

PRİMER İNTRASEREBRAL KANAMALI HASTALARDA İNTERLÖKİN-6'NİN FİZYOPATOLOJİDEKİ YERİ VE ÖNEMİ

Alper DÖNER, Pınar ÇE, Şükran KÖSE, Muhteşem GEDİZLİOĞLU

SSK İzmir Eğitim Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İzmir

ÖZET

Serebral iskemiyeye bağlı beyin hasarı oluşumunda, proinflatuvar sitokinlerin (tümör nekrosis faktörü, interlökin-1 β , interlökin-6) rolü üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Ancak insanlarda primer intraserebral kanamada (PIK) beyin hasarı oluşumunda inflamatuvar sürecin rolü henüz aydınlatılmamıştır. Bu amaçla PIK'lı 44 hastada, kanamanın 1 ve 4. günlerinde İL-6 düzeylerini ölçtük. Bu düzeyleri sağlıklı 30 bireyin İL-6 düzeyleri ile kıyasladık. 1. gün hasta grubunda İL-6 düzeyi ortalama; 250.51 \pm 132.39 pg/ml kontrol grubunda ise ortalama; 85.43 \pm 74.01 pg/ml idi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (p < 0.001). 4. gün hasta grubunun İL-6 düzeyi ortalama 160.63 \pm 110.14 pg/ml, kontrol grubunun ise ortalama; 85.43 \pm 74.01 pg/ml idi. Yine iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (p<0.001). Yalnızca hasta grubunun 1. ve 4. gün İL-6 düzeylerini karşılaştırdığımızda ise bu iki gün arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (p<0.001). Bu istatistiksel verilere göre PIK'larda İL-6 1. günde artmakta ve daha sonra giderek düşse de 4. günün sonunda normal sınırlarına dönmemektedir. Sonuç olarak bu çalışma, PIK'larda İL-6'nın anlamlı oranda arttığını göstermiştir. Bu sonuç, kanama çevresinde oluşan beyin hasarında, beyin ödeminde proinflatuvar sitokinlerin rolü olabileceği hipotezini destekleyebilir ancak bu konuda daha fazla çalışmaya gerek vardır.

Anahtar Sözcükler: Primer intraserebral kanama, sitokin, İL-6

PHYSIOPATHOLOGICAL VALUE OF INTERLEUKIN-6 IN THE PATIENTS WITH PRIMARY INTRACEREBRAL HAEMORRHAGE

There are many reports on the role of proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor α , interleukin 1 β , interleukin-6) on brain injury due to cerebral ischemia. However, the role of inflammatory process on the brain injury due to primary intracerebral hemorrhage (PIH) is not properly explained. With this aim, we analysed interleukin-6 (IL-6) levels of 44 patients with PIH on the first day and 4th day and compared them to the IL-6 levels of 30 healthy subjects. On the first day; mean IL-6 level of the patient group was 250.51 \pm 132.39 pg/ml, and mean IL-6 level of the control group was 85.43 \pm 74.01 pg/ml. There was statistical difference between the two groups (p < 0.001). On the 4th day; mean IL-6 levels of the patient group was 160.63 \pm 110.14 pg/ml, and mean IL-6 levels of the control group was 85.43 \pm 74.01 pg/ml. There was statistical difference between the two groups (p<0.001). When we compared the patients' IL-6 levels on the first day to the levels on the 4th day, again there was statistical difference (p < 0.001). According to these statistical datas; on the first day of PIH, IL-6 level increases and then starts to fall down, but on the 4th day it is still comparably high. In conclusion, the study showed that there is meaningful increase on IL-6 levels of the patients with PIH, in the earliest phase of the event. This result may support the hypothesis of the role of proinflammatory cytokines on the brain injury and for developing brain edema around the periphery of the intracerebral hemorrhage but precise conclusion more detailed studies are needed.

GİRİŞ

Yakın zamana kadar deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, iskemik strok, kafa travması, akut demyelinizasyon, viral enfeksiyonlar gibi santral sinir sistemi patolojilerinde meydana gelen beyin hasarında sitokin, kemotaktik maddeler ve adezyon moleküllerinin rol oynadığı anlaşılmıştır (1). İskemik stroklu hayvan modellerinde, TNF α , İL-1b, İL-6 gibi proinflatuvar sitokinlerin arttığı gösterilmiştir (2). Nörolojik kötüleşme ile İL-6 artışı arasında korelasyon bulunmuştur. Daha sonra insanlarda yapılan çalışmalarda benzer

olarak TNF α ve İL-6 artışı gösterilmiştir.

Intraserebral kanamalarda (İK) hematoma çevresindeki beyaz cevherde oksidatif stres, ödem ve demyelinizasyonu içeren bir dizi olay meydana gelir. Ayrıca TNF α , İL-1b gibi proinflatuvar sitokinlerin vazojenik ödemin indüksiyonunda rolü vardır. Günümüzde İK'da sitokin ekspresyonunu gösteren birkaç hayvan deneyi vardır. İL-6'nın İK'larda beyin hasarı oluşmasındaki rolünü inceleyen az sayıda çalışma vardır. İnsanlarda serumda ölçülebilir birkaç sitokinden biri olan İL-6'nın patogenezdaki rolünün aydınlatılması ile İK'larda beyin

hasarında inflamasyonun etkisi daha net ortaya konabilecektir. Bu amaçla primer intraserebral kanamalı (PIK) bir hasta grubunda erken evrede İL-6 ölçümleri yaptık

GEREÇ VE YÖNTEMLER:

Bu çalışmaya, nörolojik muayene ve ilk 24 saat içinde Bilgisayarlı Beyin Tomografisi (BT) ile yapılan radyolojik inceleme sonunda ilk kez PIK geçiren 44 hasta ve herhangi bir hastalığı olmayan 30 sağlıklı birey katıldı. Çalışmadan dışlanma kriterleri 1) yakın zamanda enfeksiyon öyküsü olması (Hastaneye yatırılmadan iki hafta öncesine dek olan süre), hastaneye yatırıldıktan hemen sonra enfeksiyon tablosu görülmesi, 2) kronik enfeksiyon, kollagen doku hastalığı, majör kardiyak, renal, hepatik hastalık ve malignite öyküsü olması, 3) daha önceden iskemik veya hemorajik stroke geçirenler 4) Anevrizma rüptürü, AVM, vasküler malformasyon, moya moya hastalığı, kafa travması gibi nedenlere bağlı İK geçirenler idi.

Tüm hastalara BT ve/veya Kraniyal Manyetik Rezonans Görüntüleme ile tanı kondu. Kanama lokalizasyonu belirlendi.

Hasta grubundan, 1 ve 4. günlerde venöz kan örnekleri toplandı. Tüm örnekler, 1500 devirde 10 dakika santifüj edilerek serumları ayrıldı. Daha sonra bunları, ileride İL-6 düzeyleri ölçülmek üzere -60 derecede sakladık. Ticari ismi BİOTRAK; Human İL-6 Elisa Sistemini kullanarak İL-6 düzeylerini ölçtük.

Hasta grubu ile benzer yaş grubunda olan dışlanma kriterlerini taşımayan 30 sağlıklı gönüllü birey kontrol grubumuzu oluşturuyordu.

Hasta ve kontrol grupları yaş ortalamaları, İL-6 düzeyleri eşleştirilmiş t-test kullanılarak kıyaslandı. Kanamaların yerleşim yerlerine göre 1. gün ve 4. gün İL-6 düzeyleri Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldı.

BULGULAR:

Çalışmamıza katılan toplam 44 hastanın yaşları 40 ile 82 arasında değişiyordu. Yaş ortalaması 60.93 ± 10.72 idi. Bu hastaların 28'i erkek (%63,6), 16'sı kadındı (%36,4). Kontrol grubunun, 20'si erkek (%66,6), 10'u kadındı (%33,4). Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 58.23 ± 9.71 idi. Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları yaş bakımından birbirlerinden farksızdı ($p=0.274$).

1. gün düzeyleri bakımından hasta grubu ortalama; 250.51 ± 132.39 pg/ml kontrol grubu

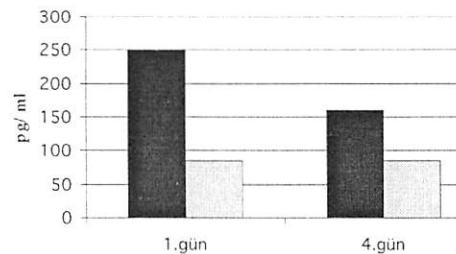
ortalama; 85.43 ± 74.01 pg/ml olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0.001$). 4. gün düzeyleri bakımından ise hasta grubu ortalama; 160.63 ± 110.14 pg/ml kontrol grubu ortalama; 85.43 ± 74.01 pg/ml olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0.001$). Yalnızca hasta grubunun 1. ve 4. gün İL-6 düzeylerini karşılaştırdığımızda ise bu iki gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0.001$). Buna göre hastaların 1. günden 4. güne gelindiğinde İL-6 düzeylerinde düşme olduğu görülmektedir. Aradaki fark istatistiksel anlamlı olmakla birlikte, kontroller seviyesine inmemektedir (Tablo 1) (Grafik 1).

Tablo 1: Hasta ve kontrollerin 1. ve 4. gün İL-6 düzeyleri.

Grup	1. gün (pg/ml) ort ± st.sapma	4. gün (pg/ml) ort ± st.sapma
Hasta	250.51 ± 132.39	160.63 ± 110.14
Kontrol	85.43 ± 74.01	85.43 ± 74.01

Hasta grubumuzun kanamalarının yerleşim yerine göre dağılımı şöyledir; %38,6 talamik kanama, %27,3 putaminal kanama, %13,6 serebellar kanama, %9,1 beyinsapı kanaması, %4,5 lobar kanama, %4,5 kaudat nükleus başı kanaması, %2,3 primer intraventriküler kanama. Tablo 2'de ve Grafik 2'de vakaların intraserebral hematomlarının yerleşimine göre 1. ve 4. gün İL-6 düzeyleri görülmektedir. Yerleşim yerlerine göre 1. gün İL-6 düzeylerinde bir fark yoktur (Kruskal-Wallis Varyans Analizi; $c2: 10.01$, $SD=6$, $p=0.12$). Yerleşim yerlerine göre 4. gün İL-6 düzeylerinde ise fark vardır (Kruskal - Wallis Varyans Analizi; $c2: 15.35$, $SD=6$, $p=0.01$). Ancak hematoma yerleşimine göre hasta dağılımında, gruplardan bazılarının çok az hasta içermesi (1 veya 2 hasta) nedeniyle bu konuda sağlıklı bir yorum yapılamayacağı konusundayız. Vakaların % 38.6 ile çoğunluğu talamik yerleşimli, en az görülen yerleşim ise % 2.3 ile intraventriküler kanamadır.

Primer intraserebral kanamalı hastalarda İL-6 düzeyleri

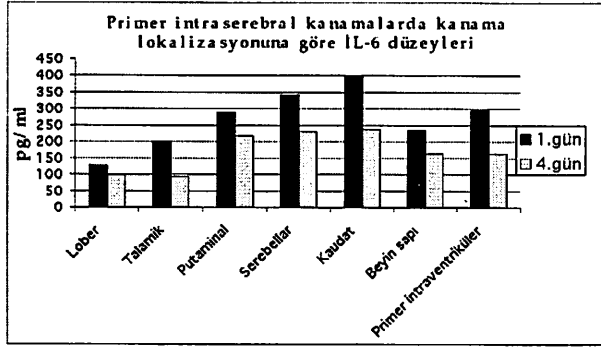


Grafik: 1

Tablo 2 : Hastaların intraserebral hematoma yerleşimine ve IL-6 düzeylerine göre dağılımı.

Hasta say.	%	Hematoma yerleşim yeri	1. gün (pg/ml) Ort±St. Sapma	4. gün (pg/ml) Ort±St. Sapma
2	4.5	Lober	279.5 ± 59.47	99.00 ± 53.74
17	38.6	Talamik	199.00 ± 128.03	93.34 ± 66.94
12	27.3	Putaminal	288.50 ± 121.53	217.36 ± 109.27
6	13.6	Serebellar	342.40 ± 71.62	229.93 ± 108.39
2	4.5	Kaudat	400.00 ± 0.00	238.50 ± 30.41
4	9.1	Beyin sapı	235.00 ± 184.71	163.48 ± 174.99
1	2.3	Primer ventriküller	295.00 ± 0.00	164.00 ± 0.00

Grafik: 2



TARTIŞMA

Proinflatuvar sitokinler, (TNF α , IL-1, IL-6) diğer sitokinlerin sentez ve fonksiyonunu etkileyerek kompleks bir sitokin ağının uyarılmasına yol açar (2). Mikroglia, astrositler, lökositler gibi birçok hücre tarafından üretilerek SSS'de apoptotik hücre ölümü ve proliferasyonunda direkt modülatör etkileri vardır (3). TNF α , IL-1, IL-6 lökositleri aktive eder; lökositler, astrositler, endotel hücrelerinin üzerindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır (2). Farelerde deneysel olarak MCA oklüzyonu yapıldıktan sonra TNF α , IL-1 gibi diğer proinflatuvar sitokinlerin glial hücreler ve astrositlerde arttığı gösterilmiştir (4, 5, 6). Başka bir çalışmada ventriküller veya beyin parankimine TNF α ve IL-1 infüzyonunun beyin hasarını kötüleştirdiği bunun zıddı olarak TNF α , IL-1 antagonistleri verildiğinde infarkt boyutunun küçüldüğü gösterilmiştir (1). İnsanlarda yapılan bir çalışmada iskemik strok sonucu ölen 16 hastanın otopsi spesimenleri incelendiğinde akut dönemde (2-3. günler) glial hücrelerde, geç dönemde (17-18.

günler) astrositlerde TNF α immünreaktivitesinin arttığı gösterilmiştir (7). Ancak bu sitokinler periferik kanda ölçülememektedir. IL-6 periferik kanda ölçülebilen, hem proinflatuvar hem de immunomodülasyonda etkisi olan bir sitokindir. Bu nedenle insanlarda inflamasyonun PIK'daki rolünün aydınlatılmasında IL-6 ayrı bir önem taşır.

IL-6'nun serebral iskemideki rolünün ortaya konması amacıyla birkaç çalışma yapılmıştır. Tarkowski ve ark. 23 vakalık serisinde periferik kanda ve BOS'da IL-6 ve IL-1 düzeylerinin arttığı ve bu artışın lezyon boyutu ile korele olduğunu ortaya koymuşlardır. IL-1 ve IL-6 artışı ve inflamatuvar hücrelerin iskemik dokuya göçü ile toksik oksijen radikalleri ve ödemin artmasının beyin hasarında rolü olduğunu bildirmişlerdir (8). IL-6'nun kalıcı beyin hasarını strokun akut döneminde belirlemede kullanılabileceği görüşünü ortaya atmışlardır. Benzer olarak Vila ve ark. serebral infarktli 81 vakada IL-6 artışı ve kronik kötüleşme ile ilişkisini göstermişlerdir (9). Bu artışın glutamat artışı ile birlikte olduğu bunun inflamatuvar ve eksitotoksik yolların birbiri içine geçtiği hipotezini desteklediğini belirtmişlerdir (10, 11). Yine de bu çalışmaların zıddı olan birkaç hayvan deneyi vardır. Bir çalışmada geçici santral sinir sistemi iskemisi yaratılan farelerde IL-6 infüzyonu infarkt boyutu ve nörolojik durumun üzerinde herhangi bir etki yaratmamıştır (2). Bir başka çalışmada nöroprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir (12). Ancak bu çalışmalar sadece birkaç hayvan deneyi ile sınırlı kalmış ve insanlar üzerinde böyle zıt bir etki gösterilememiştir.

Bu çalışmalar iskemik strok'lu hayvan modellerinde ve insanlarda proinflatuvar sitokinlerin beyin hasarından sorumlu olaylarda rolü olduğunu destekler niteliktedir. Ancak tüm strok'ların %10'unundan sorumlu ve ilk 1 ayda mortalite oranı %30-50'lere varan PIK'da oluşan beyin hasarında bu sitokinlerin rolüne ait çok az çalışma vardır. Hemorajik strok nötrofil infiltrasyonu, makrofaj akümüülasyonunu izleyen yoğun inflamasyonla birlikte. Bu hücrelerin artışı, santral sinir sisteminde beyin hasarına yol açan bir dizi kompleks kaskat olayını başlatır. Deneysel ve klinik beyin kanamalarında proinflatuvar sitokinlerin hem beyin parankiminde hem BOS'da arttığı düşünülmektedir. Mayne ve ark.'nın çalışmasında kollajenaz/heparin ile sağlanan intraserebral kanamalı farelerde nötrofil, makrofaj ve mikroglialarda TNF α

artışı gösterilmiş, TNF α düzeylerinde düşüş yapan oligodeoksi nükleotitlerin infüzyonunun hematomun çevresindeki hücrelerin ölümünü azalttığı gösterilmiştir (1, 13). Masada ve ark, trombin ile indüklenen beyin kanaması modelinde İL-1 reseptör antagonisti tedavisi ile hematomun çevresindeki ödemin ve inflamatuvar reaksiyonun azaldığını kanıtlamıştır (14). Görüldüğü gibi literatürde beyin kanamalarında sitokinlerle ilgili çok az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalar da çoğunlukla deneysel hayvan çalışmalarıdır.

Bizim çalışmamızda PİK'larda ilk 24 saat içinde İL-6'nın pik yaptığı daha sonraki günlerde düşme eğilimi gösterdiği ancak yine de normal sınırlara inmediği gözlenmiştir. Kim JS ve ark.'nın çalışmasında benzer sonuçlar bildirilmiştir (15). Ancak iskemik strok'lu hastaları da içeren bu çalışmanın sadece 10 vakalık bir alt grubu PİK'lı hastalardır. Bu sayı PİK'larda İL-6'nın rolünü aydınlatmak için yeterli değildir. Bizim çalışmamız PİK'da oluşan beyin hasarında proinflamatuvar sitokinlerin rolü olduğunu desteklemektedir. Bu tür çalışmaların artması ile PİK'da oluşan inflamasyonun rolü daha netleşecek ve belki de ileride beyin hasarının azaltılmasında proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerini düşürecek ilaçlar kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Mayne M, NI W, Yan HJ, et al. Antisense oligodeoxynucleotide inhibition of tumor necrosis factor- α expression is neuroprotective after intracerebral hemorrhage. *Stroke*- 2001; 32:240-248.

2. Clark WM, Rinker LG, Lessov NS, et al. Lack of interleukin-6 expression is not protective against focal central nervous system ischemia. *Stroke* -2000; 31: 1715-1720.
3. Qureshi AI, Suri MF, Ling GS, et al. Absence of early proinflammatory cytokine expression in experimental intracerebral hemorrhage. *Neurosurgery*- 2001 Aug; 49 (2): 416-420.
4. Liu T, Mc Donnell PC, Young PR, et al. Interleukin-1b mRNA expression in ischemic rat cortex. *Stroke*- 1993; 24: 1746-1751.
5. Liu T, Clark RK, Mc Donnell PC, et al. Tumor necrosis factor- α expression in ischemic neurons. *Stroke*-1995; 26: 1093-1100.
6. Szaflarski J, Burtrum D, Silverstein FS, et al. Cerebral hypoxia-ischemia stimulates cytokine gene expression in perinatal rats. *Stroke*- 1995; 26: 1093-1100.
7. Sairanen T, Carpen O, Karjalainen-Lindsberg ML, et al. Evolution of cerebral tumor necrosis factor- α production during ischemic stroke. *Stroke* - 2001; 32: 1750-1758.
8. Tarkowski E, Rosengren L, Blomstrand C, et al. Early intrathecal production of interleukin-6 predicts the size of brain lesion in stroke. *Stroke*- 1995; 26: 1393-1398.
9. Vila N, Castillo J, Davalos A et al. Proinflammatory cytokines and early neurological worsening in ischemic stroke. *Stroke* 2000; 31:2325-2329.
10. Christensen H. Proinflammatory cytokines and glutamate in acute stroke. *Stroke*-2000; 31:1234 (Letter).
11. Vila N, Castillo J, Davalos A. Glutamate, interleukin-6 and early clinical worsening in patients with acute stroke. *Stroke* - 2000; 31: 1234-1235 (Letter).
12. Wagner KR, Knight J, Packard BA. Rapid Nuclear Factor B Activation and cytokine and hemeoxygenase-1 gene expression in edematous white matter after porcine intracerebral hemorrhage. *Stroke*- 2001; 32: 327-c (oral abstract).
13. Mayne M, Fotheringham J, Yan HJ, et al. Adenosine A2A receptor activation reduces proinflammatory events and decreases cell death following intracerebral hemorrhage. *Ann Neurol* -2001 Jun; 49(6): 727-735.
14. Masada T, Hua Y, XI G, et al. Attenuation of intracerebral hemorrhage and trombin induced brain edema by overexpression of interleukin-1 receptor antagonist. *J Neurosurg* -2001 Oct; 95 (4): 680-686.
15. Kim JS, Yoon SS, Kim YH et al. Serial measurement of interleukin-6, transforming growth factor- β , and S-100 protein in patients with acute stroke. *Stroke* -1996; 27: 1553-1557.