisi olduğu düşünülmektedir (61).

İL-1 beyinde ilk tanımlanan sitokinlerden olup, başlangıçta endojen pirojen olarak tanımlanmıştır. Kilo kaybı, uykunun düzenlenmesi, endokrin sistem, immün

sistem ve sinir sistemi fonksiyonlarını değiştirme, nöronal iletim, epilepsi, sinir hücre ölümü dahil IL-1'in endojen ve ekzojen bir çok etkisi gösterilmiştir. IL-1 klasik olarak IL-1 alfa ve beta olmak üzere 2 subtipte tanımlanır. Her ikisi de benzer etkiye sahiptir (62). Üçüncü tanımlanan protein IL-1 ra (IL-1 reseptör antagonisti) olup, IL-1'in bilinen tüm etkilerini kompetitif antagonize eder ama diğer etkileri tam bilinmemektedir (62). Tüm IL-1 molekülleri prekürsör olarak salınır. Bunlardan pro-IL-1 alfa ve pro-IL-1 ra biyolojik olarak aktif iken, pro-IL-1 beta inaktiftir. Ama caspase-1 enzimi tarafından aktif formuna dönüşür. IL-1'in hücre salınımı ve enzim tarafından bölünmesi çoğunlukla bilinmez. IL-1 alfa ve beta'nın etkilerini gösterebilmesi için tek bir reseptöre (IL-1RI) bağlandığına inanılır.



şekil: 2 (65)

IL-1 çeşitli etkileri ile SSS'deki nöronal hasara neden olabilir. Bunun en önemli olanı ateştir. IL-1 güçlü bir pirojendir. Hipotalamusta prostaglandin salınımı yolu ile ateşe neden olur. IL-1'in neden olduğu ateş siklooksijenaz inhibitörleri veya glukokortikoidler ile önlenir. Ama nöronal hasarın önlenmesinde hiğbiri anlamlı değildir. Bununla birlikte IL-1, beynin bazı bölgelerindeki ısının üzerine lokal etki yaparak nöronal hasarı arttırabilir.

Akut SSS zedelenmesinde (iskemik, travmatik, eksitotoksik hasar) IL-1'in etkisi için birçok kanıt mevcuttur. Ama kronik bozukluklarda IL-1 ile ilişkili olduğunu gösteren indirekt kanıtlar dahi toplanamamıştır (63,64). IL-1 alfa ve beta

normal insan ve kemirgen beyinde çok düşük seviyede bulunur. İlginç olarak IL-1 ra ve IL-18 yüksek seviyede bulunur. IL-1 alfa ve özellikle IL-1 beta akut deneysel beyin zedelenmesine hızlı cevap verir. 15 dakika içinde mRNA, 60 dakika içinde protein sentezi olur. Klinik çalışmalarda beyin zedelenmesi veya stroklu hastaların BOS (beyin-omurilik sıvısı)'unda ve postmortem beyin dokusunda IL-1 seviyesinin yüksek olduğu rapor edilmiştir. Erken dönemde IL-1 salınımı ilk olarak mikroglia ve perivasküler makrofajlarca olur. Bununla birlikte astrosit, endotelial hücrelerde IL-1 salınım kapasitesine sahiptir. IL-1 normal kemirgen beyinde veya sağlıklı nöron hücre kültürlerinde nörotoksik değildir ama kemirgen beyin parankimi veya ventriküllerine düşük doz enjekte edilmesi ile nörotoksik etkiler başlar (60).

IL-1 beta'nın intraserebral verilmesi kan-beyin bariyerinde bozulmaya neden olup serebral ödem ve sekonder hücre ölümü ile sonuçlanır (66,67)

IL-1 ra'nin artışı veya IL-1 beta konverting enzim (caspase) aktivitesinin blokajı, eksitotoksik nöronal hasarı engeller ve lezyonun boyutunu, erken ödem oluşumunu azaltır (66-70).

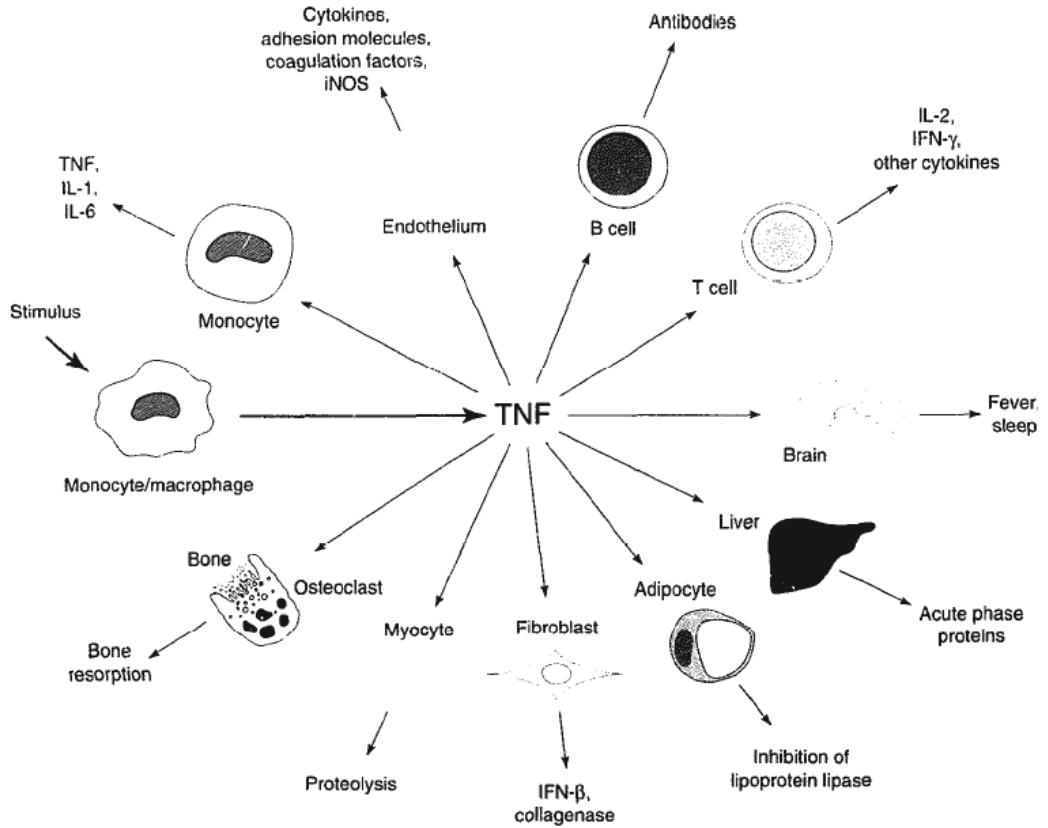
IL-1 beta nöronal nekroz, apoptozis, lökosit infiltrasyonu, ödem, glial hücre aktivasyonu, diğer sitokinlerin aktivasyonu ve nitrik oksit sentezi ile ilişkilidir (71). Örneğin IL-1 beta astrositlerden IL-6 sekresyonuna (72), astrosit stimülasyonuna (73,74) ve astrositlerden sinir büyüme faktörü ve temel fibroblast büyüme faktörünün salınmasına (75,76) neden olabilir. IL-1 reseptör antagonistinin sistemik enjeksiyonu nöronal hücre ölümünü azalttığı ve lateral sıvı perküsyon kafa travmasında kognitif fonksiyonları düzelttiği gösterilmiştir (77).

2.3.2. Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF-alfa)

TNF-alfa birçok inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıkların patogeneğinde önemli role sahiptir. TNF alfa'nın major kaynağı aktive olmuş monosit ve makrofajlardır. TNF 233 aminoasit ve 26 kDA ağırlığında proproteinden sentezlenir. Proprotein spesifik metalloproteaz (TNF-alfa konverting enzim-TACE) tarafından 17 kDA, 157 aminoasitten oluşan monomerik formuna bölünür. TNF etkisini membran bağımlı reseptör molekülleri TNF reseptör I (TNFRI, p55) ve TNFRII (p75) aracılığıyla gösterir (78). TNF reseptörleri çözülebilir yapıda olup TNF'yi bağlama yeteneğindedir. Böylece TNF'nin akut etkilerini sınırlayabilmektedir (79,80).

TNF'nin temel fonksiyonlarından bazıları:

1. Lökositler için vasküler endotelial hücre adezyonunun indüksiyonu
2. Fagositlerin stimülasyonu ve IL-1, IL-6, IL-8 gibi sitokinlerin ürünlenmesi, antiinflamatuvar sitokinleri (IL-4, IL-10, IL-13, TGF-beta) uyarması, ayrıca doğal sitokin inhibitörleri olan IL-1ra ve solubl TNF reseptörlerinin üretimini arttırması (Böylece aşırı sitokin yanıtı dengelenir)
3. MHC-Class I molekül indüksiyonu
4. Lökosit aktivasyonu
5. Uzun süre uygulaması sonucu kaşeksi ve kas erimesi
6. Gram negatif sepsiste septik şok nedeni olması
7. Endotelial hücreler ve astrositler üzerinde ICAM-1 ekspresyonu artışı
8. Schwartman reaksiyonu sonucu tümör nekrozu, endojen pirojen etki, akut faz reaktanlarında artış (60,81,82).



Şekil: 3 (83)

TNF sentezi, birçok farklı eksojen maddeler (lipopolisakkaridler, beta-glukanlar) veya endojen mediatörler (IL-1) aracılığıyla monosit ve makrofajlarda uyarılır.

Plazmada artmış konsantrasyonu çeşitli infeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklarda gösterilmiştir (sepsis, bakteriyel menenjit, serebral malarya, adult respiratuvar distres sendromu, romatoid artrit) (83).

Anti TNF ajanlar 3 grup içinde sınıflandırılabilir. Birincisi; TNF'nin sentezi fosfodiesteraz inhibitörleri, prostanooidler, adenozin, kortikosteroidler, IL-10 tarafından inhibe edilebilir. İkincisi; TNF pro-protein, TNF metalloproteaz spesifik inhibitörleri tarafından inhibe edilebilir. Üçüncüsü; salınmış TNF proteinin etkileri TNF reseptörleri veya anti-TNF antikorları tarafından antagonize edilebilir (83).

Yapılan çalışmalarda TNF-alfa mRNA ve proteinlerinin, spinal kord hasarını takiben spinal kordda arttığı gösterilmiştir (84-88). Spinal kord hasarı sonrası TNF-alfa proteinleri, aktive monosit/ makrofajlar sayesinde kordda bulunur (88). Kordda, TNF-alfa proteinleri erken 1. saatte tespit edilir ve travmadan sonra 7 gün boyunca bulunur. Astrosit ve mikrogliaların SSS hasarına cevapta TNF-alfa sekrete ettikleri gösterilmiştir (89,90). Nötrofiller hasarın 6. saatinde spinal korda girerler (91). Buna karşın monositler hasardan sonra erken dönemde (30 dakika) tespit edilmiştir (92). TNF-alfa'nın bu erken sentezi spinal korddaki ilerleyici inflamatuvar cevabın başlangıcı için önemli bir sinyaldir. TNF-alfa ürünleri hasar sonrası 1-3. günler arasında nötrofil ve monositlerin yayılması için gereklidir.

Tavşanlarda sisterna magna içine TNF-alfa enjeksiyonu; oksijen geri alınımında azalma, serebral kan akımında düşme ve intrakranyal basınçta artma ile sonuçlanır (93).

TNF-alfa, spesifik TNF-alfa taşıyıcıları ile spinal kord hasarını takiben spinal korda giriş yapabilmektedir. Pan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada spinal kord hasarı sonrası çok erken dakikalar içinde TNF-alfa akını ve 1-5. günler arasında geç dalga pikleri rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda belirtilen, hasarı takiben spinal kordda toplanmaların kaynağı TNF-alfa'dır (88,94).

TNF-alfa sinyal mekanizması çok karışıktır. TNF-alfa'nın ortaya çıkması ve SSS'nde biyolojik cevabın ortaya çıkması için RGS7'nin (regulator of G-protein

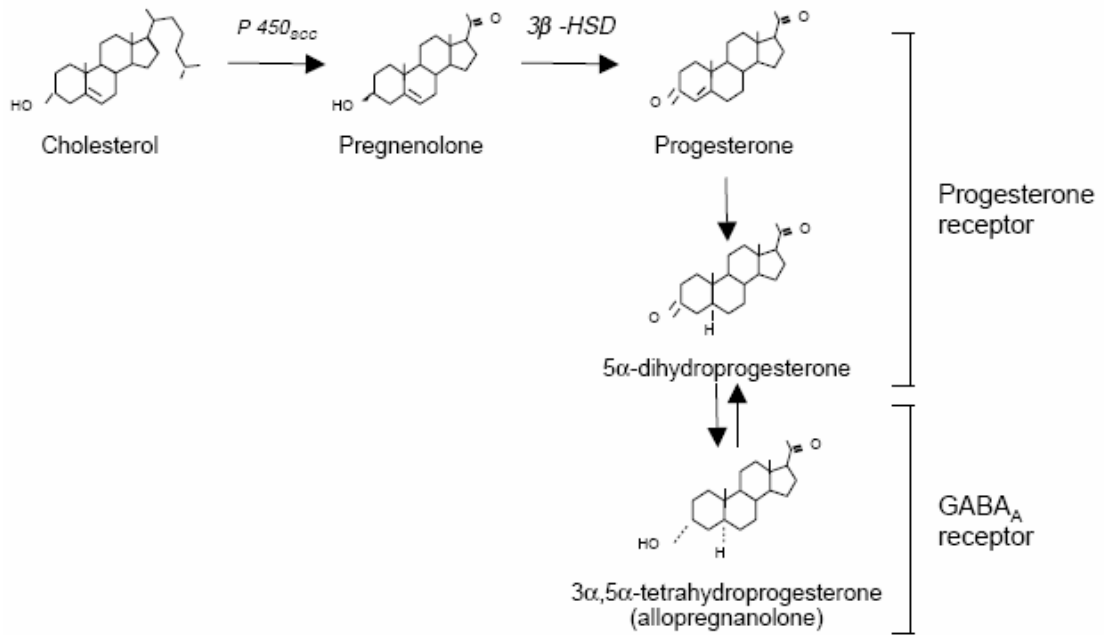
signaling-7) hazırda bulunmasını gerektirir. Son zamanlardaki çalışmalarda, SCI sonrası nöron ve makrofajlarda RGS7 miktarı gösterilmiştir (95).

TNF-alfa mikrogliozis ve astrogliozisin güçlü mediatörüdür ve hücre ölümüne neden olur. 3 ayrı in-vivo çalışmalarda gösterilmiştir ki, nötralize antikor veya çözünür reseptörler ile TNF-alfa blokajı nöroprotektiftir. Örneğin Lavine ve arkadaşları (98) reperfüzyon hasarı sonrası nötralize antikorlar ile TNF-alfa blokajının nörolojik sonucu düzelttiğini göstermişlerdir.

Bazı çalışmalarda gösterilmiştir ki, TNF-alfa nöroprotektiftir. Örneğin, TNF-alfa hipokampal kültürlerde reaktif oksijen radikal toplanmasını suprese eder, amiloid alfa-peptidin sitotoksik etkisini düşürür, glutamat nedenli hücre ölümünü önler (96,97).

2.4. Progesteron

Kolesterolden progesteronun sentezi, iki enzimatik adımı içerir. Kolesterolden pregnenolona dönüşme sitokrom P450_{scc} ve pregnenolondan progesterona dönüşme 3 beta-HSD (3 beta hidroksisteroid dehidrogenaz) ile olur. Sitokrom P450_{scc} kolesterol molekülündeki 6 karbonlu yan zinciri (C22-C27) keser ve bu reaksiyon mitokondride olur (99,100,101).



Şekil:4 (106)

Mitokondrial membrandaki kolesterol transport oranı; pregnenolon oluşumu ve iki mitokondrial membran proteini sayesinde sınırlanır. Bu proteinler, periferik benzodiazepin reseptörü (102) ve steroidojenik akut regülatör proteindir (103). Bu proteinler ile ayarlanan intramitokondrial kolesterol transport mekanizması hala tam anlamıyla anlaşılamamıştır (104,105).

Progesteron ayrıca steroid 5-alfa redüktaz ile 5-alfa dihidroprogesterona ve 3-alfa hidroksi steroid oksidoredüktaz ile 3-alfa, 5-alfa tetrahidroprogesterona (allopregnanolon) metabolize olur. Progesteron ve 5-alfa dihidroprogesteron, intrasellüler progesteron reseptörlerine yüksek affinite ile bağlanır ve gen transkripsiyonu aktive olur. Buna karşılık 3-alfa, 5-alfa tetrahidroprogesteron (allopregnanolon) progesteron reseptörlerine bağlanmaz ama GABA-A reseptörlerini olumlu yönde modüle eder (106). Bununla beraber 3-alfa hidroksi steroid oksidoredüktaz, reaksiyonu geri dönüşümlü katalizler. 5-alfa dihidroprogesteron geri dönüşümü olduktan sonra progesteron reseptörlerine bağlanır ve böylece 3-alfa,5-alfa tetrahidroprogesteron (allopregnenolon) regülasyonu sağlanır (107).

Rat spinal kordunda pregnenolon ve progesteron seviyeleri GC/MS (chromatography/mass spectrometry) ile ölçülmüş ve bu seviye kana göre yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda kastrasyon ve adrenalectomi sonrası da yüksek seviyelerde kalması lokal sentezinin olduğunu göstermiştir (108).

Rat spinal kordunda 3-beta HSD mRNA, RT-PCR yöntemi ile bulunmuştur. Hibridizasyon çalışmaları ile spinal kord boyunca 3-beta HSD mRNA'nın bulunduğu gösterilmiştir. Beyaz madde ile karşılaştırıldığında gri maddede ve ayrıca ventral horn motor nöronlarına yüksek seviyelerde olduğu bulunmuştur (108).

1980 sonlarında progesteronun nöroprotektif etkisi, travmatik beyin zedelenmesi olan ratlarda incelenmiştir (109,110). Dişi ratlarda zedelenme sonrasında progesteron düzeyi yüksek bulunmuş ve ödemin olmadığı görülmüş olup, progesteron ile tedavi edilmiş ve tedavi edilmemiş erkek ratlarla karşılaştırılmıştır. Progesteronla tedavi ile sekonder nöral dejenerasyonun önlediği, medial frontal korteks kontüzyonu ile sonuçlanan etkilerin düştüğü görülmüştür. Progesteronun travmadan 24 saat sonra verildiği zaman bile hala ödemi azaltıcı etkisi saptanmıştır(111,112).

Progesteronun aksotomi, serebral iskemi ve spinal kord kontüzyonu sonrası nöron koruyucu etkisi gösterilmiştir (113,114,115).

Pregnenolonun, spinal kordda uzun süre kompresyon yapıldıktan sonra verildiği zaman nöronal hasarı azalttığı ve motor fonksiyonlarda düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir (116). Pregnenolon bu koruyucu etkisini belki de progesterona dönüşüm yolu ile veya direkt spinal nöronlarda etki yaparak göstermektedir. Son zamanlarda progesteronun nöron koruyucu etkisi farelerde spinal kord motor nöron dejenerasyonu modellerinde gösterilmiştir (117). Bu farelerde spinal kord ve beyin sapında erken postnatal gelişim süresince motor nöron dejenerasyonu ile sonuçlanan model geliştirilmiştir (11. kromozomda resesif mutasyon). Bu motor nöron hastalıkları için kullanılabilir bir modeldir (örneğin Amiyotrofik lateral skleroz). Hastalığın ilk belirtileri 2-3. haftalarda gözlenmiş (118,119) ve 2 aylık olduğu zaman semptomatik fareler progesteron ile 15 gün tedavi edilmişlerdir. Spinal motor nöronlardaki nöropatolojik değişikliklerin önemli derecede azaldığı görülmüştür. Progesteron tedavisinin kas kuvveti ve hayvanların yaşam oranı üzerine olumlu etkisi gösterilmiştir. Progesteronun nöron koruyucu etkisi için birkaç mekanizma ileri sürülmüştür (110,117). Birincisi; progesteronun lipid peroksidasyon ve serbest radikallere bağlı hücre membran hasarı üzerine olan etkisi (120,121), ikincisi; progesteron ve metabolitlerinin, zedelenme ile oluşan hücre ölümünden itibaren nöronları koruması ve nörotransmitterlerin aktivasyonunu azaltması (122,123); üçüncüsü, nöron ve glial hücrelerdeki gen ekspresyonunun düzenlenmesi şeklinde mekanizmalar ileri sürülmüştür.

Progesteronun yeni myelin kılıfı oluşumundaki yeri karmaşıktır. Myelin kılıfı aksiyon potansiyelinin hızlı iletimi için gereklidir (124). Bu olay ilk kez rodent siyatik sinirinde progesteron seviyesinin yüksekliği ve rejenerasyonda olumlu etkisi şeklinde gösterilmiştir (125). Bir incelemede erkek ratlarda siyatik sinir lezyonu sonrasında 3-beta HSD mRNA seviyelerindeki değişiklikler periferik myelin protein mRNA ile paralellik gösterdiği gözlemlenmiş ve progesteronun lokal sentezinin myelinizasyonda önemli rol oynadığı belirtilmiştir (126). Progesteronun lokal sentezinin (trilostane) ve lokal etkisinin (mifepristone) engellenmesi ile yeni myelin kılıfı yapımının güçlü bir şekilde inhibe olduğu gösterilmiştir. Ters olarak progesteronun yüksek doz tekrarlanarak yapılması myelinizasyonu arttırmıştır (125).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları ve Deney Planı

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yapıldı. 170-361 gram arası ağırlıkta, 48 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı.

Çalışma 4 ana grup olarak planlandı.

Grup 1: (n=12) Laminektomi (1. saat n=6, 6. saat n=6)

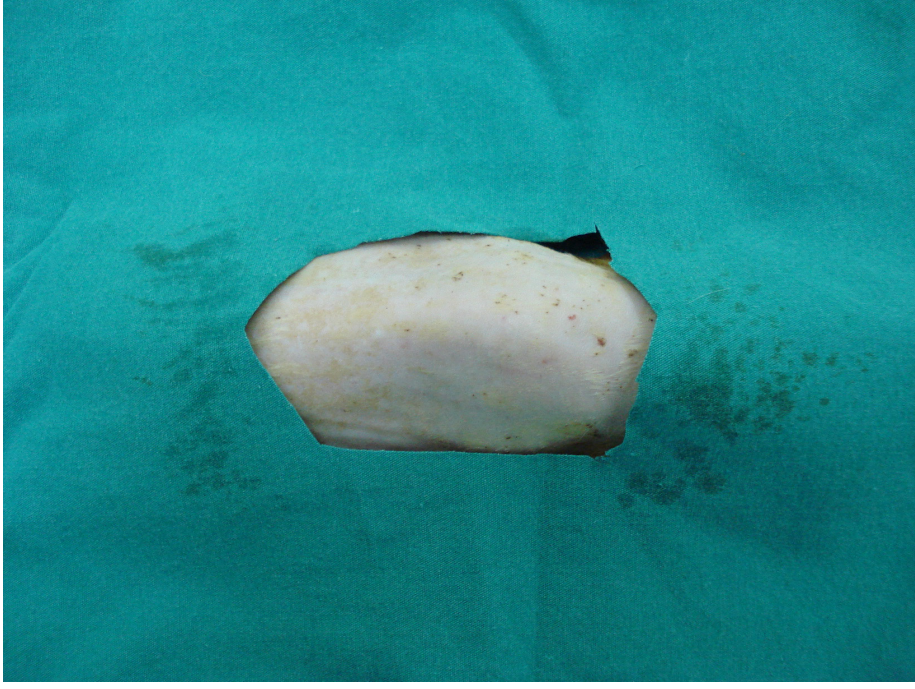
Grup 2: (n=12) Laminektomi + travma (1. saat n=6, 6. saat n=6)

Grup 3: (n=12) Laminektomi + Travma + SF (1. saat n=6, 6. saat n=6)

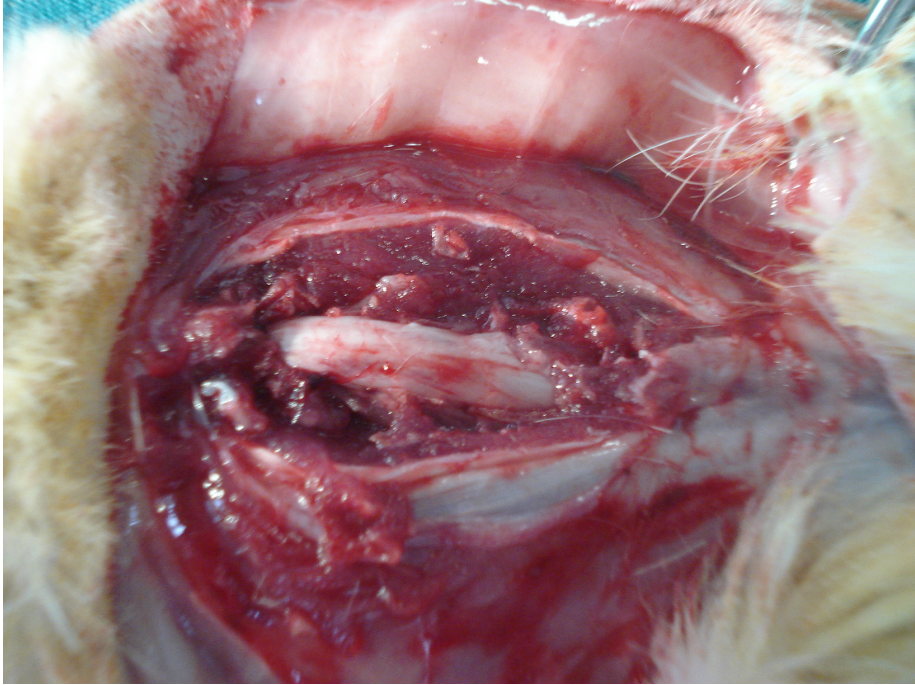
Grup 4: (n=12) Laminektomi + Travma + Progesteron (1. saat n=6, 6. saat n=6)

Cerrahi işlem öncesi tüm gruplardaki hayvanlara genel anestezi amacıyla intraperitoneal olarak 60 mg/kg dozunda Ketamin (Ketalar, Parke-Davis, Eczacıbaşı, İstanbul) ve 10 mg/kg dozunda Xylazaine (Alfazyne) uygulandı.

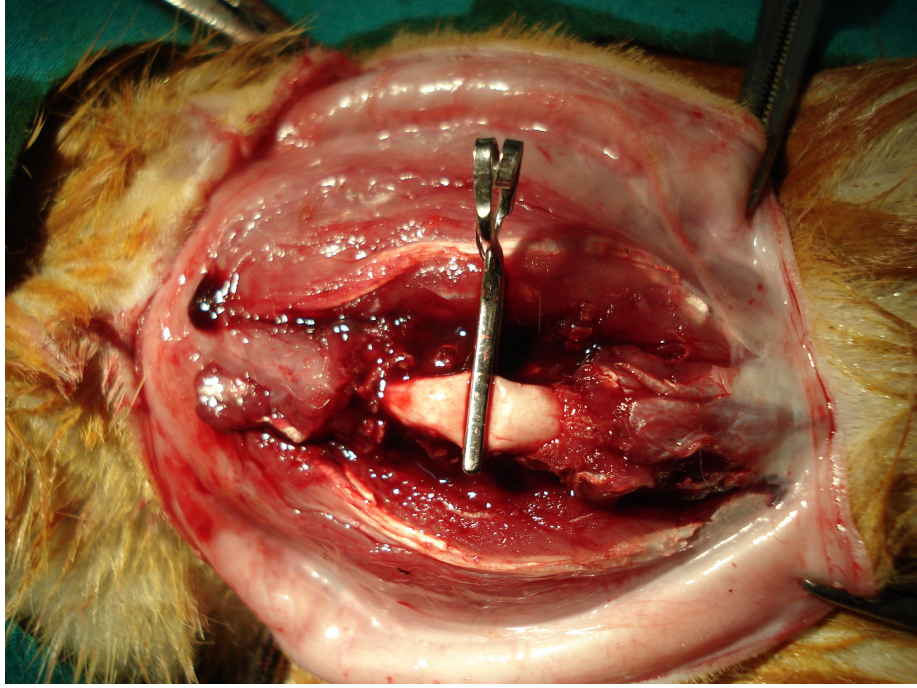
Tüm hayvanlar genel anestezi altında sırt bölgesi traş edilerek %10'luk Polyvidon iyot (Batticon, Adeka, Samsun) ile lokal antisepsi sağlandı (Resim 1). Prone pozisyonda T7-T12 seviyesinde cilt, cilt altı dokular geçildi. Paravertebral kas fasyası geçilerek kaslar laterale künt diseksiyon ile sıyrıldı. Torakal 10-12 laminaları görülerek total laminektomi uygulandı (Resim 2). Hayvanların dura materleri sağlam olarak ortaya konuldu. Standart travma amacıyla anevrizma klibi (Sugita no: 07-934-11, kapanma basıncı: 1.37-1.72 N) ile dura ve spinal kord çepeçevre olacak şekilde, horizontal ekstradural olarak 1 dakika süreyle klibe edildi (Resim 3-4) ve spinal travma oluşturuldu (Resim 5). Hemostazı takiben tabakalar anatomiye uygun olarak 3/0 ipek ile kapatıldı.



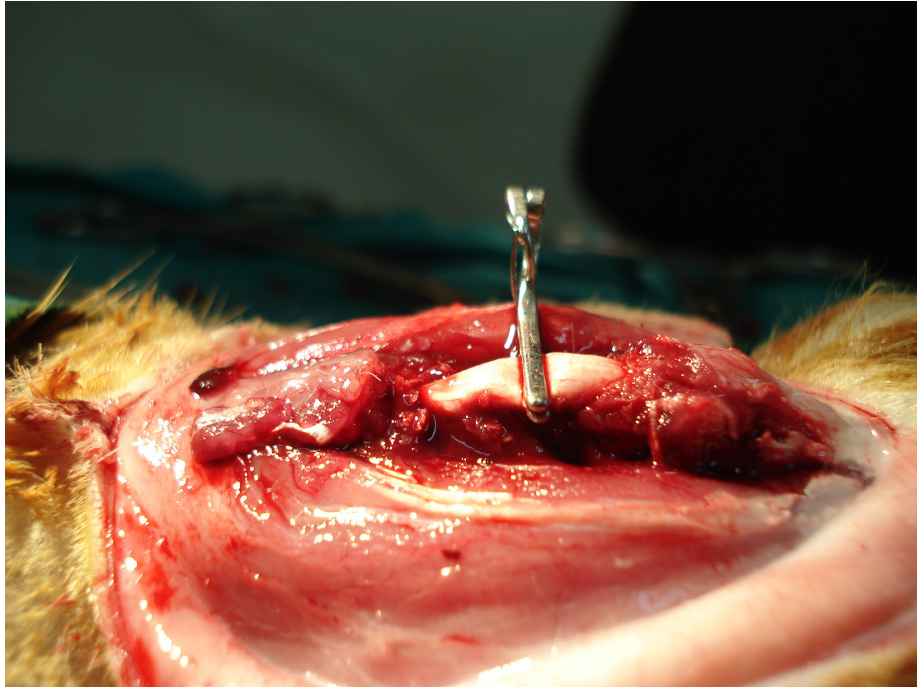
Resim 1: Deneğin tıraş sonrası cerrahiye hazırlanması



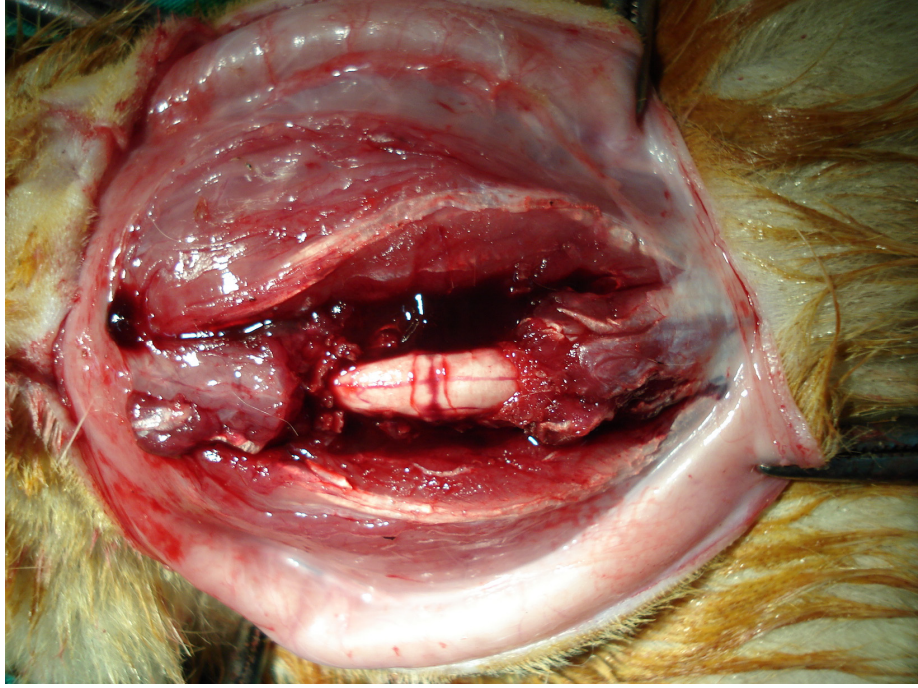
Resim 2: Laminektomi sonrası omurilik



Resim 3: Klip sonrası üstten görünüm



Resim 4: Klip sonrası yandan görünüm



Resim 5: Klip travması sonrası omurilikte çevresel hemoraji ve kontüzyon

Her grupta 12 adet rat kullanıldı. 1. ve 6. saatte sitokin seviyesine bakılmak üzere ikiye ayrıldı.

1-a grubu (G1a) (n=6): T7-T12 düzeyine uyan cilt insizyonu sonrasında T10-T12 laminektomi uygulandı ve 1. saatte omurilikleri sakrifiye edildi

1-b grubu (G1b) (n=6): Cilt insizyonu, laminektomi sonrası 6. saatte omurilikleri sakrifiye edildi.

2-a grubu (G2a) (n=6): Cilt insizyonu, laminektomi sonrası klip ile travma oluşturuldu ve travmanın 1. saatinde omurilikleri sakrifiye edildi.

2-b grubu (G2b) (n=6): Cilt insizyonu, laminektomi ve klip ile travma sonrası 6. saatinde omurilikleri sakrifiye edildi. .

3-a grubu (G3a) (n=6): Cilt insizyonu, laminektomi sonrası klip ile travma oluşturuldu. Travmadan 30 dakika sonra intraperitoneal olarak tedavi grubunda verilen progesteron ile aynı volümde SF verildi. Travmanın 1. saatinde omurilikleri sakrifiye edildi.

3-b grubu (G3b) (n=6): Cilt insizyonu, laminektomi sonrası klip ile travma oluşturuldu. Travmadan 30 dakika sonra intraperitoneal olarak tedavi grubunda

verilen progesteron ile aynı volümde SF verildi. Travmanın 6. saatinde omurilikleri sakrifiye edildi.

4-a grubu (G4a) (n=6): Cilt insizyonu, laminektomi sonrası klip ile travma oluşturuldu. Travmadan 30 dakika sonra intraperitoneal olarak progesteron (8 mg/kg) verildi ve travmanın 1. saatinde omurilikleri sakrifiye edildi.

4-b grubu (G4b) (n=6): Cilt insizyonu, laminektomi sonrası klip ile travma oluşturuldu. Travmadan 30 dakika sonra intraperitoneal olarak progesteron (8 mg/kg) verildi ve travmanın 6. saatinde omurilikleri sakrifiye edildi.

Tüm grupların omurilikleri itinayla çıkartılıp, beklemeksizin fosfat tamponu içine konularak derin dondurucuya (-80 derece) yerleştirildi. Omurilik dokularında interlökin-1 beta ve tümör nekrozis faktör alfa düzeylerine bakıldı.

3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

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

3.1.3. 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.

3.2. Metod

3.2.1. TNF alfa ve IL-1 Beta Tayini

TNF α Ölçümü

Rat TNF α ELİSA kiti (Biosource USA, catalog no KRC 3011) kullanıldı. Ölçüm Biotec instrument, inc EL*808U cihazında yapıldı (pq/ml) (132)

IL1 β Ölçümü

Rat E IL1- β ELİSA kiti (Biosource USA, catalog no KRC 0011) kullanıldı. Ölçüm Biotec instrument, inc EL*808U cihazında yapıldı (pg/ml) (132)

3.2.2. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmanın istatistiksel analizlerinde SPSS 9.0 programında tanımlayıcı istatistik (median, min-max, standart deviasyon) değerleri, Kruskal Wallis Testi, Mann Whitney U Testi yapıldı. Tüm gruplar arasında ağırlık, TNF alfa, IL-1 beta, Protein, TNF alfa/protein oranı, IL-1 beta/protein oranı Kruskal Wallis testiyle analiz edildi. Bu gruplar arası farkı incelemek için ikili karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanıldı (grup sayıları $n < 30$ olduğundan dolayı non parametrik test uygulandı). Bu karşılaştırmalarda Benferoni düzeltmesi yapılarak istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.01$ olarak alındı. Grafikler Microsoft Excel programında oluşturuldu.

4. BULGULAR

Laminektomi grubunda (G1a) 1. saatte bakılan TNF- α /protein ($0,80 \pm 0,26$) ve IL-1 β /protein ($0,50 \pm 0,23$) deęerleri ile travma grubu (G2a) TNF- α /protein ($0,49 \pm 0,20$) ve IL-1 β /protein ($0,44 \pm 0,52$) deęerleri karřılařtırıldıęında travma grubunda anlamlı artıř saptanmadı (tablo1-2). Bu nedenle travmanın 1. saatindeki TNF- α /protein seviyesi üzerinde etkili olmadıęı dūřünūldū. Ama travma grubu ile progesteron grubu (G4a) karřılařtırıldıęında progesteronun IL-1 β /protein deęerlerini dūřürmesi istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,01$) (tablo2).

Laminektomi grubunda (G1b) 6. saatte bakılan TNF- α /protein ($0,44 \pm 0,20$) ve IL-1 β /protein ($0,18 \pm 0,22$) değerleri ile travma grubu (G2b) TNF- α /protein ($0,76 \pm 0,15$) ve IL-1 β /protein ($0,55 \pm 0,12$) değerleri karşılaştırıldığında travma grubunda TNF- α /protein değerlerde yūkselme istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Ama IL-1 β /protein değerlerinde yūkselme gōrūlmesine rağmen anlamlılık saptanmadı ($p>0,05$) (grafik 1, tablo 2). Travma grubu (G2b) ile SF grubu (G3b) karşılaştırıldığında da anlamlılık saptanmadı ($p>0,01$).

Ama travma grubunda (G2b) 6. saatte bakılan TNF- α /protein deęerleri ($0,76 \pm 0,15$) ile progesteron grubu (G4b) ($0,47 \pm 0,10$) karřılařtırıldıęında, progesteronun 6. saatte TNF- α /protein deęerlerini dūřürdūęū ve bunun da istatistiksel olarak anlamlı olduęu gōrūldū (tablo 1-2, grafik 1) ($p<0,01$)

Tablo 1-Araştırma gruplarının tanımlayıcı istatistik değerleri (median, minimum- maksimum ve standart deviasyon değerleri)

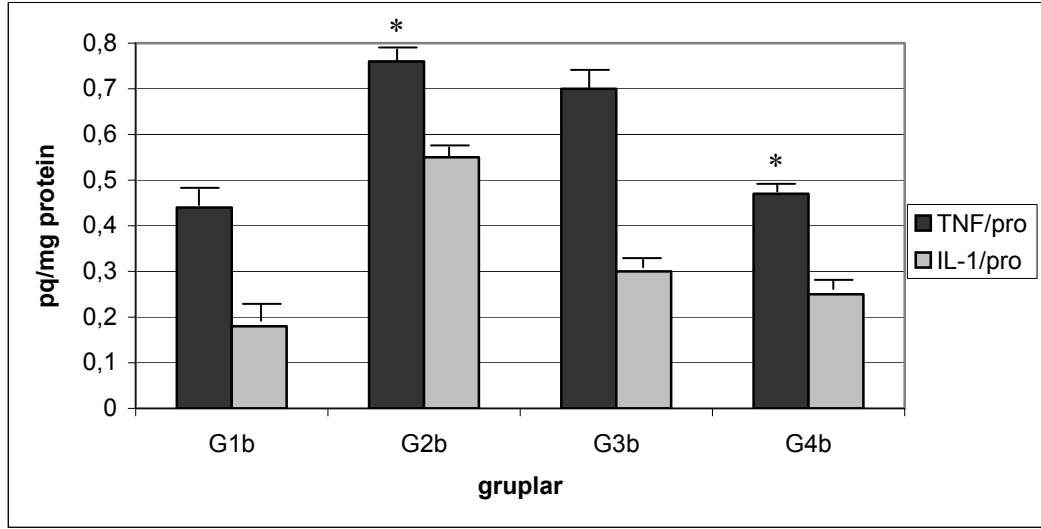
Gruplar	Ağırlık	TNF alfa	IL-1 beta	Protein	TNFα/protein	IL-1 beta/protein
G1a	259 ± 36.42 (220-310)	190,1 ± 38.86 (152,4-258,6)	126,6 ± 43.03 (56,4-169,7)	242,5± 53.06 (179-327)	0,80 ± 0.26 (0,55-1,32)	0,50 ± 0.23 (0,17-0,87)
G1b	238 ± 52.56 (220-361)	165 ± 59.68 (77,6-237,3)	65,3 ± 58.67 (44,1-200,4)	385 ± 92.17 (263-501)	0,44 ± 0.20 (0,21-0,82)	0,18 ± 0.22 (0,10-0,70)
G2a	226 ± 48.14 (170-308)	135,8 ± 22.17 (131,5-188,5)	110,5 ± 95.51 (83,3-332)	284 ± 56.41 (194-327)	0,49 ± 0.20 (0,41-0,94)	0,44 ± 0.52 (0,27-1,65)
G2b	253 ± 60.73 (196-361)	214,2 ± 42.58 (149,4-267)	161,9 ± 36.11 (79,7-171,7)	274,5± 36.72 (213-304)	0,76 ± 0.15 (0,64-1,08)	0,55 ± 0.12 (0,37-0,67)
G3a	246 ± 42.97 (200-312)	184,1 ± 43.20 (127,4-243,7)	123,2 ± 18.13 (90,6-131,6)	231,5± 32.50 (206-292)	0,75 ± 0.19 (0,59-1,07)	0,50 ± 0.10 (0,31-0,59)
G3b	247 ± 42.94 (205-308)	215,1 ± 69.72 (114,9-265,2)	93,0 ± 31.36 (47,2-121,0)	299,5± 10.23 (288-314)	0,70 ± 0.22 (0,38-0,90)	0,30 ± 0.10 (0,16-0,42)
G4a	233,5± 51.39 (215-354)	211,4 ± 80.58 (156,9-368,3)	78,01 ± 23.92 (53,7-118,9)	362 ± 21.80 (327-390)	0,56 ± 0.25 (0,44-1,13)	0,21 ± 0.06 (0,15-0,30)
G4b	248,5± 46.21 (225-342)	150 ± 30.48 (130,9-218)	86,2 ± 40.77 (32,9-138,6)	346,5± 45.06 (282-418)	0,47 ± 0.10 (0,31-0,63)	0,25 ± 0.12 (0,09-0,45)
Toplam	239 ± 46.01 (173-361)	176,5 ± 55.23 (77,6-368,3)	92,4 ± 51.99 (32,9-332)	296 ± 68.65 (179-501)	0,63 ± 0.23 (0,21-1,32)	0,37 ± 0.25 (0,09-1,65)

Tablo 2 –TNF, IL, Protein, TNF/protein, Il/protein oranlarının tüm gruplar arası ikili karşılaştırması

Gruplar	TNF	IL	Protein	TNF/protein	IL/protein
G1a-G1b**	0,485	0,180	0,015	0,026	0,093
G1a-G2a**	0,015	1,000	0,394	0,093	0,699
G1a-G2b**	0,485	0,310	0,394	0,818	1,000
G1a-G3a**	0,937	0,818	0,937	1,000	0,937
G1a-G3b**	0,937	0,310	0,065	0,394	0,041
G1a-G4a**	0,394	0,132	0,002	0,132	0,026
G1a-G4b**	0,093	0,180	0,009	0,004	0,041
G1b-G2a**	0,240	0,041	0,093	0,394	0,065
G1b-G2b**	0,240	0,093	0,065	0,026	0,065
G1b-G3a**	0,394	0,065	0,015	0,015	0,065
G1b-G3b**	0,394	0,485	0,394	0,132	0,310
G1b-G4a**	0,240	0,589	0,485	0,180	0,485
G1b-G4b**	0,485	0,699	0,485	0,818	0,699
G2a-G2b**	0,009	0,485	0,937	0,093	0,485
G2a-G3a**	0,132	1,000	0,485	0,093	0,394
G2a-G3b**	0,485	0,180	0,394	0,699	0,065
G2a-G4a**	0,009	0,065	0,002	0,394	0,009
G2a-G4b**	0,394	0,240	0,026	0,485	0,041
G2b-G3a**	0,310	0,180	0,180	0,937	0,589
G2b-G3b**	0,818	0,015	0,132	0,589	0,015
G2b-G4a**	0,937	0,009	0,002	0,180	0,002
G2b-G4b**	0,041	0,065	0,015	0,002	0,009
G3a-G3b**	0,818	0,065	0,004	0,310	0,005
G3a-G4a**	0,485	0,015	0,002	0,240	0,002
G3a-G4b**	0,180	0,310	0,004	0,004	0,015
G3b-G4a**	0,589	0,818	0,002	0,937	0,240
G3b-G4b**	0,485	0,937	0,065	0,240	0,818
G4a-G4b**	0,026	0,699	0,485	0,180	0,589
Tüm Gruplar*	0,081	0,038	0,000	0,013	0,002

* Kruskal-wallis testi p<0,05

** Mann Whitney U testi; Benferoni düzeltmesi yapılarak p<0,01 olanlar istatistiksel olarak anlamlıdır



Grafik-1: Deneklerin 6. saat TNF alfa/protein, IL-1 beta/protein düzeylerinin karşılaştırılması

G1b: laminektomi sonrası 6. saat

G2b: laminektomi + travma sonrası 6. saat

G3b: laminektomi + travma + SF sonrası 6. saat

G4b: laminektomi + travma + Progesteron sonrası 6. saat

*: Travma grubu ve progesteron grubu 6. saat TNF alfa/protein düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık (TNF alfa/protein $p=0,002$) ($p<0,01$)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Motorlu araç ve iş kazaları sonucunda potansiyel sakatlığa neden olabilecek olayların sık olduğu günümüz toplumunda, omurga ve omuriliği etkileyen her türlü travmatik hasar acilen tanımlanmalı ve tedavi edilmelidir. Teknolojik gelişmeye paralel olarak; bir çok cerrahi tedavi modeline karşın, günümüzde spinal travmalı hastaya yardım halen dekompresyon, stabilizasyon ve rehabilitasyondan öteye gidememiştir. Bu karamsar durum çalışmacıların sekonder hasara yönelmesine sebep olmuş ve önce insan travma modellerine yakın deneysel travma modelleri araştırılmış, daha sonra da bu modellerle sekonder mekanizmalar açıklanmaya ve tedavi modaliteleri geliştirilmeye başlanmıştır.

Spinal kord hasarı patofizyolojisinde, primer mekanik yaralanmaların ve bunu izleyen sekonder yaralanmaların altında yatan nedenler; iskemi, anormal intrasellüler iyon şiftleri (Na^+ , Ca^{+2}), hücre membranlarının serbest radikallere bağlı lipid peroksidasyonu, ödem, lökosit infiltrasyonu ve eksitotoksik hücre ölümüdür (115). Bu olayların sonucu olarak spinal kord travmasına bağlı olarak doku nekrozu gelişir. Yaralanma alanı geniş, kaviteli lezyonlara dönüşür. Akut ve subakut fazlar bittiğinde, rejenerasyondaki başarısızlık ve glial skar formasyonu nörolojik gelişmeyi engellemektedir.

İnflamasyon, spinal kord yaralanması sonrasında çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Yaralanmayla başlayan ve devam eden kanama, ödem, nöroeksitotoksinlerin akümüasyonu ve biyokimyasal değişiklikler; inflamasyonun MSS (merkezi sinir sistemi) üzerindeki esas etkilerini belirlemede zorluklar yaratmaktadır. İnflamasyon canlı dokunun her türlü zedelenmeye karşı gösterdiği ortak bir reaksiyondur. İnflamasyon yaralanma alanındaki vasküler, nörolojik, hümmoral ve hüccresel yanıtları içermekle birlikte organizmanın zedeleyici etkeni çevreleyerek yok etme ve zararlı süreçleri sınırlandırmasını sağlayan ve takiben doku onarımına yol açan bir süreçtir (5,10).

Travma sonrası bu alana infiltre olan nötrofiller, makrofajlar ve aktive mikroglialar sellüler debrisini temizlerler ancak bu sırada sitotoksik veya nörotrofik molekülleri de hasarlı spinal korda salarlar. Mikroglialar SSS'de immün hücreler gibi önemli rol oynarlar. Mikroglialar SSS boyunca dağılır ve gliaların % 10-15'ini

oluştururlar. Normal durumda istirahat halindedir ama SSS travması, apoptozis, iskemi, inflamasyon ve enfeksiyon ile uyarılınca aktif duruma geçer. Bu stimuluslarla bir kez aktive olunca biyoaktif maddeler, sitokinler ve nörotransmitterler salınır.

Travmatik santral kord hasarını takiben IL-1 beta, TNF-alfa, IL-6 nın hücrel kaynağı tartışmalıdır. Bazı otörler bu sitokinlerin nötrofil ve makrofajların primer ürünleri olduğuna inanırlar. Ama diğer çalışmalar göstermiştir ki endojen SSS hücreleri (mikroglia) çok sayıdaki hasar modelinde proinflamatuvar sitokinleri salgılamaktadır (127).

Travmatik spinal kord hasarından 1 saat sonra lezyonun merkezinde düzensizlik ve hemoraji gözlenirken nötrofiller hasarlı bölge alanlarında bulunmazlar. Yang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; 1. saatte TNF-alfa şiddetli travma sonrasında birçok nöronda bulunmuş iken ılımlı travma sonrasında çok az sayıda TNF-alfa pozitif nöronların olduğu gösterilmiştir (127). Benzer patoloji hasar sonrası 3. saatte de aynı iken 6. saatte damar duvarında mononükleer hücre ve PMN nötrofiller bulunmuştur. IL-1 beta, TNF-alfa, IL-6 seviyeleri 1. ve 3. saatte yükselip, 6. saatte pik yapıp, 1. günde alt seviyeye düştüğü görülmüştür (127). Artan IL-1 beta, TNF-alfa, IL-6 seviyeleri ortama diğer inflamatuvar hücrelerinde (nötrofil ve makrofajlar) gelmesini tetiklerler.

IL-1 beta; nöronal nekroz, apoptozis, lökosit infiltrasyonu, ödem, glial hücre aktivasyonu, diğer sitokinlerin aktivasyonu ve nitrik oksit sentezi ile ilişkilidir (71). Örneğin IL-1 beta astrositlerden IL-6 sekresyonuna, astrosit stimülasyonuna ve astrositlerden sinir büyüme faktörü ve temel fibroblast büyüme faktörünün salınmasına neden olabilir (72-76). IL-1 betanın intraserebral verilmesi kan-beyin-bariyerinde bozulmaya neden olup serebral ödem ve sekonder hücre ölümü ile sonuçlanır. IL-1 ra'nin artışı veya IL-1 beta konverting enzim (caspase) aktivitesinin blokajı, eksitotoksik nöronal hasarı engeller ve lezyon boyutunu, erken ödem oluşumunu düşürür. IL-1 reseptör antagonistinin sistemik enjeksiyonu nöronal hücre ölümünü azalttığı ve lateral sıvı perküsyon kafa travmasında kognitif fonksiyonları düzelttiği gösterilmiştir (77).

TNF-alfa proinflatuar etkileri açısından IL-1 beta ile benzer etkilere sahiptir. Nöronlarda apoptozisin artışı, glial hücrelerin aktivasyonu, astrosit proliferasyonu ve astrositlerde büyüme faktörü, IL-6 nın indiksiyonuna neden olur. Ayrıca TNF'nin endotelial hücrelerde adezyon molekülleri ve yüzey antijenlerini uyararak kan lökosit infiltrasyonunu arttırdığına inanılır (5). Ek olarak, oligodendrositlerde TNF-alfanın sitotoksik etkileri in-vitro ve in-vivo olarak gösterilmiştir. Karşıt olarak TNF- alfanın aksonlarda rejeneratif etkisi ve astrositlerde sinir büyüme faktörü sentezinin artması ile nörotrofik etkisi gösterilmiştir (127). IL-1 beta ve TNF alfa serebral ödem oluşumu ve sekonder nöronal kayıpta önemli rol oynarlar. İnsan ve rodentlerde beyin travması sonrası saatler içinde BOS ve beyin parankiminde arttığı gösterilmiştir. TNF-alfa direkt kan-beyin-bariyerini bozar ve vazojenik beyin ödemeine neden olur. Travmatik beyin hasarı sonrası TNF-alfa aktivitesini etkisiz hale getirmek ödem oluşumunu azaltır ve motor fonksiyonlarda düzelme sağlar.

Akut spinal kord yaralanmasının optimal tedavisi için gelişmeler devam etmektedir. Günümüzdeki farmakolojik tedavi, yaralanmadan sonraki 8 saat içinde iv prednizolon verilmesini içermektedir (30 mg/kg iv 15 dakikada bolus, sonrasında 23 saatte 5.4 mg/kg/saat devamlı infüzyon). Randomize yapılan klinik çalışmaların sonucunda metilprednizolonun belirtileri gerçektir ama klinik gelişmedeki rolü sınırlıdır. Son zamanlarda serbest radikaller, eksitatör aminoasitler, inflamatuvar cevap mediatörleri, lokal nörotransmitter toksisitesi gibi posttravmatik patokimyasal olayları inhibe etmeye odaklanılmıştır (115).

Progesteronun SSS'deki etkileri dikkatleri bu ilaç üzerine çekmiştir (114). Progesteron reseptörleri SSS'e geniş olarak dağılmıştır (hipotalamus, preoptik alan, orta beyin, korteks, amigdala, hipokampus, kaudat, putamen, serebellum). Klasik olarak progesteronun sinir hücrelerinde steroide spesifik sitozolik-nükleer reseptörlerle etkisini gösterdiği bilinmektedir. Günümüzde progesteronun inhibitör GABA ve eksitatör aminoasitler gibi SSS'deki nörotransmitter sistemlerin fonksiyonlarını değiştirdiği gösterilmiştir (115). Orta serebral arterde geçici fokal iskemi oluşturulan ratlarda iskeminin başlangıcından önce veya 2 saat sonra progesteron verildiği zaman progesteronun nöral dokuyu koruyucu etkisi gösterilmiştir (114). Roof ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada progesteronun kortikal

kontüze hayvan modellerinde sekonder nöronal kaybı azalttığı ve kognitif düzelmeyi kolaylaştırdığı gösterilmiştir (112,120).

Progesteron spinal kord, beyin ve periferik sinirlerde sentezlenir. Direkt dolaşımında pregnenolondan veya de novo olarak kolesterolden sitokrom P450_{sc} aracılığıyla pregnenolona dönüşerek sentezlenir. Pregnenolon 3beta-hidroksisteroid dehidrogenaz ile progesterone dönüşür. Makroglial hücreler, astrositler, oligodendriogial hücreler, schwann hücreleri progesteron sentezi kapasitesine sahiptir. Ama bu hücrelerde 3 beta-HSD aktivitesi ve miktarı hücreler arasında düzenlenir. Nöronlarda progesteronun lokal sentezi myelin kılıfı yapımı açısından önemli role sahiptir. Progesteron verilen hayvanların spinal motor nöronlarında nöropatolojik değişiklikler ve kas gücünde olumlu etkiler görülmüştür. Schumacher ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada progesteronun promyelinizasyon etkisi ilk kez fare siyatik siniri ve duyu nöronları-schwann hücre kültürlerinde gösterilmiştir (124,125).

Progesteronun nöron koruyucu etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte farklı mekanizmalar gösterilmiştir. Eksitotoksik hücre ölümü; GABA ve/veya eksitator aminoasit reseptörlerinin özellikle de N-metil-D-aspartat inhibisyonuyla önlenmektedir. Progesteronun kültüre edilmiş spinal kord nöronlarını glutamat toksisitesinden koruduğu ve GABA yardımıyla klor akımını uyararak nöronların eksitabilitesini değiştirdiği gösterilmiştir (115). Progesteron serebellar nöronların kainat ve N-metil-D-aspartat yanıtlarını deprese ederek serebellar purkinje hücre cevabını zayıflatır. Yaralanmanın akut fazında, progesteron verilmesi muhtemelen kan-beyin bariyerinin geçirgenliğini azaltarak ödemin şiddetini azaltır. Bu etki lipid peroksidasyonun inhibisyonu ve antioksidan etkisi aracılığıyla olabilmektedir (115). Son zamanlardaki çalışmalar travmatik beyin hasarı ve stroklu hayvan modellerinde progesteronun serebral ödemi anlamlı olarak azaltıp, fonksiyonel düzelmeyi arttırabileceğini göstermiştir (111,112). Çeşitli deneysel çalışmalar progesteron ve allopregnenolonun IL-1 beta ve TNF-alfa'yı suprese ettiğini göstermiştir. Progesteron mikroglial aktivasyonu suprese ederek IL-1 beta ve TNF-alfa seviyesini ve ayrıca çeşitli hücre kültürlerinde IL-1 beta'nın indüklediği nitrik oksit sentezini azaltır (129,130,131). Jun He ve arkadaşlarının erkek Sprague-Dawley ratlarında yaptığı çalışmada progesteron ve allopregnenolonun, travmatik

beyin hasarı sonrası erken dönemde proinflamatuvar sitokinleri (TNF-alfa ve IL-1 beta) azalttığı gösterilmiştir (132). Edward ve arkadaşlarının erkek Sprague-Dawley ratlarında yaptığı çalışmada (çarpma modeli) beyin hasarı sonrası progesteron tedavisinin anlamlı olarak TNF-alfa, IL-1 beta mRNA ve proteinlerini düşürdüğü gösterilmiştir (133).

Omurilik travmasında klip kompresyon modeli Rivlin ve Tator tarafından 1978 yılında geliştirilmiştir (11). Laminektomi sonrası omuriliğin lateralinden konan anevrizma klipi belli bir süre omuriliği komprese eder. Önceden belirlenmiş şiddette yaralanma yaratabilir. Klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek değişik şiddetlerde yaralanma oluşturulabilir. Kompresyon çevresel olduğu için insanda olan travma tipine daha uygundur. Bunun yanında yalnız küçük hayvanlara uygulanabilir. Mekanik yaralanma yanında iskemiye de yol açar. Ağrlık düşürme ve balon kompresyon modeline göre daha güvenilir bir yöntemdir (14). Bizim çalışmamızda da Rivlin ve Tator'un geliştirdiği klip kompresyon modeli kullanılmıştır.

Laminektomi uygulanan grup (G1a) ile laminektomi sonrası travma uygulanan grup (G2a) arasında bakılan 1. saat TNF- α /protein, IL-1 beta/protein düzeylerinin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,01$) (Tablo 1-2)

Laminektomi sonrası travma oluşturulup 6. saatte (G2b) bakılan TNF- α değerleri 1. saatekine göre (G2a) yüksek olup (tablo 2) bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.009$). G2b'deki TNF- α değerinin G2a'dan yüksek olması, 6. saatte TNF- α değerlerinin yükseldiğini destekler bir bulgudur. Spinal kord hasarı sonrası TNF-alfa proteinleri, aktive monosit/ makrofajlar sayesinde kordda bulunur (88). Kordda, TNF-alfa proteinleri erken 1. saatte tespit edilmiş ve ilerleyen saatlerde daha da yükseldiği görülmüştür (89, 90). Yang ve arkadaşları yaptığı çalışmada IL-1 beta, TNF-alfa, IL-6 seviyelerinin 1. ve 3. saatte yükselip, 6. saatte pik yaptığını bulmuşlardır (127). Ancak bizim çalışmamızda 6. saatteki anlamlı TNF- α değerine karşılık IL-1 β değerlerinde anlamlı bir artış elde edemedik.

Laminektomi sonrası travma oluşturulup 6. saatte (G2b) bakılan TNF- α /protein değerleri; laminektomi ve travma sonrası progesteron verilip 6. saatte

(G4b) bakılan TNF- α /protein değerlerine göre yüksekti (tablo 2) ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.002) (grafik 1). Jun He ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada progesteron ve allopregnenolonun, travmatik beyin hasarı sonrası erken dönemde proinflamatuvar sitokinleri (TNF-alfa ve IL-1 beta) azalttığı gösterilmiştir (132). Edward ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada beyin hasarı sonrası progesteron tedavisinin anlamlı olarak TNF-alfa, IL-1 beta mRNA ve proteinlerini düşürdüğü gösterilmiştir (133).

Sonuç olarak çalışmamız, progesteronun erken omurilik hasarı sonrası 6.saatte ortaya çıkan inflamatuvar sitokinlerinden olan TNF- α 'ı anlamlı olarak düşürdüğünü ortaya koymaktadır.

6. ÖZET

Amaç

Çalışmamızda, erken omurilik hasarı sonrasında progesteronun inflamatuvar sitokinlerden IL-1 β ve TNF- α üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Bu çalışmada 170-361 gram arası ağırlıkta, 48 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Çalışma 4 ana grup olarak planlandı. Her bir grupta kendi arasında 1. ve 6. saat olarak ikiye ayrıldı. 1. grupta 12 adet sıçana laminektomi yapıldı. 2. grupta 12 adet sıçana laminektomi sonrası 1 dakika travma uygulandı. 3. grupta 12 adet sıçana laminektomi sonrası travma uygulandı ve 30 dakika sonra SF verildi. 4. grupta 12 adet sıçana laminektomi sonrası travma uygulandı ve 30 dakika sonra progesteron verildi. Tüm grupların yarısı 1. saatte diğer yarısı 6. saatte sakrifiye edildikten sonra omurilikleri alındı. Ve dokular fosfat tamponuna konularak -80 derecede donduruldu. Daha sonra ELİSA kiti ile IL-1 β ve TNF- α değerleri çalışıldı.

Bulgular

İstatistiksel analiz sonucunda travmadan sonra 6. saatte omurilik dokusunda TNF- α değerlerinde artış olduğu ve progesteron verilen grupta bu değerlerdeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç

Sonuç olarak çalışmamız, progesteronun erken omurilik hasarı sonrası 6. saatte ortaya çıkan inflamatuvar sitokinlerinden olan TNF- α 'ı anlamlı olarak düşürdüğünü ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Omurilik hasarı, inflamasyon, sitokin, progesteron

7. SUMMARY

Aim: We aimed to investigate the effectiveness of progesterone in reducing the inflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α following the spinal cord injury in early phase.

Material and Methods: Forty-eight male Wistar-Albino rats weighing 170-361 g were used in our study. All animals were divided into 4 groups equally and each group was further divided into two sub-groups. Laminectomy was performed on the twelve rats in the first group and the second group was exposed to trauma after laminectomy. The animals in the third group were underwent laminectomy and administered serum physiologic 30 minutes after trauma. Likewise, the animals in the fourth group were underwent laminectomy and given progesterone 30 minutes after the trauma. Half of the animals in each group were sacrificed at the first hour after trauma and the other half of the animals in each group were sacrificed at the sixth hour following trauma. The tissue samples of the spinal cord segments were gathered and these samples were put into the phosphate buffer and were frozen at the temperature of -80 degree C. Then, the levels of IL-1 β and TNF- α were determined by ELISA.

Results: TNF- α levels were found to be significantly higher in animals exposed to trauma and progesterone decreased the TNF- α levels significantly at the sixth hour after trauma. .

Conclusion: Our study has shown that progesterone reduced the levels of TNF- α , one of the inflammatory cytokines, at the sixth hour following the spinal cord injury.

Key Words: Spinal cord injury, inflammation, cytokine, progesterone.

8. KAYNAKLAR

1. Sanon A, Rengachary S.S, The history of spinal biomechanics. *Neurosurgery*, 39: 657-665, 1996.
2. Naderi S, Zileli M, Özer AF. Omurga cerrahisinin tarihçesi. Omurga ve spinal kord cerrahisi. Editörler: M. Zileli, AF. Özer, Bölüm:1. Sayfa 1-13, 2002, İzmir
3. Marketos SG, Skiadas PK, Galen. A Pioneer of spine research, *Spine* 24, 2358-2362, 1999.
4. Dohrmann GJ: Experimental spinal cord trauma. *Arc Neurol*, 27: 468- 473, 1972
5. Taoka Y, Okojima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 56. 341-358, 1998.
6. Allen AR: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report. *JAMA* 57: 877- 880, 1911.
7. Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 44: 1027-1040, 1999.
8. Collins WF: A review and update of experiment and clinical studies of spinal cord injury. *Paraplegia*. 21: 204-219, 1983.
9. Osterholm JL: The pathophysiological response to spinal cord injury. The current status of related research, *J Neurosurgery* 40: 5-33, 1974.
10. Schwab ME, Bartholdi D: Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 76; 2: 319-370, 1996.
11. Tator CH: Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 37: 291-302, 1991.
12. Sonntag VKH: History of degenerative and traumatic disease of the spine. In a history of neurosurgery. Greenblott SH (ed). American Association of Neurological Surgeons. Washington, 355-371, 1997.
13. Theodore N, Sonntag V. Spinal surgery. The past century and the next. *Neurosurgery*. 46: 767-777, 2000.
14. Kahn M. Acute spinal cord injury in the rat. Comparison of three experimental techniques, *Can J Neurosci*. 10: 161-164, 1983.
15. Kraus JF, Franti CE, Riggins S, Richards D, Borhoni O. Incidence of traumatic spinal cord lesions. *J. Chrom Dis*. 28: 471-492, 1975.

16. Demediuk P, Saunders RD, Clendenon NR, Means ED, Anderson DK, Horrocks LA. Changes in lipid metabolism in traumatized spinal cord. *Progg Brain Res* 63. 211-226,1985.
17. Hall ED, Wolf DL. A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanisms of post traumatic spinal cord ischemia. *J. Neurosurgery.* 64: 951-961, 1986.
18. Marx JL. Oxygen free radicals linked to many diseases. *Science*, 235: 529-531, 1987.
19. Uzan M. Medulla spinalis yaralanmalarında fizyopatoloji. Hancı M, Aydingöz Ö, (ed). *Medulla spinalis yaralanmaları.* İstanbul: Logos tıp yayıncılığı, 152-161, 2000.
20. Tator CH. Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol* 5: 407-413, 1995.
21. 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.
22. Tator CH, Duncan E.G, Edmonds VE. Neurological recovery, mortality and length of stay after acute spinal cord injury associated with changes in management. *Paraplegia* 33. 254-262, 1995.
23. Popp AJ, Feustel P, Kimelberg HK in. Wilkins RH, Rengachary (ed). *Neurosurgery.* Mc Graw Hill, 1996. pp 2623-2637
24. Tator CH: Spine-spinal cord relation ship in spinal cord trauma. *Clin Neurosurg* 491: 479-494, 1991.
25. Esiri MM: Histology. *Oppenheimiers Diagnostic Neuropathology, Practical Manual.* London: Blackwell Science Ltd; 51-61, 1996.
26. Nemecek S. Morphological evidence of microcirculatory disturbances in experimental spinal cord trauma. *Adv Neurol* 20: 395-405, 1978.
27. Faden AI, Jacops TP. Effect of TRH analogs on neurologic recovery after experimental spinal trauma. *Neurology* 35, 1331-1334, 1985.
28. Kaptanoğlu E, Tuncel M, Palaoğlu S, Konan A, Demirpençe E, Kılınç K. Comparison effect of melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *J. Neurosurg (spine 1)* 93: 77-84, 2000.
29. Kaptanoğlu E, Caner HH, Surucu SH, Akbiyik F. Effect of mexiletine on lipid peroxidation and early ultrastructural findings in experimental spinal cord injury. *J. Neurosurg (spine 2)* 91: 200-204, 1999.

30. Hall ED, McCall JM: A non-glucocorticoid steroid analog of methylprednisolone duplicates its high dose pharmacology in models of central nervous system trauma and neuronal membran damage. *J. Pharm Exp Therap*; 242: 137-142, 1987.
31. Koyanagi I, Tator CH. Effect of a single huge dose of methylprednisolone on blood flow, evoked potentials and histology after acute spinal cord injury in the rat. *Neurol Res* 19. 289-299, 1997.
32. Guha A, Tator CH. Acute cardiovascular effects of experimental spinal cord injury. *J Trauma* 28: 481-490, 1988.
33. Anthes DL, Theriault E, Tator CH. Ultrastructural evidence for arterial vasospasm after spinal cord trauma. *Neurosurg* 39. 804-814, 1996.
34. Bank NL, Hogan EL. Molecular and anatomical correlates of spinal cord injury. *Cent Nerv Syst Trauma* 2. 99-107, 1985.
35. Schanne FA, Kane AB, Young EE. Calcium dependence of toxic cell death: a final common pathway. *Science* 206: 700-702, 1979.
36. Tator CH, Rowed DW: Manegement of acute spinal cord injuries. *Can J Surg*; 27. 289-294, 1984.
37. De La Torre JC. Spinal cord injury: review of basic and applied research. *Spine* 6. 315-335, 1981.
38. Braughler RW, Duncan LA. Interaction of lipid peroxidation and calcium in the pathogenesis of neuronal injury. *Cent Nerv Syst Trauma* 2: 269-283, 1985.
39. Braughler JM and Hall ED. Correlation of methylprednisolone levels in cat spinal cord with its effect on Na-K-ATP'ase, lipid peroxydation and alpha motor neuron functions. *J Neurosurg* 56. 838-844, 1982.
40. Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory aminoacids as a final common pathway for neurological disordes. *N Eng J Med* 330: 613-622, 1994.
41. Nashmi R, Fehlings MG. Rol of voltage gated K channels in the pathophysiology of spinal cord injury. *Modulator* 14, 5-9, 2001.
42. Choi DW. Calcium specific mediated neurotoxicity: Relationship to channel types and role in ischemic damage. *Trends Neurosci* 11. 465-469, 1988.
43. Choi DW: Excitotoxic cell death. *J. Neurobiol* 23, 1261-1276, 1992.
44. Regan FR. The vulnerabiliyt of spinal cord neurons to excitotoxic injury: Comparison with cortical neurons. *Neuroscience Lett* 213: 9-12, 1996.
45. Agrawal SK, Fehling MG. Role of NMDA and non-NMDA inotropic receptors in traumatic spinal cord axonal injury. *J. Neurosci* 17: 1055-1063, 1997.

46. Kehrer JP. Free radicals on mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 23: 21-48, 1993.
47. Anderson DK, Demediuk P. Spinal cord injury and protection. *Ann Emerg Med* 14: 816-821, 1985.
48. White BC, Grossman LI, Krause GS. Brain injury by global ischemia and reperfusion: a theroretical perspective on membrane damage and repair. *Neurology*; 43, 1656-1665, 1993.
49. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*; 41(12): 1819-1828, 1995.
50. Okada Y, Copeland BR, Fitridge R, Koziol JA, Zoppo DGJ. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke*; 25, 1847-1854, 1994.
51. Hartmann A, Yatsu F, Kuschinsky W. Cerebral ischemia and basic mechanisms, Berlin, Springer-Verlog Pres, Heidelberg, pp. 405-410, 1994.
52. Wyllie AH. Apoptosis: an overview. *Br Med Bull* 53. 451-465, 1997.
53. Yeldandi AV, Kaufman DG, Reddy JK: Cell injury and cellular adaptation;in Damjanov I, Linder J (eds): *Anderson's Pathology* (10 th edition). St Louis, Mosby-Year Book Inc, pp. 357-386, 1996.
54. Katoh S, Ikata T, Tsubo M, Hamada Y, Masry MSE: Possible implication of leukocytes in secondary pathological changes after spinal cord injury. *İnjury* 28: 215-217, 1997.
55. Schwartz M, Lazarov-Spigler O, Rapalino O, et al. Potential repair of rat spinal cord injuries using stimulated homologous macrophages. *Neurosurgery* 44: 1041-1046, 1999.
56. Rapalino O, Lazarov-Spiegler O, Agranov E, et al. İmplantation of stimulated homologous macrophages results in partial recovery of paraplegic rats. *Nature medicine* 4: 814-821, 1998.
57. Guilion D, Robertson C. İnhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord. *Ann Neurol* 27: 33-42, 1990.
58. Kuby J. *İmmunology*. 1992 W.H. Freeman and company, 245.
59. Clemens M.J. *Cytokines*, Oxford. 1991 Bios Scientific Publishers Ltd 57-75.
60. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2003; 46: 299-307.
61. Akira S, Taga T, Kishimoto T. IL-6 biology and medicine. *Adv Immunol* 1993; 54: 1-78.

62. Dinarello, CA. (1998). Interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *Int. Rev. Immunol.* 16, 457-499.
63. Allan, S.M., and Rothwell, N.J. (2001). Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2, 734-744.
64. Rothwell, N.J., and Luheshi, G.N. (2000). Interleukin-1 in the brain: biology, pathology, and therapeutic target. *Trends Neurosci.*, 23, 618-625.
65. N. Rothwell, *Brain, Behavior, and Immunity* 17 (2003) 152-157.
66. Holmin S, Mathiesen T, 2000. Intracerebral administration of interleukin-1 beta and induction of inflammation, apoptosis and vasogenic edema. *J. Neurosurg.* 92, 108-120.
67. Touzani O, Boutin H, Chuquet J, Rothwell NJ, 1999. Potential mechanisms of interleukin-1 involvement in cerebral ischemia. *J. Neuroimmunol.* 100, 203-215.
68. Berkenbosch F, 1992. Macrophages and astroglial interactions in repair to brain injury. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 650, 186-190.
69. Fan L, Young PR, Barone FC, Feuerstein GZ, Simth GH, McIntosh TK, 1995. Experimental brain injury induces expression of interleukin-1 beta mRNA in the rat brain. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 30, 125-130.
70. Yamasaki Y, Matsuura N, Shozuhara H, 1995. Interleukin-1 as a pathogenic mediator of ischemic brain damage in rats. *Stroke* 26, 676-681.
71. Dinarello CA. Interleukin-1. In: Thomson AW, editor. *The Cytokine Handbook*. Third edn. Academic Press Limited; 1998. p. 35-73.
72. Aloisi F, Care A, Borsellino G. Production of hemolymphopoietic cytokines by normal human astrocytes in response to IL-1 beta and TNF alpha. *J Immunol* 1992; 149: 2358-2366.
73. Guilian D, Chen J, Ingemon JE, George JK, Nojonen M. The role of mononuclear phagocytes in wound healing after traumatic injury to adult mammalian brain. *J Neurosci* 1989; 9: 4416-4429.
74. Lees GJ. The possible contribution of microglia and macrophages to delayed neuronal death after ischemia. *J Neurol Sci* 1993; 114: 119-122.
75. Pshenichkin SP, Szekely AM, Wise BC. Transcriptional and posttranscriptional mechanisms involved in the IL-1, steroid, and protein kinase C regulation of nerve growth factor in cortical astrocytes. *J Neurochem* 1994; 63: 419-428.
76. Mocchetti I, Wrathall JR. Neurotrophic factors in central nervous system trauma. *J. Neurotrauma* 1995; 12: 853-870.

77. Sanderson KL, Raghupathi R, Saatman KE, Marin D, Miller G, McIntosh TK. Interleukin-1 receptor antagonist attenuates regional neuronal cell death and cognitive dysfunction after experimental brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 17: 1118-1125.
78. Bazzoni E, and Beutler B. (1996) *Neze Engl. I. Med.* 334, 1717-1725.
79. Engelmann H, Aderka D, Rubinstein M, Rotman D, and Wallach D, (1989), *I. Biol Chem* 264;11974-11980.
80. Seckinger P, Kaaz S, and Dayer JM. (1988) *I. Exp Med* 167, 1511-1516.
81. Nöroimmünolojide Temel Kavramlar, TND, 1997, 1-7.
82. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni, Cilt 13, Sayı 3, 2003.
83. Andreas Eigler, Bhanu Sinha, Gunther Hartmann and Stefan Endres, Taming TNF: strategies to restrain this proinflammatory cytokine. *Review immunology today*, october 1997, Vol. 18, No: 10, 487-492.
84. Yakovlev AG, Faden AL. Sequential expression of c-fos protooncogene, TNF alpha and dynorphin genes in spinal cord following experimental traumatic injury. *Mol Chem Neuropathol* 1994; 23: 179-190.
85. Wang C-Y, Mayo MW, Baldwin Jr AS, TNF-and cancer therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF-kappa B. *Science* 1996; 274: 784-787.
86. Streit WJ, Semple-Rowland S, Hurley SD, et al. Cytokine mRNA profiles in contused spinal cord and axotomized facial nucleus suggest a beneficial role of inflammation and gliosis. *Exp. Neurol* 1998; 152: 74-87.
87. Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, et al. Activated protein C reduces the severity of compression injury in rats by inhibiting activating of leukocytes. *J Neurosci* 1998; 18: 1393-1398.
88. Bethea JR, Nagashima H, Acosta M, et al. Systematically administered interleukin-10 reduced TNF-alpha production and significantly improves functional recovery following traumatic spinal cord injury in rats. *Neurotrauma* 1999; 16: 851-863.
89. Benveniste EN. Inflammatory cytokines within the central nervous system: sources, function, and mechanism of action. *Am J Physiol* 1992; 263: C1-C6.
90. Ghirnikor RS, Lee YL, He TR, Eng LF. Chemokine expression in rat stab wound brain injury. *J Neurosci Res* 1996; 46: 727-733.
91. Cunha FG, Moncada S, Liew FY. Interleukin-10 inhibits the induction of nitric oxide synthase by interferon-gamma in murine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 183: 1155-1159

92. Bethea JR, Castro M, Keane RW, et al. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappa B activation. *J Neurosci* 1998; 18: 3251-3260.
93. Tureen J. Effect of recombinant human tumor necrosis factor-alpha on cerebral oxygen uptake, cerebrospinal fluid lactate, and cerebral blood flow in the rabbit: role of nitric oxide. *J Clin Invest* 1995; 95: 1086-1091.
94. Pan W, Kastin A, Bell R, Olsan R. Upregulation of tumor necrosis factor-alpha transport across the blood barrier after acute compressive spinal cord injury. *J neurosci* 1999; 19: 3649-3655.
95. Hausmann ON, Hu W-H, Keren-Raifman T, et al. Spinal cord injury induces expression of RGS7 in microglia/ macrophages in rats. *Eur J Neurosci* 2002 (in pres).
96. Cheng B, Christakos S, Mattson MP. Tumor necrosis factors protect against metabolic-excitotoxic insults and promote maintenance of calcium homeostasis. *Neuron* 1994; 12: 139-153.
97. Barger SW, Horster D, Furukawa K, et al. Tumor necrosis factor alpha and beta protect neurons against amyloid beta-peptide toxicity: evidence for involvement of a MB-binding factor and attenuation of peroxide and Ca accumulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9328-9332.
98. Lavine SD, Hofman FM, Ziokovic BV. Circulating antibody against tumor necrosis factor alpha protects rat brain from reperfusion injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18: 52-58.
99. P.F. Hall, Role of cytochromes P-450 in the biosynthesis of steroid hormones, *Vitam. Horm.* 42 (1985) 315-368.
100. S. Lieberman, Y.Y. Lin, Reflections on sterol sidechain cleavage process catalyzed by cytochrome P450(scc), *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 78 (2001) 1-14.
101. T. Tajima, K. Fujieda, N. Kouola, J. Nakae, W.L. Miller, Heterozygous mutation in the cholesterol side chain cleavage enzyme (P450 scc) gene in a patient with 46, XY sex reversal and adrenal insufficiency, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86 (2001) 3820-3825.
102. RC: Brown, V. Papadopoulos, Role of the peripheral-type benzodiazepine receptor in adrenal and brain steroidogenesis, *Int. Rev. Neurobiol.* 46 (2001) 117-143.
103. DM. Stocco, Clinical disorders associated with abnormal cholesterol transport: mutations in the steroidogenic acute regulatory protein, *Mol. Cell. Endocrinol.* 191 (2002) 19-25.
104. MR. Waterman, Steroidogenesis, StAR and PBR: is there light at the end of the tunnel?, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 217 (1998) 121-122.

105. WL. Miller, JF. Strauss, Molecular Pathology and mechanism of action of the steroidogenic acute regulatory protein, *StAR*, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 69 (1999) 131-141.
106. JJ: Lambert, SC. Harney, D. Belelli, JA. Peters. Neurosteroid modulation of recombinant and synaptic GABAA receptors, *Int. Rev. Neurobiol.* 46 (2001) 177-205.
107. R. Rupprecht, JM. Reul, T. Trapp, S. Van, C. Wetzel, K. Domm, W. Ziegelgansberger, F. Holsboer, Progesterone receptor-mediated effects of neuroactive steroids, *Neuron* 11 (1993) 523-530.
108. H. Coirini, M. Guezou, P. Liere, B. Delespierre, A. Pianos, B. Eychenne, M. Schumacher, R. Guennoun, 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase expression in rat spinal cord, *Neuroscience* 113 (2002) 883-891.
109. MJ. Attella, A. Nattinville, DG. Stein, Hormonal state affects recovery from frontal cortex lesions in adult female rats, *Behav. Neurol. Biol.* 48 (1987) 352-367.
110. DG. Stein, Brain Damage, sex hormones and recovery: a new rol for progesterone and estrogen ?, *Trends Neurosci.* 24 (2001) 386-391.
111. RL. Roof, R. Duvdevani, JW. Heyburn, DG. Stein, Progesterone rapidly decreases brain edema: treatment delayed up to 24 hours is stil effective, *Exp. Neorol.* 138 (1996) 246-251.
112. RL. Roof, R. Duvdevani, L. Braswell, DG. Stein, Progesterone facilitates cognitive recovery and reduces secondary neuronal loss caused by cortical contusion injury in male rats, *Exp. Neurol.* 129 (1994) 64-69.
113. WH. Ju, Survival of motoneurons following axotomy is enhanced by lactation or by progesterone treatment, *Brain Res.* 491 (1989) 379-382.
114. N. Jiang, M. Chopp, H. Feit, Progesterone is neuroprotective after transient middle cerebral artery occlusion in male rats, *Brain Res.* 735 (1996) 101-107.
115. AJ. Thomas, RP. Nockels, HQ. Pan, CI. Shaffrey, M. Chopp, Progesterone is neuroprotective after acute experimental spinal cord trauma in rats, *Spine* 24 (1999) 2134-2138.
116. L. Guth, Z. Zhang, E. Roberts, Key role for progesterone in combination therapy promotes recovery after spinal cord injury, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 (1994) 12308-12312.
117. MC. Gonzalez Deniselle, JJ. Lopez-Costa, JP. Saavedra, L. Pietranera, SL. Gonzales, L. Garay, R. Guennoun, M. Schumacher, AF. De Nicola, Progesterone neuroprotection in the wobbler mouse, a genetic model of spinal cord motor neuron disease, *Neurobiol. Dis.* 11 (2002) 457-468.

118. LW. Duchen, SJ. Strich, An hereditary motor neurone disease with progressive denervation of muscle in the mouse: the mutant 'wobble', *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 31 (1968) 535-542.
119. DL. Price, DW. Cleveland, VE. Koliatsos, motor neurone disease and animal models, *Neurobiol. Dis.* 1 (1994) 3-11.
120. RL. Roof, SW. Hoffman, DG. Stein, Progesterone protects against lipid peroxidation following traumatic brain injury in rats, *Mol. Chem. Neuropathol.* 31 (1997) 1-11.
121. RL. Roof, ED. Hall, Gender differences in acute CNS trauma and stroke: neuroprotective effects of estrogen and progesterone, *J Neurotrauma* 17 (2000) 367-388.
122. SS. Smith, Progesterone administration attenuates excitatory aminoacid responses of cerebellar Purkinje cells, *Neurosci.* 42 (1991) 309-320.
123. T. Ogata, Y. Nakamura, K. Tsuji, T. Shibata, K. Kataoka, Steroid hormones protect spinal cord neurons from glutamate toxicity, *Neurosci.* 55 (1993) 445-449.
124. M. Schumacher, R. Guennoun, G. Mercier, F. Desarnaud, P. Lacor, J. Benavides, B. Ferzaz, F. Robert, EE. Baulieu, Progesterone synthesis and myelin formation in peripheral nerves, *Brain Res. Rev.* 37 (2001) 343-359.
125. H. Koenig, M. Schumacher, B. Ferzaz, AN. Do Thi, A. Ressouches, R. Guennoun, I. Yung-Testas, P. Robel, Y. Akwa, EE. Baulieu, Progesterone synthesis and myelin formation by Schwann cells, *Science* 268 (1995) 1500-1503.
126. F. Robert, R. Guennoun, F. Desarnaud, A. Dothi, Y. Benmessahel, EE. Baulieu, M. Schumacher, Synthesis of progesterone in Schwann cells: regulation by sensory neurons, *Eur. J. Neurosci.* 13 (2001) 916-924.
127. Liqun 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) 12 (3), 276-284.
128. Sonia L. Carlson, Mark E. Parrish, Joe E. Springer, Ketah Doty, and Lee Dossett, Acute inflammatory response in spinal cord following impact injury, *Experimental Neurology* 151, 77-88 (1998).
129. Drew, P.D., Chavis, J.A., 2000. Female sex steroids: effects upon microglial cell activation. *J. Neuroimmunol.* 111, 77-85.
130. Polan, M.L., Loukides, J., Nelson, P., Carding, S., Diamond, M., Walsh, A., Bottomly, K., 1989. Progesterone and estradiol modulate interleukin-1 beta messenger ribonucleic acid levels in cultured human peripheral monocytes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 69, 1200-1206.

131. Salzman, A.L., Linn, S.C., Szabo, C., 2000. Progesterone inhibits inducible nitric oxide synthase mRNA expression in human intestinal epithelial cells. *Int. J. Mol. Med.* 6, 209-216
132. Jun He, Chheng-Orn Evans, Stuart W. Hoffman, Nelson M. Oyesiku, Donald G. Stein, Progesterone and allopregnanolone reduce inflammatory cytokines after traumatic brain injury, *Experimental Neurology* 189 (2004) 404-412.
133. Edward H. Pettus, David W. Wright, Donald G. Stein, Stuart W. Hoffman, Progesterone treatment inhibits the inflammatory agents that accompany traumatic brain injury, *Brain Research* 1049 (2005) 112-119.