



T.C.
BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACIL TIP ANABİLİM DALI

**Akut İskemik İnme Olgularında Primer Girişimsel ve
Trombolitik Tedavinin Oksidan-Antioksidan Durum ve Lenfosit
DNA Hasarı Üzerine Etkisinin Araştırılması**

UZMANLIK TEZİ

Tezi Hazırlayan

Dr.Eda YİĞİT

Tez Danışmanı

Doç.Dr. Özgür SÖĞÜT

İSTANBUL
(2015)



T.C.
BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACIL TIP ANABİLİM DALI

**Akut İskemik İnme Olgularında Primer Girişimsel ve
Trombolitik Tedavinin Oksidan-Antioksidan Durum ve Lenfosit
DNA Hasarı Üzerine Etkisinin Araştırılması**

UZMANLIK TEZİ

Tezi Hazırlayan

Dr.Eda YİĞİT

Tez Danışmanı

Doç.Dr. Özgür SÖĞÜT

İSTANBUL
(2015)

TEŞEKKÜR

Acil Tıp uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve görüşleriyle mesleki açıdan beni aydınlatan, yalnızca iyi bir hekim olmam için değil; iyi bir insan olmam için de emeğini esirgemeyen saygıdeğer hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Özgür SÖĞÜT'e;

Acil Tıp uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum, Acil Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Uzmanlarına, birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım, zorlu çalışma koşullarına rağmen büyük bir özveri ve sabırla çalışan değerli Acil Tıp Anabilim Dalı Araştırma Görevlilerine;

Tezimin hazırlanmasında desteklerini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı, Biyoistatistik Anabilim Dalı ve Nöroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine;

Mesleki idealizmi ile Acil Tıp ihtisasını bitirmemde en büyük desteğim, eşim Dr. Mehmet YİĞİT'e; ayrıca hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bana her konuda destek olan değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Eda YİĞİT

ÖZET

Akut İskemik İnme Olgularında Primer Girişimsel ve Trombolitik Tedavinin Oksidan-Antioksidan Durum ve Lenfosit DNA Hasarı Üzerine Etkisinin Araştırılması

Amaç: Bu çalışmada acil serviste klinik ve radyolojik bulgularla iskemik inme tanısı konulan erişkin hastalarda erken dönemde (ilk 4-6 saat) uygulanan trombolitik veya trombektomi tedavisinin lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkilerini araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisine; Mayıs 2014-Kasım 2014 tarihleri arasında akut iskemik inme tanısı konulan 62 erişkin hasta prospektif olarak alındı. Çalışmaya kriterlere uygun olan 32 hasta ve kontrol grubu olarak 30 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Akut iskemik inme kliniğinde başvuran hastalar; ilk başvuruda Ulusal Sağlık Enstitüsü İnme Skalası'na (NIHSS) göre 3 gruba ayrıldı. Ayrıca tedavi sonrası 24. saatte modifiye Rankin Skalası (mRS) ile farklı 3 gruba ayrıldı. NIHSS ve mRS'ye göre ayrılan gruplarda ilk başvuruda (tedavi öncesi) ve tedavi sonrası plazma lenfosit DNA hasarı, Total Oksidan Seviye (TOS), Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) çalışıldı.

Bulgular: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, inme grubunda plazma TOS, OSİ ve lenfosit DNA hasarının istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yükseldiği; TAS değerinin ise anlamlı olarak azaldığını saptadık (bütün parametreler için $p < 0,001$). NIHSS'ya göre gruplar karşılaştırıldığında inme ciddiyeti arttıkça DNA hasarı düzeylerinde anlamlı artış ve TAS düzeylerinde ise anlamlı azalma olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p < 0,001$ ve $p = 0,034$). mRS'sına göre gruplar değerlendirildiğinde akut inmede nörolojik fonksiyon kaybı arttıkça; grup 1'den grup 3'e doğru gidildikçe DNA hasarı, TOS ve OSİ düzeyinin yükselme eğiliminde olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p = 0,003$, $p = 0,001$ ve $p = 0,006$).

Sonuç: İskemik inme geçiren hastalarda erken dönemde, oksidatif stresin biyolojik belirteçleri olarak TAS ve DNA hasarı; inmede kullanılan skalalara alternatif ve objektif bir kriter olarak beyin hasarının şiddetini göstermede kullanılabilir. Ayrıca, bu hastalarda erken dönemde trombolitik veya endovasküler trombektomi tedavisinin etkinliğinin ve nörolojik

fonksiyonların iyilik halinin değerlendirilmesinde lenfosit DNA hasarı, TOS ve OSİ düzeylerinin biyolojik belirteçler olarak kullanılabilceğini önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Akut iskemik inme, TOS, TAS, lenfosit DNA hasarı, trombolitik tedavi, trombektomi



ABSTRACT

Analyzing the impacts of primary interventional and thrombolytic treatment on oxidant-antioxidant status and lymphocyte DNA damage in cases of acute ischemic stroke

Purpose: This study aimed to investigate the impacts of thrombolysis and thrombectomy on lymphocyte DNA damage and oxidative stress parameters for the treatment of adult patients with ischemic stroke in early post-stroke period (within the first 4-6 hour of stroke) based on clinical and radiological findings.

Materials and methods: Over a 7-month period (May 2014 through November 2014), 62 consecutive adult patients who presented to the Emergency Department of Bezmialem Vakif University and diagnosed as an acute ischemic stroke were included in this prospective clinical study. Thirty-two patients who met the inclusion criteria and 30 eligible healthy volunteers as control subjects were enrolled. Patients were divided into 3 groups according to their National Institute of Health Stroke Scales (NIHSS) on admission. Additionally, patients were stratified into three different groups based on modified Rankin Scale (mRS) at 24 h after treatment. Plasma lymphocyte DNA damage and Total Oxidant Status (TOS), Total Antioxidant Status (TAS) and Oxidative Stress Index (OSI) were assessed in all groups classified with respect to NIHSS and mRS, both on admission and at 24 h after the treatment. The results were compared between the groups.

Results: Plasma TOS and OSI levels and lymphocyte DNA damage were found to be significantly higher, whereas plasma TAS levels were significantly lower in patients with stroke compared with those in the controls (all comparisons, $p < 0.001$). According to the comparison of NIHSS groups with respect to the stroke severity; increased lymphocyte DNA damage levels and decreased TAS levels were observed ($p < 0.001$ and $p = 0.034$, respectively). When the patients were classified into subgroups with respect to mRS, plasma TOS and OSI levels and lymphocyte DNA damage tended to be higher in group 3 which comprised patients with the most neuronal dysfunction compared to those in groups 1 and 2 ($p = 0.003$, $p = 0.001$ and $p = 0.006$, respectively).

Conclusion: Lymphocyte DNA damage and TAS, as biomarkers of early oxidative changes can be regarded as an objective alternative criterion to the stroke assessment scales for determining severity of brain damage in patients with ischemic stroke. Furthermore, we suggest that lymphocyte DNA damage, TOS and OSI levels can be regarded as an early biological indicators to assess neurologic health and well being and the effectiveness of the thrombolytic treatment or endovascular thrombectomy in such patients.

Keywords: Acute ischemic stroke, TOS, TAS, lymphocyte DNA damage, thrombolytic treatment, thrombectomy



ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
TABLolar DİZİNİ	XIII
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Serebral İskemide Fizyopatoloji.....	3
2.2 Serebral İskemide Etyoloji ve Sınıflama.....	5
2.2.1.İskemik İnmede Sınıflama.....	6
2.2.1.1. Büyük Damar Hastalığı.....	7
2.2.1.2. Kardiyoembolizm.....	7
2.2.1.3.Küçük Damar Hastalığı.....	9
2.2.1.4. Diğer Etyolojik Sebepler.....	10
2.2.1.5. Sebebi Belirlenemeyen Etyolojik Sebepler.....	11
2.3. İskemik İnmede Risk Faktörleri.....	11
2.4.İskemik İnmede Tanı.....	14
2.4.1. Klinik Değerlendirme.....	14
2.4.2.Laboratuvar İncelemesi.....	15
2.4.3. Görüntüleme Yöntemleri.....	17
2.4.3.1. Bilgisayarlı Beyin Tomografisi.....	18
2.4.3.2. Manyetik Rezonans ve Manyetik Rezonans Difüzyon Görüntüleme.....	18
2.4.4. Serebral İskemide Ayırıcı Tanı.....	19

2.5. Serebral İskemide Skorlamalar	19
2.5.1. NIHSS (Ulusal Sağlık Enstitüsü İnme Skalası)	20
2.5.2. Modifiye Rankin Skalası	21
2.6. Serebral İskemide Tedavi	23
2.6.1. Trombolitik Tedavi	23
2.6.2. Antiagregan Tedavi	26
2.6.3. Antikoagülan Tedavi	26
2.6.4. Girişimsel Tedavi Yöntemleri	26
2.6.4.1. İntraarteriyel Trombolitik (endovasküler) Tedavi.....	26
2.7. Serebral İskemi Komplikasyonları	27
2.8. DNA Hasarı	28
2.8.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu	28
2.8.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri	29
2.8.3. DNA Hasarı Tipleri	29
2.8.3.1. Spontan Mutasyonlar	30
2.8.3.1.1. DNA Replikasyon Hataları	30
2.8.3.1.2. Deaminasyon	30
2.8.3.1.3. Depürinasyon	30
2.8.3.1.4. Alkilasyon	30
2.8.3.1.5. T-T ve T-C Dimerleri Oluşumu	31
2.8.3.1.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu	31
2.8.3.1.7. Oksidatif Hasar	31
2.8.3.2. İndüklenmiş Mutasyonlar	31
2.8.4. DNA Onarım Mekanizmaları	32
2.8.4.1. Direkt Tamir veya Hasarın Geri Döndürülmesi.....	32
2.8.4.2. Eksizyon Onarımı	33

2.8.4.3. Replikasyon Sonrası Onarım	34
2.8.4.4. S. O. S. (Acil) Onarımı	35
2.8.4.5. DNA Çift Zincir Kırığı Onarımı	35
2.9. Oksidatif Stres ve Total Antioksidan Seviye	36
2.9.1. Serbest Radikaller	36
2.9.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri	36
2.9.1.1.1. Süperoksit Radikali	37
2.9.1.1.2. Hidrojen Peroksit	37
2.9.1.1.3. Hidroksil Radikali	38
2.9.1.1.4. Singlet Oksijen	38
2.9.1.1.5. Hipoklorik Asit	39
2.9.1.2. Serbest Nitrojen Radikalleri	39
2.9.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	40
2.9.2.1. Membranların Lipit Peroksidasyonları	40
2.9.2.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu	41
2.9.2.3. Karbonhidratlara Etkileri	41
2.9.2.4. Oksidatif Stres ve DNA Lezyonları	41
2.9.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları	44
2.9.3.1. Antioksidan Sistemler	44
2.9.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	45
2.9.3.1.2. Nonenzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri	47
2.9.4. Total Antioksidan Seviye	48
2.10. İskemik İnme İle Antioksidan, Oksidatif stres ve DNA Hasarı İlişkisi	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM	51
3.1. Çalışmaya Alınan Olgu ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi	51
3.1.1. Çalışma Grubu	51

3.1.2. Olgu Dahil Edilme Kriterleri	52
3.1.3. Olgu Dışlama Kriterleri	52
3.1.4. Kontrol Grubu Seçme Kriterleri	53
3.2. Örneklerin Hazırlanması ve Ölçümler	53
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	53
3.2.2. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu	54
3.2.3. DNA Hasar Tayini; Comet Assay Yöntemi	54
3.2.3.1. Yöntemin Uygulanışı	54
3.2.4. Total Antioksidan Seviye (TAS)	56
3.2.5. Total Oksidan Seviye (TOS).....	57
3.2.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ).....	58
3.2.7. İstatistiksel Analiz.....	58
4.BULGULAR	59
5. TARTIŞMA	71
SONUÇ	74
KAYNAKLAR.....	75

KISALTMALAR ve SİMGELER

ADP	:Adenozin Difosfat
AF	:Atrial Fibrilasyon
AMP	:Adenozin Monofosfat
ATP	:Adenozin Trifosfat
BBT	:Bilgisayarlı BeyinTomografi
CAT	:Katalaz
DM	:Diabetes Mellitus
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	:Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	:Etilendiamin Tetraasetik Asit
GPx	:Glutasyon Peroksidaz
GR	:Glutasyon Redüktaz
GSH	:Glutasyon
GST	:Glutasyon Transferaz
RO	:Alfoksil Radikali
NAD	:Nikotin Adenin Dinükleotid
NMDA	:N-Metil-D-Aspartat
PARP	:Poli-ADP-Riboz-Polimeraz
H₂O₂	:Hidrojen Peroksit
HO₂	:Perhidroksil Radikali
HOCl	:Hipoklorid
İV	:İntravenöz Yol
MDA	:Malonildialdehit
MRS	:Modifiye Rankin Skalası

MRG	:Manyetik Rezonans Görüntüleme
NMDA	:N-Metil-D-Aspartat
NIHSS	:Ulusal Sağlık Enstitüsü İnme Skalası
O₂⁻	:Süperoksit
OH⁻	:Hidroksil Radikali
OSİ	:Oksidatif Stres İndeksi
PARP	:Poli-ADP-Riboz-Polimeraz
RCOO	:Organik Peroksit Radikali
RO	:Alfoksil Radikali
SOD	:Süperoksit Dismutaz
SVH	:Serebrovasküler Hastalık
TAS	:Toplam Antioksidan Seviye
TOS	:Toplam Oksidan Seviye
TOAST	:Trial of Organization Acute Stroke Treatment
TPA	:Doku Plazminojen Aktivatörü

ŞEKİL TABLOSU

Şekil 1: DNA Çift Sarmal Yapısı	29
Şekil 2: Hipoklorik Asit Oluşumu	39
Şekil 3: Nitrik Oksit Oluşumu	39
Şekil 4: Oksidatif Stresten Önce ve Sonraki Nöron Hücresinin Görünümü	50
Şekil 5: DNA'daki Farklı Derecelerdeki Hasarın Mikroskop Altındaki Görüntüleri	56
Şekil 6: NIHSS'e Göre Grup 1,2 ve 3'ün İlk Başvuruda (tedavi öncesi) Serum Ortalama DNA Hasarı Düzeyleri.....	63
Şekil 7: NIHSS'e Göre Grup 1,2 ve 3'ün İlk Başvuruda (tedavi öncesi) Serum Ortalama TAS Değerleri.....	63
Şekil 8: mRS'ye Göre Grup 1,2 ve 3'ün 24.Saatte (tedavi sonrası) Serum Ortalama TOS Değerleri	67
Şekil 9: mRS'ye Göre Grup 1,2 ve 3'ün 24.Saatte (tedavi sonrası) Serum Ortalama OSİ Değerleri	67
Şekil 10: mRS'ye Göre Grup 1,2 ve 3'ün 24.Saatte (tedavi sonrası) Serum Ortalama DNA Hasarı Değerleri	68
Şekil 11: mRS'ye Göre Grup 1,2 ve 3'ün İlk Başvuruda (tedavi öncesi) ve 24. Saatteki (tedavi sonrası) Serum DNA Hasarı Fark Değerlerinin Karşılaştırılması.....	69
Şekil 12: mRS'ye Göre Grup 1,2 ve 3'ün İlk Başvuruda (tedavi öncesi) ve 24. Saatteki (tedavi sonrası) Serum DNA Hasarı Fark Değerlerinin Pairwise Karşılaştırılması.....	70

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: İskemik SVH Sınıflandırması (TOAST 1993)	6
Tablo 2: Kardiyembolik İnme Nedenleri	9
Tablo 3: İnmede Risk Faktörleri	12
Tablo 4: İskemik İnmeden Şüphelenilen Hastalarda Önerilen Laboratuvar Testleri	16
Tablo 5: NIHSS (Ulusal Sağlık Enstitüsü İnme Skalası)	20
Tablo 6: Modifiye Rankin Skalası	22
Tablo 7: İV Trombolitik Tedavi Kontraendikasyonları	25
Tablo 8: İskemik İnme Sonrası Gelişebilecek Komplikasyonlar	28
Tablo 9: Hasta ve Kontrol Grupları Arası Cinsiyet, Yaş, DNA Hasarı, TAS, TOS, OSİ Değerlerinin Karşılaştırılması	60
Tablo 10: NIHSS'e Göre Grup 1,2 ve 3'ün İlk Başvuruda (tedavi öncesi) Serum Ortalama DNA Hasarı, TAS, TOS, OSİ Değerlerinin Karşılaştırılması.....	62
Tablo 11: mRS'ye Göre Grup 1,2 ve 3'ün 24.Saatte (tedavi sonrası) Serum DNA Hasarı, TAS, TOS, OSİ Değerlerinin Karşılaştırılması	65
Tablo 12: mRS Grupları Arası Anlamlı Bulunan DNA Hasarı, TOS, OSİ Değerlerinin Korelasyonu	66
Tablo 13: mRS'ye Göre Grup 1,2 ve 3'ün İlk Başvuruda (tedavi öncesi) ve 24. Saatteki (tedavi sonrası) Serum DNA Hasarı Fark Değerleri	69
Tablo 14: mRS'ye Göre Gruplar Arasında DNA Hasarı Farkının p Değerleri.....	70

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnme olarak tanımlanan serebrovasküler hastalıklar (SVH); ciddi mortalite ve morbiditeye yol açan hastalıkların başında gelir. Dünya Sağlık Örgütü inmeyi vasküler neden dışında görünürde bir sebep olmaksızın, aniden yerleşip fokal veya global serebral disfonksiyona yol açan, 24 saat ya da daha uzun süren veya ölümlü sonuçlanan klinik bir durum olarak tanımlamıştır (1). İnme ölüm sebepleri içerisinde üçüncü ve sakatlık yönünden de birinci sırada olan hastalıklar grubu içerisinde yer alır. Altmış yaş üstü nüfusta kardiyovasküler hastalıklardan sonra serebrovasküler hastalıklar dünyada ikinci sırada ölüm nedenidir, sakatlık ve işgücü kaybının ise birinci nedenidir (1, 2).

SVH'lar, hastanede tedavi gerektiren nörolojik hastalıkların %50'sinden fazlasını oluşturur. Yaklaşık olarak %85'i iskemik, %15'i hemorajiktir. Ülkemizde yapılan hastane tabanlı çok merkezli bir çalışmada SVH'nın %72'sini iskemik inme, %28'ini ise hemorajik inmenin oluşturduğu saptanmıştır (3). Bu grubun %80-85'ini oluşturan iskemik inme nörolojik hastalıklar içerisinde en sık görülen ve en çok ölüme neden olan gruptur. Öldürücülüğünün yanı sıra oluşturduğu sakatlıklar, birey, aile ve toplum üzerinde psikososyal problemlere yol açmasının yanı sıra, ekonomik yönde yük teşkil etmektedir. SVH'ların önlenmesi ve tedavisi, bu bağlamda çok önemli bir halk sağlığı sorunudur (1).

İskemik inme tedavisinde amaç; nörolojik hasarlanmayı en aza indirmek, iskemiyeye ikincil oluşabilecek ek hasarları engellemek ve hastanın fonksiyonel iyileşmesini kolaylaştırabilecek önlemleri almak olmalıdır (2). Son yıllarda iskemik inmeye spesifik tedavilerin bulunmasıyla, inme erken dönemde tanısı konulup tedavi edilmesi gereken bir hastalık haline gelmiştir. İskemik inme geçiren hastalarda spesifik tedavilerin başında trombolitik tedavi gelmektedir. Trombolitik tedavinin inmeyle ilgili nörologların gözetiminde, tedavi komplikasyonlarıyla baş edilebilecek merkezlerde; acil servis veya yoğun bakım şartlarında uygulanması daha uygun ve güvenli bir yaklaşım olacaktır (4).

İntravenöz trombolitik tedavi inmenin ilk üç saati içinde, intraarteriyel trombolitik ve trombektomi tedavisinin ise ilk altı saat içinde başlanmış olması gerekir. Trombolitik tedavi verilemeyen hastalarda da inme komplikasyonlarının (beyin ödemi ve transtentoriyal

herniasyon, tekrarlayan inme, infarktın hemorajik transformasyonu, epileptik nöbet, hidrosefali, kardiyovasküler ve pulmoner komplikasyonlar, enfeksiyonlar, tromboembolizm, ateş, malnütrisyon, metabolik komplikasyonlar, bası yaraları, ağrı vb.) gelişmesi önlenerek ve uygun tedavisi yapılarak ölüm ve sakatlık oranları azaltılabilir (4).

Toplumda yaşam beklentisinin artması dolayısıyla her yıl yaşlı nüfus grubunun artışı ile yaşlılık döneminde en sık görülen hastalıklardan biri olan serebrovasküler hastalıklar ve bu alanda yapılacak çalışmalar giderek önem kazanmıştır. Bu hastalıklarda yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesi ve özellikle tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi mortalite ve morbidite oranlarına etkisinin belirlenmesi açısından önem arz eder (5).

Bu çalışmada acil serviste klinik ve radyolojik bulgularla iskemik inme tanısı alan erişkin hastalarda erken dönemde (ilk 4-6 saat) uygulanan akut trombolitik veya trombektomi tedavisi sonrası lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres durumunun klinik sonuçlara etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ek olarak, iskemik inme geçiren erişkin hastalarda erken dönemde lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres durumunun inmenin ciddiyeti ile olan ilişkisi ortaya konulmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serebral İskemide Fizyopatoloji

Beyin dokusu, sahip olduğu yüksek metabolizma ve hızlı glutamat döngüsü gibi nedenlerle iskemik hasara çok duyarlıdır. Fokal kan akımı düşüklüğünün derecesi ve süresi ortaya çıkacak iskemik hasarın şiddeti ile paralellik gösterir. İskemi ile tetiklenen bu hasara, kan akımının tekrar sağlanması ile oluşan reperfüzyon hasarında eklenmesi ve kan beyin bariyerinde bozulması birçok mekanizmanın tetiklenmesine yol açar (6). Bunlar protein sentezinde bozulma, sitotoksik ödem, mitokondrial hasar, DNA (deoksiribonükleik asit) ve endoplazmik retikulum hasarı, eksitotoksisite, oksidatif/nitratif stres, nekroz ve apoptozis yollarının aktivasyonu, mikrovasküler zedelenme, vazojenik ödem, inflamatuvar reaksiyon gibi mekanizmalardır. Tüm bu yolların ortak sonucu olarak da beyin dokusundaki nöronal, glial ve vasküler elemanlar geri dönüşümsüz şekilde hasara uğrar. İskemi sırasında birçok patolojik olay aktive olsada en temel faktör kan akımının azalması sonrası beyin dokusuna yeterli miktarda oksijen ve glikozun sağlanamamasıdır. Beyin dokusu oksijen ve glikoz kullanımı en yüksek dokulardan birisidir. İnfarkt, bir dokuda arteriyel akımın veya venöz drenajın tıkanması sonucunda gelişen iskemik nekrozdur. İskemik nekroz klinik hastalığın sık rastlanılan ve çok önemli bir nedenidir. Tüm infarktların yaklaşık %99'u trombotik yada embolik olayların sonucunda oluşur ve hemen hepsi arter tıkanması sonucu gelişir. Bazen infarkt lokal vazospazm, bir aterom plağının içine kanama veya bir damarın dıştan basıya uğraması nedeniyle de oluşabilir (7).

İskemik dokunun kaderini belirleyen en önemli etkenler, iskeminin şiddeti ve süresidir (8). Bir serebral arter tıkandığı zaman, arterin beslediği alanın merkezindeki bölgede kan akımı kritik düzeyin altına düşer. Fakat merkezin hemen çevresindeki alanların kan akımı nöronun fonksiyonunu ve canlılığını sürdürmesi için yetersiz olabilir. Bu bölge iskemik “penumbra” alanı olarak bilinir (9). Penumbra'nın dinamik özellikte olduğu, kendi haline bırakıldığında kısa sürede infarkt dokusuna katıldığı görülmüş ve “zaman beyindir” anlayışı yerleşmiştir. İskemik çekirdekte, enerji kesilmesi sonucu iyon pompa sistemleri hemen iflas etmişken, penumbra'da elektrik aktivite bozukluğuna rağmen membran hemostazı korunmuştur. Bu nedenle penumbra alanı hem deneysel hemde klinik tedavi çalışmalarında

hedef alınan “kurtarılacak doku”dur (8).

Bu ilerleyici bozukluğun, 24 saate kadar devam ettiği ve reperfüzyonla geri döndüğü gösterilmiştir. Bu da penumbranın dinamik özelliğini ortaya koyan bir tedavi yapılmazsa kısa sayılacak bir süre içinde geri-dönüşsüz doku hasarının yerleşeceğini göstermektedir (10). İskemik çekirdekdeki kan akımı normalde olması gereken kan akımının %0 - %20’si kadardır. Penumbrada ise %20 - %40 arasındadır. Penumbrada perfüzyon düştüğü halde glikoz metabolizması dört beş kat artmıştır (8).

İskemik inmede iki çeşit ödem rol oynamaktadır. İskemi başladığı andan itibaren ortaya çıkan sitotoksik ödem ve iskemiden 4-6 saat sonra başlayan 24-72 saatte maksimuma erişen vazojenik ödemdir. Beyindeki Na-K ATPaz pompasının fonksiyon kaybı nedeniyle; Adenozintrifosfat (ATP) ve fosfokreatininden oluşan yüksek enerjili fosfat depoları boşaldığı zaman, nöronlar, hücre içi K^+ ’u hücre dışına taşımak ve Na^+ ’un içeri girişini önlemek için gerekli membran potansiyelini sürdüremez. Bu durum, iskemik beyin bölgesinde hücre içine Na^+ ve su girişine sebep olarak sitotoksik ödem oluşturur. Sitotoksik ödem intraselüler sıvı artışına neden olurken kitle etkisi yaratmaz. Hücreler nekroza uğradığı zaman, proteazlar ve lipazlar, çevre beyin dokusuna çıkarak nöron yıkımına ve interstisyel vazojenik ödeme neden olurlar (11). Beyin dokusunda ekstraselüler sıvı artışı net ve dolayısıyla doku hacminde artış ile karakterize; kitle etkisi yaratan ödeme vazojenik ödem denir. Enerjinin tükenmesi, nöronlardan nörotransmitterlerin salınmasına neden olur. Salınan nörotransmitterlerin ekstraselüler mesafedeki yüksek konsantrasyonları nöronlar için toksik olabilir. Bir aminoasit olan glutamat, nöronları uyarır ve iskemi sırasında nöron ölümüne yol açan eksitotoksik hasara neden olur (12).

AMP (Adenozinmonofosfat) reseptörlerinin uyarılması başlangıçta nöronların içine daha çok Na^+ girişine ve beraberinde hücresel ödeme neden olur. Bununla birlikte bu değişiklik geri-dönüşsüz nöron ölümü ile sonuçlanmaz (13). Geri-dönüşsüz nöron ölümü hücre içine Ca^{+2} girişine neden olan NMDA’nın (N-metil-D-aspartat) aşırı uyarılması sonucu ile ilişkili bir durumdur (14).

İskemi sürecinde önemli rol oynayan araçlardan bir diğeri reaktif oksijen ve nitrojen molekülleridir. Nöronlar sınırlı düzeyde anti-oksidan mekanizmalara sahip olması nedeniyle

oksidatif-nitratif hasara çok duyarlıdır (15). Normal koşullarda metabolik fonksiyonun bir yan ürünü olarak ortaya çıkan süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^-) gibi reaktif oksijen bileşenleri, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), peroksiredoksinler, indirgenmiş glutatyon (GSH), vitamin C ve E gibi antioksidanlar tarafından etkisiz duruma getirilirler. Ancak iskemi başlangıcında ve özellikle reperfüzyon sırasında dokuya tekrar oksijen sağlanması nedeniyle antioksidan mekanizmaların temizleme kapasitesinden çok daha fazla oksijen radikali ortaya çıkar (16).

NO (nitrik oksit) ve süperoksit radikallerin varlığında NO'dan oluşan serbest bir radikal olan peroksinitrit de iskemik nöron ölümünden sorumludur. Gerek reaktif oksijen radikalleri, gerekse peroksinitrit, hücre içindeki proteinle, lipidler, nükleik asitler ve karbonhidratlar ile etkileşime girerek direkt veya indirekt olarak zarar verirler. NO varlığında iskeminin neden olduğu DNA'nın parçalanması, DNA tamirinde görev alan bir nükleer protein olan PARP'nin (poli-ADP-riboz-polimeraz) aktivitesini indükler. PARP aktivitesi DNA'yı onarmak için ADP (adenozindifosfat) ve NAD (nikotin adenin dinükleotid) tüketerek enerji depolarını boşaltır. Yani enerji yetersizliği aracılığı ile hücre ölümüne katkıda bulunur. Yapılan bir çalışmada PARP geni olmaksızın kopyalanmış fareler iskemik nöron hasarına dirençli saptanmıştır (17).

İskemide, iskemik süreç hemen harekete geçse bile nöron ölümü gecikir ve nöronlar iskeminin başlamasından 8 saat sonrasına kadar hiçbir patolojik nekroz bulgusu göstermezler (18). Nöronlar MK 801 ve dektrofan gibi NMDA antagonistleri ile ilk 3 saat içinde nekrozdan kurtarılabilir (19). Bununla birlikte şiddetli iskemide, nekroz önlense bile apoptozis (DNA sentezine bağımlı programlı bir hücre ölümü) oluşabilir ve nöronların büzüşmesine ve yıkımına neden olur (8).

2.2. Serebral İskemide Etyoloji ve Sınıflama

İnme heterojen bir hastalıktır; günümüzde yaklaşık 100'den fazla damarsal, kardiyak, hematolojik ve sistemik patoloji inme nedeni olarak ortaya konulmuştur. İnme tanısı alan her hastada, uygun sınıflama yapılarak bu nedenlerden en muhtemel olanının saptanması, prognoz tayini ve uygun tedavi seçimi için büyük önem taşımaktadır. İnme etyolojisine yönelik ilk sınıflandırmalar, genellikle lezyonun patolojisine göre yapılmış ve tüm inmeler iskemik ve hemorajik olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Daha sonraki çalışmalar ileri nöroradyolojik,

kardiyolojik, hematolojik ve biyokimyasal tetkikleri kullanarak lezyonun patolojisi, lokalizasyonu ve oluş mekanizmasını da göz önünde tutmuş ve bunun sonucunda yeni sınıflandırmalar yapılmıştır. Buna göre yapılan inme sınıflandırmalarında, çeşitli toplumlarda bazı alt gruplar daha sık gözlenmekle birlikte; benzer değerler elde edilmiştir. Başlıca inme alt gruplarının sıklıkları ise şöyledir (20):

1. Subaraknoid kanama (%3-10),
2. İntraserebral hemoraji (%10-15),
3. Serebral İskemi (%60-80).

2.2.1. İskemik İnmede Sınıflama

İskemik inmeler; lokal arter patolojisi, embolizm veya hemodinamik nedenlerle serebral kan akımının azalması sonucu gelişen ve patolojik olarak infarkt ile karakterize olan inme olarak adlandırılır. İskemik inmeler 1993 yılında yayınlanan “Trial of Org. 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST)” çalışmasında kullanılan sınıflandırmaya göre etyolojik subgruplara ayrılmıştır (Tablo 1). Bu sınıflandırmaya göre iskemik inme 5 ana gruba ayrılmıştır; büyük arter ateroskleroza, kardiyembolizm, küçük damar oklüzyonu, diğer nedenler, nedeni aydınlatılamayan inmeler olarak adlandırılmıştır Bu sınıflama ile ilk defa iskemik inmenin ana grupları belirli kriterler kullanılarak tariflenmiş ve patofizyoloji ile uyumlu bir sistem ortaya çıkarılmıştır (21).

Tablo 1: İskemik SVH Sınıflandırması (TOAST 1993).

1. Büyük arter ateroskleroza (emboli/trombüs)
2. Kardiyembolizm (yüksek-risk/orta-risk)
3. Küçük arter oklüzyonu (lakünler)
4. Diğer belirlenememiş nedenlere bağlı inme
5. Nedeni belirlenememiş inme

2.2.1.1. Büyük Damar Hastalığı

İskemik inme hastalarının %15-40'lık bölümü geniş arter aterosklerozuna bağlıdır. Ekstrakraniyal karotis, vertebral, subklavian, brakiosefalik arterler, intrakraniyal karotis, vertebral arterler, orta serebral arter, baziller arter, anterior ve posterior serebral arterler serebral sirkülasyonun büyük damarlarını oluştururlar. Büyük damar hastalıkları aterosklerotik ya da aterosklerotik olmayan hastalıklar olmak üzere iki ana başlıkta incelenir. Aterosklerotik olmayan hastalıklar içinde diseksiyonlar, Moyamoya hastalığı, serebral vazokonstriksiyon sendromları, enfeksiyöz ve kalıtsal nedenler yer alır. Aterosklerotik gruptaki hastalarda TOAST sınıflamasına göre; klinik ve görüntüleme ile ana beyin arterleri veya büyük kortikal dallarının birinde, ateroskleroza bağlı %50'nin üzerinde darlık veya tıkanma ile serebrovasküler olayın o arter sulama alanının ipsilateralinde olması gerekmektedir. Bu iskemi alt grubu özellikle ekstrakraniyal ve daha nadir olmak üzere intrakraniyal damarlarda ve bunların bifurkasyon bölgelerinde yıllar içerisinde gelişen aterom plaklarının stabilizasyonlarının bozulmasıyla ortaya çıkan trombozlarla ilgili olarak gelişir. Ortaya çıkan aterotrombotik lezyon damarın stenozu veya oklüzyonuna yol açtığı gibi hemodinamik mekanizmalarla, daha distal sınır bölgelerde (watershed alanlar) infarktlara da yol açabilmektedir. Ayrıca aterotrombotik lezyondan kopan trombosit, kolesterol gibi bazı parçaların arterden artere embolizm mekanizması ile distal arterleri tıkanması mümkündür (22).

Geniş arter aterosklerozuna bağlı inmelerde özgeçmişte sıklıkla 15 dakika ile 1 saat arasında süren geçici iskemik ataklar ve intermittant kladikasyon bulunur. Muayenede karotis üfürümü ve distal nabızların alınamaması ayırıcı tanıda önemlidir. Bilgisayarlı Beyin Tomografi (BBT) ve Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG)'de arter alanına veya dalına uyan 1.5 cm'den büyük infarktlar, hemodinamik mekanizmaya bağlı olanlarda ise sınır bölge infarktları göze çarpar (22).

2.2.1.2. Kardiyoembolizm

İskemik inmelerin %20-35'inden kardiyo-aortik embolizm sorumludur. Transtorasik/transözofageal ekokardiyografinin ve uzun dönem ritm monitörlerinin daha sık kullanılması ile daha sık saptanmaya başlamıştır. Bu gruptaki hastalarda kardiyak yapılardan

kaynaklanan bir emboliye bağlı arteriyel oklüzyon söz konusudur. Kesin ya da olası kardiyembolik inme tanısı koyabilmek için en az bir kardiyemboli kaynağı bulunması gerekmektedir. Ani başlangıç tipiktir ve maksimum defisit beş dakika gibi kısa sürede gelişir. Olguların %10'unda epileptik nöbetler kliniğe eşlik eder. BBT veya MRG'da bir arter sulama alanına uyan geniş kortikal infarktlar görülmekle birlikte değişik vasküler alanlarda birden fazla infarktın varlığı kardiyembolizm tanısında yol göstericidir. Kardiyak emboli kaynakları yüksek ve düşük dereceli olmak üzere iki farklı risk grubuna ayrılmıştır (Tablo 2). Düşük riskli nedenler, ancak diğer inme nedenlerinden biri olmadığı takdirde inme etyolojisinden sorumlu tutulmalıdır. Özellikle yüksek riskli kardiyembolik nedenler geniş infarktlara neden olmakta ve bu nedenle mortalite ve nörolojik iyileşme açısından inme nedenleri arasında en olumsuz prognozu taşımaktadırlar. Kardiyembolik inmeli hastaların yaklaşık %50'sinde atrial fibrilasyon, %20'sinde sol ventrikülde trombus, %15'inde kalp kapak hastalığı, %15'inde ise yapısal kapak hastalıkları veya tümörler sorumludur (22).

Tablo 2: Kardiyoembolik inme nedenleri

Yüksek Riskli Nedenler	Düşük Riskli Nedenler
Mekanik Protez Kapak	Mitral Valv Prolapsusu
Atriyal Fibrilasyonlu Mitral Stenoz	Mitral Annulus Kalsifikasyonu
Atriyal Fibrilasyon	Atriyal Fibrilasyonsuz Mitral Darlık
Sol Atriyum/Atriyal Apendiks Trombüsü	Sol Atriyal Türbülans
Hasta Sinüs Sendromu	Atriyal Septal Anevrizma
Yeni Miyokard İnfarktüsü (<4 hafta)	Patent Foramen Ovale
Sol Ventrikülde Trombüs	Trombüs İçermeyen Sol Ventriküler Anevrizma
Dilate Kardiyomyopati	Miyokard İnfarktüsü (>4 hafta <6ay)
Atriyal Miksoma	Nonbakteriel Trombüs
Enfektif Endokardit	Çıkan veya Arkus Aortada Kompleks Aterom Plağı
Ejeksiyon Fraksiyonu<%28 Olan Kronik Miyokard İnfarktüsü	

Kardiyoembolizme bağlı iskemik inmeler diğer inmelere göre daha şiddetli ve erken dönem rekürrens riski yüksek olduğu gibi uzun dönemde de rekürrens oranları ve mortalite oranları da daha yüksektir. Kardiyoembolik inmedem sonra ilk 3 ayda rekürrens görülme oranı %11,9 ilk 1,5 yılda ölüm oranı %50 olarak bildirilmiştir (23).

2.2.1.3. Küçük Damar Hastalığı (Lakün)

Genellikle hipertansiyon veya diyabeti olan yaşlı hastalarda ortaya çıkan bu inme tipi, tüm iskemik inmelerin %15-30'unu oluşturur (24). Laküner infarkt olarak da adlandırılan bu grup için karakteristik bulgular (saf motor, saf sensoriyel, sensorimotor inme, dizartri-beceriksiz el sendromu ve ataksik hemiparezi v.b.) ile nöroradyolojik olarak 2 cm'den küçük,

derin infarktların gözlenmesi tanı koydurur. Bu vakalarda, potansiyel kardiyembolizm veya aynı taraf arterde %50'den fazla darlığa yol açan büyük damar tıkanmaları bulunmamalıdır (25). Hiçbir nörolojik semptomu olmayan 40 yaş üzeri bireylerde MRG ile yapılmış çalışmalarda laküner infarktların çoğunun asemptomatik olduğu gösterilmiştir (24). Saf motor inme en fazla görülen laküner infarkt alt tipidir. Lezyon çoğunlukla capsula internadadır. Yüz, kol ve bacaklar eşit olarak tutulur. Saf sensoriyel tutulumda lezyon genellikle talamustadır. Hemiparazi yada hemihipoestezi tarzında saf sensoryel tutulum sözkonusudur. Duyu bozukluğu hem derin hemde yüzeysel duyuları kapsar. Sensorimotor tipte genellikle duyusal semptomlar daha öncedir ve motor semptomlar bundan sonra progresif olarak gelişir (26). Motor kayıp genellikle saf motor tiptekinden daha ağırdır. Ataksik hemiparazi piramidal ve serebellar bulguların aynı tarafta görülmesiyle karakterize bir sendromdur. Ataksi piramidal bulgulardan daha baskındır (24).

Laküner inmenin tanısında difüzyon MRG en iyi yöntemdir. Özgünlük ve hassasiyeti %100'e yakındır. Genel anlamda kortikal infarktlara göre daha iyi prognozludur. Çoğu vakada bu fonksiyonel kötüleşmenin nedeni tekrarlayan inmelerdir. Yaş, diyabet, başlangıçtaki inme şiddeti ve asemptomatik laküner lezyon ve lökoaraiozis varlığı kötü prognozla ilgili faktörlerdir (24).

2.2.1.4. Diğer Etiyolojik Sebepler

Tüm iskemik inme olgularının %5'i bu kategoriye girer. Bir infarktın bu kategoriye girebilmesi için büyük arter hastalığı ve kardiyembolizmin ekarte edilmesi gerekmektedir. Özellikle aterosklerotik ve kardiyak risk faktörü olmayan genç bireylerdeki inmelerden sorumludur. Bu kategoriye iskemi nedeni olarak ender görülen hastalıklar girmektedir. Vaskülitler, hematolojik bozukluklar, koagülopatiler, Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy (CADASIL) (27), Moyamoya hastalığı, fibromusküler displazi, diseksiyon ve daha çok sayıda hastalığın spesifik testlerle tanısının konmuş olması gerekmektedir. Bu süreçlere bağlı infarktlar küçük damar hastalığından kaynaklanan laküner infarktlardan radyolojik olarak ayıramayabilirler. Anjiyografi, leptomeningeal biopsi ve ayrıntılı hematolojik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik testlerle tanı konur (20).

2.2.1.5. Sebebi Belirlenemeyen Etyolojik Sebepler

İskemik inme hastalarının %15-40'ında bir inme nedeni ortaya konulamaz. Ayrıntılı tetkiklere rağmen etyolojisi bulunamayan serebral infarktlarla, yeterli tetkik edilemeyen vakalar bu grupta yer alır. Ayrıca yapılan tetkiklerde birden fazla etyolojik neden bulunan vakalar da bu grupta değerlendirilir. İnme nedeninin aydınlatılamamasında bir diğer etken etyolojik araştırmaların tam olarak yapılamamasıdır. Genel durum bozukluğu, hasta tercihi veya teknik nedenler ile tam bir kardiyak ve vasküler değerlendirilme yapılamayan ve bir inme nedeni bulunamayan hastalarda bu grupta sınıflandırılır (20).

2.3. İskemik İnmede Risk Faktörleri

Akut iskemik inme tedavisindeki gelişmelere rağmen inme nedenli ölümler birçok ülkede üçüncü sırada yer almakta ve inmeye bağlı sakatlıklar ise büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. İnme risk faktörlerinin epidemiyolojik çalışmalarla belirlenmesi ve önlenmesi önem kazanmaktadır. Akut iskemik inmede uygulanan tedavilerdeki ilerlemelere karşın; inmede en etkili yaklaşım birincil korunmadır. İnmeye yol açan risk faktörlerinin belirlenmesinde başlıca veriler çok merkezli, çok sayıda birey ile yapılmış, randomize epidemiyolojik çalışmalara dayanmaktadır (28). Bu çalışmalar ışığında risk faktörleri kontrol edildiği takdirde inme insidansının azalacağı ortaya konmuştur. İnmede risk faktörleri Tablo 3'de görülmektedir (29). İnmede risk faktörlerinin bir bölümü kalıtsal, bir bölümü ise çevreseldir. Kişinin yaşam stilinde risk faktörlerini etkilemektedir. Bu özellikler ele alındığında inme risk faktörleri; değiştirilemeyen ve değiştirilebilir risk faktörleri olarak sınıflandırılmaktadır. Değiştirilebilir risk faktörleri incelendiğinde; tedavi edildikleri takdirde inme insidansının azalacağı belirlenen risk faktörleri, keşinleşmiş risk faktörleri başlığı altında incelenirken; diğer risk faktörleri ile etkileşimleri nedeniyle daha az nedensellik gösteren risk faktörleri ise kesinleşmemiş risk faktörleri olarak ele alınmaktadır (29). İleri yaş ya da genetik yatkınlık gibi önlenemez durumlar bir yana bırakılırsa, bu risklerin tanınması, inme için öneminin belirlenmesi ve giderilmesi, akut inme sonucu gelişen beyin hasarını minimale indirme girişimlerinden doğal olarak daha kolay ve etkilidir (30).

Tablo 3: İnmede Risk Faktörleri

I. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri	
<ul style="list-style-type: none">• Yaş• Cins• Irk• Aile öyküsü• Ailede inme ya da geçici iskemik atak öyküsü	
II. Değiştirilebilen Risk Faktörleri	
1. Kesinleşmiş Risk Faktörleri	2. Kesinleşmemiş Risk Faktörleri
<ul style="list-style-type: none">• Hipertansiyon• Diyabetes Mellitus• Hiperinsülinemi• Kalp Hastalıkları• Hiperlipidemi• Sigara• Asemptomatik Karotis Stenozu• Orak Hücreli Anemi• Atrial Fibrilasyon• Obezite	<ul style="list-style-type: none">• Alkol Kullanımı• Metabolik Sendrom• Hiperhomosisteinemi• Uykusal Solunum Bozukluğu• Migren• İlaç Kullanımı ve Bağımlılığı• Hormon Tedavisi• Hiperkoagüabilite• İnflamasyon

Değiştirilemeyen risk faktörlerine sahip hastalar en yüksek riske sahiptirler. Hastalar çoğunlukla değiştirilebilir risk faktörlerinden korunma ile yarar görebilirler. Değiştirilemeyen risk faktörlerinde yaş ve cinsiyet incelendiğinde; yaş ilerledikçe inme riski artmaktadır ve 44 yaşından sonraki her on yılda risk iki katına çıkmaktadır; inme erkeklerde kadınlara göre daha fazla görülmekle birlikte 35-44 yaş ve 85 yaşının üzerindeki kadınlarda inme insidansı erkeklere göre daha yüksek orandadır. Değiştirilebilir risk faktörlerinden hipertansiyon (HT), diyabetes mellitus (DM), sigara ve hiperlipidemi en önemli grubu oluşturur. HT; yapılan çalışmalarda inme için yaştan sonra en önemli risk faktörüdür. Hem sistolik hem de diastolik kan basıncı yüksekliği ile koroner olay ve inme gelişme sıklığı arasında güçlü bir ilişki

bulunmaktadır. HT, endotel disfonksiyonu meydana getirerek ve endotelin lipoproteinlere geçirgenliğini arttırarak ateroskleroz oluşumuna katkıda bulunmaktadır (31). HT, büyük arterlerde tıkanma ve embolizmi kolaylaştırır; doğrudan obstruktif ateroskleroza neden olarak laküner infarkta yol açar, idiyopatik atriyal fibrilasyon (AF) için de bir risk faktörüdür. Yaşlı popülasyonda, izole sistolik hipertansiyonun düşürülmesinin inme korunmasında büyük yarar sağladığı gösterilmiştir (32). DM, beyin damar hastalıkları için önemli bir risk faktörüdür. DM'de inme insidansı 2.5-3.5 kat artmaktadır. DM'li hastalarda; ayrıca HT, hiperlipidemi ve obezitenin de sık görülmesi nedeniyle inme riski artmaktadır. DM, inme vakalarının mortalite ve morbiditesini de artırmaktadır. DM ile HT'un sıklıkla birlikte olması, DM'nin bağımsız bir risk faktörü olarak belirlenmesini zorlaştırmaktadır (33).

İskemik inmelerin %15–20'si kardiyak embolizme bağlanmaktadır. Orta yaş ve üzerinde en sık kardiyomembolik inme nedeni miyokard infarktüsü iken; ileri yaşta en sık neden nonvalvüler AF'dir. Yaş ilerledikçe AF prevalansı artmaktadır. AF için ortalama yaş 75 olarak kabul edilmekte ve 80 yaş üzeri yaşlı popülasyonda inmelerin %25'inde risk AF gösterilmektedir. Yalnızca AF'si olan hastalarda diğer risk faktörleri düzeltildikten sonra inme riski 4 kat artmaktadır. Yüksek kolesterol düzeyi ile yapılan çalışmalarda ise inmeye bağlı mortalite ile arasında direkt ilişki bulunduğu gösterilmiştir. Risk, kolesterol düzeyi 240–279 mg/dl arasında ise 1.8, 280mg/dl'nin üzerinde ise 2.6 kat artmaktadır (34).

Tüm inme risk faktörlerinin incelendiği geniş ölçekli çalışmalarda (Framingham, Cardiovascular Health Study, The Honolulu Heart Study) sigara içiminin iskemik inme için kuvvetli bir risk faktörü olduğu, diğer risk faktörlerine göre düzeltme yapıldıktan sonra riski yaklaşık 2 kat arttırdığı ortaya konulmuştur (35). Sigara aynı zamanda diğer inme risk faktörlerinin de etkisini potansiyelize edebilir. Sigara ve oral kontraseptifler arasında sinerjistik etki bulunmaktadır ve birlikte bulduklarında iskemik inme riski 7.2, hemorajik inme riski 3.7 katına çıkmaktadır (36). Dünya çapında yapılan en büyük inme risk analizi İNTERSTROKE çalışmasında; hipertansiyon, sigara, obezite, fiziksel aktivite ve beslenmeden oluşan 5 ortak risk faktörünün %80 oranında hem iskemik hem de hemorajik inme için global risk faktörü olduğu anlaşıldı. Bu beş risk faktörüne apolipoproteinleride eklersek oranın %90 çıktığı gözlemlendi (37).

2.4. İskemik İnmede Tanı

İnme hastasının ilk klinik değerlendirmesi, inme tipinin ve hastanın klinik durumunun belirlenmesi açısından kritik önem taşımaktadır. İnme, beyin fonksiyon bozukluğu semptom ve bulgularına neden olabilen diğer durumlardan (beyin tümörleri, subdural hematom gibi) ayırt edilmelidir.

İnmeli bir olguda ilk sorulacak soru; inmenin iskemik mi yoksa hemorajik mi olduğudur. Bu ayırım yapıldıktan sonra inme alt tipleri belirlenmelidir. İnmenin boyutunun belirlenmesinde klinik nörolojik bakı önemlidir ve sıklıkla inmenin doğasını belirleyebilir. İnmeye katkıda bulunabilen koagülasyon bozukluklarının da araştırılması gerekir (1).

2.4.1. Klinik Değerlendirme

İnme hastalarının değerlendirilmesinin ilk basamağı olayın öyküsünü almaktır. Hekim ilk semptomlar, başlangıç zamanı, süresi ve progresyonu ya da iyileşmenin bulunup bulunmadığından emin olmalıdır. Hasta uyaranlara yanıtızsızsa veya afazi nedeni ile konuşamıyorsa bir aile üyesi veya olayı gözleyen bir kişiden öykü alınmalıdır. Hekim öyküden vücudun bir tarafında zayıflık varlığını, konuşma zorluğunu, bilinç düzeyi değişikliğini, görme alanının bir tarafındaki veya bir gözdeki görme bozukluğunu, çift görme veya göz kayması, duyu değişikliği, denge kaybı, ekstremitelerde uyum bozukluğu, baş ağrısı veya baş dönmesi bulunup bulunmadığını belirleyebilir. Motor bakı her omuz, dirsek, el bileği, parmaklar, kalçalar, dizler, ayak bilekleri ve ayak parmaklarındaki her eklemin hareketinden sorumlu kas gruplarının, fleksiyonda ve ekstensiyonda gücü ve hareketliliği değerlendirilerek sürdürülür. Gevşeklik veya sertlik için kas tonusu test edilmelidir. İğne batması ve sıcaklık, titreşim, eklem pozisyonu duyusu değerlendirilmelidir. Derin tendon refleksi; refleks çekici ile uyarılarak incelenmelidir. Babinski refleksine bakılmalıdır (1).

Serebellar sistem muayenesi; hastaların burunlarına ve bakı yapan hekimin parmağına tekrar tekrar dokunması istenerek ve hastalardan topuklarını dizden ayağına doğru incik kemiğinin üzerinde, aşağı yukarı hareket ettirmesi istenerek yapılır. Hasta yürüyebiliyorsa yürüyüş de test edilmelidir. Geniş tabanlı yürüme spastik ve serebellar bozukluğu gösterir. Nörolojik öykü ve bakı anatomik lokalizasyonun ortaya konması ve inmenin olası

sebeplerinin belirlenmesi için sentezlenmelidir. Konuşmanın dışı vurumunda zorluk ve bir sağ hemiparazi genellikle frontal lob veya temporal lobları tutan bir sol serebral lezyon varlığını gösterir. Beyin kökünü tutan inmede genellikle alt motor nöron fasiyal zayıflığı ve göz dışı bakış zayıflığı ve ekstremitelerin karşı taraf hemiparazisi gibi lezyonun aynı taraf kranial sinir yetersizliklerinin eşlik ettiği çapraz bir sendrom oluşur (1).

Bir inmenin damarsal alanı genellikle klinik bakı ile belirlenir. Bacaklardan daha çok yüzü ve kolu tutan paralizi olan bir hastada genellikle orta serebral arter alanında bir lezyon vardır. Oysa koldan daha çok bacağı tutan zayıflığı olan bir hastada genellikle anterior serebral arter alanında; duylarda bozuklukla birlikte aynı taraf hemianopsisi olan bir hastada genellikle posterior serebral arter alanı ile ilgili ya da baziller bir lezyon vardır. Vertigo, nistagmus, yutma güçlüğü, ses kısıklığı aynı taraf horner sendromu, iğne batma duyusunun yüzün aynı tarafında ve vücudun ters tarafında azaldığı ve bazen aynı taraf ataksisi bulunan bir hastada genellikle o taraf vertebral arter veya posteriyor inferiyor serebellar arter alanında bir lezyon vardır (1).

İnmenin etyoloji ve şiddetinin belirlenmesi inme hastalarının uygun tedavisine karar verilmesinde kritik önemdedir. İnmenin şiddetinin ve beyin hasarının derecesinin Glaskow Koma Skalası (GKS) ve NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) (Tablo 5) kullanılarak değersel olarak belirlenmesi hem tedavi hem de hastanın prognozu hakkında değerli sonuçlar verir. İnme için tedavi edici madde ve yöntemlerle yapılan klinik araştırmaların çoğunda da bu skalalar kullanılır ve tedavi endikasyonları özellikle trombolitik tedavinin başlatılıp başlatılmayacağına karar verilirken, kısmen bu skalalara dayandırılır (30). Dolayısıyla bu skalaların kullanılması inme hastalarının ilk değerlendirilmesinde gittikçe daha da önem kazanmaktadır (1).

2.4.2. Laboratuvar İncelemesi

Hastaların uygun tedavisinin belirlenmesi için temel hematolojik ve serum biyokimyası testlerinin yapılması gereklidir (Tablo 4). Tam kan sayımı ile serebral doku hipoksisine katkıda bulunabilen anemi, polisitemi, orak hücre anemisi veya tüketim koagülopatisi gibi bir kan hastalığının olup olmadığı belirlenebilir. Hiperkoagülobilite veya trombotik trombositopenik purpura veya iskemik ve hemorajik inmelere yol açabilen idiyopatik

trombotik purpuranın belirlenmesi için trombosit sayımı gereklidir (39).

Tablo 4: İskemik İnmeden Şüphelenilen Hastalarda Önerilen Laboratuvar Testleri

Tanısal Testler
1. Tam Kan Sayımı
2. Sedimantasyon
3. Kan Glukoz Düzeyi
4. Serum Elektrolitleri (Mg ve Ca'da içermeli)
5. Serum Kreatinin Düzeyi
6. Protrombin, Parsiyel Tromboplastin Zamanı
7. Elektrokardiyografi
8. Akciğer Grafisi
9. İdrar Tetkiki
10. BBT veya MRG
11. Karotis Doppler Ultrasonografi
12. Holter Monitör
13. Transtorasik veya Özefageal Ekokardiyografi
14. BBT veya MRG Anjiyografi
15. Lomber Ponksiyon

Endokardit gibi enfeksiyöz etyolojilerin veya pnömoni gibi ikincil enfeksiyonların tanımlanmasına yardımcı olması ve lösemi gibi hematolojik kanserlerle ilişkili inmenin ekarte edilmesi için beyaz küre sayımı da önemlidir. Yüksekliğinde kanama kaynağını dışlamak ve antikoagülasyon veya trombolitik tedavi için bir temel değer elde etmek için protrobin zamanı ve kısmi tromboplastin zamanının ölçülmesi gereklidir. Kan yoğunluğunu artırabilen antikardiyolipin antikoru, protein C45, protein S46 ve fibrinojeni de içererek yapılan daha

detaylı koagülasyon incelemeleri ile özellikle genç inme hastalarında hiperkoagülabilité araştırılır (39).

Özellikle hiperglisemi ve hipoglisemi olmak üzere inmenin şiddetine katkıda bulunan metabolik bozuklukların tanımlanması için kimyasal kan analizleri yapılır. Fokal nörolojik bozukluklar gösteren diyabetiklerde kapiller kan şekeri ölçümü yapılması uygun olacaktır. Çünkü hem hipoglisemi hemde nonketotik hiperosmolar durum fokal nörolojik bozukluklarla kendini gösterebilir. Bu bozukluklar glikozun ayarlanmasıyla geri döner. Hiperglisemi iskemik inmenin sonlanımını olumsuz yönde etkileyebilir (40).

Hiponatremi serebral ödemi artırarak iskemik inmenin sonlanımını kötü yönde etkileyebilir. Kalsiyum ve potasyum anormallikleri iskemik beyin bölgelerinde yetersiz beslenmeye neden olan kalp ritim bozukluklarına katkıda bulunabilir. Karaciğer fonksiyon bozuklukları ve böbrek anormallikleri inmeli bir hastada bilinç düzeyini değiştirerek daha ileri komplikasyonlara yol açabilir. Yüksek kreatinin fosfokinaz düzeyi, eş zamanlı olarak miyokard infarktüsünü tetikleyebilir. Fakat uzun süre hareketsiz yatan hastalarda da serum kreatinin fosfokinaz yükselebilir veya doğrudan iskemiye bağlı olarak artabilir. İnmeye neden olabilen veya inmeden kaynaklanan ve yaşamı tehdit edici bir hal alabilen kalp ritim bozukluklarının tanımlanması için elektrokardiyografi önemlidir. Atriyal fibrilasyon serebral iskeminin en önemli risk faktörlerinden biridir. Bu nedenle inmeli hastaların yatırılarak, kardiyak monitörizasyon ile takibi gerekir (41).

2.4.3. Görüntüleme Yöntemleri

İnme hastalarında intrakraniyal kanamayı ekarte etmek için yapılması gereken ilk tetkik kontrastsız bilgisayarlı beyin tomografisidir. BBT yaygın kullanılan, kolay ulaşılan ve nispeten ucuz bir metoddur. İskemik inmenin erken tanısında kullanılan bir diğer yöntem ise manyetik rezonans görüntülemedir. MRG iskemik inme tanısında erken dönemlerden itibaren kullanılan sensitivitesi yüksek bir görüntüleme yöntemidir. MRG ve BBT'nin karşılaştırıldığı değişik çalışmalarda farklı olmasına rağmen; yapılan bir çalışmada iskemik inmede BBT sensitivitesi % 16, spesifitesi % 98; MRG sensitivitesi % 83, spesifitesi ise % 96 bulunmuştur (42).

İnme hastalarında etyoloji araştırılması ve tedavi planlanması için bazı durumlarda transkranial doppler ultrasonografi, digital subtraction anjiyografi, BBT anjiyografi veya MRG anjiyografi gibi anjiyografik tetkikler gerekli olabilir. Transkranial doppler ultrasonografi özellikle karotis tıkanıklığında kullanılsa da, yanlış pozitiflik görülebileceği bazı durumlarda non-invazif ve invazif anjiyografik tetkikler faydalı olabilir (43,44).

2.4.3.1. Bilgisayarlı Beyin Tomografisi

Akut inmede BBT tetkiki değerlendirilirken yanıtlanması gereken ilk soru; nörolojik problemin görülüp görülmediğidir. Erken dönemde iskemi dışında benzer klinik tabloya yol açabilecek hipertansif kanama, subdural hematoma ve benzeri bulgulara neden olabilecek yapısal lezyonların görülmesini; inmenin tümör, travma, apse gibi durumlardan ayırıcı tanısını sağlar. BBT iskemik inmenin ilk saatlerinde normaldir ve acil koşullarında bu dönemdeki amacı intraserebral kanama olasılığının ekarte edilmesidir. Yapılan bir çalışmada ise ilk 12 saatte çekilen BBT ile beyin infarktlarının %50'den fazlası görüntülenememiştir (45). Büyük infarktların erken döneminde BBT'de serebral ödem veya kitle etkisi gibi erken bulgular göze çarpabilir. Diğer erken infarkt bulguları; arterlerde hiperdens görünüm, parankimal hipodansite, sulkuslarda silinme, gri ve beyaz madde ayrımının kaybolmasıdır. BBT, laküner infarktların ve vertebobaziler sistem infarktlarının görüntülenmesinde yeterince başarılı değildir. İdeal şartlarda trombolitik tedavi verilen merkezlerde, BBT'nin hasta acil servise getirildikten sonraki ilk 30 dakika içinde çekilmesi gerekir (46).

2.4.3.2. Manyetik Rezonans ve Manyetik Rezonans Difüzyon Görüntüleme

Manyetik rezonans görüntüleme akut iskemik inmenin tanısının konmasında BBT'ye göre daha üstündür (42). İnmenin ilk saatlerinde çekilen MRG'de normal bulunabilir. İnmenin ilk dakikalardan itibaren görüntülenebilmesini sağlayan yeni MRG teknikleri geliştirilmiştir. Yeni MRG teknikleri ile (difüzyon, perfüzyon v.b.leri) beyin bölgelerinin metabolik durumu ve kanlanması hakkında bilgi edinilebilir ve iskemik bölgenin lokalizasyonu ve boyutları görüntülenmiş olur. Arka çukur yapıları, beyin sapındaki iskemik lezyonlar, laküner infarktlar bu inceleme ile kolaylıkla görüntülenebilir (4). Difüzyon görüntüleme su moleküllerinin mikroskobik rastgele hareketlerine hassas bir MRG tekniği olup su difüzyon hızlarını esas alarak karakterize eder. Bu sekans görüntüleme ile iskemik lezyon belirlemenin duyarlılığı

önemli ölçüde artmıştır (47).

2.4.4. Serebral İskemide Ayırıcı Tanı

Acil servislerde inme nedeniyle gelen hastalarda ilk saatlerde trombolitik tedavi verilmesiyle yüz güldürücü sonuçlar alınsa da inme ile karışabilen durumlarda trombolitik vermek hastaya faydalı olmadığı gibi ciddi morbidite ve mortaliteye neden olabilir (48). İskemik inme ayırıcı tanısında; demiyelizan hastalık (örneğin multipl skleroz), tümör, abse, ensefalit veya diğer enfeksiyonlar, metabolik bozukluklar (hiper-hipoglisemi, hiper-hipokalsemi, hiper-hiponatremi), postiktal defisit, travma (subdural hematoma, kontüzyon), migren gibi iskemik inme benzeri semptom verebilecek tanılar dışlanmalıdır. Ani gelişen nörolojik fonksiyon kaybı nedeniyle serebrovasküler hastalığın ayırıcı tanısında zorluk olmadığı düşünülür. İnmenin birincil tanısı nörolojik bakıya dayanır. Hasta ve/veya hastanın ailesinden öykü alınmasında zorluklar yaşanabilir (49). Öyküde semptomların travmasız damarsal kaynaklı olmasını düşündüren noktalar; fokal veya global nörolojik kaybın ani gelişmiş olması, semptomların 24 saatten uzun sürmesi veya ölümün 24 saatten önce olmasıdır. (50). Ayırıcı tanı hızla yapılmalıdır. Ani gelişen nörolojik bozukluğa yaklaşım, hasta veya gözlemleyen kişiden dikkatli öykü alma ile başlar. Hastaneye başvuru sırasındaki klinik tablo hastanın durumunu ve teşhisin ilk basamağını gösterir (51). Öykü ve nörolojik bakı inme olup olmadığı hakkında bilgi verir. Tam öykü alımı, laboratuvar testleri ile tanıyı daha da kesinleştirmeye yardımcı olur.

2.5. Serebral İskemide Skorlamalar

İnmenin etyoloji ve şiddetinin belirlenmesi inme hastalarının uygun tedavisine karar verilmesinde kritik önemdedir. İnmenin şiddetinin ve beyin hasarının derecesinin Glaskow Koma Skalası (GKS), NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) (Tablo 5) ve modifiye Rankin Skalası (mRS) kullanılarak değersel olarak belirlenmesi hem tedavi hem de hastanın prognozu hakkında değerli sonuçlar verir. İnme için tedavi edici madde ve yöntemlerle yapılan klinik araştırmaların çoğunda bu skalalar kullanılır ve tedavi endikasyonları özellikle trombolitik tedavinin başlatılıp başlatılmayacağına karar verilirken, kısmen bu skalalara dayandırılır (30). Dolayısıyla bu skalaların kullanılması inme hastalarının ilk değerlendirilmesinde gittikçe daha çok önem kazanmaktadır.

2.5.1. NIHSS (Ulusal Sağlık Enstitüsü İnme Skalası)

Klinik bulguların kantitatize edilmesinde Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün tanımladığı inme skalası Ulusal Sağlık Enstitüsü İnme Skalası (NIHSS) yaygın olarak tercih edilmektedir (5). Akut inme hastalarında trombolitik tedavi kararının verilmesi için gerekli olan fırsat penceresi oldukça dardır. Bu yüzden doktorlar arasında tanısal birliğe yardım etmek için ve 5-8 dakikada tamamlanan NIHSS dizayn edilmiştir (52). NIHSS'de toplam skor 0 ve 42 arasındadır; beş ana parametre değerlendirilerek karar verilir (Tablo 5). Bu 5 parametre; bilinç düzeyi, görsel değerlendirme, motor fonksiyonlar, duyu ve ihmal, serebellar fonksiyonlardır. NIHSS; inme hastalarındaki nörolojik defisitleri tanımlar ve komplikasyonların gelişme öngörüsü için prognostik değeri verir (53).

Tablo 5: NIHSS (Ulusal Sağlık Enstitüsü İnme Skalası)

<p>1.a Bilinç Düzeyi</p> <p>0=Uyanık, tepkiler canlı.</p> <p>1=Hafif uyarıya hemen cevap veriyor.</p> <p>2=Israrlı, güçlü veya ağırlı uyarıya cevap veriyor.</p> <p>3=Cevapsız veya sadece refleks cevabı var.</p>	<p>6. En İyi Motor Kol (Kol 90 derece tutulur)</p> <p>0=Kol 90 derecede 10 saniye tutulur.</p> <p>1=10 saniyeden daha az tutulur.</p> <p>2=Kolu 90 dereceye getiremez.</p> <p>3=Kol düşüyor, yer çekimini yenemez.</p> <p>4=Hiçbir hareket yok, tam pleji.</p>
<p>1.b Bilinç Düzeyi Sorgusu (Ay? Hastanın yaşı?)</p> <p>0=Her ikiside doğru.</p> <p>1=Biri doğru.</p> <p>2=İkiside yanlış ya da yanıt veremiyor.</p> <p>1.c Bilinç Düzeyi Komutları (Gözlerini aç/kapa, elini kapa)</p> <p>0=Her ikiside yapıyor.</p> <p>1=Birisini yapıyor.</p> <p>2=Hiçbirisini yapamıyor.</p>	<p>7. En İyi Motor Bacak (Bacak 30 derecede 5 saniye tutulur)</p> <p>0=Bacak 30 derecede 5 saniye tutulur.</p> <p>1=Bacak 5 saniyeden daha az tutulur.</p> <p>2=Bacak yer çekimini yenmekte zorlanır. 30 dereceye getirilemez.</p> <p>3=Yer çekimini yenemez.</p> <p>4=Hiçbir hareket yok, tam pleji.</p>

<p>2.En İyi Dil (Resim-cisim adlandırır)</p> <p>0=Normal.</p> <p>1=Hafif adlandırma hataları ve anlatımda bozukluk vardır.</p> <p>2=Sessiz veya global afazik.</p>	<p>8.Ekstremite Ataksisi (Parmak-burun, topuk-incik testi)</p> <p>0=Yok.</p> <p>1=Bir ekstremitede var.</p> <p>2=İki ekstremitede var.</p>
<p>3.Görme Alanı (Her iki alanda test edilir)</p> <p>0=Visüel kayıp yok.</p> <p>1=Parsiyel hemianopsi.</p> <p>2=Komplet hemianopsi.</p> <p>3=Bilateral hemianopsi (Kortikal körlük dahil).</p>	<p>9.Fasiyal Parazi</p> <p>0=Normal.</p> <p>1=Hafif paralizi, nazolabial sulkus silik.</p> <p>2=Alt yüzde parsiyel paralizi (tama yakın).</p> <p>3=Tam fasiyal paralizi.</p>
<p>4.Bakış (Sadece horizontal göz hareketleri)</p> <p>0=Normal.</p> <p>1=Parsiyel bakış paralizisi.</p> <p>2=Zorlu deviyasyon, total bakış paralizisi.</p>	<p>10.Duyusal (Yüz, kol, bacak, gövde, iğne ucuyla iki taraflı test edilir)</p> <p>0=Duyu kaybı yok.</p> <p>1=Orta derecede duyu kaybı.</p> <p>2=Ciddi veya tam duyu kaybı.</p>
<p>5.Dizartri</p> <p>0=Normal.</p> <p>1=Kelimeleri hafif karıştırır, anlaşılabilir.</p> <p>2=Anlaşılmaz konuşma.</p>	<p>11. İhmal</p> <p>0=Yok.</p> <p>1=Görsel, işitsel, dokusal söndürme fenomeni.</p> <p>2=Şiddetli veya total duyu kaybı, dokunulduğunun farkında değil.</p>

2.5.2. Modifiye Rankin Skalası

Modifiye Rankin Skalası (mRS) spesifik görevlerin gerçekleştirilmesinden ziyade bağımsızlığı değerlendirmek üzere geliştirilmiştir. Böylelikle nörolojik defisite karşı gelişen mental ve fiziksel adaptasyonlar da değerlendirilmiş olmaktadır. Hastanın inme öncesindeki

aktivitelerin tümünü yapıp yapamadığı da değerlendirme kapsamındadır (54). MRS inmenin hastaların aktivitelerine ve katılımına etkisini kolay ve hızlı bir şekilde değerlendirmektedir (55).

Skalanın evreleri şu şekilde tanımlanmaktadır (Tablo 6); 0: Semptom yok; 1: Semptomlara rağmen belirgin yetersizlik yok; her zamanki görevleri ve aktiviteleri yerine getirebilir; 2: Hafif yetersizlik; önceki aktivitelerin tümünü yerine getiremez, ancak yardım almadan kendi işini görebilir; 3: Orta yetersizlik; bir miktar yardıma ihtiyacı olabilir, ancak yardımsız yürüyebilir; 4: Orta ağır yetersizlik; yardımsız yürüyemez, yardım almadan kendi ihtiyaçlarını gideremez; 5: Ağır yetersizlik; yatağa bağımlı, inkontinan, sürekli bakım ihtiyacı vardır; 6: ölüm (56). Bilişsel durum, lisan, görsel fonksiyon, duygusal bozukluklar, ağır yetersizliğe neden olabilecek diğer nedenlerin değerlendirilmemesi ve akut dönemde hastaların skorlarının kötü olması kısıtlılıkları arasındadır.

Tablo 6: Modifiye Rankin Skalası

Modifiye Rankin Skalası
0 : Hiç semptom yok.
1: Belirgin sakatlık yok, semptomlara rağmen hasta günlük aktivitelerini ve görevlerini yerine getirebiliyor.
2: Hafif sakatlık; geçmişte yaptığı bütün olağan görev ve aktiviteleri yerine getiremiyor ama yardım almaksızın kendi işlerini yapabiliyor.
3: Orta derecede sakatlık; kendi işlerini görmek için kısmen yardıma ihtiyacı var, ama kendi başına yardımsız yürüyebiliyor.
4: Ağır sakatlık; yardımsız yürüyemiyor ve yardımsız bedensel ihtiyaçlarını karşılayamıyor.
5: Çok ağır sakatlık; yatağa bağımlı, inkontinan ve devamlı bakıma ve dikkate muhtaç.
6: Ölüm.

2.6. Serebral İskemide Tedavi

İskemik inmenin tedavisinde amaç; hasarlı beyin dokusunu en az düzeye indirmek, oluşabilecek ikincil hasarları engellemektir. Ayrıca akut dönemde oluşabilecek komplikasyonların önüne geçmekte tedavinin diğer amacıdır. Antiagregan, antikoagülan, trombolitik, antiödem ve nöroprotektif tedaviler bu yaklaşımların ana başlıklarını oluşturmaktadır (57).

Akut iskemik inmenin başvuru anında en önemli tedavi yaklaşımı rekanalizasyona yönelik uygulamalar olmalıdır. Rekanalizasyon intravenöz trombolitik ajanlar, intraarteryel trombolitik ajanlar veya intraarteryel tromboliz yöntemleri ile tıkaçıcı damarın açılmasına yönelik tedavi yöntemlerini kapsar (5).

2.6.1. Trombolitik Tedavi

Intravenöz trombolitik tedavi ile amaç sistemik fibrinolitik ajanlar kullanılarak serebral damarlarda tıkanıklığa yol açmış olan pıhtının eritilerek rekanalizasyonunun ve reperfüzyonunun sağlanmasıdır. Akut iskemik inmede en yüz güldürücü tedavi trombolitik tedavidir. Trombolitik tedavide kullanılan ajan doku (tissue) plazminojen aktivatörüdür (tPA). NINDS, ECASS ve ATLANTİS çalışmalarının verileri değerlendirildiğinde; intravenöz (iv)-rtPA tedavisi, semptom başlangıcından sonraki ilk 3 saat içerisinde tedaviye başlanabilen ve kontraendikasyonu bulunmayan tüm iskemik hastalara önerilmektedir (Tablo 7). Ülkemizde bu ilaç 18 ve 80 yaş arasındaki hastalar için ruhsatlıdır. Semptom başlangıcından sonra ilk 3 saat içerisinde başvuran tüm inme hastaları trombolitik tedavi yönünden değerlendirilmelidir. (5).

TPA damar içindeki pıhtıyı eriterek damar tıkanıklığını ortadan kaldıran bir ajandır. TPA tedavisi hastanın kilosuna göre 0.9 mg/kg dozunda uygulanır. Maksimum 90 mg verilebilir. Hesaplanan dozun %10'luk kısmı bolus uygulanır, kalan % 90'luk kısmı ise 60 dakikada infüzyonla verilir. (53).

Uygulama esnasında 15 dakikada bir nörolojik gözlem, kan basıncı, nabız ve pulse oksimetre takibi yapılmalıdır. Trombolitik tedavi uygulanan; her akut iskemik inme hastası en azından tedavi sonrası 24 saat boyunca yoğun bakım ünitesinde takip edilmelidir. Bu

dönemde saatlik nörolojik muayene takibi yapılmalıdır. Kan basıncı, vücut sıcaklığı, nabız ve solunum sayısı ilk iki saat 15 dakikada bir, sonra altıncı saate kadar 30 dakikada bir ve kalan dönemde saatte bir olarak ölçülür. Kan basıncı yüksekliği, bu dönemde rekanalizasyon sağlanıp sağlanmamış olması ve klinik durumda görülen değişikliklere göre farklılık göstermekle birlikte son derece kritiktir (53).



Tablo 7: İV Trombolitik Tedavi Kontraendikasyonları

Kesin Kontraendikasyonlar
<ol style="list-style-type: none">1. BBT’de hemoraji veya tam yerleşmemiş infarkt varlığı.2. Kanama riski fazla olan veya inme dışı semptomatik beyin lezyonları (tümör, abse, AVM, anevrizma, kontüzyon) varlığı.3. Bilinen ve kesin tanı konulmuş bakteriyel endokardit varlığı.4. İskemik atak semptomlarının infüzyon başlatılmasından 3 saatten daha uzun süre önce ortaya çıkması ya da semptomların ortaya çıkış zamanının bilinmediği durumlar.
Göreceli Kontraendikasyonlar
<ol style="list-style-type: none">1. Hafif dereceli; uzun dönemde sakatlığa yol açmayabileceği düşünülen defisit (<6 NIHSS).2. Nörolojik defisiti belirgin düzelme gösteren hastalar (NIHSS ile 4<).3. Son 3 ayda içinde bariz travma öyküsü.4. Son 10 gün içinde göğüs kompresyonu uygulanan kardiyopulmoner resüsitasyon öyküsü.5. Son 3ay içinde inme öyküsü.6. İntrakraniyal kanama öyküsü.7. Geçirilmiş subaraknoid kanama veya düşündürülen semptomların bulunması.8. Son 14 gün içinde majör cerrahi öyküsü.9. Son 10 gün içinde minör cerrahi (böbrek veya karaciğer biopsisi, torasentez, ve LP) öyküsü.10. Kompres edilemeyecek bölgelerde son 14 gün içinde yapılan arteriyel ponksiyon öyküsü.11. Hamile (post partum 10. Gün dahil) ve emziren kadınlar.12. Bakteriyel endokardit şüphesi.13. Son 21 gün içinde gastrointestinal, genitoüriner, veya respiratuar kanama öyküsü.14. Bilinen kanama diatezi varlığı.15. Diğer nedenlere bağlı olarak yaşam beklentisi 1yıl< olduğu tahmin edilen hastalar.16. Periton diyalizi ve hemodiyaliz hastaları.17. Geliş aPTT>40 sn ve trombosit sayımı<100.000/cc.18. Oral antikoagülan alan veya alamayanlarda geliş INR>1,7(INR yok ise PT>15).19. Sistoloik kan basıncı >185mmHg ve/veya diastolik kan basıncı>110mmHg olması.20. İnme ile eş zamanlı nöbet olması.21. Glukoz>400mg/dl veya <50mg/dl.22. Klinik olarak (NIHSS>25) ya da görüntüleme teknikleriyle değerlendirildiğinde şiddetli inme (>1/3 hemisfer).23. Hemorajik oftalmik tablolar.24. Santral Sinir Sistemi harabiyeti(neoplazm,anevrizma,intrakraniyal veya omurilik ameliyatı).25. Önceden geçirilmiş inme ve diabetes mellitus kombinasyonu.

2.6.2. Antiagregan Tedavi

Akut iskemik inmede üzerinde en çok araştırma yapılmış antiagregan ajan aspirindir. Tiklopidin, klopidoğrel, dipiridamol ve glikoprotein IIb/IIIa antogonistleri ile akut dönemde tedavi konusunda yeterli bilgi henüz mevcut değildir. Akut iskemik inme olgularında belirgin sakınca yoksa ve BBT ile hemorajik inme dışlanmışsa, aspirinin bütün hastalara rutin başlanması gerektiği ileri sürülmüştür. Akut iskemik inme kılavuzlarında bu doğrultuda aspirin kullanılmasını önermektedir (58,59).

2.6.3. Antikoagölan Tedavi

Akut iskemik inmelerde kullanılan tedavi seçeneği olan antikoagölan tedavinin etkinliğini kanıtlayan bir çalışma henüz yapılmamıştır. Heparin tedavisinin iskemik inmelerde ilerlemeyi engellediği, embolik kökenli inmelerde tekrarlayan embolileri azalttığı ve ileri derecede atesklerotik büyük damarlarda tıkanıklığı önlemede etkin olduğu düşünölmekle birlikte, literatürde bunu kanıtlayan çalışmalar yoktur.

2.6.4. Girişimsel Tedavi Yöntemleri

2.6.4.1. İntraarteriyel Trombolitik (endovasköler) Tedavi

Akut inmede tedavinin amacı oklude damarın hızla revaskölarize edilmesidir. Tedavide hedef iskemik kordan farklı olarak potansiyel kurtarılabılır alan olan iskemik penumbranın kurtarılması, böylece infarkt alan volümünün artışının önüne geçilmesidir. İntravenöz trombolitik tedavi (iv rtPA) akut iskemik inme tedavisinde standart tedavidir. Fakat proksimal damar oklüzyonu saptanan ve iv rtPA uygulanan hastalarda rekanalizasyon oranları distal internal karotis arter için %5-9, orta serebral arter M1 segmenti için %30-40 düzeylerinde bildirilmektedir (60, 61).

Düşük rekanalizasyon yüzdeleri nedeniyle proksimal damar oklüzyonu saptanan akut inme hastalarında intraarteriyel tedavi seçenekleri tedavi stratejimizde yer almalıdır. Günümüzde halen intraarteriyel revaskölarizasyon cihazlarının, akut iskemik inme hastalarında ilk 4,5 saat içinde intravenöz trombolitik tedaviye kıyasla daha üstün klinik gidiş sonuçları verdiğini gösteren çalışma yoktur (62).

Akut iskemik inmede kullanılan intraarteryel tromboliz tedavi yöntemleri lokal trombolitik uygulaması ve ilaç kullanılmadan gerçekleştirilen mekanik tromboliz/trombektomi olarak iki ana gruba ayrılır. Bu iki yöntem klinik pratikte genellikle kombine edilerek kullanılmaktadır. Tedavide kullanılan endovasküler mekanik trombolitik yöntemlerin hiçbirinin yararları kontrollü randomize çalışmalarda değerlendirilmediğinden ancak seçilmiş vakalarda kurtarma tedavisi olarak kullanılmaları gerekmektedir (5).

Proksimal damar oklüzyonu saptanan akut inme hastalarında intraarteryel tedavi seçenekleri mutlaka tedavi stratejimizde yer almalıdır. İntraarteryel trombolitik tedavi ile rekanalizasyon, iv-rtPA ile karşılaştırıldığında daha yüksek oranlarda sağlanabilmektedir (2).

Ancak büyük trombus boyutu sonucu trombolizise oluşan direnç ve bu sırada kaybedilen zaman nedeni ile daha hızlı ve başarılı rekanalizasyon sağlamak için çeşitli mekanik trombektomi cihazları geliştirilmektedir. MERCI (Mechanical Embolus Removal in Cerebral Embolism) çalışmasında, bir intrakraniyal arterden trombus çıkarıcı alet değerlendirilmiştir. İnme semptomlarının başlangıcından sonraki ilk 8 saat içinde, uygun şekilde yerleştirilen alet ile, hastaların %48'inde rekanalizasyon sağlanmıştır (63).

2.7. Serebral İskemi Komplikasyonları

İnme geçiren hastalarda, akut ve kronik dönemde birçok komplikasyon gelişebilir (Tablo 8). Gelişen komplikasyonlar, hem inmenin öldürücülüğünü artırır hem de rehabilitasyonun gecikmesine ve hastalarda daha çok sakatlık gelişmesine neden olmaktadır. İnme sonrası ilk günlerde görülen ölümler genellikle beyin hasarı sonucu gelişirken, olayı takip eden haftalarda olan ölümler genellikle inme komplikasyonları sonucu meydana gelir. Bu nedenle inme sonrası gelişebilecek komplikasyonların neler olduğunun bilinmesi ve mümkünse önlenmesi, gelişen komplikasyonların erken dönemde tanınması ve tedavi edilmesi için önemlidir (64). Silver ve arkadaşları yapmış oldukları 1000 vakalık bir iskemik inme serisinde ilk haftada ölen hastaların çoğunun beyin ödemi sonucu öldüğünü, 2. ve 3. haftalarda ise tıbbi komplikasyonlar sonucu öldüğünü saptamışlardır (64).

Tablo 8: İskemik İnme Sonrası Gelişebilecek Komplikasyonlar

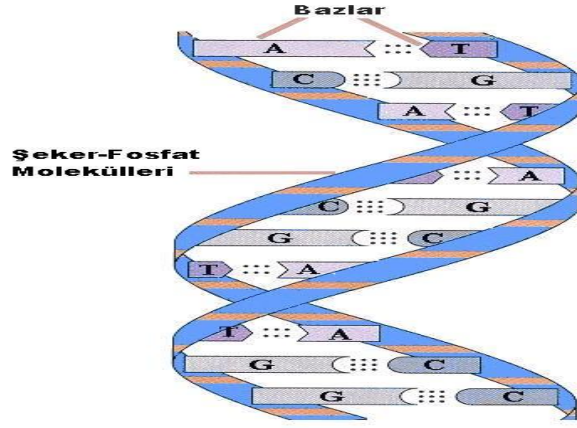
Nörolojik ve Psikiyatrik Komplikasyonlar	Medikal Komplikasyonlar
<ul style="list-style-type: none">• Beyin ödemi• Transtentoriyal herniasyon• Tekrarlayan inme• Epileptik nöbet• Hidrosefali• Uygunsuz ADH salınımı• Konfüzyon• Depresyon• Anksiyete bozukluğu• Baş ağrısı	<ul style="list-style-type: none">• Kardiyo-vasküler komplikasyonlar• Pulmoner komplikasyonlar• Metabolik komplikasyonlar• Yüksek ateş• Enfeksiyonlar• Gastrointestinal kanama• Venöz tromboembolizm• Bası yaraları• Düşmeler• Malnütrisyon• Ağrı• İdrar inkontinansı• Fekal inkontinans ve konstipasyon• Bulantı-kusma• Spastisite ve kontraktürler

2.8. DNA Hasarı

Endojen ve ekzojen faktörlerin etkisiyle genetik materyalde meydana gelen değişiklikler “DNA Hasarı” olarak adlandırılır (65).

2.8.1. DNA’nın Yapısı ve Fonksiyonu

DNA, canlılarda genetik bilginin saklanması, replikasyon yoluyla nesilden nesile aktarılmasından, genetik çeşitlilikten ve aynı zamanda canlılar için büyük önem taşıyan protein sentezinden sorumlu olan temel nükleik asittir. Temel yapıtaşı, nükleotidlerdir. Nükleotidler karşılıklı iki zincir şeklinde bir araya gelerek DNA çift sarmal yapısını oluştururlar (Şekil 1).



Şekil 1: DNA çift sarmal yapısı

2.8.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri

DNA hasarı, hücrenin yaşamı boyunca yaygın olarak görülen ve mutasyon, kanser, yaşlanma ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilen bir olaydır. DNA, yaşam boyunca endojen hücrel metabolitler ve ekzojen ajanlar tarafından sürekli olarak değişimlere maruz kalır. Ekzojen faktörler; güneşten gelen ultraviyole ışınlar, iyonize radyasyon, sigara, parasetamol gibi bazı ilaç intoksikasyonları, pestisidler, mantar kaynaklı aflatoksinler, bazı kemoterapi ilaçları (sisplatin, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin v.b.leri), demir, bakır, nikel, krom, civa gibi bazı metallerdir.

Endojen faktörler olarak ise; oksidatif metabolizmasını, DNA'nın spontan değişikliklerini, immünolojik çeşitliliği oluşturan V(D)J rekombinasyon mekanizmasını (antijen tanıma bölgelerini kodlayan ekson V, D ve J şeklinde üç segmentten oluşur ve bu segmentlerin birçoğu farklı kombinasyonlarla bir araya gelebilir) verebiliriz (66).

2.8.3. DNA Hasarı Tipleri

Mutasyonlar genetik materyaldeki kalıtsal değişikliklerdir. Bu değişiklikler gamet hücrelerinde ya da somatik hücrelerde olabilir. Gamet hücrelerindeki, sonraki nesillere aktarıldığı için, somatik hücrelerdeki, kansere neden olabildiği için önemlidir. Mutasyonlar tanımlanırken neden olduğu değişikliklere göre kromozomal ve tek gen mutasyonları, sonuçlarına göre; sessiz mutasyon, nötral mutasyon, yanlış anlamlı ve anlamsız mutasyon

olarak ayrılır. Oluş nedenlerine göre spontan ve indüklenmiş mutasyonlar olarak ikiye ayrılır.

2.8.3.1. Spontan Mutasyonlar

Hücredeki normal fonksiyonlar sonucu oluşan ve genellikle bir ekzojen veya mutajenle etkileşimle ortaya çıkan mutasyonlardır.

2.8.3.1.1. DNA Replikasyon Hataları

DNA replikasyonunda hatalı eşleşme, baz giriş ve çıkışına göre mutasyonlar olabilir. DNA polimeraz enzimi replikasyondan sorumlu olup, doğru çalışma oranı tiplerine göre değişiklik gösterir. Doğruluk oranını etkileyen en önemli faktör, hata okuma (proofreading) mekanizmasının aktivitesidir. Bu aktivite, replikasyon sırasında mutasyon oluşumunu engeller.

2.8.3.1.2. Deaminasyon

Adenin (A) ve Sitozin (C)'deki bir amino grubu keto grubuna dönüştürülür. HNO₂ (nitroz oksit) deaminasyon yoluyla Sitozin (C)→Urasil (U), Adenin (A)→Hipoksantine dönüşür. Hipoksantin sitozinle yanlış eşleşir. Deaminasyon, DNA'da normalde bulunmaması gereken urasilin fark edilmesiyle onarılır. Eğer fark edilip onarılmazsa Urasilin karşısına Adenin gelmesi sonucu C:G*T:A değişimi ve transisyonel mutasyon oluşur.

2.8.3.1.3. Depürinasyon

Pürin bazları ile deoksiriboz arasındaki bağın kopmasından kaynaklanır. Pürin eklenemez veya buraya mutant bir baz eklenir.

2.8.3.1.4. Alkilasyon

Bazlara, alkil grubunun (metil veya etil) eklenmesi işlemidir. Alkilasyon, bazen replikasyonda yanlış eşleşmelere neden olur bazen de polimerazı durdurur. Nitrozaminler, etilmetilsülfonat ve N-metil-N1-nitrosoguanidin en önemli alkilleyici ajanlardır. En önemli alkilasyon bölgesi, guaninin 6. karbon atomundaki oksijendir. Alkilasyon sonucu oluşan O6-etilguanin (veya metil guanin) adeninin baz analogu gibi davranarak timinle eşleşir. Sonuç

olarak DNA replike olduğunda G:C yerine A:T geçer. 06-Metilguanin, alkilleyici ajan varlığında oluşur ve mutajeniktir. 06-metilguanin-DNA metil transferaz enzimi, DNA'da yanlış metillenen bazların CH₃ gruplarını kendi sistein rezidülerine transfer ederek normal Guanin oluşumunu sağlar. Dolayısıyla enzim aktivitesi kadar enzim sayısı da önemlidir.

2.8.3.1.5. T-T ve T-C Dimerleri Oluşumu

Ultraviyole C ve Ultraviyole B ışınları DNA tarafından kuvvetli bir şekilde absorbe edilir, DNA ile reaksiyona girerek pirimidin dimerleri (T-T, T-C) oluştururlar. Bunlar replikasyon ve transkripsiyonu bloke ederler. Melanom oluşumunda rol oynarlar.

2.8.3.1.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu

DNA'daki zararın potansiyel olarak en tehlikeli tipi onarım için bozulmamış kalıp bir DNA ipliği bırakmayacak şekilde çift sarmalın her iki ipliğinin de kırıldığı durumdur. Bu tip kırıklar iyonize radyasyon, oksitleyici ajanlar, eşleşme hataları ve hücredeki bazı metabolizma ürünlerinin etkisi sonucu ortaya çıkar. Eğer bu bölgeler onarılmadan bırakılırsa kromozomların hızlı bir şekilde daha küçük parçalara ayrılmasına neden olur.

2.8.3.1.7. Oksidatif Hasar

Serbest radikaller, endojen ve ekzojen faktörlere bağlı olarak oluşurlar. Kararsız moleküller olan serbest radikaller, DNA ile kolayca reaksiyona girerek hasara yol açarlar. En önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Hidroksil radikalleri; bazlar ve deoksiriboz ile kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçip DNA'ya ulaşır ve hasar oluşturur. Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur.

2.8.3.2. İndüklenmiş Mutasyonlar

Mutasyonlar, bazı ajanlar veya bileşikler varlığında artarsa buna indüklenmiş mutasyon denir. Bu ajanlar fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlardır. Isı, radyasyon, kanser tedavisinde kullanılan ajanlar ve aflatoksin mutasyon oluşumuna neden olurlar.

2.8.4. DNA Onarım Mekanizmaları

DNA'da hasar meydana geldiği zaman hücre, bu hasarlara karşı farklı onarım mekanizmalarını aktifleştirmektedir. Ağır hasarlarda hücre, apoptoz yoluna girerek ölüme gider veya onarım mekanizmalarını kullanarak hasarlı bölgeleri onarmaya çalışır. Eğer onarım mekanizmaları hasarı düzeltemezse hücrede genom kararsızlığı meydana gelir bu da kanser, yaşlanma veya genetik hastalıklara yol açar (65, 67). DNA onarım mekanizmalarından sorumlu 130 gen ve bu genlerin kodladığı proteinler tanımlanmıştır (68, 69, 70, 71) :

a. DNA onarımında sinyal iletimi ve onarımın düzenlenmesi ile ilgili genler.

b. Hatalı eşleşme onarımı, baz çıkarma onarımı ve nükleotid çıkarma onarımı ile ilgili genler.

2.8.4.1. Direkt Tamir veya Hasarın Geri Döndürülmesi

A. Fotoreaktivasyon

Ultraviyole ışınların meydana getirdiği DNA hasarları, mavi spektrum (300-500) içeren görünür ışığa maruz kaldığında aktifleşen fotolizaz enzimi tarafından eski biçimine döndürülür. Burdaki mekanizma, ultraviyole ışınların etkisiyle oluşan pirimidin dimerlerinin fotolizaz enzimi ile yok edilmesidir. Bu enzim ökaryot canlılarda yoktur.

B. O-6-Metilguanin Onarımı

O-6-metilguanin, guanin'in O-6 pozisyonundaki alkilasyonu (metilasyonu) ile oluşur. Yani alkilleyici ajanın etkisiyle meydana gelir. Hücrelerde DNA tamir proteini olan O-6-metilguanin-DNA metil transferaz enzimi, guanin bazındaki yanlış alkilasyonu geri çevirerek normal guanin oluşumunu sağlar (72, 73). Ancak bu enzim görevini bitirdikten sonra irreversibl olarak baskılanır. Dolayısıyla enzimin aktivasyonu kadar sayısı da önemlidir.

C. Basit Tek Zincir Kırıklarının Ligasyonu

X-Ray veya peroksitler gibi bazı ajanlar DNA zincirinde basit kırıklara neden olarak DNA hasarı oluştururlar. Bu basit kırıklar DNA Ligaz enzimi tarafından tamir edilirler. Söz

konusu hasar, DNA Ligaz enziminin, 5'fosfat grubu ile 3'OH grubu arasında fosfodiester bağı oluşturmasıyla onarılır (74, 75, 76).

2.8.4.2. . Eksizyon Onarımı

En önemli onarım mekanizmalarından biridir. 3 aşamadan oluşur:

1. Nükleaz enzimi tarafından, oluşan hasar veya hata tanınır ve kesilip çıkarılır.
2. DNA polimeraz enzimi, oluşan boşluğu doğru bazlarla doldurur.
3. DNA ligaz enzimi, ligasyonla boşluğu tamamen kapatır (69, 71).

A. Baz Eksizyon Onarımı

Yanlış yerleştirilmiş veya hasarlı bazları uzaklaştırmak için kullanılan tamir sistemidir. 3 basamaktan oluşur (77, 78.79).

1. Yanlış bazın uygun bir DNA N-glikozilaz tarafından uzaklaştırılması ve bir AP (Apürinik/ Apirimidinik) bölge oluşması. AP bölgeleri spontan olarak kaybolan ya da glikozilaz etkisiyle uzaklaştırılan DNA bölgeleridir. Bir memeli hücresi günde 10000 pürin ve 500 pirimidin kaybeder.

2. Hasarlı DNA'ya AP bölgesinin 5' ucuna doğru AP endonükleaz tarafından çentik atılması ve AP bölgesine komşu bir 3'-OH ucu oluşturulması.

3. AP bölgesinin kesilip çıkarılarak (excision) uzaklaştırılması ve DNA polimeraz tarafından 3'-OH ucunun uzatılması.

İnsan hücrelerinde çok sayıda DNA N-glikozilaz tanımlanmıştır. DNA N-glikozilaz, DNA sarmalı üzerinde hatalı eşleşmeden kaynaklanan bükülmüş yapıyı tanır, baz ve deoksiriboz arasındaki N-glikozidik bağı hidroliz ederler. Ayrıca glikozilazlar bazların yüksek afinite gösterdiği bağlanma bölgelerine sahiptirler. Bu iki etken birleşince yanlış eşleşen bazın DNA çift sarmalından çıkarılması kolaylaşır. DNA N-glikozilazlar ayrıca AP liyaz aktivitesine sahiptirler. Bu şekilde AP bölgedeki 3'-OH ucunda DNA omurgasını keserler. Bir sonraki adımda AP endonükleazları 5' fosfodiester bağı hidroliz ederler ve uygun nüklotidin yer alması için abazik deoksiribozu uzaklaştırırlar. Son basamakta, DNA polimeraz (polimeraz-β)

tarafından doğru nükleotidin yerleştirilmesi ve zincirin ligasyonu ile onarım tamamlanır (77).

B. Nükleotid Çıkarma Onarımı

Birçok farklı hasarı tanıyabilen, en etkili onarım mekanizmasıdır (80). Hasarın tanınması, protein kompleksinin hasarlı bölgeye bağlanması, yaklaşık 24-32 nükleotid uzunluğunda bir fragman içinde bırakacak şekilde lezyonun her iki tarafından hasarlı zincirin kesilmesi (insizyon), hasarı içeren oligonükleotidin uzaklaştırılması (degradasyon) , DNA sarmalı üzerinde meydana gelen boşluğun DNA polimeraz tarafından doldurulması (polimerizasyon) ve ligasyon aşamalarından oluşur (77). Nükleotid çıkarma onarımındaki bozukluk otozomal resesif geçişli 3 sendroma neden olur (65) :

1. Kseroderma Pigmentoza
2. Cockayne Sendromu
3. Trikotiyodistrofi.

C. Yanlış Eşleşme Onarımı

DNA replikasyonu sırasında oluşan ve çift sarmalda anormal boyutlara neden olan normal bazların hatalı eşleşmelerini düzeltir (77). Yanlış eşleşme onarım sistemi, küçük tek zincir DNA halkalarının ve yanlış eşleşmenin replikasyon sonrası tamirini sağlar (81). Yanlış eşleşme tamir mekanizmasındaki bozukluğun, non-polipozal kolon kanserine yatkınlığı arttırdığı görülmüştür (77, 82).

2.8.4.3. Replikasyon Sonrası Onarım

DNA tamir mekanizmaları ile onarılamayan DNA hasarı, replikasyondan sonra bu onarım sistemi ile tamir edilir. Hasarlı olan DNA replike olurken DNA polimeraz enzimi, önce lezyon bölgesine gelerek duraklar. Daha sonra yeni sentezlenen zincirde bir boşluk bırakarak işlemine devam eder. Burdaki boşluğa yanıt olarak Rec-A proteini rekombinasyonel değiş tokuş işlemi ile hasarsız segmenti boşluğa yerleştirir. Bu arada verici sistemde oluşan boşluk da doldurulur (74).

2.8.4.4. S. O. S. (Acil) Onarımı

DNA hasarının ciddi olduğu durumlarda ve diğer tamir mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda aktive olan acil onarım mekanizmasıdır. DNA sentezi sırasında bir lezyonun üzerinden atlamak yerine DNA polimerazın, lezyon karşısında replikasyonunu devam ettirmesini sağlar. Fakat replikasyonun doğruluğundan fedakarlık edilir. Bundan dolayı bu sisteme hataya meyilli sistem de denilir (74, 75, 76).

2.8.4.5. DNA Çift Zincir Kırığı Onarımı

İyonize radyasyon, topoizomeraz inhibitörleri(etoposid, adriamisin), V(D)J rekombinasyonu DNA çift zincir kırıklarına neden olan en önemli ajanlardır. DNA çift zincir kırıkları, DNA hasarları içinde en ciddi olanıdır. Çünkü bu hasarlar onarılmadığı zaman veya yanlış onarıldığında hücre ölümüne, kansere neden olurlar (77).

A. Homolog Olmayan Uçların Bağlanması

Homolog olmayan uçların bağlanmasında rol oynayan en önemli protein Ku 70-Ku 80 (DNA bağımlı protein kinaz katalitik subunit) dir. DNA bağımlı protein kinaz aktif hale gelir ve diğer proteinlerin hasarlı bölgeye gelmesine neden olur. Oluşan protein kompleksi kırık uçların onarılmasını sağlar (67).

Bu, homolog bir kromozomdan yararlanmadan DNA uçlarının bağlanmasının biyokimyasal bir yoludur. Çünkü kırık DNA uçları bağlanabilir olmayabilir veya bu yol bazen genetik bilgilerin kaybolmasına neden olabilir. Homolog olmayan uçların bağlanmasındaki hatalar iyonize radyasyon duyarlılığına ve immün yetmezliğe neden olur. Tek zincirdeki basit kırıklar DNA ligaz tarafından onarılır. Ancak DNA ligaz sadece 5'-fosfat ve 3'-hidroksil grubuna sahip uçları birleştirebilir (77, 83, 84, 85, 86). Bu onarım yolundaki hataların Burkitt lenfoma, KML gibi hastalıklarla bağlantılı olduğu gösterilmiştir (74, 87).

B. Homolog Uçların Bağlanması

DNA çift zincir kırıkları, genetik bilgi korunarak homolog rekombinasyon ile onarılabilir. Mayalar bu yolu çok etkin kullanmaktadırlar (66, 83, 84, 85, 86). Homolog rekombinasyonda rol oynayan BRCA-1 ve BRCA-2 genlerindeki mutasyonların meme ve

over kanseriyle bağlantılı olduğu görülmüştür (74 75).

2.9. Oksidatif Stres ve Total Antioksidan Seviye

Oksijen, bütün canlılar için hayati önem taşıyan bir elementtir. Organizmada metabolik olaylar sırasında oksijen, bazı ara ürünlere dönüşür. Bu ara ürünler serbest oksijen radikalleridir. Organizmada serbest oksijen radikallerinin oluşumu ile bunlara karşı devreye giren anti-oksidan sistem arasında normalde bir denge söz konusudur. Eğer bu dengede, serbest radikallerin miktarı artar veya anti-oksidan sistem yetersiz kalırsa serbest radikaller hücrenin tüm yapısına zarar vererek oksidatif hasara yol açar. Serbest radikallerin hücrede meydana getirdiği bu zararlı etkiye “oksidatif stres” adı verilir (88).

2.9.1. Serbest Radikaller

Kimyasal olarak en dış yörüngede elektron kaybetmiş, kararsız, aktif bileşiklerdir. Kararsız olan bu bileşikler, daha kararlı hale geçmek için diğer moleküller ile reaksiyona girerek onlardan elektron almaya çalışır. Serbest radikaller, vücutta birçok metabolik olay sırasında oluşurlar ve aslında organizma için gerekli olan bileşiklerdir. Ancak oluşan serbest radikallerin miktarı çok fazla olursa veya anti-oksidan sistem yetersiz kalırsa hücrede hasar oluşmaya başlar. Serbest radikallerin kaynağı endojen veya ekzojen faktörler olabilir.

Endojen kaynaklar; organizmada meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon tepkimeleridir. Ekzojen kaynaklar ise güneş ışınları, sigara dumanı, bazı ilaçlar, bazı kimyasal maddeler, bazı elementlerdir. Serbest radikaller; serbest oksijen radikalleri (ROS) ve serbest nitrojen radikalleri (NOS veya RNS) olmak üzere ikiye ayrılır.

2.9.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Organizmada çoğu metabolik olay için oksijen gereklidir. Oksijen, aerobik canlıların enerji metabolizmasında çok önemli bir yere sahiptir. Bunun yanı sıra yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde gerçekleşen enzim inhibisyonları ve oluşan serbest oksijen radikalleri ile toksik etki de yapabilmektedir (88, 89, 90).

Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren

birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir (91, 92).

Vücutta üretilen serbest radikaller aslında organizma için gerekli olan bileşiklerdir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur. En önemli serbest oksijen radikalleri; süperoksit (O_2^-) radikali, hidroksil radikali (OH \cdot), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen, peroksil radikali (ROO \cdot), hipoklorid (HOCl), organik peroksit radikali (RCOO \cdot), alfoksil radikali (RO \cdot) ve perhidroksil radikali (HO $_2$) gibi reaktif oksijen türevleridir.

2.9.1.1.1. Süperoksit Radikali

Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile kararsız bir yapı olan O_2^- radikali oluşur (93). Süperoksit radikalinin hücre içi kaynağı, mitokondri iç zarında bulunan solunum zincirinde meydana gelen oksidatif fosforilasyon olayıdır. Hücre dışı kaynak ise endotel hücreler, trombositler, lenfositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından normal hücrel reaksiyonlardır. Süperoksit radikali zayıf bir oksidan olup tek başına önemli hücre hasarlarına yol açmaz (94). Ancak süperoksit radikalleri, oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkileri ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Aktive edilmiş fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilebilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatabilmektedir (89, 91, 94). Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve O_2 oluştururlar.

2.9.1.1.2. Hidrojen Peroksit

Oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da süperoksitlerin enzimatik veya non-enzimatik dismutasyon tepkimeleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla olabilir. Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özellik taşımaz, reaktif bir tür değildir. Hidrojen peroksitin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin sebebi demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranmasıdır (95, 96).

Fosfolipitler nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksit radikalini

oluşturabilmektedir. Hidrojen peroksit, membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilmektedir.

Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (89, 94, 95).

2.9.1.1.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali, ‘‘Fenton reaksiyonu’’ ve ‘‘Haber-Weiss reaksiyonu’’ ile hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Hidroksil radikali, en aktif ve en toksik oksijen radikali olup birçok molekül ile reaksiyon verir. Yarı ömrü çok kısadır ama verdiği zararlar çok fazladır. Hidroksil radikali, iyonlaştırıcı radyasyonun (X-ışınları) etkisiyle su moleküllerinin homolitik kırılması sonucunda oluşabildiği gibi hidrojen peroksit molekülünün metaller ile reaksiyonu sonucunda eksik indirgenmesi ile de oluşabilmektedir. Biyolojik sistemlerin tanıdığı en reaktif tür olan OH, su dahil ortamda rastladığı her molekül ile tepkimeye girer. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile de etkileşebilmektedir (95). Bütün bu tepkimeler, OH'nin paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır.

Hidroksil radikalının sebep olduğu en önemli hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. Hücre zarı su içermediğinden OH'nin başlıca hedefi yağ asididir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu, zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne sebep olabilir (89, 94).

2.9.1.1.4. Singlet Oksijen

Oksijenin uyarılmış şekline ‘‘singlet oksijen’’ denir. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmadığından serbest radikal olarak değil ancak serbest radikal reaksiyonları başlattıklarından serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Süperoksit radikalının dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonunda da oluşabilir. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Karbon karbon bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği en önemli bağlardır. Billirubin, karotenler, histidin, metionin v.b.

bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe ederler (94). Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu tespit edilmiştir

2.9.1.1.5. Hipoklorik Asit

Hipoklorik asit de tek başına reaktif olmayan ama reaktif oksijen türleri içinde yer almaktadır. Fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, monosit makrofajlar ve eozinofiller süperoksit radikallerini üretirler. Radikal üretimi, fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli rol oynar. Başlıca hedefinin proteinler olduğu ve protein karbonil bileşiklerinin (PCC) oluşumunu indüklediği bildirilmektedir. Özellikle nötrofiller myeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce O_2^- 'i oluştururlar ve daha sonra dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'i meydana getirirler (Şekil 2).

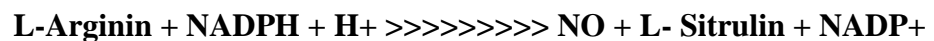


Şekil 2: Hipoklorik asit oluşumu

2.9.1.2. Serbest Nitrojen Radikalleri

Reaktif nitrojen türevlerinin en önemlisi, nitrik oksittir. NO; bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır. L-Arginin'in enzimatik olarak L-Sitrulin'e dönüşümü sırasında açığa çıkar (Şekil 3). Nitrik oksit oluşumunda rol alan enzim, nitrik oksid sentetaz enzimidir (NOS). Yağda çözünür ve hücre zarlarından kolaylıkla geçer. Yarılma ömrü çok kısa olup 3-5 sn'dir. Damar düz kas hücrelerinde gevşemeye, trombosit adezyon ve agregasyonunda ise inhibisyona yol açar. 3 tip nitrik oksit vardır. Bunlar; nöronal nitrik oksit, indüklenebilir nitrik oksit ve endotelial nitrik oksittir. Vücutta çok fazla oluşurlarsa protein, karbonhidrat, DNA ve lipidlerde hasara neden olurlar.

NOS



Şekil 3: Nitrik oksit oluşumu

2.9.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oksijen, plazma membranında, endoplazmik retikulumda, mitokondride, peroksisomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından serbest radikallere dönüştürülmektedir. Oksijenden oluşan süperoksit anyonları, süperoksit dismutaz enzimi ile hidrojen peroksit'e dönüştürülmektedir. Cu^{+2}/Fe^{+2} ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları, Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunurlar (88).

2.9.2.1. Membranların Lipit Peroksidasyonları

Hücre ve organel zarları lipid ve proteinlerden oluşmaktadır. Zarlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller tarafından peroksit, alkol, malondialdehit, etan ve pentan gibi yıkım ürünlerine dönüşmesine lipid peroksidasyonu denir. Lipid peroksidasyonu geri dönüşümsüz bir hasardır (93, 97). Lipid peroksidasyonu reaksiyonu zincir reaksiyonu şeklindedir.

Serbest radikaller, çoklu doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomunu uzaklaştırarak zincir reaksiyonunu başlatırlar. Hidrojen atomu uzaklaşınca karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve karbon merkezli lipid radikali (L^{\cdot}) haline gelir. Bu radikal, oksijen molekülü ile reaksiyona girerek lipid peroksil radikali (LOO^{\cdot}) haline gelir. Lipid peroksil radikali komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına neden olurken bir yandan da açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipid hidroperoksitlerine ($LOOH$) dönüşür. Ve yayılarak çok sayıda lipid hidroperoksitlerine dönüşür. Bunlar ilerleme reaksiyonu olarak adlandırılır (93, 97, 98, 99, 100).

Lipid hidroperoksitler oldukça kararlı bileşiklerdir ve lipid peroksidasyonunun ilk ürünüdür. Lipidlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikallerin oluşması “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyonu ise “non-enzimatik lipid peroksidasyonu” olarak adlandırılır (101). Lipid peroksidasyonunun son bileşeni malondialdehit (MDA) membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve

polimerizasyona sebep olur.

Sonuç olarak da hücrede deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonuna yol açar (93). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir.

2.9.2.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Proteinler, aminoasit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Serbest radikallerin etkisi ile protein molekülleri üzerindeki sülfhidril gruplarında daha fazla hasar meydana gelmektedir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasit içeren proteinler daha duyarlıdır. İmmunglobülin G ve albumin gibi proteinlerin ise üç boyutlu yapıları bozulur (89, 93, 94). Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedir. Proteinlerin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir (103, 104).

2.9.2.3. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Açığa çıkan okzoaldehitlerin proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı kanser ve yaşlanmaya neden olurlar (93).

İnflamatuvar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstraselüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2^- buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunmasının oksidatif hasar yoluyla katarakt oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir (94,105).

2.9.2.4. Oksidatif Stres ve DNA Lezyonları

Lipidler, karbonhidratlar ve proteinler gibi DNA da serbest radikaller tarafından oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde 103 kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür. DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle sağlıklı bireylerde de çok düşük düzeylerde DNA hasarı saptanabilmektedir.

Antioksidan sistemde yetersizlik; DNA onarım mekanizmalarında bozukluklar, oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır. DNA'da tek ve çift zincir kırıkları, baz dizilimi hataları, hatalı eşleşmeler, DNA-protein arasında çapraz bağlanma oksidatif hasarla ilgili olabilir (106, 107).

Serbest radikaller, DNA'da mutasyonlara ve hücre ölümlerine neden olabilirler. Hidroksil ve süperoksit radikalleri, DNA'da oksidatif hasar oluşturan radikallerdir. Hidroksil radikali, DNA'daki dört bazın herhangi birine saldırı yapabilirken, süperoksit radikali dal kırığından ziyade, guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (100).

DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içeren ve çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. Fe ve Cu iyonları; negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı oldukları gibi oksidatif stres altında hücre içinde bulunan proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedir. Metal iyonlarının bağlanmaları DNA molekülünü hidrojen peroksidin hedefi haline getirmektedir. Doğrudan DNA'da hasar yapmayan hidrojen peroksid, membranı kolayca geçerek nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) reaktivitesi çok yüksek olan hidroksil radikallerini oluşturarak DNA'da hasara neden olur. Oluşan hidroksil radikalleri; radikal temizleyicileri tarafından uzaklaştırılmazsa, hidroksil radikal temizleyicilerinin oluşturduğu radikaller de DNA'ya hasar verebilmektedir. Doku kültür ortamının Fe^{+2} ve Cu^{+2} iyon konsantrasyonunun artırılması ile oksidatif DNA baz hasarının arttığı ve H_2O_2 'ye maruz bırakılan hücrelerde Cu^{+2} ve/veya Fe^{+2} şelatörlerinin kullanımının DNA'daki oksidatif hasarı önlediği belirtilmiştir (108).

Yine oksidatif stres hücrede, sitozolik Ca^{+2} iyon konsantrasyonunda büyük bir artışa neden olarak nükleustaki Ca bağımlı endonükleazları aktive etmekte ve DNA'nın fragmantasyonuna neden olmaktadır (Nükleaz Aktivasyon Hipotezi). Ca şelatörlerinin kullanımı ile DNA hasarının engellenebildiğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır (109).

DNA'da oksidatif hasar ile başlangıçta dal kırıkları oluşur. Tek dal kırıklarında, karşı daldaki bilgi doğru okunarak "hasarlı dal onarıcı enzimlerle" onarılabilir. Bu yüzden çift dal kırıkları daha önemlidir (107).

Organizmada normal şartlarda oluşan düşük düzeylerde oksidatif DNA hasarı, DNA onarım enzimleri sayesinde minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilmektedir. Ancak DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Onarım tamamlanıncaya kadar, hücreler bölünmelerini genellikle durdurarak kendilerini korumaktadırlar (109).

DNA'daki oksidatif hasar yüksek düzeylere ulaştığında hücre ölümü gerçekleşmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda oksidatif DNA hasar göstergesi olarak sıklıkla baz hasarları analizlenmiştir. Bakır iyonları DNA'da guanin-sitozinden zengin bölgelerde yüksek oranda bulunduğundan oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz "guanin" dir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçülen baz hasarı, 8-hidroksideoksiguanozin'dir. 8-hidroksideoksiguanozin, oksidatif DNA baz hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (106, 107, 109).

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur (110). "Oksidatif stres" olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır. Oksidatif stresin, serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarıyla birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Aterogenez, amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, Duchenne tipi kas distrofi, gebelik preeklampsisi, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, diabetes mellitus, akut renal yetmezlik, Down sendromu, yaşlanma, retrolental fibroplazi, serebrovasküler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon injürisi gibi durumların patogenezinde oksidatif stresin rolünden söz edilmektedir (111, 112, 113).

2.9.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları

2.9.3.1. Antioksidan Sistemler

Vücutta serbest radikallerin seviyelerini normal sınırlarda tutmak ve meydana getirebilecekleri hasarları engellemek için bazı savunma mekanizmaları bulunmaktadır (114, 115). Serbest radikalleri non-reaktif hale dönüştüren, serbest radikal oluşumunu engelleyen, serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştıran veya ortadan kaldıran sistem “antioksidan sistem” olarak adlandırılır, bu özelliklere sahip maddeler de “antioksidan maddeler” olarak adlandırılır. Hücrelerde pek çok antioksidan sistem ve maddeler bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (94, 114, 116) ;

1. Endojen antioksidanlar; enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzimatik olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Non-Enzimatik olanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, alfa tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir.

2. Ekzojen antioksidan olarak da; allopurinol, folik asit, B12, B2, B5, C vitamini, E vitamini, flavinoidler, asetilsistein, mannitol, adenosin, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (94, 114, 117).

Antioksidanlar ayrıca birincil, ikincil ve üçüncül olarak da sınıflandırılmaktadır. Birincil antioksidanlar; yeni serbest radikal oluşumunu önleyen antioksidanlardır. Örnek olarak süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin verilebilir. İkincil antioksidanlar; oluşan serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, beta karoten, ürik asit ve albümin gibi maddeler bu grupta yer alırlar. Üçüncül antioksidanlar; serbest radikaller tarafından hasara uğrayan biyomolekülleri onarırlar. DNA’yı onaran enzimler de bu grupta yer almaktadırlar. Methionin sülfoksit, redüktaz ve DNA onarım enzimleri üçüncül antioksidanlardır.

Bir başka sınıflandırma da hücre içi, hücre dışı ve zar antioksidanları şeklinde olan

sınıflandırmadır. Hücre içi antioksidanlar; süperoksit dismutaz enzimi, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz enzimidir. Hücre dışı ise; transferin, laktoferrin, haptogloblin, albumin, seruloplazmin, billirubin, askorbik asittir (97). Zar antioksidanları; E vitamini, koenzim Q, β karotendir.

2.9.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar:

A. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştüren reaksiyonu katalize eden bir metalloenzimdir (101, 118, 119). Prokaryot canlılarda Fe ve Mn-SOD, ökaryot canlılarda ise Mn, Cu, Zn ve ekstraselüler SOD bulunur (99). Primer antioksidan enzimidir. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu enzim sayesinde hücrelerde süperoksit düzeyleri normal seviyelerde tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipit peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür (94).

B. Katalaz

Katalaz, peroksidomlarda yüksek oranda bulunan bir enzimidir. Hidrojen peroksitin, su ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalize eder. Katalazın yapısında protoporfirin-IX ve Fe (Hem) grubu bulunur. Yapısındaki hem grubundan dolayı hemoprotein kabul edilir. Kan, kemik iliği, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır.

C. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz enzimi, hidrojen peroksit veya organik peroksitlerin glutatyon tarafından indirgenmesi reaksiyonunu katalize eder. Hücrenin sitozollerinde bulunur ve fagositlerde önemli fonksiyona sahip bir enzimidir. Bu enzimin en önemli özelliği düşük hidrojen peroksit düzeyinde aktive olmasıdır. Kofaktör olarak selenyum elementini kullanır

ancak selenyum bağımsız glutatyon peroksidaz enzimi de bulunur. Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi tarafından indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (94). GPx enzimi eritrositlerde serbest radikallere karşı en etkili antioksidandır.

Yapılan çalışmalarda kord kanında glutatyon peroksidaz ve toplam antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı tespit edilmiştir (92, 94).

D. Glutatyon-S-Transferazlar

Glutatyon-S-Transferaz enzimi; karsinojenleri, çevresel etmenleri, ilaç ve geniş spektrumlu ksenobiyotikleri metabolize eder. GST hidroksialkenler, lipid peroksidasyon ürünlerinden propenaller ve DNA hidroperoksitleri gibi zararlı bileşikleri detoksifiye eden bir antioksidandır. Aktivitesi sitozoliktir. Antioksidan özelliklerinin yanı sıra bilirübin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşümsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (94, 103).

E. Glutatyon Redüktaz

Glutatyon redüktaz enzimi, flavin adenin dinükleotid içeren bir nikotin adenin dinükleotid (NADP) bağımlı flavo enzimdir. Glutatyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipid peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutatyon, okside glutatyona dönüşür. Okside glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi tarafından redükte formuna dönüşür (94).

F. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Mitokondrial sitokrom oksidaz, solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksit serbest radikalini suya çevirerek detoksifiye eder.

G. Tiyoredoksin Sistem

Tiyoredoksin sistemi; tiyoredoksin ile tiyoredoksin redüktaz isimli iki antioksidan enzimi içerir.

2.9.3.1.2. Nonenzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

A. Glutasyon

Glutasyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir antioksidandır. İndirgeyici özelliğe sahip bir antioksidan olan glutasyon, hücreyi serbest radikallere karşı korumaktadır (120, 121). Proteinlerdeki sülfür gruplarının korunmasında, aminoasit transportunda, protein ve DNA sentezinde önemli rol oynar (122). Antioksidan olarak da hidrojen peroksit, süperoksit ve organik peroksitleri (lipit peroksit gibi) süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz enzimi ile ortadan kaldırır (123).

Bu reaksiyon sırasında glutasyon, peroksidaz enzimi tarafından bir çift hidrojen iyonu vererek oksitlenmiş glutatona yükseltgenir. Oksitlenmiş glutasyon ise glutasyon redüktaz tarafından katalizlenerek tekrar glutatona indirgenir. Bu reaksiyon GPx ile oluşur, böylece GSH'ın meydana gelebilmesi için bir redoks döngüsü sağlanmış olur (124).

B. Vitamin C (Askorbik Asit)

Suda eriyen bir vitamindir. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olup oksijen, nitrat, sitokrom a ve sitokrom c gibi bileşikleri indirger. C vitamini, süperoksit ve hidroksil serbest radikalleri ile reaksiyona girerek onları ortadan kaldırır. Ancak ortamda düşük konsantrasyonlarda olurlarsa süperoksit oluşumuna yol açarak oksidan görevi görürler. Dolayısıyla C vitamininin antioksidan etkisinin yanında pro-oksidan etkisi de söz konusudur (103, 125).

C. Vitamin E (Tokoferol)

Alfa tokoferol yağda eriyen bir vitamindir. Lipid zincirini kırmasından dolayı organizmada antioksidan özelliğe sahiptir. En aktif formu α -tokoferoldür. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında vitamin E konsantrasyonu artmıştır. Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri α -tokoferol ile birleşerek serbest radikal zincirini kırarlar (126, 127, 128, 129, 130). Bu reaksiyon sırasında α -tokoferol, α -tokoferol-O[•]'e dönüşür. Oluşan bu radikalin aktivitesi düşüktür. Daha sonra askorbik asit aktivitesi düşük olan bu radikali tekrar tokoferole dönüştürür (126, 127, 128, 129, 130). Askorbik asit E vitamininin etkisini artırır.

D. Vitamin A (Beta Karoten)

Görme, üreme, büyüme, epitel dokunun bütünlüğünün sağlanması ve glikoprotein sentezinde rol oynayan yağda çözünen bir vitamindir. A vitamininin ön maddesi olan beta karoten ise güçlü singlet oksijen temizleyicisi ve zincir kırıcı bir antioksidandır.

E. Seruloplazmin

Bir akut faz reaktanıdır. Demir ve bakır metabolizmasında önemli rol oynar. Oksidan ve antioksidan özelliğe sahiptir. Ferrooksidaz aktivitesiyle Fenton reaksiyonunu inhibe eder. (131). Lipid artıklarını, poliansatüre yağ asitlerinin ve fosfolipidlerin oksidasyonunu inhibe ettiği, DNA hasarını engellediği görülmüştür (132, 133).

2.9.4. Total Antioksidan Seviye

Ekzojen ve endojen faktörler sonucu oluşan serbest radikaller oksidatif strese neden olurken, organizmada buna karşılık olarak antioksidan sistemlerini devreye koymaktadır. Antioksidan sistemin değerlendirilmesinde en anlamlı yol ise total antioksidan seviyenin (TAS) ölçümüdür. TAS'ın çoğunu plazmadaki antioksidan moleküller oluşturur. Albumin, ürik asit ve askorbik asit TAS'a en fazla katkı sağlayan antioksidanlar olup %85'den fazlasını oluşturur (134, 135). Bunun nedeni, bu maddelerin diğer antioksidanlara göre (bilirubin, alfa tokoferol, beta karoten v.b.leri) daha yüksek konsantrasyonlarda olmalarıdır (136). Plazma; kan bileşenlerini oksidatif hasara karşı korurken aynı zamanda da dışarıdan alınan antioksidanların taşınması ve dağılmasında da önemli rol oynar (137).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjistik olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Örneğin yenidoğanda postnatal dönemde fizyolojik şartlarda plazmada ürik asit, C vitamini ve sülfühidril grupları azalırken, bilirubin ve E vitamini düzeyleri artmaktadır. Toplam antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan

çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan seviye ölçümü yaygınlaşmaktadır (136).

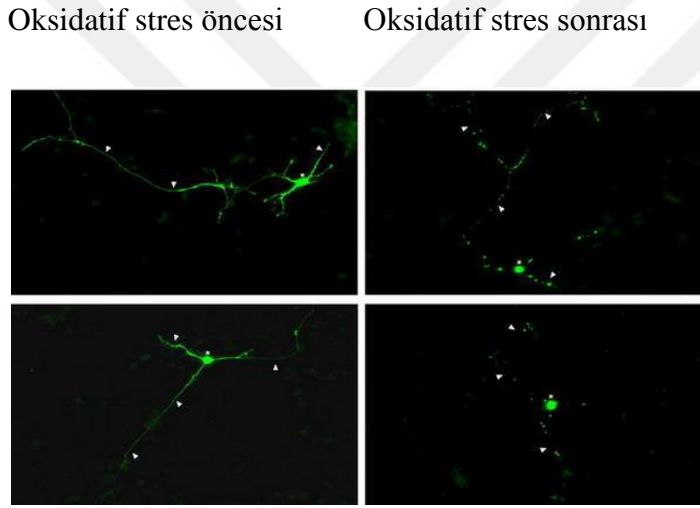
2.10. İskemik İnme İle Antioksidan, Oksidatif Stres ve DNA Hasarı İlişkisi

Serebral iskemi fizyopatolojisinde yer alan serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu, eksitotoksite ve aşırı kalsiyum yüklenmesi gibi mekanizmaların aydınlatılması inme tedavisinin amaçları arasındadır (138, 139). Beyin yüksek oksidatif mekanizma ve yoğun glutamaterjik sinaptik aktivite nedeniyle diğer dokulara göre serbest radikal hasarına duyarlıdır (140). Glutamat beyindeki en önemli eksitator nörotransmitterdir. İskemiye maruz kalan nöronlarda dakikalar içinde ekstraselüler glutamat konsantrasyonu artar (141). Ekstraselüler glutamat artışı NMDA reseptörlerinin aktivasyonuna, bu da nöron içine Na^+ , Cl^- ve H_2O 'nun girmesine neden olur ve sonuç olarak hücrede şişme meydana gelir (142).

NMDA reseptörlerinin aşırı miktarda glutamata maruz kalması sonucunda nöron içine aşırı Ca^{++} girerek serbest radikal oluşumu ile gecikmiş hücre ölümüne neden olur. Oksidatif stresin aktif serbest oksijen radikallerinin yüksek miktarda oluşması anlamına geldiği ve lipid peroksidasyonunun iskemik hasarda önemli bir rol oynadığı şu anda genel olarak kabul edilmektedir. Hücre membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, intrinsik antioksidan savunma sistemi tükendiği zaman ve enerjik uyuşma için gereken miktar tam olarak yerine konamadığı zaman hücre içi serbest radikal bileşiklerinin patolojik olarak artışına yol açar. Hücredeki denge oksidanlar lehine bozulduğu zaman oksidatif stres oluşur (143).

Serbest oksijen radikalleri kan beyin bariyerini yıkarak beyin ödeme, iskemik bölgeye inflamatuvar hücrelerin girmesine ve kan akımının bozulmasına neden olurlar (140). Lipid peroksidasyon ürünlerinin anlamlı artışı ya da plazmadaki bazı antioksidanların anlamlı azalışı inme hastalarında rapor edilmiştir ve inmede oksidatif stresin varlığı bu belirtilerle değerlendirilmiştir. Serbest oksijen radikal süpürücüleri gibi internal antioksidanlar süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalazı içerir. Glutatyon, askorbik asit ve vitamin E'den oluşan diğer antioksidanlar ayrıca serbest radikallerin detoksifikasyonuna da dahil olurlar.

Perfüzyon takip etsin veya etmesin, serebral iskemi süresince, oksijen radikallerinin çok fazla üretimine bağlı olarak antioksidatif savunma mekanizmaları yetersiz kalır, detoksifikasyon sistemi inaktive olur ya da antioksidanlar tükenir. Sonuçta oluşan dengesiz oksidatif stres, primer olarak serebral mikrodolaşımı azaltıp membran fosfolipidlerinin peroksidasyonunu başlatarak doku hasarını ağırlaştırır (Şekil 4). Reaktif oksijen türleri (ROS), iskemik hasarın gelişiminde önemli bir rol oynar. ROS ya hücrel proteinlerle, lipidlerle ve DNA ile etkileşime geçip bunları tahrip etmek suretiyle direkt olarak ya da hücrel sinyalleşme ve gen regülasyonunu etkileyerek indirekt olarak hasara sebep olurlar. İskemik inmede serbest oksijen radikallerinin etkisinin iyi bilinmesine karşın antioksidan mekanizmaların süreçteki rolleri henüz netlik kazanmamıştır (144). Oksidatif stres öncesi ve sonrası nöron hücresinin elektron mikroskobunda incelenmesi Şekil 4’te gösterilmiştir (145).



Şekil 4: Oksidatif stresten önce ve sonraki nöron hücresinin görünümü (145).

İskemi takip eden dönemde, endotelden veya perivasküler sınırlardan salınan nitrik oksit kan akımını artırarak ve diğer hemodinamik faktörler üzerine etkisi ile koruyucu rol oynarken, nöronal nitrik oksitin fazla üretimi nörotoksik etki göstermektedir. Nitrik oksit (NO); nitrik oksit sentetaz aracılığı ile L-arjinin’den sentezlenir. Yüksek miktarlardaki NO, mitokondrial solunumu inhibe eder. Glikolizi deprese ederek ve intraselüler glutatyon seviyesini azaltarak sitotoksiteye neden olur. Ayrıca ribonükleotid redüktaz aktivitesini azaltarak DNA sentezini; DNA nitrasyonu, oksidasyonu, deaminasyonu ile de DNA yapısını zedeler ve DNA hasarı oluşumuna neden olur (146).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmaya Alınan Olgu ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi

Bu çalışmaya Mayıs 2014–Kasım 2014 tarihleri arasında Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servis'ine başvuran ve akut iskemik inme tanısı konulan 62 hasta alındı. Bu hastalardan; 8'i takipleri sırasında inme geçirme saatleri belirsiz veya şüpheli, 12'si kronik hastalıklar varlığı (KBY, karaciğer yetmezliği v.b.leri), 6'sı kanama komponenti olan iskemik inme tanısı aldığından, 4'ü trombolitik tedaviyi kabul etmemesi nedeniyle toplam 30 tanesi çalışmadan çıkarıldı.

Çalışma kontrollü ve prospektif olarak planlandı ve Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 07.05.2014 tarih, 71306642/050-01-01/118 sayılı kararı ile onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Çalışmaya aşağıda belirtilen kriterlere uygun olan 32 hasta ve kontrol grubu olarak benzer yaş ve cinsiyette 30 sağlıklı gönüllü erişkin bireyler dâhil edildi. Çalışmaya dâhil edilen olgular, çalışmanın amacı ve yapılacak işlem hakkında bilgilendirildi. Sonrasında, çalışmaya katılmayı kabul eden olgulardan ya da hasta vekili-vasisinden yazılı olarak onam alındı.

3.1.1.Çalışma Grubu

Acil servise akut iskemik inme kliniğinde başvuran hastalar anamnez, fizik muayene, laboratuvar ve görüntüleme yöntemlerinden yararlanılarak Ulusal Sağlık Enstitüsü İnme Skalası'na (NIHSS) göre: 1. grup; NIH, 0-6 puan, hafif-orta, 2. grup; NIH, 7-15 puan, orta-ağır ve 3. grup; NIH, 16-42 puan, ağır-çok ağır şeklinde inme ciddiyetine göre 3 gruba ayrıldı.

NIHSS skorlamasına göre ayrılan gruplarda ilk başvuruda (tedavi öncesi) serum lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri olarak total oksidan seviye (TOS), total antioksidan seviye (TAS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) çalışıldı. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı. Sonrasında, akut iskemik inme geçiren erişkin hastalar içerisinde NIHSS skoru<25 olan ve fibrinolitik veya trombektomi tedavisi için uygun olan; trombolitik için ilk 4 saat, trombektomi için ilk 6 saatte başvurma şartıyla tedaviye alındı.

Tedavi sonrası 24. saatte gruplar modifiye Rankin Skalası (mRS) ile 3 gruba ayrıldı. mRS'ye göre: Grup 1; 0-1, çok iyi; 0; hiç semptom yok ve 1; belirgin sakatlık yok, Grup 2; 2-3, iyi-orta; 2; hafif sakatlık ve 3; orta derece sakatlık, Grup 3; 4-5-6, kötü-çok kötü; 4; ağır sakatlık , 5; çok ağır sakatlık ve 6; ölüm olarak belirlendi. Serum lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri olarak TOS, TAS ve OSİ; mRS'ye göre ayrılan gruplar arasında çalışıldı. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı.

Primer sonlanım noktası: akut iskemik inme tanısı konulan erişkin bireylerden inme sonrası erken dönemde (ilk 24 saatte; başvuruda ve tedavi sonrası 24. saatte) kan örneği almak olarak belirlendi. Sekonder sonlanım noktası: sağlıklı kontrol erişkin bireylerden kan örneği almak olarak belirlendi.

3.1.2. Olgu Dahil Edilme Kriterleri

1. 18 yaş üzerinde akut iskemik inme geçiren erişkin olgular.
2. Kontrol grubu olarak benzer yaş ve cinsiyet grubuna sahip 18 yaş ve üzerindeki sağlıklı gönüllü erişkin bireyler.
3. Çalışmaya katılmayı kabul eden ve yazılı onamı alınan hasta ve gönüllü olgular.
4. Acil servise akut iskemik inme kliniğinde tedavi için uygun saatlerde; trombolitik için ilk 4 saat, trombektomi için ilk 6 saatte başvurma şartıyla kabul edilecek.
5. Akut iskemik inme tanısı konulan; trombolitik ve/veya primer girişimsel tedavi endikasyonu olan hastalar.

3.1.3. Olgu Dışlama Kriterleri

1. 18 yaş altı olgular,
2. Çalışmaya katılmayı istemeyen ya da sonradan çalışmadan çıkmak isteyen olgular,
3. Kanda alkol tespit edilen veya alkol alım hikâyesi olan bireyler,
4. Son bir ay içinde geçirilmiş aktif somatik ya da psikiyatrik hastalık hikâyesi olan bireyler,
5. Halen geçirilmekte olan aktif somatik ya da psikiyatrik hastalık hikâyesi olan bireyler,
6. Uyutucu-uyuşturucu ilaç kullanım öyküsü veya bağımlılığı olan bireyler,

7. Gebelik öyküsü olan veya ilk değerlendirmede gebelik testi pozitif olan bireyler,
8. Emziren kadınlar.
9. Akut iskemik inme tanısı alıp; trombolitik ve/veya primer girişimsel tedavi kontraendikasyonu alan hastalar.

3.1.4. Kontrol Grubu Seçme Kriterleri

Kontrol grubu olarak; özgeçmişinde sigara veya tütün mamulleri, alkol, uyuşturucu veya uyarıcı madde kullanım hikâyesi olmayan, vücudunda akut travmatik yaralanması bulunmayan, son üç ay içindeki dönemde özel bir diyet uygulamayan, son bir ay içinde akut hastalık geçirmeyen, röntgen veya tomografi gibi radyolojik tetkik yaptırmayan, aşı olmayan, trafik kazası geçirmeyen kişiler çalışmaya dâhil edildi.

3.2. Örneklerin Hazırlanması ve Ölçümler

Araştırmaya dâhil edilen kişilerden lenfosit DNA hasar seviyesinin ölçümü için vakumlu EDTA (Etilendiamin Tetraasetik Asit)'lı kan alma tüpüne fibrinolitik tedavi öncesi ve sonrası; 0. saat ve 24. saatte venöz kan alındı. Hemen biyokimya laboratuvarına ulaştırılarak çalışması sağlandı.

Oksidatif stres parametreleri için jelli vakumlu tüpe 5 ml kan alındı. 0. saat ve 24. saatte alınan venöz kan örnekleri en kısa zamanda biyokimya laboratuvarında bulunan Nüve marka santrifüj cihazında 3000 devir/dakika hızda 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar -80°C derin dondurucuda depolanarak muhafaza edildi. Ölçümlerin yapılacağı zaman tüm serum örnekleri oda ısısına getirildikten sonra çalışıldı

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

1. Santrifüj (Nüve NF 1200)
2. Derin Dondurucu (New Brunswick Scientific®. C54285 Model)
3. Otomatik Biyokimya Analizörü (Siemens Advia 1200-USA)
4. Deiyonize Su Cihazı (ThermoScientific Barnstead Smart2Pure)
5. Pipetler (0.5-2 µl. 0.5-100 µl. 50-200 µl. 200-1000 µl. 1-5 ml) (Gilson)

3.2.2. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu

Bir ml histopaque -1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça ilave edilip 2100 rpm ve 4⁰C’de 25 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (Ph: 7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 4⁰C’de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu ile 10⁶ mononükleer lökosit / μ l olacak şekilde dilüe edildi

3.2.3. DNA Hasar Tayini; Comet Assay Yöntemi

Comet assay yöntemi, alkali Ph’da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin, elektriksel alanda farklı hızda göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler veya çekirdekçikler agar jel içine yerleştirilir ve lizisten sonra açığa çıkan DNA moleküllerinde herhangi bir hasar oluşmamış ise göç esnasında tek moleküle ve yüke sahip olduklarından elektroforetik göç esnasında birlikte hareket edeceklerinden comet (kuyruk) oluşturmazlar. Eğer hasara uğramış, kırılmış DNA varsa farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar (147).

3.2.3.1. Yöntemin Uygulanışı

A. Slaytların Hazırlanması

%1.0’lik normal erime noktasına (NMP) sahip agaroz jel hazırlanarak pipetle 55⁰C sıcaklıkta 120 μ l kadar alınıp, kenarları kumlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri hemen lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4⁰C) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan normal erime noktasına sahip jel kaplı lamalar nemli kutularda bekletildi. Kaplı lamalar üzerine PBS (Fosfat buffered saline) ile mm³’te 10⁴ hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 μ l alınarak 85 μ l % 0.7’lik düşük erime noktasına (LMP) sahip agaroz jel (37⁰C) ile karıştırılarak tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada da aynı konsantrasyonda düşük erime noktasına sahip agaroz jel hazırlanarak ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde

tabakalandırılarak slaytların hazırlanması sağlandı.

B. Lizis Aşaması

Agaroz jel donduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren (100Mm EDTA, 2.5M NACI, 10Mm trizma baz, %1 triton X-100, Ph10) soğuk lizis solüsyonunda bekletilerek hücre ve çekirdek zarı lizise uğratıldı.

C. Elektroforez Tamponu

Elektroforezde yürütmeden önce, DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar, alkali elektroforez tamponunda (1mM EDTA ve 300Mm sodyum hidroksit (pH<13)) 40 dakika inkübasyona bırakıldı.

D. Elektroforezde Yürütme

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300Ma, elektriksel alanda ve 4⁰C'de 20 dakika yürütüldü.

E. Nötralizasyon

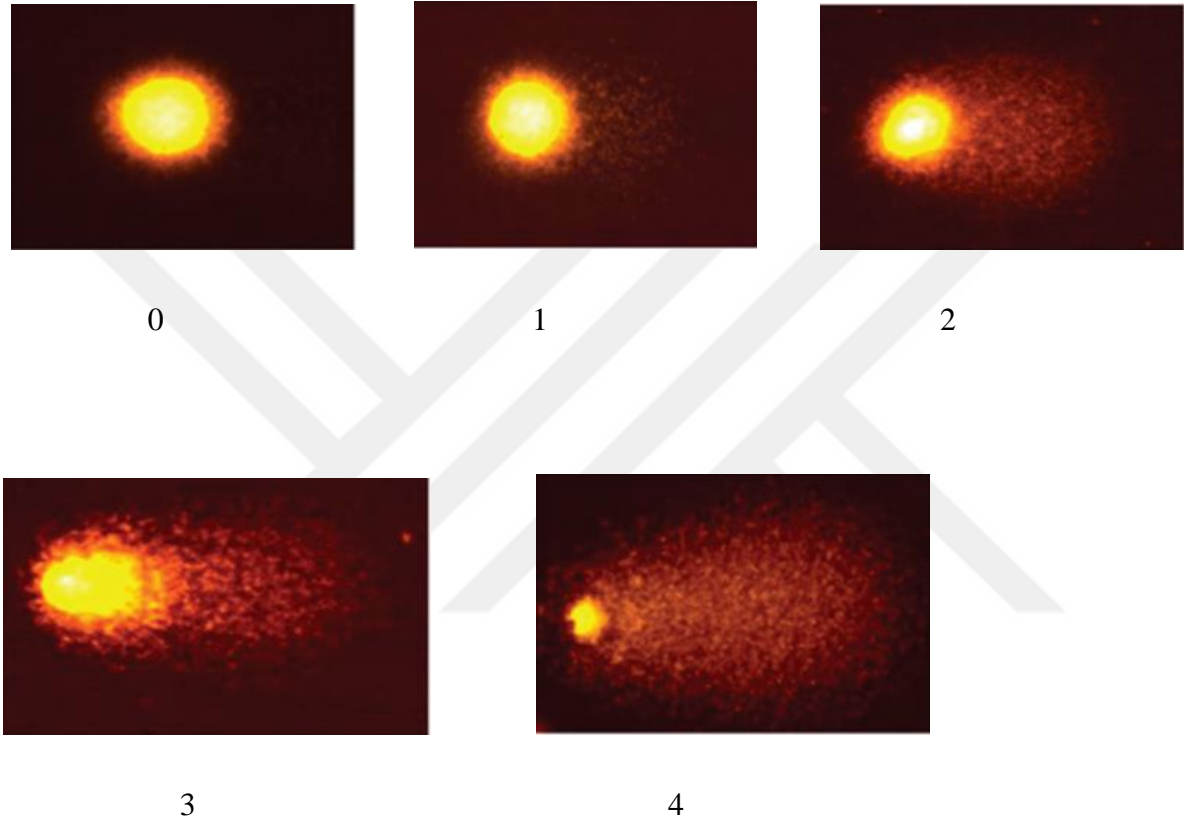
Elektroforez yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdan uzaklaştırmak için slaytlar 3 dakika süre ile 2 kez PBS (Fosfat buffered saline) ile 1 kez distile su ile yıkandı. Slaytların kuruması için beklendi.

F. Boyama

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra floresan DNA boyası olan etidyum bromit ile(5µg/ml) her bir slayt için 80µl boya kullanılarak boyandı. Lamaların üzeri lamel ile kapatılarak 20 büyütmeli floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 580 nm) değerlendirildi.

G. Analiz

Bu yöntemde DNA migrasyonu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA beş kategoriye ayrıldı. Hiç hasar bulunmayan DNA'lar 0, maksimum hasar bulunan DNA'lar ise 4. kategoride değerlendirildi (Şekil 5).



Şekil 5: DNA'daki farklı derecelerdeki hasarın mikroskop altındaki görüntüleri (147).

3.2.4. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Serbest oksijen radikallerine karşı vücudun toplam antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur (146,148).

Reaktif 1

75 mM Clark tamponu (pH: 1.8) içerisinde, 10mM o-dianisidine ve 45µmol

$(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2

7.5mM hidrojen peroksit, 75 mM Clark tamponu (pH: 1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır.

Prensip

Fe^{+2} -o-dianisidine kompleksi, hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH^\cdot radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da, renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri, ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumunu arttırmaktadırlar. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir. Birim: $\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$.

3.2.5. Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (146,148)

Reaktif 1

140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisinde, 25 mM H_2SO_4 çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce %10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 μM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2

Ana solüsyon içerisinde, önce 10mM o-dianisidine dihydrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyum ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon -o-dianisidine kompleksini ferik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol, bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına

çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Birim; $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Eqv./L}$ (115).

3.2.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Toplam Oksidan Seviye (TOS) / Toplam Antioksidan Seviye (TAS) $\times 10$ şeklinde bölünerek, Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanır (148).

3.2.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler IBM SPSS-20 (Statistical Package for The Social Sciences) paket programıyla değerlendirildi. Kategorik değişkenler (TOS, TAS, OSİ ve lenfosit DNA hasarı düzeyleri) median, yüzdeler, çeyrek değerler şeklinde hesaplandı. Veriler değerlendirilirken non parametrik testler kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmada (hasta ve kontrol için) Ki-kare ve Mann–Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım şartı sağlanmayan gruplar arası karşılaştırmalar için (hasta gruplar arası karşılaştırma) Kruskal Wallis testi uygulandı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan değişkenler için Dunn Testi ile ikili karşılaştırma yapıldı. Kategorik olan değişkenler için Ki-kare testiyle sonuçların anlamlılığı incelendi. Bağımlı değişkenler söz konusu olduğunda Wilcoxon Signed Testi kullanıldı. Değişkenler arası ilişkileri incelemek için de Spearman Korelasyon uygulandı ve bu katsayı ile ilişki düzeyleri ve anlamlılıkları incelendi. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 16'sı kadın, 16'sı erkek olmak üzere toplam 32 hasta dahil edildi. Kontrol grubunda 30 sağlıklı kişinin 14'ü kadın, 16'sı erkek olarak belirlendi. Hasta ve kontrol grubu arasında cinsiyet yönünden anlamlı fark yoktu. ($p=0,793$; Tablo 9).

Hasta ve kontrol grubunun yaş dağılımı; hasta grubunda ortalama $64,40 \pm 8,70$ yıl (yaş aralığı; 35-76), kontrol grubunda ise $64,90 \pm 7,26$ (yaş aralığı; 35-74) olarak değişmekteydi. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş yönünden anlamlı fark yoktu ($p=0,927$; Tablo 9).

Hasta grubundaki 32 kişinin DNA hasarı (arbitrary unit) ortalama değeri 39 ± 17 , en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 14 ve 80, TAS (mmol Troloxeqv/L) ortalama değeri $1,30 \pm 0,20$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 0,91 ve 1,80, TOS (mmolH₂O₂ Eqv/L) ortalama değeri $14,80 \pm 1,50$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 12,80 ve 19,12, OSİ (arbitrary unit) ortalama değeri $1,17 \pm 0,21$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 0,72 ve 1,55 olarak saptandı (Tablo 9).

Kontrol grubundaki 30 kişinin DNA hasarı (arbitrary unit) ortalama değeri $18,40 \pm 8,50$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 4 ve 36, TAS (mmol Troloxeqv/L) ortalama değeri $1,90 \pm 0,09$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 1,72 ve 2,09, TOS (mmolH₂O₂Eqv/L) ortalama değeri $9,07 \pm 2,30$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 6,14 ve 15,80, OSİ (arbitrary unit) ortalama değeri $0,47 \pm 0,12$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 0,33 ve 0,85 olarak saptandı (Tablo 9).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hasta grubunda plazma TOS, OSİ ve lenfosit DNA hasarının istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yükseldiği; TAS değerinin ise anlamlı olarak azaldığı saptandı (bütün parametreler için $p<0,001$; Tablo 9).

Tablo 9: Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet, yaş, DNA hasarı, TAS, TOS, OSİ değerlerinin karşılaştırılması

Parametreler	Kontrol grubu $x \pm ss$ $n^* = 30$	Hasta grubu $x \pm ss$ $n^* = 32$	P
Cinsiyet (kadın/erkek)	14/16	16/16	0,793
Yaş	64,90 \pm 7,26	64,40 \pm 8,70	0,927
DNAHasarı (arbitrary unit)	18,40 \pm 8,50	39 \pm 17,20	0,000
TAS^a (mmol Troloxeqv/L)	1,90 \pm 0,09	1,30 \pm 0,20	0,000
TOS^b (mmolH ₂ O ₂ Eqv/L)	9,07 \pm 2,30	14,80 \pm 1,50	0,000
OSİ^c (arbitrary unit)	0,47 \pm 0,12	1,17 \pm 0,21	0,000

Değerler ortalama \pm standart sapma veya sayı olarak verilmiştir.

n^* değeri gruplar içindeki kişi sayısını ifade etmektedir.

^aTAS; total antioksidan seviye, ^bTOS; total oksidan seviye, ^cOSİ; oksidatif stres indeksi

Hasta grubundaki 0.saattteki (ilk başvuruda, tedavi öncesi) iskemik inme hastaları NIHSS skorlarına göre: 1. grup; NIHSS, 0-6 puan, hafif-orta, 2. grup; NIHSS, 7-15 puan, orta-ağır ve 3. grup; NIHSS, 16-42 puan, ağır-çok ağır şeklinde inme ciddiyetine göre 3 gruba ayrıldı. Bu 3 grup arasındaki DNA hasarı, TAS, TOS, OSİ değerleri incelendiğinde;

Grup 1'deki 14 kişinin DNA hasarı (arbitrary unit) ortalama değeri $27,30 \pm 10,69$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 14 ve 52, TAS (mmol Troloxeqv/L) ortalama değeri $1,39 \pm 0,19$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 1,07 ve 1,80, TOS (mmolH₂O₂ Eqv/L) ortalama değeri $15,27 \pm 1,89$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 12,84 ve 19,12, OSİ (arbitrary unit) ortalama değeri $1,12 \pm 0,24$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 0,72 ve 1,55 olarak saptandı.

Grup 2'deki 11 hastanın DNA hasarı (arbitrary unit) ortalama değeri $40,36 \pm 10,87$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 24 ve 54, TAS (mmol Troloxeqv/L) ortalama değeri $1,21 \pm 0,16$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 1,03 ve 1,58, TOS (mmolH₂O₂ Eqv/L) ortalama değeri $14,36 \pm 1,08$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 12,86 ve 16,10, OSİ (arbitrary unit) ortalama değeri $1,20 \pm 0,19$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 0,93 ve 1,49 olarak saptandı.

Grup 3'deki 7 hastanın DNA hasarı (arbitrary unit) ortalama değeri $60,57 \pm 15,34$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 40 ve 80, TAS (mmol Troloxeqv/L) ortalama değeri $1,20 \pm 0,19$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 0,91-1,50, TOS (mmolH₂O₂ Eqv/L) ortalama değeri $14,74 \pm 1,25$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 12,97 ve 16,03, OSİ (arbitrary unit) ortalama değeri $1,24 \pm 0,15$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 1,04 ve 1,47 olarak saptandı.

NIHSS'ya göre gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında TOS ve OSİ değerleri bakımından anlamlı fark saptanmadı (her iki parametre için $p > 0,005$; Tablo 10). NIHSS'ya göre gruplar karşılaştırıldığında inme ciddiyeti arttıkça (grup 1'den grup 3'e doğru) DNA hasarı düzeylerinde anlamlı artış ve TAS düzeylerinde ise anlamlı azalma olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p < 0,001$ ve $p = 0,034$; Tablo 10).

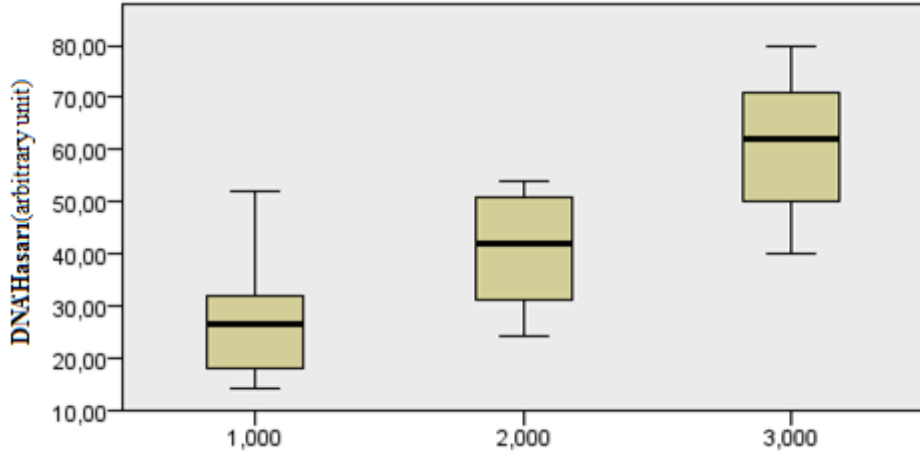
Tablo 10: NIHSS'e göre grup 1,2 ve 3'ün ilk başvuruda (tedavi öncesi) serum ortalama DNA hasarı, TAS, TOS, OSİ değerlerinin karşılaştırılması

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri
Parametreler	x ± ss n* =14	x ± ss n* =11	x ± ss n* =7	
DNAHasarı (arbitrary unit)	27,30 ± 10,69	40,36 ± 10,87	60,57 ± 15,40	0,000
TAS^a (mmol Trolox eqv/L)	1,39 ± 0,19	1,21 ± 0,16	1,20 ± 0,19	0,034
TOS^b (mmolH ₂ O ₂ Eqv/L)	15,27 ± 1,89	14,36 ± 1,08	14,74 ± 1,25	0,467
OSİ^c (arbitrary unit)	1,12 ± 0,24	1,20 ± 0,19	1,24 ± 0,15	0,420

Değerler ortalama ± standart sapma veya sayı olarak verilmiştir.

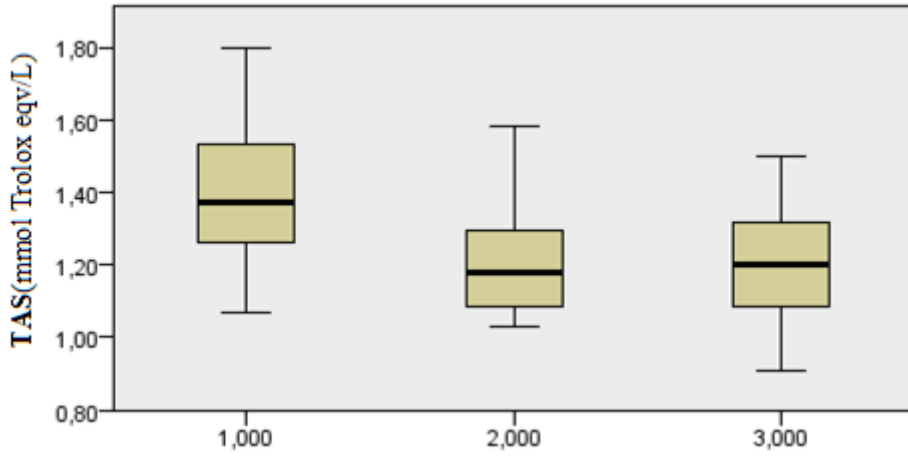
* değeri gruplar içindeki kişi sayısını ifade etmektedir.

^aTAS; total antioksidan seviye, ^bTOS; total oksidan seviye, ^cOSİ; oksidatif stres indeksi



NIHSS

Şekil 6: NIHSS'e göre grup 1,2 ve 3'ün ilk başvuruda (tedavi öncesi) serum ortalama DNA hasarı düzeyleri



NIHSS

Şekil 7: NIHSS'e göre grup 1,2 ve 3'ün ilk başvuruda (tedavi öncesi) serum ortalama TAS değerleri

Hasta grubundaki 24.saatteki tedavi sonrası inme hastaları modifiye Rankin Skalasına (mRS) göre: 0; hiç semptom yok ve 1; belirgin sakatlık yok olanlar grup 1, 2; hafif sakatlık ve 3; orta derece sakatlık olanlar grup 2, 4; ağır sakatlık, 5; çok ağır sakatlık ve 6; ölüm olanlar grup 3, nörolojik iyilik haline göre 3 gruba ayrıldı.

Grup 1'deki 12 hastanın DNA hasarı (arbitrary unit) ortalama değeri $29,33 \pm 13,57$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 12 ve 60, TAS (mmol Troloxeqv/L) ortalama değeri $1,31 \pm 0,16$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 0,97 ve 1,57, TOS (mmolH₂O₂ Eqv/L) ortalama değeri $13,69 \pm 1,22$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 12,11 ve 15,55, OSİ (arbitrary unit) ortalama değeri $1,05 \pm 0,14$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla; 0,87 ve 1,32 olarak saptandı.

Grup 2'deki 9 hastanın DNA hasarı (arbitrary unit) ortalama değeri $36,66 \pm 19,15$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 10 ve 72, TAS (mmol Troloxeqv/L) ortalama değeri $1,30 \pm 0,10$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla; 1,08 ve 1,43, TOS (mmol H₂O₂ Eqv/L) ortalama değeri $15,50 \pm 1,20$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla; 13,10 ve 17,23, OSİ (arbitrary unit) ortalama değeri $1,18 \pm 0,04$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla; 1,10 ve 1,25 olarak saptandı.

Grup 3'teki 11 hastanın DNA hasarı (arbitrary unit) ortalama değeri $59,27 \pm 18,48$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 28 ve 78, TAS (mmol Troloxeqv/L) ortalama değeri $1,26 \pm 0,15$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 1,06 ve 1,55, TOS (mmolH₂O₂ Eqv/L) ortalama değeri $15,92 \pm 0,72$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla; 15,05 ve 17,09, OSİ (arbitrary unit) ortalama değeri $1,27 \pm 0,17$, en düşük ve en yüksek değer sırasıyla; 0,99 ve 1,55 olarak saptandı.

MRS'ye göre gruplar 24.saatte tedavi sonrası değerlendirildiğinde; gruplar arasında TAS değeri açısından anlamlı fark bulunmadı. (p=0,625; Tablo 11). MRS'ye göre gruplar 24.saatte tedavi sonrası değerlendirildiğinde akut inmede nörolojik fonksiyon kaybı arttıkça; grup 1'den grup 3'e doğru gidildikçe DNA hasarı, TOS ve OSİ düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (sırasıyla p=0,003, p=0,001 ve p=0,006; Tablo 11).

Tablo 11: mRS'ye göre grup 1,2 ve 3'ün 24.saatte (tedavi sonrası) serum DNA hasarı, TAS, TOS, OSİ değerlerinin karşılaştırılması

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri
Parametreler	x± SS n*=12	x ± SS n*=9	x ± SS n*=11	
DNAHasarı (arbitrary unit)	29,33 ± 13,57	36,66 ± 19,15	59,27 ± 18,48	0,003
TAS^a (mmol Troloxeqv/L)	1,31 ± 0,16	1,30 ± 0,10	1,26 ± 0,15	0,625
TOS^b (mmolH ₂ O ₂ Eqv/L)	13,69 ± 1,22	15,50 ± 1,20	15,92 ± 0,72	0,001
OSİ^c (arbitrary unit)	1,05 ± 0,14	1,18 ± 0,04	1,27 ± 0,17	0,006

Değerler ortalama ± standart sapma veya sayı olarak verilmiştir.

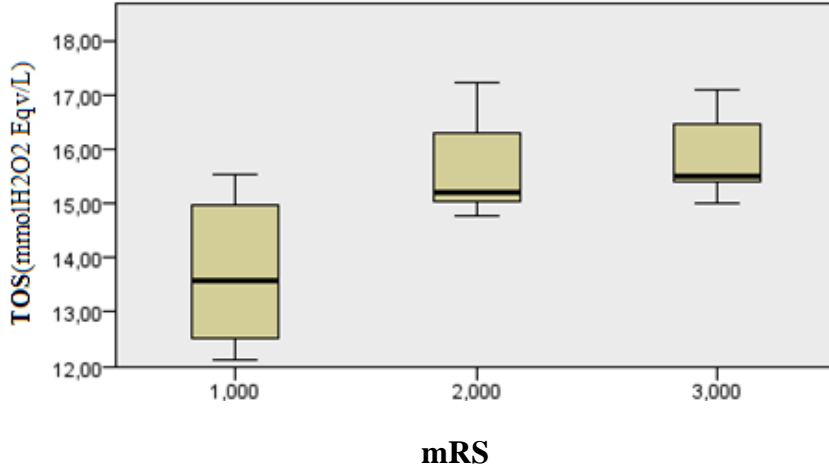
n* değeri gruplar içindeki kişi sayısını ifade etmektedir.

^aTAS; total antioksidan seviye, ^bTOS; total oksidan seviye, ^cOSİ; oksidatif stres indeksi

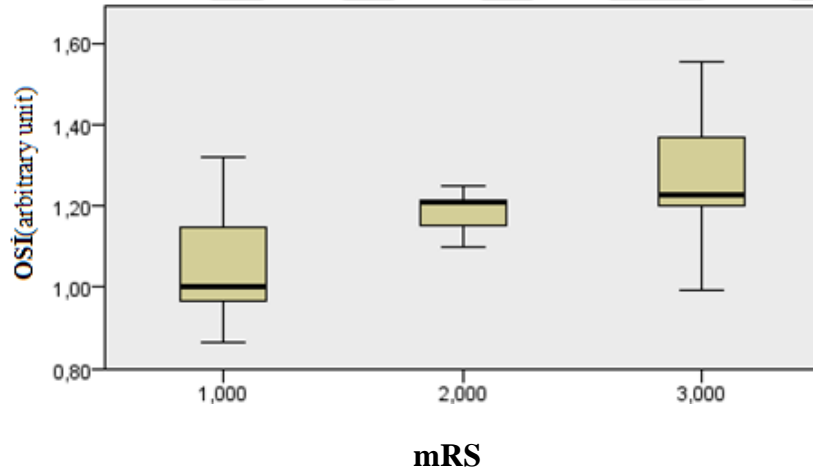
MRS'ye göre gruplar 24.saatte tedavi sonrası değerlendirildiğinde; DNA hasarı ile TOS ve OSİ arasında Spearman korelasyon testine göre anlamlı korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,374$ ve $r=0,394$, ve sırasıyla $p=0,035$ ve $p=0,026$; Tablo 12).

Tablo 12: mRS grupları arası anlamlı bulunan DNA hasarı, TOS, OSİ değerinin korelasyonu

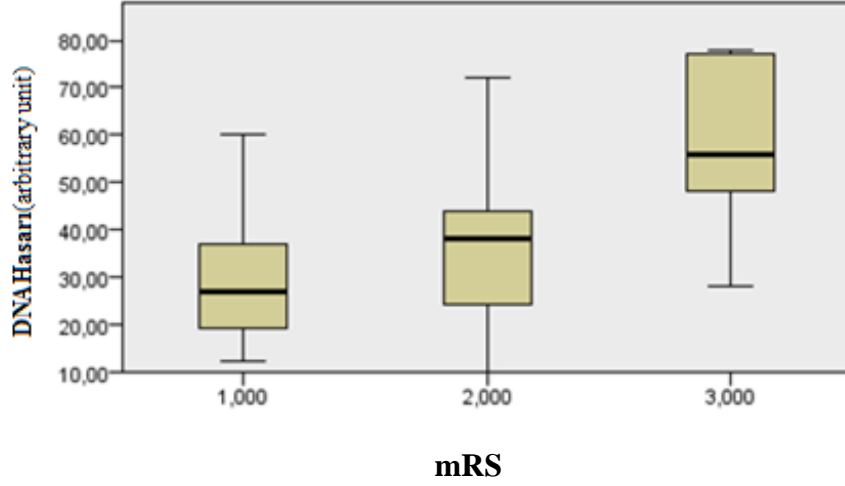
Korelasyon Analizi 24.saat		DNA Hasarı	TAS	TOS	OSİ
DNA Hasarı 24.saat (arbitrary unit)	Korelasyon Katsayısı	1,000	-0,190	0,374	0,394
Spearman's Rho	p-değeri		0,298	0,035	0,026



Şekil 8: mRS'ye göre grup 1,2 ve 3'ün 24.saatte (tedavi sonrası) serum ortalama TOS değerleri



Şekil 9: mRS'ye göre grup 1,2 ve 3'ün 24.saatte (tedavi sonrası) serum ortalama OSI değerleri



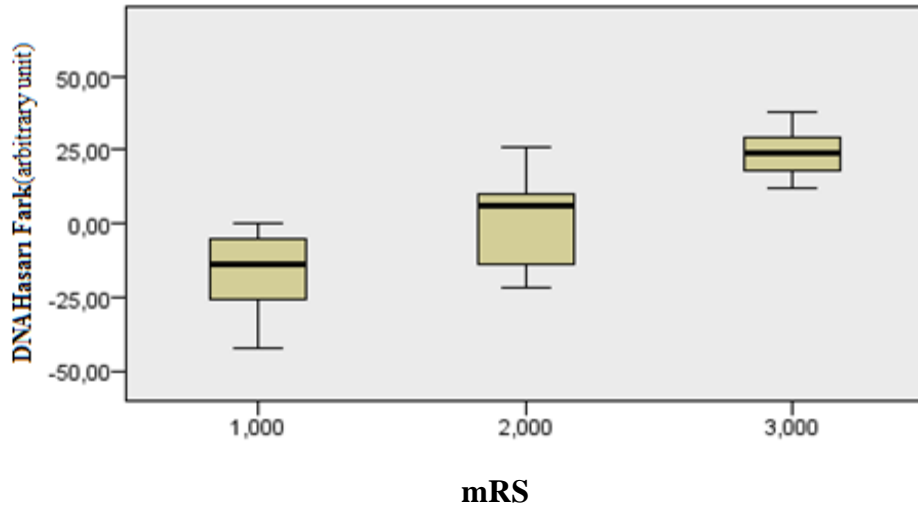
Şekil 10: mRS'ye göre grup 1,2 ve 3'ün 24.saatte (tedavi sonrası) serum ortalama DNA hasarı değerleri

MRS'ye göre gruplar arasında DNA hasarı düzeylerinin 0. saatte (tedavi öncesi) ve 24. saatte (tedavi sonrası) fark değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p < 0,001$; Tablo 13, Şekil 11). Bu anlamlı fark Pairwise karşılaştırma analizi ile değerlendirildiğinde; grup 1 ve grup 2 arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$; Tablo 14). Ancak grup 1 ve grup 3 arasında, aynı zamanda grup 2 ve grup 3 arasında anlamlı fark bulundu ($p < 0,001$ ve $p < 0,05$ sırasıyla; Tablo 14 ve Şekil 12).

Tablo 13: mRS'ye göre grup 1,2 ve 3'ün ilk başvuruda (tedavi öncesi) ve 24. saatteki (tedavi sonrası) serum DNA hasarı fark değerleri

Parametre	mRS Grup 1	mRS Grup 2	mRS Grup 3	P
	x±ss	x±ss	x±ss	
DNA Hasarı Fark (24.saat-0.saat) arbitrary unit ortalama	-16,50 ±14,42	-0,44 ± 17,34	25,90 ± 12,05	0,000

Değerler ortalama ± standart sapma veya sayı olarak verilmiştir.



Şekil 11: mRS'ye göre grup 1,2 ve 3'ün ilk başvuruda (tedavi öncesi) ve 24. saatteki (tedavi sonrası) serum DNA hasarı fark değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 12: mRS'ye göre grup 1,2 ve 3'ün ilk başvuruda (tedavi öncesi) ve 24. saatteki (tedavi sonrası) serum DNA hasarı fark değerlerinin Pairwise karşılaştırılması

Tablo 14: mRS'ye göre gruplar arasında DNA hasarı farkının p değerleri

mRS Gruplar	<i>P</i> -değeri
Grup 1 ve Grup 2	0,489
Grup 1 ve Grup 3	0,000
Grup 2 ve Grup 3	0,020

5. TARTIŞMA

Akut iskemik inme hastalarında biyolojik belirteçlerin rekanalizasyon ve reperfüzyon tedavilerinin etkinliği ile erken dönemde tedavi güvenilirliğini veya prognozu belirleme ve öngörmede potansiyel güçleri mevcuttur. Ancak bu hasta grubunda yapılmış çalışmalar kısıtlı sayıdadır (149, 150, 151). Bu çalışma acil servise iskemik inme kliniğinde başvuran erişkin hastalarda erken dönemde serum lenfosit DNA hasarı ve oksidatif stres durumu ile inmenin ciddiyeti arasındaki ilişkinin belirlenmesinde ve fibrinolitik veya trombektomi tedavisi sonrası klinik sonuçlara etkisinin değerlendirilmesinde in vivo şartlarda yapılmış ilk klinik çalışmadır.

İnme, dünyada kardiyovasküler hastalıklardan sonra özellikle altmış yaş üstü hastalarda ölümün en sık ikinci nedenidir. Sakatlık ve işgücü kaybında ise birinci nedendir. Ülkemizde ise kardiyovasküler hastalıklardan ölüm %21,7 ile birinci sırada iken serebrovasküler hastalıklardan (SVH) ölüm %15 ile ikinci sırada yer almaktadır (152). İnme alanında yapılan epidemiyolojik çalışmalarda yaşlı nüfusun artışı ile serebrovasküler hastalıkların görülme sıklığının arttığı ve bu nedenle yaşlanan toplumlarda bu hastalık grubunun öneminin giderek arttığı gösterilmiştir. Dünyada ve ülkemizde serebrovasküler hastalıklara neden olan risk faktörlerinin belirlenmesi, yaygınlığının hesaplanması, işgücü kaybı, ölüm oranlarının belirlenmesi, gelecekteki prevalansının tahmin edilmesi açısından önem kazanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2006 yılındaki raporunda nörolojik hastalıklardan ölüme %85 oranında serebrovasküler hastalıklar sorumludur (153). İnme insanlarda fonksiyonel yetmezlik ve erken ölüme yol açan, ayrıca ekonomik açıdan sağlık giderlerinin ilk sıralarında yer alan önemli hastalıklardan biridir. Risk faktörlerinin belirlenmesi ve buna yönelik gerekli önlemlerin alınması ile; bu hastalığın insidansında azalma sağlanarak insan sağlığı ve ekonomiye önemli katkılar sağlanabilir (153, 154).

İskemik inmenin fizyopatolojik sürecinde önemli rol oynayan araçlar reaktif oksijen ve nitrojen molekülleridir. Nöronlar sınırlı düzeyde antioksidan mekanizmalara sahip olmaları nedeniyle oksidatif hasara çok duyarlıdır. Metabolik fonksiyonların yan ürünü olarak ortaya çıkan süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^\cdot) gibi reaktif oksijen bileşenleri; katalaz, süperoksit dismutaz (SOD), peroksiredoksinler, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), indirgenmiş glutatyon, vitamin C ve E gibi antioksidanlar tarafından

etkisiz duruma getirilirler. Beyin dokusunun iskemiye toleransı diğer dokulardan daha az olduğundan erken tanı ve tedavi gerekmektedir. İskemi başlangıcından reperfüzyon sürecine kadar gelişen iskemi-reperfüzyon hasarında; dokuya tekrar oksijen sağlanması nedeniyle antioksidan mekanizmaların temizleme kapasitesinden çok daha fazla miktarda oksijen radikali ortaya çıkar (155). Bu serbest oksijen radikalleri özellikle nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz enzimi ve depolarize mitokondri tarafından oluşturulmaktadır. Dokuya giren lökositler reaktif oksijen ve nitrojen radikalleri salgılayarak hasarı büyütürler. İskemi sırasında hücre içi kalsiyum artışına bağlı olarak nitrik oksit (NO) sentezi artar ve toksik düzeye erişir. NO, eşzamanlı olarak oluşan süperoksit radikali ile tepkimeye girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur. Reaktif oksijen radikalleri ve peroksinitritler hücre içerisinde; proteinler, lipidler, nükleik asitler ve karbonhidratlar ile etkileşime girerek nöronlara direkt ve indirekt zarar verirler. Ayrıca kan beyin bariyerini bozarak vazojenik ödeme neden olurlar, mikrodolaşımın bozulması nedeniyle beyin dokusuna geçen lökositler hücre hasarına katkıda bulunurlar. Beyin dokusunda kan akımının azalması ile oluşan iskemi ve artan serbest radikaller, kan beyin bariyerini yıkarak beyinde ödem oluşmasına ve etkilenen bölgeye inflamatuvar hücrelerin girmesine yol açabilirler (156). Nöronal hasarlanmada intraselüler kalsiyum artışı kritik bir evredir. Bunun nedeni bir yandan kalsiyum bağımlı proteaz, lipaz ve endonükleazların, diğer yandan fosfolipaz A2'nin aktivasyonu ile protein yapısının bozulması ve DNA hasarı ile hücrenin maruziyet süresine bağlı olarak nekroz veya apoptozla ölüme gitmesidir (157,158).

İnme, serebral bir damarın tıkanması ya da yırtılması sonucu beyin parankiminde kanama ile oluşan ve insanlarda sakatlığa yol açan bir sendrom olarak tanımlanabilir. Bu tanım çerçevesinde serebral infarkt, primer intraserebral hemoraji, intraventriküler hemoraji ve subaraknoid kanamaların çoğu inme kapsamına girmektedir. İskemik inme fizyopatolojisinde önemli yeri olan serbest radikaller, aynı zamanda Alzheimer hastalığı gibi diğer nöron hasarı oluşturan hastalıkların patogenezinde de önemli rol oynarlar. Bu nedenle serbest radikallerin artışına bağlı oksidatif stres, eksitotoksisite ve lipid peroksidasyon mekanizmasının aydınlatılması inme vakalarına klinik yaklaşımda önemli katkı sağlayabilir. Ayrıca yüksek oksidatif süreç ve yoğun sinaptik aktivite nedeniyle beyin, diğer dokulara göre eksitotoksisite ve serbest radikallerin oksidatif hasarına karşı daha duyarlıdır (155, 158).

Hücre ve dokularda oksidan-antioksidan denge, oksidanlar lehine bozulduğu zaman oksidatif stres oluşmaktadır. Hücre zarı fosfolipidlerinin peroksidasyonu nedeniyle, intrinsik antioksidan savunma sistemi yetersiz hale gelirse, hücre içi serbest radikal bileşikleri artar; oksidan-antioksidan denge, oksidanlar lehine bozulur ve oksidatif stres oluşur (159).

Literatürde, iskemik inme hastalarında erken dönemde inmenin şiddetiyle orantılı olarak oksidatif stres parametrelerinin arttığı buna karşılık antioksidanların ise azaldığını bildiren çalışmalar mevcuttur (159, 160, 161). Cano ve ark. nın (160) yaptığı bir çalışmada iskemik inme atağından sonraki 24 saat içinde bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) ile NO seviyelerinin perfüzyon ve doku hasarındaki potansiyel belirleyiciler olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada inme atağından sonraki 24 saat içinde serbest oksijen radikallerinin göstergesi olduğu düşünülen serum MDA değerlerinde anlamlı artma ve serum NO değerlerinde anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, inme grubunda serum oksidatif stres belirteçleri olarak total oksidan seviye (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ) ve lenfosit DNA hasarının istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yükseldiği; total antioksidan seviye (TAS) düzeylerinin ise anlamlı olarak azaldığını saptadık.

Kehoe ve ark. nın (161) yaptığı çalışmada ise SVH trombozisin etyopatolojisinde yer alan ve kuvvetli antioksidan bir etkiye sahip olduğu düşünülen prokarboksipeptidaz enzimi akut iskemik inme hastalarında başvuru anında, 24. saatte, 72. saatte ve 7. günde ölçülmüştür. Çalışmada prokarboksipeptidaz enziminin geliş anına göre 24. saatte azaldığı tespit edilmiş olup, bu azalmanın inme ciddiyeti ve erken dönem nörolojik sonuçlar ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Sonuç olarak Ulusal Sağlık Enstitüsü İnme Skalası (NIHSS)>7 olan grupta; NIHSS<7 olan gruba göre enzim seviyesindeki azalmanın anlamlı olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda da Kehoe ve ark. nın çalışmasıyla uyumlu olarak NIHSS'ya göre gruplar karşılaştırıldığında inme ciddiyeti arttıkça DNA hasarı düzeylerinde anlamlı artış ve serum antioksidan belirteci olarak TAS düzeylerinde anlamlı azalma olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlara göre akut iskemik inme geçiren hastalarda oksidan-antioksidan dengenin oksidanlar lehine arttığı söylenebilir. Ayrıca, inme hastalarında oluşan lenfosit DNA hasarının, oksidatif bir

hasar meydana gelmesi ile açıklanabileceğini düşünmekteyiz.

Demirkaya ve ark. nın (159) yaptığı benzer bir çalışmada akut iskemik inme atağından sonraki ilk 24 saatte ve 7 gün sonra MDA, GSH-Px ve SOD düzeyleri ölçülmüş; inme ciddiyeti ve kısa dönem prognozu ile ilişkisi araştırılmıştır. Modifiye Rankin Skalası (mRS) arttıkça oksidatif stres belirteci olarak MDA düzeyinde yükselme, antioksidan seviyeyi ölçen GSH-Px ve SOD değerlerinde ise azalma eğiliminin olduğu bulunmuştur. Ayrıca, iskemik inme hastalarında serum MDA ve oksidatif stresin önemli düzeyde arttığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda da mRS'ye göre gruplar 24. saatte değerlendirildiğinde; akut inmede nörolojik fonksiyon kaybı arttıkça, grup 1'den grup 3'e doğru gidildikçe DNA hasarı ve TOS ile OSİ düzeylerinin yükselme eğiliminde olduğu gözlemlendi. Özellikle tama yakın iyileşme sağlayan hastalar (grup1) ile ağır sakatlık halindeki hastalar (grup 3) ve orta sakatlık halindeki hastalar (grup 2) ile ağır sakatlık halindeki hastaları (grup 3) ayırmada serum lenfosit DNA hasarı düzeyleri anlamlı bulundu.

SONUÇ

Çalışmada elde edilen sonuçlar doğrultusunda iskemik inme geçiren hastalarda antioksidan seviyenin azaldığı, oksidatif stresin önemli düzeyde yükseldiği ve DNA hasarının anlamlı düzeyde arttığı söylenebilir. Ayrıca bu veriler, serebrovasküler hastalıkların patogeneğinde serum TAS, TOS, OSİ ve DNA hasarının önemli derecede rol oynayabileceğini göstermektedir. Yine, iskemik inme geçiren hastalarda erken dönemde, oksidatif stresin biyolojik belirteçleri olarak TAS ve DNA hasarı; inmede kullanılan skalalara alternatif ve objektif bir kriter olarak beyin hasarının şiddetini göstermede kullanılabilir. Ayrıca, bu hastalarda erken dönemde trombolitik veya endovasküler trombektomi tedavisinin etkinliğinin ve nörolojik fonksiyonların iyilik halinin değerlendirilmesinde serum lenfosit DNA hasarı, TOS ve OSİ düzeylerinin biyolojik belirteçler olarak kullanılabileceğini önermekteyiz. Bununla beraber bu ilişkiyi doğrulamak; nörolojik ciddiyet ve iyilik halini değerlendirmek için kullanılan skalaların yanısıra biyobelirteçlerin kullanımı için daha geniş olgu sayılarına sahip randomize ve kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Weinberger J. Stroke. 2nd, Pennsylvania: Handbooks in Health Care Co 2002; 1-80.
2. Saribaş O, Topçuoğlu MA, Arsava EM. Akut İskemik İnmelerde Tedavi Yaklaşımları. Balkan S. (edt). Serebrovasküler Hastalıklar. Antalya, Güneş Kitapevi, 2005; 289-311.
3. Kutluk K. İskemik inme. Kutluk K. (edt). Epidemiyoloji Bölümü. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2004; 1-19.
4. Togay Işııkay C. Akut İnmeye Yaklaşım. Yoğun Bakım Dergisi 2003;3(4): 225-235.
5. Emre M. Nöroloji Temel Kitabı. Emre M. (edt). Serebrovasküler Hastalıklar Bölümü. Antalya, Güneş Tıp Kitabevi, 2013; 669-796.
6. Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. Nature Reviews Neuroscience 2003; 4: 399-415.
7. Özbay G. Hemodinamik bozukluklar, tromboz ve şok. Kumar V, Cotran RS, Robins SL (eds). Temel Patoloji. 6th, İstanbul. Nobel Kitabevleri; 2000: 60.
8. Kutluk K. İskemik inme. Kutluk K. (edt). Epidemiyoloji. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2004: 19-35.
9. Astrup J, Siejko BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia in the ischemic penumbra. Stroke 1981; 12: 723-725.
10. Touzani O, Young AR. Progressive impairment of brain oxidative metabolism reversed by reperfusion following middle cerebral artery occlusion in anaesthetized baboons. Brain Research 1997; 767(1): 17-25.
11. Fishman RA. Brain edema. The New England Journal of Medicine 1975; 293: 706-711.
12. Rothman S. Synaptic release of excitatory amino acid neurotransmitter mediates anoxic neuronal death. The Journal of Neuroscience 1984; 4(7): 1884-1891.
13. Muir KW, Less KR. Clinical experience with excitatory amino acid antagonist drugs. Stroke 1995; 26: 503-513.
14. Siejko BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II, Mechanisms of damage and treatment. Journal of Neurosurgery 1992; 77(3): 337-54.
15. Berk M, Kapczinski F, Andreazza AC, Deana OM, Giorlando F, Maes M, Yücel M, Gamae CS, Dodda S, Deand B, Magalhães PVS, Amminger P, McGorry P, Malhi GS. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: Focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. Neuroscience and Biobehavioral Reviews

- 2011; 35: 804-17.
16. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in ischemic brain. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2001; 21: 2-14.
 17. Eliasson MJ, Sampei K, Mandir AS, Hurn PD, Traystman RJ, Bao J, Pieper A, Wang ZQ, Dawson TM, Snyder SH, Dawson VL. Poly (ADP-ribose) polymerase gene disruption render mice resistance to cerebral ischemia. *Nature Medicine* 1997; 3(10): 1089-85.
 18. Brown AW, Brierly JB. The earliest alterations in ratneurons and astrocytes and after anoxia ischemia. *Acta Neuropathologica (Berl)* 1973; 23: 9-22.
 19. Park CK, Nehls DG, Graham DI, Teasdale GM, McCulloch J. The glutamate antagonist MK-801 reduces focal ischemic brain damage in the rat. *Annals of Neurology* 1988; 24(4): 543-551.
 20. Utku U, Çelik Y. Strokta Etyoloji, Sınıflandırma ve Risk Faktörleri. *Serebrovasküler Hastalıklar*, Balkan S. (edt). Güneş Kitapevi, 2005: 57-71.
 21. Adams Jr HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE. Classification of Subtype of Acute Ischemic Stroke: Definitions for Use in a Multicenter Clinical Trial. *Stroke* 1993; 24(1): 35-41.
 22. Freeman WD, AguilarMI. Stroke prevention in atrial fibrillation and other major cardiac sources of embolizm. *Neurologic Clinics* 2008; 26(4); 1129-160.
 23. Peter L, Kolominsky-Rabas, Weber M, Gefeller O, Neundoerfer B, Heuschmann PU. Epidemology of ischemic stroke subtypes according to TOAST criteria: Incidence, Recurrence and long-term survival in ischemic stroke subtypes: A population on based study. *Stroke* 2001; 32: 2735-2740.
 24. Dora B, Balkan S. Laküner infarktlar.Balkan S(edt). *Serebrovasküler Hastalıklar*. Antalya, Güneş Kitapevi, 2005: 103-115.
 25. Siejko BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology. *Journal of Neurosurgery* 1992; 77:169-184.
 26. Steinke W, Ley SC. Lacunar stroke is the major cause of progressive motor deficits. *Stroke* 2002; 33: 1510-1516.
 27. Kutluk K. İskemik inme. Kutluk K. (edt). *Klinik yaklaşım ve sınıflama*. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2004: 61-73.

28. Utku U, Çelik Y. İnmede etyolojik sınıflandırma ve risk faktörleri, Serebrovasküler Hastalıklar. Balkan S. (edt). 3.baskı, İstanbul, Güneş Tıp Kitabevleri, 2009: 51-62.
29. Ralph L. Sacco, Emelia J. Benjamin, Joseph P. Broderick, Mark Dyken, Donald Easton, William M. Feinberg, Larry B. Goldstein, Philip B. Gorelick, George Howard, Steven J. Kittner, Teri A, Manolio, Jack P. Whisnant, Philip A. Wolf. Risk Factors. Stroke 1997; 28: 1507-1517.
30. Çoban O. Beyin Damar Hastalıklarında Tanımlar, Sınıflama, Epidemiyoloji ve Risk faktörleri, İstanbul Tıp Fakültesi Temel Bilimler Ders Kitabı, Öge E.A (Edt), İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2004: 194-196.
31. Toumilehto J, Bonita R, Steward A, Nissinen A, Salonen J. Hypertension, cigarette smoking, and the decline in stroke incidence in eastern Finland. Stroke 1991; 22: 7-11.
32. Balkan S, Topçuoğlu A. İnme ve Hipertansiyon, Türkiye Klinikleri 2004; 2 (1): 41-47.
33. Kuusisto J, Mykkänen L, Laasko M. Non-insulin dependent diabetes and it's metabolic control are important predictors of stroke in elderly subjects. Stroke 1994; 25(6): 1157-64.
34. Herbert PR, Gaziano JM, Chan KS. Cholesterol Lowering with statin drugs, risk of stroke and total mortality: an overview of randomized trials. Journal of the American Medical Association 1997; 278: 313-321.
35. Whelton PK, He J, Appel LJ, Cutler JA, Havas S, Kotchen TA, Roccella EJ, Ron Stout R, Vallbona C, Winston MC, Joanne Karimbakas J, for the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Primary prevention of hypertension: clinical and public health advisory from The National High Blood Pressure Education Program. Journal of the American Medical Association 2002; 288: 1882-1888.
36. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, Appel LJ, Brass LM, Bushnell CD, Culebras A, DeGrua TJ, Gorelick PB, Guyton JR, Hart RG, Howard G, Kelly-Hayes M, Nixon JV, Sacco RL Primary Prevention of Ischemic Stroke: A Guideline From the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: Cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research

- Interdisciplinary Working Group: The American Academy of Neurology affirms the value of this guideline. *Stroke* 2006; 37: 1583-1633.
37. Donnell M, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin S, Rao-Melacini P, Rangarajan S, Islam S, Pais P, McQueen MJ, Mondo C, Damasceno A, Lopez-Jaramillo P, Hankey GJ, Dans AL, Yusuf K, Truelsen T, Diener HS, Sacco RL, Ryglewicz D, Czlonkowska A, Weimar C, Wang X, Yusuf S, on behalf of the INTERSTROKE investigators. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet* 2010; 376: 112–23.
 38. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group: Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *New England Journal of Medicine* 1995; 333: 1581-588.
 39. Dash D, Bhashin A, Pandit AK, Tripathi M, Bhatia R, Prasad K, Padma VM. Risk Factors and Etiologies of Ischemic Strokes in Young Patients: A Tertiary Hospital Study in North India. *Journal of Stroke* 2014; 16(3):173-177.
 40. Hjalmarsson C, Manhem K, Bokemark L, Andersson B. The Role of Prestroke Glycemic Control on Severity and Outcome of Acute Ischemic Stroke. *Hindawi Publishing Corporation Stroke Research and Treatment* Volume 2014, Article ID 694569, 6 pages.
 41. Whang W, Shim DJ. Settling the Score Stroke Prediction in Atrial Fibrillation. *Journal of The American College Of Cardiology* 2014; 64(16): 1666-1668.
 42. Chalela JA, Kidwell CS, Nentwich LM, Luby M, Butman JA, Demchuk AM, Hill MD, Patronas N, Latour L, Warach S. Magnetic resonance imaging and computed tomography in emergency assessment of patients with suspected acute stroke: a prospective comparison. *Lancet* 2007; 369(9558): 293-298.
 43. Hodel J, Leclerc X, Khaled W, Tamazyan R, Rodallec M, Gerber S, Blanc R, Benadjaoud M, Lambert O, Rabrait C, Zuber M, Rahmouni A, Zins M Comparison of 3D multi-echo gradient-echo and 2D T2* MR sequences for the detection of arterial thrombus in patients with acute stroke. *European Radiology* 2014; 24: 762-769.
 44. Zhao L, Barlinn K, Sharma VK, Tsivgoulis G, Cava LF, Vasdekis SN, Teoh HK, Triantafyllou N, Chan BPL, Sharma A, Voumvourakis K, Stamboulis E, Saqqur M, Harrigan MR, Albright KC, Alexandrov A, Velocity criteria for intracranial stenosis revisited: an international multicenter study of transcranial Doppler and digital

- subtraction angiography. *Stroke* 2011; 42(12): 3429-3434.
45. Alberts MJ. Diagnosis and treatment of ischemic stroke. *The American Journal of Medicine* 1999; 106(2): 211-221.
 46. Hickenbottom SL, Barsan WG. Acute ischemic stroke therapy. *Neurologic Clinics* 2000; 18(2): 379-97.
 47. Schaefer PW, Copen WA, Lev MH, R. Gonzalez G. Diffusion-Weighted Imaging in Acute Stroke. *Neuroimaging Clinics of North America* 2005; 15(3): 503–530.
 48. Hedna VS, Shukla PP, Waters MF. Seizure Mimicking Stroke: Role of CT Perfusion. *Journal of Clinical Imaging Science* 2012; 2(2): 32.
 49. Hatano S. Variability of the diagnosis of stroke by clinical judgment and by a scoring method. *Bull World Health Org.* 1976; 54: 533-40.
 50. Bamford J. Clinical examination in diagnosis and subclassification of stroke. *Lancet* 1992; 339: 400-402.
 51. Önal MZ, Fisher M, Bogousslavsky J. *Current Review Of Cerebrovascular Disease Fourth Edition*, Fisher M(edt), Bogousslavsky J, Current Medicine Inc, Philadelphia, 2001, *Clinical Evaluation Of Stroke*: 101.
 52. Goldstein LB, Samsa GP. Reliability of the National Institutes of Health Stroke Scale: extension to non-neurologists in the context of a clinical trial. *Stroke* 1997;28: 307–310.
 53. Jauch EC, Saver JL, Adams HP Jr, Bruno A, Connors JJ, Demaerschalk BM, Khatri P, McMullan PW Jr, Qureshi AI, Rosenfield K, Scott PA, Summers DR, Wang DZ, Wintermark M, Yonas H; American Heart Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Peripheral Vascular Disease; Council on Clinical Cardiology. A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association, Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke. *Stroke* 2013; 44: 870-974.
 54. Sulter G, Steen C, De Keyser J. Use of the Barthel index and modified Rankin scale in acute stroke trials. *Stroke* 1999; 30:1538-1541.
 55. Dahl TH. International classification of functioning, disability and health: an introduction and discussion of its potential impact on rehabilitation services and research. *Journal of Rehabilitation Medicine* 2002; 34(5): 201-204.
 56. van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J. Interobserver

- agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke* 1988; 19:604-607.
57. Saribaş O, Topçuoğlu MA, Arsava EM. Akut İskemik İnmelerde Tedavi Yaklaşımları. Balkan S (edt). *Serebrovasküler Hastalıklar*. Antalya, Güneş Kitapevi, 2005: 289-311.
58. Lansberg MG, O'Donnell MJ, Khatri P, Lang ES, Nguyen-Huynh MN, Schwartz NE, Sonnenberg FA, Schulman S, Vandvik PO, Spencer FA, Alonso-Coello P, Guyatt GH, Akl EA. Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012; 141(2): 601-636.
59. Adams HP, Adams RJ, Brott T, Zoppo G, Furlan A, Goldstein LB, Grubb RL, Higashida R, Kidwell C, Kwiatkowski TG, Marler JR, Hademenos GJ. Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke. A scientific statement from the stroke council of the American stroke association. *Stroke* 2003; 34: 1056-1083.
60. Ciccone A, Valvassori L, Nichelatti M, Sgoifo A, Ponzio M, Sterzi R, Boccardi E. Endovascular Treatment for Acute Ischemic Stroke. *New England Journal of Medicine*. 2013; 368(10): 904-913.
61. Saqqur M, Uchimo K, Demchuk AM, Molina CA, Garami I, Calleja S, Sterzi R, Boccardi E, Naveed Akhtar N, Orouk FO, Salam A, Shuaib A, Alexandrov AV. Site of arterial occlusion identified by transcranial Doppler predicts the response to intravenous thrombolysis for stroke. *Stroke*. 2007; 38(3): 948-954.
62. Güler A, Çınar C, Oran İ, Şirin H, Çelebisoy N, Akarca FK, Kıyan SG. Akut iskemik İnmeli Olgularda Solitaire Stent ile Mekanik Trombektomi: İlk Deneyimlerimiz. *Journal of Neurological Sciences [Turkish]* 2014; 31(1)39: 70-79.
63. Smith WS, Sung G, Starkman S, Saver JL, Kidwell CS, Gobin YP, Lutsep HL, Nesbit GM, Grobelny T, Rymer MM, Silverman IE, Higashida RT, Budzik RF, Marks MP. Safety and efficacy of mechanical embolectomy in acute ischemic stroke: results of the MERCI trial. *Stroke* 2005; 36: 1432-1438.
64. Işıkay CT, Mutluer N. Strok Komplikasyonları. Balkan S(edt). *Serebrovasküler Hastalıklar*. Antalya Güneş Kitapevi, 2005: 345-361.
65. Kulaksız G, Sancar A. Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser. *Türk Biyokimya Dergisi* 2007; 32(3): 104-111.

66. Chu G. Biochemistry 201: DNA repair, <http://cmgm.stanford.edu/biochem201/Handouts/dnarepair.Pdf>.
67. Norbury CJ, Hickson ID. Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacology Toxicology* 2001; 41: 367-401.
68. Friedberg EC. DNA damage and repair. *Nature* 2003; 421(6921): 436-440.
69. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage check points. *Annual Review Biochemistry* 2004; 73: 39-85.
70. Ronen A, Glickman BW. Human DNA repair genes. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2001; 37(3): 241-283.
71. Wood RD, Mitchell M, Sgourosj, Lindahl T. Human DNA repair genes. *Science*. 2001; 291(5507): 1284-1289.
72. Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos WP. MGMT: key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents. *DNA Repair (Amst)* 2007; 6(8): 1079-1099.
73. Sciuscio D, Diserens AC, van Dommelen K, Martinet D, Jones G, Janzer RC, Pollo C, Hamou MF, Kaina B, Stupp R, Levivier M, Hegi ME. Extent and patterns of MGMT promoter methylation in glioblastoma- and respective glioblastoma-derived spheres. *Clinical Cancer Research* 2011; 17(2):255-266.
74. Onur E, Tuğrul B, Bozyiğit F. DNA hasarı ve onarım mekanizmaları. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2009; 7(2): 61-70.
75. William S. Klug, Micheal R. Cummings. *Genetik Kavramlar*. Altıncı Baskı Türkçe Çeviri, Ankara, Palme Yayıncılık, 2002: 477-481.
76. Cooper GM, Hausman RE. *Hücre Moleküler Yaklaşım*. Türkçe çeviri. Üçüncü Baskı. İzmir, İzmir Tıp Kitabevi 2006: 192-230.
77. Debeleş Bürtüner B, Kantarcı G. Mutasyon, DNA Hasarı ve Onarım Mekanizmaları ve Kansere İlişkisi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* 2006; 35(2): 149-170.
78. Hegde ML, Hazra TK, Mitra S. Early steps in the DNA base excision/single-strand interruption repair pathway in mammalian cells. *Cell Research* 2008; 18(1): 27-47.
79. Karahalil B, Hogue BA, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair capacity in mitochondria and nuclei: tissue-specific variations. *FASEB J*. 2002; 16(14): 1895-190.

80. Hanawalt PC. Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene*. 2002; 21(58): 8949-8956.
81. Zhang Y, Rohde LH, Wu H. Involvement of nucleotide excision and mismatch repair mechanisms in double strand break repair. *Current Genomics* 2009; 10(4): 250-258.
82. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Research* 2008; 18(1): 85-98.
83. DNA Damage, http://saturn.roswellpark.org/cmb/huberman/DNA_Repair/damage-types.html.
84. Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B. Mechanisms of human DNA repair:an update. *Toxicology* 2003; 193(1-2): 3-34.
85. Haber JE. Partners and pathways repairing a double-strand break. *Trends in Genetics* 2000; 16(6): 259-264.
86. Haber JE. DNA recombination: the replication connection. *Trends Biochemistry Science* 1999; 24(7): 271-275.
87. Hazra TK, Das A, Das S, Choudhury S, Kow YW, Roy R. Oxidative DNA damage repair in mammalian cells: a new perspective. *DNA Repair (Amst)*. 2007; 6(4): 470-480.
88. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 1997; 3-4: 92-95.
89. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2002; 33: 110-118.
90. Jensen SJK. Oxidative stres and free radikals. *Journal of Molecular Structure* 2003; 666: 387-392.
91. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *Journal of Dermatological Science* 2001; 27(1): 1-4.
92. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry* 1993; 26(5): 351-357.
93. Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. *Arşiv*; 13: 120-123.
94. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya, Mimoza yayınları, 1995; 47-60.
95. Baykal Y, Gök F, Erikçi S. Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. *Sendrom* 2001; 14(1): 94-100.

96. Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radical Biology & Medicine* 1990; 9(4): 315-325.
97. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 1995; 41(12):1819-1828.
98. Özkan A, Fışkın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi* 2004; 14: 52-60.
99. Sodergen E. Lipid Peroxidation İnvivo Evolution and Application of Methods for Measurements, Sweden, Tryck&Medier 2000.
100. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta* 2001; 306(1-2):1-17.
101. Akkuş İ. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya, Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, 1995: 1-15.
102. Meram İ, Aktaran Ş. Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. *Arşiv*. 2002; 11: 299.
103. Çelik H. Malarya hastalarında oksidatif strese ve mononükleer lenfosit DNA hasarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Şanlıurfa, 2005.
104. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1997; 156(2): 341-357.
105. Bowry VW, Mohr D, Cleary J, Stocker R. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein. *The Journal Biological Chemistry* 1995; 270(11): 5756-63.
106. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal* 2003; 17(10): 1195-1214.
107. Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bioessays* 2004; 26(5): 533-542.
108. Zastawny TH, Altman SA, Randers-Eichhorn L, Madurawe R, Lumpkin JA, Dizdaroglu M, Rao G. DNA base modifications and membrane damage in cultured mammalian cells treated with iron ions. *Free Radical Biology & Medicine* 1995; 18(6): 1013-1022.

109. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters*. 1991; 281(1-2): 9-19.
110. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress relationship with exercise and training. *Sports Medicine* 2006; 36 (4): 327-58.
111. Jacob RA, Burri BJ. Oxidative damage and defense. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1996; 63: 985-990.
112. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American Journal of Medicine* 2000; 108: 652-659.
113. Good PF, Werner P, Hsu A, Olanow WC, Perl DP. Evidence of neuronal oxidative damage in Alzheimer's disease. *The American Journal of Pathology* 1996; 149(1): 21-28.
114. Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends Biochem Science* 2002; 27(9): 483-486.
115. Yesilkaya A, Altinayak R, Korgun DK. The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *General Pharmacology*. 2000; 35(1): 17-20.
116. Yiğit A, Yurdakök M. Yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 1997; 39: 749-765.
117. Makarov VG, Makarova MN, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. *Voprosy Pitaniia* 2005; 74(1): 10-3.
118. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* 2001; 54(3): 176-186.
119. Nordberg J, Arnér ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine* 2001; 31(11): 1287-1312.
120. Mitchell JB, Russo A. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity. *The British Journal of Cancer* 1987; 8: 96-104.
121. Compoti M. Glutathione depleting agents and lipid peroxidation in the aging rat. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1987; 88: 177-180.
122. Ziegler DM. Role of reversible oxidation-reduction of enzyme thiols-disulfides in metabolic regulation. *Annual Review of Biochemistry* 1985; 54: 305-329.
123. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1986;

- 246(2): 501-514.
124. Ji LL. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radical Biology & Medicine* 1995; 18(6) : 1079-1086.
 125. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *The Journal of Nutrition* 1989; 119: 109-111.
 126. Chao JC, Huang CH, Wu SJ, Yang SC, Chang NC, Shieh MJ, Lo PN. Effects of beta-carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2002; 13(7): 427-434.
 127. Steinberg FM, Chait A. Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers. *The American Journal of Nutrition* 1998; 68(2): 319-327.
 128. Jialal I, Grundy SM. Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation* 1993; 88(6): 2780-2786.
 129. Van Haften RI, Evelo CT, Penders J, Eijnwachter MP, Haenen GR, Bast A. Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives. *Biochimica et Biophysica Acta* 2001; 1548(1): 23-28.
 130. Singh U, Jialal I. Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2004; 1031:195-203.
 131. Burkitt MJ. Chemical, biological and medical controversies surrounding the fenton reaction. *Progress in Reaction Kinetics and Mechanism* 2003; 28: 75-103.
 132. Cha MK, Kim IH. Ceruloplasmin has a distinct active site for the catalyzing glutathione-dependent reduction of alkyl hydroperoxide. *Biochemistry* 1999; 38(37): 12104-12110.
 133. Park YS, Suzuki K, Taniguchi N, Gutteridge JM. Glutathione peroxidase-like activity of caeruloplasmin as an important lung antioxidant. *FEBS Letters* 1999; 458(2): 133-136.
 134. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science* 1993; 84(4): 407-412.
 135. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Barclay LRC, Locke SJ. The relative contribution of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical

- trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochimica et Biophysica Acta* 1987; 924: 408-419.
136. Romay C, Pascual C, Lissi EA. The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1996; 29: 175-83.
137. Quiles JL, Huertas JR, Manas M, Battino M, Ochoa JJ, Mataix J. Plasma antioxidants are strongly affected by iron-induced lipid peroxidation in rats subjected to physical exercise and different dietary fats. *Biofactors* 1998; 8: 119-127.
138. Kristian T, Siesjö BK. Calcium in ischemic cell death. *Stroke* 1998; 29: 705-718.
139. Siesjö BK. Historical overview. Calcium, ischemia, and death of brain cells. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1988; 522: 638-661.
140. Chan PH. Reactive Oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2001; 21:2-14.
141. Small DL, Buchan AM. NMDA antagonist: their role in neuroprotection. *International Review of Neurobiology* 1997; 40: 137-171.
142. Dugan LL, Choi DW. Excitotoxicity, free radicals, and cell membrane changes. *Annals of Neurology* 1994; 35: 17-21.
143. Demirkaya S, Topçuoğlu MA, Aydın A, Ulas UH, Isimer AL, Vural O. Malondialdehyde, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in peripheral blood erythrocytes of patients with acute cerebral ischemia. *European Journal of Neurology* 2001; 8(1): 43-51.
144. Parizadeh MR, Azarpazhooh MR, Mobarra N, Nematy M, Alamdari DH, Tavalaei S, Sahebkar A, Hassankhani B, Ferns G, Ghayour-Mobarhan M. Prooxidant-Antioxidant Balance in Stroke Patients and 6-month Prognosis. *Clinical Laboratory* 2011; 57(3-4): 183-91.
145. Pathology. [hms.harvard.edu/labs/bonni/topic2.htm./images/cbc_oxi.jpg](https://hms.harvard.edu/labs/bonni/topic2.htm/images/cbc_oxi.jpg) (2013).
146. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry* 2004; 37: 112-119.
147. Yıldız Dinçer, Selin Kankaya. DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay. *Türkiye Klinikleri* 2010;30(4): 1365-1373.
148. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status.

- Clinical Biochemistry. 2005; 47: 119-129.
149. Berrocoso TG, Penalba A, Boada C, Giralt D, Cuadrado E, Colomé N, Dayon L, Canals F, Sanchez JC, Rosell A, Montane J. From brain to blood: New biomarkers for ischemic stroke prognosis. *Journal of Proteomics* 2013; 6 : 138-148.
 150. Nafria C, Fernández-Cadenas I, Mendioroz M, Domingues-Montanari S, Hernández-Guillamón S, Fernández-Morales J, Río-Espínola A, Giralt D, Deu L, Delgado P, Rosell A, Montaner J. Update on the Serum Biomarkers and Genetic Factors Associated with Safety and Efficacy of rt-PA Treatment in Acute Stroke Patients. *Stroke Research and Treatment* 2011 doi:10.4061/2011/182783.
 151. Kuwashiro T, Ago T, Kamouchi M, Matsuo R, Hata J, Kuroda J, Fukuda K, Sugimori H, Fukuhara M, Awano H, Isomura T, Suzuki K, Yasaka M, Okada Y, Kiyohara Y, Kitazono T. Significance of plasma adiponectin for diagnosis, neurological severity and functional outcome in ischemic stroke - Research for Biomarkers in Ischemic Stroke (REBIOS). *Metabolism Clinical and Experimental* 2014; 63(9): 1093-1103.
 152. Ünüvar N, Mollahaliloğlu S, Yardım N, Bora Başara B, Dirimeşe V, Özkan E, Varol Ö. Türkiye Hasatalık Yüku Çalışması 2004, Sağlık Bakanlığı Aydoğdu Ofset Matbaacılık, 2007: 24-51.
 153. Kumral E, Balkır K. İnme Epidemiyolojisi. Serebrovasküler hastalıklar. Balkan S(edt). Ankara. Güneş kitabevi. 2002: 38-48.
 154. Kumral K, Kumral E. Santral Sinir Sisteminin Damarsal Hastalıkları. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları. No:72 İzmir. 1993: 1-446.
 155. Pak H, Chan, Reactive Oxygen Radicals in Signaling and Damage in the Ischemic Brain; *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2001; 21: 2-14.
 156. Chan PH. Reactive Oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2001; 21: 2-14.
 157. Choi DW. Calcium and excitotoxic neuronal injury. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1995; 747: 162-71.
 158. Kristian T, Siesjö BK. Calcium in Ischemic cell death. *Stroke* 1998; 29: 705- 18.
 159. Demirkaya S, Topçuoğlu MA, Aydın A, Ulas UH, Isimer AL, Vural O. Malondialdehyde, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in peripheral blood erythrocytes of patients with acute cerebral ischemia. *European Journal of*

Neurology 2001; 8:43-51.

160. Cano C.P. Bermudez V.P. Atencio H.E. Medina M.T. Anilsa A. Souki A. Molina O.M. Restrepo H. Vargas M.E. Nunez M. Ambard M. Toledo A. Contreras F. Velasco M. Increased serum malondialdehyde and decreased nitric oxide within 24 hours of trombotic stroke onset. *American Journal of Therapeutics* 2003; 10: 473-476.
161. Kehoe K, Brouns R, Verkerk R, Engelborghs S, Deyn RP, Hendriks D, Meester I. Prolyl Carboxypeptidase Activity Decline Correlates with Severity and Short-Term Outcome in Acute Ischemic Stroke: *Neurochemical Research* 2014: doi:10.1007/s11064-014-1468-y.

