

# SEREBRAL İSKEMİDE İNFLAMASYON VE SİTOKİNLER

Okay Sarıbaş\*

Bir zamanlar lökositlerin serebral infarkt dokusuna sadece debrisleri toplamaya geldiğine inanılırdı, oysa şimdilerde infarktın gelişmesi ve ikincil doku hasarındaki önemli rolleri anlaşıldı. Bu makalede serebral iske mi/reperfüzyonda oluşan inflamasyonun etkileri ve altta yatan mekanizmalar teorik olarak kısaca ele alınmakta, konunun nöroloji klinik pratiğindeki önemi trombolitik ve anti-adezyon moleküllü tedavisi uygulamalarında son yıllarda edinilen bilgiler ışığında tartışılmaktadır.

## Lökosit aracılı serebral doku hasarının mekanizmaları:

İnfarkt sonrası inflamatuvar süreçte lökosit aracılı doku hasarı birden çok mekanizma aracılığıyla oluşur. Bunların başlıcaları şu şekilde sıralanabilir: *1-Lökositlerin endotele adezyonu ve aggregasyonu sonucu eritrositlerin mikrosirkülasyondaki akımının engellenmesi:* Bu olay mikrovasküler oklüzyon, kollateral dolaşımın giderek yetersizleşmesi ve rekanalizasyon sağlanmasını takiben etkili doku reperfüzyonu olmaması ("no-reflow" fenomeni) ile sonuçlanır. *2-Toksik serbest oksijen radikalleri ile proteaz, gelatinaz ve kollagenaz grubu enzimlerin aktive lökositlerden salınımı:* Bu mekanizma direkt sitotoksisite yanında endotel, permeabilite bariyeri ve ekstraselüler matriks hasarına da yol açmakta, sonuçta ikincil kanama ve ödem gelişimine aracılık etmektedir. *3-Lökositlerden fosfolipaz aktivasyonu sonucunda prostaglandin ve lökotrien grubu maddelerin salınımı:* Bu maddeler vazomotor reaktivite ve vasküler permeabilite değişiklikleri yanında platelet aktivasyonuna da yol açarak olumsuz yönde etkili olurlar. *4-Aktive lökositlerden sitokinlerin salınımı:* Salınan proinflatuvar ve kemoatraktan sitokinler direkt veya indirekt nöronal hasara neden olurlar. *5-Apoptoz indüksiyonu:* İnflatuvar hücreler apoptotik nöronal ölüme çeşitli yollardan artırılır (4,10,36).

## Sitokinlerin serebral iske mi-reperfüzyondaki rolü:

Sitokinler hücreler arası ilişkilerin sağlanmasında önemli olan küçük polipeptid molekülleridir. Genellikle dış stimullara yanıt olarak salındıkları ve nor-

mal homeostasisde önemsiz oldukları kabul edilir (29). Serebral iske mi ve/veya reperfüzyonda proinflatuvar sitokin kaskadının aktive olduğu bilinmektedir. Bu süreç TNF $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  artışı ile başlamakta, bunu IL-6, IL-8 gibi diğer proinflatuvar ve IL-4, IL-10 gibi anti-inflatuvar metabolitlerin sentez ve salınımı izlemektedir (8).

**İnterlökin-1 (IL-1 $\beta$ ):** Esas olarak aktive makrofajlarda sentezlenmekle birlikte endotel, astrosit, fibroblast ve nöronlardan da salınabilir. İnflatasyondaki başlıca etkisi prostaglandin, kollagenaz, fosfolipaz A<sub>2</sub>, IL-8, TNF $\alpha$ , IL-6, CSF ve kendi salınımını indüklemesidir (28). Ayrıca lokal endotelin protrombotik özellik kazanmasına PAI-1, TF, PAF ve endotelin-1 salınımını artırarak, tPA salınımını ise azaltarak yol açmaktadır (37).

DeneySEL MCAO'da birinci saatte upregüle olduğu ve pik düzeye 6-12. saatlerde çıktığı gösterilmiştir. Geçici serebral iskemiden sonra IL-1 ekspresyonu artışı daha belirgindir. Reperfüzyondan sonra, yarım saat gibi kısa bir sürede iskemik kortekste glialar ve vasküler endotelde IL-1 $\beta$  gösterilmiştir. IL-1 ekspresyonu indüksiyonunun NMDA reseptör aktivasyonu sonucu olduğu sanılmaktadır. Endojen IL-1'in serebral iskemide NMDA yollu eksitotoksik nöron ölümüne aracılık yaparak, ICAM-1 gibi adeziv molekülleri indükleyip lökosit-endotel adezyonunu artırarak ve endotel üzerindeki etkileri ile lokal trombozisi indükleyerek olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca oluşan serebral ödemin artmasına da yol açmaktadır. Sistemik olarak ise akut faz reaktanlarının en önemli stimulanlarından biri IL-1'dir. IL-1 $\beta$ 'nin tüm bu olumsuz etkileri IL-1ra tarafından inhibe edilmektedir (3,8,13)

**Tümör nekrotizan faktörü- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ):** Makrofaj, nöron, astrosit, vasküler düz kas hücreleri ve fibroblastlardan salınır. IL-1 $\beta$ 'ya benzer şekilde vasküler endotelin protrombotik özellikler kazanmasına, kemotaktik maddelerin salınımına ve endotelial adezyon moleküllerinin ekspresyonuna aracılık eder. TNF $\alpha$  kendi salınımı yanı sıra IL-1 $\beta$ , IL-6 ve CSF ekspresyonunu artırır (2).

Fokal serebral iskemide birinci saatte ekspresyon ve salınımı artar, 12. saatte pik yapar ve 48. saatte sonlanır. Artan TNF $\alpha$  başlıca nöronal ve mikrogial kaynağıdır. Direkt nörotoksik olmamakla birlikte

\* Prof. Dr. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Ankara

başlıca koagülasyon kaskadını aktive edip hasarı artırıcı yönde etkimektedir. Ayrıca lökosit aktivasyonunu ve lökosit-endotel adezyonunu artırır. Bazı çalışmalarda bu etkilerle perdelenmiş ve antioksidan süreçleri indüklemekle çalışan nöroprotektif etkisi olduğu da ortaya konmuştur (8).

**İnterlökin-6 (IL-6):** Pleiotropik bir sitokindir yani hem pro hem de anti-inflamatuar etkilidir. Özellikle hepatositlere etki ederek CRP ve fibrinojen sentezini artırmak suretiyle akut faz reaksiyonunu regüle etmektedir. NMDA toksisitesini invitroda azalttığı ve interferon  $\gamma$ , TNF $\alpha$ , granülosit-CSF ve MIP-2 düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir. Ancak özellikle yüksek konsantrasyonlarda nöronal dejenerasyonu artırdığı ve astrositler üzerinde mitojenik etki ile reaktif gliozisi indüklediği de saptanmıştır (8,29).

Hayvan modellerinde IL-6'nın postiskemik 3. saatte arttığı ve bu artışın en az 96 saat sürdüğü gösterilmiştir. Klinik iskemik inmede kan ve BOS düzeyinin lezyon boyutu ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (3). Beyinde kaynağı tam olarak tespit edilmemiş olmakla beraber IL-1 $\beta$  ve TNF $\alpha$  stimülasyonu ile astrositlerin IL-6 eksprese edebilecekleri görülmüştür. Reperfüzyon hasarına katkısı da tam olarak saptanamamıştır. Makrofajlar için kemoatraktan işlevi yapar. Maksimum düzeye 2-3 gün gibi geç devrede çıkması nedeniyle infarkt rezolüsyonunda rolü olduğu üzerinde durulmuştur. Yani iyileştirici yönde çalışır. Burada rol alan başlıca mekanizma ise IL-1 reseptör antagonisti (IL-1ra) sentezini stimüle etmesidir.

**İnterlökin-8 (IL-8):** Monosit, fibroblast ve endotel yapılmaktadır. Mac-1'e nötrofil adezyonu kapasitesini artırır. Ayrıca nötrofiller için aktivatör ve kemoatraktan işlev gösterir. Esas etkisi kemotaktik olmakla birlikte nötrofillerde reaktif oksijen radikalleri sentezini artırdığı ve endotel permeabilitesinin artışına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. İskemide TNF $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  artışını takiben artar ve bu artış bir iki hafta gibi uzun bir süre devam eder (20).

**Transforming growth faktör- $\beta$  (TGF $\beta$ ):** Serebral iske mi reperfüzyonda 2.-7. gün gibi geç dönemde yükselir ve büyük ölçüde nöroprotektif etki yapar. Glutamat maruziyetinde nöron survivalini artırdığı ve makrofajlardan oksijen metabolitlerinin salınımını bloke ettiği belirlenmiştir (18).

**Platelet aktive edici faktör (PAF):** İskemide aktive olan fosfolipaz A $_2$ 'nin metabolitlerindedir, bir sitokin değildir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda direkt nörotoksik olan PAF, daha düşük dozlarda inflamasyonu stimüle eder. Nötrofillerden direkt olarak serbest oksijen radikalleri salınımına yol açması ve

endotelial PAF'ın adeziv etkisi başlıca mekanizmalarıdır. Beyin ödemi ve kan-beyin bariyeri bozunumunda da rol alır. Ayrıca platelet ve nötrofil agregasyonu ile vazokonstrüksiyona da neden olur (18).

### **Nötrofillerin serebrovasküler endotele adezyonu ve iskemik dokuya geçişi:**

Nötrofillerin vasküler endotel yapışması ve daha sonra dokuya geçişi reperfüzyon hasarına yol açan inflamatuvar reaksiyonun ilk basamağıdır. Bu işlem selektin, integrin ve immunglobulin süperailisi grubu olarak sınıflandırılan üç değişik adezyon molekülü aracılığıyla meydana getirilen çok aşamalı bir süreçtir (35).

İlk aşama henüz aktive olmamış olan lökositlerin endotele gevşek tutunması ve endotel boyunca yuvarlanma hareketi yapmasıdır. Bu olaya endotel üzerinde eksprese olan E ve P-selektin ile lökosit üzerinde eksprese olan L-selektin aracılık eder. P-Selektin endotelde Weibel-Palade cisimciklerinde ve trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinde depolanmış olarak bulunmakta ve stimülasyonu takiben dakikalar içinde yüzeyde sunularak nötrofil membranındaki PSGL-1'i yüksek afinite ile bağlayarak ilk tutunmayı sağlamaktadır (31).

Takiben alanındaki endotel çeşitli sitokinlerle aktive olarak selektinlerin yanı sıra ICAM-1 ve ICAM-2'yi de eksprese etmekte, endotel yüzeyindeki ICAM-1'in nötrofil membranındaki karşıt reseptörü olan  $\beta_2$ -integrinlerle etkileşimi ile ikinci aşama olan lökosit-endotel sıkı adezyonu gerçekleşmektedir. Bu aşamada denovo sentezlenen E-selektin de katkıda bulunmaktadır. Non-nötrofilik lökositler için bu olayda VCAM-1 ve  $\beta_1$ -integrinler (VLA-4) rol almaktadır. Nötrofil membranında sunulan  $\beta_2$ -integrin heterodimerleri sadece endotele bağlanmayı değil aynı zamanda nötrofillerin birbirlerine ve ECM'de yer alan fibronektin ve laminine de adezyonunu sağlamaktadır.  $\beta_2$ -integrinler yapısal olarak ortak CD18 ve farklı CD11 subünitleri içerirler. Bu grupta yer alan  $\alpha_L\beta_2$  integrin [CD11a/18; LFA-1] ICAM-1 ve 2 ile,  $\alpha_M\beta_2$  integrin [CD11b/18; Mac-1 ve Mo-1] sadece ICAM-1 ile,  $\alpha_P\beta_2$  integrin [CD11c/18; P150-95] ise hem ICAM'lar hemde kompleman fragmanlarıyla bağlanmaktadır. İntegrinler bu aşamada daha geç dönemde meydana gelen lökositlerin yassılaşması ve agregasyonuna da aracılık eder. Lökositler daha sonra interselüler kavşaklardan PECAM-1 da katkısıyla dokuya geçer ve kemotaktik gradiente göre doku içerisinde ilerler (12,29).

Tüm adezyon moleküllerinin serebral iske mi/reperfüzyonda up-regüle ve aktive olmuş duruma geçtiği gösterilmiştir: P-selektin postkapiller mikrovenül-

lerde çok erken, E-selektin ise daha geç dönemde up-regüle olmaktadır (16,26). PAF ve IL-8 ile uyarım sonucu CD11/CD18 integrinler intraselüler granüllerden membrana mobilizasyon göstermektedir. ICAM-1 mRNA birinci saat sonunda artmakta ve 10. saate doğru pik yapmaktadır. Bu ICAM-1 yüzey proteininin 2. saatte artmaya başlaması ve 4. güne doğru en yüksek düzeye çıkmasına karşılık düşmektedir (14,21). Selektinler ve ICAM-1 grubu adezyon moleküllerinin upregülasyonuna neden başlıca olan aracı maddeler TNF $\alpha$  ve IL-1'dir. Endotelial P-selektin lökositler yanı sıra endotelde de üretilen serbest süperoksit radikalleri, ICAM-1 ise hidrojen peroksit ile upregüle olur. Hidrojen peroksit ayrıca PAF sentezini artırarak integrin moleküllerini indükler. Bu nedenle antioksidan tedavi reperfüzyon hasarı tedavisinde denenmiş ancak tartışmalı sonuçlar ortaya koymuştur (7).

#### **Nötrofillerin iskemi ve reperfüzyon hasarındaki rolü:**

Nötrofillerin reperfüzyonda oluşan sekonder dokü hasarında anahtar rol oynadığı başlıca üç tip kanıta dayanmaktadır (8,15): *1-Reperfüzyonda oluşan hücresel hasar genişlemesi ile nötrofil birikimi ve adezyonunun bariz eş zamanlılık göstermesi:* Lökositlerin mikrosirkülasyonda adezyon ve agregasyon ile birikimi ilk bakışta reperfüzyon hasarı ile ters düşen bir fenomen olarak düşünülse de endotel şişmesi ile birlikte neden oldukları no-reflow olayı, diğer olumsuz etkilere ek olarak rekanalizasyonun sağlanması ardından dokuda yeterli perfüzyon olmaması ve oksijen ile diğer maddelerin tıpkı devam eden oklüzyonda olduğu gibi yetersiz düzeyde kalması ile sonuçlanmaktadır. Ratlarda MCA tıkanması modellerinde nötrofillerin reperfüzyonun 6. saatinde dokuda bariz oranda toplandığı gösterilmiştir. Bu kalıcı iskemiyeye göre daha erken ve daha fazla miktarda olmaktadır. Reperfüzyonda lezyon boyutu genellikle 6.-24. saatler arasında hızla büyüme göstermekte ve yaklaşık 48. saatte kalıcı oklüzyonda oluşan boyuta erişmektedir. Lezyonun büyümesi dönemi aynı zamanda nötrofil toplamasının da en çok olduğu zamana denk düşmektedir. Bu oluşan iskemik hücre hasarına nötrofil toplanmasının direkt etkisi olduğu düşündürmektedir (27). *2-Nötropeni ve antinötrofil tedavinin reperfüzyon basarı üzerinde genellikle olumlu olduğunun gösterilmiş olması:* Lökositöz insanlarda strok için hem bir risk faktörüdür hem de varlığı kötü prognozu işaret eden bir fenomendir. Birçok deneysel çalışmada da hayvanlarda nötropenin indüklenmesi ve antinötrofil ajanların verilmesi ile infarkt volümü, beyin ödemi, mortalite ve defisit azaldığı, rCBF, SEP, EEG amplitüdü gibi parametrelerin ise arttığı gösterilmiştir (18). *3-Nötrofil adezyonunu engelleyen*

*yaklaşımlardan olumlu yanıt alınması:* Adezyon moleküllerini direkt olarak down-regüle eden veya antagonist etkisi olan maddelerin reperfüzyon hasarını azaltıcı yönde etkilediği bir çok çalışmada gösterilmiştir. Genetik olarak ICAM yapamayan ratlarda geçici MCAO modelinde oluşan infarkt volumu daha küçük ve reperfüzyon kan akımı daha fazla bulunmuştur (9). Çeşitli hayvan reperfüzyon modellerinde anti-CD18 Ab, anti-ICAM Ab, anti-CD11b Ab, anti-Mac-1 Ab, fibronektin peptidler (CS-1, FN-V) ve laminin peptidler (TG-1) gibi anti-adezyon maddeler de benzer şekillerde olumlu etki göstermiştir (18). Bu tip maddeler kalıcı iskemi modellerinde genel olarak etkili değillerdir (39).

#### **Mononükleer fagositler ve lenfositlerin serebral iskemi/reperfüzyondaki rolü:**

Mononükleer fagositik hücreler, infarkt sahasına nötrofillerden daha geç (genellikle ilk 48. saatin sonunda) gelir ve daha uzun süre kalırlar. IL-1 ve TNF $\alpha$ , MCP-1 gen ekspresyonunu artırarak monosit ve makrofajlar için kemotaktik etki yapar. MIP-1 $\alpha$ , IL-6 ve ICAM-1 upregülasyonu da bu toplanmada rol oynar. Mikroglialar iskemiye takiben saatler içinde laminin gibi faktörlerle aktive olarak fagositler özellik kazanırlar. Makrofajlara göre infarkt sahasına çok daha erken gelir ve uzun süre kalırlar. Hem sitokin yapımı ile hem de glutamat dışı bir madde salgılayıp NMDA aktivasyonu ile hasarı artırıcı yönde çalışırlar. Lenfositler ve NK hücreleri infarkt sahasına 3. gün gibi daha geç dönemde gelirler. Bu VCAM-1'in vasküler çeperde artmasını takip eder. Mononükleer fagosit ve lenfositlerin infarkt alanı iyice demarke olduktan sonra geldikleri için gecikmiş hasara yaptıkları katkı tartışmalı kalmıştır. Ayrıca mononükleer fagositlerin TGF $\beta$  gibi nörotrofik maddeleri saldırdığı da hesaba katılınca, bazı yazarlar bu hücrelerin infarkt sahasındaki selüler debris ve ölecek kadar hasta nöronları uzaklaştırıp kurtulabilecek nöronlara olumlu ortam hazırladıkları şeklinde yararlı bir etkilerinin olabileceğini savunmuşlardır (18).

#### **Kemokinlerin serebral iskemi-reperfüzyondaki rolü:**

Lökotrien B<sub>4</sub> klasik kemoatraktan olup PMNL ve monositler için kemotaktik etki gösterir. Lökositlere spesifik etki gösteren kemoatraktif sitokinler kemokin olarak adlandırılır. Bunlar CXC-kemokinler ve CC-kemokinler olarak iki ana gruba ayrılırlar. İlk grup nötrofillere ikinci grup ise monosit, T-lenfosit, düz kas hücreleri ve makrofajlara etki gösterir. Bakteriyel lipopolisakkarit, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve TNF $\alpha$  kemokin sentez ve salınımını indükler.

Serebral iskemide lökotrien B<sub>4</sub>, CINC, IL-8, MCP-1, MIP-1α ve IP-10 gibi kemokinlerin rolü az sayıda çalışmada araştırılmıştır. Kalıcı MCAO modellerinde lökotrien B<sub>4</sub>'ün 12. saatte upregüle olduğu, 5. günde maksimum düzeye çıktığı ve aktivasyonun 15 gün sürdüğü gösterilmiştir. Geçici MCAO modellerinde ise bu upregülasyon reperfüzyonun 1 saat sonrasında yani çok daha erken olmaktadır (22). Bir kemokin olan CINC'in hipertansif rat kalıcı MCAO modelinde 6. saatte artmaya başladığı, 12. saatte maksimum düzeyde eksprese olduğu ve bunun 24. saat devam ettiği gösterilmiştir. MCP-1 ve MIP-1α'in ise aynı modelde astrositlerde 6-48. saatlerde, makrofaj ve mikroglialarda ise 4. günde eksprese olduğu belirlenmiştir (23). IP-10'un ise kalıcı MCAO'da bifazik ekspresyonu (birinci pik:6.saat, 2.pik: 10-15.günler) olduğu gösterilmiştir. İlk ekspresyon nöronal ikincisi ise astrosit kaynaklıdır. Bu kemokin pleiotropik etkili olup, fokal iskemide uzamış lökosit birikimi yanısıra astrosit migrasyon/aktivasyonu ve nöronal sprouting'de de rol oynamaktadır. Anjioplasti uygulamasını takiben de düzeyinde yükselme olduğu saptanmış ve bunun endotel kapamasıyla ilişkili olabileceği savunulmuştur (34).

#### **Sitokin aracılı trombin ve trombosit aktivasyonu:**

IL-1 ve TNFα direkt trombin sentezini artırarak, trombomodulin/protein C sistemini ve fibrinin PAI-1 ile yıkımını azaltarak trombus oluşumunu indükler (30). Bu sitokinler ayrıca endotelden prostaglandin I<sub>2</sub>, PAF ve NO salınımını artırır. PAF elastaz benzeri proteaz sentezi ile transmigrasyonu kolaylaştırırken, diğer taraftan lökosit yassılaşması ve geç dönemde de anjiogenezde rol oynar. Trombosit aggregasyon ve adezyonunu artırır. NO ise endotelde sitokin yapımını ve sitokin aracılı adezyon molekülü ekspresyonunu azaltır. Bu etkisi NF-κB inhibitörünü indüklemesi ve tonik olarak stabilize etmesinden kaynaklanır. Ayrıca trombosit aggregasyon ve adhezyonunu inhibe eder. Ancak prostaglandinlerle birlikte mikrovasküler reolojiyi değiştirerek lökosit ekstravazyonunu kolaylaştırdığı sanılmaktadır. IL-1α direkt doku faktörünü indükler. (24). İskemide zaten KBB bozulumu nedeniyle ekpose olmuş durumdaki TF, faktör-VII ve X üzerinden koagülatif sistemi aktive eder. Bu ayrıca trombosit aktivasyonuna da yol açar. Subendotelial matriksdeki von Willebrandt faktörü ve fibrinojen ile karşılaşan trombositler, P-selektin etkisi altında endotel üzerinde yuvarlanarak inflamasyon bölgesine gelirler. Düşük akım hızında başlıca integrin-α<sub>IIb</sub>β<sub>3</sub> (Glikoprotein IIb/IIIa) reseptörleri fibrinojene, yüksek hızlı akımda ise Glikoprotein Ib-α reseptörleriyle von Willebrandt faktörüne bağlanırlar (12).

#### **Akut iskemide mikrovasküler sistem:**

Fokal doku iskemisi sonucu doku oksijenizasyonu düştüğünde 1-Mikrovasküler permeabilite bariyeri ortadan kalkar, 2-Mikrovasküler endotel, lökosit adezyon moleküllerinin reseptörlerini eksprese eder, 3-Bazal lamina ve ekstraselüler matriks yapısal antiijenlerini progresif olarak kaybeder ve 4-Mikrodamarlarda hücre-matriks etkileşimi başlar.

Mikrovasküler permeabilite bariyeri üç kısımdan oluşur: *1-Kan-beyin bariyeri:* Esas olarak endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların oluşturduğu bu kısım substrat transferini ayarlar. *2-Bazal Lamina:* Kan hücresel elemanlarının ekstravazyonunu engelleyen başlıca kısımdır. Sistemin üç boyutlu yapısının sürdürülebilmesi için gereklidir. *3-Perivasküler astrositler:* Mikrovasküler sistemin parankimal parçası olup hem endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların hemde sistemin antijenik özelliklerin oluşumuna katkı yapar. Bazal lamina ve ekstraselüler matriksin yapısında bulunan laminin, fibronektin, kondroitin sülfat ve proteoglikanları sentezler. Kollajen astrosit endotelial hücre maturasyonunda aracılık yaparken, endotel kaynaklı ekstraselüler matriks komponentleri de astrositlerin büyüme ve glutamin sentez enzim aktivasyonu için gereklidir. Adezyon molekülleri ve reseptörleri bu sistemin integrasyonu için anahtar rol almaktadır. Endotel, bazal lamina ve astrosit podositleri arasındaki bağlantı esas olarak bu moleküller sayesinde başarılı. Örneğin endoteldeki α<sub>1</sub>β<sub>1</sub> integrin ekstraselüler matriksde laminin-1 ve tip-4-kollajene, podositte eksprese olan α<sub>6</sub>β<sub>4</sub> integrin ise ekstraselüler matriksde laminin-5'e bağlanır (11).

Deneyisel ortaserebral oklüzyonu sonrası α<sub>1</sub>β<sub>1</sub> ve α<sub>6</sub>β<sub>4</sub> integrin hızla, laminin-1 ve 5, fibronektin ve kollajen-4 daha yavaş olarak düşer. Bu mikrovasküler yapının bozulmasıyla sonuçlanır, İlk 24. saatin sonunda belirgin hale geçen bu bozulmanın hemorajik transformasyona eğilim oluşturduğu gösterilmiştir.

Bazal laminada meydana gelen yapısal bozulmanın başlıca nedenleri: *1-Plazminojenin endojen plazminojen aktivatörleri ile aktive edilmesi:* Plazmin induksiyonu yaygın olup hem iskemik hem de noniskemik dokuda, endotelde ve astrositlerde meydana gelmektedir. Plazmin başlıca matriks laminini yıkar. Bir diğer etkisi MMP-1 (kollagenaz) ve MMP-3'ü aktive etmesidir. *2-Metalloproteinazların (MMP) sekresyonu:* Serebral iskeminin inflamatuvar fazında aktive olan MMP-1, MMP-2 (Gelatinaz-A) ve MMP-9 (Gelatinaz-B) kollajen 4'ü MMP-2 ve MMP-9 ise laminini yıkmaktadır. Bunlardan plazmada ölçülebilen gelatinaz A ve B'nin rat MCAO modelinde 24. Saatte pik yaptıkları gösterilmiştir. *3-Lökosit granüllerindeki en-*

*zimlerin salınması:* Lökositlerin granül kaynaklı enzimlerinden MMP-8 (Kollagenaz), elastaz ve cathepsin-G'de bazal lamina kollagen ve lamininin yıkımında rol almaktadır (25).

### **Lökosit ve mikrovasküler permeabilite:**

MCAO sonrası P-selektin, E-selektin ve ICAM-1 endotelde farklı sekanslarda ekspresye edilirler. Trombin oluşumu, histamin, kompleman aktivasyonu ve superoksitler P-Selektin'i aktive ederken astrosit ve mikrogliyalarda IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'ya yanıt olarak ICAM-1 ve E-selektin ekspresyonu olur. Bu mekanizmalar iskemik hasara karşı gelişen inflamatuvar yanıtı artırır. IL-1'in ise kendisi direkt nöron hasarını artırıcı yönde etki gösterir. Deney hayvanı MCAO modelinde eksojen IL-1ra verilmesinin infarkt alanında bariz küçülmeye neden olduğunun gösterilmiş olması bu düşüncüyü desteklemektedir. Lökosit aktivasyonu ve takiben transmigasyonu ile oluşan süperoksit molekülleri ve granül kökenli proteolitik maddeler KBB, BL/ECM ve perivasküler dokularda yapısal bozulmaya yol açarlar. Bu yapılarda yer alan moleküllerden lamininin yıkım ürünlerinin bu şekilde veya plazmin aracılığıyla ortaya çıkarak nötrofiller için kemotaktik etki gösterir. Astrositlerde gösterilmiş olan C5 reseptörü upregülasyonu ise ayrıca komplemanın da bu olayda rol aldığını işaret etmektedir. Ek olarak iskemik dokuda mikrovasküler endotel ve düz kas hücrelerinde gösterilmiş olan serbest radikallerin de etkisi ile serebral endotelial permeabilite artar ve adezyon reseptörlerin dağılımı değişir. Bu permeabilite değişikliği diğer etkilerinin yanında ayrıca hemorajik transformasyon gelişiminde de anahtar rol oynamaktadır (11).

### **Bariyerin bozulması ve hemorajik dönüşüm:**

Kan plazma ve hücresel elemanlarının ekstravazasyonu post-iskemik dönemde oldukça erken dönemde başlar. Deneysel MCAO modellerinde bu ekstravazasyonun yani hemorajik dönüşümün 24. saatte korpus striatumda belirgin hale geldiği saptanmıştır. Bu olayda KBB ve BL bütünlüğünün bozulması ana nedeni oluşturmaktadır. Klinik semptomatiklik hemorajik dönüşümü yaratan ekstravazasyonu hızına bağlıdır. Hızlı ekstravasyon infarkt içi parankimal hematoma neden olarak komşu yapıları komprese etmek suretiyle nörolojik disfonksiyona yol açmaktadır. Bu durum klinik bazda daha çok sistemik kan basıncı yüksekliği, tromboembolinin distal migrasyonu ve çeşitli nedenlerle dejenerasyona uğramış olan arterlerin rüptürü ile ilişkilendirilmiştir. İskemi çekirdeğinde oluşan koagülasyon nekrozunun hemorajik dönüşümü de bu olaya neden olmakla birlikte esas nedenin vasküler disintegrasyon olduğu kabul edil-

mektedir.

Mikrovasküler bütünlüğü bozan nedenlerin başında ileri yaş, kronik hipertansiyon ve diabetes mellitus gelmektedir. Bu bozulmanın en sık şekli lipohyalinozis veya mikroanjiopati olup evresel olarak başlıca üç tipi vardır. İlk aşama sıklıkla 100-200  $\mu$ m çaplı damarları ve esas olarak arteriyollerini etkileyen damar duvarında soğan zarı şeklinde sklerotik kalınlaşma ve hyalin birikimi ile karakterizedir. Daha sonra damar duvarında yapısal disorganizasyon ve özellikle internal elastik laminada köpük hücreleri (foam cells) birikimi başlar. Ardından damar duvarı fibrinoid dejenerasyona gider ve sıklıkla lümeni tromboze olur. Damar duvarında amiloid birikimi (amiloid anjiopati) aynı şekilde mikrovasküler integrasyonu bozarak hemorajik dönüşümüne kesin eğilim yaratır. Hemen hiçbir deneysel çalışmada esas olarak yaşlanmaya bağlı olan bu değişiklikler modellenememiştir. Bu durum hayvan deneylerine göre insanlarda olan in-melerde gözlenen hemorajik dönüşüm fazlalığını açıklayıcı niteliktedir.

### **Ödem oluşumu:**

Fokal serebral iskemide vasküler permeabilite artışı nedeniyle plazma içeriği hasarlı dokuya geçmektedir. Koagülasyon faktörlerinin perivasküler TF ile etkileşimi intra/ekstra-vasküler fibrin birikimine yol açar. Bu sırada oluşan trombin endotel permeabilitesi artışının ana nedenidir (32). Diğer nedenler fokal iskemi sırasında salınan PAF, TNF- $\alpha$  ve bradikinin'dir. Dokudaki kanamanın kendisi de permeabiliteyi bozarak ödem gelişimini artırır.

Bölgesel serebral kan akımının doku bütünlüğünün artık sağlanamadığı 10-15 ml/100g/dak.'nın altına düşmesi ile ödem hızla gelişmektedir. Deneysel MCAO'da 4 saat içinde kortikal su miktarının %80,7'den %83,0'a kadar arttığı belirlenmiştir. Bu net %2,3 su artışı, doku Na<sup>+</sup> konsantrasyonunun artmasına ve K<sup>+</sup>'un azalmasına neden olur. Ekstraselüler sıvının hücre içine girmesiyle ekstraselüler alan küçülürken net beyin hacmi neredeyse lineer olarak artar. Buna kan ile beyin arasındaki iyonik ve osmotik gradient farkı yol açmaktadır. Ayrıca enerjiye gereksinim duyan membran iyon pompalarının iflası da rol oynamaktadır. Rezidüel kan akımının olduğu durumlarda ise pinositotik mekanizma ödemin diğer bir nedenidir. Deneysel fokal iskemide erken dönemde endotelde pinositoz aracılı mekanizma ile plazma substratları da dokuya geçtiğinden ekstraselüler alan biraz kompanzasyon gösterebilmektedir. Ancak zamanla bu sıvı da intraselüler alana şift olur. Bu nedenle intraselüler sıvı artışının ana kaynağının intravasküler volüm olduğu işaret edilmiştir (19).

Arteriyel oklüzyon oluşumundan sonra bir saatten daha fazla süre geçmiş ise doku sıvısı birikimi geri dönüşmez. Bu dönemden sonra sağlanan reperfüzyon da dens iskemik alanda ödemi artırıcı yönde etki gösterir. Bu olayda da lökositlerin rolü olduğu ortaya konulmuştur.

### **Ödem oluşumu ve serebral iskeminin erken radyolojik belirtileri:**

İskemik beyin dokusundaki su birikimi X-Ray atenuasyonunu (dolayısıyla CT'deki doku dansitesini) azaltır. Dokudaki su miktarının %1 artması CT dansitesinin 2-3 HÜ azalmasına yol açmaktadır. Bu azalmanın deneysel MCAO'da yaklaşık olarak lineer trendde ve 1,5 HÜ/saat hızda olduğu belirlenmiştir (33). CT tekiğinin bazal S/N oranının 5 HÜ olduğu göz önüne alınırsa doku suyu artışının gözle farkedilebilir düzeye gelişi en az 2 saat alır. DWMRI ise iskemik değişiklikleri hemen gösterir. İlk iki saat içinde DWMRI'da hiperintensite olarak saptanan ekstraselüler alandaki azalmış proton difüzyonu geridönüşümlü olabilirken daha sonra devam etmesi kalıcı doku hasarını işaret eder. Bu dönemde CT'de silik hipodansite saptanabilir. Burada düşük perfüzyon basıncına kompanzasyon olarak gelişen lokal CBV artışı da katkı yapmaktadır.

İskeminin klinik semptomlarının çıkışından 6 saat sonra ise CT'de ilgili hipodens lezyonun hemen daima izlenebildiği bilinmektedir. Görülen permeabilite bariyerinin kaybı, intravasküler sıvının dokuya girişi ve nonvasküler hücre hasarının yansımalarıdır. CT'de saptanan erken hipodansitenin nekroza gidecek alanı gösterdiği ve prognostik olduğu düşünülmektedir. İlk 6 saatte saptanan hipodansite MCA alanının yarısını geçmiş ise mortalite %85 gibi yüksek olacaktır. Bu dönemde CT ve DWMRI'nın birlikte hesaba katılmasıyla reversibl hasar olan dokunun belirlenebileceği ortaya atılmış ancak henüz kanıtlanamamıştır (1).

### **Hemorajik dönüşümde etkili diğer nedenler:**

Deneysel çalışmalarda korteksde üç boyutlu hegzagonal paralel mikrovasküler şebeke bulunduğu ve bu yapının zengin pial kolateral aferentleri olduğu, oysa striatumun direkt eritrosit geçiş zamanı daha yüksek ve lokal CBF'ü iskemik eşige daha yakın lentikülostriat damarlardan seri bağlı bir şebekeyle kan aldığı gösterilmiştir. Benzer organizasyonun insanda da olduğu, bu nedenle MCAO'da striatal hasarın erken geliştiği ve bu bölgenin ayrıca hemorajik dönüşüme de yatkın olduğu kabul edilmektedir. Bu lokalizasyonel özelliğe mikrovasküler şebeke farklılığı yanında, değişik nöronların iskemi duyarlılığının farklı oluşu da katkı yapmaktadır. Hemorajik dönüşüm ka-

rotid alanında yer alan, embolik mekanizma ile oluşan ve antikoagülasyon uygulanan infarktlarda daha yüksek oranda gelişir. Arteriyel reperfüzyon gelişimi ile hemorajik dönüşüm arasında ilişki olup olmadığı anjiyografi takip çalışmalarında gösterilememiştir. Çalışmalar hemorajinin aynı zamanda kolaterallerden ya da diğer damarlardan da olabileceğini gösterirken, teorik olarak BL/ECM hasarı gelişiminden sonra reperfüzyon sağlanmasının kanamaya eğilim yaratacağı öngörülebilir. Özellikle amiloid anjiyopatili hastalarda bu dönüşümün daha fazla olduğu klinik olarak da farkedilmiştir.

İskemik inme tedavisinde plazminojen aktivatörlerin gündeme gelişi ile reperfüzyon hemoraji ilişkisi daha da tartışmalı bir hale gelmiştir. Çünkü kanama komplikasyonu reperfüzyon sağlanan hastalar yanında tıkanıklığın devam ettiği hastalarda da görülmektedir. Burada plazminojen aktivatörlerinin trombosit tıkaçı oluşumu bozmasının, vasküler permeabiliteyi direkt değiştirmesinin ve damar-BL ilişkisini olumsuz etkilemesinin rolü olabilir.

### **Klinik uygulamalar:**

Deneysel çalışmalarda sitokin, adezyon moleküllü ve lökosit fonksiyonlarına etkili ajanların serebral iskemide tedavisinde yararlı olacakları yönünde pek çok bilgi elde edilmiştir. Özellikle rekanalizasyon tedavileri ile kombinasyonun ön açıcı olacağı bildirilmiştir. Bu yolla hem tPA uygulamasının terapötik periyodunun uzatılabileceği hem de kanama komplikasyonunun azaltılacağı düşünülmüştür (7). Ancak günümüzde halen bu yönden etkili yeni bir ajan klinik çalışmalarda başarılı olmamıştır (5,8).

Halen bazı ekollerde iskemi tedavisinde rutin olarak kullanılan heparin ve dekstranın da diğer etkileri yanı sıra bu sistemleri etkilediği saptanmıştır. Unfraksiyone heparin ve dextran sülfat rat geçici MCAO modellerinde (serebral reperfüzyon) lökosit birikimini ve infarkt volümünü azaltmaktadır (38). Etki gücü sülfatizasyon derecesi ile korele ve antikoagülan etkinlik derecesinde bağımsızdır. Bunun selektin veya Mac-1 antagonizmi ile olduğuna ilişkin veriler elde edilmiştir (18). Steroidler de bu mekanizmaları bir çok aşamasında inhibe etmektedir. Ancak bu ajanlar klinik çalışmalarda genellikle başarısız bulunmuştur.

Benzer şekilde anti-ICAM-1 monoklonal antikorun inme tedavisinde (The Enlimomab Acute Stroke Trial) yararsız olduğu görüldü (10). Bu hayvan deneylerinde elde olunan sonuçların insana uyarlanmasındaki genel sorunların yansımaları olabileceği gibi esas olarak heterolog antikora sekonder sistemik/lokal immun yanıtın paradoksik fazlalığına bağlandı.

Eğilim inflamatuvar sistemin birden çok basamağının eş zamanlı modifiye edilmesine döndü. Bu başarısızlıklara rağmen yakın gelecekte iskemik inmede eksitotoksinite, serbest radikal oluşumu, apoptozis ve inflamatuvar reaksiyona karşı tedavilerin reperfüzyon yöntemleri ile kombine kullanımının gündeme gelmesi büyük olasılıkla muhtemeldir. Eksperimental veriler trombolitik tedavinin etkinliğinin reperfüzyon hasarı ile limitlendiği dahası oluşan mikrosirkülasyon hasarının semptomatik kanamaya yol açtığı şekliindedir. Henüz serebral reperfüzyonda denenmemiş olsa da kardiyak reperfüzyon hasarında magnezyum ve anti-inTEGRİN antikörlerin klinikte denenmesi ilk etapta olumlu sonuçlar üretmiştir (18). Benzer şekilde iskemik inmede de olumlu sonuçlar alınması beklenmelidir.

#### Kısaltmalar:

**Ab:** Antikor  
**BL/ECM:** Bazal Lamina/Ekstraselüler matriks  
**C:** Kompleman  
**CBF:** Serebral kan akımı  
**CBV:** Serebral kan hacmi  
**CINC:** Sitokin indükleyici nötrofil kemoatraktan  
**CSF:** Koloni stimulan faktör  
**CT:** Komputezize tomografi  
**DWMRI:** Diffüzyon ağırlıklı magnetik rezorans görüntüleme  
**E-selektin:** Endotelial-selektin  
**HÜ:** Hounsfield ünitesi  
**ICAM:** Interselüler adezyon molekülü  
**IL:** İnterlökin  
**IL-1ra:** İnterlökin-1 reseptör antagonisti  
**IP-10:** İnterferon-inducible protein-10  
**KBB:** Kan Beyin Bariyeri  
**LFA:** Lenfosit fonksiyonuyla ilgili antijen  
**L-Selektin:** Lökosit-selektin  
**MCAO:** Orta serebral arter oklüzyonu  
**MCP:** Monosit kemoatraktan protein  
**MIP:** Makrofaj inflamatuvar protein  
**MMP:** Matriks metallo proteinaz  
**NK:** Doğal öldürücü (hücre)  
**NO:** Nitrik oksit  
**PAF:** Trombosit aktive edici faktör  
**PAI-1:** Plazminojen aktivatörü inhibitör tip-1  
**PECAM:** Platelet endotelial hücre adezyon molekülü  
**PMNL:** PoliMorfoNükleer Lökosit  
**P-Selektin:** Platelet-selektin  
**PSGL:** P-Selektin Glikoprotein Ligand  
**TF:** (Perivasküler) doku faktörü  
**TNF-α:** Tümör nekroze edici faktör alfa  
**tPA:** Doku Plazminojen aktivatörü  
**VCAM:** Vasküler hücre adezyon molekülü-1  
**VLA:** "Very Late activation"

#### Kaynaklar:

- 1- Back T, Hoehn-Berlage M, Kohno K et al. Diffusion NMR imaging in experimental stroke: Correlation with cerebral metabolites. *Stroke*-1994; 25: 494-500.
- 2- Barone FC, Arvin B, White RF, et al. Tumor necrosis factor-alpha. A mediator of focal ischaemic brain injury. *Stroke*-1997; 28: 1233-1244.
- 3- Beamer NB, Coull BM, Clark WM et al. Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke. *Ann Neurol*-1995; 37: 800-804.
- 4- Becker KJ. Inflammation and acute stroke. *Curr Opin Neurol*-1998;11: 45-49.
- 5- Bednar WM; Gross CE, Balazy M, Falck JR. Antineutrophil strategies. *Neurology*-1997;49 (suppl-4):20-22.
- 6- Chan PH. Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke*-1996; 27: 1124-1129.
- 7- Clark WM, Zivin JA. Antileukocyte adhesion therapy: Preclinical trials and combination therapy. *Neurology*-1997; 49 (suppl 4): s32-38.
- 8- Clark WM. Cytokines and reperfusion injury. *Neurology*-1997;49 (suppl-4):10-14.
- 9- Connolly ES Jr, Winfree CJ, Springer TA, et al. Cerebral protection in homozygous null ICAM-1 mice after middle cerebral artery occlusion: Role of neutrophil adhesion in the pathogenesis of stroke. *J Clin Invest*-1996;97:209-216.
- 10- DeGraba TJ. The role of inflammation after acute stroke. Utility of pursuing anti-adhesion molecule therapy. *Neurology*-1998 (Suppl-3): 62-68.
- 11- Del Zoppo GJ, von Kumer R, Hamann GF. Ischaemic brain damage of brain microvessels: Inherent risks for thrombolytic treatment in stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*-1998; 1998;65:1-9.
- 12- Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules (Part 1) and Adhesion molecules, Blood vessels and blood cells (Part 2). *NEJM*-1996;335:1526-1529 ve 334:43-45.
- 13- Hallenbeck JM. Cytokines, macrophages, and leukocytes in brain ischemia. *Neurology*-1997;49 (suppl-4): 5-9.
- 14- Haring HP, Berg EL, Tsurushita N et al. E-selectin appears in non-ischemic tissue during experimental focal cerebral ischemia. *Stroke*-1996; 27: 1391-1392.
- 15- Hayward NJ, Elliot PJ, Sawyer SD, et al. Lack of evidence for neutrophil participation during infarct formation following focal cerebral ischemia in the rat. *Exp Neurol*-1996; 139:188-202.
- 16- Hess DC, Zhao W, Carroll J et al. Increased expression of ICAM-1 during reoxygenation in brain endothelial cells. *Stroke*-1994; 25: 1463-1467.
- 17- Jang Y, Lincoff AM, Plow EF, Topol EJ. Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *JACC*-1994; 24: 1591-1601.
- 18- Jean WC, Spellman SR, Nussbaum ES, Low WC. Reperfusion injury after focal cerebral ischemia: The role of inflammation and the therapeutic horizon. *Neurosurgery*-1998; 43: 1382-1397.

- 19- Kimelberg HK. Current concepts of brain edema: Review of laboratory investigators. *J Neurosurg*-1995;83: 1051-1059.
- 20- Kostulas N, Kivisakk P, Huang Y, et al. Ischemic stroke is associated with a systemic increase of blood mononuclear cells expressing interleukin-8 mRNA. *Stroke*-1998; 29: 462-466.
- 21- Linsberg PJ, Carpen O, Paetau A et al. Endothelial ICAM-1 expression associated with inflammatory cell response in human ischemic stroke. *Circulation*-1996; 94: 939-945.
- 22- Liu T, Young PR, McDonnell PC et al. Cytokine induced neutrophil chemoattractant mRNA expressed in cerebral ischemia. *Neurosci Lett*-1993;164:125-128.
- 23- Mennicken F, Maki R, de Souza EB, Quirion R. Chemokines and chemokine receptors in the CNS: A possible role in neuroinflammation and patterning. *TIPS*-1999;20:73-78.
- 24- Montavani A, Sozzani S, Vecchi A et al. Cytokine activation of endothelial cells: New molecules for an old paradigm. *Thromb Haemost*-1997;78:406-414.
- 25- Mun-Bryce S, Rosenberg GA. Matrix metalloproteinase in cerebrovascular disease. *J Cereb Blood Flow Metab*-1998; 18: 1163-1172.
- 26- Okada Y, Copeland BR, Mori E et al. P-Selectin and intercellular adhesion molecule-1 expression after focal brain ischemia and reperfusion. *Stroke*-1994; 25: 202-211.
- 27- Rothlein R. Overview of leukocyte adhesion. *Neurology*-1997;49 (suppl-4):3-4.
- 28- Rothwell N. Functions and mechanism of IL-1 in the brain. *TIPS*-1991; 12: 430-435.
- 29- Rothwell NJ, Hopkins SJ: Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci*-1995;18:130-136.
- 30- ten Cate JW, van der Poll T, ten Cate H, van Deventer SJH. Cytokines: Triggers of clinical thrombotic disease. *Thromb Haemost*-1997;78(1): 415-419.
- 31- Thiagarajan RR, Winn RK, Harlan JM. The role of leukocyte and endothelial adhesion molecules in ischemia-reperfusion injury. *Thromb Haemost*-1997;78(1): 310-314.
- 32- Thomas WS, Mori E, Copeland BR, et al. Tissue factor contributes to microvascular defects following cerebral ischemia. *Stroke*-1993; 24: 847-853.
- 33- von Kumer R, Weber J. Brain and vascular imaging in acute ischemic stroke: The potential of computed tomography. *Neurology*-1997 (suppl-4): 52-55.
- 34- Wang X, Ellison JA, Siren AL et al. Prolonged expression of interferon-inducible protein-10 in ischemic cortex after permanent occlusion of the middle cerebral artery in rat. *J Neurochem*-1998;71:1194-1204.
- 35- Winquist RJ, Kerr S. Cerebral ischemia-reperfusion injury and adhesion. *Neurology*-1997 (suppl 4):23-26.
- 36- Witte OW, Stoll G. Delayed and remote effects of focal cortical infarctions: Secondary damage and reactive plasticity. *Adv Neurol*-1997; 73: 207-227.
- 37- Yamasaki Y, Matsuura N, Shozuhara H, et al. Interleukin-1 as a pathogenic mediator of ischemic brain damage in rats. *Stroke*-1995; 26: 676-680.
- 38- Yanaka K, Spellman SR, McCarthy JB, et al. Reduction of brain injury using heparin to inhibit leukocyte accumulation in a rat model of transient focal cerebral ischemia: I-protective mechanism and II-Dose-response effect and the therapeutic window. *J Neurosurg*-1996;85: 1102-1112.
- 39- Zhang RL, Chopp M, Jiang N, et al. Anti-intercellular adhesion molecule-1 antibody reduces ischemic damage after transient but not permanent middle cerebral artery occlusion in the wistar rat. *Stroke*-1995; 26: 1438-1443.