

**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL İSKEMİK İNME MODELİNDE ETİL PİRÜVAT VE N ASETİL  
SİSTEİN UYGULAMASININ BEYİNDE OLUŞAN İSKEMİ REPERFÜZYON  
HASARI ÜZERİNE OLAN KORUYUCU ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Özgen GÖNENÇ ÇEKİÇ**

**TRABZON - 2015**

**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL İSKEMİK İNME MODELİNDE ETİL PİRÜVAT VE N ASETİL  
SİSTEİN UYGULAMASININ BEYİNDE OLUŞAN İSKEMİ REPERFÜZYON  
HASARI ÜZERİNE OLAN KORUYUCU ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Özgen GÖNENÇ ÇEKİÇ**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Süha TÜRKMEN**

**TRABZON - 2015**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, kendilerinden çok şey öğrendiğim ve tezimin hazırlanmasında çok değerli yardımları bulunan tez danışmanım Doç. Dr. Süha TÜRKMEN'e, değerli hocalarım Prof. Dr. Abdülkadir GÜNDÜZ'e, Doç. Dr. Süleyman TÜREDİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Yunus KARACA'ya, Yrd. Doç. Dr. Aynur ŞAHİN'e, eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim kıdemlilerime diğer tüm hocalarıma, desteklerinden ve arkadaşlığından dolayı Uzm. Dr. Umut ERYİĞİT'e beraber görev yaptığım her biri benim için çok değerli olan asistan arkadaşlarıma, canım arkadaşım, yol arkadaşım Dr. Hava Semra VURAN'a, tüm doktor, hemşire, teknisyen, sekreter, idari görevlilere ve sağlık personeline; zorlu ve bir o kadar yoğun geçen acil asistanlığı boyunca desteğini ve sevgisini her zaman yanımda hissettiğim sevgili eşim Yrd. Doç. Dr. Arif Burak ÇEKİÇ'e, bugünlere gelmemi sağlayan babama, canım kardeşime ve her daim en büyük destekçim olan ve kızım Nisan'a uzun nöbetler boyu bizlerin yokluğunu hissettirmeyen biricik anneme gönülden teşekkür ederim.

Dr. Özgen GÖNENÇ ÇEKİÇ

## ÖZET

### DENEYSEL İSKEMİK İNME MODELİNDE ETİL PİRÜVAT VE N ASETİL SİSTEİN UYGULAMASININ BEYİNDE OLUŞAN İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE OLAN KORUYUCU ETKİSİNİN İNCELENMESİ

**Amaç:** İnme dünyada koroner arter hastalığı ve kanserden sonra üçüncü ana ölüm sebebi olup, sakatlığa yol açan hastalıklar arasında ise birinci sıradadır. Acil servise inme ile başvuran hastaların erken tanısı, tedavi ve komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir. Bu çalışmada NAC ve etilpiruvatın iskemi/reperfüzyon hasarını önlemedeki etkinliğini; SCUBE1, İMA ve MDA ölçümleri ile ve histopatolojik değerlendirme ile göstermeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma etik kurul izni alındıktan sonra ortalama 250 gr ağırlığında ratlar üzerinde deneysel olarak yapılmıştır. Her bir deney grubunda 7 adet dişi rat olmak üzere toplam 21 adet dişi rat (toplam 3 grup) kullanıldı. Akut iskemi oluşturulan değişik grup ratlarda prosedür sonrasında kan ve doku örnekleri alınmıştır. İskemi oluşturulan ve kontrol grubu ratlarda SCUBE1, İMA, MDA düzeyleri çalışılmış. Elde edilen beyin dokuları histopatolojik olarak incelenmiştir.

**Bulgular:** Grup 1'in, grup 2 ve grup 3 e göre dejeneratif nöron yüzdesi daha fazladır (p değerleri sırasıyla  $p^a = 0.003$ ,  $p^c = 0.003$ ). Grup 3 ve grup 4 arasında da anlamlı fark bulunup ( $p=0.004$ ), NAC verilen grubun dejeneratif nöron yüzdesi etilpiruvat grubuna göre anlamlı ölçüde düşük olduğu bulundu. Gruplar arası SCUBE1, İMA ve MDA düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

**Sonuç:** Çalışmamızda akut iskemik inmeli hastalarda uygulanan trombolitik tedavi ile birlikte NAC ve etilpiruvatın kullanımının iskemi reperfüzyon hasarını önlediği önlediği sonucuna varılmıştır

**Anahtar Kelimeler:** İskemi reperfüzyon hasarı, nöroprotektif ajan, N asetilsistein, etilpiruvat, akut serebrovasküler olay, trombolitik tedavi.

## SUMMARY

### INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF N-ACETYL-CYSTEINE AND ETHYL PYRUVATE ON CEREBRAL ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN AN EXPERIMENTAL ISCHEMIC STROKE MODEL

**Aim:** Stroke is the third major cause of death worldwide after coronary artery disease and cancer, but occupies first place among those diseases resulting in disability. Early diagnosis of patients presenting to the emergency department with stroke is important in terms of treatment and preventing complications. The purpose of this study was to determine the effectiveness of N-acetylcysteine and ethyl pyruvate in preventing ischemia/reperfusion injury with histopathological evaluation and SCUBE1, IMA and MDA measurements.

**Materials and Methods:** Following ethical committee approval, the study was performed experimentally on rats weighing a mean 250 gr. Twenty-one female rats were divided into four groups of seven members each. Blood and tissue specimens were collected following the procedure from various rat groups with induced acute ischemia. SCUBE1, IMA and MDA levels were investigated in the induced ischemia and control groups. The brain tissues obtained were examined histopathologically.

**Results:** Degenerative neuron percentages were higher in Group 1 compared to groups 2 and 3 ( $p^a = 0.003$  and  $p^c = 0.003$ , respectively). A significant difference was also determined between groups 2 and 3 ( $p = 0.003$ ), with degenerative neuron percentages in the group receiving NAC being significantly lower than those in the ethyl pyruvate group. No differences in IMA, SCUBE1 and MDA levels between the all groups.

**Conclusion:** We conclude that the use of NAC and ethyl pyruvate together with appropriate thrombolytic therapy in patients with acute ischemic stroke can prevent ischemia-reperfusion injury.

**Key Words:** Ischemia reperfusion injury, neuroprotective agents, acute ischemic stroke, N-acetylcysteine, Ethyl pyruvate, thrombolytic therapy.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET .....	iii
SUMMARY .....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Serebrovasküler Hastalık (SVH) Tanımı .....	2
2.2. İskemik İnme .....	3
2.2.1. İskemik İnme Epidemiyolojisi.....	3
2.2.2. İskemik İnme Risk Faktörleri .....	4
2.2.3. İskemik İnme Sınıflaması .....	5
2.2.4. İskemik İnmede Patofizyoloji.....	9
2.2.5. İskemik İnme Ayırıcı Tanıları .....	10
2.2.6. İskemik İnmede Tanı ve Değerlendirme .....	11
2.2.7. İskemik İnmede Tedavi Yaklaşımları.....	15
2.3. SCUBE1.....	16
2.4. İskemi Modifiye Albumin (İMA) .....	17
2.5. Malondialdehid (MDA) .....	18
2.6. Etil Pirüvat ve N-Asetilsistein (NAC) .....	19
3. MATERYAL VE METOD .....	20
3.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması .....	21
3.2. Laboratuvar İncelemesi.....	21
3.2.1. SCUBE 1 Düzeyinin Belirlenmesi .....	21
3.2.2. İMA Düzeyinin Belirlenmesi .....	22
3.2.3. Plazma Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi .....	22
3.3. Deneklerin Histopatolojik İncelenmesi .....	23
3.4. İstatiksel Analiz .....	23
4. BULGULAR.....	25

4.1. Deneklerin SCUBE1 Değerleri.....	25
4.2. Deneklerin İMA Değerleri.....	25
4.3. Deneklerin MDA Değerleri .....	25
4.5. Deneklerin Histopatolojik Değerlendirilmesi .....	26
5. TARTIŞMA .....	30
6. SONUÇ .....	35
7. KAYNAKLAR .....	36



## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AF</b>	: Atriyal Fibrilasyon
<b>AHA</b>	: American Heart Association
<b>ASA</b>	: American Stroke Association
<b>ASCO</b>	: Atherothrombosis, Small vessel disease, Cardiac causes, and Other uncommon causes
<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>BBT</b>	: Bilgisayarlı Beyin Tomografisi
<b>CCS</b>	: Causative Classification of Stroke System
<b>CISS</b>	: Chinese Ischemic Stroke Subclassification
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>DSA</b>	: Digital Subtraction Angiografi
<b>DTT</b>	: Dithiothreitol
<b>ELISA</b>	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
<b>GİA</b>	: Geçici İskemik Atak
<b>GKS</b>	: Glaskow Koma Skalası
<b>İSK</b>	: İntraserebral Kanama
<b>İMA</b>	: İskemi Modifiye Albumin
<b>KAH</b>	: Koroner Arter Hastalığı
<b>MDA</b>	: Malondialdehid
<b>MI</b>	: Miyokardiyal İnfarktüs
<b>MRG</b>	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>NIHSS</b>	: National Institute of Health Sciences Scale
<b>SAK</b>	: Subaraknoid Kanama
<b>SCUBE1</b>	: Signal Peptide-Cub-Egf domain-containing protein 1
<b>SSS</b>	: Santral Sinir Sistemi
<b>SPSS</b>	: Statistical Package for Social Sciences
<b>SVH</b>	: Serebrovasküler Hastalık
<b>SVO</b>	: Serebrovasküler Olay
<b>TOAST</b>	: Trial of Org in Acute Stroke Treatment
<b>tPA</b>	: Doku Plazminojen Aktivatörü
<b>USG</b>	: Ultrasonografi
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü



<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>HIF-1</b>	: Hypoxia-inducible factor-1
<b>NAC</b>	: N-asetilsistein
<b>SOR</b>	: Serbest Oksijen Radikalleri
<b>NOS</b>	: Reaktif nitrojen türleri



## TABLolar DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Tablo 1. Grupların SCUBE1, İMA, Serum MDA Ortalama ve Standart Deviasyon ( $\pm$ SD) Değerleri.....	26
Tablo 2. Beyin Dokusu Dejeneratif Nöron Yüzdesi Ortalamasına Göre Gruplar .....	28



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 1. Beyin dokusu korteksine ait fotomikrograf (Krezil viyole X 200) (A: Grup 1; B: Grup 2, C: Grup 3). Normal morfolojide piramidal nöronlar ( $\Delta$ ), dejeneratif piramidal nöronlar ( $\uparrow$ ).....	27
Şekil 2. Beyin Dokusu Korteksine ait Fotomikrograf (Krezil Viyole X 400) Normal Morfolojide Piramidal Nöronlar ( $\Delta$ ), Dejeneratif Piramidal Nöronlar ( $\uparrow$ ). ....	28
Şekil 3. Grupların Histolojik Grade'e Göre Dağılımı .....	29



# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnme; serebrovasküler hastalığa (SVH) bağlı olarak gelişen, ani yerleşimli, fokal nörolojik bir sendromu ifade etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tanımına göre inme; vasküler nedenler dışında görünür bir neden olmaksızın, fokal serebral fonksiyon kaybına ait belirti ve bulguların hızla yerleşmesi ile karakterize, 24 saatten uzun süren veya ölümlle sonlanabilen klinik bir sendromdur (1). Bulgular 1-2 günde kısmen veya tam olarak düzelme, kalıcı hasar ve ölüm ihtimalini içeren geniş bir değişkenlik gösterir.

Yapılan araştırmalar acil servise inme ile gelen hastaların erken teşhis ve tedavisi ile bu hastalığın mortalite ve morbidite üzerine etkilerini azaltabileceğini göstermiştir (2). Özellikle iskemik inme tedavisinde kullanılan trombolitik ajanlar gibi yeni tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile erken dönem tedavide büyük başarı elde edilmiştir (3). Bu nedenle inmeyle karışabilecek durumları dışlamak ve inme hastalarında erken dönemde tanı koyabilmek için acil servislerde kullanılacak kolay ulaşılabilir, hızlı sonuç veren ve beyin hasarını gösteren güvenilir yeni biyokimyasal belirteçlere olan ilgi artmıştır (4).

Serebrovasküler hastalık patogeneğinde ateroskleroz oluşumu için inflamatuvar süreç önemli bir basamaktır. Deneysel serebral iskemi çalışmalarında vasküler hücre adezyon molekülleri gibi pek çok molekülün salınımının arttığı görülmüştür. Adezyon moleküllerinin plazmadaki seviyelerinin ölçümünün endotelial disfonksiyon veya inflamasyon neticesinde gelişen aterogenezis hakkında önemli bilgi verebileceği düşünülmektedir (5). Trombolitik tedavi uygulanan hastalarda düşünülmesi gereken bir diğer durumda iskemi / reperfüzyon sonucu oluşan hasardan hastanın korunması olmalıdır. Bu amaçla deneysel olarak oluşturulan iskemik inme modelinde trombolitik tedavi öncesi etil piruvat ve NAC kullanımının oksidatif hasarı önleyeceğini, oluşacak iskemik hasarın indirekt göstergesi olan SCUBE1, IMA ve MDA değerlerinin tromboliz öncesi NAC ve etil piruvat verilen hastalarda, verilmeyen hastalara göre daha düşük olacağını düşünmekteyiz ve mevcut çalışma ile bunu ayrıca histopatolojik olarak da göstermeyi amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Serebrovasküler Hastalık (SVH) Tanımı

Serebrovasküler olay (SVO), serebrovasküler hastalık (SVH), adı verilen inme genel anlamda beyin damarlarındaki herhangi bir patolojiye bağlı olarak serebral kan akımının ve fonksiyonun ani bozulması ile ortaya çıkan klinik bir tablodur.

İnme, dünyada koroner arter hastalığı ve kanserden sonra üçüncü ana ölüm sebebi olup, sakatlığa yol açan hastalıklar arasında ise birinci sıradadır (6). ABD'de, yılda ortalama 795.000 kişi inme geçirmektedir ve bu inmelerin % 77'si ilk inme, % 23'ü tekrarlayan inmedir (7). İnme, acil nöroloji servislerine başvuran bütün vakaların %50'sini, kronik bakım servislerinde yatan vakaların %15'ini oluşturmaktadır (8). Yapılan araştırmalar acil servise inme ile gelen hastaların erken teşhis ve tedavisi ile bu hastalığın mortalite ve morbidite üzerine etkilerini azaltabileceğini göstermiştir (2). Ancak teknolojik gelişmeler ve yeni tanı modalitelerinin gelişmesiyle beraber American Heart Association/ American Stroke Association (AHA/ASA) tarafından bir takım yeni tanımlamalar ve alt gruplar belirtilmiştir. AHA/ASA' ya göre "inme" kelimesi aşağıda bahsedilen patolojik durumların hepsini kapsamaktadır.

**Santral Sinir Sistemi (SSS) Enfarktı:** Beyin, spinal kord ve retinada patolojik, görüntüleme veya objektif bulgularla ispat edilen 24 saatten fazla süren veya ölümlü sonuçlanan, iskemi haricindeki diğer nedenlerin ekarte edildiği (travma gibi) fokal hücrel ölümdür.

**İskemik İnme:** Fokal serebral, spinal veya retinal enfarkt nedeniyle oluşan nörolojik disfonksiyon epizodu.

**Belirti Vermeyen SVH:** Lezyonla ilişkilendirilen hikaye mevcut olmadan görüntüleme ve nöropatolojik olarak ispatlanan serebrovasküler olay.

**İntraserebral Kanama:** Beyin parankiminde veya ventriküler sistemde travma kaynaklı olmayan bölgesel kan birikimi.

**İntraserebral Hemoraji Kaynaklı İnme:** Beyin parankimi veya ventriküler sistemde travma kaynaklı olmayan bölgesel kan birikimine bağlı nörolojik disfonksiyona bağlı hızlı şekilde gelişen klinik bulgular.

**Sessiz Serebral Kanama:** Lezyona bağlı olarak her hangi bir akut nörolojik hadise olmaksızın beyin parankimi, subaraknoid mesafe ve ventriküler sistemde kronik olarak bölgesel kanamamın nörolojik görüntüleme veya nöropatolojik değerlendirmede tespit edilmesi.

**Subaraknoid Kanama (SAK):** Subaraknoid mesafeye kanama(Subaraknoid mesafe: Beyin veya spinal kordun araknoid zarı ile piamater arasındaki boşluk).

**SAK Nedenli İnme:** Travma nedenli oluşmayan SAK'a bağlı gelişen nörolojik disfonksiyon veya baş ağrısı.

**Serebral Venöz Tromboz Nedenli İnme:** Serebral venöz yapıların trombozu nedeniyle beyin, spinal kord veya retinada oluşan enfarkt veya hemoraji. Enfarkt veya kanama olmaksızın ödem nedeniyle oluşan ve geri dönüşlü olan bulgu ve belirtiler inme olarak sınıflandırılmaz.

**Başka Şekilde Tanımlanamayan İnme:** İskemi veya hemoraji nedeniyle oluştuğu düşünülen ama yukarıdaki sınıflamalardan her hangi birine dahil edilemeyen 24 saatten uzun süren veya ölüme neden olan akut nörolojik disfonksiyon (9).

Bahsedilen bu inme tiplerinden % 87 si iskemik tipte inme, % 10 kadarı intaserebral kanama, % 3'lük kısmı ise subaraknoid kanama nedenlidir (10).

## 2.2. İskemik İnme

### 2.2.1. İskemik İnme Epidemiyolojisi

İnme, Avrupa'da morbidite ve uzun vadeli özür lülüğün ("longterm disability") en önemli sebebidir. Yaşlılardaki epilepsinin en sık, demansın ikinci en sık, depresyonun da sık nedenleri arasındadır (11). ABD'de de her yıl 700.000 yeni inme olgusu gelişmekte ve bu hastalarında %20'si aynı yıl içerisinde ölmektedir (12). ABD'de inme sonrası yaşayan yaklaşık 4.5 milyon hasta bulunduğu ve bu sayının inme yönetimindeki gelişmelerle daha da artacağı tahmin edilmektedir (16).

Kuzey Amerika ve Avrupa'da tüm inme hastalarının %85'i iskemik,% 15'i hemorajik (% 8'i intraserebral kanama (ISK) ve % 7'si de SAK) nedeniyle meydana gelmektedir. Asya'da ise hemorajik inmelerin oranları % 30'a çıkarak bir farklılık gösterir (13). Türkiye' de tüm ölümlerin % 40.6'sı kalp damar hastalıklarından, % 6.8'i SVH'lardan kaynaklanmaktadır. Türkiye'de üçüncü en sık ölüm nedeni bu oranla SVH'dır. (14). Gelişmekte olan ülkeler ve beyaz olmayan popülasyon ile gelişmiş ve beyaz popülasyon arasında inme alt tipleri, nedenleri ve risk faktörleri açısından farklılıklar vardır. Londra'da siyah popülasyon ile beyaz popülasyon karşılaştırıldığında siyah popülasyonda inme insidansının fazla bulunmasıyla genetiğin inme üzerindeki etkisi gösterilmiştir (15). Kırsal alanlarda önleyici tedavilerin uygulanması, şehirlere göre yetersiz olduğu için inme insidansı kırsal kesimde daha fazladır (15).

### **2.2.2. İskemik İnme Risk Faktörleri**

Bir hastalığın oluşmasına zemin hazırlayan etkenler risk faktörü olarak tanımlanır. İskemik inme risk faktörleri; risk faktörünün değiştirilebilirliği, inmenin alt tipleri ve inme ile ilişkisinin bilimsel kanıtı dikkate alınarak sınıflanabilir.

#### **2.2.2.1. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri (16)**

- Yaş
- Cinsiyet
- Irk
- Genetik
- Düşük doğum ağırlığı

#### **2.2.2.2. İyi Kanıtlanmış Değiştirilebilir Risk Faktörleri**

- Hipertansiyon (HT)
- Sigara
- Diabetes Mellitus (DM)

- Atrial Fibrilasyon (AF)
- Diğer Kardiyak astalıklar
- Dislipidemi Belirti Vermeyen Karotit Stenozu
- Orak Hücreli Anemi
- Postmenapozal Hormonal Terapi
- Diyet ve Beslenme
- Fiziksel İnaktivite
- Obezite

### **2.2.2.3. Kanıt Düzeyi Daha Az Veya Potansiyel Değiştirilebilir Risk Faktörleri**

- Metabolik sendrom
- Alkol kötüye kullanımı
- İlaç kötüye kullanımı
- Oral kontraseptif kullanımı
- Uyku apne sendromu
- Migren
- Hiperhomosisteinemi
- Yüksek lipoprotein a
- Yüksek lipoprotein-ilişkili fosfolipaz A2
- Hiperkoagülopati
- İnflamasyon
- Enfeksiyon

### **2.2.3. İskemik İnme Sınıflaması**

Akut iskemik inmeli hastaların doğru tedavisi için bir takım sınıflamalar mevcuttur. İnme etyolojisine yönelik ilk sınıflandırmalar, genellikle lezyonun patolojisi esas alınarak yapılmış ve tüm inmeler “iskemik” veya “hemorajik” olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda ise ileri



nöroradyolojik, kardiyolojik, hematolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler ve lezyonun patolojisi ile birlikte, lezyonun lokalizasyonu ve oluş mekanizması göz önüne alınarak sınıflandırmalar yapılmıştır. Çalışmamızın konusu iskemik inme olduğundan “serebral iskemi” ele alınacaktır.

Günümüzde en yaygın kullanılan sınıflama 1993 yılında yayınlanan TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) sınıflamasıdır (17). TOAST sınıflamasından hareketle daha sonraki dönemde CCS (Causative Classification of Stroke System), ASCO (Atherothrombosis, Small vessel disease, Cardiac causes, and Other uncommon causes), CISS (Chinese ischemic stroke subclassification) sistemleri geliştirilmiş olsa da şu an için en yaygın kullanılan sınıflama sistemi TOAST sistemidir (18). Burada en yaygın kullanılan sistem olan TOAST sistemi hakkında ayrıntılı bilgi verilecektir.

Akut iskemik inme TOAST sınıflaması (17).

- 1- Büyük arter ateroskleroza % 30-40
- 2- Kardiyembolizm % 20-30
- 3- Küçük damar oklüzyonu % 20-30
- 4- Diğer belirlenebilir nedenler % 5-10
- 5- Nedeni belirlenemeyenler (kriptojenik) % 15

**1. Büyük arter ateroskleroza:** Büyük, ekstrakraniyal, subaortik ve intrakraniyal (orta, anterior, posterior serebral arter ve basiller arter dalları) arterlerin ateroskleroza bağlı gelişen önemli darlık (%50'den fazla darlık), tıkanıklık veya ülser plak (2mm'den kalın) ve bunların görüntüleme yöntemleri ile gösterilmesi veya klinik bulgu vermesi, beraberinde kardiyojenik emboli kaynağı olmadan, kortikal, beyin sapı veya serebellar disfonksiyon bulgularının olması temel kriterleri oluşturur.

Ayrıca infarkt ile aynı tarafta servikal üfürümün varolması, öncesinde GİA, aynı tarafta infarkt öyküsü, özgeçmişinde kalp hastalığı, alt ekstremitelerde intermitant kladikasyonun olması, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve/veya beyin tomografisinde (BBT) karotid veya vertebrobasiller alanda 1.5 cm'nin üzerinde kortikal veya subkortikal infarktın gösterilmesi ve anjiyografide vasküler bölgeyi kapsayan tıkanıklık veya darlığın gösterilmesi büyük arter ateroskleroza bağlı inmeyi gösteren diğer klinik ve görüntü kriterlerini oluşturur.

**2. Kardiyembolizm:** Tüm iskemik inmelerin %20'sini oluşturan kardiyembolizmde, arteriyal oklüzyonun sebebi kalpten kaynaklanan embolilerdir. Büyük arterlerde ateroskleroz olmadan kalpte emboliye sebep olabilecek en az bir potansiyel patolojinin olması temel kriterdir. Kardiyak nedenler yüksek risk ve orta risk grupları olarak ikiye ayrılır. Emboli için orta risk kriterlerinden birine sahip olan ve inme geçiren ve başka neden bulunamayan hastalarda kardiyembolizmden şüphelenilmelidir (17). Kardiyembolik inmeler, ani gelişen, bazen bilinç bozukluğunun eşlik ettiği inmelerdir. Başlangıçta sıklıkla epileptik nöbetler inmeye eşlik eder, bazı vakalarda ise, ilerleyen saatlerde, nörolojik defisit hızla düzelmeler gözlenebilir. BT veya MR'da, geniş arter aterosklerozunda olduğu gibi, bir arter alanına uyan geniş kortikal infarktlar görülmekle birlikte, değişik vasküler alanlarda birden fazla lezyonun varlığı ayırıcı tanıda yol göstericidir. Bu vakalarda geniş arter aterosklerozu ekarte edilmelidir.

**Yüksek riskli kardiyembolik kaynaklar (17):**

- Mekanik kapak protezleri
- Atrial fibrilasyonun eşlik ettiği mitral stenoz
- Atrial fibrilasyon
- Sol atrial/atrial tepe trombusu
- Hasta sinüs sendromu
- Geçirilmiş myokard infarktüsü (MI) (< 4 hafta)
- Sol ventrikülde trombus
- Dilate kardiyomiyopati
- Akinetik sol ventriküler segment
- Atriyal miksuma
- İnfektif endokardit

**Orta riskli kardiyembolik kaynaklar:**

- Kalıcı atriyal flutter
- Mitral valv prolapsusu
- Mitral kapak kalsifikasyonu
- Sol atrial türbülans
- Atriyal septal anevrizma
- Patent foramen ovale

- Atrial flutter
- Bioprostetik kalp kapağı
- Nonbakteriel trombotik endokardit
- Konjestif kalp yetmezliği
- Hipokinetik sol ventriküler segment
- MI (> 4 hafta, < 6 ay)

**3. Küçük damar tıkanıklığı:** Genellikle, hipertansiyon veya diyabeti olan yaşlı hastalarda ortaya çıkan bu inme tipi, tüm iskemik inmelerin %25'ini oluşturur. Küçük damar oklüzyon tanısı için, laküner infarktlara özgü klinik sendromların varlığı (pür motor, pür sensoryal, sensorimotor inme ve ataksik hemiparezi vb) ile birlikte, BT/MR'da saptanan infarkt çapının 1.5 cm.'den küçük olması gereklidir. Tanım olarak kortikal bulgu ve belirti olmadan laküner infarktla uyumlu klinik bulgu olmalı, potansiyel bir kardiyak kaynak ve ekstrakraniyal damarlarda, ipsilateral%50'den fazla darlık veya emboli olmamalıdır. BBT veya MRG'de bulgu olmayabilir.

**4. Diğer belirlenebilir nedenler:** Büyük arter veya kardiyoembolik sebepler olmadan görülen vasküler sorunlar, hiperkoagulopati durumları, hematolojik hastalıklar, diğer metabolik ve herediter hastalıklar, migren infarktüsü ve vasospazm gibi nadir diğer nedenlerdir.

**5. Nedeni belirlenemeyenler:** Bu grupta ayrıntılı tetkiklere rağmen etyolojisi bulunamayan serebral infarktlarla, yeterli tetkik edilemeyen vakalar yer alır. Bazı hastalarda çok detaylı araştırma yapılsa bile bazen neden saptanamayabilir. Bu grupta hekimin son tanıyı koymasına için karar veremediği birden çok nedensel durum da olabilir.

TOAST'a göre; yanlış ve/veya yetersiz değerlendirme ve 2 veya daha fazla neden tanımlanması olarak gruplanır (17,18).

Sonuç olarak hastaların % 15'i kadarında neden kriptojeniktir yani nedeni bulunamaz ancak kriptojenik demek için bütün testler yapılarak diğer olası nedenler ekarte edilmelidir. Bilimsel araştırmalar ilerledikçe bu oranın düşeceğine inanılmaktadır (19).

#### 2.2.4. İskemik İnmede Patofizyoloji

Ortalama erişkin beyin ağırlığı 1500 gram üzerindedir. Normal kortikal kan akımı dakikada 60ml/100 gr beyin dokusu civarındadır. Vücut ağırlığına oranla beyin ağırlığı çok fazla olmasa da kalp debisinin beşte biri beyin dolaşımına gider. Bu miktar beyin hayati fonksiyonlarını devam ettirmesi için gerekli olan miktardır. Beyne gelen kan akımı belirli sınırlar içinde kan basıncı değişikliklerine rağmen sabit tutulur. Bu mekanizmaya serebral otonöregülasyon denir. Serebral otonöregülasyon ortalama arteriyel basıncın 70-160 mmHg arasındaki değişikliklerinde işler, bu limitleri aşan hipotansiyon ve hipertansiyonda yetersiz kalır (20). Beyin dokusunun iskemiyeye toleransı çok sınırlıdır. Beyni besleyen bütün damarlarda kan akımı kesildiği zaman, iskemiyeye hassas bölgelerde 6-8 dakika içerisinde kalıcı hasar meydana gelir. Serebral kan akımı 8 ml/ 100g/dk seviyesinin altına düştüğünde ise doku nekrozu ve serebral enfarkt süreci başlar (21). Devam eden hipoperfüzyon sürecinde iskemi bölgesinde iki katman oluşur. Birinci katman ortalama 10–12 ml/100 g/dk kan akımı olan yoğun iskemik merkez ve bu katmanın etrafında kollateral akım sayesinde 18–20 ml/100 g/dk kan akımı olan ve elektriksel nöronal işlevin bozulduğu ancak yaşayan nöronların bulunduğu bir katman bulunur. Bu katmana “iskemik penumbra bölgesi” denir ve erken reperfüzyon stratejilerinin hedeflediği asıl iskemik bölge iskemik penumbra bölgesidir (22). Penumbra dokusunun en geniş olduğu dönem inmeyi takip eden en erken dönem olduğu için tedavi mümkün olan en kısa zamanda başlamalı, ilk 6 saatte muhakkak yapılmalıdır. Global veya fokal iskemi sonrası parankimal dokunun hasarı, iskemi sırasındaki bölgesel serebral kan akımına ve iskeminin süresine bağlıdır. İskemiyeye uğrayan doku belirli bir süre sonra reperfüze olduğunda dokular normal fonksiyonlarına geri dönebilir. Ancak hasarlı doku ile kan karşı karşıya geldiğinde yeni hasarlar veya infarkt gelişebilir. Kan akımının normalleşmesi sırasında olan hasarlanmaya ‘iskemi reperfüzyon hasarı (I/R) ‘ denir. Reperfüzyon hasarı nöronal hasara sebep olur ve bu da geç dönemde klinik kötüleşmeden sorumludur.

### 2.2.5. İskemik İnme Ayırıcı Tanıları

Acil servisler inme geçiren hastaların genellikle ilk başvurdukları yerdir. Libman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada inme ekibi doktorlarının görüntümeden önce inme tanısını % 81 oranında doğru koydukları saptanmıştır. Kalan % 19'luk hastada ise inmeyi taklit eden 4 yaygın neden belirlenmiştir. Bunlar epileptik nöbet sonrası motor veya duyuşsal kayıp, sistemik infeksiyonlar, intrakraniyal tümör ve toksik metabolik bozukluklardır (23).

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 (24). Bu yüzden acil servislere inme benzeri semptomlarla başvuran hastalarda ayırıcı tanıyı iyi yapmak gerekir.

#### **İskemik İnme İle Karışan Nörolojik Durumlar**

- Epilepsi
- Migren
- İntrakraniyal kitle
- Subdural kanama
- Epidural kanama
- Hipertansif ensefalopati
- Kranial veya periferik nöropatiler
- Medulla spinalisi etkileyen hastalıklar
- Santral sinir sistemi enfeksiyonları
- Vertigo

#### **İskemik İnme İle Karışan Metabolik Durumlar**

- Hiperglisemi/Hipoglisemi
- Elektrolit bozuklukları
- Aşırı ilaç alımı
- Üremik ensefalopati
- Hepatik ensefalopati

#### **İskemik İnme İle Karışan Psikiyatrik Hastalıklar**

- Major depresyon

- Konversiyon bozuklukları

### **İskemik İnme İle Karışan Diğer Durumlar**

- Senkop
- Sistemik infeksiyonlar
- Travmatik veya spontan diseksiyonlar

### **2.2.6. İskemik İnmede Tanı ve Değerlendirme**

İskemik inme klinik tanısı, ayırıcı tanısı ve tedavisi doğru medikal hikaye ve hastanın fiziksel değerlendirmesi ile yapılabilir. Tanı için birinci amaç iskemik inmeden mi yoksa nadir görülen diğer farklı nörolojik nedenlerden veya metabolik bozukluklardan mı olduğunu doğrulamaktır. Akut iskemik inmeli hastaların hızlı değerlendirilmesi trombolitik tedavinin tespiti için kritik olup, geri dönüştürülebilir dokuların kurtulması ve hastanın bozulan fonksiyonlarının geri kazandırılabilmesi için bu işlemler hızlı yapılmalıdır.

Doğru tanı için; iyi bir öykü, genel ve nörolojik muayene, kan analizleri, yardımcı testler ve görüntüleme yöntemleri gereklidir. Acil hekiminin iyi klinik muayenesinin tanı kesinliğine bakıldığında spesifisitesi % 99, sensitivitesi % 85 kadardır (24).

#### **2.2.6.1. Öykü**

Öyküde semptomların ne zaman başladığı, kafa veya boyun travması öyküsü, daha önceden benzer belirtilerin olup geçme öyküsü, ailesinde veya kendisinde bir vasküler hastalık varlığı, iskemik inmede risk oluşturan hipertansiyon, sigara, diyabet, dislipidemi, koroner kalp hastalığı öyküsü veya yakın zamanda geçirilmiş miyokard infarktüsü gibi özgeçmişteki diğer hastalıklar da sorgulanmalıdır (25). Özellikle belirtilerin ne zaman başladığı fibrinolitik tedavi için önemlidir. Dikkatli bir anamnez ve fizik muayene yaptıktan sonra hangi vasküler yapıda sorun olduğunu tahmin etmek muhtemeldir. Belirtiler atipik, vasküler risk faktörü yoksa ve hasta 40 yaşının altındaysa kokain, amfetamin ve benzeri madde kötüye kullanımı gibi diğer nadir sebepler düşünülmelidir.

### 2.2.6.2. Fizik Muayene

Yapılacak iyi bir genel ve nörolojik muayene ile inmenin, beyinde hangi lokalizasyonu etkilediği, etyolojisinin ne olduğu ve prognozunu ne olacağı hakkında bilgi edinebiliriz (13). İskemik inme tanısı doğruluğu rutin olarak daha fazla inme hastası ile karşılaşan doktorların yaptığı primer muayenede %92 olduğu, bu tür hastalarla daha az karşılaşan doktorlarda ise daha az olduğu gösterilmiştir (26).

Sol hemisferde (dominant hemisfer) bozulma olan hastalarda yaygın olarak görülen fizik muayene bulguları; afazi, sağ tarafta güç kaybı ya da hissizlik, sağ homonim hemianopsi ve sol tarafa bakmayı tercih etme eğilimi gözlenir.

Sağ hemisferde (dominant olmayan hemisfer) bozulma olan hastalarda yaygın olarak görülen fizik muayene bulguları; genelde sol tarafı ihmal veya yok sayma, sol tarafta güç kaybı ya da hissizlik, sol homonim hemianopsi ve sağ tarafa bakmayı tercih etme eğilimi gözlenir.

Beyin sapı ve serebellumda bozulma olan hastalarda yaygın olarak görülen fizik muayene bulguları; bilinç bozukluğu, ataksi veya koordinasyon bozukluğu, vertigo ya da baş dönmesi, çift görme, disfaji, nistagmus ve konuşma bozukluğu gibi bulgular gözlenir (27). Genel yapılan fizik muayenede özellikle kardiyovasküler sistem ayrıntılı olarak değerlendirilmeli aritmi özellikle atrial fibrilasyon tespit edilmesi, kardiyak ya da karotiste üfürüm tespiti bize olası iskemik inme etyolojisi hakkında fikir verebilir.

Nörolojik durumun değerlendirilmesi ve objektif olarak ortaya konması ve tedavinin yönlendirilmesinde National Institute of Health Sciences Scale (NIHSS) skalası yaygın olarak kullanılan bir ölçektir. NIHSS çok yaygın kullanılmasına rağmen daha sonra modifiye edilmesi için bir takım çalışmalar mevcuttur (28).

Biyokimyasal belirteçler inme şüphesi olan hastalarda tanı, ayırıcı tanı ve tedavi seçimi için gereklidir. İnmeye spesifik bir tanı yöntemi olmamasına rağmen bazı tetkikler ayırıcı tanı ve özellikle fibrinolitik gibi erken dönem tedavinin kullanılabilirliği açısından önemlidir.

### 2.2.6.3. Laboratuvar

Kan tetkiklerinin rutin olarak bütün hastalara yapılması gerekmektedir, ayrıca seçilmiş vakalara ek kan tetkikleri yapılabilir. İnme tanısında henüz yaygın kullanılan bir kan testi olmamasına rağmen inmenin ayırıcı tanılarını dışlamaya yardımcı olabilir, ayrıca fibrinolitik gibi tedavileri uygulamadan önce yapılması gereken kan analizleri vardır (29). Biyobelirteç keşfetmedeki zorluklar iskemik veya travmatik yaralanmadan sonra kan-beyin bariyerini geçen glial veya nöronal proteinlerin yavaş salınımı etrafında dönmektedir. Ayrıca, serebral iskemi belirteçleri tanısal spesifiteden eksiktir ve inmeyi taklit eden durumlarda da artmaktadır. İdeal inme biyobelirteçleri tanısal olarak enfarkta sensitif ve spesifik olmalı, iskemi ve hemoraji arasında ayırımı yapabilmeli, erken dönemde enfarktın hemen sonra stabil olarak salınmalı, öngörülebilir bir klirensi olmalı, terapilere kılavuzluk etmeli ve uygun maliyetli metotlar tarafından kantitatif olarak ve hızlıca ölçülebilmelidir. Yapılması gereken laboratuvar testleri iki gruba ayrılabilir.

#### **İskemik İnmede Rutin Yapılması Gerekl Testler**

- Tam kan sayımı
- Serum kan şekeri
- Serum elektrolitleri ve böbrek fonksiyon testleri
- Koagülasyon testleri (PT, PTT, INR)
- Elektrokardiogram
- Kardiyak enzimler
- Kontrastsız beyin bilgisayarlı tomografisi

#### **İskemik İnmede Seçilmiş Hastalarda Yapılması Gereken Testler**

- Gebelik testi
- Karaciğer fonksiyon testleri
- Kan alkol düzeyi
- İdrar veya kan toksikoloji paneli
- Arteriyel kan gazı
- Göğüs radyografisi
- Lomber ponksiyon



#### 2.2.6.4. İskemik İnme Tanısında Görüntüleme Yöntemleri

Akut inmeli hastalarda intrakraniyal kanamayı ekarte etmekte yapılacak ilk görüntüleme yöntemi kontrastsız beyin bilgisayarlı tomografisidir (BBT). Çünkü inmenin iskemik mi hemorajik mi olduğunu veya hangi subtipde olduğunu tek başına öykü, fizik muayene veya kan analizleriyle anlamak mümkün değildir. BBT yaygın kullanılan, kolay ulaşılan ve ucuz bir metoddur. İskemik inme için kontrastsız BBT'nin sensitivitesi % 16 spesifisitesi ise % 96'dır. Hemorajik inmede ise sensitivitesi % 89 spesifisitesi % 100'dür (30). BBT hızlı uygulanabilmesi, birçok merkezde yaygın olması, genel durumu kötü olan hastalara uygulama esnasında gözlem yapılabilir olması ve daha ucuz olmasıyla manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'dan daha avantajlıdır.

BBT'nin dezavantajı ise; iskeminin hiperakut döneminde infarktın gösterilememesi, beyin sapındaki ve serebellumdaki infarktlarla, küçük subkortikal infarktları göstermede yetersiz kalmasıdır.

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG), iskemik inmenin erken tanısında kullanılan sensitivitesi yüksek bir diğer görüntüleme yöntemidir. Yapılan çalışmalar difüzyon ağırlıklı MRG ile akut ve kronik iskemiye ayırmanın daha iyi olduğunu göstermiştir. Perfüzyon ağırlıklı MRG ise hipoperfüze dokunun miktarını belirlemeye yardımcı olur; penumbrayı yani kurtarılabilir bölgeyi veya birbirine uymayan iki bölgeyi ayırmada kullanılır. Perfüzyon ağırlıklı MRG fibrinolitik tedavi sonrası perfüze olan bölgenin kontrolünde de kullanılır (13).

MRG ve BBT nin karşılaştırıldığı değişik çalışmalarda farklı olmasına rağmen yapılan bir çalışmada iskemik inmede BBT sensitivitesi % 54 (% 49-59), MRG sensitivitesi ise % 89 (% 85-92) bulunmuştur (31). Buna rağmen MRG'nin hala her merkezde yaygın olarak kullanılmaması, pahalı olması, BBT kadar hızlı olmaması, genel durumu bozuk hastalarda uygulama zorluğu, pacemaker ve prostetik kapağı olan hastalarda kontrendike olmasından dolayı kullanım alanı kısıtlıdır.

İnme hastalarında etyoloji araştırılması ve tedavi planlanması için bazı durumlarda transkraniyal Doppler USG, Digital Subtraction Anjiyografi (DSA), BT anjiyografi veya MRG anjiyografi gibi anjiyografik tetkikler gerekli olabilir. Transkraniyal doppler USG özellikle karotis tıkanıklığında kullanılsa da, yanlış

pozitiflik görülebileceği bazı durumlarda non-invazif ve invazif anjiyografik tetkikler faydalı olabilir (32).

### **2.2.7. İskemik İnmede Tedavi Yaklaşımları**

Dünya çapında ölüme neden olan hastalıklar arasında 3. sırada olan inme; nörolojik bozukluğa bağlı kronik fiziksel engelliliğin birinci nedeni olmasından dolayı tedavi prensipleri hızlı ve doğru bir şekilde planlanma ihtiyacı doğuran gerçek bir medikal acildir (33). Acil serviste inme hastasının tedavi yaklaşımı aşağıda özetlenmiştir.

#### **1. Tanı ve değerlendirme**

İnme ile gelen hastaların tedavisinin uygun planlanması için hızlı bir şekilde etyolojik, patolojik ve anatomik tanısı ile ciddi bir genel değerlendirilme yapılmalıdır.

#### **2. Resüsitasyon ve Fizyolojik Düzenleme**

- Bu aşamada hasta inme ünitesine alınarak devamlı kardiyak monitörizasyona alınır, ilk 24 saat özellikle atrial fibrilasyon gibi aritmilerin tespiti ve takibi için önemlidir.
- Havayolu, solunum ve dolaşım desteği sağlanır.
- Hastanın vücut ısısı kontrol altına alınır.
- Kan basıncı kontrolü; Trombolitik alacak olan hastalar için arteryel kan basıncı <185/110 mm Hg olacak şekilde sağlanmalı. Trombolitik almayacak olan hastalarda, arteryel tansiyonun ilk 24 saatte %15 kadar düşürülmesi hedeflenmelidir; bu hastalarda tansiyon için müdahale sınırı >220/120 mm Hg'dır.
- Uygun sıvı resüsitasyonu
- Hastalarda öncelikle normoglisemi hedeflenmelidir, hiperglisemisi olan hastalarda ise hedef kan şekeri değeri 140-180 mg/dl dir (29).
- Elektrolit bozuklukları düzeltilmeli.
- Kafa içi basınç artması durumunda veya şift durumu halinde mannitol, steroid, cerrahi dekompresyon veya şant düşünülmalıdır.

### 3. Akut iskemik inme tedavisi

1. Trombolitik tedavi: Akut iskemik inmede en yüz güldürücü tedavi trombolitik tedavidir. Trombolitik tedavide kullanılan ajan doku plazminojen aktivatörü diye bildiğimiz (Doku Plazminojen Aktivatörü) tPA'dır. tPA damar içindeki pıhtıyı eriterek damar tıkanıklığını ortadan kaldıran bir ajandır. tPA 0.9 mg/kg dozunda uygulanır, maksimum dozu ise 90 mg'dır. Dozun %10'luk kısmı ilk anda bolus uygulanır, kalan % 90'luk kısmı ise 60 dakikada infüzyonla verilir. Uygulama esnasında 15 dakikada bir nörolojik gözlem, kan basıncı, nabız ve pulse oksimetre takibi yapılmalıdır. İlk 3,5 saat içinde hastaneye başvuran hastalar hızlı bir şekilde trombolitik tedavi endikasyon ve kontrendikasyonları iyi bir şekilde değerlendirilmelidir.

2. Antikoagulan ve antiplatelet tedavi: Antiagregan, antikoagulan ,antiplatelet tedavi ise oluşan pıhtının yayılmasını veya yeni oluşacak pıhtıları önlemek için verilebilir ve bir çok ajan tercih edilebilir.

3. Sekonder önleme;

- Konservatif önlemler; diyet, hayat tarzında değişiklik (sigara, egzersiz.)
- İlaç tedavisi; antiplatelet tedavi, antihipertansif tedavi, statinler, duruma göre antikoagulanlar
- Cerrahi tedavi (karotid endarterektomi)

### 2.3. SCUBE1

SCUBE [signal peptide-CUB (complement C1r/C1s, Uegf, and Bmp1)-EGF (epidermal growth factor)-like domain-containing protein] yeni tanımlanmış, salgılanabilen, erken embriyogenezis süresince belirlenen hücre yüzey proteindir. SCUBE1 evrimsel olarak korunmuş SCUBE gen ailesinin kurucu üyesidir. Bu protein N-terminal sinyal peptid dizisini takip eden, 9 adet birbiri ardına düzenlenmiş EGF benzeri tekrarlar, bir ara bölge, 3 sisteinden zengin tekrar motifleri ve C terminalinde bir CUB alanından oluşur (34).

Etkisi ve biyolojik fonksiyonu hakkında bilinenler azdır. Bu güne kadar 3 farklı izoformu memelilerde keşif sırasına göre klonlanmış ve SCUBE1, SCUBE2 ve SCUBE3 olarak isimlendirilmiştir. SCUBE genlerin, gonadlar, merkezi sinir sistemi,

dermomyotom, dijital mezenşim ve fare embriyogenezisi sırasında extremité tomurcukları gibi gelişmekte olan çeşitli dokulardan ekspresyonu gösterilmiştir. Emriyonik ekspresyona ek olarak, SCUBE1'in endotelyum ve plateletlerde eksprese olduğu bulunmuştur (35).

Bu moleküller inaktive plateletlerdeki alfa granüller içinde depolanır, trombin tarafından aktivasyondan sonra platelet yüzeyine transloke olur, küçük çözünür parçalar şeklinde salgılanır ve trombüs içine katılır. İnsanda ilerlemiş aterosklerotik lezyonların subendotelyal matrixinde immunohistokimyasal olarak SCUBE1 birikimi saptanmıştır. EGF benzeri tekrarlar yapışkan etkileşime aracılık eder. SCUBE1'in yeni platelet endotelyal adezyon molekülü olabileceği düşünülmektedir (36).

#### **2.4. İskemi Modifiye Albumin (İMA)**

Plazma proteinlerinin %60'ını oluşturan albumin karaciğerde sentezlenir, kanda en fazla bulunan proteindir. Plazma onkotik basıncının ayarlanmasında en önemli moleküldür. Albümin aynı zamanda kan pH'sının tamponlanmasından da sorumludur.

Kanda bazı ilaçlar, bazı hormonlar ve serbest yağ asitleri gibi bir çok organik ya da inorganik molekülün taşınması da albumin sayesinde olur (37). Kandaki ana taşıyıcı molekül olan albumin iskemi sonucunda değişikliğe uğrar ve bakır, nikel ve kobalt gibi geçiş metalleri bağlama kapasitesi azalır. Bunun sonucunda albuminin bir varyantı olan iskemi modifiye albumin (İMA) olarak adlandırılan protein oluşur.

Bar ve Bhagavan gibi araştırmacılar tarafından miyokard iskemisinin değerlendirilmesi amacıyla albuminin kobalt bağlama kapasitesindeki değişim prensibine dayanan çalışmalar yapılmıştır. Bu test insan serum albumininin N-terminal bölgesinin miyokard iskemisinde kobalta bağlanmasında azalma olduğunun tespitine dayanmaktadır (38, 39).

Bar ve arkadaşlarının daha sonraki yaptıkları çalışmada ise anjiyografi ile geçici iskemi meydana gelen hastaların kanlarında İMA konsantrasyonunun birkaç dakikada artmaya başladığı, daha sonra yapılan anjioplasti ile de reperfüzyon sağlandığında yaklaşık 6 saat kadar bir süre sonrasında İMA kan konsantrasyonlarının iskemi olmayan kişilerdeki değerler seviyesine indiği tespit

edilmiştir (40).Daha sonra yapılan çalışmalarda İMA düzeylerinin bir çok iskemik hadise de arttığı ve iskemik hadiselerde diyagnostik ve prognostik değeri olabileceği gösterilmiştir (41-48).

## **2.5. Malondialdehid (MDA)**

Aerobik metabolizmanın normal ürünü olarak serbest radikaller ve diğer güçlü oksidanlar açığa çıkar. Antioksidan savunma sistemleri ise reaktif oksijen radikallerini engeller, nötralize eder, ortadan kaldırılmasını veya bunların oluşturacağı hasarı önlemek için çalışır (49). Normalde organizmalarda bulunan oksidan ve antioksidan dengenin bozulması serbest radikallerin oluşumuna neden olur.

Ortaklanmamış elektron taşıyan ve diğer biyolojik materyallerle reaksiyona girme eğilimi taşıyan atom veya moleküllere serbest radikal adı verilir. Serbest radikaller hücrelere kolayca girerler. Radikal olmaya çok uygun olduğundan serbest radikal denilince serbest oksijen radikalleri, genel bir ifadeyle reaktif oksijen türleri (ROS) akla gelmektedir. Serbest radikaller çözeltilerde veya lipid ortamlarda bağımsız olarak bulunurlar (50).Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (NOS) serbest radikallerin iki önemli çeşitidir. Serbest radikaller türleri, aktif ve kararsızdırlar. Karbonhidratlar, proteinler, lipidler, nükleik asitler veya benzeri moleküllerden elektron alarak kararlı hale gelirler (51).Bu radikaller lipidler başta olmak üzere, proteinler, DNA ve karbonhidratlar üzerine toksik etkiye sahiptirler. Bu yolla hücrelerde yapısal ve fonksiyonel bozukluklara sebep olabilirler. Serbest radikallerin lipidlere etkisi ile lipid peroksidasyonu meydana gelir. Lipid peroksidasyonu, membran ve lipoproteinlerin yapısında yer alan yağ asitlerine oksitleyici ajanların etkisi ile olur (52).Lipid peroksidasyonu malon dialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (HNE) gibi oldukça toksik ürünler oluşmasına neden olur. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunda bir son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılır (53).

Malondialdehit, oldukça reaktif bir aldehit türevidir, proteinlerin serbest amino grupları, fosfolipidler veya nükleik asitlerle reaksiyona girerek biyolojik moleküllerde yapısal modifikasyonlara neden olur. Membranların yapıları bozulur,

geçirgenlikleri değişir, iyon transportu ve enzimatik aktiviteler gibi fonksiyonlar etkilenir (53).Serumdaki MDA düzeyinin ölçümü in vivo serbest oksijen radikalleri aracılı doku hasarının bir göstergesi olarak ölçülebilir (54).

## **2.6. Etil Pirüvat ve N-Asetilsistein (NAC)**

Nöroprotektif etkinliği bilinen ajanlardan olan ,Etil pirüvat umut veren antioksidan ve antiinflamatuvar bir ajandır. Glikolizin son ürünü ve trikarboksilik asit siklusunun başlangıç substratı olan pyruvate, 2-oxo-proprionik asidin anyonik formudur. Pyruvate'ın serbest oksijen radikalleri ve hidroksi radikalleri temizleyebileceği bildirilmiştir. Pirüvat'ın etil esteri olan etil pirüvat'ın pirüvat ve sodium pirüvat'dan daha etkili olduğu rapor edilmiştir (55). Pirüvatın, alfa-keto karboksilat yapısı hücre içinde antioksidan özelliğini sağlar.

Bir diğer ajan olan N-asetilsistein sülfür tabanlı bir amino asit olup, bağışıklık sistemi için çok önemli bir antioksidan olan glutatyonun oluşumunda yer alır. N-asetilsistein (NAC)'in serbest radikaller tarafından oluşturulan doku hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu ve bu etkisini GSH düzeyini arttırarak, direkt "scavenger" olarak etki göstererek veya stabil nitrozotil türevleri oluşturarak gerçekleştirdiği bildirilmektedir (56).Serbest oksijen radikalleri (SOR) temizleyici olarak N-asetil sistein kullanılmış ve çok iyi sonuçlar alınmıştır (55).

### 3. MATERYAL VE METOD

Çalışma; Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyi Lokal Etik Kurulunun onayı alındıktan sonra, laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanımına dair kılavuz ilkelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde üretilen ve randomize olarak seçilmiş olan 250-300 gr ağırlığında, her bir deney grubunda 7 adet dişi rat olmak üzere toplam 21 adet dişi rat (toplam 3 grup) kullanıldı. Bu deneysel çalışmada Sprague Dawley ratlar kullanıldı. Çalışmada oluşturulan hayvan grupları şöyledir:

**Grup 1** (n=7); Boyun insizyonu yapıldı, sol ana carotis arter diseke edildi, sol ana carotis artere klemp konuldu ve 4 saat sonra kan ve doku örnekleri alınan grup.

**Grup 2** (n=7); Boyun insizyonu yapıldı, sol ana carotis arter diseke edildi, sol ana carotis artere klemp konuldu, 1 saat sonra intraperitoneal NAC uygulandı, yarım saat sonra klemp açılıp 2.5 saat sonra kan ve doku örnekleri alınan grup.

**Grup 3** (n=7); Boyun insizyonu yapıldı, sol ana carotis arter diseke edildi, sol ana carotis artere klemp konuldu ve 1 saat sonra intraperitoneal Etil Pirüvat uygulandı, yarım saat sonra klemp açılıp 2.5 saat sonra kan ve doku örnekleri alınan grup.

Standart deney hayvanları laboratuvar koşulları ve 12 saatlik açlık süresi sonrası birden yirmi bire kadar numaralandırılan ratların rastgele numaraları çekilerek gruplar oluşturuldu ve ratlara intraperitoneal olarak 50 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg xylazine verilerek genel anestezi uygulandı. Ratların vücut sıcaklığı rektal termometre ile ölçülerek 37°C civarında tutuldu.

1.2. ve 3.gruplardaki ratlar supin pozisyonda operasyon masasına sabitlendi. Sonra boyun orta hattı traş edildi. Operasyon bölgesi dezenfekte edildikten sonra orta hat insizyonu yapıldı. Yüzeysel mikrodiseksiyon yapıldıktan sonra derin mikrodiseksiyon ile sol kommon karotis artere doğru ilerlendi. Trakea görülüp paratrakeal kaslar disseke edilerek kommon karotis artere ulaşıldı. Karotis bifurkasyondan 3 cm proksimalden kommon karotis artere klemp koyuldu. Grup 1 ratlarda boyun insizyonu yapıldı, sol ana carotis arter diseke edildi, sol ana carotis arter klemlenip 4 saat sonra kan ve doku örnekleri alındı. Grup 2 ratlarda boyun insizyonu yapıldı, sol ana carotis arter diseke edildi, sol ana carotis arter klemlenip,

1 saat sonra ratlara intraperitoneal 20mg/kg NAC uygulanarak, ilaç uygulandıktan yarım saat sonra klemp açıldı ve 2.5 saat sonra kan ve doku örnekleri alındı. Grup 3 ratlarda boyun insizyonu yapıldı, sol ana carotis arter diseksi edildi, sol ana carotis arter klemlenip ve 1 saat sonra ratlara intraperitoneal 50 mg/kg Etil pirüvat uygulanarak ve ilaç uygulandıktan yarım saat sonra klemp açıldı ve 2.5 saat sonra kan ve doku örnekleri alındı. Her grup için belirlenen süre içerisinde pulse oksimetri ile kan oksijen saturasyon takipleri yapıldı. Grup 1 den bir rat prosedür sırasında ex olup ölçümler dışında tutulmuştur.

### **3.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması**

Deney ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinden SCUBE1, İMA ve kan MDA düzeyleri çalışıldı.

### **3.2. Laboratuvar İncelemesi**

#### **3.2.1. SCUBE 1 Düzeyinin Belirlenmesi**

Serum SCUBE 1 düzeyleri ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile ticari kit kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda ölçüldü (Cusabio Biotech Co., Catalog No. CSB-E16229R, P.R.China). Örnek ve reaktifler oda sıcaklığına getirildikten sonra örnekler seyreltme tamponuyla 1/10 kat seyreltildi. Çalışma pleytinde belirlenen kuyucuklara 100 µL standart örnekleri ve seyreltilmiş rat serum örnekleri ayrı ayrı eklenerek oda sıcaklığında 2 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda kuyucuklar yıkanmadan kuyucuklar içindeki sıvılar uzaklaştırıldı. Sonra her kuyucuğa 100 µL Biotin-antibody eklendi ve 1 saat 37 °C'de tekrar inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda kuyucuklar yıkama tamponuyla dört kez yıkandıktan sonra kuyucuklara 100 µL HRP-avidin çözeltisi ilave edildi ve 1 saat 37 °C'de yeniden inkübasyona bırakıldı. Tekrar yıkanan kuyucuklara 90 µL TMB substrat çözeltisi ilave edildi ve karanlıkta 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda reaksiyonu durdurmak için 50 µL stop solüsyonu eklendi ve absorbanslar 450 nm'de VERSA (Molecular Devices,



California, USA) mikroyok okuyucu ile ölçüldü. Rat serum örneklerine ait serum SCUBE 1 konsantrasyonları standart grafik yardımı ile hesaplandı ve sonuçlar ng/mL cinsinden verildi.

### **3.2.2. İMA Düzeyinin Belirlenmesi**

İMA seviyelerini belirlemek için albumin kobalt bağlama testinden faydalanıldı, albumine kobaltın azalan bağlanma kapasitesini Bar-Or ve arkadaşları tarafından geliştirilen hızlı ve kolometrik tayin metoduyla değerlendirildi (31). 200 µL hasta serumları cam tüplere eklendi ve üzerlerine %0.1'lik 50 µL CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (Sigma) yavaşça karıştırıldıktan sonra yeterli kobalt albumin bağlanması sağlanması amacıyla 10 dakika beklendi. Renklendirici ajan olarak 50 µL 1.5 mg/mL'lik Dithiothreitol (DTT) (Sigma) eklendi. 2 dakika beklendikten sonra % 0.9' luk NaCl' den 1 mL kobalt ve albumin arasında meydana gelen bağlanmayı durdurmak amacıyla eklenerek reaksiyon durduruldu. Her bir numune için numune körü yapıldı. DTT eklenen aşamada 50 µL 1.5 mg/mL'lik DTT yerine 50 µL distile su konarak DTT'siz serum kobalt körü hazırlandı. Numune absorbansları spektrofotometrede (Shimadzu, UV1601) 470 nm ölçüldü. DTT'li örneklerdeki renk oluşumu kör tüplerdeki renk oluşumuyla karşılaştırılarak sonuçlar ABSU (absorbans ünitesi) cinsinden rapor edildi.

### **3.2.3. Plazma Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi**

Ratlardan elde edilen beyin ve plazma örnekleri biyokimyasal analizler yapılana kadar – 80 C<sup>0</sup> de saklandı. Plazma örneklerinde malondialdehit miktarı Yagi (1984) tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) methodu kullanılarak tayin edildi (57). Lipid peroksidasyon ürünü (MDA) ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tiyobarbitürikasit ile reaksiyona girerek aynı rengi veren suda çözümlü maddeleri uzaklaştırmak için serum lipidleri proteinle birlikte fosfotungistik asit/sülfirik asit sistemiyle çöktürüldü.

### 3.3. Deneklerin Histopatolojik İncelenmesi

Çalışma sonunda gruplara ait her bir sıçandan beyin dokuları çıkarıldı. Beyinler orta bölgesinden tüm beyin katmanlarını içerecek şekilde 2'ye bölündü. Doku parçaları alındı ve %10 'luk nötral formalin ile 48 saat tespit edildi. Histopatolojik inceleme için rutin histolojik doku takip aşamalarından geçirildi. Bunun için dereceli alkollerde dehidrate edildi. Xylen'de şeffaflaştırıldı ve parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan tam otomatik mikrotom ile 5 µm kalınlığında (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) kesitler alındı. Alınan kesitler genel histolojik yapının detaylı olarak değerlendirilmesi için Hematoksilen-Eozin (H&E) ve krezil viyole ile boyandı. Preparatlar bu konuda deneyimli ve gruplardan habersiz bir histolog tarafından (E.Y.) ışık mikroskopik (Olympus BX-51; Olympus Optical Co.) olarak değerlendirildi. Küçük büyütmede (X 100) beyin dokusu korteksinin tüm tabakaları genel histolojik yapı açısından gözden geçirildi. Ayrıca her iki hemisferde korteks bölgesi nöronal değişiklikler açısından histolojik olarak skorlandı (58). Buna göre;

**Grade 1;** hafif büzüşmüş nöronlar sitoplazmik vakuolizasyon olan /olmayan grup,

**Grade 2;** orta derecede büzüşmüş nöronlar (eozinofilik sitoplazma), ve artmış nükleer bazofili / veya vakuollü sitoplazma ve veziküler nükleus,

**Grade 3;** şiddetli büzüşmüş nöronlar (eozinofilik sitoplazma), piknotik nükleus Kortekste bölgesinde tüm tabakalarda 100 piramidal hücre ışık mikroskop altında 200 X büyütmede Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Münster, Germany) kullanılarak sayıldı. Dejeneratif piramidal nöron yüzdesi hesaplandı. Hücre gövdesinde büzüşme, sitoplazmada nissl kaybı ve eozinofili, koyu renkli, küçülmüş nükleuslu hücreler dejeneratif nöronlar olarak değerlendirildi (59).

### 3.4. İstatiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizi için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows v.13.0 )programı kullanıldı. Kategorik değişkenler median,

yüzelik çeyrek değerler şeklinde hesaplandı. Biyokimyasal veriler açısından kontrol grubu ile grup 2 ve 3'ün karşılaştırılmasında Dunnet-t testi kullanıldı. Grup 3 ve 4'ün karşılaştırılmasında ise Tukey testi kullanıldı. Histolojik açıdan yapılan değerlendirmede ise Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. Düzeltme sonrasında  $p < 0,016$  ise anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Deneklerin SCUBE1 Değerleri

Yapılan çalışmada deney grupları ve kontrol grubunun SCUBE1 değerleri ölçüldü. Grup 1 de SCUBE1 değeri ortalaması 6.54 ng/ml, grup2 de SCUBE1 değeri ortalaması 6.40 ng/ml, Grup 3 SCUBE1 değeri ortalaması ise 5.6 ng/ml bulunmuştur. Gruplar arası SCUBE1 düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

### 4.2. Deneklerin İMA Değerleri

Yapılan alışmada Grup 1 iskemi oluşturulan ve 4. Saatte alınan kan rneğinde İMA değeri ortalaması 0.76 ABSU, Grup 2 intraperitoneal NAC uygulanıp iskemi reperfüzyonu sağlandıktan sonra örnek alınan grupta İMA değeri ortalaması 0.82 ve Grup 3 intraperitoneal etil pirüvat uygulanıp daha sonra iskemi reperfüzyonu sağlanan grupta İMA ortalama değeri 0.77ABSU olarak bulunmuştur. İMA için gruplar arasında farkı tespit etmek için Tukey testi kullanıldı ve hiçbir grup arasında anlamlı fark çıkmadı.

### 4.3. Deneklerin MDA Değerleri

Yapılan alışmada Grup 1 iskemi oluşturulan ve 4. Saatte alınan kanda MDA değeri ortalaması 0.85 nmol/ml, Grup 2 intraperitoneal NAC uygulanıp iskemi reperfüzyonu sağlandıktan sonra örnek alınan grupta MDA değeri ortalaması 0.79 nmol/ml ve Grup 3 intraperitoneal etil pirüvat uygulanıp daha sonra iskemi reperfüzyonu sağlanan grupta MDA ortalama değeri 0.72 nmol/ml olarak bulunmuştur. Gruplar arası MDA düzeyleri karşılaştırıldığında Tukey testi kullanıldı istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

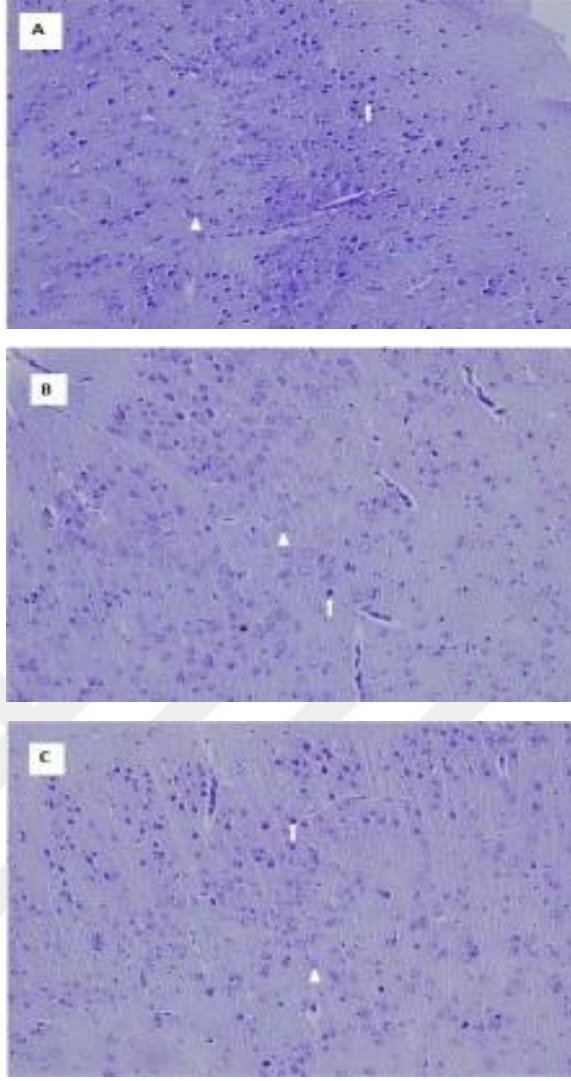
Deney grupları ve kontrol grubunun SCUBE1, İMA, serum MDA ve dejeneratif nöron yüzdesi ortalamaları ve standart deviasyon (SD) değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1. Grupların SCUBE1, İMA, Serum MDA Ortalama ve Standart Deviasyon ( $\pm$  SD) Değerleri**

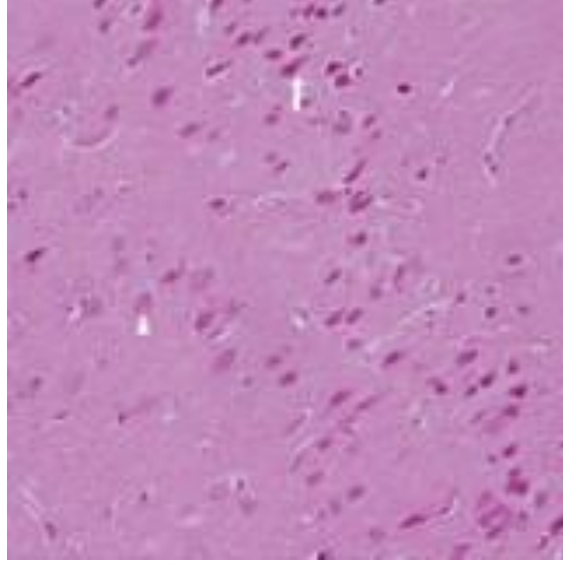
<b>Gruplar</b>	<b>SCUBE1 (ng/ml)</b>	<b>İMA (ABSU)</b>	<b>MDA (nmol/mL)</b>
<b>Grup 1</b>	6.54 ( $\pm$ 0.5)	0.76 ( $\pm$ 0.09)	0.85 ( $\pm$ 0.28)
<b>Grup 2</b>	6.40 ( $\pm$ 1.3)	0.82 ( $\pm$ 0.07)	0.79 ( $\pm$ 0.26)
<b>Grup 3</b>	5.64 ( $\pm$ 0.4)	0.77 ( $\pm$ 0.08)	0.72 ( $\pm$ 0.31)

#### **4.5. Deneklerin Histopatolojik Değerlendirilmesi**

Beyin dokuların histopatolojik değerlendirmesinde Grup 1 kortekste tüm tabakalarda yaygın olarak eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleuslu dejeneratif piramidal nöronlar izlendi. Korteksin ak madde sınırına yakın kısımlarında da dejeneratif piramidal nöronlar izlendi. Aralarında az sayıda normal nöron yapısı izlendi. Grup 2 hemen hemen normal beyin korteks ve piramidal nöron histolojik yapısı izlendi. Az sayıda dejeneratif nöron izlendi. Grup 3 de normal yapıda beyin korteksi ve piramidal nöronlar izlendi. Korteksin üst tabakalarında yer yer dejeneratif nöronlar mevcut idi (Şekil 1, 2).



**Şekil 1.** Beyin dokusu korteksine ait fotomikrograf (Krezil viyole X 200) ( A: Grup 1; B: Grup 2, C: Grup 3). Normal morfolojide piramidal nöronlar (Δ), dejeneratif piramidal nöronlar (↑).



**Şekil 2. Beyin Dokusu Korteksine ait Fotomikrograf (Krezil Viyole X 400) Normal Morfolojide Piramidal Nöronlar ( $\Delta$ ), Dejeneratif Piramidal Nöronlar ( $\uparrow$ ).**

**Tablo 2. Beyin Dokusu Dejeneratif Nöron Yüzdesi Ortalamasına Göre Gruplar**

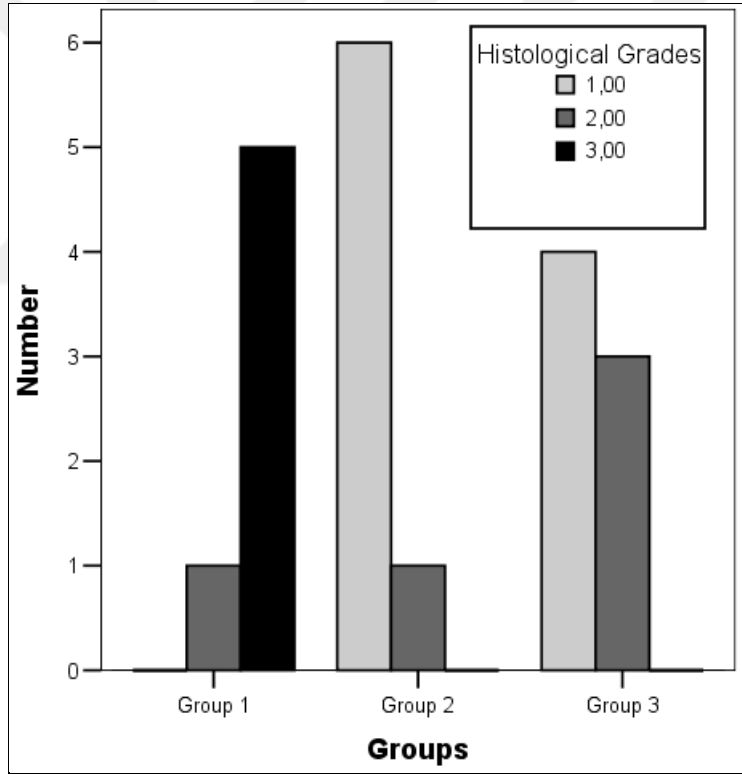
	<b>Grup 1</b>	<b>Grup 2</b>	<b>Grup 3</b>
Dejeneratif nöron yüzdesi (DNY)	79.9 ( $\pm$ 6.1) <sup>a,c</sup>	11 ( $\pm$ 3.7) <sup>b,a</sup>	21.3 ( $\pm$ 3.7) <sup>b,c</sup>

DNY: Dejeneratif nöron yüzdesi  
P=0.016, p<sup>a</sup>=0.003, p<sup>b</sup>=0.003, p<sup>c</sup>=0.003

Grup 1, grup2 ve grup 3 beyin dokuları histopatolojik olarak incelenip atrofik nöron yüzdesi hesaplandı. Hasar yüzdesine baktığımızda homojen normal dağılım gösterdi. Gruplar arası dejeneratif nöron yüzdesi düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arası istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur. Farkın hangi gruplar arasında olduğunu anlamak için yapılan Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testinde gruplar arasında anlamlı fark bulundu (p< 0.016). Etken madde kullandığımız grup 2 ve grup 3 ün dejeneratif nöron yüzdesi grup 1 den daha düşük olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Grup 2 ve grup 3 arasında anlamlı fark bulundu (p=0.003) NAC verilen grubun dejeneratif nöron yüzdesi etil pirüvat grubuna göre anlamlı ölçüde düşük olduğu bulundu. Grup 1 nin grup 2 ve grup 3 e göre dejeneratif nöron yüzdesi daha fazla ve istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (p değerleri sırasıyla p<sup>a</sup> = 0.003, p<sup>c</sup> =0.003).

Dokuların histopatolojik grade değerlendirmesinde Bonferroni düzeltmeli Mann withney u testi kullanıldı. Değerlendirmede aşağıdaki grafikte görüldüğü gibi iskemi oluşturulan grup 1 svo grubunda 7 ratın 5'inde grade 3 dejenerasyon, 1 inde grade 2 dejenerasyon görülmüştür. 1 rat prosedür sırasında ex olmuştur. Grup 2 de 7 ratın 6 'sında grade 1 dejenerasyon, 1'inde grade 2 dejenerasyon görülmüştür. Etilpirüvat verdiğimiz grup 3 de ise 7 ratın 4'ünde grade 1 , 3 'ünde grade 2 dejenerasyon görüldü.

Sonuç olarak NAC ve Etilpirüvat verdiğimiz gruplarda grade 3 dejenerasyon hiçbir ratta görülmemiştir. Bu iki grup karşılaştırıldığında NAC grubunun Etilpirüvat grubuna göre daha iyi histolojik grade'e sahip olduğunu ve nöroprotektif etkinliğinin daha güçlü olduğunu görmekteyiz.



Şekil 3. Grupların Histolojik Grade'e Göre Dağılımı



## 5. TARTIŞMA

Mevcut nöroprotektif ajanların kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar akut serebrovasküler inmeli hastalarda uygulanan esas tedavilerle birlikte veya hastane öncesi kullanımla ilgilidir. Nöroprotektif ajanların kullanım amacı dokuyu perfüze etmekten ziyade beyin dokusunu direkt iskemiden kurtarma ya da hala canlı olan iskemik penumbra alanının infarkt alanı olmasını engellemektir. Birçok olası nöroprotektif tedavi güvenli ve hemorajik inmelerde de en az iskemik inmedeki kadar etkilidir. İdeal nöroprotektif tedavi hastane öncesi ortam dahil olmak üzere akut inme tedavisi esnasında da mümkün olduğunca erken başlatılmalıdır. Fibrinolitik tedavi veya endovasküler rekanalizasyon sonrasında da özellikle beyin görüntüleme yöntemlerini kullanarak tedavi süreci takip edilmelidir (29). Trombolitik tedavinin inmeli hastalarda kullanılmaya başlanması ile reperfüzyon hasarı ve sonuçları gündeme gelmiştir. İskemik dokuya yeniden kan akımının sağlanmasına rağmen, fonksiyonel düzelme beklenildiği kadar iyi sonuçlar vermemektedir.

Bu çalışmalardan farklı olarak trombolitik tedavi uygulanan hastalarda düşünülmesi gereken bir diğer durumda iskemi / reperfüzyon sonucu oluşan hasardan hastanın korunması olmalıdır. Reperfüzyon ile birlikte yeniden doku oksijenizasyonun sağlanması, aşırı serbest radikal oluşmasına neden olur (60). İskemi-reperfüzyon hasarı oluşumunda serbest oksijen radikalleri (SOR) önemli bir yer tutar. Serbest oksijen radikalleri, reperfüze olan dokunun oksijenasyonu sonucu moleküler oksijenin hücre içinde oksidatif enzimler tarafından indirgenmesi ile oluşur. Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren yapılardır. En önemli üç serbest oksijen radikali; süperoksit ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), ve hidroksil iyonlarıdır ( $OH^-$ ). Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membran hasarının önemli bir nedenidir, membran geçirgenliğini etkileyerek hücre içinde aşırı  $Ca^{+2}$  birikimine yol açar (61). Hücre membranı disfonksiyonu da, hücre şişmesi ve hücre ölümü ile sonuçlanır.

Oklüze olan damarın fibrinolitik ajan uygulanarak açılması hastayı bahsettiğimiz reperfüzyon hasarına maruz bırakacaktır. Bu çalışma ile bu senaryoya

uygun bir deneysel model oluşturmaya çalıştık. Yapmış olduğumuz deneyde de önceden iskemi / reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik kullanılan NAC ve Etilpirvatı kullandık.

Bu hasarın nlendiğini belirlemek amaçlı, iskemik durumlarda arttığı bilinen biyomarkırlardan olan SCUBE1, İMA ve MDA düzeyleri ölçümleri ve doku histopatolojisi değerlendirildi. Etken maddelerin oluşan bu hasarı anlamlı ölçüde önlediğini gördük.

NAC verdiğimiz gruplarda histolojik değerlendirmede elde ettiğimiz sonuç oldukça başarılıdır. Gerek dejeneratif nöron yüzdeleri, gerekse histolojik grade derecelendirmede koruyucu etkinliğini net olduğu görülmüştür. NAC kullandığımız grup 2 ve etil pirüvat kullandığımız grup 3 n dejeneratif nöron yüzdesi grup 1 den anlamlı olarak düşüktür (p değerleri sırasıyla  $p^a = 0.003$ ,  $p^c = 0.003$ ). Grup 2 ve grup 3 arasında da anlamlı fark bulunup ( $p=0.003$ ), NAC verilen grubun dejeneratif nöron yüzdesi etilpirüvat grubuna göre anlamlı ölçüde düşük olduğu bulundu. Etilpirüvat grubundaki iyileşme NAC grubuna göre daha az olsa da bu farklılık her iki etken maddenin farklı yolakları kullanarak hasarı önlemesine bağlı olabilir.

İskemik hasarı belirlemede kullandığımız biyokimyasal markırlara bakacak olursak: Grup1 de llen SCUBE1 değeri ortalaması 4.89 ng/ml, Grup 2 de 6.54 ng/ml, grup3 de 6.40 ng/ml, Grup 4 de ise 5.6 ng/ml bulunmuştur. Sonuçlarımızda beklediğimizin aksine SCUBE 1 değerleri arasında gruplar arasında fark tespit edilmemiştir.

Dai ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, akut iskemik inme hastalarında plazma SCUBE1 seviyelerini sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Mevcut alışmada SCUBE1 seviyeleri plazmada en erken 6 saat sonra tespit edilmiş ve en geç 84 saat sonrasında tespit edilebilmiştir (7).

Türkmen ve arkadaşlarının deneysel mezenter iskemi modeli oluşturarak yapmış oldukları çalışmada SCUBE1 seviyelerinin mezenter iskeminin 6. saatinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir (62).

Menteşe ve arkadaşları tarafından gastrik kanserli hastaların, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığı çalışmada gastrik kanserli hastaların SCUBE1 düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (63). Daha önce

yapılan çalışmalardan bilgimize göre maligniteler ile tromboz arasında bir ilişki vardır (64). Mentşe ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmaya göre tromboz ilişkili durumlarda SCUBE1 seviyelerinin yükselceğini söylemek mümkündür.

Yapılan çalışmalarda İMA düzeylerinin birçok iskemik hadise de arttığı ve iskemik hadiselerde diyagnostik ve prognostik değeri olabileceği gösterilmiştir (4).

Gündüz ve arkadaşları, iskemik inme, subaraknoid kanama, intrakraniyal kanama geçirerek ilk 24 saatte acil servise başvuran 106 hasta [ 43: iskemik inme, 11: intrakraniyal hemoraji, 52: subaraknoid kanama (SAK) ] ve 43 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunu değerlendirmişlerdir. İskemik inme ve intrakraniyal kanamalarda İMA düzeylerini SAK geçirenlere göre anlamlı oranda yüksek bulmuşlar ve de acil servislerde İMA düzeyindeki yüksekliğin ayırıcı tanıda bir akut faz reaktanı olarak kullanılabilceğini ileri sürmüşlerdir (48). Çalışmamızda gruplar arasında İMA değerlerinde anlamlı fark bulunmadı.

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunda bir son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılır (53). Çalışmamızda iskemi oluşturulan Grup 1 de 0.85 nmol/ml, Grup 2 de 0.79 nmol/ml ve Grup 3 de 0.72 nmol/ml olarak bulunmuştur. Gruplar arasında MDA düzeyleri farklılık göstermemiştir.

Birçok çalışmada iskemi dahil çeşitli streslerce oluşan hücrenel hasara karşı NAC'ın koruyucu olduğu gösterilmiştir. NAC'ın yararlı etkisi çoğunlukla antioksidan özelliği, SOR ve lipid peroksidasyonu azaltıcı etkisine bağlıdır. NAC iskemiye maruz kalan özellikle kalp, karaciğer, akciğer ve böbrek gibi diğer organlarda da koruyucudur. Parkinson, Alzheimer ve Amyotrafik Lateral Skleroz gibidiğer beyin hastalıklarında da faydalı olduğu gösterilmiştir (65).

Yapılan bir çalışmada ratlarda, NAC 'ın hemorajik şok nedeniyle kardiyak dokuda oluşan oksidatif stres ve doku hasarı üzerine koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (66).

Zhang Z. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tedavi öncesi uygulanan NAC'ın iskemik beyin dokusunda HIF-1 (Hypoxia-inducible factor-1) aktivitesini arttırdığını ve iskemiye karşı NAC'ın nöroprotektif etkisinin olduğunu kanıtladı (65).Bu sonuçlar HIF-1 in NAC aracılı nöroprotektif etkinlikte önemli rol oynadığını ve iskemik atakta antioksidanların nöroprotektif etkinliği dahil olmak üzere yeni moleküler mekanizmalar sağladığını kuvvetle göstermektedir.

Etil pirüvat umut veren bir diğer kullandığımız nöroprotektif ve antioksidan ajandır. Yang ve arkadaşları çalışmalarında şiddetli akut pankreatit modelinde ethyl pyruvate kullanımının hepatik hasarı azalttığını ve etilpirüvatın güçlü bir antienflamatuar ve antioksidan olduğunu bildirmişlerdir (67). Yukarıdaki literatür bilgilerinin ışığı doğrultusunda çalışmamızda ratlarda akut serebral iskemi modelinde ethyl pyruvate'ın etkilerini araştırmayı amaçladık. Sonuçlarımız, etil pirüvatın, iskemi ve reperfüzyon sonucu oluşan beyin hasarına karşı koruyucu etkisi olduğunu desteklemektedir. Etil pirüvatın klinik tedavide kullanımı için farklı dozlarda ve daha farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerinde çeşitli organ (akciğer, böbrek, karaciğer, kalp gibi) hasarları üzerlerine olan etkileri ile ilgili ileri deneysel ve klinik çalışmaların yapılması önerilmektedir.

Günümüzde araştırmacılar iskemi ilişkili hasardan beyni koruyan nöroprotektif stratejiler için çalışmaktadırlar. Yapılan deneysel hayvan çalışmalarında kullanılan nöroprotektif ajanların etkisi klinik çalışmalarda henüz ispatlanmamış durumdadır.

Mevcut tedavi stratejileri glutamat gibi eksitator amino asitlerin etkisini, membranlardan kalsiyum geçişini, hücre içi protaz aktiviteyi, apoptozisi, serbest radikal hasarı ve inflamatuvar cevabı engellemeye yöneliktir. Bu amaçla çeşitli farmakolojik ajanlar kullanılmıştır. Akut inmede, nöroprotektif tedavi ile yapılan klinik çalışmalardaki başarı deneysel çalışmalara kıyasla oldukça azdır. Bunun sebebi olarak da mevcut koşulların yeterli ve sağlıklı bir şekilde sağlanamamış olması en çok da ilk 4-6 saatlik terapötik zaman aralığının gecikmiş olması gösterilebilir.

Saver JL. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada inme semptomlarının ortaya çıkmasından sonraki iki saat içinde nöroprotektif amaçlı kullanılan Mg sülfat (eksitator aminoasit blokörü, kalsiyum kanal blokörü ve serebral vazodilatör) tedavisinin güvenli olduğu fakat takibin 90. gününde inme semptomlarının gerilemesinde etkisi olmadığı bildirilmiştir (68).

Nimodipin'in iskemik inme ve son zamanlarda anevrizmatik subaraknoid kanamada koruyucu etkisinin olduğu onaylanmıştır (69). Bazı çalışmalarda Nimodipin kullanımının antihipertansif etkisinin de bulunması nedeniyle olumsuz sonuçlar elde edilmiştir (70). Bu amaçla statinler, membran stabilizatörleri,

hematopetik growth faktör gibi çeşitli ajanlar kullanılarak yapılan klinik çalışmalarda tek başına veya trombolitik tedavi ile birlikte başarıları kanıtlanmış değildir. İskemik inme patofizyolojisinde hücrel hasara yol açan çeşitli yollar olduğundan tek bir ilaç yerine nöroprotektif ajanların kombine kullanılması düşünülmelidir (71).

Deneysel olarak iskemi reperfüzyon hasarı oluşturduğumuz çalışmamızda, nöroprotektif etkinliğini histopatolojik olarak kanıtladığımız NAC ve etilpirüvatın tek başına veya diğer nöroprotektif ajanlarla kombine kullanılması başka çalışmalarla da desteklenmelidir. Akut inmede trombolitik tedavi endikasyonu olan durumlarda eş zamanlı nöroprotektif tedavinin de başlanması sonrasında oluşacak iskemi reperfüzyon hasarını önemli ölçüde engelleyerek hastanın klinik takibinde olumlu etkisinin olacağını düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ

1. Çalışmamızda NAC ve etilpirüvat verdiğimiz gruplarda histolojik değerlendirmede elde ettiğimiz sonuç oldukça başarılıdır. Her ikisinin de koruyucu etkinliğinin olduğu görülmüştür. Grup 1 nin grup 2 ve grup 3 e göre dejeneratif nöron yüzdesi daha fazladır (p değerleri sırasıyla  $p^a = 0.003$ ,  $p^c = 0.003$ ). Grup 2 ve grup 3 arasında da anlamlı fark bulunup ( $p=0.003$ ), NAC verilen grubun dejeneratif nöron yüzdesi etilpirüvat grubuna göre anlamlı ölçüde düşük olduğu bulundu. Etilpirüvat grubundaki iyileşme NAC grubuna göre daha az olsa da istatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamlıdır.
2. Çalışmamızda etken madde vererek iskemi reperfüzyon hasarını önlemedeki etkisini değerlendirmede kullandığımız SCUBE 1, IMA ve MDA değerleri arasında gruplar arasında fark bulunmadı. Sonuçlarımız biyokimyasal markırlar ile uyumsuzdur.
3. Çalışmamızda NAC ve Etilpirüvatın nöroprotektif etkinliği histolojik olarak net bir şekilde kanıtlanmıştır. Deneysel olarak oluşturduğumuz iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkin olduğu görülmüştür. Bu çalışma bundan sonra yapılacak olan çalışmalara öncü niteliktedir ve klinik çalışmalarla da desteklenmelidir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Serebrovasküler Hastalıklar. Çoban O, Bebek N (Çeviren). 8. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2006.
2. Phillip AS, Caroline AT. İnme transient ischemic attack, and other central focal conditions. Judith ET, Gabor DK, Stapczynski JS (editors). Emergency Medicine: a comprehensive study guide. 6th ed, North Caroline: McGraw-Hill, 2006:1382-1390.
3. Bivard A, Lin L, Parsons MW. Review of Stroke Thrombolytics. Journal of stroke. 2013;15(2):90-8.
4. Prugger C, Luc G, Haas B, Morange PE, Ferrieres J, Amouyel P, et al. Multiple biomarkers for the prediction of ischemic stroke: the PRIME study. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2013;33(3):659-66.
5. Stanimirovic DB, Wong J, Shapiro A, Durkin JP. Increase in surface expression of ICAM VCAM-1 and E-selectin in human cerebrovascular endothelial cells subjected to ischemia-like insults. Acta Neurochir Suppl 1999;70:12–6.
6. Vila N, Castillo J, Davalos A, Chamorro A. Proinflammatory Cytokines and Early Neurological Worsening in Ischemic Stroke. Stroke 2000;31:2325-2329.
7. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al: Heart disease and stroke statistics 2010 update: a report from the American Heart Association. Circulation 121: e46, 2010. Epub Dec. 17, 2009.
8. Stephen G. Waxman. Correlative Neuroanatomy. Lange Medical Books, 1999. Sf 168-172.
9. Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, Caplan LR, Connors JJ, Culebras A, et al. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke; a journal of cerebral circulation. 2013;44(7):2064-89.
10. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2011;123(4):e18-e209.
11. Rothwell PM, Coull AJ, Silver LE, Fairhead JF, Giles MF, Lovelock CE, Redgrave JN, Bull LM, Welch SJ, Cuthbertson FC, Binney LE, Gutnikov SA, Anslow P, Banning AP, Mant D, Mehta Z: Population-based study of event-rate, incidence, case fatality, and mortality for all acute vascular events in all arterial territories (Oxford Vascular Study). Lancet 2005;366:1773-1783

12. Know the Facts, Get the Stats: Our Guide to Heart Disease, Stroke and Risks. Dallas, Tex: American Heart Association; 2002. Publication No. 55-0576 2002-04.
13. Ustrell-Roig X, Serena-Leal J. Stroke. Diagnosis and Therapeutic Management of Cerebrovascular Disease. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60(7):753-769
14. Onat A, Keleş İ, Çetinkaya A, ve ark. On Yıllık TEKHARF Çalışması Verilerine Göre Türk Erişkinlerinde Koroner Kökenli Ölüm ve Olayların Prevalansı Yüksek. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2001 ;29:8-19
15. Bejot Y, Benatru I, Rouaud O, et al. Epidemiology of stroke in Europe: geographic and environmental differences. *J Neurol Sci.* Nov 15 2007;262(1-2):85-88.
16. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, Appel LJ, Brass LM, Bushnell CD, et al. 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; a journal of cerebral circulation.* 2006;37(6):1583-633.
17. Adams HP, Jr., Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke; a journal of cerebral circulation.* 1993; 24(1):35-41.
18. Chen PH, Gao S, Wang YJ, Xu AD, Li YS, Wang D. Classifying Ischemic Stroke, from TOAST to CISS. *CNS neuroscience & therapeutics.* 2012; 18(6):452-6.
19. Grotta JC, Helgason C. Ischemic stroke pathophysiology. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* May-Jun 1999;8(3):114-116.
20. Oğuz Y: Serebrovasküler Hastalıklar: Yaltkaya K, Balkan S, Oğuz Y: Nöroloji Ders Kitabı. 4. Baskı, Ankara 2000:183-218.
21. Tsivgoulis G, Alexandrov AV. Cerebral hemodynamics in acute stroke: pathophysiology and clinical implications. *Journal of vascular and interventional neurology.* 2008;1(3):65-9.
22. Deb P, Sharma S, Hassan KM. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance



beyond thrombolysis. *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology / ISP*. 2010;17(3):197-218.

23. Jamieson DG. Diagnosis of ischemic stroke. *Am J Med*. Apr 2009;122(4 Suppl 2):S14-20.
24. Hedna VS, Shukla PP, Waters MF. Seizure Mimicking Stroke: Role of CT Perfusion. *Journal of clinical imaging science*. 2012;2:32.
25. Ustrell-Roig X, Serena-Leal J. [Stroke. Diagnosis and therapeutic management of cerebrovascular disease]. *Revista espanola de cardiologia*. 2007;60(7):753-69.
26. Hand PJ, Kwan J, Lindley RI, Dennis MS, Ward-law JM. Distinguishing between stroke and mimic at the bedside: the brain attack study. *Stroke* 2006;37:769–75.
27. Khaja AM, Grotta JC. Established treatments for acute ischaemic stroke. *Lancet*. Jan 27 2007;369(9558):319-330.
28. Meyer BC, Lyden PD. The modified National Institutes of Health Stroke Scale: its time has come. *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*. 2009;4(4):267-73.
29. Jauch EC, Saver JL, Adams HP, Jr., Bruno A, Connors JJ, Demaerschalk BM, et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2013;44(3):870-947.
30. Chalela JA, Kidwell CS, Nentwich LM, et al. Magnetic resonance imaging and computed tomography in emergency assessment of patients with suspected acute stroke: a prospective comparison. *Lancet*. Jan 27 2007;369(9558):293-298.
31. Chalela JA, Kidwell CS, Nentwich LM, Luby M, Butman JA, Demchuk AM, et al. Magnetic resonance imaging and computed tomography in emergency assessment of patients with suspected acute stroke: a prospective comparison. *Lancet*. 2007;369(9558):293-8.
32. Hodel J, Leclerc X, Khaled W, Tamazyan R, Rodallec M, Gerber S, et al. 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*. 2013.
33. Bentley P, Sharma P. Pharmacological treatment of ischemic stroke. *Pharmacol Ther*. Dec 2005;108(3):334-352.

34. Tu CF, Su YH, Huang YN, Tsai MT, Li LT, Chen YL, et al. Localization and characterization of a novel secreted protein SCUBE1 in human platelets. *Cardiovascular research*. 2006;71(3):486-95.
35. Tu C.F., Yan Y.T., Wu S.Y., Djoko B., Tsai M.T., Cheng C.J., Yang R.B., *J.Biol.Chem*. 2008; 283:12478-12488
36. Dai D.F., Thajeb P., Tu C.F., Chiang F.T., Chen C.H., Yang R.B., Chen J.J., (2008) *J. Am. Coll. Cardiol*. 2008;51:2173-80
37. Carter DC, Ho JX. Structure of serum albumin. *Advances in protein chemistry*. 1994;45:153-203.
38. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *The Journal of emergency medicine*. 2000;19(4):311-5.
39. Bhagavan NV, Lai EM, Rios PA, Yang J, Ortega-Lopez AM, Shinoda H, et al. Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. *Clinical chemistry*. 2003;49(4):581-5.
40. Bar-Or D, Winkler JV, Vanbenthuyzen K, Harris L, Lau E, Hetzel FW. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I. *American heart journal*. 2001;141(6):985-91.
41. Turedi S, Yilmaz SE, Mentese A, Turkmen S, Karaca Y, Sen O, et al. The diagnostic value of serum ischemia-modified albumin levels in experimentally induced carbon monoxide poisoning and their correlation with poisoning severity. *Academic emergency medicine : official journal of the Society for Academic Emergency Medicine*. 2013;20(7):652-8.
42. Turedi S, Patan T, Gunduz A, Mentese A, Tekinbas C, Topbas M, et al. Ischemia-modified albumin in the diagnosis of pulmonary embolism: an experimental study. *The American journal of emergency medicine*. 2009;27(6):635-40.
43. Turedi S, Karahan SC, Mentese A, Gunduz A, Topbas M, Kosucu P, et al. Investigation of relationship between the D-dimer and ischemia-modified albumin levels with the radiological imaging-based pulmonary embolism severity score in acute pulmonary embolism. *Anadolu kardiyoloji dergisi : AKD = the Anatolian journal of cardiology*. 2010;10(4):346-52.

44. Turedi S, Gunduz A, Mentese A, Karahan SC, Yilmaz SE, Eroglu O, et al. Value of ischemia-modified albumin in the diagnosis of pulmonary embolism. *The American journal of emergency medicine*. 2007;25(7):770-3.
45. Mentese A, Turkmen S, Karaguzel E, Karaca Y, Tatli O, Sumer AU, et al. The predictive value of ischemia-modified albumin in long-term results of ischemia-reperfusion injury in an experimental testicular torsion model. *Urology*. 2012;80(3):689-94.
46. Kutlu O, Mentese A, Turkmen S, Turedi S, Gunduz A, Yulug E, et al. Investigation of the possibility of using ischemia-modified albumin in testicular torsion: an experimental study. *Fertility and sterility*. 2011;95(4):1333-7.
47. Gunduz A, Turedi S, Mentese A, Karahan SC, Hos G, Tatli O, et al. Ischemia-modified albumin in the diagnosis of acute mesenteric ischemia: a preliminary study. *The American journal of emergency medicine*. 2008;26(2):202-5.
48. Gunduz A, Turedi S, Mentese A, Altunayoglu V, Turan I, Karahan SC, et al. Ischemia-modified albumin levels in cerebrovascular accidents. *The American journal of emergency medicine*. 2008;26(8):874-8.
49. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical biochemistry*. 1993;26(5):351-7.
50. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology & medicine*. 2001;31(11):1287-312.
51. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*. 2005;3:28.
52. Sevanian A, Ursini F. Lipid peroxidation in membranes and low-density lipoproteins: similarities and differences. *Free radical biology & medicine*. 2000;29(3-4):306-11.
53. Okutan H, Savas C, Delibas N. The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2004;3:519-22
54. Aviram M. Malondialdehyde affects the physico-chemical and biological characteristics of oxidized low density lipoprotein. *Atherosclerosis*. 1990;84(2-3): 141-3.
55. Fink MP. Ethyl pyruvate. *Current Opinion in Anesthesiology*, 2008; 21:160-167.

56. Abbasoğlu SD, Balkan J, Kanbağı Ö ve ark.. Aminoguanidin ve N-asetilsisteinin endotoksemik sirozlu sıçanlarda karaciğer hasarı, oksidatif ve nitrozatif stres üzerine etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004; 5(1): 27-32.
57. Yagi K. Assay for blood plasma or serum. *Methods in enzymology*. 1984;105:328-31.
58. Little JR (1978). Modification of acute ischemia by treatment with mannitol. *Stroke*; 9: 4–9.
59. Garman RH (2011) . Histology of the central nervous system. *Toxicol Pathol*; 39(1):22-35.
60. Amy K. Saenger<sup>1</sup> and Robert H. Christenson Stroke Biomarkers: Progress and Challenges for Diagnosis, Prognosis, Differentiation and Treatment *Clinical Chemistry* 2010 56:1:21–33
61. Kaçmaz A, Polat A, User Y, Tilki M, Ozkan S, Sener G. Octreotide improves reperfusion-induced oxidative injury in acute abdominal hypertension in rats. *J Gastrointest Surg* 2004;8:113-9.
62. Turkmen S, Mentese S, Mentese A, Sumer AU, Saglam K, Yulug E, et al. The value of signal peptide-CUB-EGF domain-containing protein 1 and oxidative stress parameters in the diagnosis of acute mesenteric ischemia. *Academic emergency medicine: official journal of the Society for Academic Emergency Medicine*. 2013;20(3):257-64.
63. Mentese A, Fidan E, Sumer AU, Karahan SC, Sonmez M, Altay DU, et al. Is SCUBE 1 a new biomarker for gastric cancer? *Cancer biomarkers : section A of Disease markers*. 2012;11(5):191-5.
64. McMahon B, Kwaan HC. The plasminogen activator system and cancer. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*. 2008;36(3-4):184-94.
65. Zhang Z<sup>1</sup>, Yan J<sup>1</sup>, Taheri S<sup>2</sup>, Liu KJ<sup>3</sup>, Shi H<sup>4</sup>. Hypoxia-inducible factor 1 contributes to N-acetylcysteine's protection in stroke. *Free Radic Biol Med*. 2014 Mar ;68:8-21
66. Oliveira Filho LD<sup>1</sup>, Saad KR<sup>2</sup>, Saad PF<sup>2</sup>, Koike MK<sup>3</sup>, Silva SM<sup>1</sup>, Montero EF<sup>1</sup>. Effect of N-acetylcysteine in hearts of rats submitted to controlled hemorrhagic shock. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2015 Mar-Apr;30(2):173-81
67. Yang R, Shauf AL, Killeen ME, Fink MP. Ethyl pyruvate ameliorates liver injury secondary to severe acute pancreatitis. *J Surg Res*, 2009; 15; 153:302-309.

68. Saver JL, Starkman S, Eckstein M, Stratton SJ, Pratt FD, Hamilton S, Conwit R, Liebeskind DS, Sung G, Kramer I, Moreau G, Goldweber R, Sanossian N; FAST-MAG Investigators and Coordinators. Prehospital use of magnesium sulfate as neuroprotection in acute stroke. *N Engl J Med.* 2015 Feb 5;372(6):528-36
69. Bederson JB, Connolly ES Jr, Batjer HH, Dacey RG, Dion JE, Diringer MN, Duldner JE Jr, Harbaugh RE, Patel AB, Rosenwasser RH.; American Heart Association. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association [published correction appears in *Stroke.* 2009;40:e518].
70. Wahlgren NG, MacMahon DG, DeKeyser J, Indredavik B, Ryman T. Intravenous Nimodipine West European Stroke Trial (INWEST) of nimodipine in the treatment of acute ischaemic stroke. *Cerebrovasc Dis.* 1994;4:204–210.
71. Parmar S, Moore-Langston S, Fredrickson V, Kim JM, Rastogi R, Elmadoun O, Ding Y<sup>1</sup>. Neuroprotective mechanisms of oxygen and ethanol: a potential combination therapy in stroke. *Curr Med Chem.* 2015;22(10):1194-204.