Intercellular Adhesion Molecule-1 Levels in Experimental Brain Injury and the Effects of Alpha-tocopherol

Deneysel Beyin Hasarında İnterselüler Adezyon Molekül-1 Değerleri ve Alfa-tokoferol'ün Etkileri

Deneysel Beyin Hasari / Experimental Brain Injury

Nilgün Şenol, Turgay Köse, Aşkın Görgülü
Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakultesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi A.D., Isparta, Türkiye

"Turk Norosirurji Derneği, 21. Bilimsel Kongresi, Antalya, 2007" de poster olarak sunulmuştur.

Özet

Amaç: Beyinde akut hasar sonrası oluşan ikincil hasardan sorumlu mekanizmalar; enflamatuar mediatör olan nitröz oksidin salınımı, serbest oksijen radikallerinin anormal oluşumu ve eksitatör aminoasitlerin aşırı uyarımıdır. Bu çalışmada, beyin dokusunda künt kafa travması ve antioksidan olan vitamin E'nin verilmesi sonrasında hücre içi yapışma molekül-1 düzeylerinde meydana gelen değişimin araştırılması amaçlanmıştır. Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada ratlar 4 gruba ayrıldı. Grup A; sadece cilt kesisi yapılan, Grup B; cilt kesisi sonrası sadece travma oluşturulan, Grup C; cilt kesisi ardından travma oluşturulup yarım saat sonra periton içine serum fizyolojik (30mg/kg) verilen, ve Grup D; cilt kesisi ardından travma oluşturulup yarım saat sonra periton içine alfa-tokoferol (30mg/kg) verilen gruptur. Tüm bu gruplardaki denekler 24 saat sonra sakrifiye edildi. Biparyetal ve bifrontal loblardan 3x5x1mm kalınlığında doku örnekleri alındı ve bu örneklerde enzym-linked immunosorbent assay kiti ile hücre içi yapışma molekül-1 değerleri çalışıldı. Bulgular: İstatistiksel analizler sonucunda, hücre içi yapışma molekül-1 değerlerinde artış olmasına rağmen, bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu. Ancak travma grubu ile travma sonrası alfa-tokoferol verilen grup karsılaştırıldığında, travma sonrası alfa-tokoferol verilen gruptaki hücre içi yapışma molekül-1 düzeylerindeki düşüklüğün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Tartışma: Bir antioksidan olan alfa-tokoferol enflamasyonu azaltarak hücre içi yapışma molekül-1 düzeylerinin düşmesine neden olmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Alfa-Tokoferol; Enflamasyon; ICAM-1; Kafa Travması

Abstract

Aim: The mechanisms, responsible for the secondary injuries occuring after acute injury of the brain are; release of nitrous oxide which is an inflammatory mediator, abnormal formation of free oxygen radicals and excessive stimulation of excitatory aminoacids. In this study, it is aimed to investigate changes in intercellular adhesion molecule levels in the brain, that occur subsequent to blunt head trauma, and after administration of an antioxidant agent, vitamin E. Material and Method: In this study, rats were divided into 4 groups. In group A; rats had only skin incision, group B; rats were traumatized after the skin incision, group C; isotonic (30mg/kg) was given intraperitoneally after 30 minutes of the trauma, group D; alpha-tocopherol (30mg/kg) was given intraperitoneally, after 30 minutes of the trauma. All the rats in these groups were sacrified after 24 hours. Biparietal and bifrontal lobs were taken about 3x5x1mm tickness and intercellular adhesion molecule-1 levels were studied by enzyme-linked immunosorbent assay kit. Results: As the result of the statistical analysis, it is detected that although there is an increase in intercellular adhesion molecule levels in brain parenchyma after trauma, it is statistically unsignificant. However, as the traumatized group and the group given alpha-tocopherol after trauma was compared, a statistically significant decrease in intercellular adhesion molecule-1 levels in the alpha-tocopherol given group was seen. Discussion: Alpha-tocopherol, an antioxidant agent, causes decrease in intercellular adhesion molecule levels, by decreasing inflammation.

Keywords

Alpha-Tocopherol; Inflammation; ICAM-1; Head Injury

DOI: 10.4328/JCAM.2537 Received: 05.05.2014 Accepted: 02.06.2014 Printed: 01.06.2014 J Clin Anal Med 2014;5(suppl 3): 299-302
Corresponding Author: Nilgun Senol, Suleyman Demirel Universitesi, Tip Fakultesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi A.D. Cunur, Isparta, Türkiye.
T.: +90 2462119298 GSM: +905332555009 F.: +90 2462112830 E-Mail: drnilgunsenol@yahoo.com

Giriş

Ağır kafa travmaları sonrası mortalite %30-65 oranında görülmektedir. Bu durumdan, beynin biyostriktürel yaralanması ve travma sonrası kafa içi basıncının yükselmesi sorumlu tutulmaktadır [1,2].

Beyinde akut meydana gelen hasardan sonra oluşan ikincil hasarda başlıca sorumlu mekanizmalar; süperoksid radikal, hidrojen peroksit ve membran poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonuna bağlı oluşan hidroksil radikal, hidrojen peroksit (H2O2) gibi bir enflamatuar mediatör olan nitröz oksidin (NO) salınımı, serbest oksijen radikallerinin (SOR) anormal oluşumu ve eksitatör aminoasitlerin aşırı uyarımıdır [3]. Travmanın başlattığı lipid peroksidasyonu, doku hasarına neden olan önemli faktörlerden birisidir [4]. Oksijen radikalleri, endotelden mediatörlerin salınımına veya hücre içi yapışma molekülleri-1 (ICAM-1) gibi endotelyal hücre lökosit yapışma moleküllerinin artmasına neden olarak endotele polimorfonükleer hücrelerin (PMN) yapışmasını etkileyebilir [5].

Oksidatif hasara karşı alfa-tokoferolün koruyucu etkisi dikkat çekmiştir [6]. Yayınlarda travmanın şiddeti ile lipid peroksidasyonunun arttığı ve alfa-tokoferolün lipid peroksidasyonunda koruyucu etkisinin olduğu ve sağlıklı bireylerde dolaşımdaki sICAM-1 düzeylerini azalttığı gösterilmiştir [7,8].

Bu calışmada, ICAM-1 düzeylerinde, travma sonucunda ve antioksidan olan vitamin E'nin verilmesi sonrasında meydana gelen değişimin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuarı'nda yapıldı. Çalışmada Winstar Albino tipi, ağırlıkları 250-350gr arasında değişen erkek sıçanlar kullanıldı. Anestezide ketalar (12 mg/kg,) + rompun (2mg/kg) intraperitoneal (İP) olarak uygulandı. Anestezi sonrası sıçanlara Marmarou'nun tanımladığı travma modeli uygulandı [9,10]. Bu çalışma için 4 grup oluşturuldu. Kontrol grubunda 8, diğer gruplarda 10'ar adet olmak üzere toplam 38 adet sıçan kullanıldı. Anestezi sonrası denekler operasyon masasına alınarak skalpleri tam olarak traş edildi. Daha sonra %10'luk polivinilprolidon-iodin ile yıkandı ve operasyonun tüm aşamalarında aseptik teknikler kullanıldı. Travma sonrasında exitus olan ratlar çalışmaya dahil edilmedi. Grup A'da (n=8) sadece cilt insizyonu yapıldı. Grup B'de (n=8) cilt insizyonu sonrası travma oluşturuldu. Grup C'de (n=9) travma oluşturulduktan yarım saat sonra serum fizyolojik (30mg/kg) İP olarak verildi. Grup D'de (n=9) travma oluşturulduktan yarım saat sonra alfa-tokoferol (30mg/kg) İP olarak verildi. Tüm bu gruplardaki denekler 24 saat sonra sakrifiye edildi. Biparyetal ve bifrontal loblar 3x5x1mm kalınlığında alındı. Alınan dokular fosfat tamponuna konularak (-)70 derecede donduruldu. Derin dondurucuda saklanan beyin doku materyalleri çıkarıldıktan sonra 1:9 oranında 0.1M fosfat tamponu ile sulandırılarak homojenize edildi. Elde edilen homojenizat santrifuj edildi ve üstte kalan kısımda enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA kiti) (kod:RIC 100) ile ICAM-1 değerleri çalışıldı. Numunelerin proteinleri Lowry metodu ile saptandı[11].

Bağımsız grupların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. P değerinin <0.05 olması anlamlı kabul edildi.

Sonuçlar

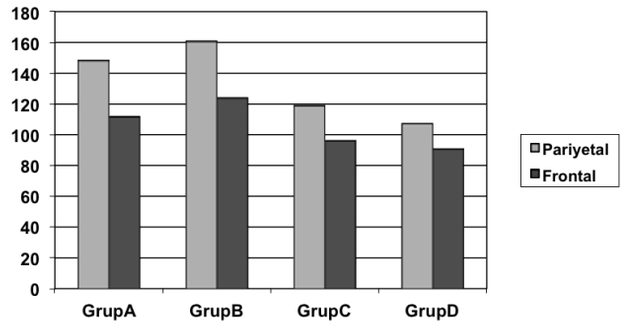
Sadece cilt kesisi yapılan deneklerde paryetalden alınan doku örneklerindeki ICAM-1 düzeylerinin ortalama ve standart derivasyon (SD) değeri; 148,39 ± 45,44 pgr, frontalden alınan doku örneklerinde ise 111,82 ± 26,82 pgr bulunurken, kesi ardından travma oluşturulan deneklerde paryetalden alınan doku örneklerindeki ICAM-1 düzeylerinin ortalama ve SD değeri; 160,86 ± 64,93 pgr, frontalden alınan doku örneklerinde ise 124,03 ± 44,53 pgr olarak bulunmuştur ve paryetal için 12.47 pgr, frontal için 19.49 pgr'lık bir artış saptanmıştır. Ancak, bu iki grup arasında paryetalden ve frontalden alınan doku örneklerinin ortalama ve SD değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

Kesi ardından travma oluşturulup, yarım saat sonrasında İP alfa-tokoferol verilen deneklerde paryetalden alınan doku örneklerindeki ICAM-1 düzeylerinde sadece cilt kesisi yapılanlara göre paryetalde 41.13 pgr'lık, frontalde ise 21.03 pgr'lık azalma olmuştur. Bu iki grup için paryetalden ve frontalden alınan doku örneklerinin ortalama ve SD değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (paryetal p=0,033, frontal p=0,041).

Aynı şekilde kesi ardından travma oluşturulan denekler ile kesi ardından travma oluşturulup, yarım saat sonrasında İP alfa-tokoferol verilen deneklerin paryetalden ve frontalden alınan doku örneklerinin ortalama ve SD değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (paryetal p=0,034, frontal p=0,050) (Tablo-1) (Figür 1).

Tablo 1. Tüm deneklerin frontal ve paryetalden alınan doku örneklerindeki ICAM-1 düzeylerinin ortalama ve standart derivasyon değerleri

	Paryetal	Frontal
Grup A n=8 (sham)	148,39 ± 45,44	111,82 ± 26,82
Grup B n=8 (kesi +travma)	160,86 ± 64,93	124,03 ± 44,53
GrupC n=9 (kesi+travma+SF)	118,92 ± 24,74	96,16 ± 37,24
Grup D (n=9) (kesi+travma+alfatokoferol)	107,26 ± 23,48	90,79 ± 16,6



Figür 1. ap<0,05 sham grubuyla karşılaştırma; bp<0,05 travma grubuyla karşılaştırma.

Tartışma

Son çalışmalarda travmatik beyin hasarının birincil ve ikincil yolunda SOR'nin başlattığı nöronal hasar ve lipid peroksidasyonunun anahtar rol oynadığı ileri sürülmüştür [4,12,13]. Beyin, doymamış yağ asitlerinin yüksek düzeylerde olması, düşük antioksidan kapasitesi, yüksek oksijen tüketim oranı nedeniyle lipid peroksidasyonuna özellikle duyarlıdır. Ayrıca insan beyin dokusu, SOR oluşumuna katkısı olan, yüksek düzeylerde demir ve bakır

içerir. Buna bağlı olarak antioksidanların kullanımının tedavi edici etkisinin olabileceği düşünülmüştür [7].

Gong ve ark. [14] kafa travmasında serebral iskeminin ardından yangısal sürecin başladığını göstermişlerdir. Bu süreçte SOR, sitokin salınımından hücre çoğalmasına kadar değişen hücresel aktivitelerin uyarılmasında fonksiyon gören uyarıcı moleküller olarak bildirilmiştir. Beyin travmasından sonra, SOR düzeylerindeki artış, mikrovasküler otoregülasyonun kaybına, iskemiye, membran lipid peroksidasyonuna ve aşırı kalsiyum depolanmasına neden olur [7]. Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda hücre hasarını arttırıp, proteinlerin, karbonhidratların oksidasyonu ile hücre ölümünü indükleyebilir [15].

Yangı ve enfeksiyon bölgesinde sitokinler , kemokinler ve SOR'in bulunduğunu ve yangı sürecinde SOR'nin etkilerini Lum ve ark. [15] yaptıkları bir çalışmada göstermişlerdir. SOR'nin damar endotelindeki etkisi birçok faktöre bağlanmıştır. İki önemli sonuç; endotelyal bariyer bozukluğu ve lökositler için yapışmanın artmasıdır. Lökosit yapışmasının kontrolünde endotelin anahtar rolü oynadığı bilinmektedir. Bu artmış lökosit yapışmasının ICAM-1 ve selektin bağımlı yapışma mekanizmalarına bağlı olduğu gösterilmiştir[14,15].

ICAM-1 immünoglobülin süper ailesinin içinde yer alan önemli bir üyedir. Isaksson ve ark. [16,17] rat spinal korduna yaptıkları hasar sonrasında ICAM-1 düzeylerinde artış olduğunu immunohistokimyasal bir çalışma ile göstermişler ve bunların travma sonrasında önemli bir rol oynadıklarını belirtmişlerdir. Hua ve ark. [18] da serbest ağırlık düşürülmesi ile oluşturulan beyin travması ardından hasarın neden olduğu immun yanıtta ICAM-1'lerin de rol aldıklarını göstermişlerdir. Normal beyin dokusunda ICAM-1 salınımı düşük düzeylerde iken, doku hasarı ve IL-1, TNF-alfa gibi yangısal sitokinler ile salınımlarının artabildiğini belirtmişlerdir. Bu artış akut ve kronik yangı alanlarında oluşur [15].

Patolojik durumlarda, sitokinlerin aşırı ve uzamış lökosit-endotel hücre aktivasyonu yanıtları ile doku hasarına neden olan aşırı damar dışına çıkış meydana gelebilir. Akut yangı sırasında uyarı ile PMN'ler dakikalar ile saatler arasında değişen süreler içinde mobilize olurlar, monositler bir gün boyunca enfeksiyon bölgesine yerleşirler [15].

Kafa travmasının ardından ICAM-1 düzeylerindeki artış birçok çalışmada gösterilmiştir. Rancan ve ark. [19] Marmarou modelini kullanarak oluşturdukları travmadan 24 saat sonra ICAM-1 düzeylerinde bir değişimin başladığını ve bunun travma sonrası 4.günde maksimum düzeylere çıktığını bulmuşlardır. Ancak McKeating ve ark. [20] kafa travması geçirmiş hastalardan alınan arteryel ve venöz kanlarda ICAM-1 ve L-selektin düzeylerini çalışarak ICAM-1 düzeylerinde 96. saatte belirgin artış olduğunu gözlemişlerdir. Bunun nedeni akselerasyon/deselerasyon güçlerinin aksonal hasarın yanısıra damarlarda gerilmeye neden olarak ICM-1değerlerinin erken yükselmesine yol açması şeklinde yorumlanmıştır. Sonrasında devam eden enflamasyon ise 4. gündeki artışı açıklamaktadır. Pleines ve ark. [21] ise, kan beyin bariyerinin bozulmasına bağlı olarak, alınan ventriküler BOS'ta ICAM-1 düzeylerinde artış olduğunu bildirmişlerdir.

İnsan endotel hücre yüzeyinde ICAM-1 sunumunun ICAM-1 gen artışına ikincil olduğunu, ICAM-1 gen artışının oksidan ile indüklenen, antioksidan ile inhibe edilen kontrol mekanizması ile düzenlendiğini Desideri ve ark. [8] bir çalışmalarında göstermişlerdir. Alfa-tokoferol de diğer antioksidanlar gibi bu mekanizmayı inhibe eder. Alfatokoferol ve ICAM-1 arasındaki bu ters ilişkiye göre, damar duvarındaki serbest radikallerin oluşumundaki azalma alfa-tokoferol'ün ICAM-1 sunumunu düzenlediğini düşündürür.

Clark ve ark. [22] yaptığı bir çalışmada, reperfüzyon modelinde ICAM antikorları ile yapılan tedavinin santral sinir sistemi iskemik hasarını azalttığı görülmüştür.

Alfa-tokoferol, efektif ve yağda çözünebilen bir antioksidandır. 1986 yılında Burton ve ark. [23] alfa-tokoferolün lipid peroksidasyonunda, serbest radikal ilişkili zincir reaksiyonunu kırarak bir antioksidan etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Hidroksil radikalleri ile etkileşerek antioksidan olmasının yanı sıra, membran stabilitesini ve geçirgenliğini de kontrol eder. Aynı zamanda prostaglandinlerin oluşumunu ve diğer lipid peroksidasyonu ürünlerini ayarlayarak immun yanıtı düzenler.

İnci ve ark. [7] domuzlarda yaptığı çalışmada, travma şiddeti ile bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit bakarak lipid peroksidasyonunun arttığını ve burada etken olan SOR'ne karşı alfa-tokoferolün koruyucu etkisinin olduğu belirtilmiştir. Yine, Harry ve ark. [24] oluşturdukları akut hipokampal hasar sonrasında ICAM-1 de belirgin artış olduğunu göstermişler ardından verdikleri antioksidan,ebselen, ile ICAM-1 düzeylerinde azalma olduğunu saptamışlardır. Desideri ve ark. [8] ise sağlıklı bireylerde vasküler endotel düzeyinde düşük doz alfa-tokoferolün uzun dönem kullanımı ile ICAM-1 düzeylerinde belirgin azalma olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda, literatürle uyumlu olarak travma sonrası 30mg/kg dozu ile uygulanan alfa-tokoferolün , uygulanmayan deneklere göre ICAM-1 düzeylerine olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir.

Deneysel kafa travması sonrası meydana gelen yangı sonucunda istatistiksel olarak gösterilememesine rağmen ICAM-1 düzeylerinde artış olmuştur. Bir antioksidan olan alfa-tokoferolün uygulanması ile SOR miktarı azalarak yangı ve buna bağlı olarak ICAM-1 düzeyleri azalmıştır. Bu durumda kafa travması, deneklerde bir oksidan strese yol açarken, farmakolojik dozlarda uygulanan alfa-tokoferolün antioksidan etkisi ile endotelyal hasarı azalttığı, dolayısı ile yangıyı azalttığı gözlenmiştir.

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 998-TU-05 proje numarası ile desteklenmiştir.

Çıkar Çakışması ve Finansman Beyanı

Bu çalışmada çıkar çakışması ve finansman destek alındığı beyan edilmemiştir.

Kaynaklar

1. Alberico AM, Ward JD, Chol SC, Marmarou A, Young HF. Outcome after severe head injury. Relationship to mass lesions, diffuse injury, and ICP course in pediatric and adult patients. J Neurosurg 1987;67:648-8.

2. Jess FK, David LM, Terry AS, Madhangi J. Epidemiology of brain injury, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). Neurotrauma. Mc Graw Hill Companies. 1996;Pp 13-17.

3. Gorgulu A, Palaoglu S, Ismailoglu O, Tuncel M, Surucu MT, Erbil M, et al. Effect of melatonin on cerebral edema in rats. Neurosurgery 2001;49(6):1434-8.

4. Koc RK, Kurtsoy A, Pasaoglu H, Karakucuk EI, Oktem IS, Meral M. Lipid peroxidation and edema in experimental brain injury: comparison of treatmnent with methylprednisolone, tirilazad mesylate and vitamin E. Res Exp Med (berl) 1999;199(1):21-8.

5. Petty MA, Poulet P, Haas A, Namer IJ, Wagner J. Reduction of traumatic brain injury induced cerebral edema by a free radical scavenger. Eur J Pharmacol. 1996;307(2):149-55.

6. Ikeda Y, Mochizuki Y, Nakamura Y, Dohi K, Matsumoto H, Jimbo H, et al. Protective effect of a novel vitamin E derivative on experimental traumatic brain edema

in rats-preliminary strud. Acta Neurochir Suppl 2000;76:343-5.
7. Inci S, Ozcan E, Kilinc K. Time level relationship for lipid peroxidation and the protective effect of alpha-tocopherol in experimental mild and severe brain injury. Neurosurgery 1998;43(2):330-5.
8. Desideri G, Croce G, Marinucci MC, Masci PG, Stati M et al. Prolonged, low dose alpha-tocopherol therapy counteracts intercellular cell adhesion molecule-1 activation. Clinica Chimica Acta 2002;320:5-9.
9. Marmarou A, Foda M, Brink WVD, Campbell J, Kita H, Demetriadou K. A new model of diffuse brain injury in rats. Part 1: Pathophysiology and biomechanics. J Neurosurg 1994;80:291-9.
10. Foda M, Marmarou A. A new model of diffuse brain injury in rats. Part II: Morphological characterization. J Neurosurg 1994;80:301-12.
11. Lowry OH, Rosebrough NJ, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951;193:265-72.
12. Ikeda Y, Long DM. Comparative effects of direct and indirect hydroxyl radical scavengers on traumatic brain edema. Acta Neurochir Suppl (Wien) 1990;51:74-2.
13. Kantos HA, Povlishock GT. Oxygen radicals in brain injury. Cent Nerv Syst Trauma 1986;3:257-6.
14. Gong C, Hoff JT, Keep RF. Acute inflammatory reaction following experimental intracerebral hemorrhage in rat. Brain Res 2000;871:57-8.
15. Lum HL, Roebuck KA. Oxidant stres and endothelial cell dysfunction. Am J Physiol Cell Physiol 2001;280:719-22.
16. Isaksson J, Farooque M, Holtz A, Hilered L, Olsson Y. Expression of ICAM-1 and CD 11b after experimental spinal cord injury in rats. J Neurotrauma 1999;16(2):165-8.
17. Isaksson J. Inflammatory mechanisms in experimental CNS trauma. Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the faculty of Medicine 2000;906:45-8.
18. Hua HC, Xin SJ, Shou LJ, Wei W, Xia YH. Concomitant upregulation of nuclear factor- kB activity, proinflammatory cytocines and ICAM-1 in the injured brain after cortical contusion trauma in a rat model. Neurology India 2005;53(3):312-5.
19. Rancan M, Otto VI, Hans VHJ, Gerlach I, Jork R, Trentz O. Upregulation of ICAM-1 and MCP-1 but not of MIP-2 and sensorimotor deficit in response to traumatic axonal injury in rats. J Neuroscience Res 2001;63: 438-8.
20. McKeating , Andrews PJ, Mascia L. Leukocyte adhesion molecule profiles and outcome after traumatic brain injury. Acta Neurochir Suppl 1998;71:200-2.
21. Pleines UE, Stover JF, Kossman T, Trentz O, Kossman MCM. Soluble ICAM-1 in CSF coincidence with the extend of cerebral damage in patients with severe traumatic brain injury. J Neurotrauma 1998;15(6):399-7.
22. Clark WM, Madden KP, Rohtlein R, Zivin JA. Reduction of central nervous system ischemic injury by monoclonal antibody intercellular adhesion molecule. J Neurosurg 1991;75:623-4.
23. Burton GW, Ingold KU. Vitamin E: application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. Acc Chem Res. 1986;19:194-7.
24. Harry GJ, Bruccoleri A, d'Hellencourt CL. Differential modulation of hippocampal chemical-induced injury response by ebselen, pentoxifylline, and TNF -, IL-1 -, and IL-6-neutralizing antibodies. J Neuroscience Res 2003;73(4):526-10.

How to cite this article:
Şenol N, Köse T, Görgülü A. Intercellular Adhesion Molecule-1 Levels in Experimental Brain Injury and the Effects of Alpha-tocopherol. J Clin Anal Med 2014;5(suppl 3): 299-302.