

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İSKEMİK İNME MODELİNDE OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİ VE SIGNAL PEPTIDE-CUB-EGF DOMAIN-CONTAINING
PROTEIN 1 (SCUBE1) İNCELENMESİ**

Uzmanlık tezi

Dr. Umut ERYİĞİT

Trabzon-2014

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İSKEMİK İNME MODELİNDE OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİ VE SIGNAL PEPTIDE-CUB-EGF DOMAIN-CONTAINING
PROTEIN 1 (SCUBE1) İNCELENMESİ**

Uzmanlık tezi

Dr. Umut ERYİĞİT

Tez danışmanı: Yard. Doç. Dr Süha TÜRKMEN

Trabzon-2014

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda desteklerini esirgemeyen, kendilerinden bilimsel ve insani anlamda çok Őeyler öğrendiğim ve tezimin hazırlanmasında çok değerli yardımları bulunan tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Süha TÜRKMEN, değerli hocalarım Doç. Dr. Abdülkadir GÜNDÜZ, Doç. Dr. Süleyman TÜREDİ ve Uzm. Dr Yunus KARACA'ya, eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim tüm kıdemlilerime, beraber görev yaptığım tüm doktor, hemŐire, teknisyen ve sağlık personeli arkadaşlarıma, acil servisin yoğun temposunu güler yüzüyle bana unutturan ve her anlamda destekçim olan ve oğlum Mesut Mert'in bakımıyla tek başına ilgilenmek zorunda kalan sevgili eŐim AyŐe ERYİĞİT'e, ve her türlü fedakarlığı sergileyerek bugünlere gelmemi sağlayan anne ve babama gönülden teşekkür ederim.

Dr. Umut ERYİĞİT

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. SVH Tanımı.....	2
2.2. İskemik İnme Epidemiyolojisi.....	3
2.3. İskemik İnme Risk Faktörleri	3
2.3.1. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri.....	3
2.3.2. Kanıt Düzeyi Yüksek Değiştirilebilir Risk Faktörleri	4
2.3.3. Kanıt Düzeyi Düşük veya Potansiyel Değiştirilebilir Risk Faktörleri.....	4
2.4. İskemik İnme Etiyolojik Sınıflaması	5
2.4.1. Akut İskemik İnmede TOAST Sınıflaması	5
2.4.1.1. Büyük Arter Ateroskleroza	5
2.4.1.2. Kardiyoembolizm	6
2.4.1.2.1. Yüksek Riskli Kardiyoembolik Kaynaklar	6
2.4.1.2.2. Orta Riskli Kardiyoembolik Kaynaklar.....	6
2.4.1.3. Küçük Damar Tıkanıklığı.....	7

2.4.1.4. Diğer Belirlenebilir Nedenler	7
2.4.1.5. Nedeni Belirlenemeyenler	7
2.5. İskemik İnmede Patofizyoloji	8
2.6. İskemik İnme Ayırıcı Tanıları	8
2.6.1. İskemik İnme ile Karışan Nörolojik Durumlar	8
2.6.2. İskemik İnme ile Karışan Metabolik Durumlar	9
2.6.3. İskemik İnme ile Karışan Psikiyatrik Hastalıklar	9
2.6.4. İskemik İnme ile Karışan Diğer Durumlar	9
2.7. İskemik İnmede Tanı ve Değerlendirme	9
2.7.1. İskemik İnmede Rutin Yapılması Gerekli Testler	10
2.7.2. İskemik İnmede Seçilmiş Hastalarda Yapılması Gereken Testler	11
2.7.3. İskemik İnme Tanısında Görüntüleme Yöntemleri	11
2.8. İskemik İnmede Tedavi Yaklaşımları	11
2.8.1. Tanı ve Değerlendirme.....	12
2.8.2. Resüsitasyon ve Fizyolojik Düzenlenme	12
2.8.3. Akut İskemik İnme İlaç Tedavisi.....	12
2.9. Akut İskemik İnme Tanısında Biyokimyasal Belirteçler	13
2.10. İskemi Modifiye Albumin	13
2.11. Malondialdehid (MDA)	14
2.12. SCUBE1	14
3. MATERYAL VE METOD	16
3.1. Laboratuvar İncelemesi	17
3.1.1. SCUBE 1 Düzeyinin Belirlenmesi	17
3.1.2. İMA Düzeyinin Belirlenmesi	17
3.1.3. Plazma Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi	18

3.1.4. Doku malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi.....	19
3.2. Deneklerin Histopatolojik İncelenmesi	19
3.3. İstatistiksel Analiz	20
4. BULGULAR	21
4.1. Deneklerin SCUBE1 Değerleri.....	22
4.2. Deneklerin İMA Değerleri	23
4.3. Deneklerin Plazma MDA Değerleri	23
4.4. Deneklerin Doku MDA Değerleri	23
4.5. Deneklerin Histopatolojik Değerlendirilmesi.....	23
4.6. Değerlendirilen Biyokimyasal Parametrelerin Birbirleri ve Histopatolojik Hasar Skoru ile Korelasyonu	26
5. TARTIŞMA.....	27
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	31
7. ÖZET	33
8. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY).....	35
9. KAYNAKLAR.....	37

KISALTMALAR

AF	Atriyal Fibrilasyon
AHA	American Heart Association
ASA	American Stroke Association
ASCO	Atherothrombosis, Small vessel disease, Cardiac causes, and Other uncommon causes
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BBT	Bilgisayarlı Beyin Tomografisi
CCS	Causative Classification of Stroke System
CISS	Chinese Ischemic Stroke Subclassification
DM	Diabetes Mellitus
DSA	Digital Subtraction Angiografi
DTT	Dithiothreitol
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GA	Geçici İskemik Atak
GKS	Glaskow Koma Skalası
ISK	İntraserebral Kanama
İMA	İskemi Modifiye Albumin
KAH	Koroner Arter Hastalığı
MDA	Malondialdehid
MI	Miyokardiyal İnfarktüs
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NIHSS	National Institute of Health Sciences Scale
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SAK	Subaraknoid Kanama

SCUBE1	Signal Peptide-Cub-Egf domain-containing protein 1
SSS	Santral Sinir Sistemi
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
SVH	Serebrovasküler Hastalık
SVO	Serebrovasküler Olay
TOAST	Trial of Org in Acute Stroke Treatment
tPA	Doku Plazminojen Aktivatörü
USG	Ultrasonografi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Grupların SCUBE1 ortancasının kutu grafikte gösterimi

Şekil 2: Beyin dokusu korteksine ait fotomikrograf (H&E X 400) (A: Kontrol grubu, B: 1 saatlik iskemi grubu; C: 2 saatlik iskemi grubu, D: 6 saatlik iskemi grubu) Normal morfolojide piramidal nöronlar (↑), dejeneratif piramidal nöronlar (Δ).

Şekil 3: Beyin dokusu korteksine ait fotomikrograf (Krezil viyole X 400) (A: Kontrol grubu, B: 1 saatlik iskemi grubu; C: 2 saatlik iskemi grubu, D: 6 saatlik iskemi grubu) Normal morfolojide piramidal nöronlar (↑), dejeneratif piramidal nöronlar (Δ).

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1 : Grupların SCUBE1, IMA, serum MDA, doku MDA ve atrofik nöron yüzdesi ortanca değerleri

Tablo 2 : Grupların SCUBE1, IMA, serum MDA, doku MDA ve atrofik nöron yüzdesi bağıntı analizi

1. GİRİŞ

Dünya sağlık örgütünün verilerine göre inme gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalıklar ve kanserden sonra üçüncü en sık ölüm nedeni, dünya genelinde ise ölüm sıralamasında ikinci sırada gelmektedir (1). Ülkemize bakıldığında ise ölüme neden olan hastalıklar sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada gelmektedir (2).

Acil servise inme ile gelen hastaların erken dönemde tanısının konulması ve tedavisi ile mortalite ve morbidite oranlarında ciddi iyileşmeler görülmüştür. Özellikle iskemik inme tedavisinde kullanılan trombolitik ajanlar gibi yeni tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile erken dönem tedavide büyük başarı elde edilmiştir (3). Bu nedenle inmeyi taklit eden durumları dışlamak ve inme hastalarında erken tanı koyabilmek için acil servislerde kullanılacak kolay ulaşılabilir, hızlı sonuç veren ve güvenli bir şekilde beyin hasarını gösteren yeni biyokimyasal belirteçlere olan ilgi artmıştır (4).

Serebrovasküler hastalık oluşumunda ateroskleroz oluşumu için inflamatuvar süreç önemli bir basamak olup bu aşamada pek çok serum belirtecinin arttığı bilinmektedir. Deneysel serebral iskemi çalışmalarında vasküler hücre adezyon molekülleri gibi pek çok molekülün salınımının arttığı gösterilmiştir. Adezyon moleküllerinin plazmadaki seviyelerinin ölçümünün endotelial disfonksiyon veya inflamasyon neticesinde gelişen aterogenezis hakkında önemli bilgi verebileceği düşünülmektedir (5). Bu bilgilerden hareketle son dönemlerde trombosit aktivasyonundan sonra artan ve trombositlerden salındığı düşünülen Signal Peptide-Cub-Egf domain-containing protein 1 (SCUBE1) düzeylerinin serebrovasküler ve kardiyovasküler olaylarda kullanılabilmesine dair çalışmalar mevcuttur (6). Bu çalışma ile akut iskemik inme erken tanısında kullanılma potansiyeli olduğunu düşündüğümüz SCUBE1 düzeylerindeki değişimi deneysel olarak oluşturulan iskemik inme modelinde değerlendirmeyi ve iskemik inme tanısında kullanılan iskemi modifiye albumin (İMA), malondialdehid (MDA) gibi oksidatif stres belirteçleri ile karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Serebrovasküler Hastalık (SVH) Tanımı

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tanımına göre SVH; 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 (7) .

Mevcut tanım 1970 yılında WHO tarafından yapılmış ve hala geçerliliğini koruyan bir tanımdır. Ancak tanımın çok eski olması ve teknolojik gelişmelerle beraber 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 ölümlle sonuçlanan, iskemi haricindeki diğer nedenlerin ekarte edildiği (travma gibi) fokal hücresele 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 kanamanın 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 nedeniyle 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 olduğu düşünülen ama yukarıdaki sınıflamalardan her hangi birine dahil edilemeyen 24 saatten uzun süren veya ölüme neden olan akut nörolojik disfonksiyon (1).

Bahsedilen bu inme tiplerinden % 87 si iskemik tipte inme, % 10 kadarı intaserebral kanama, % 3'lük kısmı ise subaraknoid kanama nedenlidir (8).

2.2. İskemik İnme Epidemiyolojisi

ABD'de, toplam 7.000.000 inme hastası mevcut olup, her yıl ortalama 795.000 kişi inme geçirmektedir. Bu inmelerin yaklaşık 610.000 kadarı ilk inme, 185.000 kadarı tekrarlayan inmedir. 2007 verilerine göre her 19 ölümden bir tanesi inme kaynaklıdır. Ve ortalama her 40 saniyede bir kişi inme geçirmektedir. 2006 yılı verilerine göre inme kaynaklı ölümler yüz binde 39.1 civarındadır (9).

2.3. İskemik İnme Risk Faktörleri

İskemik inmede risk faktörleri; inmenin çeşidi, risk faktörünün değiştirilebilirliği ve kanıt düzeyi dikkate alınarak sınıflanabilir.

2.3.1. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri

- İleri yaş
- Bayan cinsiyet
- Siyah ırk
- Aile öyküsü
- Düşük doğum ağırlığı (10)

2.3.2. Kanıt Düzeyi Yüksek Değiştirilebilir Risk Faktörleri

- Hipertansiyon (HT)
- Sigara
- Diabetes mellitus (DM)
- Atrial fibrilasyon (AF)
- Dislipidemi
- Belirti vermeyen karotis stenoza
- Orak hücreli anemi
- Postmenapozal hormonal terapi
- Diyet ve beslenme
- Fiziksel inaktivite
- Obezite
- Diğer kardiyak hastalıklar (10)

2.3.3. Kanıt Düzeyi Düşük v e ya 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
- İnfeksiyon (10)

2.4. İskemik İnme Etiyolojik Sınıflaması

İskemik inme hastalarının doğru tedavisi için bir takım sınıflamalar mevcuttur. İnme etyolojisine yönelik ilk sınıflandırmalar, genellikle lezyonun patolojisine göre yapılmış ve tüm inmeler “iskemi” veya “hemoraji” olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda ise ileri nöroradyolojik, kardiyolojik, hematolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler ve lezyonun patolojisi ile birlikte, lezyon lokalizasyonu ve oluş mekanizması göz önüne alınarak sınıflandırmalar yapılmıştır. Günümüzde en yaygın kullanılan sınıflama 1993 yılında yayınlanan TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) sınıflamasıdır (11). 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 etiyolojik sınıflama sistemi TOAST sistemidir (12). Burada en yaygın kullanılan sistem olan TOAST sistemi hakkında ayrıntılı bilgi verilecektir.

2.4.1. Akut İskemik İnme TOAST Sınıflaması

1-Büyük arter ateroskleroza	% 30-40
2-Kardiyoembolizm	% 20-30
3-Küçük damar oklüzyonu	% 20-30
4-Diğer belirlenebilir nedenler	% 5-10
5-Nedeni belirlenemeyenler (kriptojenik)	% 15 (11)

2.4.1.1. Büyük Arter Ateroskleroza

Büyük beyin arterleri veya kortikal dallarında ateroskleroza bağlı gelişen önemli darlık (% 50'den fazla darlık), tıkanıklık veya ülser plak (2 mm'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 var olması, öncesinde geçici iskemik atak (GİA), aynı tarafta infarkt öyküsü, özgeçmişinde kalp hastalığı, alt ekstremitelerde intermitant kladikasyonun olması, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve/veya bilgisayarlı beyin tomografisinde

(BBT) karotid veya vertebrobaziller alanda 1.5 cm'nin üzerinde kortikal veya subkortikal infarktın gösterilmesi ve anjiyografide vasküler bölgeyi kapsayan tıkanıklık veya darlığın gösterilmesi büyük arter aterosklerozuna bağlı inmeyi gösteren diğer klinik ve görüntü kriterlerini oluşturur (11).

2.4.1.2. Kardiyoembolizm

Büyük arterlerde kalpte emboliye sebep olabilecek en az bir potansiyel patolojinin olması temel kriterdir. Kardiak nedenler yüksek risk ve orta risk grupları olarak ikiye ayrılır. Kardiyoembolik inme tanısı koymak için kardiak emboli nedeni olabilecek en az bir neden gösterilmelidir. Klinik ve görüntüleme olarak büyük arter aterosklerozu ile aynı bulguları verir. Emboli için orta risk kriterlerinden birine sahip olan ve inme geçiren ve başka neden bulunamayan hastalarda kardiyoembolizmden şüphelenilmelidir (11).

2.4.1.2.1. Yüksek Riskli Kardiyoembolik Kaynaklar

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

2.4.1.2.2. Orta Riskli Kardiyoembolik 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)

2.4.1.3. Küçük Damar Tıkanıklığı

Diğer sınıflamalarda laküner enfarkt olarak sınıflandırılan inme çeşididir. Tanım olarak kortikal bulgu ve belirti olmadan laküner infarktla uyumlu klinik bulgu olmalı, infarkt çapı maksimum 1.5 cm olmalı, potansiyel bir kardiyak kaynak ve ekstrakraniyal damarlarda, ipsilateral % 50'den fazla darlık veya emboli olmamalıdır. BBT veya MRG'de bulgu olmayabilir (11).

Laküner sendromun klasik klinik seyrinde; saf hemiparezi, saf duyuusal bozukluk, sensorimotor sendrom, ataksik hemiparezi, dizartri veya beceriksiz el sendromu görülebilir.

2.4.1.4. Diğer Belirlenebilir Nedenler

Büyük arter ateroskerozu veya kardiyembolik sebepler olmadan görülen vasküler sorunlar, hiperkoagülopati durumları veya hematolojik hastalıklar gibi nadir diğer nedenlerle oluşan inme çeşididir. Bu hastalarda lezyonun yeri ve büyüklüğüne bağlı olmaksızın klinik bulgu ve görüntüleme görülebilir. Kan testleri ve damar yapısal bozuklukları için yapılan tanısal testlerle nadir olan bu nedenlerden biri gösterilmelidir (11).

2.4.1.5. Nedeni Belirlenemeyenler

Birden fazla sebep bulunan, yanlış değerlendirilen veya yetersiz değerlendirilen grupları içerir. Bazı hastalarda çok detaylı araştırma yapılsa bile bazen neden saptanamayabilir. Bu grupta hekimin son tanıyı koyması için karar veremediği birden çok nedensel durum da olabilir. Mesela orta risk kardiyembolik kaynağa sahip olan

ve farklı bir etyolojik neden daha ortaya konan hastalar da bu kategoriye dahil edilir. Veya atrial fibrilasyonu olan ve aynı tarafta % 50 stenoz olan veya laküner sendrom bulguları olan bir hasta önceki bahsedilen tanıların bir tanesine tek olarak giremeyeceği için bu kategoriye girer (11).

2.5. İskemik İnmede Patofizyoloji

Ortalama erişkin beyin ağırlığı 1500 gram üzerindedir. Vücut ağırlığına oranla beynin ağırlığı çok fazla olmasa da kalp debisinin beşte biri beyin dolaşımına gider. Beyne ortalama 50 ml/100g/dakika kan ulaşmaktadır. Bu miktar beynin 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 otonöregülasyonun sağlanamadığı ve kan akımının 20 ml/100g/dk seviyesinin altına düştüğünde beyin için kritik süreç olan iskemi süreci başlar. Serebral kan akımı 8 ml/ 100g/dk seviyesinin altına düştüğünde ise doku nekrozu ve serebral enfarkt süreci başlar (13). Hipoperfüzyon süreci devam ettiğinde oluşan 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 (14).

2.6. İskemik İnme Ayırıcı Tanıları

Acil servislere 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 (15). Bu yüzden acil servislere inme benzeri semptomlarla başvuran hastalarda ayırıcı tanıyı iyi yapmak gerekir. Yapılan değişik çalışmalarda inme benzeri semptomları olan farklı hasta grupları tanımlanmış olup aşağıda gösterilen durumlar göz önüne alınmalıdır (16-18).

2.6.1. İskemik İnme ile Karışan Nörolojik Durumlar

- Epilepsi
- Migren

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

2.6.2. İskemik İnme ile Karışan Metabolik Durumlar

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

2.6.3 İskemik İnme ile Karışan Psikiyatrik Hastalıklar

- Major depresyon
- Konversiyon bozuklukları

2.6.4. İskemik İnme ile Karışan Diğer Durumlar

- Senkop
- Sistemik infeksiyonlar
- Travmatik veya spontan diseksiyonlar

2.7. İskemik İnmede Tanı ve Değerlendirme

Acil servislerde fibrinolitikler gibi spesifik tedaviler uygulanarak, geri dönüştürülebilir dokuların kurtulması ve hastanın bozulan fonksiyonlarının geri kazandırılabilmesi için inme semptomlarıyla gelen hastalarda iskemik inme tanısının hızlı bir şekilde yapılması gereklidir. İnme araştırmasında kullanılan uygulamalar sadece tanı için değil, ayırıcı tanıların dışlanması, inmenin etyolojisi, patogenezi ve doğru tedavi seçimini belirlemek için de yapılır.

Doğru tanı için; iyi bir öykü, genel ve nörolojik muayene, kan analizleri, yardımcı testler ve görüntüleme yöntemleri gereklidir.

Öyküde belirtilerin 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 (19).

Yapılacak genel muayene ve nörolojik muayene ile inmenin, beyinde hangi lokalizasyonu etkilediğı, etyolojisinin ne olduğı ve prognozun ne olacağı hakkında bilgi edinebiliriz (19).

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 eğilimidir.

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 etmedir.

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 bulgulardır.

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 (20).

Biyokimyasal tetkikler 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.

2.7.1. İskemik İnmede Rutin Yapılması Gerekli Testler

- Tam kan sayımı
- Serum kan şekeri

- Serum elektrolitleri ve böbrek fonksiyon testleri
- Koagülasyon testleri (PT, PTT, INR)
- Elektrokardiogram
- Kardiyak enzimler
- Kontrastsız beyin tomografisi (21)

2.7.2. 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 (21)

2.7.3. İskemik İnme Tanısında Görüntüleme Yöntemleri

İnme hastalarında intrakranial kanamayı ekarte etmek için yapılması gereken ilk tetkik kontrastsız beyin bilgisayarlı tomografisidir (BBT). BBT yaygın kullanılan, kolay ulaşılan ve nispeten ucuz bir metoddur. İskemik inmenin erken tanısında kullanılan bir diğer yöntem ise manyetik rezonans görüntülemedir (MRG). 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 (22).

İnme hastalarında etyoloji araştırılması ve tedavi planlanması için bazı durumlarda transkranial Doppler USG, Digital Subtraction Anjiografi (DSA), BT anjiografi veya MRG anjiografi gibi anjiyografik tetkikler gerekli olabilir. Transkranial doppler USG özellikle karotis tıkanıklığında kullanılsa da, yanlış pozitiflik görülebileceği bazı durumlarda non-invazif ve invazif anjiyografik tetkikler faydalı olabilir (23-26).

2.8. İskemik İnmede Tedavi Yaklaşımları

İnme tüm dünyada ölümlerde 3. sırada ve kronik iş gücü kaybında ilk sırada yer

almaktadır. Bu nedenle mortalite ve uzun dönem morbiditeyle mücadele edebilmek için inme şüphesi olan hastalar acil servislerde hızlı ve doğru bir şekilde tedavi edilmelidir (1). Acil serviste inme hastasının tedavi yaklaşımı aşağıda özetlenmiştir.

2.8.1. Tanı ve Değerlendirme

İnme ile gelen hastaların tedavi planlanması açısından hızlı bir şekilde etyolojik, patolojik ve anatomik tanısı ile beraber ciddi bir genel değerlendirilme yapılmalıdır.

2.8.2. Resüsitasyon ve Fizyolojik Düzenleme

- Bu aşamada hasta ilk olarak inme ünitesine alınarak monitörize edilir.
- Havayolu, solunum ve dolaşım desteği sağlanır.
- Hipertermi ile mücadele edilir.
- Sistolik kan basıncı 121-200 mm Hg, diyastolik kan basıncı 81-110 mm Hg sınırları arasında tutulmaya çalışılır.
- Damar içi hidrasyon ve kan şekeri regülasyonu sağlanır (21).

2.8.3. Akut İskemik İnme İlaç Tedavisi

Akut iskemik inme tedavisinde damar içi hidrasyon, damar içi volüm genişleticiler ve başa aşağıya doğru pozisyon verilmesi ile serebral perfüzyon artırılmaya çalışılır. Akut iskemik inmede en yüz güldürücü tedavi trombolitik tedavidir. Trombolitik tedavide kullanılan ajan doku plazminojen aktivatörü diye bildiğimiz doku (tissue) plazminojen aktivatörüdür (tPA). 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'lık kısmı ise 60 dakikada infüzyonla verilir. Uygulama esnasında 15 dakikada bir nörolojik gözlem, kan basıncı, nabız ve pulse oksimetre takibi yapılmalıdır (27).

Antiagregan, antiplatelet tedavi ise oluşan pıhtının yayılmasını veya yeni oluşacak pıhtıları önlemek için verilebilir ve bir çok ajan tercih edilebilir (27).

2.9. Akut İskemik İnme Tanısında Biyokimyasal Belirteçler

Akut iskemik inme tanısında kullanılmak üzere bir çok biyolojik belirteçle ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu belirteçlerden bir kısmı tanısasal anlamda, bir kısmı prognoz tahmininde kullanılmaktadır. Bu nedenle nöronal belirteçler (NSE, VSNL-1, hFABP ve Ngb), astroglial belirteçler (S100B ve GFAP), inflamatuvar belirteçler (IL-6, TNF- α , nötrofil/lenfosit oranı (NLR)), kan-beyin bariyeri belirteçleri (MMP-9), hemostatik belirteçler (PAI-1), iskemi gösteren belirteçler (iskemi modifiye albümin, SCUBE1), oksidatif stres belirteçleri (MDA) üzerinde bir çok çalışma yapılmıştır (4, 6, 28-34).

2.10. İskemi Modifiye Albumin

İnsan serum albumini karaciğerde sentezlenir. Plazma proteinlerinin %60'ını oluşturan albumin 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 (35, 36). Kandaki ana taşıyıcı molekül olan albumin iskemi sonucunda değişikliğe uğrar ve bakır, nikel ve kobalt gibi geçiş metallerini 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 (31, 37). 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 (38). Koroner iskemi sırasında albuminin İMA modifikasyonuna neden olan mekanizma tam olarak açıklanamamışsa da Bar ve arkadaşlarının yaptığı iki çalışmayla bu modifikasyonun albuminin N-terminal bölgesindeki N-Asp-Ala-His-Lys dizisindeki değişikliklerden kaynaklandığı gösterilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda İMA

düzeylerinin bir çok iskemik hadise de arttığı ve iskemik hadiselerde diyagnostik ve prognostik değeri olabileceği gösterilmiştir (34, 39-47).

2.11. Malondialdehid (MDA)

Biyolojik sistemlerde, 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 (48). Normalde organizmalarda, oksidan ve antioksidan sistem arasında bir denge vardır. 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 (49). 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 (50). 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 (51). Lipid peroksidasyonu malon dialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (HNE) gibi oldukça toksik ürünler oluşmasına neden olur. Malon dialdehit, oldukça reaktif bir aldehit türevidir, proteinlerin serbest amino grupları, fosfolipidler veya nükleik asitlerle reaksiyona girerek biyolojik moleküllerde yapısal modifikasyonlara neden olur. Membranların yapıları bozular, geçirgenlikleri değişir, iyon transportu ve enzimatik aktiviteler gibi fonksiyonlar etkilenir (30).

2.12. 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 (52). 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 extremite tomurcukları gibi gelişmekte olan çeşitli dokulardan ekspresyonu gösterilmiştir. Embriyonik ekspresyona ek olarak, SCUBE1'in endotelyum ve plateletlerde eksprese olduğu bulunmuştur (52). SCUBE 1 molekülleri inaktif 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. SCUBE1'in yeni platelet endotelyal adezyon molekülü olabileceği düşünülmektedir (6).

3.MATERYAL VE METOD

Deney; Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyi Lokal Etik Kurulunun onayı alındıktan sonra, laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanımına dair kılavuz ilkelerine uygun olarak gerçekleştirildi. Çalışmada Cerrahi Araştırma Merkezi'nde üretilen ve randomize olarak seçilmiş olan 250-300 gr ağırlığında, her bir deney grubunda 6 adet rat olmak üzere toplam 24 adet rat kullanıldı. Çalışmada oluşturulan çalışma grupları şöyledir.

Grup 1 (n=6); Sadece boyun insizyonu yapılan, sol ana karotis arter disseke edildikten sonra kan ve doku örnekleri alınan grup.

Grup 2 (n=6); Boyun insizyonu yapılan, sol ana karotis arter disseke edilen, sol ana karotis artere 60 dakika boyunca ligasyon yapılarak serebral iske mi modeli oluşturulan ve 60 dakika ligasyon sonrasında kan ve doku örnekleri alınan grup.

Grup 3 (n=6); Boyun insizyonu yapılan, sol ana karotis arter disseke edilen, sol ana karotis artere 2 saat boyunca ligasyon yapılarak serebral iske mi modeli oluşturulan ve 2 saat ligasyon sonrasında kan ve doku örnekleri alınan grup.

Grup 4 (n=6); Boyun insizyonu yapılan, sol ana karotis arter disseke edilen, sol ana karotis artere 6 saat boyunca ligasyon yapılarak serebral iske mi modeli oluşturulan ve 6 saat ligasyon sonrasında kan ve doku örnekleri alınan grup.

Deney grupları oluşturulduktan sonra tüm hayvanlara genel anestezi amacıyla intraperitoneal yolla 10 mg/kg xylazine ve 90 mg/kg ketamin hidroklorür verildi. Anestezi derinliği her 15 dakikada bir, kuyruktan ağrı verilerek değerlendirildi. Ratların vücut sıcaklığı rektal termometre ile ölçülerek 37°C civarında tutuldu.

2., 3. ve 4. gruplardaki ratlar supin pozisyonda operasyon masasına sabitlendi. Sonra boyun orta hattı traş edildi. Operasyon bölgesi dezenfekte edildikten sonra orta hat insizyonu yapıldı. Yüzeysel mikrodisseksiyon yapıldıktan sonra derin mikrodisseksiyon ile sağ ana karotis artere doğru ilerlendi. Trakea görülüp paratrakeal kaslar disseke edilerek

sağ ana karotis artere ulaşıldı. Karotis bifurkasyondan 3 cm proksimalden sağ ana karotis artere 2/0 ipek sütür ile ligasyon yapıldı. Birinci gruptaki ratlara ise sadece cilt ve cilt altı kesi yapıldı, sağ ana karotis artere ulaşıldıktan sonra arter ligasyonu yapılmadan cilt kapatıldı. 1. gruptaki ratların kan ve doku örnekleri cilt kapatıldıktan sonra, 2. gruptaki ratların kan ve doku örnekleri prosedürden 1 saat sonra, 3. gruptaki ratların kan ve doku örnekleri prosedürden 2 saat sonra, 4. gruptaki ratların kan ve doku örnekleri prosedürden 6 saat sonra alındı.

3.1. Laboratuvar İncelemesi

3.1.1. 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) mikropleyt okuyucu ile ölçüldü. Rat serum örneklerine ait serum SCUBE 1 konsantrasyonları standart grafik yardımı ile hesaplandı ve sonuçlar ng/mL cinsinden verildi.

3.1.2. İMA Düzeyinin Belirlenmesi

İMA seviyelerini belirlemek için albumin kobalt bağlama testinden faydalanıldı, albumine kobaltın azalan bağlanma kapasitesi Bar-Or ve arkadaşları tarafından geliştirilen hızlı ve kalorimetrik tayin metoduyla değerlendirildi (31). 200 µL hasta serumları cam

tüplere eklendi ve üzerlerine %0.1 'lik 50 µL $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (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.

3.1.3. Plazma Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi

Ratlardan elde edilen beyin ve plazma örnekleri biyokimyasal analizler yapılana kadar $-80\text{ }^\circ\text{C}$ ' de saklandı.

Plazma örneklerinde malondialdehit miktarı Yagi (1984) tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) metodu kullanılarak tayin edildi (53). 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 çözünür maddeleri uzaklaştırmak için serum lipidleri proteinle birlikte fosfotungistik asit/sülfirik asit sistemiyle çöktürüldü.

Bir deney tüpüne 150 µL plazma, 1.2 mL H_2SO_4 ve 150 mL fosfotungistik asit eklendi, iyice karıştırıldıktan sonra 5 dakika bekletildi. Karışım 1500 g' de 10 dk. santrifüj edildi ve üst faz atıldı. Geriye kalan çökelek üzerine 2 mL saf su eklendi ve yeniden çözününceye kadar vortekslendi. Tüpe 500 µL TBA eklendi ve 1 saat $100\text{ }^\circ\text{C}$ ' de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüpler 1000 g' de 10 dk. santrifüjlendi. Üstteki berrak kısım alınarak 532 nm dalga boyunda absorbanslar okundu. 1 mmol 1,1,3,3-tetrametoksipropan 100 mL 0.01 M HCl içinde $50\text{ }^\circ\text{C}$ ' de 1 saat inkübe edildi ve bu bileşiğin hidrolizi sonucu oluşan MDA çözeltisinden 10, 5, 3,2,1, 0.5 nmol/mL çalışma standartları hazırlandı. Elde edilen sonuçlarla standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanarak plazma MDA miktarı nmol /mL olarak belirlendi.

3.1.4. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi

Beyin dokularında MDA düzeyi Mihara ve Uchiyama tarafından geliştirilen metod ile tayin edildi (54). Beyin dokuları tartılarak 0,5mL/L triton-X 100 içeren %1,15 KCl çözeltisi ile homojenize edildi (% 10 ağırlık/hacim). Homojenizasyon için 9500 rpm (4x10s, 4⁰C)' de Ultra-Turrax homojenizatör (model T25, Jane and Kunkel, Germany) kullanıldı. 500 µL homojenata 3 mL % 1' lik H₃PO₄ eklenerek karıştırıldı. Karışıma 1 mL % 0,672 lik tiyobarbitürik asit (TBA) eklendikten sonra 45 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildi. 2 mL n-bütanol eklendi. Oda sıcaklığında 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. Organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbanslar okundu. 1 mmol 1,1,3,3-tetrametoksipropan 100 mL 0.01 M HCl içinde 50 °C' de 1 saat inkübe edildi ve bu bileşiğin hidrolizi sonucu oluşan MDA çözeltisinden 10, 5, 3, 2, 1, 0.5 nmol/mL çalışma standartları hazırlandı. Elde edilen sonuçlarla standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanarak plazma MDA miktarı nmol MDA/gram ıslak doku olarak hesaplandı.

3.2. Deneklerin Histopatolojik İncelenmesi

Çalışma sonunda her bir gruba ait ratların beyinleri çıkarıldı. Her bir ratın beyinlerinin orta kısmından tüm deney gruplarında aynı anatomik bölgeye denk gelen bölgesinden tüm beyin katmanlarını içeren doku parçaları alındı ve %10 'luk nötral formalin ile tespit edildi. Daha sonra musluk suyu ile yıkandı. Rutin histolojik doku takip aşamalarından geçirildi. Bunun için dereceli alkollerde dehidrate edildi. Xylende şeffaflaştırıldı ve parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan tam otomatik mikrotom ile 5 µm kalınlığında (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) kesitler alındı. 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.) değerlendirildi. Değerlendirmede ışık mikroskop (Olympus BX-51; Olympus Optical Co.) kullanıldı. Beyin dokusunun korteksinin tüm tabakaları genel histolojik yapı açısından değerlendirildi.

Kortekste 100 piramidal hücre sayılarak dejeneratif piramidal nöron yüzdesi ışık mikroskop altında 200 X büyütmede Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Münster, Germany) kullanılarak sayıldı. Hücre gövdesinde büzüşme, sitoplazmada nissl kaybı ve eozinofili, koyu renkli, küçülmüş nükleuslu hücreler

dejeneratif nöronlar olarak değerlendirildi. Tespit edilen dejeneratif nöronlar atrofik nöron yüzdesi olarak belirtildi (55).

3.3. İstatiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizi için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows v.13.0) programı kullanıldı. Kategorik değişkenler median, yüzdeler, çeyrek değerler şeklinde hesaplandı. Veriler değerlendirilirken non parametrik testler kullanıldı. Gruplar arası ortalamalar karşılaştırılmasında Kruskal- Wallis testi kullanıldı. Ortaya çıkan farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek için Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki korelasyonun değerlendirilmesinde Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Deney grupları ve kontrol grubunun SCUBE1, İMA, serum MDA, doku MDA ve atrofik nöron yüzdesi ortanca değerleri hesaplandı ve sonuçlar tablo 1’de ortanca (%25-%75) değer olarak verildi.

Tablo 1 : Grupların SCUBE1, İMA, serum MDA, doku MDA ve atrofik nöron yüzdesi ortanca değerleri

Gruplar	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
SCUBE1 (ng/ml)	1,75 (1,64-1,87) ^{a,b,c}	3,80(3,54-4,29) ^a	3,71(3,21-5,08) ^b	4,19(2,18-5,80) ^c
İMA (ABSU)	0,55(0,53-0,58) ^a	0,58(0,56-0,65)	0,58(0,55-0,65)	0,64(0,62-0,65) ^a
Serum MDA (nmol/mL)	0,68(0,63-0,74) ^a	0,52(0,49-0,61)	0,48(0,47-0,49) ^a	0,54(0,41-1,04)
Doku MDA (nmol/mL/gr doku)	424,72(363,42-493,41) ^a	605,10(501,87-680,76) ^b	418,21(396,01-469,07) ^{b,c}	548,25(507,57-616,71) ^{a,c}
ANY (%)	16(12-19) ^{a,b,c}	42(40-44) ^a	55(52-60) ^b	76(73-79) ^c

Değerler ortanca (%25-%75) değer olarak gösterildi.

SCUBE1 için; ^ap = 0.004, ^bp = 0.004, ^cp = 0.004

İMA için; ^ap = 0.004

Serum MDA için; ^ap = 0,0049

Doku MDA için; ^ap = 0,004, ^bp = 0.006, ^cp = 0.004

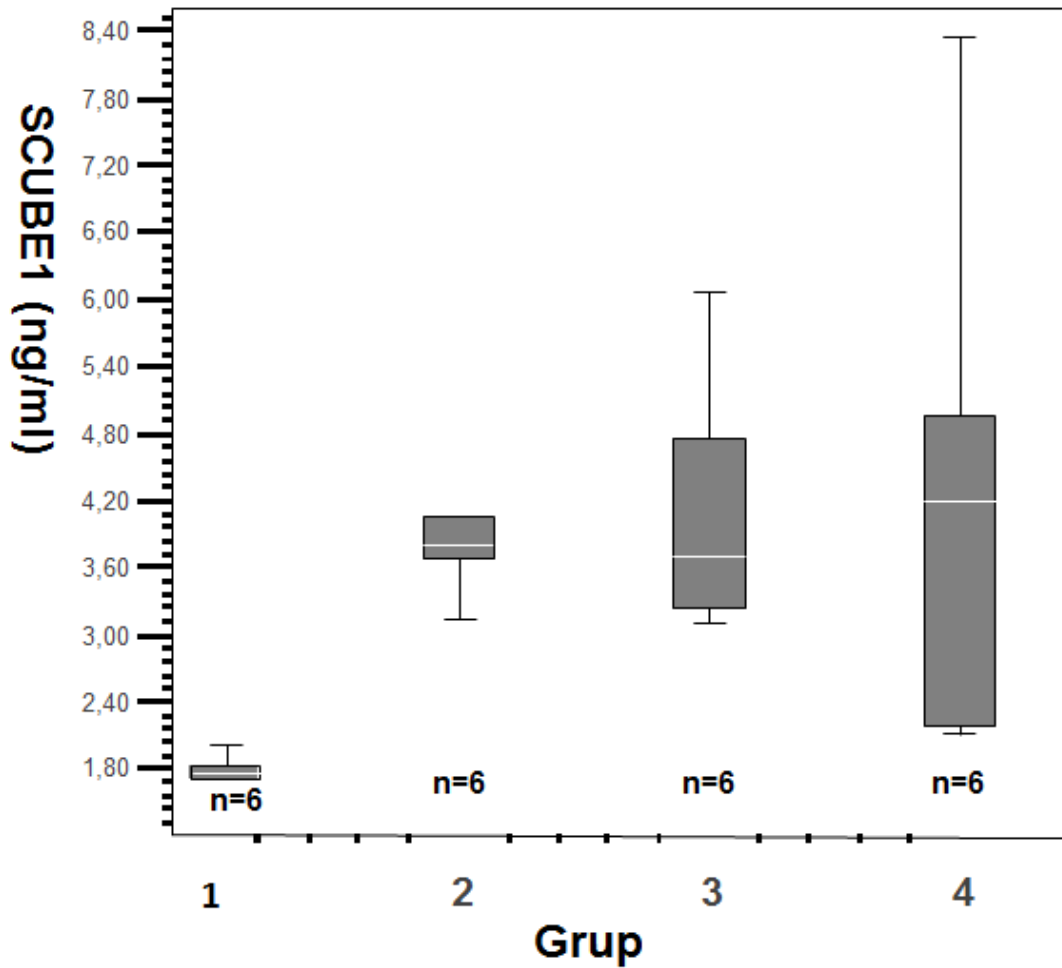
ANY için; ^ap = 0,004, ^bp = 0,004, ^cp = 0,004

ANY: Atrofik nöron yüzdesi

4.1. Deneklerin SCUBE1 Değerleri

Yapılan çalışmada deney grupları ve kontrol grubunun SCUBE1 değerleri ölçüldü. Elde edilen sonuçlar tablo 1’de gruplar halinde gösterilmiştir. Buna göre 1. grubun SCUBE1 değeri ortancası 1,76 ng/ml, 2. grubun SCUBE1 değeri ortancası 3,81 ng/ml, 3. grubun SCUBE1 değeri ortancası 3,71 ng/ml, 4. grubun SCUBE1 değeri ortancası 4,19 ng/ml olarak bulundu. Grupların ortanca, minimum ve maksimum değerleri kutu grafiklerle gösterildi (Şekil 1). Gruplar arası SCUBE1 düzeyleri karşılaştırıldığında 1. grup ile 2., 3. ve 4. grup SCUBE1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p = 0,004$, $p = 0,004$, $p = 0,004$). 2., 3. ve 4. gruplar SCUBE1 değerleri ortancaları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

Şekil 1: Grupların ortanca, minimum ve maksimum değerlerinin kutu grafiklerle gösterilmesi



4.2. Deneklerin İMA Değerleri

1. grup İMA değeri ortancası ise 0,55 ABSU, 2. grup İMA değeri ortancası 0,59 ABSU, 3. grup İMA değeri ortancası 0,58 ABSU, 4. grup İMA değeri ortancası 0,63 ABSU olarak ölçüldü. Gruplar arası İMA düzeyleri karşılaştırıldığında 1. İle 4. grup İMA düzeyleri arası anlamlı fark olduğu tespit edildi ($p = 0.04$). Diğer grupların kendi aralarında yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).

4.3. Deneklerin MDA Değerleri

1. grup MDA değeri ortancası ise 0,68 nmol/ml, 2. grup MDA değeri ortancası 0,53 nmol/ml, 3. grup MDA değeri ortancası 0,48 nmol/ml, 4. grup MDA değeri ortancası 0,54 nmol/ml, olarak ölçüldü. Gruplar arası MDA düzeyleri karşılaştırıldığında 1. Grup ile 3. grup MDA düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık tespit edildi ($p = 0,0049$).

4.4. Deneklerin Doku MDA Değerleri

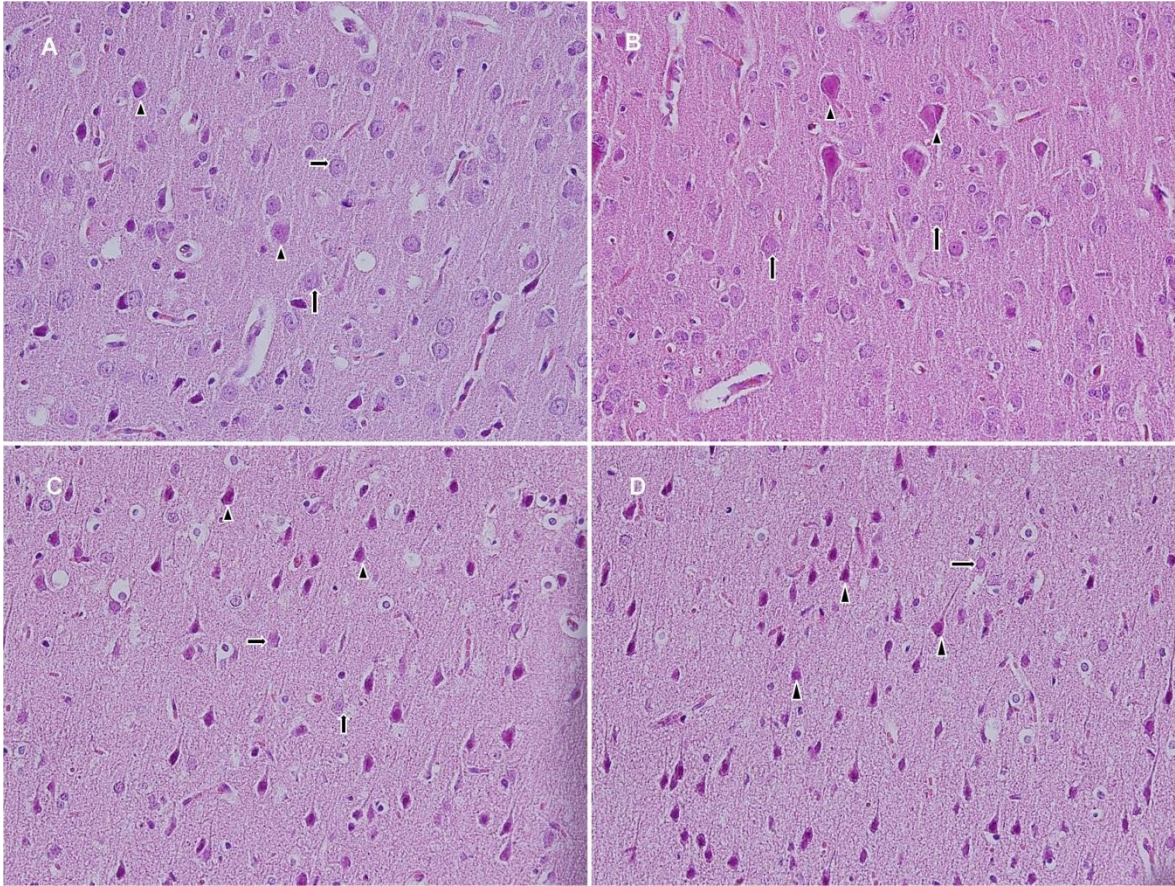
1. grup MDA değeri ortancası ise 424,72 nmol/ml/gr doku, 2. grup MDA değeri ortancası 605,11 nmol/ml/gr doku, 3. grup MDA değeri ortancası 418,21 nmol/ml/gr doku, 4. grup MDA değeri ortancası 548,25 nmol/ml/gr doku olarak ölçüldü. Gruplar arası doku MDA düzeyleri karşılaştırıldığında 1. grup doku MDA düzeyleri ile 4. grup doku MDA düzeyleri arasında ($p = 0,004$), 2. grup doku MDA düzeyleri ile 3. grup doku MDA düzeyleri arasında ($p = 0.006$) ve 3. grup doku MDA düzeyleri ile 4. grup doku MDA düzeyleri arasında ($p = 0.004$) istatistiksel anlamlı farklılık saptandı.

4.5. Deneklerin Histopatolojik Değerlendirilmesi

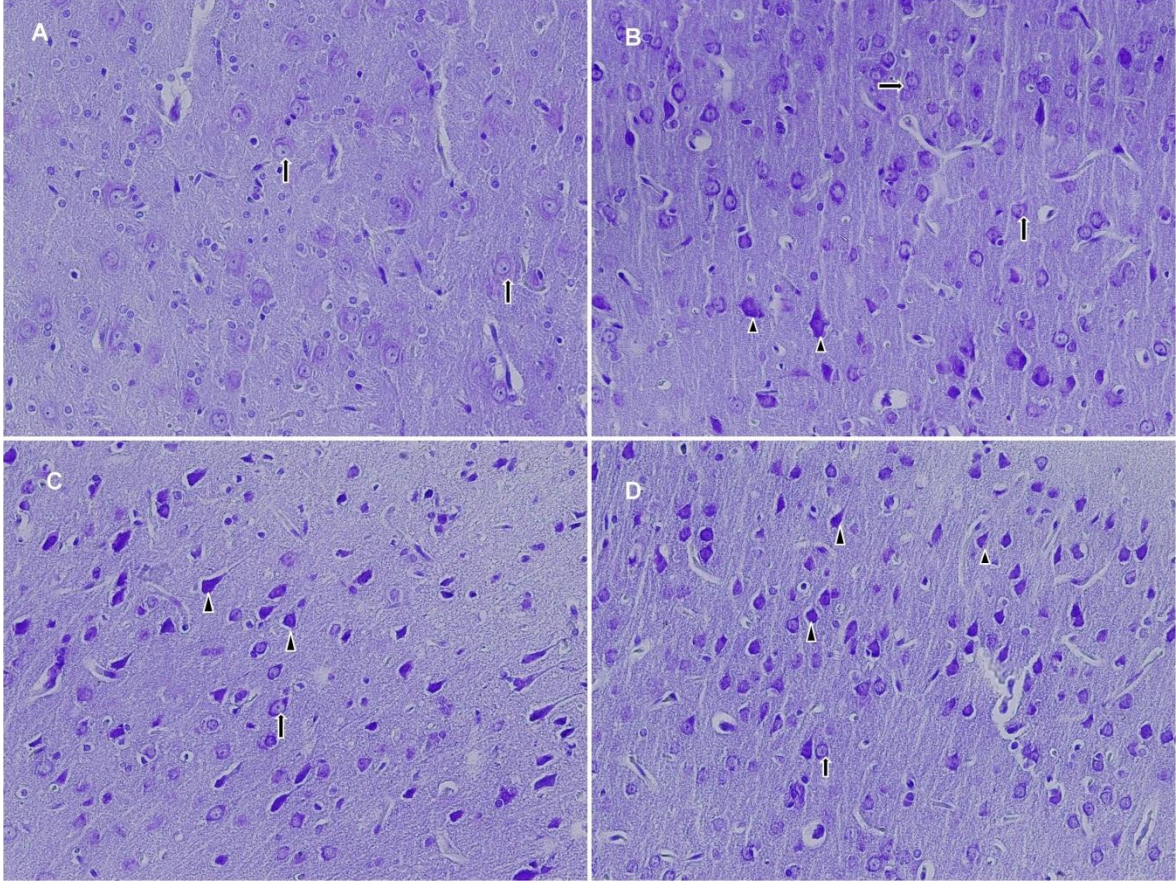
Gruplara ait beyin dokusu kesitlerinin değerlendirmesinde 1. grupta normal beyin korteks ve piramidal nöron histolojik yapısı izlendi. 2. grupta korteksde sitoplazmasında nissl granülleri izlenen, eukromatik nükleuslu normal nöronlar yanında yer yer sitoplazmalarında büzüşme ve nissl granülleri kaybı izlenen piramidal nöronlara rastlandı. 3. grupta eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleuslu dejeneratif piramidal nöronların çokluğu mevcut idi. Aralarında yer yer normal histolojik yapıda nöronlar mevcut idi. 4. grupta korteksin tüm tabakalarında yaygın dejeneratif piramidal nöron yapısı izlendi.

İskemi süresi arttıkça dejeneratif piramidal nöronların arttığı ve korteksin ak madde sınırına yakın kısımlarında da dejeneratif piramidal nöronlar olduğu gözlemlendi (Şekil 2, 3).

Şekil 2: Beyin dokusu korteksine ait fotomikrograf (H&E X 400) (A: Kontrol grubu, B: 1 saatlik iskemi grubu; C: 2 saatlik iskemi grubu, D: 6 saatlik iskemi grubu) Normal morfolojide piramidal nöronlar (↑), dejeneratif piramidal nöronlar (Δ).



Şekil 3: Beyin dokusu korteksine ait fotomikrograf (Krezil viyole X 400) (A: Kontrol grubu, B: 1 saatlik iskemi grubu; C: 2 saatlik iskemi grubu, D: 6 saatlik iskemi grubu) Normal morfolojide piramidal nöronlar (↑), dejeneratif piramidal nöronlar (Δ).



1., 2., 3, ve 4. grupların beyin dokuları histopatolojik olarak incelenip atrofik nöron yüzdesi hesaplandı. Bu değerlendirmeye göre 1. grup atrofik nöron yüzdesi medyan değeri % 16, 2. grup atrofik nöron yüzdesi medyan değeri % 42, 3. grup atrofik nöron yüzdesi medyan değeri % 55, 4. grup atrofik nöron yüzdesi medyan değeri % 76 olarak hesaplandı. Gruplar arası atrofik nöron yüzdesi düzeyleri karşılaştırıldığında 1. grup ile 2., 3. ve 4. grup arasında atrofik nöron yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p = 0,004$, $p = 0,004$, $p = 0,004$).

4.6. Değerlendirilen biyokimyasal parametrelerin birbirleri ve histopatolojik hasar skoru ile korelasyonu

SCUBE 1 değerleri ile diğer parametrelerin korelasyonunu belirlemek amacıyla yapılan Spearman korelasyon analizi sonucunda, SCUBE1 seviyeleri ile serum MDA seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı ve iyi bir negatif korelasyon mevcuttu ($r = -0,530$, $p = 0,008$). SCUBE1 seviyeleri ile İMA seviyeleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı ve zayıf bir pozitif korelasyon mevcuttu ($r = 0,495$ $p = 0,014$). SCUBE1 seviyeleri ile atrofik nöron yüzdesi seviyeleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı ve güçlü bir pozitif korelasyon mevcuttu ($r = 0,744$ $p = 0,000$) (Tablo 2).

Tablo 2 : Grupların SCUBE1, İMA, serum MDA, doku MDA ve atrofik nöron yüzdesi korelasyon analizi

Spearman Korelasyon Analizi		İMA	Kan MDA	Doku MDA	ANY
SCUBE1	r	0,495(*)	-0,530(**)	0,240	0,744(**)
	p	0,014	0,008	0,259	0,000
İMA	r		-0,242	0,231	0,607(**)
	p		0,254	0,277	0,002
Kan MDA	r			0,041	-0,430(*)
	p			0,850	0,036
Doku MDA	r				0,276
	p				0,192

** $p < 0.01$

* $p < 0.05$.

ANY: Atrofik Nöron Yüzdesi

5.TARTIŞMA

Yapılan araştırmalar acil servise inmeyle gelen hastaların erken teşhis ve tedavisi ile bu hastalığın mortalite ve morbidite üzerine etkilerinin azaltılacağını göstermiştir (1, 2). Trombolitikler gibi yeni tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile inmeyi taklit eden durumları dışlamak ve erken dönemde inme teşhisi koyabilmek için, beyin hasarını gösteren biyokimyasal belirteçlere olan ilgi artmış ve bu konuda çalışmalar yapılmıştır (4).

Yapılan bu çalışmalarla nöronal belirteçler (NSE, VSNL-1, hFABP ve Ngb), astroglial belirteçler (S100B ve GFAP), inflamatuvar belirteçler (IL-6 and TNF- α), kan-beyin bariyeri belirteçleri (MMP-9) ve hemostatik belirteçler (PAI-1) üzerinde bir çok çalışma yapılmıştır. Ama bu çalışmalarda elde edilen bulgulardan akut iskemik inmede erken fazda yükselen IL-6, S100B ve MMP-9 gibi belirteçlerle ilgili anlamlılık değerii yüksek çalışmalar olmasına rağmen bu belirteçlerin klinik bulgularla ayırt edici özelliğii fazla olmadığı için rutin kullanıma girmesi mümkün olmamıştır (28). Yine akut iskemik inme geçiren hastalarda troponin-I düzeylerine bakılmış bu belirtecin yüksek olduğu hastalarda inme prognozunun kötü olduğu bulunmuştur. Bu hastalarda troponin-I artışının mekanizması anlaşılamamakla beraber akut iskemik inme sonrası sempatoadrenal sistem aktivasyonu ve katekolamin salınımının myositolizisi indükleyebileceğii ve kardiak doku hasarı oluşturabileceğii üzerinde durulmuştur (56).

İnflamatuvar yanıt belirteci olarak kullanılan nötrofil/lenfosit oranının (NLR) periferik inflamatuvar cevap ve aterosklerozda rol oynadığii düşünülerek yapılan bir çalışmada NLR yüksek olan hastaların 30 günlük mortalite düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada muhtemel mekanizmanın nötrofillerin proteolitik enzimler, araşıdonik asit, elastaz ve serbest oksijen radikallerinin salınımını indükleyerek plak rüptürüne neden olabileceğii üzerinde durulmuştur (57). Ertaş ve arkadaşları atrial fibrilasyon hastalarında yaptıkları çalışmada, NLR yüksek olan hastalarda, NLR düşük olan hastalara göre inme ihtimalinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (58). Dewan ve

arkadaşlarının inflamatuvar yanıtın özellikle aterosklerotik inmede rol aldığı tezi üzerinden yola çıkarak yaptıkları çalışmada inflamatuvar yanıt göstergesi olan CRP ile inme nedeni erken ölüm oranları karşılaştırılmıştır. Çalışmaya alınan hastalardan laküner enfarkt inme hastalarında CRP pozitiflik oranı % 15.3, kardiyembolik nedeni inme hastalarında CRP pozitiflik oranı % 15.3, büyük arter ateroskleroza nedeni inme hastalarında CRP pozitiflik oranı % 61.5 bulunmuştur (59). Mevcut çalışmadan da anlaşılacağı üzere özellikle aterosklerotik zeminde gelişen inme ile inflamatuvar yanıt arasında bir ilişki bulunmaktadır. İnme patogenezinde trombosit sayısı ve fonksiyonun etkisinin incelenmek istendiği bir çalışmada Balcık ve arkadaşları inme hastaları ve sağlam gönüllülerin ortalama platelet hacmi (MPV) ve trombopoietin (TPO) düzeylerini incelemişler ve inme hastalarında MPV ve TPO düzeylerinin yüksek olduğunu bulmuşlardır (60). Yine inme hastalarında MPV ile geç dönem mortalite ve morbiditenin karşılaştırıldığı bir çalışmada, inme sonrası bir yıllık süreçte MPV düzeylerinin tekrar hastane başvuru ve ölüm düzeyleri açısından prognoz göstergesi olabileceği tespit edilmiştir (61). Arıkanoglu ve arkadaşlarının inme hastalarında MPV ve CRP düzeylerinin prognoz ile ilişkisini inceledikleri çalışmada inme sonrası ölen hastaların yaşayan hastalara göre her iki değerinde de istatistiksel derecede anlamlı olarak yüksek bulunduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada MPV ve CRP düzeyleri arasında anlamlı ama zayıf düzeyde bir korelasyon tespit edilmiştir (29).

Myokard enfarktüsünün epidemiyolojik incelenmesi temeline dayanan PRIME çalışmasında mevcut inme hastalarında, inme erken tanısında bir takım biyolojik belirteçler üzerinde çalışılmış ve fibrinojen, E-selectin, interferon gama protein10, resistin ve total adinopektin düzeylerinin inmeyle ilişkili olabileceği sonucu bulunmuştur (4).

Gündüz ve arkadaşlarının serebrovasküler hastalıklar ve alt tiplerinde İMA düzeylerinin tanısal değerini tespit etmek için yaptıkları çalışmada akut iskemik inme hastalarında İMA değerleri kontrol grubu, intraparaknimal hemoraji grubu ve subaraknoid kanama grubu hastalarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (34). Yine Ertekin ve arkadaşlarının iskemik inme hastalarında İMA seviyelerinin tanısal değerini tespit etmek için yaptıkları çalışmada da İMA düzeyleri akut iskemik inme hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (62). Mevcut çalışmada İMA seviyeleri iskeminin 6. saatinde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

Cano ve arkadaşlarının MDA düzeylerinin akut iskemik inme hastalarında tanısal değerini tespit etmek için yaptıkları çalışmada iskemik inme hastalarının MDA

düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (32). Yine Demirkaya ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada da MDA düzeylerinin akut iskemik inme hastalarında kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı derecede artmış olduğu belirtilmiştir (33). Mevcut çalışmada doku ve plazma MDA değerleri literatürle uyumlu olmayan şekilde kontrol grubunda iskemi gruplarına göre daha yüksek seviyede bulundu.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda kullanılan belirteçlerden bir kısmının erken dönemde yükselmemesi, bir kısmının ise laboratuvar verilerinin elde edilmesinde yaşanan güçlükler nedeniyle bu belirteçlerin acil serviste tanı amacıyla kullanılması çok sınırlı olabilmektedir.

Son zamanlarda sık tartışılan ve iskemik hadiselerde arttığı düşünülen belirteçlerden biri de SCUBE1'dir. SCUBE1 yeni tanımlanmış, salgılanabilen, erken embriyogenez süresince belirlenen hücre yüzey proteindir. 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 ve kardiyovasküler ve serebrovasküler hadiselerde rol oynadığı düşünülmektedir (6, 52). Dai ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, akut iskemik inme hastalarında plazma SCUBE1 seviyelerini sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmada SCUBE1 seviyeleri plazmada en erken 6 saat sonra tespit edilmiş ve en geç 84 saat sonrasında tespit edilebilmiştir (6). Aynı çalışmada akut koroner sendromlu hastalarda SCUBE1 ölçümü yapılmış ve olayın başlangıcından 36 ve 60. saatleri arasında pik yaptığını bulmuşlardır. Mevcut çalışmada AKS hastalarından trombolitik tedavi alan 2 hastada SCUBE1 seviyeleri tespit edilemeyecek derecede düşük bulunmuştur. Mevcut kronik koroner arter hastalığı olan hastalarda SCUBE1 seviyeleri normal bulunmuştur. Bu bilgilerden SCUBE1 seviyelerinin aterogenezde şiddetli enflamasyon, plak rüptürü ve masif platelet aktivasyonu olan akut hadisede artarken, düz kas proliferasyonu, ekstraselüler matriks sentezinin artması ve kalın fibröz kep oluşumu ve daha az seviyede enflamasyonun görüldüğü kronik hadiselerde artmadığı görülmüştür (6). Bizim çalışmamızda SCUBE1 seviyeleri akut serebral iskeminin ilk saatinden itibaren

kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu, bu istatistiksel anlamlı yükselme 2. ve 6. saatlerde de devam etti.

Ulusoy ve arkadaşlarının hemodiyaliz hastalarında SCUBE1 düzeylerinin değişimini ve endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinde trombosit aktive edici faktör sentezini indükleyen CD40 maddesinin soluble ligandının (sCD40L) SCUBE1 seviyeleri ile korelasyonunu ölçmeyi amaçlayan çalışmasında, diyaliz öncesi SCUBE1 ve sCD40L seviyeleri arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir (63). Menteşe ve arkadaşları tarafından gastrik kanserli hastaların, sağlam kontrol grubu ile karşılaştırıldığı çalışmada gastrik kanserli hastaların SCUBE1 düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (64). Bu çalışmada bulunan SCUBE1 yüksekliği muhtemel malignitelerde var olan yüksek trombozla ilişkilidir (65).

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 (66). Bu çalışmada SCUBE1 seviyelerinin yüksek olarak bulunması da SCUBE1 seviyelerinin iskemik hadiselerde artış gösterdiğinin göstergesidir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1- Çalışmada iskemi oluşturulan grubunun 1. saat SCUBE1 ortancası 3,80 (3,54-4,29) ng/ml, 2. saat SCUBE1 ortancası 3,70 (3,21-5,08) ng/ml, 6. saat SCUBE1 ortancası 4,19 (2,17-5,80) ng/ml, kontrol grubunun SCUBE1 ortancası 1,76 (1,65-1,87) ng/ml olarak bulundu.
- 2- Çalışmada akut iskemik inme modelinde plazma SCUBE1 değerinin iskeminin 1. saatinden itibaren anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi. Bu verilere dayanarak akut iskemik inme hastalarının erken tanısında trombolitik tedavinin de ilk 3 saat içerisinde verileceği göz önüne alınarak ; SCUBE1 seviyelerinin erken dönemde arttığının gösterilmesi SCUBE1 seviyesinin iyi bir erken dönem belirteç olduğunu düşündürmüştür.
- 3- SCUBE 1 değerleri ile diğer parametrelerin korelasyonunu belirlemek amacıyla yapılan Spearman korelasyon analizi sonucunda, SCUBE1 seviyeleri ile serum MDA seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı ve iyi bir negatif korelasyon bulundu ($r = -0,530$, $p = 0,008$). SCUBE1 seviyeleri ile İMA seviyeleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı ve zayıf bir pozitif korelasyon bulundu ($r = 0,495$ $p = 0,014$).
- 4- Grupların histopatolojik olarak değerlendirilmesinde iskeminin 1. saat grubunda atrofik nöron yüzdesi medyan değeri % 42, iskeminin 2. Saat grubunda atrofik nöron yüzdesi medyan değeri % 55, iskeminin 6. Saat grubunda atrofik nöron yüzdesi medyan değeri % 76, kontrol grubu atrofik nöron yüzdesi medyan değeri ise % 16 olarak bulundu. Gruplar arası atrofik nöron yüzdesi düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arası istatistiksel anlamlı fark bulundu ($p = 0,000$). Farkın hangi gruplar arasında olduğunu anlamak için yapılan Bonferroni düzeltmeli

Mann-Whitney U testinde kontrol grubu ile iskeminin 1., 2. ve 6. saatleri arasında atrofik nöron yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p = 0,004$, $p = 0,004$, $p = 0,004$). Atrofik nöron yüzdeleri ile diğer parametreler arasındaki bağıntıyı incelemek üzere yapılan Spearman korelasyon analizinde atrofik nöron yüzdesi ile serum MDA düzeyi arasında negatif yönde zayıf ($r = -0,430$, $p = 0,036$), atrofik nöron yüzdesi ile İMA düzeyi arasında güçlü pozitif ($r = 0,607$, $p = 0,002$), atrofik nöron yüzdesi ile SCUBE1 düzeyi arasında güçlü pozitif ($r = 0,744$, $p = 0,000$) korelasyon tespit edildi.

7. ÖZET

DENEYSEL İSKEMİK İNME MODELİNDE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ VE SIGNAL PEPTIDE-CUB-EGF DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 1 (SCUBE1) İNCELENMESİ

Amaç

Acil servise inme ile başvuran hastaların erken tanısı, tedavi ve komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir. Bu çalışmada acil serviste akut iskemik inme tanısında plazma SCUBE1 düzeyinin tanısal değerini belirlemek amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışma etik kurul izni alındıktan sonra ortalama 250 gr ağırlığında ratlar üzerinde deneysel olarak yapıldı. Ratlar her grupta 6 rat olmak üzere 4 gruba ayrıldı, akut iskemi oluşturulan değişik grup ratlarda 1 saat, 2 saat ve 6 saat sonra, kontrol grubunda prosedür sonrasında kan ve doku örnekleri alındı. Alınan serum örneklerinde SCUBE1, İMA, doku MDA, serum MDA düzeyleri çalışıldı. Elde edilen beyin dokuları histopatolojik olarak incelendi. Bulunan değerler arasında korelasyon analizi yapıldı.

Bulgular

SCUBE1 ortanca değerleri kontrol grubunda 1,75 (1,64-1,87) ng/ml, iskemi sonrası 1 saat grubunda 3,80 (3,54-4,29) ng/ml, iskemi sonrası 2 saat grubunda 3,71 (3,21-5,08), iskemi sonrası 6 saat grubunda 4,19 (2,18-5,80) ng/ml olarak ölçüldü. Gruplar arası farkın değerlendirilmesinde kontrol grubu ile iskeminin 1., 2. ve 6. saatleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p = 0,004$, $p = 0,004$, $p = 0,004$). SCUBE1 seviyeleri ile İMA seviyeleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı ve zayıf bir pozitif korelasyon bulundu ($r = 0,495$ $p = 0,014$). SCUBE1 seviyeleri ile atrofik nöron yüzdesi seviyeleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı ve güçlü bir pozitif korelasyon bulundu ($r = 0,744$ $p = 0,000$).

Sonuç

Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre akut iskemik inme hastalarında plazma SCUBE1 düzeyleri inmenin 1. saatinden itibaren arttı. Kontrol grubuna göre en yüksek artış 6. saatte oldu. Başka deneysel çalışmalarla desteklenip ve klinik çalışmalar ile doğruluğu gösterilebilirse SCUBE1 akut iskemik inme hastalarının erken tanısında önemli bir biyokimyasal belirteç olma potansiyeline sahiptir.

Anahtar Kelimeler

Acil, Akut İskemik İnme, SCUBE1, MDA, İMA, Stroke

8. SUMMARY

EXAMINATION OF OXIDATIVE STRESS PARAMETERS AND SIGNAL PEPTIDE-CUB-EGF DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 1 (SCUBE1) IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF ISCHEMIC STROKE

Aim

Early diagnosis and treatment of patients presenting to the emergency department with stroke is very important in terms of preventing complications. This study was intended to determine the diagnostic value of plasma SCUBE1 levels in patients with acute ischemic stroke in the emergency department.

Materials and Methods

Once approval had been obtained from the ethical committee, ischemia was induced experimentally in rats with a mean weight of 250 g. Rats were divided into four groups of six members each. Blood and tissue specimens were collected after 1 h, 2 h and 6 h in the groups with induced ischemia and following the procedure in the control group. SCUBE1, IMA, tissue MDA and serum MDA levels were investigated in the serum specimens. The brain tissues collected were examined histopathologically. Correlation analysis was performed between the values.

Results

Median SCUBE1 values were 1.75 (1.64-1.87) ng/ml in the control group, 3.80 (3.54-4.29) ng/ml in the 1 h after ischemia group, 3.71 (3.21-5.08) in the 2 h after ischemia group and 4.19 (2.18-5.80) ng/ml in the 6 h after ischemia group. A statistically significant difference was determined between the control group values and those for 1, 2 and 6 h after ischemia ($p = 0.004$, $p = 0.004$ and $p = 0.004$, respectively). A significant and weak positive correlation was determined between SCUBE1 and IMA levels ($r = 0.495$ $p = 0.014$). A significant and powerful correlation was determined between SCUBE1 levels

and percentage of atrophic neurons ($r = 0.744$ $p = 0.000$).

Conclusion

Plasma SCUBE1 levels in acute ischemic stroke patients rose from the 1st hour. The greatest increase compared to the control group was in the 6th hour. If this can be confirmed by other experimental and clinical studies, SCUBE1 is a potentially significant biochemical marker in the early diagnosis of acute ischemic stroke patients.

Key Words

Emergency, Acute ischemic stroke, SCUBE1, MDA, İMA, stroke

9. KAYNAKLAR

1. 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.
2. Türkiye hastalık yükü çalışması. 2004. Editörler Ünivar N MS, Yardım N. Ankara 2006, RSHMB Hifzısıhha Mektebi Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı, Aydoğdu Ofset Matbaacılık, 2007, ss 24-41. .
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. Lindemann S, Kramer B, Seizer P, Gawaz M: Platelets, inflammation and atherosclerosis. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, 2007;5 Suppl 1:203-11.
6. Dai DF, Thajeb P, Tu CF, Chiang FT, Chen CH, Yang RB, et al: Plasma concentration of SCUBE1, a novel platelet protein, is elevated in patients with acute coronary syndrome and ischemic stroke. *Journal of the American College of Cardiology*, 2008;51(22):2173-80.
7. World Health Organization (2006). WHO STEPS Stroke Manual: The WHO STEPwise approach to stroke surveillance. Geneva WHO.
8. 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.
9. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Blaha MJ, et al: Heart Disease and Stroke Statistics--2014 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 2013.

10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Tsivgoulis G and Alexandrov AV: Cerebral hemodynamics in acute stroke: pathophysiology and clinical implications. *Journal of vascular and interventional neurology*, 2008;1(3):65-9.
14. 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.
15. Hedna VS, Shukla PP, Waters MF: Seizure Mimicking Stroke: Role of CT Perfusion. *Journal of clinical imaging science*, 2012;2:32.
16. Kose A, Inal T, Armagan E, Kiyak R, Demir AB: Conditions that Mimic Stroke in Elderly Patients Admitted to the Emergency Department. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association*, 2013;22(8):e522-7.
17. Vroomen PC, Buddingh MK, Luijckx GJ, De Keyser J: The incidence of stroke mimics among stroke department admissions in relation to age group. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association*, 2008;17(6):418-22.
18. Magauran BG, Jr. and Nitka M: Stroke mimics. *Emergency medicine clinics of North America*, 2012;30(3):795-804.
19. Ustrell-Roig X, Serena-Leal J: [Stroke. Diagnosis and therapeutic management of cerebrovascular disease]. *Revista espanola de cardiologia*, 2007;60(7):753-69.

20. Meyer BC and 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.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. Leng X, Wong KS, Soo Y, Leung T, Zou X, Wang Y, et al: Magnetic resonance angiography signal intensity as a marker of hemodynamic impairment in intracranial arterial stenosis. *PloS one*, 2013;8(11):e80124.
25. Truijman MT, Kooi ME, van Dijk AC, de Rotte AA, van der Kolk AG, Liem MI, et al: Plaque At RISK (PARISK): prospective multicenter study to improve diagnosis of high-risk carotid plaques. *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*, 2013.
26. Zhao L, Barlinn K, Sharma VK, Tsivgoulis G, Cava LF, Vasdekis SN, et al: Velocity criteria for intracranial stenosis revisited: an international multicenter study of transcranial Doppler and digital subtraction angiography. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 2011;42(12):3429-34.
27. Lansberg MG, O'Donnell MJ, Khatri P, Lang ES, Nguyen-Huynh MN, Schwartz NE, et al: 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 Suppl):e601S-36S.
28. An SA, Kim J, Kim OJ, Kim JK, Kim NK, Song J, et al: Limited clinical value of multiple blood markers in the diagnosis of ischemic stroke. *Clinical biochemistry*. 2013;46(9):710-5.

29. Arikanoğlu A, Yücel Y, Acar A, Çevik MU, Akil E, Varol S. The relationship of the mean platelet volume and C-reactive protein levels with mortality in ischemic stroke patients. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2013;17(13):1774-7.
30. Aviram M: Malondialdehyde affects the physico-chemical and biological characteristics of oxidized low density lipoprotein. *Atherosclerosis*, 1990;84(2-3):141-3.
31. 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.
32. Cano CP, Bermudez VP, Atencio HE, Medina MT, Anilsa A, Souki A, et al: Increased serum malondialdehyde and decreased nitric oxide within 24 hours of thrombotic stroke onset. *American journal of therapeutics*, 2003;10(6):473-6.
33. Demirkaya S, Topcuoğlu MA, Aydın A, Ulas UH, Isimer AI, Vural O: Malondialdehyde, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in peripheral blood erythrocytes of patients with acute cerebral ischemia. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies*, 2001;8(1):43-51.
34. 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.
35. Carter DC and Ho JX. Structure of serum albumin. *Advances in protein chemistry*, 1994;45:153-203.
36. Sugio S, Kashima A, Mochizuki S, Noda M, Kobayashi K: Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein engineering*, 1999;12(6):439-46.
37. 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.
38. 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.

39. 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.
40. 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.
41. 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.
42. 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.
43. Turedi S, Gunduz A, Mentese A, Dasdibi B, Karahan SC, Sahin A, et al: Investigation of the possibility of using ischemia-modified albumin as a novel and early prognostic marker in cardiac arrest patients after cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation*, 2009;80(9):994-9.
44. 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.
45. Mentese A, Mentese U, Turedi S, Gunduz A, Karahan SC, Topbas M, et al: Effect of deep vein thrombosis on ischaemia-modified albumin levels. *Emergency medicine journal : EMJ*, 2008;25(12):811-4.
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. McCord JM: Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical biochemistry*, 1993;26(5):351-7.

49. Nordberg J, Arner ES: Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology & medicine*, 2001;31(11):1287-312.
50. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK: Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 2005;3:28.
51. Sevanian A and Ursini F: Lipid peroxidation in membranes and low-density lipoproteins: similarities and differences. *Free radical biology & medicine*, 2000;29(3-4):306-11.
52. 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.
53. Yagi K: Assay for blood plasma or serum. *Methods in enzymology*, 1984;105:328-31.
54. Mihara M and Uchiyama M: Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical biochemistry*, 1978;86(1):271-8.
55. Garman RH: Histology of the central nervous system. *Toxicologic pathology*, 2011;39(1):22-35.
56. Hasirci B, Okay M, Agircan D, Kocer A: Elevated troponin level with negative outcome was found in ischemic stroke. *Cardiovascular psychiatry and neurology*, 2013;2013:953672.
57. Gokhan S, Ozhasenekler A, Mansur Durgun H, Akil E, Ustundag M, Orak M: Neutrophil lymphocyte ratios in stroke subtypes and transient ischemic attack. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2013;17(5):653-7.
58. Ertas G, Sonmez O, Turfan M, Kul S, Erdogan E, Tasal A, et al: Neutrophil/lymphocyte ratio is associated with thromboembolic stroke in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Journal of the neurological sciences*, 2013;324(1-2):49-52.
59. Dewan KR and Rana PV: C-reactive protein and early mortality in acute ischemic stroke. *Kathmandu University medical journal*, 2011;9(36):252-5.
60. Balcik OS, Bilen S, Ulusoy EK, Akdeniz D, Uysal S, Ikizek M, et al: Thrombopoietin and mean platelet volume in patients with ischemic stroke. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2013;19(1):92-5.

61. Arevalo-Lorido JC, Carretero-Gomez J, Alvarez-Oliva A, Gutierrez-Montano C, Fernandez-Recio JM, Najarro-Diez F: Mean platelet volume in acute phase of ischemic stroke, as predictor of mortality and functional outcome after 1 year. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association*, 2013;22(4):297-303.
62. Ertekin B, Kocak S, Defne Dundar Z, Girisgin S, Cander B, Gul M, et al: Diagnostic value of ischemia-modified albumin in acute coronary syndrome and acute ischemic stroke. *Pakistan journal of medical sciences*, 2013;29(4):1003-7.
63. Ulusoy S, Ozkan G, Mentese A, Yavuz A, Karahan SC, Sumer AU: Signal peptide-CUB-EGF domain-containing protein 1 (SCUBE1) level in hemodialysis patients and parameters affecting that level. *Clinical biochemistry*, 2012;45(16-17):1444-9.
64. 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.
65. McMahon B and Kwaan HC: The plasminogen activator system and cancer. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*, 2008;36(3-4):184-94.
66. 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.