

**T. C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLARAK BEYİN OMURİLİK SIVISI
KAÇAĞI OLUŞTURULAN SIÇANLARDA LOKAL
FIBROBLAST GROWTH FACTOR-2 KULLANIMININ
DURA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hakan NURATA

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Fikret DOĞULU**

ANKARA-2007

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve ihtisasım süresince bilgisi, tecrübesi ve desteğiyle bana her konuda destek olan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Fikret Doğulu'ya teşekkürlerimi sunarım. Yine tez çalışmam esnasında histolojik incelemeleri titizlikle yapan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Doç. Dr. Suna Ömeroğlu ve Uzm. Dr. Neşe Uçankuş'a teşekkür ederim.

Uzun, zorlu ve bir o kadar da zevkli uzmanlık eğitimimde ve hedeflerime ulaşmamda büyük emekleri olan başta anabilim dalı başkanım Sayın Prof. Dr. Şükrü Aykol'a, Sayın Prof. Dr. Necdet Çeviker'e, Sayın Prof. Dr. Aydın Paşaoğlu'na, Sayın Prof. Dr. Kemali Baykaner'e ve Sayın Prof. Dr. Toygun Orbay'a teşekkürü borç bilirim.

Her zaman, her konuda bana destek olup, tecrübelerini benden esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Memduh Kaymaz, Yrd. Doç. Dr. Gökhan Kurt, Uzm. Dr. Hakan Emmez ve başta deney aşamasında emeği geçen arkadaşım Dr. Berker Cemil olmak üzere tüm doktor, hemşire ve personel arkadaşlarıma teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Dr. Hakan NURATA

İÇİNDEKİLER

Teşekkür	iii
Kısaltmalar	vi
Tablolar, Şekiller ve Resimler	viii
I- Giriş ve Amaç	1
II- Genel Bilgiler	5
1. Yara İyileşmesi	5
1.1. Yara İyileşmesinin Tipleri	5
1.2. Yara İyileşmesinin Evreleri	5
1.2.1. Erken İyileşme Evresi	6
1.2.2. İntermediate (ara) Evre	7
1.2.3. Geç İyileşme Evresi	9
1.2.4. Final (son) Evre	10
2- Sitokinler ve Etkileri	11
3- Büyüme Faktörleri ve Etkileri	14
4- FGF-2	19
5- FGF-2'nin Doku İyileşmesindeki Etkisi	21
6- Duranın Histolojik Yapısı	22
7- BOS Kaçağının Klinik Tanısı	25
8- BOS Kaçağının Tedavisi	28
9- BOS Kaçağının Önlenmesinde Klinik ve Deneysel Yöntemler	29
III- Gereç ve Yöntem	31
IV- Bulgular	35

V-	Tartışma ve Sonuç	45
VI-	Özet	49
VII-	Kaynaklar	50
VIII-	Etik Kurul Kararı	64

KISALTMALAR

DNA:	Deoksiribonükleikasit
FGF:	Fibroblast Büyüme Faktörü
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
PDGF:	Platlet Kökenli Büyüme Faktörü
TGF:	Dönüşüm Yaptırıcı Büyüme Faktörü
PDEGF:	Platlet Kökenli Epidermal Büyüme Faktörü
HB-EGF:	Heparin Bağlayıcı Epidermal Büyüme Faktör
EGF:	Epidermal Büyüme Faktör
VEGF:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
IL:	İnterlökin
IGF:	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
TNF:	Tümör Nekroze Eden Faktör
PMNL:	Polimorfonükleer Lökosit
MCP:	Makrofaj Kemoatraktan Protein
GM-CSF:	Granülosit-Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
kDa:	Kilodalton
HGF:	Hepatosit Büyüme Faktörü
EGFR:	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
PLGF:	Plesenta Büyüme Faktörü
PRGF:	Plazminojen İlişkili Büyüme Faktörü
MSP:	Makrofaj Uyarıcı Protein
NGF:	Sinir Büyüme Faktörü

FGFR:	Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü
DTPA:	Diethylenetriamene Pentaacetate
BT:	Bilgisayarlı Tomografi
BBT:	Bilgisayarlı Beyin Tomografisi
MRG:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
LP:	Lomber Ponksiyon

TABLolar, ŞEKİLLER ve RESİMLER

Tablo I: Sitokinler, Büyüme Faktörleri ve yara iyileşmesine olan etkileri-----	14
Tablo II: Gruplara ait iyileşme düzeyleri-----	35
Tablo III: Erken kontrol ile geç kontrol grupları arasında dural iyileşmenin karşılaştırılması-----	42
Tablo IV: Erken kontrol ile erken deney grupları arasında dural iyileşmenin karşılaştırılması-----	42
Tablo V: Erken kontrol ile geç deney grupları arasında dural iyileşmenin karşılaştırılması-----	43
Tablo VI: Geç kontrol ile erken deney grupları arası dural iyileşmenin karşılaştırılması-----	43
Tablo VII: Geç kontrol ile geç deney grupları arası dural iyileşmenin karşılaştırılması-----	44
Tablo VIII: Erken deney ile geç deney grupları arası dural iyileşmenin karşılaştırılması-----	44
Şekil I: Yara iyileşme evrelerinin şematik gösterimi-----	10
Şekil II: Yara yerinde büyüme faktörlerinin etkileşimi-----	13
Şekil III: EGF ve VEGF ailesi ve etki ettikleri reseptörler-----	15
Şekil IV: TGF- β 'nın yara iyileşmesi sırasındaki etkileri-----	18
Resim I: Duranın histolojik yapısı-----	22
Resim II: Kollojen fibriller, elastik lifler ve fibroblastlardan oluşan fibröz dura-----	23
Resim III: Epidural doku-----	25
Resim IV: İki seviye laminektomi sonrası duranın görünümü-----	32

Resim V: Erken kontrol grubu iyileşme (Masson Trikrom X 12,5)-----	36
Resim VI: Erken kontrol grubu iyileşme (Masson Trikrom X 40)-----	37
Resim VII: Geç kontrol grubu (Masson Trikrom X 40)-----	38
Resim VIII: Geç kontrol grubu (Masson Trikrom X 100)-----	38
Resim IX: Erken FGF-2 grubu (Masson Trikrom X 40)-----	39
Resim X: Erken FGF-2 grubu (Masson Trikrom X 100)-----	40
Resim XI: Geç FGF-2 grubu (Masson Trikrom X 12,5)-----	41
Resim XII: Geç FGF-2 grubu (Masson Trikrom X 40)-----	41

I- GİRİŞ VE AMAÇ

Beyin ve spinal kord; kranyum, vertebral kolon, meninksler ve beyin omurilik sıvısı (BOS) tarafından sarılmıştır. Meninksler üç ayrı katmandan oluşmuş membranöz yapılardır. Bu katmanlar içten dışa pia mater, araknoid ve dura mater olarak sıralanır (38). Dura, travma sonucu zedelenebilir veya tümör cerrahisi sırasında insize edilebilir ve tam olmayan dura kapanması hayatı tehdit eden menenjit veya birçok diğer komplikasyon ile sonuçlanabilir. Bu durum dural tamirin BOS basıncını karşılayabilecek şekilde yapılmasının önemini artırmaktadır. Supratentoryal girişimlerde muhtemelen supin pozisyonda düşük intradural hidrostatik basınca bağlı olarak nadiren persistan BOS kaçağına rastlanırken; yüksek intradural hidrostatik basıncın olduğu infratentoryal veya spinal cerrahide daha yüksek BOS kaçağı oluşma riski vardır.

Kranyal ve spinal cerrahi sonrası BOS kaçağının önlenmesi amacıyla birçok farklı yöntem geliştirilmiştir (88).

Standart dura kapama yöntemleri sütür atmak ve duraplasti materyalleri kullanmayı içerir. Bazı durumlarda konvansiyonel sütür tekniği yetersiz kalabilir. Örneğin sütür yabancı cisim reaksiyonu oluşturarak iyileşme sürecini yavaşlatabilir ve BOS sütür arasından veya iğne deliklerinden kaçabilir, bu durum özellikle yaşlılar ve radyoterapi görmüşlerde belirgindir (24). Sütüre edilmiş duranın su geçirmez olacak şekilde sağlamlaştırılması amacıyla çoğunlukla fibrin yapıştırıcılar veya absorbe olabilen jelatin maddeler kullanılmaktadır. Fakat bu maddeler de çoğu zaman yetersiz kalır ve bu ajanların pek azına Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanım izni verilmiştir. Dura tamiri için ideal doku

yapıştırıcısı hala bulunamamıştır (70). Sentetik cerrahi membranların kullanımının ise duradaki adezyon eksikliğine bağlı olarak yüksek postoperatif BOS kaçağı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (62, 63).

Diskektomi sonrası fibrozis başlıca kaslardan salınan ve epidural aralığa göç eden fibroblastlar tarafından sağlanmaktadır (74). Lomber disk cerrahisi sırasında küçük dural yırtıklar oluşabilir ve bunlar fark edilip onarılmazsa kendiliğinden fibroblast veya fibrositlerin yardımıyla kapanabilir (53). Anti adezyon jellerin lokal uygulanması fibroblast migrasyonunu inhibe etmekte ve duradaki küçük yırtıkların spontan iyileşmesini bozmaktadır (51).

Yara iyileşmesi; yaralanma sonrası doku bütünlüğünün yeniden oluşmasını amaçlayan, hücresel ve biyokimyasal süreçleri içeren karmaşık bir işlemdir. Bu işlem doku hasarı veya kaybına bağlı olarak doku tamiri ve rejenerasyonunu içerir (75).

Doku hasarı; inflamasyon, yeni doku oluşumu ve yeniden şekillenmesini içeren bir dizi olaylar zincirini tetikler. Tamir işlemi hasarlanmış kan damarlarından sızan serumdan ortama karışan ve platletlerden degranüle edilen çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler, düşük molekül ağırlıklı bileşikler aracılığıyla başlatılır. Damar bütünlüğünün bozulması ayrıca çapraz bağlı fibrinlerden oluşmuş kan pıhtısının ve bazı ekstraselüler matriks proteinlerinin oluşmasına da yol açar. Kan pıhtısı mikroorganizmalara karşı bir bariyer oluşturmanın yanı sıra, ortama gelen hücreler için bir matriks oluşturur ve iyileşme işleminin daha ileri safhalarında gerekli olacak büyüme faktörleri için rezervuar görevi görür (92).

Büyüme faktörleri gösterdikleri birçok aktiviteyle doku onarımının uyarılmasında aktif rol oynayan ajanlardır. Büyüme faktörleri hücreleri yara bölgesine çekerek çoğalmalarını

uyarır ve ekstraselüler matriks üzerine etki ederler. Rekombinant teknoloji ile elde edilmiş bu ajanlar ile yapılan yüzlerce çalışma, büyüme faktörlerinin doku tamirinin tüm yönlerini normal ve hasarlı iyileşme modellerinde geliştirdiğini göstermektedir. Araştırmacılar yaradaki büyüme faktör miktarlarını ölçmüşler ve yaralanmanın birçok büyüme faktörünün ortaya çıkmasını sağladığını izlemişlerdir. Bu bulgular klinik iyileşmenin artırılmasında büyüme faktörlerinin kullanımı hususunda büyük ilgi uyandırmıştır (35).

Bu büyüme faktörü ailelerinden birinin, FGF ailesinin, keşfi, 1939'larda beynin fibroblastların mitojenik aktiviteleri için zengin bir kaynak olduğunun gözlemlenmesi ile olmuştur. 1970 lerde pituiter ekstraktlarda fibroblastların aktiviteleri üzerine yapılan araştırmalar sonucu FGF'lerin yapısal olarak ilişkili 9 ayrı protein ailesinden (FGF 1-9) oluştuğu gösterildi (6, 23, 48, 90). Daha sonraki araştırmalar ile ailenin üye sayısı 22 olarak belirlendi (65). İzoelektrik odaklama ile FGF aktivitesinin asidik ve bazik olarak iki ayrı pik yaptığı bulundu ve araştırmacılar asidik FGF (aFGF) ve bazik FGF (bFGF= FGF-2) olarak birbiriyle yakın ilişkili iki büyüme faktör yapısını ortaya koydular. Bu çalışmalar sonucu *in vivo* olarak, FGF'lerin DNA sentezini, hücre göçünü, kan damarlarının gelişimini ve dermal yara iyileşmesini hızlandığı gösterilmiştir (90). Yine FGF ailesinin birçok üyesinin mezodermal, ektodermal ve endodermal orjinli hücrelerin çoğalmasını stimüle ettiği bildirilmiştir (93).

Bu ailenin bir üyesi olan FGF-2'nin de *in vivo* olarak, farklı konsantrasyonlarda ve bazen de topikal kullanımla, keratinosit fibroblast ve düz kas hücrelerinin mitozunu ve granülasyon dokusunu arttırdığı; diyabet, kemoterapi ve radyoterapinin etkilerini geriletmediği ve anjiyogenetik olduğu gösterilmiştir (28, 33, 69, 85).

Bu çalışmada, bu bilgiler ışığında büyüme faktör ailesinin önemli elemanlarından, yara iyileşmesi üzerine olan olumlu etkisi birçok dokuda klinik ve deneysel olarak kanıtlanmış olan FGF-2'nin; dura iyileşmesi üzerine etkisi ve BOS kaçağını önlemedeki etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır (44, 47, 69, 85).

II- GENEL BİLGİLER

1-Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, yaralanmayı takiben doku bütünlüğünün sağlanması amacıyla meydana gelen biyokimyasal ve hücrel olayları içeren karmaşık bir işlemdir. Bu süreç doku yaralanması veya kaybına yanıt olarak hem onarım hem de rejenerasyonu içerir. Onarım sonrası yaralanan bölgede skar dokusu oluşur.

1.1. Yara İyileşmesinin Tipleri

Yara iyileşmesi primer ve sekonder yara iyileşmesi olarak birbirinden farklı iki mekanizma ile meydana gelir.

Primer iyileşme: Temiz olarak insize edilen ve tekrar sütüre edilen yaralarda görülür ve iyileşme komplikasyonsuz olarak meydana gelir. İnsizyon hızla reepitelize olur ve defekt matriks ile doldurulur.

Sekonder iyileşme: Açık yaralarda meydana gelir. Yara dudakları ağızlaştırılmadığı zaman iyileşme; granülasyon dokusunun oluşması, kontraksiyon ve de epitelyal hücrelerin spontan migrasyonu ile meydana gelir.

1.2.Yara İyileşmesinin Evreleri

Yara iyileşmesi erken, intermediate (ara), geç ve final (son) olarak evrelere ayrılabilir (Şekil 1).

1.2.1. Erken İyileşme Evresi

Koagülasyon

Yaralanma ile meydana gelen damar harabiyeti sonrası oluşan kanama, fibrin yama ve bu yamanın içine gömülü bulunan platletleri içeren pıhtı oluşumu ile kontrol edilir. Fibrin pıhtılaşma zincirinin son ürünüdür ve hemostazı sağlar. Ayrıca erken iyileşme evresinde görülen doku matriksinin primer bileşenidir ve inflamatuvar ve mezenşimal hücrelerin migrasyonu için bir yapı iskelesi görevi görür. Platlet agregasyonu PDGF, TGF- α , FGF-2 ve PDEGF salınımına neden olur. Bu sitokinler yara iyileşmesini doğrudan veya dolaylı olarak etkiler. Pıhtı oluşumu için uyarının sona ermesi ile pıhtı formasyonu ve platlet agregasyonu sonlanır. Pıhtı lizisi pıhtı oluşumu ile birlikte başlar ve plazminojenin plazminojen aktivatörü aracılığıyla plazmine çevrilmesi ile oluşur (75).

İnflamasyon

Doku hasarı inflamatuvar cevabı tetikler. Yaralanmanın hemen ardından hasar gören hücrelerden açığa çıkan katöşölin ve prostaglandinler tarafından düzenlenen lokal vazokonstriksiyon meydana gelir. Bunun ardından histamin, kininler, prostaglandinler, lökotrienler ve endotelial hücre ürünlerinin aracılık ettiği vazodilatasyon ve artmış vasküler permeabilite lokal ödeme neden olur (75, 92).

Yaralanan dokuya ilk gelen lökositler nötrofillerdir. Nötrofiller hasarlı dokuları ve bakterileri fagosite ederler ve kendileri de makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Yara yerindeki nötrofil sayısı 24-48 saat içinde artar ve yarada kontaminasyon olmaz ise daha sonra giderek azalır. Monositler makrofajlara dönüşerek kapillerden ekstravasküler aralığa migre olurlar. Makrositler bakteri ve doku debritletlerini fagosite ederler ve hasarlı matriksin yıkımını

sağlayan kollajenaz ve elastaz enzimlerini salgırlar. Ayrıca ortama salınan sitokinler, prostaglandinler ve serbest oksijen radikalleri de yara iyileşmesinde rol oynarlar. Lenfositler HB-EGF ve FGF gibi çeşitli faktörleri üretirler ve ayrıca selüler ve humoral immüniteye de katılırlar. İlk 24-48 saat içinde nötrofiller dominant iken 48-72 . saatte yerlerini makrofajlara bırakırlar ve 5-7. günden sonra fibroblastlar predominant hücre tipini oluşturur (75).

1.2.2. İntermediate (ara) Evre

Mezenşimal hücre migrasyon ve proliferasyonu

Hasarlanmamış komşu dokulardaki fibroblastlar sitokinlerin etkisi ile yara bölgesine göç ederler. Hücrelerin hareketi fibronektin, fibrin, ve vitronektine bağlanıp onlardan ayrılabilimleri ve hücre migrasyonu için bir yol oluşturan matriks metalloproteinaz 1-3 gibi proteolitik enzimlerin yardımıyla olur. Bu arada yerli ve de ortama yeni gelen mezenşimal hücreler proliferer olurlar. Fibroblastlar bağ doku matriksine katılan kollajen ve proteoglikanlar salgırlar ve böylelikle polimerik form oluşturarak yara dudaklarının bir araya gelmesini sağlarlar (75).

Anjiyogenezis

Yükselen laktat seviyesi, pH'daki azalma ve doku hipoksisi ile stimüle olan kapillerler venül sonlanmalarından filizlenirler. Bu filizler endotelial hücrelerin proliferasyonu ile büyür ve primer olarak kapatılmış yaralarda bu filizlenen damarlar yaranın karşı tarafındaki kendi eşdeğerleri ile biraraya gelerek yara bölgesinde yeniden kan akımı oluşmasını sağlarlar. Kapanmamış yaralarda ise kapillerler sadece komşu bağ doku içine uzanırlar ve bu alanlarda

granülasyon dokusu oluşur. FGF, TGF- α , EGF, TGF- β , PDGF, VEGF gibi sitokinler, interlökin-8, doku sıvıları ve adiposit yağları anjiyogenezi stimüle ederler (92).

Epitelizasyon

Derin olmayan yaralarda epitelizasyon tek başına iyileşme için yeterlidir. İnsizyonel yaralar genellikle 24-48 saat içinde tamamen reepitelize olurlar.

Epitelizasyon; hücre farklılaşması, mitoz, migrasyon ve proliferasyon gibi farklı hücreyel olaylara ayrılabilir. Yara dudağında bazal hücre tabakasının kalınlaşması epitelizasyonda ilk ortaya çıkan değişikliktir. Daha sonra migrasyon ile marjinal bazal tabaka uzar ve bazal membrandan ayrılır. Bu hücreler tek bir tabaka halinde kollajen lifler boyunca migre olarak benzer hücre tipleri ile karşılaşır dinlenme safhasına, ki bu olaya kontakt inhibisyon denir, geçene kadar ilerlerler. Daha sonra tek katlı tabaka çok katlıya farklılaşır. Yara dudağının başlangıcında yeni bir bazal membran oluşur. Hücreyel çoğalma çok katlı bir epitel oluşana kadar devam eder. Ardından yeni yüzey keratinize olmaya başlar. Sitokinler epitelizasyonun bütün evrelerinde rol alırlar. Bunlar başlıca; EGF, TGF- α , HB-EGF, IGF ve FGF çeşitleridir (75, 92).

Ne yazık ki rejenere epitel normal epitelin tüm fonksiyonlarını kazanamaz. Daha az bazal hücre içerirler, dermis ve epidermis arasında anormal bir arayüz oluştururlar ve reepitelize olan yaranın orta noktasında daha ince bir epitel katmanı vardır (92).

1.2.3. Geç İyileşme Evresi

Kollejen sentezi

Fibroblastlar yara bölgesine migre olduktan sonra ana fonksiyonları olan kollajen sentezini başlatırlar. Kollajen; normal derinin, granülasyon dokusunun ve matür skarın majör bileşenidir ve primer olarak fibroblastlar tarafından sentezlenir. Bu aktivite yaralanmanın 3-5. günlerinde başlar ve 2-4 hafta boyunca hızlanarak devam eder ve 4. haftadan sonra azalarak kollajen yapım hızı kollejenazın neden olduğu yıkım hızına eşit hale gelir. Kollajen yarada yapısal konfigürasyonu, dayanıklılığı ve hücrel mobiliditeyi sağlar (75).

Matriks bileşenlerinin oluşumu

Ekstraselüler matriksin yerine konulması kollajen dışında proteoglikanları, fibronektin ve elastini içerdiği için karmaşık bir işlemdir.

Proteoglikanlar primer olarak fibroblastlardan sentezlenirler ve bir protein çekirdeğe kovalent olarak bağlanmış kondroidin sülfat, dermatan sülfat, heparin ve heparin sülfat, keratan sülfat ve hyalüronik asit gibi glikozaminoglikanlardan oluşurlar.

Fibronektin ana tutunma proteinidir ve yara iyileşmesini çeşitli evrelerinde rol alır.

Elastin yaralanmaya yanıt olarak sentezlenmez bu yüzden skar dokusunda elastisite kaybı bulunur (75).

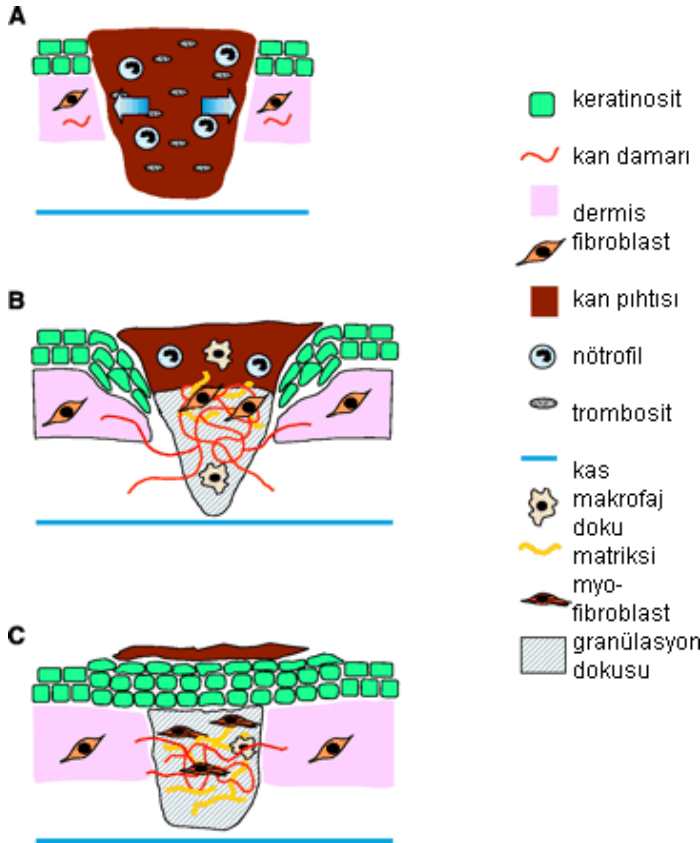
Yara kontraksiyonu

Yaralanmadan 4-5 gün sonra başlar ve yara dudaklarının yara merkezine doğru hareketi ile olur. Ortalama günlük yara kontraksiyonu 0,60-0,75 milimetredir. Yara

konraksiyonundan yara bölgesindeki myofibroblastların sorumlu olabileceği düşünülmektedir (75).

1.2.4.Final (son) Evre

İyileşme işleminin son evresinin en önemli olayı skar şekillendirilmesidir. Kollajen yapım ve yıkımı dengededir. Yeniden şekillenen skar ile yara direnci dramatik bir şekilde artarak iyileşmenin 6. haftasında önceki halinin %80-90'ına ulaşır. Bu işlem 6-12 aya kadar sürer ve yara renginde ve kalınlığında değişiklik ile kendini gösterir (75).



2- Sitokinler ve Etkileri

Sitokinler immün ve diğer hücreleri etkileyen küçük salgılanmış proteinlerdir. Bu başlık altında interlökinler, lenfokinler, TNF ve interferonlar gibi birçok sinyal molekülü incelenebilir. Burada fonksiyonel olarak yara iyileşmesinde rol alan bazı sitokinler anlatılmıştır.

Kemokinler (kemotaktik sitokinler) lökositlerin ekstrasvazasyonu ve kemotaksisini stimüle eden bir sitokin alt grubudur. Yaklaşık 50 üyesi bulunan bu protein ailesi; CXC, CC, CX3C ve C kemokinleri olarak 4 altgruba ayrılabilir (3, 14, 77). Kemokinler yerel hücreleri direkt veya indirekt etkileyerek reepitelizasyon, anjiyogenezis ve myofibroblast farklılaşmasını düzenlerler.

İyileşmenin inflamatuvar safhasında IL-1, TNF ve IL-6 sitokinlerinin miktarlarındaki artış birçok çalışma ile gösterilmiştir (36, 37, 42). Bu sitokinlerin ana kaynağı PMNL'ler ve bazı yerel hücre tipleridir. Glukokortikoidle tedavi edilen farelerde bu sitokinlerin ortamda az görülmeleri ve diabetik farelerde yara iyileşmesinin uzaması bu sitokinleri normal onarımda önemli roller üstlendiklerini göstermektedir. Bu görevlerin başlıcaları; keratinosit ve fibroblast proliferasyonunu stimüle etmek, ekstraselüler matriks proteinlerinin yapım ve yıkımını düzenlemek, fibroblast kemotaksisi ve immün yanıtın ayarlanmasıdır (42, 94).

İnterlökinler, bazı lökositlerden salınıp yine lökositler üzerine etki eden bir grup proteindir. Hücresel ve humoral immün yanıt gelişiminde, inflamatuvar yanıtın başlatılmasında, hematopoezin düzenlenmesinde, yara iyileşmesinde hücre proliferasyonu, farklılaşması ve yara iyileşmesinin başlatılmasında rol oynarlar (50, 55). IL-6 eksikliği bulunan farelerde yara iyileşmesinin 3 kat daha geç olduğu, IL-6'nın keratinositler üzerine

olan mitojenik etkisine bağılı olarak reepitelizasyonun geciktiğı ve granölasyon dokusu oluşumunun bozulduğı gösterilmiştir (79). IL-8 inflamasyonu stimüle ederken yara kontraksiyonunu inhibe eder. İnflamatuvar yanıtın sınırlanması ve sonlanmasında etkin bir rol üstlenen IL-10, bir çok immün hücrenin yanı sıra keratinosit ve endotelyal hücrelerinin de büyüme ve farklılaşmasını düzenler. Endojen IL-10 nötrofil ve makrofajların yara bölgesine infiltrasyonunu ve birçok kemokinin ve proinflamatuvar sitokinin ortaya çıkmasını engeller. Bu düzenlemeler ile matriks birikimini azaltır ve skarsız yara iyileşmesi sağlar (80).

Granölasyon dokusundaki keratinositler tarafından ortama salınan makrofaj kemoatraktan protein (MCP-1/CCL2); monosit/makrofajlar, T hücre altgrupları ve CCR3 reseptörü taşıyan mast hücreleri için en önemli kemoatraktan proteindir (3, 14).

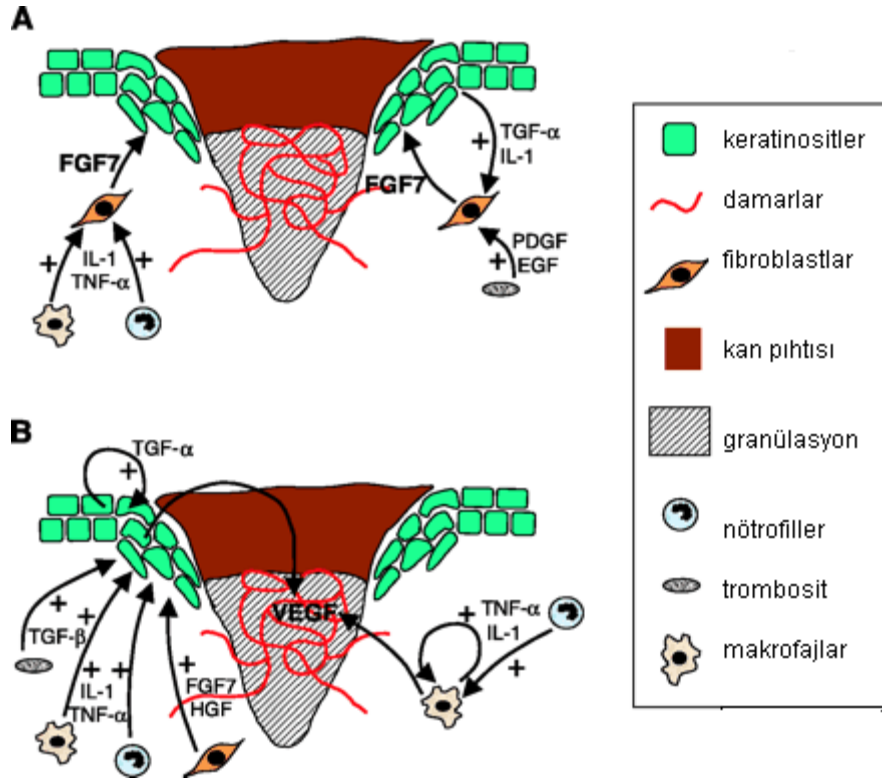
GM-CSF'nin keratinositler için mitojenik olduğu ve endotelyal hücrelerin proliferasyon ve migrasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir (13, 46). Hematopoetik hücreler üzerine olan etkileri ile birlikte yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır.

Bir diğer sitokin, leptin, 16 kDa ağırlığında, adipositler tarafından üretilen ve kilo kaybından sorumlu bir proteindir. Leptin üretim defekti olan farelerde yara iyileşmesinin de geciktiğı izlenmiştir (32). Leptinin topikal uygulanması ile keratinositlere olan mitojen etkisi sonucu reepitelizasyon artarken anjiyogeneze herhangi bir etkisi bulunmamaktadır (29, 73).

TNF- α primer olarak makrofajlar tarafından salınan, inflamatuvar yanıtta aracı fonksiyonu olan bir diğer önemli sitokindir. Deney hayvanlarında tümöre uygulandığında ağır nekroza yol açtığı görülmüştür. İnflamasyonun başlangıç safhasında endotel hücrelerindeki adezyon moleküllerinin üretimini artırır ve lökosit adezyonunda önemli rol oynar. Ayrıca yağ dokuda lipoprotein lipaz inhibisyonu yaparak yağ asitlerinin kullanımını azaltır ve kaşeksiye

neden olur, bu nedenle “kaşektin” olarak da bilinmektedir. İstenmeyen bir etkisi de endotelin antikoagulan özelliğinin kaybına neden olarak koagulopatiye yol açmasıdır (55, 76).

Yara bölgesinde bulunan çeşitli sitokin ve büyüme faktörleri birbirleriyle etkileşim halindedir ve eksiklikleri yara iyileşmesinin bozulmasına yol açar. Bu maddelerden birinin eksikliği diğerlerinin üretimini etkiler. Örneğin proinflamatuar sitokinlerden IL-1 ve TNF ve büyüme faktörlerinden PDGF, FGF-7 salınımını indüklerler. (Şekil 2A). Benzer şekilde FGF7, EGF, ve TGF de keratinosit ve makrofajlardan VEGF salınımını düzenlerler (9) (Şekil 2B).



Burada bahsedilen sitokinlere ek olarak birçok büyüme faktörü de yara iyileşmesinde önemli rol oynar. Tablo 1’de yara iyileşmesinde etkili olan sitokin ve büyüme faktörleri gösterilmiştir.

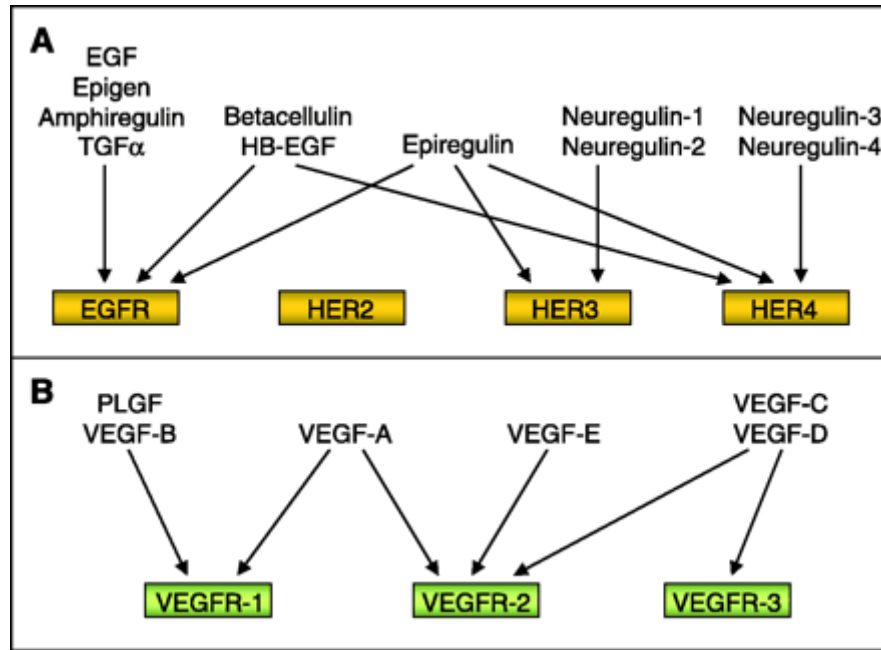
Tablo-1 Sitokinler, Büyüme Faktörleri ve yara iyileşmesine olan etkileri (92)

Etki	Büyüme Faktörleri ve Sitokinler
Nötrofil infiltrasyonu	TGF- β , MCP-1, IL-8, IL-6, IL-10(-)
Makrofaj infiltrasyonu	TGF- β , MCP-1, IL-10(-)
Anjiogenezis	VEGF-A, FGF-2, Anjiopoetinler, HGF, MCP-1, IL-8, GM-CSF
Fibroplazi	PDGF, TGF- β , GM-CSF, IGF’ler
Matriks birikimi	FGF-2, IGF-1, NGF, TGF- β , Aktivinler, MCP-1
Skar oluşumu	IGF-1, TGF- β , Aktivinler, IL-6, IL-10(-)
Reepitelizasyon	FGF-2, FGF-7, FGF-10, EGF, TGF- α , HB-EGF, IGF’ler, NGF, Aktivinler, MCP-1, IL-6, GM-CSF, Leptin, TGF- β (-), BMP-6(-)

3- Büyüme Faktörleri ve Etkileri

Yaralanma sonrası ortama çıkan plateletlerden büyük miktarlarda salgılanan PDGF, yara bölgesine göç eden nötrofil monosit ve fibroblastlar için kemotaktik olduğu ilk gösterilen büyüme faktörüdür. Fibroblastların proliferasyonunu artırarak ekstraselüler matriks yapımını desteklemesinin yanı sıra myofibroblastları indükleyerek kollajen matriks kontraksiyonunu sağlamaktadır (40).

Epidermal büyüme faktörü (EGF) mitojen ailesinin birçok üyesi vardır. Bu üyeler arasında EGF, TGF, heparin bağlayıcı EGF (HB-EGF), amphiregulin, epiregulin, betacellulin, neurogulinler ve yeni tanımlanan epigen sayılabilir. EGF, TGF ve HB-EGF etkilerini birçok hücre tipinde bulunan EGFR transmembran protein tirozinkinaz reseptörüne bağlanarak gösterirler. Şekil 3A’da EGF ailesi üyelerinin bağlandığı çeşitli reseptör tipleri gösterilmiştir. Bu faktörlerin yara iyileşmesinde rol aldıkları birçok çalışmada belirtilmiştir.(35, 81, 87). Keratinositler ve fibroblastlar için mitojenik olan HB-EGF’nin reepitelizasyon ve granülasyon oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir.



Şekil 3. EGF (A) ve VEGF (B) ailesi ve etki ettikleri reseptörler (92).

VEGF ailesi VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plesenta büyüme faktörü (PLGF)’yi içerir. Etkilerini VEGFR-1, VEGFR-2 ve VEGFR-3 olarak adlandırılan üç

farklı transmembran tirozinkinaz reseptörüne bağlanarak oluştururlar (şekil 3B) (26). VEGF ailesinin üyeleri yara iyileşmesinde anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin başlıca düzenleyicileridir.

VEGF'ler gibi vasküler endotelyuma etki eden bir diğer büyüme faktörü anjiyopoetinlerdir. Bilinen dört farklı anjiyopoetin çeşidi kendileri ile ilişkili olan bir transmembran tirozinkinaz reseptörüne bağlanarak etki ederler. Bu reseptörü anjiyopoetin 1 ve 4 aktive ederken 2 ve 3 bloke ederler. VEGF'lerden farklı olarak, anjiyopoetinler endotelial hücre proliferasyonunu düzenlemezler; anjiyopoetin-1 kan damarlarının stabilizasyonundan sorumlu iken anjiyopoetin-2 damar destabilizasyonu ve yeniden şekillendirilmesi ile ilişkilidir.(26).

IGF-1 ve IGF-2 birçok hücreye mitojen etkide bulunarak otokrin, parakrin ve endokrin alanlarında fonksiyon gösterirler. Etkilerini kendi isimlerini taşıyan reseptörleri aracılığıyla gösterirler. Birçok çalışmada diğer büyüme faktörleri ile birlikte yara iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (56).

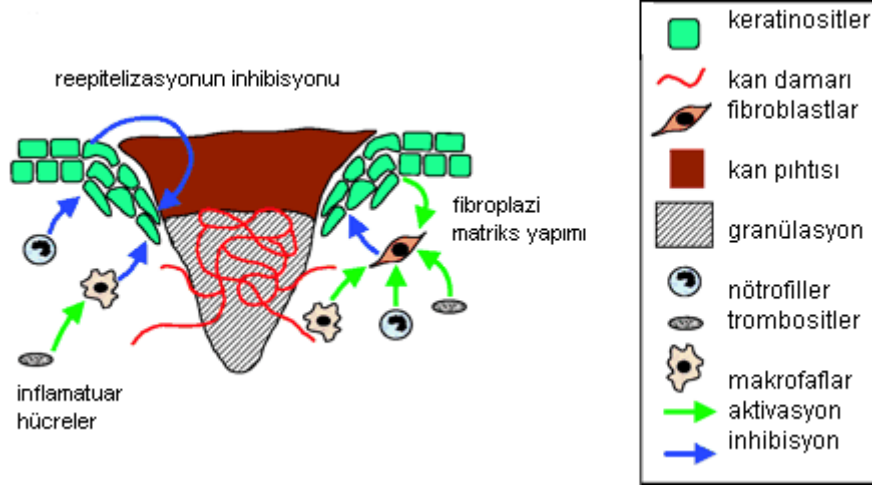
Pazminojen ilişkili büyüme faktörü (PRGF) veya scatter faktör (SF) olarak adlandırılan ailenin hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve makrofaj stimulan protein (MSP) olmak üzere iki üyesi bulunmaktadır. HGF hepatositler için kuvvetli bir mitojendir ve epitelial hücrelerin dağılımını stimüle eder. Mezenşimal orjinli hücreler tarafından üretilen HGF, keratinositlerin migrasyon ve proliferasyonunu ve yeni kan damarı oluşumunu uyarır (12, 18, 60). MSP de karciger tarafından salınan bir serum proteindir ve birçok hücre çeşidinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını düzenler. Makrofaj ve keratinositlere olan etkisi ile yara tamirinde rol oynadığı düşünülmektedir (54, 83).

Sinir büyüme faktörü (NGF), santral ve periferik sinir sisteminde sempatik ve duyuşal nöronların gelişmesi ve yaşamlarını sürdürebilmeleri için gerekli olan nörotropin polipeptit ailesinin bir prototipidir. Birçok organda inflamasyonun başlatılıp devam ettirilmesinde anahtar rolü vardır. Sinir hücreleri üzerine olan etkilerinin yanı sıra NGF'nin yara iyileşiminde diğer hücre tipleri üzerine de etkileri vardır. NGF keratinositlerin proliferasyonunu stimüle ederken apoptozisini inhibe eder. Ayrıca dermal mikrovasküler endotelyal hücrelerin proliferasyonunu ve yüzey yapışma moleküllerinin ortaya çıkmasını artırır. NGF fibroblast migrasyonunu ve düz kas aktin ekspresyonun artırır böylelikle kollajen jel kontraksiyonunu sağlar (72). İnsanlarda yatak yaralarının iyileşmesinde ekzojen NGF'nin yararlı olduğu gösterilmiştir (7).

TGF β ; büyüme, hemostaz ve tamir aşamalarında rol oynayan geniş bir protein ailesidir. Fibroblastlar için mitojenik fakat keratinositleri de içeren başka birçok hücre tipi için çoğalmayı baskılayıcı etkileri vardır. TGF'ler ekstraselüler matriks proteinleri ve integrinlerin salınımını artırıcı yönde etki ederler.

Önemli işlevlere sahip ve fonksiyonları iyi bilinen sitokinlerden TGF- β , T hücre proliferasyon ve aktivasyonunu inhibe etmesi nedeniyle sitokinler içinde farklı bir proteindir. Bir çeşit anti-sitokin olarak da kabul edilen TGF- β , kollajen sentezini uyararak yara iyileşmesini uyarır. Özetle aşırı immün yanıtı baskılar ve doku iyileşmesini hızlandırır (Şekil 4) (55, 82).

TGF- β 'nın Etkileri



Şekil 4. TGF- β 'nın yara iyileşmesi sırasındaki etkileri. Kanama anında TGF- β platletlerden büyük miktarlarda salınır. İyileşen yarada lökosit, makrofaj, fibroblastlar ve keratinositler tarafından üretilir ve bu hücelere etki ederek inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu, fibroplazi, matriks birikimi ve anjiyogenezi uyarır. Bütün bunlara zıt olarak endojen TGF- β reepitelizasyonu inhibe eder (92).

Yine TGF ailesi üyelerinden aktivinler birçok doku ve organ grubunda büyüme ve farklılaşmayı düzenlerler. Aktiviteleri tip1 ve tip2 transmembran serin/tirozinkinaz reseptörleri tarafından düzenlenilirken, follistatin ve follistatin ilgili protein tarafından da inhibe edilir (68).

FGF, 22 üyesi bulunan polipeptid yapıda bir büyüme faktörüdür ve birçok üyesinin mitojenik aktivitesi vardır. Etkilerini FGFR1-4 olarak adlandırılan dört transmembran tirozinkinaz reseptörü üzerinden gösterirler. Bu etkiyi gösterebilmek için kendilerini termal etkilerden ve proteolizisten koruyan heparin ve heperansülfat ile birlikte hareket ederler. Mezodermal, ektodermal ve endodermal orjinli birçok hücre grubunun proliferasyonunu stimüle ederler. Bunun yanı sıra, hedef aldıkları hücrelerin migrasyon ve diferansiasyonunu düzenlerler. Bazı FGF'lerin sitoprodüktif özelliği olduğu ve stres altındaki hücrenin yaşam

süresini uzattığı gösterilmiştir (6, 65, 93). FGF ailesinin en önemli üyelerinden biri ve bu çalışmanın da konusu olan FGF-2 (bazik FGF, FGFb) hakkında ayrıntılı bilgiye aşağıda yer verilmiştir.

4- FGF-2

FGF-2 (bazik fibroblast büyüme faktörü), 22 farklı üye içeren FGF'nin yapısal ilişkili prototiplerindendir. FGF'nin invivo spesifik fonksiyonları bilinmemesine karşın (4, 6, 8, 31) pek çok fizyolojik, patolojik durumda ve gelişimde önemli bir işleve sahiptir. FGF-2 mesoderm ve nöroektoderm kaynaklı hücrelerin proliferasyonunu sağlayan piliotrofik faktördür. FGF-2 fibroblast ve endotelial hücrelerin diferensiyasyonunu arttıran veya azaltan güçlü bir kemotaktik ve aynı zamanda anjiogenetik ve nörotrofik etkileri olan bir proteindir (8). FGF2'nin biyolojik aktiviteleri hücre duvarına bağlı olan spesifik tirozin kinaz transmembran reseptörleri ile olmaktadır (4, 6, 8, 31). Dört FGF reseptöründen FGFR1 ve FGFR2, FGF-2'ye en yüksek afinite ile bağlanırlar (57, 58, 66). FGF-2 yetişkin ve embriyolojik orjinli pek çok hücre tipinden sentezlenebilir. FGF-2'nin in vitro ve in vivo pek çok çeşitli farmakolojik etkileri vardır. FGF-2 embriyojenik hücrelere uygulandığında mezoderm uyarıcı etki yapar ve apikal ektodermal kenarın öncülü olduğu gibi ekstremitte tomurcuğu mezenşimini uyararak ekstremitte gelişimini de sağlar (20, 84). FGF-2 anjiogenetik aktivite gösteren dissosiye epiblastları uyararak endotelial ve hematopoetik hücrelerin diferansiyasyonunu sağlar ve kan damarı gelişiminde rol oynar (21). FGF-2 hematopoetik sistemde uzun dönem kemik iliği kültürlerinde myelopoez sağlar ve megakaryositopoezin güçlü bir stimulanıdır (1, 95). FGF-2 mekanik yüklenmeye yanıt olarak kardiyomyositlerden salınarak myokardiyal hipertrofi yapar (15). FGF-2'nin ratta sistemik uygulaması tansiyonu düşürür (16). FGF-2'nin santral sinir sistemindeki çok sayıdaki etkileri arasında; istirahatteki

astrositleri uyarak hücre döngüsüne tekrar girmesini ve fibriler asidik protein salgılayarak astrosit differansiasyonu sağlaması (49), isole nöronların sağkalımını arttırması ve hipokampal ve kortikal nöronların büyümesini olumlu yönde etkilemesi sayılabilir (59). Nöropeptid Y gibi nörotransmitterlerin ekspresyonunu regüle ederek (5) kortikal multipotent kök hücrelerin bölünmesini uyarır ve post mitotik nöronların diferansiyasyonlarını ve sağkalımını sağlar (30, 71, 89). FGF-2 göz retina ve korneada olduğu gibi ciltte de yara iyileşmesini sağlar (8). Ayrıca FGF-2 tümör büyüme ve angiogenezisinde de rol oynamaktadır (6, 8).

Tüm bu geniş biyolojik aktivitelere ramen FGF-2'nin bu etkileri yapan doğal efektör olup olmadığı ayırt edilememiştir, çünkü FGF-2 normalde salgılanan diğer FGF üyelerini taklit edebilir, belki de birden çok FGF aynı reseptörle etkileşmektedir. FGF-2 diğerlerinden sinyal peptidine ihtiyaç duyması ve klasik endoplasmik retikulum ve golgi bağımlı mekanizma ile salınmaması yönünden farklıdır. FGF-2 çoğalan hücrelerce efektif olarak salınamaz ancak pek çok dokuda ekstrasellüler olarak bulunur (8). FGF-2 mRNA'sı alışılmış başlangıç (AUG) kodonlarına ek translasyon başlangıç bölgeleri (CUG kodonları) içerirler. Bu bölgelerden başlayan translasyon in vivo ve in vitro ortamlarda yüksek molekül ağırlıklı FGF-2'yi oluşturup nükleus yerleşimli zincirler yaparken, AUG ilişkili 18-kDa formu çoğunlukla sitozolde ve extravasküler matrikste bulunur (8, 11, 22). Nükleer FGF-2'nin fonksiyonları tam olarak anlaşılmasa da FGF-2'nin çift mekanizmalı bir aktivite gösterdiği düşünülmektedir (67).

5- FGF-2'nin Doku İyileşmesindeki Etkisi

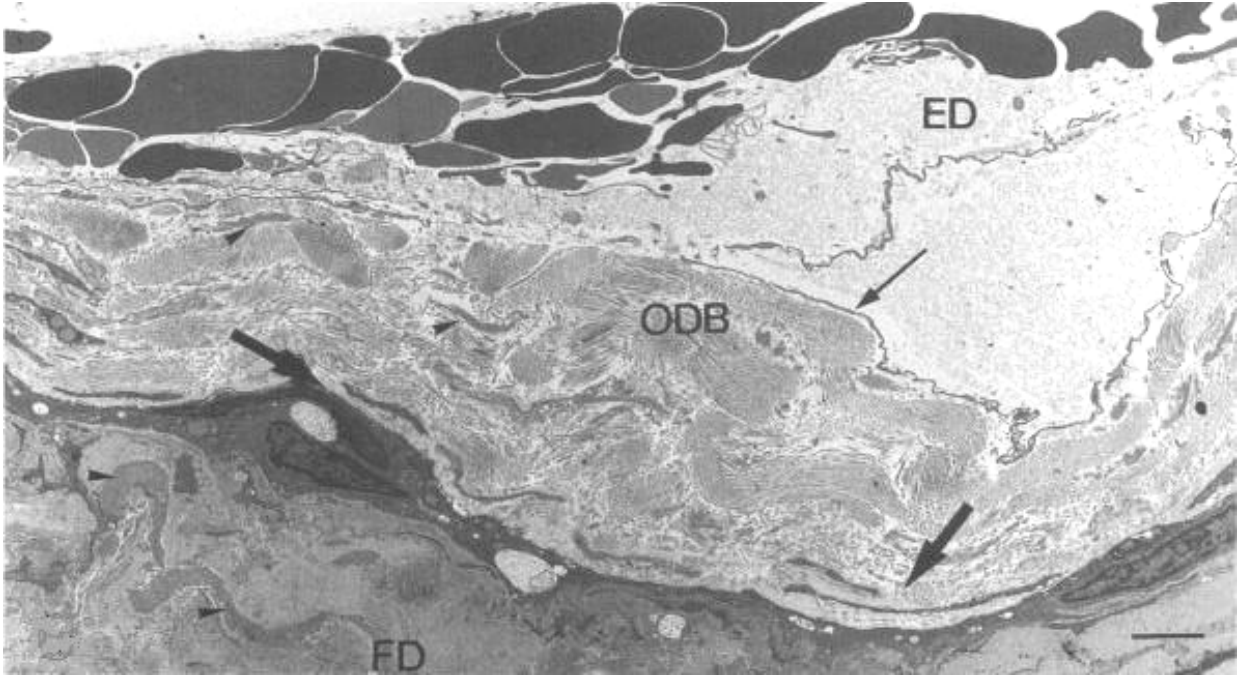
Endojen proteinlerin yara iyileşmesinin düzenleyicileri olduğunu doğrular şekilde bazı FGF'ler yara bölgesinde tespit edilmişlerdir. FGF-2 yaralanma sonrası eken evrelerden itibaren yara sıvısında tespit edilmiştir. FGF-2'nin hasarlı cilt bölgesinde olduğu imminohistokimyasal yöntemler ile de teyit edilmiştir.

FGF-2 invivo olarak keratinosit, düz kas hücreleri ve fibroblastların mitozunu stimüle eder ve granülasyon dokusunun oluşumunu artırır. Bazı yazarlara göre kemoterapi, radyoterapi ve diabetin olumsuz etkilerini geriye döndürmektedir ve kısmen anjiyogeniktir. Ishiguro ve arkadaşlarının topikal olarak uyguladıkları çalışmada flep neovaskülarizasyonunda anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (44). Broadley ve arkadaşlarının FGF-2 nötralize antikorları ile yaptıkları çalışmada; antikorların bulunduğu grupta yara bölgesinin selülerite ve ve vaskülarizasyonunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin azalma olduğu gözlenmiştir. Yine aynı çalışmada iyileşmenin 7. gününde antikorlu gruptaki DNA, protein ve kollajen miktarlarının %25-35 daha az olduğu gözlenmiştir. Böylelikle endojen FGF-2'nin yara iyileşmesinde önemli bir rolü olduğunu gösterilmiştir (10). FGF-2 üretimi genetik olarak defektif olan farelerde yapılan bir diğer çalışmada reepitelizasyonun geciktiği, kollajen birikiminin daha az olduğu ve yara üzerinde daha kalın bir kabuk bulunduğu belirtilmiştir (67).

6- Duranın Histolojik Yapısı

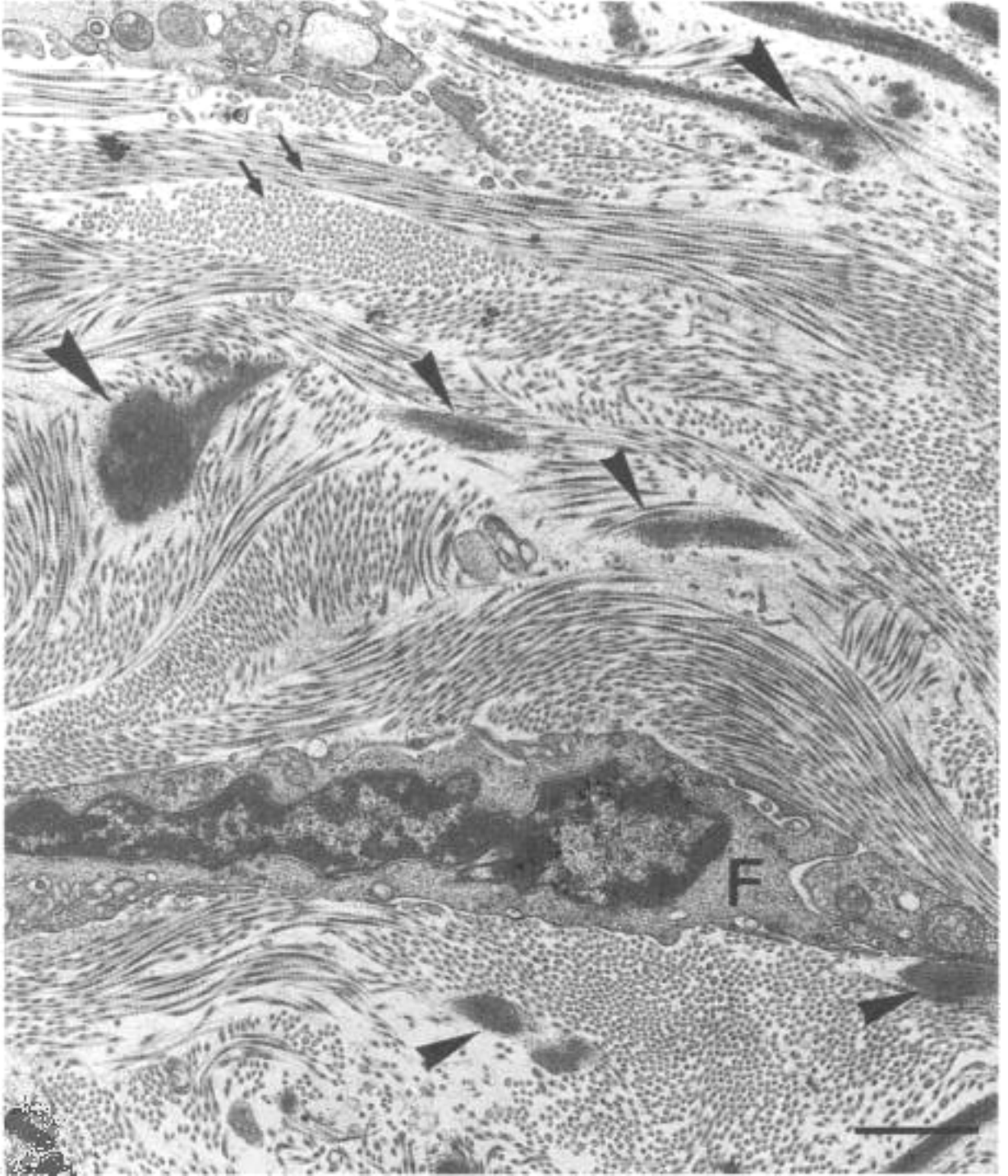
Santral sinir sistemini saran meninks tabakası ilk olarak 1876'da Key ve Retzius tarafından 3 katman olarak tanımlanmıştır; en dışta dura mater, ortada araknoid ve en içte piamater (91).

Duramater (pakimeninks)'in histolojik yapısına bakıldığında; birbirine paralel yerleşmiş çok sayıda ekstraselüler kollojen fibril, az sayıda elastik fibril ve fibroblastlar bulunan kompakt bağ dokusundan oluştuğu görülür (Resim 1).



Resim 1. Duranın histolojik yapısı. En dış tabakası (ODB), genişlemiş hücrelerle birlikte fibroelastik tabaka (geniş oklar), fibröz dura (FD) ve elastik lifler (ok başları). ODB epidural aralığa (ED) uzanan ince, uzun hücrelerle (küçük oklar) sınırlandırılmıştır (91).

Dura 3 tabaka halinde incelenebilir. Bu tabakaların ortasındaki en kalın katman iyi derecede vaskülarize ekstraselüler kollajen içerir. Kollajen liflerinin kalınlığı 20-55 nm arasında değişir ve farklı yönlerde uzanım gösterirler.(Resim 2).



Resim 2. Kollajen fibriller, elastik lifler (ok başları) ve fibroblastlardan (F) oluşan fibröz dura. Kolajenin lameller yapısı küçük oklar ile gösterilmiştir (91).

Ekstraselüler matriks mikrofiberler, elastik lifler ve az sayıda fibroblastları da içermektedir. Duranın orta katmanında sinir sonlanması bulunmaz. Duranın en dıştaki ince katmanı yalnızca 2 µm kalınlığındadır. Bu katman; daha az yoğunluktaki ekstraselüler matriks ile iç içe geçmiş elastik lifler ve birbirine paralel uzun sinuzal hücre yapılarından oluşur. Duranın en iç tabakası Nabeshima ve arkadaşları tarafından dural sınır hücreleri (dural border cells = DBC) olarak adlandırılmıştır (61). Bu katman yaklaşık olarak 8 µm kalınlığında ve ekstraselüler kollajen desteğinden yoksun göreceli olarak birbirleriyle daha az birleşme noktası içeren hücrelerden oluşur (91). Kranyal duranın iç ve spinal duranın her iki yüzü yassı mezenkimal kökenli mezotel hücresi ile döşelidir. Duranın iki yaprağı arasında endotelle döşeli venöz sinüsler bulunur. Bu sinüsler v. jugularis internaya boşalır.

Anatomik özellikleri incelendiğinde; altındaki araknoid membrandan potansiyel olarak varolduğu düşünülen subdural aralık ile ayrıldığı izlenir. Beyin durası ile spinal dura foramen magnum aracılığıyla birbirleriyle devam etmektedir.

Beyin durası ile spinal dura arasında aşağıda belirtilen farklar vardır:

Beyin durası kafatası kemiklerine sıkıca yapışıktır. Yani kemiğin periostu ile dura sıkıca bağlanarak bilaminar (2 tabakalı) bir yapı oluştururlar. Dolayısıyla epidural aralık ve dura dışını kuşatan mezotel hücreleri bulunmaz. Damarlar durayı delip periosta girer. Dura tubuler bir kılıf şeklinde kafatasından çıkan sinirlerin etrafında dışa doğru uzanır. Sinirin en dış kılıfı olan epineuriumla kaynaşır. Ancak epidural kanamalarda spinal duradakine benzer bir epidural aralık oluşur. Ayrıca içe doğru septumlar yollayarak kranial boşluğu kavitelere ayırır (falks serebri, tentorium serebelli, diafragma sella dura uzantılarıdır).

Spinal dura da ise kemik ile dura arasında epidural aralık vardır. Dura kemiğe küçük lateral ligamentlerle asılı durumdadır. Epidural aralıktaki yağdan zengin gevşek bağ dokusu içinde çok sayıda ven bulunur. Arasına paravasküler veziküllü sinir hücreler bu bölgede görülebilir (Resim 3). Duranın dış ve iç yüzü mezotelle döşelidir. Yine dura spinal sinirler çevresinde tübüler biçimde uzanır ve septum bulunmaz (91).



Resim 3. Epidural doku. Mitokondri, nörotübül ve nöroflament içerikleriyle paravasküler veziküllü sinir kesiti (91).

7- BOS Kaçağının Klinik Tanısı

Beyin yüzeyi üç meningeal katman ile örtülmüştür. En içte piamater beyin ile indirekt kontakt halindedir. Sonraki katman araknoid mater, serebral sulkusları kaplar. Daha sonra en dışta en kalın tabaka olan dura mater gelir. Pia ile araknoid arasındaki boşluk subaraknoid

mesafe olarak adlandırılır ve BOS'u barındırır. BOS, araknoid veya duranın travmatik veya cerrahi hasarı sonrası kaçak oluşturabilir. Bu durum, BOS fistülüne neden olabilir. Şayet bu fistül paranazal sinüs veya nazal kaviteyle ilişki kurarsa rinore meydana gelir.

BOS fistülünün tanısı için birçok kimyasal teknik ve görüntüleme yöntemi geliştirilmiştir (19).

Rinore veya otore bulunması durumunda BOS fistülü olup olmadığını saptamak için bazı parametrelerden faydalanılır

- BOS bulunduğunu düşündüren sıvının karakteristik özellikleri arasında berrak olması, burun içinde veya dışında ekskoriyasyona neden olmaması ve tuzlu bir tadının olması sayılabilir.
- BOS'ta kantitatif glukoz bakılabilir. Normal BOS glukozu $> 30 \text{ mg}$ iken (menenjit olmadıkça), lakrimal sekresyonlar ve mukusta genellikle $< 5 \text{ mg}$ 'dır. Bu yöntemin $45-75$ arasında değişen yanlış pozitif olma ihtimali vardır.
- Protein elektroforezi: $\beta 2$ -transferrin BOS'da mevcuttur fakat gözyaşında, nazal eksüdasyonda ve serumda (yenidoğanlar ve karaciğer hastalığı olanlar hariç) bulunmaz.
- "Halka bulgusu" ("ring sign"): BOS sızıntısından şüphelenildiği, fakat sıvının kanla karışık olduğu zaman, sıvının çamaşıra (çarşaf veya yastık üzerine) damlamasına müsaade edilir. Bir kan halkası ve bunun etrafında daha büyük açık renkli bir sıvı halkası (çift halka veya hale olarak adlandırılır) görülmesi BOS bulunduğunu düşündürür. Güvenilir olmayan bir bulgudur.

- BOS sızıntılarının %5'inde anosmi mevcuttur.
- BT veya kranyografide pnömosefalinin radyografik bulguları izlenebilir.
- Radyonükleer izotopun intratekal enjeksiyon ve sintigrafi ile izlenmesi veya radyopak kontrast enjeksiyonunu takiben BT görüntülemesi kullanılabilir.

BOS Fistülünün Yerinin Saptanması

Bu amaçla birçok radyolojik yöntem kullanılmaktadır. Eskiden kullanılan direk grafilere yalnızca %21 oranında fayda sağlıyordu (34) günümüzde bir çok ileri görüntüleme yöntemi ile BOS kaçağının yeri belirlenebilmektedir.

Radyonükleer sisternografi; BT sisternografide gösterebilmek için çok yavaş olan sızıntılarda endikedir. Radyoiyodine insan serum albumini veya indium111 DTPA kullanılır. Hastaların yalnızca %50'sinde sızıntı yeri belirlenebilir (34).

BBT; hidrocefali ve obstrüktif neoplazmları ekarte etmek için kullanılır. Anterior fossadan sellaya kadar ince koronal kesitleri içerir. Kontrastsız kesitlerde kemik defektleri izlenebilirken, kontrastlı görüntülerde sızıntı yeri genellikle bitişik beyin parankiminin anormal kontrast tutması ile birliktedir (muhtemelen inflamasyon nedeniyle). BT sisternografi ilk olarak 1977 yılında tanımlanmıştır. Bu, lomber ponksiyon ile intratekal kontrast madde verilmesini gerektiren ve morbiditesi olan bir işlemdir. İşlem sırasında BOS kaçağının devam etmesi tanı şansını artırmaktadır (34).

DiChiro ve arkadaşları 1986'da MR sisternografiyi tanımlamışlardır. Bu sayede intrakranyal birçok lezyon ile birlikte BOS kaçakları da tespit edilebilmiştir. Sonraki yıllarda

fast spin-echo T2 ağırlıklı MR sekansları ile BOS kaçaklarını %100'e varan oranlarda görüntülemek mümkün olmuştur (27).

8- BOS Kaçağının Tedavisi

Travma sonrasında akut olarak oluşan BOS kaçağı çoğu olguda spontan bir şekilde durmaktadır. Profilaktik antibiyotiklerin kullanılması tartışmalıdır. Spontan durmayan kaçaklar için cerrahi ve cerrahi olmayan tedavi yöntemleri bulunmaktadır.

Cerrahi olmayan yöntemler; kafa içi basıncını düşürmek uygulanan; için yatak başının 30 derece yükseltilmesi, valsalvadan kaçınılması, BOS yapımını azaltılması için asetozolamid ve hafif derecede sıvı kısıtlaması olarak özetlenebilir.

Sızıntı devam ederse, önce BT veya MRG ile obstrüktif hidrocefali ekarte edilerek, lomber drenaj katateri veya günde bir veya iki kez LP uygulanır (34).

Persistan vakalarda cerrahi yöntemler uygulanabilir;

Cerrahi olmayan tedavi yöntemlerine rağmen 2 haftadan uzun süren BOS kaçağı, cerrahi veya travma sonrası geç dönemde ortaya çıkan veya spontan oluşan BOS kaçakları ve menenjit ile komplike olan kaçaklar cerrahi tedavi endikasyonları arasında sıralanabilir.

Posterior fossa cerrahisi veya mastoid fraktür sonrası hem otere hem de rinore (östaki borusu aracılığıyla) görülme riski vardır.

Frontal sızıntılar için ekstradural yaklaşım daha çok KBB cerrahları tarafından tercih edilir. Sızıntı yerini gösterebilmek için ameliyatta intratekal olarak BOS ile karıştırılmış floresan boya kullanılabilir (34).

Frontal sızıntılar için intradural yaklaşımda ise preoperatif olarak fistül yeri tespit edilmemişse, bifrontal kemik flebi kaldırılır. Postop lomber drenaj takılması tartışmalıdır. BOS basıncının yapışmayı artırdığı iddia edilmektedir (17). Takıldığı durumlarda 3-5 gün boyunca omuz hizasında tutulmalıdır. Şayet artmış kafa içi basıncı veya hidrosefali söz konusu ise şant takılabilir (34).

Transsfenoidal cerrahi sonrası sızıntıda, önce cerrahi olmayan konservatif metodlar kullanılır. Bunlar; yukarıda da belirtildiği gibi, yatak istirahati, dikkatli sıvı kısıtlaması ve BOS basıncının 150 mm H₂O'dan yüksek olduğu durumlarda günde iki kez LP uygulaması olarak sıralanabilir. Sızıntı 3 günden fazla devam ederse, sella tabanına rekonstrüksiyon yapılarak sfenoid sinüs ve pterigoid resesler yağ, kas, kartilaj ve/veya fasya lata ile yeniden doldurulur ve LP'ye devam edilir. Şayet sızıntı 5 günden daha uzun süre sürerse obstrüktif hidrosefali elimine edilerek lumboperitoneal şant takılabilir. Lokal anestezi altında transnazal sellar fibrin yapıştırıcı enjeksiyonu ise diğer bir tedavi yöntemi olarak sayılabilir (34).

9- BOS Kaçağının Önlenmesinde Klinik ve Deneysel Yöntemler

Ekstradural veya ciltaltı BOS kaçağı sıklıkla kötü yara iyileşmesi, menejit veya psödomeningosel ile birlikte (2). Kranyal ve spinal cerrahi sonrası oluşan BOS kaçağının önlenmesinde birçok yöntem geliştirilmiştir.

Duranın basınçlı kapatılması basit sütürler ile mümkün olmaz. Son zamanlarda küçük açıklıklar için fibrin yapıştırıcılar kullanılmakta ise de BOS kaçağı riskini beraberinde getirmektedir.

Dura şayet primer olarak kapatılamıyorsa duraplasti gerekliliği ortaya çıkar.

Kadavra dura ve fasya lata'sı bir dönem dura yerine kullanıldıysa da Creutzfeldt-Jakob veya diğer yavaş virüs hastalıkları riski nedeniyle artık kullanımı uygun görülmemektedir (88).

Dural defekt alanına doğal dokularla duraplasti uygulanmasının bazı yararları vardır. Perikranyal dokular, temporal fasya, fasya lata, dermis veya yağ dokusu ideal materyaller olarak kabul edilir ve geniş kullanım alanları vardır. Fakat bu malzemelerin operasyon süresini uzatmak ve ikinci bir cerrahi alan oluşturmak gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır. Ayrıca her zaman yeterli miktarda temin edilemiyebilmektedirler.

Dural greft olarak birçok materyal denenmiştir. Absorbe olmayan sentetik greftler yabancı cisim reaksiyonu ve enfeksiyon riskini taşırlar. Bu riskler emilebilen sentetik materyaller ile azaltılmıştır (78). Fakat sentetik materyaller duraya yapışmadığı için BOS kaçağının önlenmesi için birçok yöntem geliştirilmesi gerekmiştir. Fibrin yapıştırıcının sütür alanına yapılan uygulaması ile palpe edilen ciltaltı BOS kaçağının hastaların %97'sinde önlendiği bildirilmişse de (62) özellikle gergin kapatılan infratentoryal duraplastide BOS kaçağının önlenmesi bir hayli zor olmaktadır.

III- GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesi tarafından onaylandıktan sonra Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan deneklerin barınmaları Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda sağlanmıştır.

Çalışmada ağırlıkları 200+/-20 gr. arasında değişen toplam 32 adet Wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Deneklerin tümü aynı ısı ve neme sahip ortamda, herhangi bir besin kısıtlaması veya ek besin uygulaması olmadan, normal içme suyu ve standart rat yemi verilerek yaşatıldı. Deneklere en çok ikili gruplar halinde kaldıkları ayrı kafeslerde bakıldı. Denekler çalışma öncesinde adaptasyon için barınacakları ortamda 1 hafta tutuldular.

Denekler iki gruba ayrıldı.

Grup I: Kontrol grubu. Toplam 16 adet ratın dorsal interskapular bölgesine yapılan 2 cm'lik orta hat cilt insizyonu ile 2 seviye laminektomi yapılması sonrası dural yırtık oluşturularak BOS gelişi izlendi. Ardından kan pıhtısı ile yama oluşturuldu.

Grup II: FGF-2 grubu. Toplam 16 adet ratın dorsal interskapular bölgesine yapılan 2 cm'lik orta hat cilt insizyonu ile 2 seviye laminektomi yapılması sonrası dural yırtık oluşturularak BOS gelişi izlendi. Ardından dura üzerine 1µg lokal FGF-2 (BIOSOURCE, Recombinant Mouse FGFb, Lot: N102810) tatbik edildi.

Operasyon:Tüm cerrahi girişimler steril koşullarda uygulandı. Cerrahi girişimler, kas içine 60-100 mg/kg ketamin ve 5mg/kg xylazin karışımı enjekte edilerek genel anestezi

altında yapıldı. Denekler operasyon masasına tespit edildikten sonra önce kulaklarının iç yüzünden numaralandırıldı. Daha sonra dorsal interskapular bölge traş edildi. Operasyon sahası %10 polivinilpirolidon-iyot karışımı ile sterilize edildi. Spinöz prosesler boyunca yaklaşık 2cm'lik orta hat cilt insizyonu sonrası fasya açıldı. Paravertebral kaslar spinöz proses ve laminalardan keskin ve künt diseksiyonla subperiostal sıyrıldı. Küçük otomatik ekartörler aracılığıyla cerrahi saha açığa çıkartıldı. Operasyon mikroskobu ile küçük rongeur kullanılarak 2 seviye total laminektomi yapıldı. Ligamentum flavum ve yer yer ince epidural yağ dokusu eksize edildi. Duramater ve sinir kökleri ortaya kondu (Resim 4) . Ardından dura açılarak BOS gelişi izlendi.



Resim 4 İki seviye laminektomi sonrası duranın görünümü

Kontrol grubunda loja kan pıhtısı ile yama yapıp başka bir işlem uygulanmadı.

FGF-2 grubunda loja 0,1 cc distile su ile sulandırılarak hazırlanmış 1µg FGF-2 enjekte edildi.

Bu işlemlerin ardından fasya 5/0 vikril ile suture edildi. Cilt 4/0 ipek ile suture edildi. Operasyon sahası tekrar %10 polivinilpirolidon-iyot karışımı ile sterilize edildi. Denekler anestezi etkisinden çıkana kadar oda sıcaklığında bir süre bekletildiler, daha sonra barınaklarına götürüldüler.

Her iki gruptaki denekler de 8'erli iki altgruba ayrıldı. Böylece 'erken kontrol', 'erken FGF-2', 'geç kontrol' ve 'geç FGF-2' olmak üzere toplam 4 altgrup oluşturuldu. Sekizden toplam 16 denekten oluşan ilk altgruplar postop 3. günde, ikinci altgruplar ise 6. hafta sonunda pentobarbital 100 mg/ kg IP kullanılarak sakrifiye edildiler. Dorsal interskapular bölgeye orta hata yaklaşık 4 cm' lik cilt insizyonu yapıldıktan sonra vertebral kolon laminektomi sahasının yaklaşık 0,5 cm üstü ve 0.5 cm altından 20 numara bistüri ile transvers olarak kesildi ve blok halinde çıkartılarak serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra tespit olmak üzere %10'luk formol solüsyonuna konuldular. 72 saatlik tespit aşamasını takiben dokular, kemik içeriklerinin dekalsifiye olması amacıyla %10'luk formik asite alındılar. Yaklaşık 3 haftalık dekalsifikasyondan sonra dokular yeniden tespit edilip ardından vertebral kolon makroskopik olarak, transvers biçimde 5'er milimetrelik aralıklarla kesitlere ayrıldı. Bu kesitler 24 saatlik akan çeşme suyunda yıkanarak alkol, sedir yağı, ksilol ve parafin serilerinden geçirilerek blok haline getirildiler. Lamlar üzerine 5 mikronluk alınan kesitler histokimyasal olarak Masson Trikrom yöntemi (**Bio-Optica**) ile boyandı. Histopatolojik değerlendirme, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda daha önce yara iyileşmesi ilgili çalışmalara katılmış bu konuda tecrübeli araştırmacılar tarafından yapıldı. Hazırlanan kesitler

ışık mikroskopta (**Leica DM 4000**) değerlendirilip fotoğrafları çekildi. He ve arkadaşlarının oluşturduğu analiz parametreleri (39) temel alınarak dural iyileşme fibrozis derecesine göre değerlendirildi. Bu sınıflama aşağıdaki skalaya göre yapılmıştır.

Grade 0: Laminektomi bölgesinde herhangi bir granülasyon dokusu oluşmamış (Resim 5 ve 6)

Grade I: Laminektomi bölgesinde minimal granülasyon dokusu oluşmuş (Resim 7,8,9 ve 10)

Grade II: Laminektomi bölgesinde, membranlarda bütünlüğün olduğu, çevre dokularda (kemik doku ve paraspinal kaslar) minimal düzeyde hasarın devam ettiği evre. (Resim 11 ve 12)

Grade III: Laminektomi bölgesinde tam iyileşmenin olduğu evre

Bulgular Mann Whitney U Testi kullanılarak karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı olup olmadıkları değerlendirildi.

IV- BULGULAR

Histopatolojik değerlendirme He ve Raval kriterleri (39) modifiye edilerek yapılmıştır.

Bulgular Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2 Gruplara ait iyileşme düzeyleri

DENEKLER	GRUPLAR			
	ERKEN KONTROL	GEÇ KONTROL	ERKEN DENEY	GEÇ DENEY
1	G0	G1	G0	G2
2	G0	G1	G0	G2
3	-	G1	G1	G1
4	G0	G2	G0	G2
5	G0	G2	G1	G1
6	G0	-	-	G2
7	-	kaybedildi	G1	G2
8	G0	kaybedildi	kaybedildi	G1

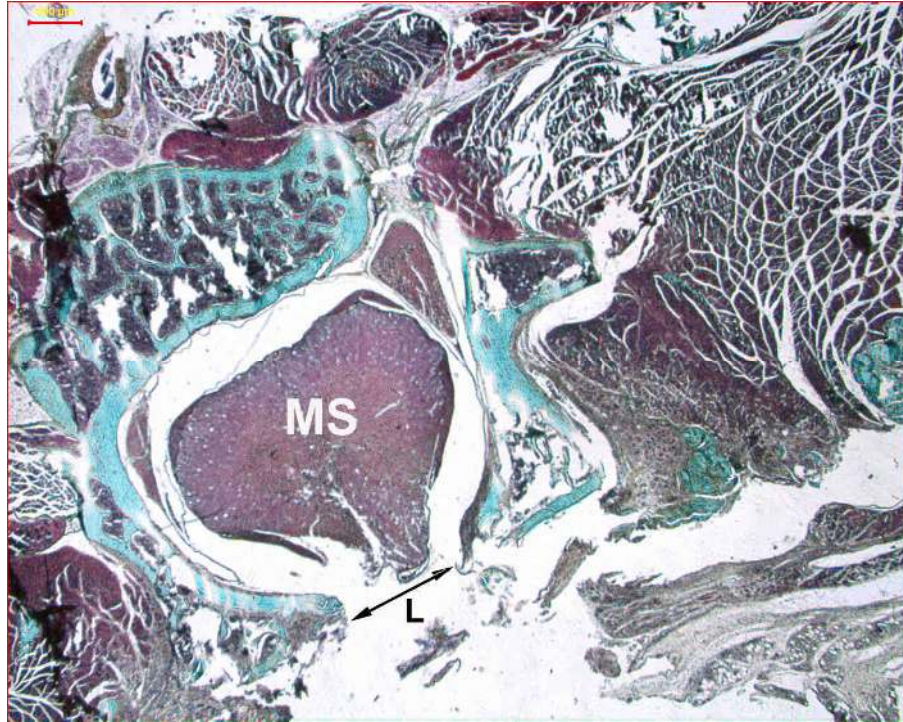
Genel Bulgular:

Hem kontrol hem de FGF-2 grubunda 16’şar denekle çalışıldı. Kontrol grubunda 2 denekte ciltaltı BOS kolleksiyonu gelişti ancak ciltten BOS sızıntısı olmadı. Kolleksiyonlar yaklaşık 2 hafta içinde kendiliğinden emilerek kayboldu. Kontrol grubunun geç dönem alt grubuna ait 2 denekte post operatif erken evrede parapleji gelişti ve bunlar eşlik eden üriner ve renal disfonksiyon nedeniyle üç ve dördüncü haftalarda; erken deney grubuna ait 1 denek ise muhtemelen cerrahi travmaya bağlı olarak post operatif birinci günde kaybedildi. Bu

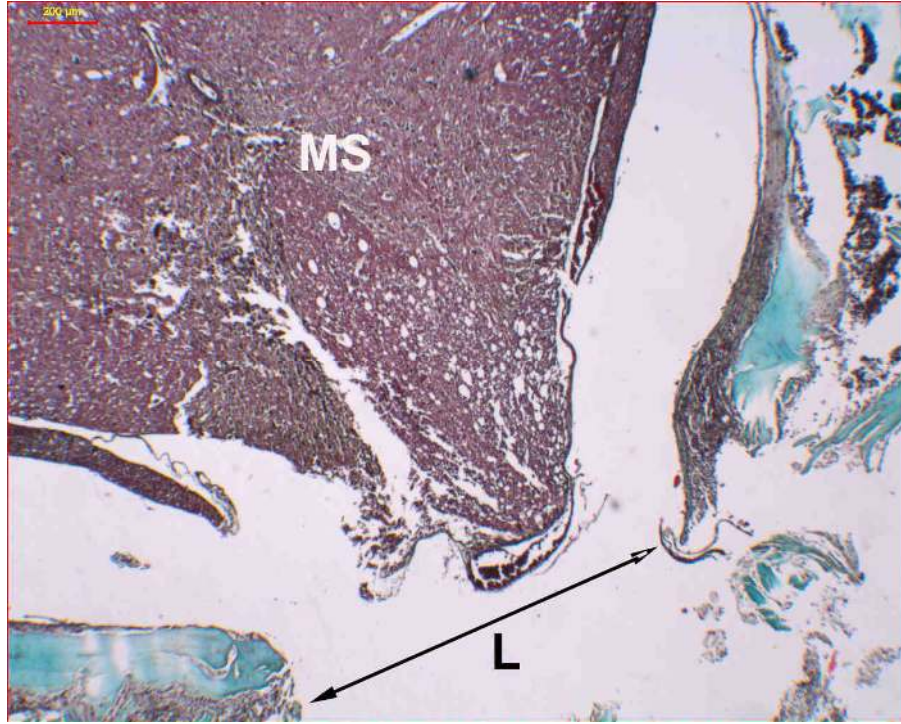
denekler planlanan iyileşme süresini tamamlayamadıkları için çalışmadan çıkarıldı. Geriye kalan erken kontrol, erken ve geç FGF-2 alt gruplarında herhangi bir sorun olmadı, denekler çalışmada planlanan günlerde sakrifiye edildiler.

I- Kontrol grubu:

Erken dönem: Erken kontrol grubunda deneklerin tamamında (%100), herhangi bir erken evre histolojik iyileşme bulgusu olmadığı (grade 0) izlendi. Resim 5’de ortada medulla spinalis ile onu çevreleyen membran, kemik doku ve paraspinal kasların laminektomi bölgesinde bütünlük kaybına uğradığı görülmekte.



Resim 5 Erken kontrol grubu iyileşme mikroskobik görünümü (G 0). (Masson Trikrom X 12,5)



Resim 6 Aynı grubun büyük büyültmesinde, laminektomi (L) bölgesindeki oluşumlarda bütünlük kaybı ile birlikte laminektomi aralığını dolduran herhangi bir granülasyon dokusunun oluşmadığı dikkati çekti. (Masson Trikrom X 40)

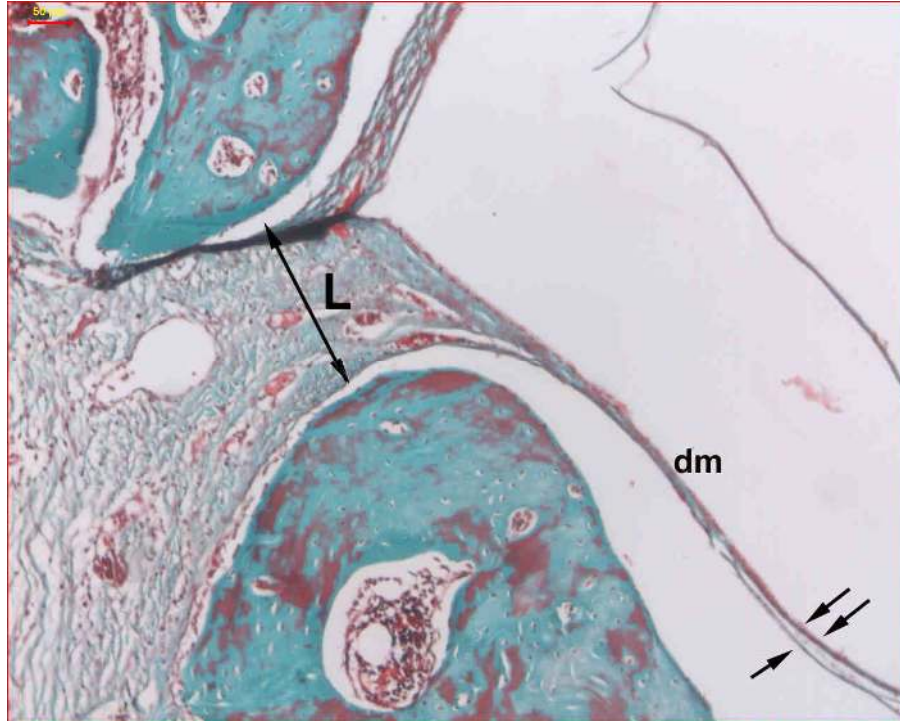
Geç dönem:

Geç kontrol grubunda 1 denekte optimal koşullarda histopatolojik inceleme olmazken dural fibrozis, geri kalan 5 deneğin 3'ünde (%60) grade I ve 2 denekte (%40) grade II düzeyindeydi.

Resim 7 ve 8'de laminektomi (L) bölgesinde kollagen liflerden (Co) zengin sıkı bağ dokusu görünümündeki onarım bölgesinin dura materin (dm) dış (↑) ve iç (↑↑) yapraklarıyla kaynaşarak devam ettiği görülmekte (grade I).



Resim 7 Geç kontrol grubu mikroskobik görünümü (G 1). (Masson Trikrom X 40)



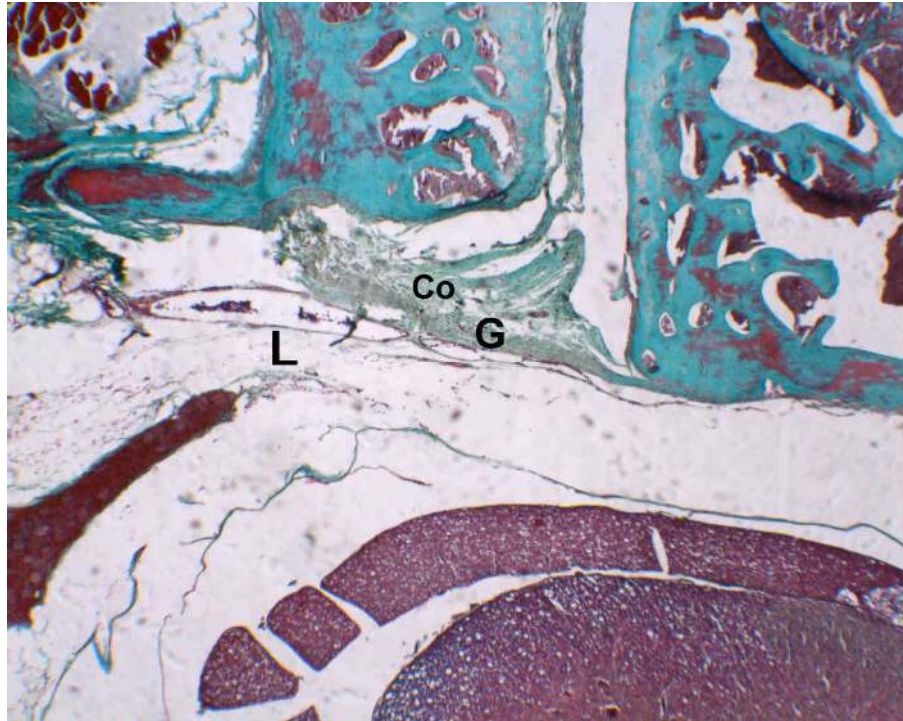
Resim 8 Geç kontrol grubu mikroskobik görünümü (G 1). (Masson Trikrom X 100)

II- FGF-2 grubu:

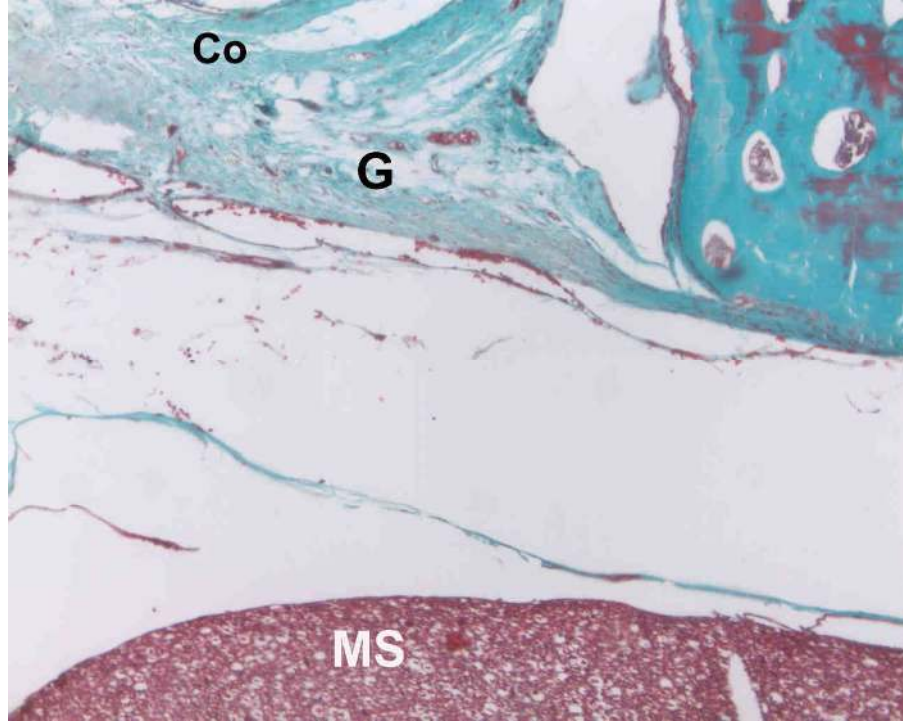
Erken dönem:

FGF-2 erken dönem deneklerinden birinde optimal koşullarda histopatolojik inceleme yapılamadı. Geri kalan 6 preperat incelendiğinde duramaterde fibrosisın 3 denekte (%50) oluşmadığı gözlenirken, 3 denekte (%50) grade I düzeyinde olduğu tespit edildi.

Resim 9 ve 10'da laminektomi (L) bölgesinde, kollagen liflerden (Co) oluşan minimal granülasyon dokusuyla (G) birlikte membranlarda bütünlüğün oluşmaya başladığı dikkati çekmekte (grade I).



Resim 9 Erken FGF-2 grubu mikroskopik görüntüsü (G1). (Masson Trikrom X 40)

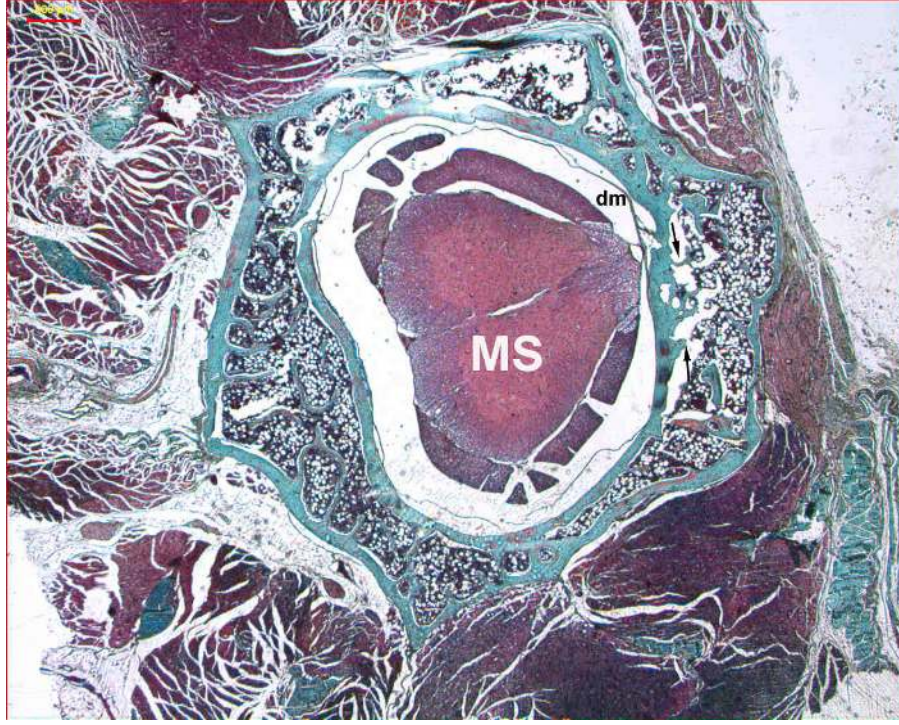


Resim 10 Erken FGF-2 grubu mikroskopik görüntüsü (G1). (Masson Trikrom X 100)

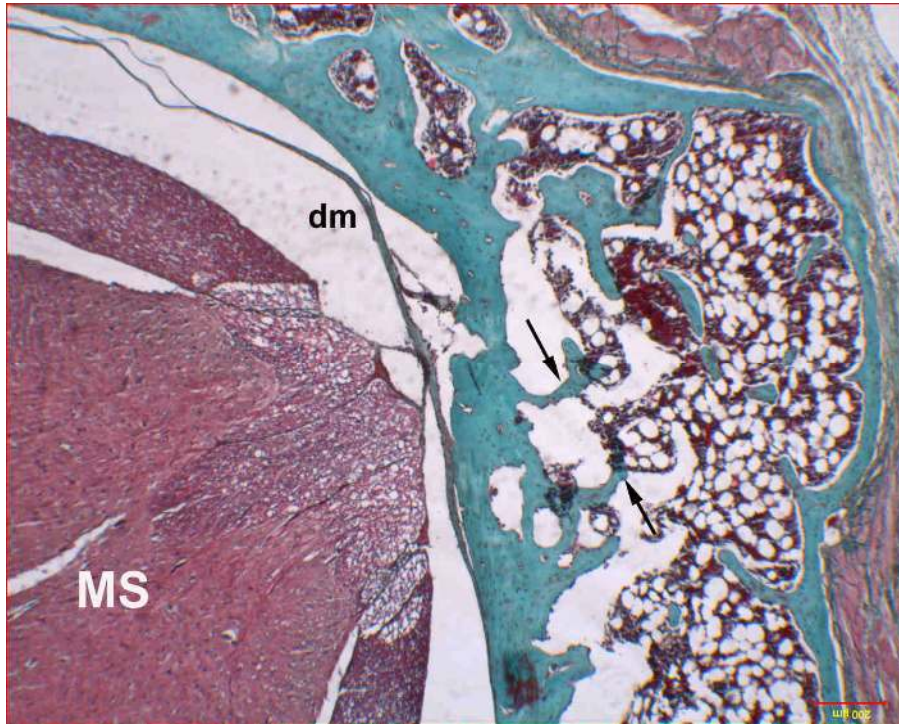
Geç dönem:

Altıncı hafta sonunda sakrifiye edilen FGF-2 grubu deneklerinde dural fibrozis 3 denekte (%37,5) grade I ve 5 denekte (%62,5) grade II seviyesindeydi.

Resim 11 ve 12’de ortada medulla spinalis (MS) görülmekte. Laminektomi (L) bölgesindeki kemik dokudaki trabeküllerdeki (↑) hasarın hala devam ettiği ancak dura materdeki (dm) bütünlüğün devamı dikkati çekiyor (grade II).



Resim 11 Geç FGF-2 grubu mikroskopik görüntüsü (G 2). (Masson Trikrom X 12,5)



Resim 12 Resim 11'deki kesitin daha büyük büyütme planında görüntüsü (Masson Trikrom X 40)

Gruplar Arası Karşılaştırma Sonuçları

Duramaterde iyileşme dereceleri bakımından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Erken kontrol ile geç kontrol arasında anlamlı fark saptandı ($p=0,002$) (tablo 3).

Tablo 3 Erken kontrol ile geç kontrol grupları arasında duramater iyileşmesinin karşılaştırılması

Gruplar	Grade 0	Grade I	Grade II	Grade III	Toplam
Erken kontrol	6(%100)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	6(%100)
Geç kontrol	0(%0)	3(%60)	2(%40)	0(%0)	5(%100)
Toplam	6(%54,54)	3(%27,27)	2(%18,18)	0(%0)	11(%100)

Erken kontrol ile erken deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.180$). Ancak erken deney grubunda %50 vakada grade I seviyesinde iyileşme olduğu izlendi (tablo 4).

Tablo 4 Erken kontrol ile erken deney grupları arasında dural iyileşmenin karşılaştırılması

Gruplar	Grade 0	Grade I	Grade II	Grade III	Toplam
Erken kontrol	6(%100)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	6(%100)
Erken deney	3(%50)	3(%50)	0(%0)	0(%0)	6(%100)
Toplam	9(%75)	3(%25)	0(%0)	0(%0)	12(%100)

Erken kontrol ile geç deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($p=0,001$) (Tablo 5).

Tablo 5 Erken kontrol ile geç deney grupları arasında dural iyileşmenin karşılaştırılması.

Gruplar	Grade 0	Grade I	Grade II	Grade III	Toplam
Erken kontrol	6(%100)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	6(%100)
Geç deney	0(%0)	3(%37,5)	5(%62,5)	0(%0)	8(%100)
Toplam	6(%42,85)	3(%21,43)	5(%35,72)	0(%0)	14(%100)

Geç kontrol ile erken deney grupları arası istatistiksel fark saptanmadı ($p=0,052$) (Tablo 6)

Tablo 6 Geç kontrol ile erken deney grupları arası dural iyileşmenin karşılaştırılması.

Gruplar	Grade 0	Grade I	Grade II	Grade III	Toplam
Geç kontrol	0(%0)	3(%60)	2(%40)	0(%0)	5(%100)
Erken deney	3(%50)	3(%50)	0(%0)	0(%0)	6(%100)
Toplam	3(%27,27)	6(%54,54)	2(%18,18)	0(%0)	11(%100)

Geç kontrol ve geç deney grupları arası dural iyileşme değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,524$). Ancak geç deney grubunda grade II düzeyinde iyileşme oranının daha yüksek olduğu görüldü (%62,5) (Tablo 7).

Tablo 7 Geç kontrol ile geç deney grupları arası dural iyileşmenin karşılaştırılması

Gruplar	Grade 0	Grade I	Grade II	Grade III	Toplam
Geç kontrol	0(%0)	3(%60)	2(%40)	0(%0)	5(%100)
Geç deney	0(%0)	3(%37,5)	5(%62,5)	0(%0)	8(%100)
Toplam	0(%0)	6(%46,1)	7(%53,9)	0(%0)	13(%100)

Erken deney ile geç deney grupları arası dural iyileşmenin derecesi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($p=0,008$) (Tablo 8).

Tablo 8 Erken deney ile geç deney gruplarının karşılaştırılması.

Gruplar	Grade 0	Grade I	Grade II	Grade III	Toplam
Erken deney	3(%50)	3(%50)	0(%0)	0(%0)	6(%100)
Geç deney	0(%0)	3(%37,5)	5(%62,5)	0(%0)	8(%100)
Toplam	3(%21,4)	6(%42,8)	5(%35,8)	0(%0)	14(%100)

V- TARTIŞMA VE SONUÇ

Dura travma sonucu zedelenebilir veya cerrahi sırasında insize edilebilir. Tam olmayan dura kapanması hayatı tehdit eden menenjit, ensefalit, düşük intrakranyal basınca bağlı baş ağrısı, kronik subdural hematoma ve efüzyonlar, psödomeningosel, araknoidit, dural-kutanöz fistül veya pnömosefali ile sonuçlanabilir (52). Dura, histolojik olarak mezenkimal kökenli mezotel hücresi ve fibroblastlardan oluşmuştur.

Fibroblastlar yara iyileşmesinde rol alan en önemli hücre tiplerinden biridir. Fibroblastların bu etkinliğinin düzenlenmesinde çok sayıda sitokin ve büyüme faktörü görev alır. Bu faktörlerden biri olan FGF-2'nin çeşitli dokularda yara iyileşmesi üzerine etkileri birçok çalışma ile ortaya konmuştur (8, 10, 20, 21, 45, 49, 59, 64, 67, 84, 86). FGF-2 embriyogenik hücrelere uygulandığında mezoderm uyarıcı etki yapmaktadır. (20, 84). Bu çalışmanın yapılaş amacı mezenkimal kökenli hücreler üzerine olumlu etkileri bulunduğu bildirilen FGF-2'nin dura iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmaktır.

FGF-2 *invivo* olarak keratinosit, düz kas hücreleri ve fibroblastların mitozunu stimüle etmekte ve granülasyon dokusunun oluşumunu arttırmaktadır. Bikfalvi, FGF-2'nin göz retina ve korneada olduğu gibi ciltte de yara iyileşmesini sağladığını göstermiştir (8). FGF-2'nin ekzojen kullanıldığı, Jingushi ve arkadaşlarının çalışmasında FGF-2'nin farklılaşmış kondrositlerin proliferasyonunu stimüle ettiği ve yeni oluşan kartilajda tip II kollojen ve proteoglikan birikimini sağladığı gösterilmiştir (45).

FGF-2 birçok çalışmada farklı dozlarda kullanılmış ve bazı modellerde topikal uygulama yapılmıştır. Buna bir örnek oluşturacak şekilde, Ishiguro ve arkadaşları yaptıkları

çalışmada flep neovaskülarizasyonunda anlamlı sonuçlar elde etmişlerdir (44). Biz de bu bilgilerden yola çıkarak lokal FGF-2 kullanımının duranın iyileşmesi üzerine olan etkililerini inceledik.

İyileşme derecesinin objektif biçimde değerlendirilebilmesi için, He ve arkadaşlarının epidural fibroziste kullandığı histolojik parametrelerden (duramaterde fibrozisin yaygınlığı) faydalanıldı (39).

Duramater iyileşmesi değerlendirildiğinde erken kontrol- geç kontrol, erken kontrol-geç deney ve erken deney- geç deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Ancak normal iyileşme süreci içerisinde doku cevabının da bu yönde olması beklenmektedir. Erken kontrol-geç deney ve erken deney-geç deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunması ise lokal FGF-2'nin yara iyileşmesine olumsuz katkısının olmadığını gösterilmesi yönünden anlamlıdır.

Duramater iyileşmesi erken kontrol- erken deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı yönünde tespit edildi ($p=0,180$). Tablo 4'de görüldüğü gibi erken deney grubunda %50 denekte grade I seviyesinde iyileşme izlenmesine rağmen bu oran istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulunmadı. Bunun nedenleri düşünüldüğünde inflamasyonun henüz başlangıç aşmasında, sadece 3. günde, kullanılan ajanın beklenen etkiyi gösterebilmesi için yeterli süre bulunmaması akla gelmektedir. Fakat yine de kontrol grubunda hiçbir denekte herhangi bir dural iyileşme gözlenmezken FGF-2 grubundaki 3 denekte grade I düzeyinde iyileşme kaydedildiği izlenmiştir. Dural iyileşme derecesi geç kontrol ve geç deney grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,524$). Ancak FGF-2 grubunda grade II seviyesindeki iyileşmenin (%62,5), kontrol grubuna göre (%40) daha iyi olduğu görülmektedir (Tablo 7). FGF-2'nin lokal olarak

iyileşmeye olan etkisi farklı çalışmalarda değişik konsantrasyonlarda uygulanarak gösterilmiştir. Hosokawa ve arkadaşları lokal FGF-2'nin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini incelemişler ve kontrollü salınımı olan 0,15 µg doz uygulamışlardır (41). Inui ve arkadaşları ise yine minipellet aracılığıyla kontrollü salınımı olan 0.7, 1.4 ve 2.1 µg FGF-2'nin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini incelemişlerdir (43). Ishiguro ve arkadaşları ise FGF-2'yi flep iyileşmesinde lokal olarak 20 µg gibi daha yüksek bir dozda uygulamıştır (44). Bu çalışmaların hepsinde farklı dozlarda uygulanan lokal FGF-2'nin iyileşme dokusu üzerine olan olumlu etkisi gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda 1µg lokal FGF-2 uygulandı. Bu dozun bazı çalışmalara göre düşük bir konsantrasyonda olduğu görülmektedir. Buna rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte, postoperatif üçüncü günde kontrol grubuna göre daha fazla oranda (%50) dural iyileşme etkisi gözlenmiş ve yine istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte altıncı hafta sonunda sakrifiye edilen FGF-2 grubunda da daha yüksek oranda (%62,5) grade II düzeyinde iyileşme tespit edilmiştir. Araştırmada uygulanan 1µg FGF-2 dozunun ileriki çalışmalarda artırılarak farklı konsantrasyonlardaki etkilerinin karşılaştırılması planlanabilir. Ayrıca bu çalışmada tek doz olarak uygulanan FGF-2'nin kontrollü salınım yapan minipelletler aracılığıyla ortama verilmesi düşünülebilir.

Literatürde daha önce FGF-2'nin dura iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan değerlendirildiğinde bizim çalışmamız bu alandaki ilk araştırmadır. Yaralanmanın ilk dakikalarından itibaren doku inflamasyonu başlamakla birlikte iyileşme sürecinin tamamlanması iki yıla yakın bir süre almaktadır. Bu bağlamda postoperatif üçüncü gün yapılan histolojik incelemenin erken bir tarih olduğu düşünülebilir. Ancak bu süre, FGF-2'nin inflamasyonun erken fazlarındaki etkisinin araştırılması açısından önemlidir. Fu X ve arkadaşları ikinci derece yanığı olan hastaları topikal FGF-2 ile tedavi etmişler ve 3 ve 7. günlerde aldıkları biyopsilerle iyileşmeyi değerlendirmişlerdir (25). Oda ve

arkadaşlarının rat damak mukozası iyileşme modeli üzerinde yaptıkları çalışmada ise FGF-2 kullanılan grupta postoperatif 3. günden itibaren istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar kaydedilmiştir (64). Benzer şekilde Smith ve arkadaşlarının insan deri greftleri üzerine farklı büyüme faktörlerinin etkisini araştıran çalışmalarında FGF-2 grubunda interstisyel kapanma oranındaki artışın operasyondan sonraki 3. günde dahi istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir (86).

Nöroşirurjikal girişimler sonrası hasta morbidite ve mortalitesini olumsuz yönde etkileyen BOS kaçağının önlenmesi amacıyla dura iyileşmesinin artırılmasının önemi açıktır. Lokal FGF-2 kullanımının çeşitli dokulardaki iyileşme sürecine olan katkısı daha önce araştırılmakla beraber dura iyileşmesi üzerine olan etkileri ilk defa bu çalışmada incelenmiştir. Bu özelliği ile bu çalışmanın benzer alandaki ileri araştırmalara ışık tutabileceğini düşünmekteyiz.

VI- ÖZET

Tam olmayan dura kapanması menenjit, ensefalit, kronik subdural hematom ve efüzyonlar gibi hayatı tehdit eden birçok komplikasyona yol açabilir. Bu güne kadar dura tamiri amacıyla birçok materyal ve teknik kullanılmış ancak BOS fistülünü mutlak engelleyecek yöntem henüz hayata geçirilememiştir.

Çalışmamızda BOS kaçağını önlemeye yönelik olarak, yara iyileşmesine katkıları daha önce gösterilmiş olan lokal FGF-2'nin dura iyileşmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Toplam 32 adet Wistar cinsi erkek rat, kontrol ve FGF-2 olarak 16'şar iki gruba ayrıldı. Her iki gruba da iki seviye torokal laminektomi uygulanarak dura açılmasını takiben BOS gelişimi izlendi. Ardından kontrol grubuna kan yaması, deney grubuna ise 1µg lokal FGF-2 uygulandı. Her iki grup da 8'erli alt gruplara ayrılarak ilk alt gruplar postoperatif 3. günde, ikinci alt gruplar postoperatif altıncı haftada feda edildi. Laminektomi sahası en blok çıkarılarak alınan kesitler histolojik incelemeye tabi tutuldu. Dural iyileşme He ve arkadaşlarının kriterleri baz alınarak değerlendirildi. Erken kontrol- geç kontrol, erken kontrol- geç deney ve erken deney-geç deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. Bu sonuçlar normal iyileşme süreci içerisinde olması beklendiği gibiydi. Erken kontrol- erken deney ve geç kontrol- geç deney grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı. Ancak hem erken hem de geç deney grubunda deneklerin kontrol grubuna göre daha iyi bir iyileşme derecesi gösterdiği tespit edildi. Çalışmamızda dura iyileşmesinin arzulanan düzeyde olmamasında uygulama süresi ve dozunun etkili olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak; BOS kaçağının önlenmesi amacıyla lokal FGF-2 kullanımının bu alanda daha ileri araştırmalara ışık tutabileceği ve bu yeni çalışmaların sonucunda yüksek morbidite ile seyreden bu soruna çözüm yolları bulunabileceği ümit edilmektedir.

KAYNAKLAR

- 1) Avraham M, Banu N, Scadden DT, Abraham J, Groopman JE: Modulation of megakaryocytopoiesis by human basic fibroblast growth factor. *Blood* 83: 2126–2132, 1994
- 2) Babuccu O, Kalaycı M, Peksoy İ, Kargı E, Çağavi F, Numanoglu G: Effect of cerebrospinal fluid leakage on wound healing in flap surgery: Histological evaluation. *Pediatr Neurosurg* 40: 101–106, 2004
- 3) Baggiolini M: Chemokines in pathology and medicine. *J Intern Med* 250: 91–104, 2001.
- 4) Baird A, Bohlen P: Peptide growth factors and their receptors. Sporn MB, Roberts AB(eds). Springer, New York,1991, S: 369–418
- 5) Barnes A, Cho G: Basic fibroblast growth factor selectively amplifies the functional state of neurons producing neuropeptide Y but not somatostatin in cultures of fetal brain cells: evidence for a cooperative interaction with insulin-like growth factor-I. *Endocrinology* 133: 1895–1898, 1993
- 6) Basilico C, Moscatelli D: The FGF family of growth factors and oncogenes. *Adv Cancer Res* 59: 115–165, 1992
- 7) Bernabei R, Landi F, Bonini S, Onder G, Lambiase A, Pola R, Aloe L: Effect of topical application of nerve-growth factor on, pressure ulcers. *Lancet* 354: 307, 1999

- 8) Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, Rifkin DB: Biological roles of fibroblast growth factor-2. *Endocr. Rev.* 18: 26–45, 1997
- 9) Brauchle M, Angermeyer K, Hubner G, Werner S: Large induction of keratinocyte growth factor expression by serum growth factors and pro-inflammatory cytokines in cultured fibroblasts. *Oncogene* 9: 3199–3204, 1994
- 10) Broadley KN, Aquino AM, Woodward SC, Buckley-Sturrock A, Sato Y, Rifkin DB, Davidson JM: Monospecific antibodies implicate basic fibroblast growth factor in normal wound repair. *Lab Invest* 61: 571–575, 1989
- 11) Bugler B, Amalric F, Prats H: Alternative initiation of translation determines cytoplasmic or nuclear localization of basic fibroblast growth factor. *Mol Cell Biol* 11: 573–577, 1991
- 12) Bussolino F, Di Renzo MF, Ziche M, Boccietto E, Olivero M, Naldini L, Gaudino G, Tamagnone L, Coffer A, Comoglio PM: Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *J Cell Biol* 119: 629–641, 1992
- 13) Bussolino F, Wang JM, Defilippi P, Turrini F, Sanavio F, Edgell CJ, Aglietta M, Arese P, Mantovani A: Granulocyte- and granulocyte-macrophage-colony stimulating factors induce human endothelial cells to migrate and proliferate. *Nature* 337: 471–473, 1989.
- 14) Christopherson K, Hromas R: Chemokine regulation of normal and pathologic immune responses. *Stem Cells* 19: 388–396, 2001.

- 15) Clarke MS, Caldwell RW, Chiao H, Miyake K, McNeil PL: Contraction-induced cell wounding and release of fibroblast growth factor in heart. *Circ Res* 76: 927–934, 1995
- 16) Cuevas P, Carceller F, Ortega S, Zazo M., Nieto I, Gimenez-Gallego G: Hypotensive activity of fibroblast growth factor. *Science* 254: 1208–1210, 1991
- 17) Dagi TF, George ED: Surgical management of cranial cerebrospinal fluid fistulas. In *Operative Neurosurgical Techniques*, Schimidek HH and Sweet WH (eds). W.B. Saunders Philadelphia, 3 üncü baskı., 1995, Vol. 1: S: 117-31.
- 18) Dunsmore SE, Rubin JS, Kovacs SO, Chedid M, Parks WC, Welgus HG: Mechanisms of hepatocyte growth factor stimulation of keratinocyte metalloproteinase production. *J Biol Chem* 271: 24576–24582, 1996
- 19) Eberhardt KEW, Hollenbach HP, Deimling M, Tomandl BF, Huk WJ: MR cisternography: a new method for the diagnosis of CSF fistulae. *Eur. Radiol.* 7: 1485-1491, 1997
- 20) Fallon JF, Lopez A, Ros MA, Savage MP, Olwin BB, Simandl BK: FGF-2: apical ectodermal ridge growth signal for chick limb development. *Science* 264: 104–107, 1994
- 21) Flamme I, Risau W: Induction of vasculogenesis and hematopoiesis in vitro. *Development* 116: 435–439, 1992

- 22) Florkiewicz RZ, Sommer A: Human basic fibroblast growth factor gene encodes four polypeptides: three initiate translation from non-aug codons (1989) *Proc Natl Acad Sci* 86: 3978–3981, 1989
- 23) Folkman J, Klagsbrun M: Angiogenic factors. *Science* 235(4787): 442-447, 1987
- 24) Forer B, Vasilyev T, Brosh T, Kariv N, Trejo LL, Gil Z, Katzir A, Fliss DM: Dural defect repair with fascia by a CO2 laser system in a porcine model. *Laryngoscope* 116(6): 1002-1007, 2006
- 25) Fu X, Shen Z, Chen Y, Xie J, Guo Z, Zhang M, Sheng Z: Randomised placebo-controlled trial of use of topical recombinant bovine basic fibroblast growth factor for second-degree burns. *Lancet* 352 (9141): 1661-4, 1998
- 26) Gale NW, Yancopoulos GD: Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes Dev* 13: 1055–1066, 1999
- 27) Gammal TE, Sobol W, Wadlington Van R, Sillers MJ, Crews C, Fisher WS III, Lee JY: Cerebrospinal fluid fistula: Detection with MR cisternography. *AJNR Am J Neuroradiol* 19: 627–631, 1998
- 28) Garcia SS, Heredero XS, Hernandez AI, Pena EP, Bilbao Gonzalez de Aledo G, Hamann C: Experimental model for local application of growth factors in skin re-epithelialisation. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg* 34(3): 199–206, 2000

- 29) Gartner MH, Benson JD, Caldwell MD: Insulin-like growth factors I and II expression in the healing wound. *J Surg Res* 52: 389–394, 1992
- 30) Ghosh A, Greenberg ME: Distinct roles for bFGF and NT-3 in the regulation of cortical neurogenesis. *Neuron* 15: 89–103, 1995
- 31) Goldfarb, M: Functions of fibroblast growth factors in vertebrate development. *Cytokine Growth Factor Rev* 7: 311–325, 1996
- 32) Goodson WH III, Hunt TK: Wound collagen accumulation in obese hyperglycemic mice. *Diabetes* 35: 491–495, 1986
- 33) Gospodarowicz D, Ferrara N, Schweigerer L, Neufeld G. Structural characterization and biological functions of fibroblast growth factor. *Endocr Rev* 8: 95–109, 1987
- 34) Greenberg MS: CSF fistula. In: *Handbook of Neurosurgery*, Beşinci Baskı. Greenberg Grafics, Inc. Lakeland FL, 2001, S: 164-172
- 35) Greenhalgh DG: The role of growth factors in wound healing. *The Journal of Trauma* 41(1): 159-167, 1996
- 36) Grellner W, Georg T, Wilske J: Quantitative analysis of proinflammatory cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha) in human skin wounds. *Forensic Sci Int* 113: 251–264, 2000
- 37) Grose R, Werner S, Kessler D, Tuckermann J, Durka S, Huggel K, Reichardt H, Werner S: A role for endogenous glucocorticoids in wound repair. *EMBO Reports* 3: 575–582, 2002

- 38) Hamanni MCJ, Sacksi MS, Malinin TI: Quantification of the collagen fibre architecture of human cranial dura mater. *J. Anat.* 192: 99-106, 1998
- 39) He Y, Revel M, Loty B: A quantitative model of post-laminectomy scar formation. Effects of a non-steroidal anti-inflammatory drug. *Spine* 20: 557-563, 1995
- 40) Heldin CH, Westermark B: Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev* 79: 1283–1316, 1999
- 41) Hosokawa R, Kikuzaki K, Kimoto T, Matsuura T, Chiba D, Wadamoto M, Sato Y, Maeda M, Sano A, Akagawa Y. Controlled local application of basic fibroblast growth factor (FGF-2) accelerates the healing of GBR. An experimental study in beagle dogs. *Clin Oral Impl Res* 11: 345–353, 2000
- 42) Hübner G, Brauchle M, Smola H, Madlener M, Fassler R, Werner S: Differential regulation of pro-inflammatory cytokines during wound healing in normal and glucocorticoid-treated mice. *Cytokine* 8: 548–556, 1996
- 43) Inui K, Maeda M, Sano A, Fujioka K, Yutani Y, Sakawa A, Yamano Y, Kato Y, Koike T: Local application of basic fibroblast growth factor minipellet induces the healing of segmental bony defects in rabbits. *Calcif Tissue Int.* 63: 490–495, 1998
- 44) Ishiguro N, Yabe Y, Shimizu T, Iwata H, Miura T: Basic fibroblast growth factor has a beneficial effect on the viability of random skin flaps in rats. *Ann Plast Surg* 32: 356–360, 1994

- 45) Jingushi S, Shida J, Iwamoto Y, Kinoshita T, Hiyama Y, Tamura M, Izumi T: Transient exposure of fibroblast growth factor-2 induced proliferative but not destructive changes in mouse knee joints. *Connect Tissue Res* 47(4): 242-8, 2006
- 46) Kawada A, Hiruma M, Noguchi H, Ishibashi A, Motoyoshi K, Kawada I: Granulocyte and macrophage colony-stimulating factors stimulate proliferation of human keratinocytes. *Arch Dermatol Res* 289: 600–602, 1997
- 47) Khouri RK, Brown DM, Leal-Khouri SM, Tark KC, Shaw WW: The effect of basic fibroblast growth factor on the neovascularisation process: skin flap survival and staged flap transfers. *Br. J. Plast. Surg.* 44: 585–588, 1991
- 48) Klagsbrun M: The fibroblast growth factor family: Structural and biological properties. *Progress in Growth Factor Research* 1(4): 207-235, 1989
- 49) Kniss DA, Burry RW: Serum and fibroblast growth factor stimulate quiescent astrocytes to re-enter the cell cycle. *Brain Res.* 439: 281–288, 1988
- 50) Kuby J: *Cytokines: Immunology.* W.H. Freeman and Company, Üçüncü Baskı. New York, 1997, S: 313-334
- 51) Kuhn J, Hofmann B, Knitelius HO, Coenen HH, Bewermeyer H: Bilateral subdural haematomata and lumbar pseudomeningocele due to a chronic leakage of liquor cerebrospinalis after a lumbar discectomy with the application of ADCON-L gel. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76: 1031–1033. 2005

- 52) Kumar A, Maartens NF, Kaye AH: Evaluation of the use of BioGlue® in neurosurgical procedures. *Journal of Clinical Neuroscience* 10(6): 661-664, 2003
- 53) Le AX, Rogers DE, Dawson EG, Kropf MA, De Grange DA, Delamarter RB: Unrecognized durotomy after lumbar discectomy: a report of four cases associated with the use of ADCON®-L. *Spine* 26(1): 115–118, 2001
- 54) Leonard EJ, Danilkovitch A: Macrophage stimulating protein. *Adv Cancer Res* 77: 139–167, 2000
- 55) Levinson W, Jawetz E: *Tıbbi Biyoloji ve Mikrobiyoloji*. 4. Baskı. Lange-Barış Kitabevi, İstanbul, 1997, S: 326-394
- 56) Lynch SE, Colvin RB, Antoniades HN: Growth factors in wound healing. Single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. *J Clin Invest* 84: 640–646, 1989
- 57) Mansukhani A, Dell’Era P, Moscatelli D, Kornbluh S, Hanafusa H, Basilico C: Characterization of the murine BEK fibroblast growth factor (FGF) receptor: Activation by three members of the FGF family and requirement for heparin. *Proc Natl Acad Sci* 89: 3305–3309, 1992
- 58) Mansukhani A, Moscatelli D, Talarico D, Levytska V, Basilico C: A Murine fibroblast growth factor (FGF) receptor expressed in CHO cells is activated by basic FGF and kaposi FGF. *Proc Natl Acad Sci* 87: 4378–4382, 1990

- 59) Matsuda S, Saito H, Nishiyama N: Effect of basic fibroblast growth factor on neurons cultured from various regions of postnatal rat brain. *Brain Res.* 520: 310–316, 1990
- 60) Matsumoto K, Hashimoto K, Yoshikawa K, Nakamura T: Marked stimulation of growth and motility of human keratinocytes by hepatocyte growth factor. *Exp Cell Res* 196: 114–120, 1991
- 61) Nabeshima S, Reese TS, Landis DM: Junctions in the meninges and marginal glia. *Journal of Comparative Neurology* 164, 127-170, 1975
- 62) Nagata K, Kawamoto S, Sashida J, Abe T, Mukasa A, Imaizumi Y: Meshand-glue technique to prevent leakage of cerebrospinal fluid after implantation of expanded polytetrafluoroethylene dura substitute: Technical note. *Neurol Med Chir* 39: 316–319, 1999
- 63) Nakajima S, Fukuda T, Hasue M, Sengoku Y, Haraoka J, Uchida T: New technique for application of fibrin sealant: Rubbing method devised to prevent cerebrospinal fluid leakage from dura mater sites repaired with expanded polytetrafluoroethylene surgical membranes. *Neurosurgery* 49(1): 117-23, 2001
- 64) Oda Y, Kagami H, Ueda M: Accelerating effects of basic fibroblast growth factor on wound healing of rat palatal mucosa. *J Oral Maxillofac Surg* 62 (1): 73-80, 2004
- 65) Ornitz DM, Itoh N. Fibroblast growth factors. *Genome Biol* 2: 3005.1–3005.12, 2001

- 66) Ornitz DM, Xu J, Colvin JS, McEwen DG, MacArthur CA, Coulier F, Gao G, Goldfarb M: Receptor Specificity of the Fibroblast Growth Factor Family. *J Biol Chem* 271:15292–15297, 1996
- 67) Ortega S, Ittmann M, Tsang SH, Ehrlich M, Basilico C: Neuronal defects and delayed wound healing in mice lacking fibroblast growth factor 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 5672–5677, 1998
- 68) Phillips DJ: The activin/inhibin family. In: *The Cytokine Handbook* (4th ed.), edited by Thomson A, Lotze MT. Orlando, FL: Academic. In press.
- 69) Phillips LG, Abdullah KM, Geldner PD: Application of basic fibroblast growth factor may reverse diabetic wound healing impairment. *Ann Plast Surg* 31: 331–334, 1993
- 70) Preul MC, Bichard WD, Muench TR, Spetzler RF: Toward optimal tissue sealants for neurosurgery: Use of a novel hydrogel sealant in a canine durotomy repair model. *Neurosurgery* 53: 1189-1199, 2003
- 71) Qian X, Davis AA, Goderie SK, Temple S: FGF2 concentration regulates the generation of neurons and glia from multipotent cortical stem cells. *Neuron* 18: 81–93, 1997
- 72) Raychaudhuri SK, Raychaudhuri SP, Weltman H, Farber EM: Effect of nerve growth factor on endothelial cell biology: proliferation and adherence molecule expression on human dermal microvascular endothelial cells. *Arch Dermatol Res* 293: 291–295, 2001

- 73) Ring BD, Scully S, Davis CR, Baker MB, Cullen MJ, Pellemounter MA, Danilenko DM: Systemically and topically administered leptin both accelerate wound healing in diabetic ob/ob mice. *Endocrinology* 141: 446–449, 2000
- 74) Robertson JT, Smith JS, Powers N, Nelson PA: Prevention of cerebrospinal fistulae and reduction of epidural scar with new surgical hemostat device in a porcine laminectomy model. *Spine* 28(19): 2298–2303, 2003
- 75) Robson MC, Burns BF, Phillips LG: Wound Repair: Principles and Applications. In: Plastic Surgery: A Core Curriculum. Ruberg RL, Smith DJ, (eds) St. Louis, Mo: Mosby-Year Book; 1994 S: 3-30
- 76) Rook G: Cell mediated immun responses: Immunology. Roitt I, Brostoff J, Male D (eds), İkinci Baskı. Chapter 9. Churchill Livingstone, London ,1991, S: 9.1-9.12
- 77) Rossie D, Zlotnik A: The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 18: 217–242, 2000
- 78) San-Galli F, Darrouzet V, Rivel J, Baquey C, Ducassou D, Guerin J: Experimental evaluation of a collagen-coated Vicryl mesh as a dural substitute. *Neurosurgery* 30: 396–401, 1992
- 79) Sato M, Sawamura D, Ina S, Yaguchi T, Hanada K, Hashimoto I: In vivo introduction of the interleukin 6 gene into human keratinocytes: induction of epidermal proliferation by the fully spliced form of interleukin 6, but not by the alternatively spliced form. *Arch Dermatol Res* 291: 400–404, 1999

- 80) Sato Y, Ohshima T, Konto T: Regulatory role of endogenous interleukin-10 in cutaneous inflammatory response of murine wound healing. *Biochem Biophys Res Commun* 265: 194–199, 1999
- 81) Schultz GS, White M, Mitchell R, Brown G, Lynch J, Twardzik DR, Todaro GJ: Epithelial wound healing enhanced by transforming growth factor and vaccinia growth factor. *Science* 235: 350–352, 1987
- 82) Sime PJ, O'Reilly KMA: Fibrosis of the lung and other tissues: New concepts in pathogenesis and treatment. *Clinical Immunol* 99(3): 308-319, 2001
- 83) Skeel AH, Yoshimura T, Showalter D, Tanaka S, Appella E, Leonard EJ: Macrophage stimulating protein: purification, partial amino acid sequence, and cellular activity. *J Exp Med* 173: 1227–1234, 1991
- 84) Slack JMW, Darlington BG, Heath JK, Godsave SF: Mesoderm induction in early *Xenopus* embryos by heparin-binding growth factors. *Nature* 326: 197–200, 1987
- 85) Slavin J, Hunt JA, Nash JR, Williams DF, Kingsnorth AN: Recombinant basic fibroblast growth factor in red blood cell ghosts accelerates incisional wound healing. *Br J Surg*. 79(9): 918-21, 1992
- 86) Smith PD, Polo M, Soler PM, McClintock JS, Maggi SP, Kim YJ, Ko F, Robson CM: Efficacy of growth factors in the accelerated closure of interstices in explanted meshed human skin grafts. *J Burn Care Rehabil* (1 Pt 1): 5-9, 2000

- 87) Steed DL: Modifying the wound healing response with exogenous growth factors. Clin Plast Surg 25: 397–405, 1998
- 88) Sugawara T, Itoh Y, Hirano Y, Higashiyama N, Shimada Y, Kinouchi H, Mizoi K: Novel dural closure technique using polyglactin acid sheet prevents cerebrospinal fluid leakage after spinal surgery. Neurosurgery 57(4 Suppl): 290-294, 2005
- 89) Temple S, Qian X: bFGF, neurotrophins, and the control of cortical neurogenesis. Neuron 15: 249–252, 1995
- 90) Thomas KA: Fibroblast growth factors. The FASEB Journal 1(6): 434-440, 1987
- 91) Vandenabeele F, Creemers J, Lambrichts I: Ultrastructure of the human spinal arachnoid mater and dura mater. J Anat 189 (Pt 2): 417-30, 1996
- 92) Werner S, Grose R: Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. Physiol Rev. 83(3): 835-70, 2003
- 93) Werner S: Keratinocyte growth factor: A unique player in epithelial repair processes. Cytokine Growth Factor Rev 2: 153–165, 1998
- 94) Wetzler C, Mpfer H, Stallmeyer B, Pfeilschifter J, Frank S: Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair. J Invest Dermatol 115: 245–253, 2000

- 95)** Wilson EL, Rifkin DB, Kelly F, Hannocks MJ, Gabilove JL: Basic fibroblast growth factor stimulates myelopoiesis in long-term human bone marrow cultures. *Blood* 77: 954–959, 1991