

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**SEREBRAL REPERFÜZYON HASARI İLE PLAZMA MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ AKTİVİTESİ VE
3-NİTROTIROZİN DÜZEYİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
REKANALİZASYON TEDAVİSİ YAPILAN HASTALARDA
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Demet Funda BAŞ

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA
2010**

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

SEREBRAL REPERFÜZYON HASARI İLE PLAZMA MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ AKTİVİTESİ VE
3-NİTROTIROZİN DÜZEYİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
REKANALİZASYON TEDAVİSİ YAPILAN HASTALARDA
ARAŞTIRILMASI

Dr. Demet Funda BAŞ

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Turgay DALKARA
Doç. Dr. Mehmet Akif TOPÇUOĞLU

ANKARA

2010

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve yazıya geçirilmesi aşamalarında yoğun programı sırasında bana her zaman öncelik tanıyan ve hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, nöroloji ve nöro bilim eğitime önemli katkıları bulunan tez danışmanım Prof. Dr. Turgay Dalkara'ya;

Asistanlığım süresince kendisinden genel tıp, nöroloji, meslek ahlakı ve bilimsel araştırma konusunda çok şey öğrendiğim ve birlikte çalışmaktan gurur duyduğum, tez çalışmamda yoğun emeği bulunan, tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet Akif Topçuoğlu'na;

En zorlu aşamalarda pratik zekası ve güleryüzlü yaklaşımıyla, her türlü sorunun üstesinden gelmemi sağlayan ve laboratuvar çalışmalarını konusunda bana her zaman yol gösteren Doç Dr. Yasemin Gürsoy-Özdemir'e;

Bu tez çalışmasının yürütülmesinde büyük katkısı olan; sıkışık ve zor zamanlarında bile yüce gönüllülikle çalışmanın temel aşamalarından biri olan nöroradyolojik değerlendirmeleri gerçekleştiren Prof. Dr. Işıl Saatçi Çekirge'ye;

ELİSA basamağı sırasında gece gündüz çalışarak her zaman içten bir şekilde yardımına koşan ve beni hiçbir zaman geri çevirmeyen Uzm. Dr. Ebru Bodur'a;

Bu proje ve asistanlığım süresince bana her zaman anlayışla yaklaşan ve çalışmamdaki her aşamayı kolaylaştırarak tezimi bitirmemde önemli katkıları bulunan Prof. Dr. Sarhuan Çekirge; Doç. Dr. Kıvılcım Yavuz ve Doç. Dr. Serdar Geyik'e;

Laboratuvar çalışmalarını sırasında yardım aldığım ve sıkıntılı noktalarda sınırsız destek veren sevgili arkadaşlarım Dr. Atay Vural; Dr. Evren Erdener, Uzm. Biyolog Sevdâ Lüle ve Beyin Araştırmaları Laboratuvarı ekibine;

Bu çalışmanın klinik kısmında karşılıksız ve güleryüzle yardım eden Girişimsel Nörovasküler Radyoloji biriminin tüm çalışanlarına;

Her birinden ayrı ayrı çok şey öğrendiğim tüm hocalarıma ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, dostluklarıyla hep yanımda olan tüm asistan ve uzman arkadaşlarıma;

Tüm zor zamanlarımda bana destek olan, beni dinleyen ve dertlerime ortak olan sevgili arkadaşlarım Dr. Gökçem Yıldız, Dr. Gül Yalçın Çakmaklı, Kimyager Güliz Sayat; Dr. Gülseren Aktaş Büyükşerbetçi ve Uzm. Dr. Aslı Kurne'ye

Beni bugüne kadar her zaman karşılıksızca ve sınırsızca destekleyip koruyan, her koşulda yanımda olan canım aileme;

En içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

BAŞ. D. F., Serebral reperfüzyon hasarı ile plazma matriks metalloproteinaz aktivitesi ve 3-nitrotirozin düzeyi arasındaki ilişkinin rekanalizasyon tedavisi yapılan hastalarda araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Uzmanlık Tezi. Ankara, 2010. Serebral reperfüzyon hasarına bağlı kanama, iskemik inmede tromboliz ve stent uygulamalarını kısıtlayan bir yan etkidir. Çok sayıda deneysel çalışmada reperfüzyon hasarında oksidatif/nitratif stresin ve matriks metalloproteinaz (MMP) aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmaya tromboliz uygulanan akut iskemik inme hastaları ve stenotik damarının sulama alanında hipoperfüzyonu olup bu damarına stent takılan hastaların oluşturduğu iki grup alındı. Bu hastaların işlem öncesinde ve sonrasında serum MMP-2 ve MMP-9 aktiviteleri ve 3-nitrotirozin düzeyleri ölçüldü; klinik, nöroradyolojik ve transkraniyel doppler (TKD) bulguları değerlendirildi. MMP aktiviteleri jel zimografi; 3-nitrotirozin düzeyleri ise ELİSA metodlarıyla ölçüldü. Stent grubundaki hastalar işlem sonrasında kan beyin bariyeri geçirgenliğindeki bozulmayı görüntülemek için kontrastlı FLAIR sekans (HARM). MRG ve hiperperfüzyon açısından TKD ile değerlendirildi. Bu çalışmada reperfüzyon sonrası plazma MMP-9 aktivitesi ve 3-nitrotirozin düzeyinde artış saptandı, MMP-2 aktivitesinde ise bir değişiklik görülmedi. Bu bulgular serebral reperfüzyonun oksidatif/nitratif strese yol açtığı ve bunun da MMP aktivasyonunda rol oynayabileceği görüşünü desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler : Reperfüzyon hasarı, MMP-2, MMP-9, 3-nitrotirozin, HARM,

ABSTRACT

BAŞ. D. F., Investigation of the relationship between cerebral reperfusion injury and Matrix Metalloproteinases activity and 3-nitrotyrosine levels in recanalization patients Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Neurology. Ankara,2009. Hemorrhage due to cerebral reperfusion injury is a limiting side effect of thrombolysis and stent procedures. Many experimental studies showed that oxidative/nitrative stress and matrix metalloproteinase (MMP) activities increase during reperfusion injury. Two patient groups consisting of acute ischemic stroke patients treated with thrombolysis and patients who have stenotic arteries causing hypoperfusion were included to this study. MMP-2, MMP-9 activities and 3-nitrotyrosine levels were measured; clinical, neuroradiological and transcranial doppler (TCD) findings of these patients were evaluated before and after the treatment. MMP activities were measured with gel zymography and 3-nitrotyrosine levels were measured with ELISA methods. Stent patients were evaluated by FLAIR MRI with contrast (HARM) for blood brain barrier leakage and by TCD for hyperperfusion. In this study there was an increase at plasma MMP-9 activity and at 3-nitrotyrosine levels after reperfusion; no change was detected at MMP-2 activity. These findings support the opinion that cerebral reperfusion causes oxidative/nitrative stress and this situation may have a role in MMP activation

Keywords : Reperfusion injury; MMP-2, MMP-9, 3-nitrotyrosine, HARM.

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	2
2.1 İskemik İnme ve Trombolitik Tedavi	2
2.2 Endovasküler Revaskularizasyon	6
2.2.1 Serebral Hiperperfüzyon Sendromu	7
2.3 Reperfüzyon Hasarı ve Oksidatif Stres	8
2.3.1 Nitrik Oksit ve Peroksinitrit	11
2.3.2 Matriks Metalloproteinazlar	15
2.4 HARM	19
III. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1 Jel Zimografi	24
3.2 Nitrotirozin ELİSA analizi	26
3.3 İstatistik	27
IV. BULGULAR	28
4-1 Endovasküler Stent Hasta Grubu	28
4-2 Tromboliz Hasta Grubu	37
4.3 Serum Biyobelirteçlerinin Analizi	43

V. TARTIŞMA	51
VI. SONUÇLAR	54
VIII. KAYNAKLAR	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

BT :	Bilgisayarlı Tomografi
DAG :	Difüzyon Ağırlıklı Görüntüleme
ELİSA :	Enzim ilintili immün test
GRE :	Gradient Recalled Echo
GSH :	Glutasyon
GSHPx :	Glutasyon Peroksidaz
HARM :	Hyperacute Reperfusion Marker
KBB :	Kan Beyin Bariyeri
MMP :	Matriks metalloproteinaz
MRG :	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NIH :	National Institutes of Health
NMDA :	N-metil-D-aspartat
NO :	Nitrik Oksit
NOS :	Nitrik Oksit Sentetaz
OSA :	Orta Serebral Arter
rtPA:	Rekombinan Doku Plazminojen Aktivatörü
SOD :	Süperoksit Dismutaz
TKD :	Transkraniyal Doppler

ŞEKİLLER

		Sayfa
Şekil 2.1	Nörovasküler birimin şematik görünümü	19
Şekil 2.2	Serebral iskemi/reperfüzyonu reaktif oksijen ve nitrojen türleri ortaya çıkarır ve sonuçta doku hasarına neden olduğunu gösteren şekil	14
Şekil 2.3	MMP'lerin aktivasyon mekanizmaları	16
Şekil 3.1	Jel zimografi; bantların görünüşü	25
Şekil 4.1	Hasta 21'in işleminden 1 hafta sonra kanamanın ortaya çıktığı (a) ve takipte giderek rezorbe olduğunu gösteren (b) beyin BT görüntüleri	34
Şekil 4.2	Hasta-3'ün stent işlemi sonrası çekilen kontrastsız FLAIR, HARM ve difüzyon ağırlıklı MR görüntüleri	35
Şekil 4.3	Hasta-2'nin işleminden sonra çekilen beyin BT ve MRG GRE sekans görüntüleri	41
Şekil 4.4	Hasta-13'ün mekanik trombolizden sonra çekilen beyin BT görüntüleri ve BT'den 7 saat sonra çekilen GRE sekans MR görüntüleri	42
Şekil 4.5	Tromboliz ve stent hastalarında MMP-9 aktivitesinin bazale kıyasla 1., 3., ve 24. saatlerdeki değişiminin sütun grafikte gösterildiği şekil	48
Şekil 4.6	Tromboliz ve stent hastalarında MMP-2 aktivitesinin bazale kıyasla 1., 3., ve 24. saatlerdeki değişiminin sütun grafikte gösterildiği şekil	49
Şekil 4.7	Tromboliz ve stent hastalarında 3-nitrotirozin düzeylerinin bazale kıyasla 1., 3., ve 24. saatlerdeki değişiminin sütun grafikte gösterildiği şekil	50

TABLOLAR

		Sayfa
Tablo 2.1.	İskemik inme değiştirilebilir risk faktörleri	3
Tablo 2.2	Serebral kanamaların ECASS çalışmalarındaki anatomik/radyolojik tanımları	4
Tablo 3.1	NINDS alışması rtPA uygulama kontraendikasyonları	21
Tablo 3.2	NIH inme ölçeği	22
Tablo 4.1	Stent hastalarının demografik özellikleri	30
Tablo 4.2	Stent hastalarının stent takılan semptomatik damarları, son 3 ayda iskemik inme geçirip geçirmedikleri ve hipoperfüzyonlarını gösterme yöntemleri	31
Tablo 4.3	Stent hastalarının işlem sonrası MRG ve klinik bulguları.	32
Tablo 4.4	Stent grubu hastalarının hiperperfüzyon ve HARM'da kontrastlanma olup olmadığını; ve MMP-2, MMP-9 aktivitelerinin ve 3-nitrotirozin düzeylerinin zamansal değişimini (yüzde farkları şeklinde), gösteren tablo.	33
Tablo 4.5	Tromboliz uygulanan hastaların demografik özellikleri	37
Tablo 4.6	Tromboliz hastalarının tıkalı damar, tromboliz yöntemi ve kanama özellikleri.	38
Tablo 4.7	Reperfüzyon hasarının klinik, radyolojik ve serum biyobelirteç özellikleri.	40
Tablo 4.8	Stent ve tromboliz gruplarının serum biyobelirteçlerinin ortalama değerleri.	45
Tablo 4.9	Tromboliz grubunda BT'de kontrastlanmanın ve ilk 36 saatte BT'de kanamanın birincil sonlanım olarak değerlendirildiği alt grup analizinin gösterildiği tablo.	46
Tablo 4.10	Stent grubunda hiperperfüzyon ve HARM'da kontrastlanmanın birincil sonlanım olarak değerlendirildiği alt grup analizinin gösterildiği tablo	47

GİRİŞ

İskemik inme, toplumdaki en sık ölüm ve sakatlık nedenlerinden biridir (1). Akut iskemik inmede trombolitik tedavinin ve hipoperfüzyona yol açmış internal karotis veya baziler arterdeki stenozlarda endovasküler revaskülarizasyonunun korkulan yan etkisi iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı intraserebral kanamadır (2-3). Her ne kadar serebral enfarkt alanında spontan kanama görülebilse de, rekombinan doku plazminojen aktivatörü (rtPA) uygulaması ardından bu komplikasyonun daha sık gelişmesi, trombolizin akut iskemik inmedeki kullanımını kısıtlamaktadır (3-5). İskemi/reperfüzyon hasarı patofizyolojisindeki mekanizmalardan son zamanlarda en çok göze çarpanlardan biri de serbest radikallerin ve matriks metalloproteinazların (MMP) ortaya çıkardığı kan beyin bariyeri hasarıdır (6).

Klinik çalışmalarda henüz başarı sağlanamamış olmasına rağmen antioksidan tedavilerin ve nitrik oksit (NO) sentetaz inhibitörlerinin başarılı olduğu hayvan deneyleri mevcuttur (7-8). Serbest radikallerin iskemi/reperfüzyon hasarıyla ilişkisini gösteren klinik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Reperfüzyon sonrası intraserebral kanama riskini belirleyebilmek, tedavi uygulanacak hastaların seçiminde ve tedavi sonrası takipte klinisyene büyük ölçüde yardımcı olacağı gibi, gelecekteki nöroprotektif ilaç çalışmalarına da ışık tutacaktır.

Bu noktadan yola çıkıldığında; klinik uygulama sırasında, reperfüzyon sonrasında periferik dolaşımdaki artmış peroksinitrit, MMP2 ve MMP9 aktivite düzeyleri ve kan beyin bariyeri geçirgenliğinin görüntülenmesi bize hangi hastada iskemi/reperfüzyon hasarı ve ilişkili intraserebral kanama gelişeceğini göstermekte yardımcı olabilir. Bu çalışmada amaç sistemik dolaşımdaki oksidatif/nitratif stresin bir göstergesi olan nitrotirozin seviyesinin ve MMP2 ve MMP9 aktivitelerinin; reperfüzyon hasarı, hiperperfüzyon ve serebral kanama ile ilişkisini incelemektir.

GENEL BİLGİLER

2.1 İskemik İnme ve Trombolitik Tedavi

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) genel tanımına göre inme “serebral fonksiyonların fokal (zaman zaman global) bozukluğuna bağlı gelişen, 24 saatten fazla süren veya ölüme yol açan, damarsal orijin dışında bir neden bulunamayan, hızlı gelişen klinik belirtiler”dir (9). İnme, ölüm nedenleri arasında üçüncü sıradadır ve erişkinlerdeki en sık sakatlık nedenidir (10-11). İnme, sadece hayatını değiştirdiği hastayı değil ailesini ve bakımını sağlayan kişileri de etkiler (11). İnmelerin %80’ini iskemik inmeler oluşturur (9,12). İnme geçiren ve yaşamını sürdüren hastaların yaklaşık %30’u günlük yaşam aktiviteleri için ; %20’si mobilizasyon için yardıma ihtiyaç duyar; ve %16’sının kurumsal bakıma ihtiyacı vardır (10). İskemik inme hastalarında; başlangıçtaki nörolojik defisit, yaş, yüksek kan şekeri, vücut sıcaklığı, daha önce geçirilmiş inme öyküsü prognozu belirleyici faktörlerdir (12). Akut iskemik inmede intravenöz rekombinan doku plazminojen aktivatörünün (rtPA) bazı hastalara uygulanabilmesine ve gelecekte uygulanabilecek olan umut veren tedavilere rağmen; önleyici tedavi inme’nin neden olduğu ağır yükü azaltmakta halihazırda en etkili yöntemdir (11). İnme risk faktörleri, değiştirilebilen ve değiştirilemeyen risk faktörleri olarak ikiye ayrılır. Değiştirilemeyen risk faktörlerini yaş, cinsiyet, ırk, aile öyküsü ve genetik faktörler oluşturur (9-10). İleri yaş inmenin en güçlü risk faktörüdür (9-10). İnme; erkeklerde, aile öyküsü bulunanlarda, siyah ırkta daha sık görülür (9-10). Değiştirilebilen risk faktörleri (tablo 2.1) içinde yer alan arteriyel hipertansiyon yaştan sonra gelen en güçlü risk faktörüdür (9-10). Antihipertansif tedaviler genel anlamda inme insidansında %35-44 azalma sağlarlar (11). Sigara içiciliği inme riskini ikiye katlar ve hemorajik inme riskini 2-4 kat artırır (11).

Tablo 2.1 : İskemik inme değıştirilebilir risk faktörleri

Değıştirilebilir Risk Faktörleri
Hipertansiyon
Kardiyovasküler Hastalıklar
Koroner Kalp Hastalığı
Kalp Yetmezliğı
Periferik Arter Hastalığı
Diabetes Mellitus
Sigara
Aseptomatik Karotis Stenoza
Atriyal Fibrilasyon
Dislipidemi
Yüksek Total Kolesterol
Düşük HDL
Obezite
Fiziksel İnaktivite
Orak Hücreli Anemi
Postmenopozal Hormon Terapisi

Fokal iskemik inmede kan akımının en çok azaldığı ve hücrelerin hızla öldüğü alana kor bölge adı verilir (13). Kor alana komşu bölgede, rezidüel kan akımının doku canlılığını geçici olarak sürdürebildiğı periferik alana penumbra adı verilir (13). Fonksiyonel olarak bozulmuş ancak yapısal olarak sağlam bir doku olan penumbra, tıkanan damar sahasında yer alır. Bu bölge eğer yeterli kan akımı ve enerji sağlanamazsa saatler içerisinde enfarkta dönüşebilecek bir dokudur. Penumbranın varlığı teorik olarak kurtarılabilir doku olduğunun göstergesidir (14). Bu nedenle penumbra terapötik müdahalelerin ana hedefidir (12). Rekombinan doku plazminojen aktivatörü (rtPA) inme başlangıcından sonraki 4,5 saat içinde kullanıldığında güvenli ve etkili bir tedavi yöntemidir (2,15-16). rtPA hastaya ne kadar erken verilirse etkinliğı de o derece artacaktır (16-17). rtPA'nın en önemli ve en çok korkulan komplikasyonu serebral hemorajik transformasyondur (4,15-16,18-19). rt-PA uygulanan hastalarda, uygulanmayan hastalara göre kanama riski artmış bulunmuştur (2,15-17,19). ECASS-I ve ECASS-II çalışmalarında serebral kanamalar hemorajik enfarktler (HE) ve

parenkimal hematomlar (PH) olmak üzere radyolojik olarak ikiye ayrılmıştır (tablo2.2) (4,19).

Tablo-2.2 : Serebral kanamaların ECASS çalışmalarındaki anatomik/radyolojik tanımları (4,19)

HE	: yer işgal etmeyen peteşiyal enfarkt
HE-1	: enfarkt alanı içinde, küçük peteşiler
HE-2	: enfarkt alanı içinde, birleşmiş peteşiler
PH	: kitle etkisi olan kanama
PH-1	: hafif kitle etkisi ile birlikte enfarkt alanının %30'dan az kısmını tutan
PH-2	: belirgin kitle etkisi ile birlikte enfarkt alanının %30'dan fazla kısmını tutan

Tromboliz sonrası gelişen semptomatik kanama tanımı, yapılan çalışmalarda farklılık göstermektedir. NINDS çalışmasında; rtPA sonrası kanamadan şüphelenme veya nörolojik durumda kötüleşme sonrası çekilen BT'de kanama görülüyorsa ve bir önceki BT'de kanama yoksa bu semptomatik kanama kabul edilir (15) Bu tanıma göre semptomatik kanama, rtPA grubunda %6,4 oranındayken plasebo grubunda %0,6 oranındadır, asemptomatik kanama açısından ise gruplar arasında farklılık gözlenmemektedir (15). ECASSII'de klinik bozulma veya NIH-inme ölçeği skorunda 4 puandan fazla artış sonrası çekilen BT'de beyinde herhangi bir alanda görülen kanama semptomatik kanamadır, ve rtPA grubunda plasebo grubuna göre 2,5 kat artmıştır (19). ECASSII'de hemorajik enfarktlar açısından plasebo grubuyla trombolitik grubu arasında fark gözlenmezken, parenkimal hematomlar tromboliz grubunda 4 kat daha fazladır (19). SITS-MOST'da tedavi sonrası 22-36 saat içinde çekilen görüntüleme de lokal veya uzak parenkimal hematoma tip 2 ile birlikte NIH (National Institutes of Health)- inme ölçeği skorunda en az 4 puan artış veya ölüm olması semptomatik kanama anlamına gelmektedir ve bu tanımlamaya göre semptomatik kanama hastalarının

%1,7'sinde gelişmiştir (2). Trombolitik zaman penceresinin 4,5 saate uzatıldığı ECASSIII'de semptomatik kanama oranları daha önceki çalışmalardan daha yüksek çıkmamıştır (16). Çalışmalar arasında farklılık göstermekle birlikte semptomatik kanama riski, rtPA sonrası %6-10 civarındadır (20-21). Tüm çalışmalar geriye dönüp bakıldığında ve tekrar analiz edildiğinde; rtPA verilen hastalarda semptomatik kanama riski ve buna bağlı morbidite ve mortalite artmış olsa bile, bu durum plasebo grubu ve trombolitik grubu arasında mortalite açısından fark yaratmamaktadır (15-16,19). rtPA uygulanması ve hastanın yaşı semptomatik kanama için risk oluşturmaktadır (17,22-23). BT'de erken iskemik değişikliklerinin, başvuru esnasındaki serum glukoz düzeyinin semptomatik kanama ile birlikteliği gösterilmiştir (21). ECASSII'nin tekrarlanan analizinde bazal BT'de iskemik değişikliklerin boyutu, konjestif kalp yetmezliği ve olay öncesinde aspirin kullanımı hemorajik transformasyon için risk faktörü olarak gözlenmiştir (23).

İntraarteriyel trombolizin ön sistem oklüzyonlarında 6 saatlik, baziler arter oklüzyonlarında 6 saat ve üzerinde zaman diliminde uygulandığı literatüre bakıldığında, intraarteriyel tromboliz uygulamasının aspirin kullanımına kıyasla uzun dönemde daha iyi nörolojik sonuç sağladığı gösterilmiştir (24).

rtPA'nın çok yönlü etkileri olan bir molekül olduğuna; pıhtı lizisi yanında inme sonrasında nörovasküler birimde önemli sinyal iletimi ve proteaz etkisinin olduğuna dair hipotezleri destekleyen kanıtlar çoğalmaktadır (25). Reperfüzyon sırasında MMP inhibitörlerinin, artmış MMP-2 ve MMP-9 seviyelerine eşlik eden şiddetli kan beyin bariyeri açılışını engellemeleri, MMP ilişkili erken kan beyin bariyeri açılışı ile rtPA mortalitesi arasında ilişki olduğunu desteklemektedir (26). rtPA'nın ekstravasküler proteolitik etkisi de santral sinir sistemi harabiyetine neden olabilmektedir (27). Ancak rtPA'nın ekstrasvaze olması için kan beyin bariyeri'nin açılması gereklidir; reperfüzyon sonrası erken kan beyin bariyeri açılmasının rtPA ilişkili mortalite için gerekli olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (26). Ayrıca rtPA'nın MMP-9'u arttırarak klinik kötüleşmeye, enfarkt büyümesine ve intraserebral hemorajik transformasyona yol açtığı gösterilmiştir (28-29).

2.2 Endovasküler Revaskülarizasyon

Aterosklerotik plak, karotis arter ve vertebrobaziler sistem boyunca herhangi bir noktada oluşabilir, ancak en sık yerleşim yerleri karotis bifürkasyonu; orta ve anterior serebral arter orijinleri, ve vertebral arterlerin subklavyan arterlerdeki orijinleridir (9). Karotis arterin aterosklerotik tıkaçıcı hastalığı bütün inmelerin %20-30'undan sorumlu tutulmaktadır (9-10). Karotis arterlerdeki stenoz klinik pratikte damarı daraltma yüzdesine göre değerlendirilir (30). Karotis stenozu olan hastalarda bir tedavi seçeneği olarak karotis endarterektomi titiz bir şekilde değerlendirilmiştir. Semptomatik hastalarda medikal tedavi ve karotis endarterektominin kıyaslandığı çalışmaların metaanalizinde karotis endarterektominin; %30'un altındaki stenozlarda ipsilateral inmeyi, operasyon sırasındaki inmeyi ve ölüm riskini arttırdığı; %30-49 darlığı olan hastalarda herhangi bir fayda sağlamadığı; %50-69 stenozu olan hastaların 5 yıllık takiplerinde ipsilateral inme riskini azalttığı gösterilmiştir (28-29). Karotis arter stenozu %70-99 olan hastalar değerlendirildiğinde ve karotis arterleri neredeyse tıkalı olan hastalar bu gruptan dışlandığında daha belirgin fayda sağladığı gösterilmiştir (30-31). Karotis arteri neredeyse tıkalı olan hastalarda ise belirgin fayda gösterilememiştir, ancak yeterli sayıda hasta değerlendirilememiştir (30). Hastaya semptom başlangıcından sonra ne kadar kısa sürede müdahale edilirse karotis endarterektomi o kadar faydalı olur; en büyük fayda eğer hasta ilk iki hafta içinde opere edilirse sağlanır; bu nedenle hasta nörolojik açıdan stabil hale gelir gelmez ameliyat edilmelidir (32). Asemptomatik karotis arter stenozu yıllık yaklaşık %1-2 inme riski taşır (11) ve bu hastalarda da karotis endarterektominin faydalı olduğu gösterilmiştir (11,30). Geniş randomize çalışmalar net bir şekilde göstermiştir ki ciddi karotis arter stenozu olan hastalarda karotis endarterektomi uzun dönemde inme riskini azaltmaktadır (33-34). Benzer seviyede bir risk azalmasını endovasküler karotis stent takılması yoluyla da elde etmek mümkündür. Her iki yöntemin de avantaj ve dezavantajları bulunmakla birlikte, hangi yöntemin daha elverişli olduğu henüz tüm çevreleri ikna edebilecek netlikte ortaya konulamamıştır. Bazı merkezler karotis stentlemesini sadece endarterektomi için yüksek

risk taşıyan hastalarda uygulamaktadır (33). Karotis arter endarterektominin ve karotis arter stentleme işleminin en büyük risklerinden birisi, işlem sırasında debrise müdahale sonucu gelişebilen distal embolizasyondur (35). Karotis arter stenoz derecesinin, distal embolizasyon riskini arttırdığı düşünülmektedir (35). Prosedür sonrası difüzyon lezyonları açısından karotis arter stentleme işlemi ve karotis endarterektomi kıyaslandığında stentleme işleminde distal embolizm koruma yöntemleri kullanılmamış ise daha sık difüzyon lezyonu olduğu görülmektedir (35). Karotis arter stentleme sonrası difüzyon ağırlıklı MR görüntülemeler değerlendirildiğinde, %15 civarı asemptomatik akut iskemik lezyonlar görülmektedir, bunların yaklaşık %60'ı geri dönüşlü özelliktedir (36).

Literatüre bakıldığında, bir çalışmada karotis revaskülarizasyon işlemi sonrası takip edilen hastaların bir kısmında nörolojik defisit gelişmiş, MRGlerinde bulguları açıklayabilecek akut iskemik lezyonları veya serebral hiperperfüzyon sendromu gözlenmemiştir; bu vakalarda çekilen kontrastlı FLAIR sekanslarında (HARM-hyperintense acute reperfusion marker) gözlenen geçici leptomeningeal kontrast geçişi, kan beyin bariyeri bozukluğu ile birlikte giden reperfüzyon hasarı ile uyumlu bulunmuştur (37).

2.2.1 Serebral Hiperperfüzyon Sendromu

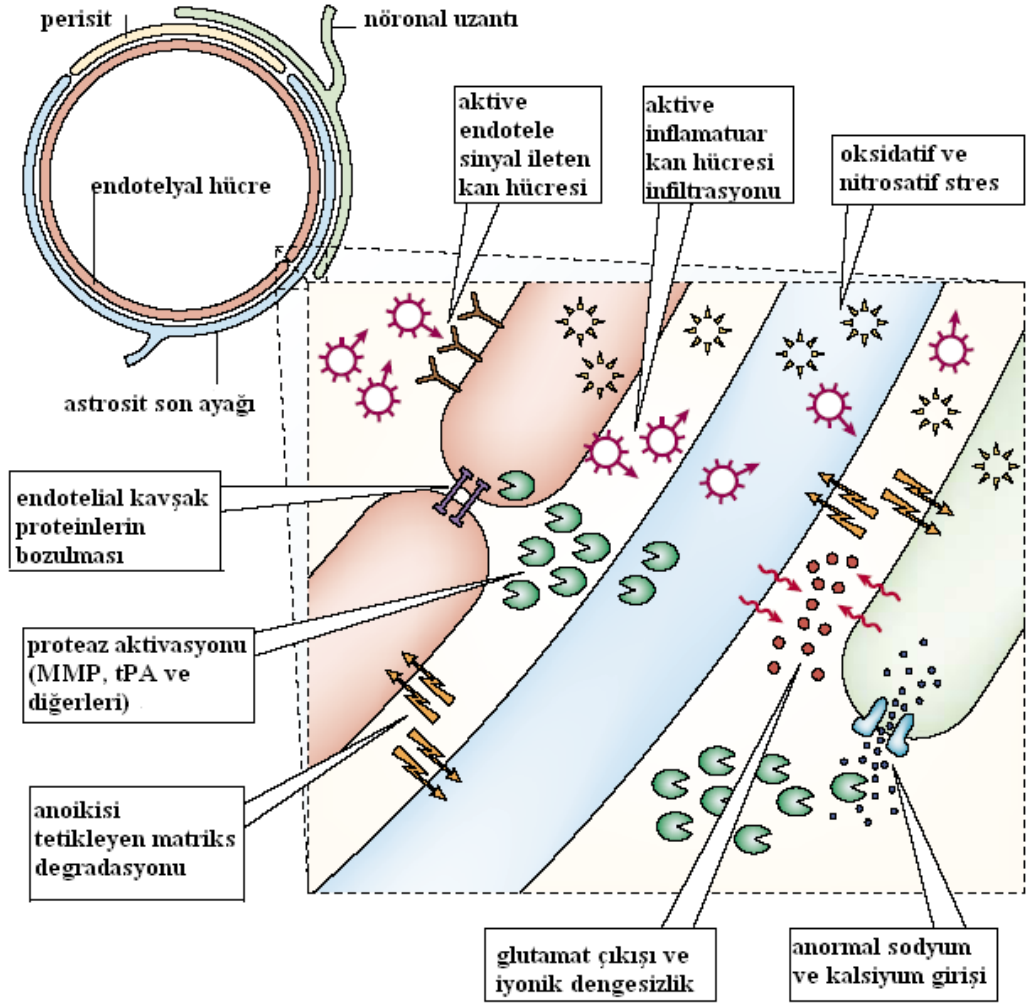
Serebral hiperperfüzyon sendromu karotis endarterektomi veya karotis stentleme sonrasında görülebilir. Serebral hiperperfüzyon sendromu zonklayıcı ipsilateral frontotemporal veya periorbital ve bazen yaygın baş ağrısı, göz ve yüz ağrısı, kusma, konfüzyon, maküler ödem ve görme bozuklukları, sıklıkla sekonder jeneralize olan fokal motor nöbetler, fokal nörolojik bulgular, ve intraserebral veya subaraknoid kanamayla karakterizedir (38-39). Karotis endovaskülarizasyonu takiben hastaların %1,1-6,8'inde gelişir (40) Karotis endarterektominin hemen sonrasında hastaların çoğunda ipsilateral kan akımında bazale kıyasla %20-40'luk artışlar olur ve bu

asemptomatik durum birkaç saat sürebilir (38). Bazı hastalarda ise kan akımı, bazal kan akımına kıyasla %100-200'lük artışlar olur; sıklıkla ameliyattan sonraki 3-4 gün içinde maksimuma erişir, 6-7 gün içinde sabit hale gelir ve 1-2 hafta sürebilir (38). Serebral hiperperfüzyon; kan akımında %100'den fazla artış şeklinde tanımlanabilir, hastaların bir kısmında gelişir ve bunların birkaçı semptomatik olur (38). Serebral otoregülasyonu bozuk, hipoperfüze olan bir alanda tekrar perfüzyon basıncı sağlamanın hiperperfüzyona neden olduğu ileri sürülmektedir (38-39). Preoperatif dönemde serebral hipoperfüzyon olması, postoperatif serebral hiperperfüzyon için potansiyel bir risk faktörüdür (38). Transkraniyal doppler (TKD) preoperatif hipoperfüzyon ve postoperatif hiperperfüzyon saptamak ve hiperperfüzyonu takip etmek için kullanılabilir. Serebral hiperperfüzyon sendromu olan hastalarda kan akımı basınca bağlı olduğu için, sistemik arteriyel kan basıncını düşürmek semptomların hızla düzelmesini sağlayabilir (38). Beta blokörler kafa içi basıncına hemen hiç etki etmeden sistemik arteriyel kan basıncını düşürdüğünden serebral hasarı olanlarda hipertansiyon tedavisi için kullanılabilir; α ve β adrenerjik antagonisti labetolol serebral hiperperfüzyon sendromunda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (38).

2.3 Reperfüzyon Hasarı ve Oksidatif Stres

Reperfüzyon hasarı iskemik/hipoperfüze serebral dokuya kan dolaşımının tekrar sağlanmasıyla gelişen bir komplikasyondur. Resirkülasyonla hasar gören dokuya oksijenin tekrar sağlanması, reaktif oksijen radikallerinin fazla miktarda üretilmesine ve böylece doku hasarına neden olur. Oksidatif stress; prooksidan-antioksidan dengesinin prooksidan lehine bozulması ve bu bozulmanın potansiyel hasara yol açması şeklinde tanımlanabilir (41). Serbest radikaller, hücre sinyalizasyonunda, birçok gen aktivasyon ve indüksiyonunda rol alırlar; DNA, lipidler, ve proteinler dahil olmak üzere bütün hücre komponentlerine bağlanır ve hasara uğrattırır; ve proteazların faaliyetlerini farklı safhalarda etkilerler (42-43). Serbest radikal üretimi kan beyin bariyeri yıkımına ve

beyin ödeme, lökositlerin iskemik alana gelmesine ve kan akımında değişikliklere neden olur. Serbest radikaller normal şartlarda süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx), glutatyon (GSH), katalaz ve askorbik asit gibi antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılır (44). Ancak reperfüzyon durumunda mitokondri ve sitozolik enzimler tarafından aşırı miktarda oksijen radikali üretilmesi; detoksifikasyon sistemlerinin inaktive edilmesi; antioksidanların tüketilmesi ve antioksidanların iskemik dokuya yeteri kadar takviye edilememesi sonucunda endojen antioksidatif savunma mekanizmaları yetersiz hale gelir (45). SOD gen overekspresyonu olan farelerdeki geçici iskemide nöronların reperfüzyon hasarına bağlı hücre ölümüne daha dayanıklı olduğu; SOD ekspresyonu olmayan farelerde ise geçici orta serebral arter (OSA) oklüzyonu ve global iskemide artmış hücre ölümü ve artmış ödem, kalıcı OSA oklüzyonu sonrası ise daha geniş enfarkt alanı geliştiği gözlenmiştir (13,45). Artmış serbest radikal yapımı kan beyin bariyeri hasarı ile ilişkilidir. Kan beyin bariyerini oluşturan endotel, astrosit, perisit, sıkı kavşak yapıları ve ekstraselüler matriksin oluşturduğu nörovasküler birim reperfüzyon hasarından asıl etkilenen yapıdır (şekil 2.1) (13). Nörovasküler birimin işlevini yerini getirememesi mikrosirkülasyonu bozmakta ve bunun sonucunda da enfarktın penumbraya doğru ilerlemesine ve beraberinde de hemorajik transformasyon ve ödeme neden olabilmektedir (46).



Şekil 2.1 Nörovasküler birimin şematik görünümü : İskemi sonrası nörovasküler fonksiyonel bütünlükteki bozukluk hasarla ilişkili aşamaları başlatır. Referans (13)'den uyarlanmıştır

2.3.1 Nitrik Oksit ve Peroksinitrit

Bundan yaklaşık 20 yıl önce endotel kaynaklı gevşetici faktörün (EDRF) nitrik oksit olduğu keşfedildi (47) ve bu keşif Nobel ödülünü de beraberinde getirdi. 1990'ların başındaysa bazı yayınlarda peroksinitritin biyolojik bir oksidan olduğu önerilmeye başlarken, nitrik oksitin ise süperoksidi etkisiz hale getiren bir antioksidan rolü oynadığı düşünülmekteydi (48). Nitrik oksit (NO) bütün omurgalılarda; her yerde ve her zaman hazır bulunan hücreler arası önemli bir mesajcıdır (48). NO L-arjininden enzimatik yolla sentezlenir. Bilinen 3 nitrik oksit sentetaz (NOS) vardır;

1. endoteliyal NOS (eNOS)
2. nöronal NOS (nNOS)
3. indüklenbilir NOS (iNOS)

eNOS kaynaklı NO endotel hücreleri tarafından üretilir, endojen vazodilatör olarak görev yapar ve sempatik sistemin ve renin-anjiyotensin sisteminin ortaya çıkardığı vazokonstriksiyonu dengeler (49-50). Damar lümenine salınan NO platelet agregasyonunu ve aterogeneziste rol alan genleri inhibe eder (49).

nNOS saflaştırılan ve klonlanan ilk NOS'dur (51). Beyindeki nöronların %1-2'sinden sentezlenir ve iskemi sonrası oluşan doku hasarında önemli rolü olduğu düşünülmektedir (48) İskemiden hemen sonra, özellikle iskeminin kor bölgesinde muhtemelen anoksik depolarizasyon nedeni ile artmış glutamat salınımı görülür (52). Salınan artmış glutamat nedeni ile iyonotropik bir glutamat reseptörü olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörünün aktivasyonu sonucunda hücre içine aşırı kalsiyum girişi olur ve intraselüler kalsiyum artışına bağlı olarak nNOS aktivasyonu gerçekleşir (52-53). NOS inhibitörleri NMDA-aracılı nöronal toksisiteyi engellemektedir (52). nNOS knock-out farelerin iskemiye daha dirençli oldukları gözlenmiştir (49,54).

iNOS lökositlerde, makrofajlarda/mikroglia, astrositlerde ve endotel hücrelerinde bulunabilir (45). iNOS normalde sağlıklı beyin dokusunda görülmez, ancak iskemi geliştikten 2-3 gün sonra indüklenir ve gecikmiş iskemik hasara katkıda bulunur (49,52). iNOS inhibitörlerinin kullanıldığı farelerde ve iNOS eksik olan farelerde enfarkt alanının daha küçük ve motor defisitinin daha az olduğu gösterilmiştir (49,52).

Konstitütif olan nNOS ve eNOS kalsiyum/kalmodulin bağımlıdır ve kısa süreli NO üretimi yaparlar. iNOS ise kalsiyumdan bağımsız olarak sitokinler ve endotoksinler ile indüklenir ve uzun süreli NO üretimi yapar (53,55). Konstitütif NOS (cNOS) aktivasyonu intraselüler kalsiyum düzeyine bağlıdır (53,56). cNOSlar iskeminin başlangıcında artmış miktarda NO üretirler ve kısa bir süre sonra inaktive edilirler (8,52). Reperfüzyon ile cNOS tekrar aktive olur ve tekrar NO üretmeye başlar (8,52).

eNOS tarafından üretilen NO iskemi sırasında rezidüel kan akımını arttıracığından, eNOS knock-out farelerde daha geniş enfarkt alanı oluşur (54,57), ancak reperfüzyon sırasında artmış endotelial NO sentezi peroksinitrit artışına sebep olarak beyin hasarına neden olabilir (54). e-NOS knock-out farelerde veya eNOS yüksek miktarda NOS inhibitörleriyle farmakolojik yolla bloke edildiğinde daha geniş enfarkt alanı gelişmekteyken, düşük miktarda NOS inhibitörleri koruyucu olabilmektedirler (46,52,54).

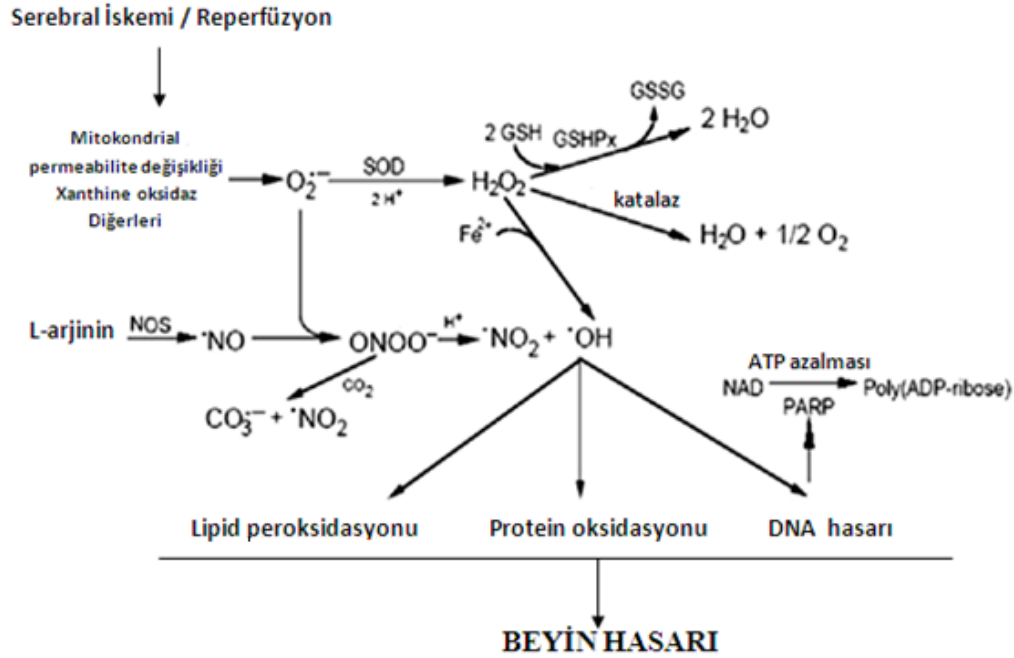
Süperoksitin asıl kaynakları mitokondrial elektron transportu sırasındaki elektron kaçağı, bozulmuş mitokondrial metabolizma ve hasara karşı gelişen enflamatuvar yanıtı içerir (41). Reperfüzyon sonrası nöronlarda, astrositlerde ve endotelial hücrelerde süperoksit ortaya çıkar (54).

Süperoksitin ve NO'nin kendi başlarına belirgin bir toksisiteleri yoktur, çünkü birikmelerini en aza indireyecek yeterli miktarda araç vardır (48). NO, dokulara hızlı difüzyonu nedeniyle eritrositlere geçer ve oksihemoglobin ile reaksiyona girerek nitrat şeklinde ortamdan hızla atılır. Böylece biyolojik yarı ömrü bir saniyenin altına düşer (48). Süperoksit ise mitokondri, sitoplazma ve ekstraselüler ortamda bulunan SOD

tarafından hızla ortadan kaldırılır (48). Ancak bu iki serbest radikalın etkileşmesinden her ikisinden daha güçlü ve kararlı bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO^-) ortaya çıkar. Şimdiye kadar SOD'u yenebilecek kadar çok miktarda üretildiği ve ondan daha hızlı şekilde süperoksit ile reaksiyona girebildiği bilinen tek biyolojik molekül NO'dur (58). Bu reaksiyon için enzim gerekmez (41,48). Reperfüzyonun erken dönemlerinde NO ve süperoksit artışı olur ve bunun sonucunda reperfüzyon sonrası ilk saatler içerisinde ortamda peroksinitrit artışı meydana gelir (54,59). Nitrik oksit ve süperoksit düzeyleri onar kat arttığında peroksinitrit oluşumu 100 kat artacaktır (48).

Peroksinitrit bir serbest radikal olmamasına rağmen, NO ve süperoksitten daha reaktiftir (48,58), farklı mekanizmalarla hedef molekülleri okside eder. Peroksinitrit ve onun proton eklenmiş formu olan peroksinitröz asit (ONOOH) doğrudan oksidatif değişiklikler yapabilirler. Diğer mekanizma peroksinitröz asitin ayrışması sonucunda ortaya çıkan hidroksil radikali ve nitrojen dioksit aracılığıyla olur. Ancak peroksinitritin hızla karbondioksit (CO_2) ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan karbonat radikali ($\text{CO}_3^{\cdot-}$) hidroksil radikalinden daha toksiktir ve genellikle hidroksil radikaline atfedilen çoğu oksidasyon örneklerinin aynılarını ortaya çıkarır (44,48).

Peroksinitrit lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına neden olur; peroksinitritin damar içinde ve etrafında oluşumu, kan-beyin bariyerinin selektif geçirgenliğinin bozulmasına ve MMP aktivasyonuna yol açar (8,54) (şekil 2.2). NO inhibisyonu, reperfüzyon sırasında kan-beyin bariyeri geçirgenliğinin korunmasını sağlar (8,54).



Şekil 2.2 : Serebral iskemi/reperfüzyonu reaktif oksijen ve nitrojen türleri ortaya çıkarır ve sonuçta doku hasarına neden olduğunu gösteren şekil. $O_2^{\cdot-}$: Süperoksit, **SOD** : Süperoksit dismutaz, **ONOO \cdot** : Peroksinitrit , **PARP** : Poli (ADP-riboz) polimeraz, **CO $_3^{\cdot-}$** : Karbonat radikali, **H $_2$ O $_2$** : Hidrojen peroksit, **GSSG** : Glutasyon disulfid, **GSH** : Glutasyon, **GSHP $_x$** : Glutasyon peroksidaz (referans (41)'den uyarlanmıştır)

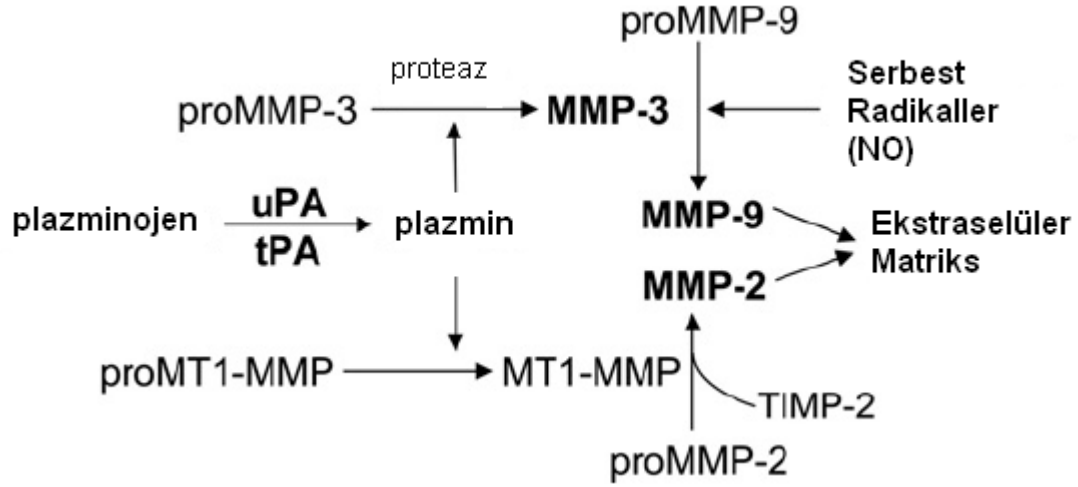
Peroksinitritin bilinen en hızlı reaksiyonu doğrudan geçiş metalleriyle gerçekleştirdiği reaksiyondur (48,58). Böylece peroksinitrit hemoglobin, myoglobin, ve sitokrom-c gibi hem grubu içeren proteinleri modifiye eder (48). Elektron transportunda rol alan demir ve sülfür merkezleri açısından zengin olan mitokondri için peroksinitrit güçlü bir toksindir (58). Bakır ve demir gibi geçiş metalleri peroksinitrit ile biraraya geldiğinde tirozinin nitrasyonunu katalize eder; böylece 3-nitrotirozin ortaya çıkar (48,58). 3-Nitrotirozin, kendisine karşı geliştirilmiş antikörler aracılığıyla peroksinitritin *in vivo* belirteci olarak kullanılmaktadır (48,58,60).

Peroksinitrit mitokondrial membran geçirgenliğini bozarak apoptotik veya nekrotik hücre ölümüne, veya PARP'ı aktive ederek nekrotik hücre ölümüne neden olabilir (48). İskemi ve reperfüzyon sonrası kapillerlerde yoğun nitrotirozin oluşumu gözlenir (46). Peroksinitritin perisit kontraksiyonuna yol açarak mikrosirkülasyonu bozduğu da gösterilmiştir (46).

2.3.2 Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar ilk kez 1962'de kurbağa yavrularının kuyruklarını düşürmesi sırasında gelişen enzimatik aktivitenin incelenmesi sonucu tanımlandı (61). Matriks metalloproteinazlar (MMP); zimojen şeklinde nörovasküler birimin bütün hücreleri tarafından üretilen, inaktif zimojen halinde ekstraselüler aralığa salgılanan çinko endopeptidazlardır (42,62-64). MMP'ler laminin, fibronektin, proteoglikanlar ve kollajen tip IV dahil olmak üzere ekstraselüler matriksin birçok komponentini parçalarlar (62). Aynı zamanda diğer pro-MMP'leri, tümör nekrozis faktör- α ve interlökin-1 β gibi sitokinlerin öncül hallerini işleyebilirler (62). Matriks metalloproteinazlar (MMP) ve metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP) başta olmak üzere ADAM (bir disintegrin ve metalloproteinaz) ve plazminojen/plazminojen aktivatöründen (P/PA) oluşan iki enzim ailesi daha ekstraselüler matriks yıkımına dahil olur (42,62). Nöroinflamasyonda kritik rollerde görev alan MMP'ler ve ADAM'lar şunlardır: jelatinaz A ve B (MMP-2 ve MMP-9), stromelizin-1 (MMP-3), membran tip MMP (MMP-14, diğer adıyla MT1-MMP), ve tümör nekrozis faktör dönüştürücü enzim (TACE) (42,62). Plazmin, doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinaz-tip plazminojen aktivatörü MMP'lerin başlıca fizyolojik aktivatörleridir (şekil 2.3) (62). MMP'lerin aktiviteleri TIMP'ler tarafından kontrol altında tutulur; TIMP-1 MMP-9'u, TIMP-2 MMP-2'yi inhibe eder, TIMP-3 ise MMP-3'ü, MT1-MMP'yi ve TACE'i

inhibe eder (42,62). Diğerlerinden farklı olarak hücre yüzeyine bağlı bulunan TIMP-3 hücre ölümüne katkıda bulunur ve anjiogenezisi engeller (42,62).



Şekil 2.3 : MMP'lerin aktivasyon mekanizmaları. Referans (62)'den uyarlanmıştır

MMP-9 büyük ölçüde kan damarları, nöronlar ve enflamatuar hücreler tarafından; MMP-3 ise nöronlar, mikroglia, ve perisitler tarafından salgılanır; diğer MMP'lerin aksine MMP-2, normal beyin dokusunda büyük miktarlarda bulunur ve astrositler tarafından eksprese edilir (42,62,65). MMP-2; TIMP-2, MT1-MMP ve MMP-2 moleküllerinin oluşturduğu kompleks tarafından aktive edilir ve aktive edilene kadar latent formda kalır. Bu aktivasyon işlemi hücre yüzeyine yakın bir alanda gelişir; TIMP-3 ise MT1-MMP'yi inhibe ederek MMP-2 aktivasyonunu etkiler (42,62,65). MMP-2, yapısal olarak eksprese olması nedeniyle, iskemik hasardan sonraki erken dönemde kullanılabilir proteolitik aktivite için bir kaynak haline gelir (42). Reperfüzyon sonrasında; MMP-2 indüklenir, kan damarlarına komşu bulunan astrosit son ayaklarında aktivatörü olan MT1-MMP ile beraber bulunur, bu sırada MT1-MMP aktivatörü olan furin de eksprese olur. Böylece MMP-2'nin aktive olması için gereken herşey hazır hale gelir (42,62,66).

İskemi MMP aktivasyonunda artışa ve kan beyin bariyeri hasarına neden olur, ancak bu değişiklikler reperfüzyon sonrası daha belirgin gelişir (67). Reperfüzyonun, tek başına iskemiye kıyasla nörovasküler hasarı kötüleştirdiği, daha çok hemorajik transformasyona ve daha kötü nörolojik fonksiyona yol açtığı gösterilmiştir (67). Reperfüzyon nedeniyle erken ve geçici bir MMP-2 aktivasyonu, ardından da geç dönem MMP-9 aktivasyonu meydana gelir (62). Reperfüzyon sonrası kan beyin bariyeri iki fazlı açılır; ilki üç saat içerisinde gelişir ve geri dönüşlüdür, ikinci açılışı yaklaşık 24 saat sonra gelişir (66). MMP-2'nin kan beyin bariyeri'ndeki sıkı kavşak yapısında yer alan proteinleri parçalayarak kan beyin bariyeri'nin geçici ilk açılışına yol açtığı düşünülmektedir, ancak bu yapısal proteinler bu erken dönemde damar içinde bulunmaya devam ederler (62,66). Daha sonra MMP-9 aktivasyonu sonucu gecikmiş kan beyin bariyeri hasarı gelişir. 24. saatteki bu ikinci açılış daha komplikedir ve daha büyük hasara yol açar, sıkı kavşak yapıları proteinleri artık damar içinde görülmezler. MMP-9 dışında iskemi/hipoksiye karşı bir enflamatuar yanıt, sitokinler, MMP-3, lökositler gibi faktörler de bu sürecin içinde yer alır (66). MMP inhibitörleri iskemik beyinde kan beyin bariyeri açılmasını önlerler (62,65-66). Reperfüzyondan hemen sonra uygulanan MMP inhibitörleri erken kan beyin bariyeri açılmasını engeller (62,65).

Akut iskemik inmede oksidatif stresin göstergesi olabilecek bir biyobelirteç, antioksidan terapi çalışmalarında tedaviden faydalanabilecek hastaların seçiminde yardımcı olabilir (68). İskemik inme geçiren hastalarda akut dönemde oksidatif stres belirteçlerinin yükselmesiyle birlikte plazma MMP-9 düzeylerinin de yükseldiği gösterilmiştir (68). Hayvan çalışmalarıyla uyumlu olarak, hemorajik transformasyona giden iskemik insan beyni dokusunda MMP-9 artışı gözlenmiştir (63,69). Akut iskemik inmeli hastalarda rtPA uygulaması öncesindeki plazma MMP-9 yüksekliğinin semptomatik intraserebral kanama ile ilişkisi öne sürülmüştür (70). İskemi başlangıcından sonraki kontrolsüz MMP artışı anormal proteoliz yoluyla kan-beyin bariyeri yıkımına ve hücre ölümüne neden olur (63). MMP-9 seviyelerindeki artışın sadece enfarkt alanında değil enfarktın etrafındaki dokuda da gösterilmiş olması MMP-

9'un aynı zamanda enfarkt genişlemesinde de rolü olduğuna işaret etmektedir (63,69). İskemik ve hemorajik inme hastalarında yapılan bir otopsi çalışmasında enfarkt alanında ve hematoma etrafındaki alanda MMP-9 aktivitesinin artmış olduğu ve bu artışın beyin dokusu hasarıyla ve hücre ölümüyle ilişkili olabileceği gösterilmiştir (69). İnsanlarda iskeminin akut döneminde periferik kandaki MMP-9 seviyesinin enfarkt büyüklüğü, hemorajik transformasyon, kötü nörolojik sonuçla ilişkili bulunduğu çalışmalar mevcuttur (63,71). Trombolitik uygulanan hastalarda periferik kandaki MMP-9 düzeyinin difüzyon ağırlıklı MR görüntülemelerde enfarkt alanının büyümesi ve kötü nörolojik sonuç ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (72).

rtPA beyin endotel hücrelerindeki lipoprotein reseptörüne bağlanarak MMP-9 seviyesini arttırır (29,73). Klinik çalışmalarda akut iskemik inme tedavisinde rtPA uygulaması sonrasında hiperakut dönemde total MMP9'un artış gösterdiği ve bu artışın klinik kötüleşme, enfarkt büyüklüğü ve intraserebral hemorajik transformasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (28).

Ancak, MMP'lerin iskemi sonrası geç dönemdeki iyileşme sırasında da rol aldıklarına dair ortaya atılan hipotezleri göz ardı etmemek gerekir (62-63). Akut dönemde MMP inhibisyonu iyileşmeye katkıda bulunurken inhibisyonun uzatılmasının başarısızlıkla sonuçlanması; santral sinir sistemindeki MMP aktivasyonunun gecikmiş yeniden düzenlemede gerekli olduğuna işaret etmektedir (63,65). Her ne kadar MMP inhibitörleri kan beyin bariyeri açılmasını engellese de 48. saatteki enfarkt büyüklüklerinde kontrollere göre bir fark saptanmamış, nörolojik fonksiyonlarda ise uzun dönemde kötüleşme gözlenmiştir (65). MMP-9 knock-out farelerde matür oligodendrosit sayısında kontrol grubuna göre azalma ve buna bağlı olarak demyelinizasyon sonrası myelinin tekrar oluşmasında sorun olduğu; spinal korddaki demyelinize lezyonun etrafındaki MMP-9 ekspresyonunun ise remyelinizasyonu kolaylaştırdığı gösterilmiştir (63,74). MMP-9 ekstraselüler matriksten VEGF salgılatarak istirahat halindeki damar sistemini aktive ederek normal ve neoplastik dokuda anjiogenezis sağlayabilir (63). MMP-2'nin spinal kordda fonksiyonel düzelmeye katkıda bulunduğu ve yara iyileşmesinde aktif görev aldığı; hasardan sonraki

7.-14. günlerde lezyon etrafındaki reaktif astrositlerde artmış MMP-2 olduğu ve MMP-2 knock-out farelerde beyaz cevher korunmasının daha az olduğu gösterilmiştir (63).

2.4 HARM

Kan beyin bariyeri hasarı iskemiden sonraki ortalama ilk 13 saat içinde gözlenebilmekte ve bu süre 5 güne kadar da uzayabilmektedir (75). Reperfüzyon sonrası erken dönemde oluşan kan beyin bariyeri hasarı hemorajik transformasyonla ilişkilidir (75-76). Bu nedenle, serum belirteçleri yüksekliğine eşlik eden kan beyin bariyeri geçirgenliğinin bozukluğunu radyolojik olarak görüntülemek klinik anlamda oldukça önemli bir veri sağlayacaktır. Kan beyin bariyeri hasarını göstermek, gadolinyumun beyin omurilik sıvısı boşluğuna gecikmiş geçişini gösteren FLAIR (fluid-attenuated inversion recovery) sekanslı MR görüntülemeyle mümkündür (HARM-hyperintense acute reperfusion marker) (75). Reperfüzyon sonrasında çekilecek bir HARM sekans MR görüntüleme bu amaca hizmet edebilir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma esnasında bütün hastalardan yazılı olur ile serum alınması ve yapılan tüm işlemler Hacettepe Üniversitesi Etik Kurulu tarafından HEK 08/113 kayıt numarası altında onaylandı.

Bu çalışma prospektif yöntemle; aşağıda tarif edildiği şekilde iki hasta grubunun serum örnekleri, klinik bulguları, nörosonografik ve nöroradyolojik görüntülemeleri incelenerek gerçekleştirildi.

İlk hasta grubunu aşağıdaki kriterlerin tümünü karşılayan vakalar oluşturdu:

a. Akut dönemde (ilk 6 saatte) iskemik inme semptomlarıyla HÜTF Hastanesi Büyük Acil Polikliniğine başvuran ve semptomlar ortaya çıktıktan sonraki ilk 6 saat içinde değerlendirilen

b. İlk çekilen beyin BT'de kanamanın ekarte edildiği ve NINDS-rtPA çalışması rtPA uygulama kriterlerine göre kontrendikasyonu olmayıp trombolize uygun olan

c. Transkraniyal doppler (TKD) ve/veya Beyin BT Anjiyografi ile ana serebral arterlerden birinde (orta, anterior veya posterior serebral arter veya baziler arter) damar tıkanıklığı gösterilmiş olan hastalar

i.v. rtPA verilmesi planlanan hastalar NINDS-rtPA çalışması rtPA uygulama kriterlerine göre belirlendi (tablo 3.1). Bu kriterlere uymayan hastalara rtPA verilmedi

Bu hastaların başvuru sırasında;

a. Kullanmakta oldukları diğer ilaçlar ve sistemik hastalıkları kaydedildi

b. Nörolojik muayeneleri yapılarak NIH-inme ölçeği skorları (tablo 3.2) kaydedildi

c. Bu proje kapsamında incelenecek biyobelirteçler (nitrotirozin, MMP2 ve MMP9) için venöz kan örnekleri alındı

Tıkalı damarın açılışı sırasında ve sonrasında;

- a. İntravenöz rTPA verilmesi sırasında TKD ile serebral damar rekanalizasyonu görüntülendi
- b. Eğer sorumlu klinisyen tarafından gerekli görülür ve uygulanırsa endovasküler girişim sırasında TKD ile serebral damar rekanalizasyonu görüntülendi
- c. Rekanalizasyon sonrasında, proje kapsamında incelenecek biyobelirteçleri değerlendirmek için venöz kan örnekleri alındı
- d. Endovasküler girişim sırasında anjiyografik rekanalizasyon paterni ve endovasküler girişim yöntemi kaydedildi

Tablo 3.1 : NINDS çalışması rtPA uygulama kontrendikasyonları

Artmış Kanama Riski	Yarar/zarar oranı düşük	Belirsizlik
Son 3 ayda inme Son 3 ayda kafa travması Son 3 ayda miyokard enfaktüsü Geçirilmiş intraserebral kanama öyküsü Ense sertliği gibi SAK bulguları Son 10 gün içinde KPR Son 14 gün içinde major cerrahi Son 21 gün içinde GIS/GUS kanama Son 7 gün içinde komprese edilemez bölgelerden arteriyel giriş Gebelik (postpartum 10 gün dahil) INR>1,7; aPTT>1,5 kat Trombosit<100.000 Bilinen kanama diyatezi (renal ve hepatik yetmezlik dahil) Periton diyalizi ve hemodiyaliz	Hızlı düzelen defisit Minör defisit (NIH inme ölçeği skoru <5; mRS<2) Koma NIH-inme ölçeği skoru>25 Kan basıncını gereken sınıra getirmek için i.v. infüzyon gerekmesi Normal olmayan BT Diğer nedenlere bağlı olarak yaşam beklentisinin 1 yıl veya daha az olduğunun tahmin edilmesi	İnme başında nöbet Hipo/hiperglisemi Belirtilerin uyandığında saptanması

Tablo 3-2 : NIH inme ölçeği

1a. Bilinç durumu:	<input type="checkbox"/> 0: Uyanık <input type="checkbox"/> 1: Hafif uyarana hemen cevap var. <input type="checkbox"/> 2: Israrlı veya güçlü veya ağrılı uyarana cevap var. <input type="checkbox"/> 3: Cevapsız veya sadece refleks cevap var.
1b. Sorular <i>Kaç yaşındasınız?</i> <i>Hangi aydayız?</i>	<input type="checkbox"/> 0: İki soruya doğru cevap <input type="checkbox"/> 1: Bir soruya doğru cevap (veya entübe, dizartri, yabancı dil) <input type="checkbox"/> 2: İki soruya yanlış cevap (veya afazi, veya koma)
1c. Emirler <i>Gözlerini aç kapa</i> <i>Sağlam eli aç kapa</i>	<input type="checkbox"/> 0: İkisini de yapıyor. <input type="checkbox"/> 1: Birisini yapıyor. <input type="checkbox"/> 2: Hiçbirini yapamıyor.
2. Bakış	<input type="checkbox"/> 0: Normal <input type="checkbox"/> 1: Parsiyel bakış parezisi, bir veya iki gözde bakış parezisi. <input type="checkbox"/> 2: Gözlerde forse deviasyon, total parezi (OSR negatif)
3. Görme alanı	<input type="checkbox"/> 0: Kayıp yok <input type="checkbox"/> 1: Parsiyel hemianopsi. <input type="checkbox"/> 2: Komplet hemianopsi. <input type="checkbox"/> 3: Bilateral hemianopsi veya körlük.
4. Fasyal Paralizi <i>Bilinç kapalı ise</i> <i>ağrılı (SOÇ) uyarıya</i> <i>yanıt</i>	<input type="checkbox"/> 0: Yok <input type="checkbox"/> 1: Hafif paralizi, NLO silik, fasyal asimetri <input type="checkbox"/> 2: Alt yüzde parsiyel paralizi (tam veya tama yakın) <input type="checkbox"/> 3: Yüzün üst veya altında tek veya çift taraflı tam paralizi, koma
5a. Motor kol sol <i>Oturarak 90°</i> <i>Yatarak 45°</i> <i>10-sn havada tutulur.</i>	<input type="checkbox"/> 0: Normal <input type="checkbox"/> 1: Tutuyor ama yatağa çarpmadı. <input type="checkbox"/> 2: Yerçekimine direnemedi (Tam kaldırdı veya tutabilse de yatağa çarptı) <input type="checkbox"/> 3: Minimal hareket var (tam kaldıramadı). <input type="checkbox"/> 4: Hiç hareket yok. <input type="checkbox"/> x: Amputasyon veya diğer nedenlerle değerlendirilemedi.
5b. Motor kol sağ	<input type="checkbox"/> 0: Normal <input type="checkbox"/> 1: Tutuyor ama yatağa çarpmadı. <input type="checkbox"/> 2: Yerçekimine direnemedi (Tam kaldırdı veya tutabilse de yatağa çarptı) <input type="checkbox"/> 3: Minimal hareket var (tam kaldıramadı). <input type="checkbox"/> 4: Hiç hareket yok. <input type="checkbox"/> x: Amputasyon veya diğer nedenlerle değerlendirilemedi.
6a. Motor bacak sol	<input type="checkbox"/> 0: Normal <input type="checkbox"/> 1: Tutuyor ama yatağa çarpmadı. <input type="checkbox"/> 2: Yerçekimine direnemedi (Tam kaldırdı veya tutabilse de yatağa çarptı) <input type="checkbox"/> 3: Minimal hareket var (tam kaldıramadı). <input type="checkbox"/> 4: Hiç hareket yok. <input type="checkbox"/> x: Amputasyon veya diğer nedenlerle değerlendirilemedi.
6b. Motor bacak sağ	<input type="checkbox"/> 0: Normal <input type="checkbox"/> 1: Tutuyor ama yatağa çarpmadı. <input type="checkbox"/> 2: Yerçekimine direnemedi (Tam kaldırdı veya tutabilse de yatağa çarptı) <input type="checkbox"/> 3: Minimal hareket var (tam kaldıramadı). <input type="checkbox"/> 4: Hiç hareket yok. <input type="checkbox"/> x: Amputasyon veya diğer nedenlerle değerlendirilemedi.
7. Ataksi	<input type="checkbox"/> 0: Yok (afazik veya hemiplejik) <input type="checkbox"/> 1: Tek ekstremitede var. <input type="checkbox"/> 2: Üst ekstremitede var. <input type="checkbox"/> x: Amputasyon veya diğer nedenlerle değerlendirilemedi.
8. Duyu	<input type="checkbox"/> 0: Normal <input type="checkbox"/> 1: Hafif/orta tek taraflı kayıp (Dokunulduğunu hisseder) veya afazik/uyanıklık bozukluğu <input type="checkbox"/> 2: Tam tek taraflı kayıp (dokunulduğunu hissedemiyor) veya iki taraflı duyu kaybı veya yanıt vermiyor veya kuadriplejik veya 1a=3.
9. Konuşma	<input type="checkbox"/> 0: Normal <input type="checkbox"/> 1: Hafif-orta şiddette afazi (ama kısmen de olsa iletişimi var.) <input type="checkbox"/> 2: Ağır afazi (Hiç iletişim kurulamıyor veya bilgi alışverişi sağlanamıyor) <input type="checkbox"/> 3: Sözel ifade veya anlama yok veya komada.
10. Dizartri	<input type="checkbox"/> 0: Yok <input type="checkbox"/> 1: Hafif-orta şiddette (Ama anlaşılabilir) <input type="checkbox"/> 2: Anlaşılamaz artikülasyon veya anartri veya mutizm <input type="checkbox"/> x: Entübasyon veya mekanik engel.
11. İhmal	<input type="checkbox"/> 0: Normal veya değerlendirilemedi (Görme kaybı) <input type="checkbox"/> 1: Eş zamanlı iki uyarıyı bir modalitede söndürüyor (taktil veya vizuel extinction). <input type="checkbox"/> 2: Birden fazla modalitede ihmal

Damar açılışından sonraki 60. dakika, 180. dakika ve 24. saatte 3-nitrotirozin düzeyi, ve MMP2 ve MMP9 aktivite düzeyleri çalışılması için EDTAlı tüpe 5'er ml venöz kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri bekletilmeden 5000rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Bu serumlar santrifüjden sonra -80°C'ye konuldu ve jel zimografi veya ELİSA çalışılana kadar -80°C'de saklandı.

Hastaların sorumlu klinisyen tarafından takibi sırasında herhangi bir klinik kötüleşme olması durumunda klinisyenin gerekli gördüğü beyin görüntüleme tetkikleri yapıldı; eğer herhangi bir klinik kötüleşme olmazsa hastalara 24. saatte kontrol beyin BT ve işlemden hemen sonra veya 24. saatte difüzyon ağırlıklı MRG çekildi. İşlemden 24 saat ve 1 hafta sonra hastalar semptomlar açısından sorgulandı, nörolojik muayeneleri yapıldı. rtPA verilmesini takiben nörolojik ve hemodinamik açıdan stabil duruma gelen ve herhangi bir kontrendikasyonu (örn; kalp pili) olmayan hastalara ilk 12 saat-5 gün arasında içinde difüzyon ağırlıklı, T2 ve Gradient sekansları içeren (Gradient Recalled Echo-GRE) Manyetik Rezonanslı Görüntüleme (MRG) çekildi.

İkinci grubu aşağıdaki kriterlerin tümünü karşılayan vakalar oluşturdu;

a. İnternal karotis arterlerinden birinde veya her ikisinde veya baziler arterde kritik derecede darlık olan ve darlık olan arterin sulama alanında hipoperfüzyonu; TKD, perfüzyon BT veya perfüzyon MRG ile gösterilmiş olan veya nörogörüntüleme yöntemlerinde hipoperfüzyon belirtisi olmayan ancak TKD vazomotor reaktivitesi bozuk olan

b. Darlığı olan artere endovasküler girişim endikasyonu konmuş olan hastalar.

Hastaların işlem öncesi;

a. Kullanmakta oldukları ilaçlar ve sistemik hastalıkları kaydedildi

b. Hastalardan girişim öncesi incelenecek biyobelirteçler için (3-nitrotirozin, MMP2 ve MMP9) serum örnekleri alındı

İşlem sırasında hastaların anjiyografik özellikleri kaydedildi. İşlemden önce ve hemen sonra tam nörolojik muayene yapılarak NIH-inme ölçeği skorları belirlendi. Reperfüzyon sonrası 60. Dakika, 180. dakika ve 24. saatte venöz kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri bekletilmeden 5000rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Bu serumlar santrifüjden sonra -80°C’ye konuldu ve jel zimografi veya ELİSA çalışılana kadar -80°C’de saklandı.

Hastaların işlem sonrasında sorumlu klinisyen tarafından takibi sırasında herhangi bir klinik kötüleşme olması durumunda klinisyenin gerekli gördüğü beyin görüntüleme tetkikleri yapıldı. Hastaların işlem sonrasındaki birinci günde ve birinci haftada TKD’leri yapılarak hiperperfüzyon açısından değerlendirildi. Hiperperfüzyon tespit edilen hastalar günlük TKD yapılarak izlendi. Endovasküler stent takılmasını takiben ilk 12 saat 5 gün içerisinde HARM sekanslı görüntüleme dahil olmak üzere difüzyon ağırlıklı ve GRE sekansı içeren beyin MRG’leri çekildi.

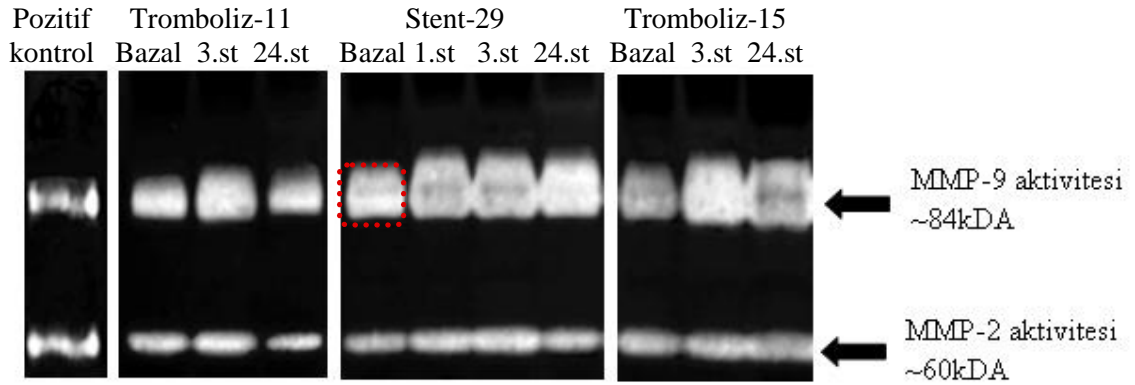
Bütün hastaların BT ve MR görüntülemeleri bir nöroradyolog tarafından değerlendirildi

3.1 Jel Zimografi

Serum MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerini belirlemek için jel zimografi yöntemi literatürde tarif edildiği (77) ve aşağıda anlatıldığı şekilde çalışıldı.

İn-situ zimografi ile tespit edilen aktivitenin hangi MMP’den kaynaklandığını tespit etmek için jel zimografi tekniği kullanılır. Bu çalışmada %10 jelatin ile hazırlanmış jel kullanıldı. Hastalardan alınan serum, örnek tampon madde ve distile suyun karıştırılmasıyla hazırlanan örnekler oda sıcaklığında jeldeki kuyulara yüklendi ardından +4°C’da elektroforez yoluyla koşturuldu. Böylece serumda yer alan proteinlerin molekül ağırlıklarına göre ayrışması sağlandı. Elektroforezden sonra jeller “renaturing” tamponunda yarım saat süreyle oda sıcaklığında hafif çalkalamayla inkübe

edildi, ardından “developing” tampon maddesinde yarım saat süreyle oda sıcaklığında hafifçe tekrar çalkalandı. Bir sonraki basamakta taze hazırlanmış “developing” tamponuna konulan jeller +37°C’de bir gece boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası jeller komasi mavisi tekniği ile boyandı. Eğer jelatinde yıkım varsa, bu MMP aktivitesini gösterir, yıkım olan yerde beyaz bant tespit edilir (şekil 3.1). Bu bandın molekül ağırlığı ise bize hangi MMP’nin bu süreçte rol aldığını gösterir. Bantların analizi için jellerin fotoğrafları Gel Logic ile çekildi. Bantların analizi Kodak Molecular Imaging Software ile yapıldı.



Şekil 3.1 : Jel zimografi; bantların görünüşü. İlk sütunda rekombinan MMP-2 ve MMP-9’un aktivitesini gösteren pozitif kontrol bantları; diğer sütunlarda tromboliz hastaları 11 ve 15’in ve stent hastası 29’un farklı zamanlardaki MMP-2 ve 9 aktivitesini gösteren bantlar görülmektedir. Kırmızı çerçeve içinde MMP-9 bandının ölçülen intensite ve alanına örnek görülmektedir.

3.2 Nitrotirozin ELİSA analizi

Serum nitrotirozin düzeyi tayini için ELİSA (enzim ilintili immün test) yöntemi kullanıldı. Sandviç ELİSA yönetminde monoklonal antikor tarafından yakalanmış antijen, biotin ile işaretlenmiş poliklonal keçi anti-nitrozin antikoruna tarafından belirlenir. Streptavidin peroksidaz ile çökertilen biotinile antikora tetrametilbenzidin substratı eklenir ve oluşan sarı ürünün absorbanı 450nm’de ölçülür.

Hazır alınan kitlerdeki (Bioxytech Nitrotyrosine-EIA) her bir kuyuya 10 kez seyreltilmiş 100µL serum örneği konuldu, ardından oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi. Yıkama tamponuyla 4 kez yıkanan kuyulara 100’er µL nitrotirozin antikoruna (Bioxytech Nitrotyrosine-EIA) eklendi, tekrar 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi ve yıkama tamponuyla 4 kez yıkandı. Yıkanan kuyulara 100’er µL streptavidin peroksidaz (Bioxytech Nitrotyrosine-EIA) eklendi ve 1 saat daha oda sıcaklığında inkübe edildi. Kuyular 4 kez daha yıkama tamponuyla yıkandıktan sonra 100µL TMB (tetrametilbenzidin) substratı eklendi ve 30 dakika inkübe edildi. Son olarak kuyulara 100 µL durdurma solüsyonu eklendi ve kuyudaki örneklerin 450nm’deki absorbanları Spectramax M2 spektrofotometrik plaka okuyucusunda (Molecular Devices, San Diego, CA) ölçüldü. Ölçülen absorban değerlerinin nM olarak derişimlerinin karşılığı, SOFTmax Pro 3.1.1 programı kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisinden hesaplandı. Son olarak elde edilen nitrotirozin derişimleri her örnek için Bradford protein tayini ile elde edilen protein derişimlerine bölünerek miligram protein başına düşen mikromol nitrotirozin miktarı olarak saptandı. Bradford protein tayininde yöntem, “Coomassie Brilliant Blue G-250” boyasının proteinlere bağlanması sonucunda oluşturduğu renkli çözeltilerin 595 nm’de absorbanının ölçülmesi ilkesine dayanır.

3.3 İstatistik

Nümerik değerler “ortalama±standart hata”, diğer değerler yüzde olarak ifade edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalar yerine göre “Mann-Whitney U, Student”in t-testi ve ki-kare, grup içi zamansal değişikler “tekrarlayan örneklerde ANOVA” ve post-hoc Wilcoxon testi ve t-testi ile veya Friedman’ın nonparametrik ANOVA’sı kullanılarak karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olup işlemler SPSS paket programı’nın 15. versiyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Toplam 37 anjioplasti-stent hastası, 15 tromboliz uygulanan hasta çalışmaya dahil edildi. Anjioplasti-stent hastalarının tümünde işlem öncesinde stenotik damarın sulama alanında hipoperfüzyon dökümente edilmiştir. Tromboliz uygulanan hastaların hepsinde damar görüntüleme yöntemleriyle klinikten sorumlu serebral damar oklüzyonu ve tromboliz sonrası bütün hastalarda beyin BT anjiografi, MR anjiografi veya TKD ile tıkalı damarın rekanalizasyonu gösterildi.

4-1 Endovasküler Stent Hasta Grubu

Stent grubundaki hastaların demografik özellikleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Stent hastalarının 30’u erkek, 7’si kadındı, yaşları 21-81 aralığında değişmekteydi (ortalama yaş $62,2 \pm 2,1$). Hastaların hepsi semptomatikti; 2 hasta dışında hepsi daha önce iskemik inme geçirmişti, hasta 9 ve 10, son 3 ay içinde geçici iskemik atak geçirmişti. Bütün hastalar işlem öncesinde antiagregan tedavi kullanmaktaydı. Hipoperfüzyonu gösterme yöntemi olarak hastaların 28’inde Transkraniyal Doppler Ultrasonografi (TKD), 7’sinde BT perfüzyon, 1’inde MR perfüzyon, 1’inde TKD vazomotor reaktivite (Nefes tutma) testi kullanıldı. Hastaların hepsine işlem sonrası ilk 12 saat-5 gün içinde difüzyon ağırlıklı görüntüleme dahil olmak üzere MRG çekildi; 3 hasta dışında hepsinin görüntülemelerine GRE sekans dahil edildi, GRE sekansın dahil edilmediği hastalar kanama açısından difüzyon ağırlıklı b=0 görüntüleri ile değerlendirildi; 30 hastanın MR görüntülemesine HARM sekansı dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen 37 hastanın; 29’unda jel zimografi yöntemiyle MMP-2 ve MMP-9 aktiviteleri; 33’ünde nitrotirozin düzeyleri çalışıldı. Teknik nedenlerden ötürü; 4 hastadan alınan serum örneklerinde biyobelirteçler çalışılmadı, 4 hastadan ise alınan serum örneklerinde nitrotirozin düzeyi çalışılabilirdi ancak MMP aktivitesi

değerlendirilemedi. Hastaların işlem öncesinde, 24 saat ve 1 hafta sonrasında nörolojik muayeneleri yapılarak NIH- inme ölçeği skorları hesaplandı. Klinik kötüleşme gözlenen hastaların günlük nörolojik muayene takipleri yapıldı.

37 hastanın; 33'ünde semptomatik internal karotis arter stenozuna, 3'ünde semptomatik baziler arter stenozuna; 1'inde semptomatik orta serebral arter stenozuna stent takıldı (tablo 4.2). 6'sında karşı taraf asemptomatik internal karotis artere ciddi stenoz nedeniyle müdahale edildi; 5'ine stent takıldı; 1'ine balon anjiyoplasti yapıldı. Baziler arter semptomatik stenozuna stent takılan hastalardan birine asemptomatik sağ internal karotis artere hemodinamik anlamlı stenoz nedeniyle stent takıldı. Hasta-32'nin sol orta serebral arterindeki hemodinamik anlamlı darlık oluşturan ve medikal tedaviye rağmen semptomatik olmaya devam eden intrakraniyal stenozuna stent takıldı. Hastaların hiçbirinde işlem sırasında komplikasyon gelişmedi.

Hastaların işlem sonrası klinik ve MRG bulguları tablo 4.3'te gösterilmiştir. 15 hastada hafif derecede hiperperfüzyon vardı, yaklaşık 1 hafta içerisinde hepsinde geriye dönüş gözlemlendi. 37 hastanın çekilen difüzyon ağırlıklı MRG'lerinde 21 hastada akut iskemik lezyon görüldü. HARM görüntüleri olan 30 hastanın 6'sında beyin omurilik sıvısı boşluğuna sulkal kontrast geçişi izlendi (şekil 4.2).

Hastaların 5'inde 24. saatteki nörolojik muayenelerinde kötüleşme gözlemlendi; hepsinin yapılan TKD'lerinde hafif derecede hiperperfüzyon mevcuttu, başağrısı 3'ünde vardı, 2'sinde yoktu; 4'ünde difüzyon ağırlıklı MRG'de akut iskemik lezyon gözlemlendi, 2'sinde HARM sekansta sulkal kontrast geçişi izlendi. Bu hastaların takiplerinde 2 hastanın (hasta 17 ve 18) nörolojik kötüleşmelerinde 1. haftanın sonunda düzelme gözlenmedi; diğer hastalarda nörolojik kötüleşmenin 1 hafta içinde tümüyle kaybolduğu gözlemlendi.

Hastaların serum biyobelirteçlerinin farklı zamanlardaki düzeylerinin yüzde değişimleri ve hastaların hiperperfüzyon ve HARM özellikleri tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.1 : Stent hastalarının demografik özellikleri. HT: hipertansiyon; DM: diabetes mellitus; HL: hiperlipidemi, KAH: koroner arter hastalığı

Hasta no	Yaş	Cinsiyet	Risk Faktörü	Sigara Kullanımı
Hasta-1	71	E	KAH	60paket/yıl
Hasta-2	73	K	KAH/HL	yok
Hasta-3	81	E	HT/DM/HL	yok
Hasta-4	50	E	HT/DM	30paket/yıl
Hasta-5	66	E	HT/KAH	yok
Hasta-6	56	K	HT/DM/HL/KAH	yok
Hasta-7	53	E	KAH/HL	120paket/yıl
Hasta-8	57	E	HT	40paket/yıl
Hasta-9	60	E	HT/KAH/HL	3paket/yıl
Hasta-10	70	E	HT/DM/HL	10paket/yıl
Hasta-11	50	K	HT/DM/HL/KAH	yok
Hasta-12	59	K	HT/KAH/HL	30paket/yıl
Hasta-13	78	E	HT	yok
Hasta-14	69	E	HT	yok
Hasta-15	58	E	HT/DM/HL	120paket/yıl
Hasta-16	75	E	YOK	150paket/yıl
Hasta-17	69	E	HT/DM/HL	59paket/yıl
Hasta-18	48	K	HT/DM	yok
Hasta-19	78	E	HT/KAH/HL	yok
Hasta-20	59	E	HT	80paket/yıl
Hasta-21	66	E	HT/DM/HL/KAH	30paket/yıl
Hasta-22	68	E	HT/DM/HL/KAH	20paket/yıl
Hasta-23	75	E	HT/DM/HL/KAH	25paket/yıl
Hasta-24	77	E	HT/HL	yok
Hasta-25	66	E	HT/DM/KAH	yok
Hasta-26	73	E	KAH/HL	yok
Hasta-27	60	E	HT/DM/HL	5paket/yıl
Hasta-28	55	E	HT/KAH	40paket/yıl
Hasta-29	68	E	HT/DM/HL/KAH	80paket/yıl
Hasta-30	69	E	HT/HL	yok
Hasta-31	62	E	HL	40paket/yıl
Hasta-32	63	E	HT/DM/KAH	yok
Hasta-33	61	E	HT/DM/HL	yok
Hasta-34	77	K	HT/HL	yok
Hasta-35	21	K	YOK	yok
Hasta-36	57	E	HT	10paket/yıl
Hasta-37	75	E	HT/DM/HL/KAH	yok

Tablo 4.2: Stent hastalarının stent takılan semptomatik damarları, son 3 ayda iskemik inme geçirip geçirmediikleri ve hipoperfüzyonlarını gösterme yöntemleri. İKA : internal karotis arter; OSA : orta serebral arter.

Hasta No	Semptomatik Damar	Son 3 Ayda İskemik İnme	Hipoperfüzyonu Gösterme Yöntemi
Hasta 1	İKA	var	BTP
Hasta 2	İKA	var	TKD
Hasta 3	İKA	yok	TKD
Hasta 4	İKA	var	BTP
Hasta 5	İKA	yok	TKD-VMR
Hasta 6	İKA	yok	TKD
Hasta 7	İKA	yok	BTP
Hasta 8	İKA	yok	TKD
Hasta 9	İKA	yok	TKD&BTP
Hasta 10	İKA	yok	TKD&BTP
Hasta 11	İKA	yok	TKD&BTP
Hasta 12	İKA	var	TKD&BTP
Hasta 13	İKA	var	TKD&BTP
Hasta 14	İKA	var	BTP
Hasta 15	İKA	var	TKD
Hasta 16	İKA	var	BTP
Hasta 17	İKA	var	BTP
Hasta 18	İKA	yok	TKD
Hasta 19	İKA	var	TKD
Hasta 20	İKA	yok	TKD
Hasta 21	İKA	var	TKD
Hasta 22	İKA	var	TKD
Hasta 23	İKA	var	TKD
Hasta 24	İKA	yok	TKD
Hasta 25	İKA	yok	TKD
Hasta 26	Baziler	yok	TKD
Hasta 27	İKA	var	BTP
Hasta 28	Baziler	yok	TKD
Hasta 29	Baziler	var	TKD
Hasta 30	İKA	yok	TKD
Hasta 31	İKA	yok	TKD
Hasta 32	OSA	var	MRP
Hasta 33	İKA	var	TKD
Hasta 34	İKA	var	TKD
Hasta 35	İKA	yok	TKD
Hasta 36	İKA	var	TKD
Hasta 37	İKA	var	TKD&BTP

Tablo 4.3: Stent hastalarının işlem sonrası MRG ve klinik bulguları. DAG: difüzyon ağırlıklı görüntüleme;

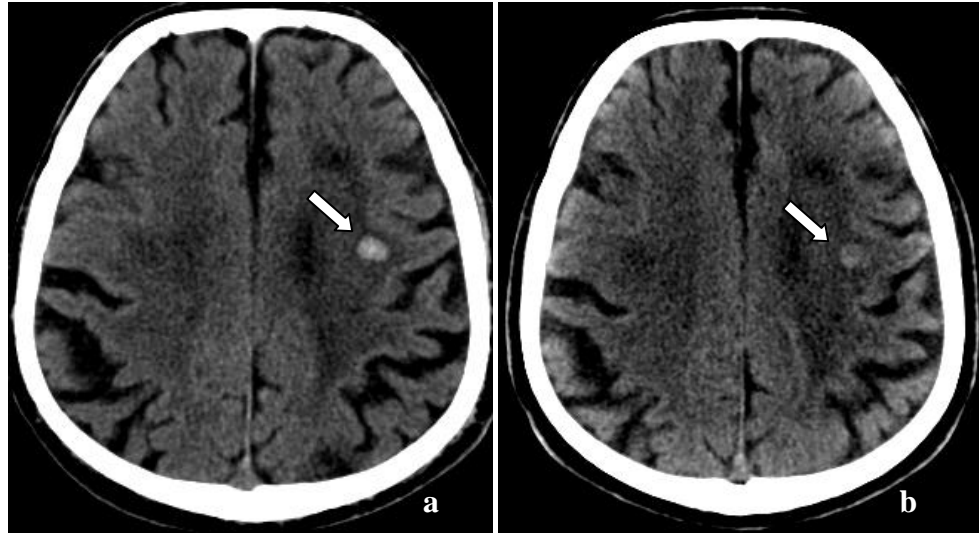
Hasta no	Hiperperfüzyon	NIH skorunda artış	Baş ağrısı	DAG iskemik lezyon	HARM kontrast geçişi
Hasta-1	yok	yok	yok	yok	çekilmedi
Hasta-2	yok	yok	yok	VAR	yok
Hasta-3	VAR	8 puan	VAR	VAR	VAR
Hasta-4	yok	yok	yok	yok	yok
Hasta-5	yok	yok	yok	VAR	yok
Hasta-6	yok	yok	VAR	VAR	yok
Hasta-7	VAR	yok	VAR	VAR	yok
Hasta-8	VAR	yok	VAR	VAR	yok
Hasta-9	yok	yok	yok	VAR	VAR
Hasta-10	VAR	1 puan	yok	VAR	çekilmedi
Hasta-11	yok	yok	yok	VAR	çekilmedi
Hasta-12	VAR	yok	yok	yok	VAR
Hasta-13	yok	yok	yok	VAR	çekilmedi
Hasta-14	yok	yok	yok	yok	yok
Hasta-15	VAR	yok	VAR	yok	yok
Hasta-16	yok	yok	yok	yok	VAR
Hasta-17	VAR	4 puan	VAR	VAR	yok
Hasta-18	VAR	1 puan	VAR	yok	yok
Hasta-19	yok	yok	yok	VAR	çekilmedi
Hasta-20	yok	yok	yok	yok	çekilmedi
Hasta-21	VAR	yok	VAR	VAR	yok
Hasta-22	yok	yok	yok	yok	yok
Hasta-23	yok	yok	VAR	VAR	yok
Hasta-24	yok	yok	yok	yok	yok
Hasta-25	yok	yok	yok	yok	yok
Hasta-26	yok	yok	yok	VAR	yok
Hasta-27	yok	yok	yok	VAR	yok
Hasta-28	yok	yok	VAR	yok	yok
Hasta-29	VAR	4 puan	yok	VAR	VAR
Hasta-30	yok	yok	yok	VAR	yok
Hasta-31	yok	yok	yok	yok	yok
Hasta-32	VAR	yok	yok	VAR	yok
Hasta-33	VAR	yok	yok	yok	çekilmedi
Hasta-34	VAR	yok	VAR	VAR	yok
Hasta-35	VAR	yok	yok	yok	yok
Hasta-36	VAR	yok	VAR	yok	VAR
Hasta-37	yok	yok	yok	VAR	yok

Tablo 4.4 : Stent grubu hastalarının hiperperfüzyon ve HARM’da kontrastlanma olup olmadığını; ve MMP-2, MMP-9 aktivitelerinin ve 3-nitrotirozin düzeylerinin zamansal değişimini (yüzde farkları şeklinde), gösteren tablo. 3-NT : 3-nitrotirozin.

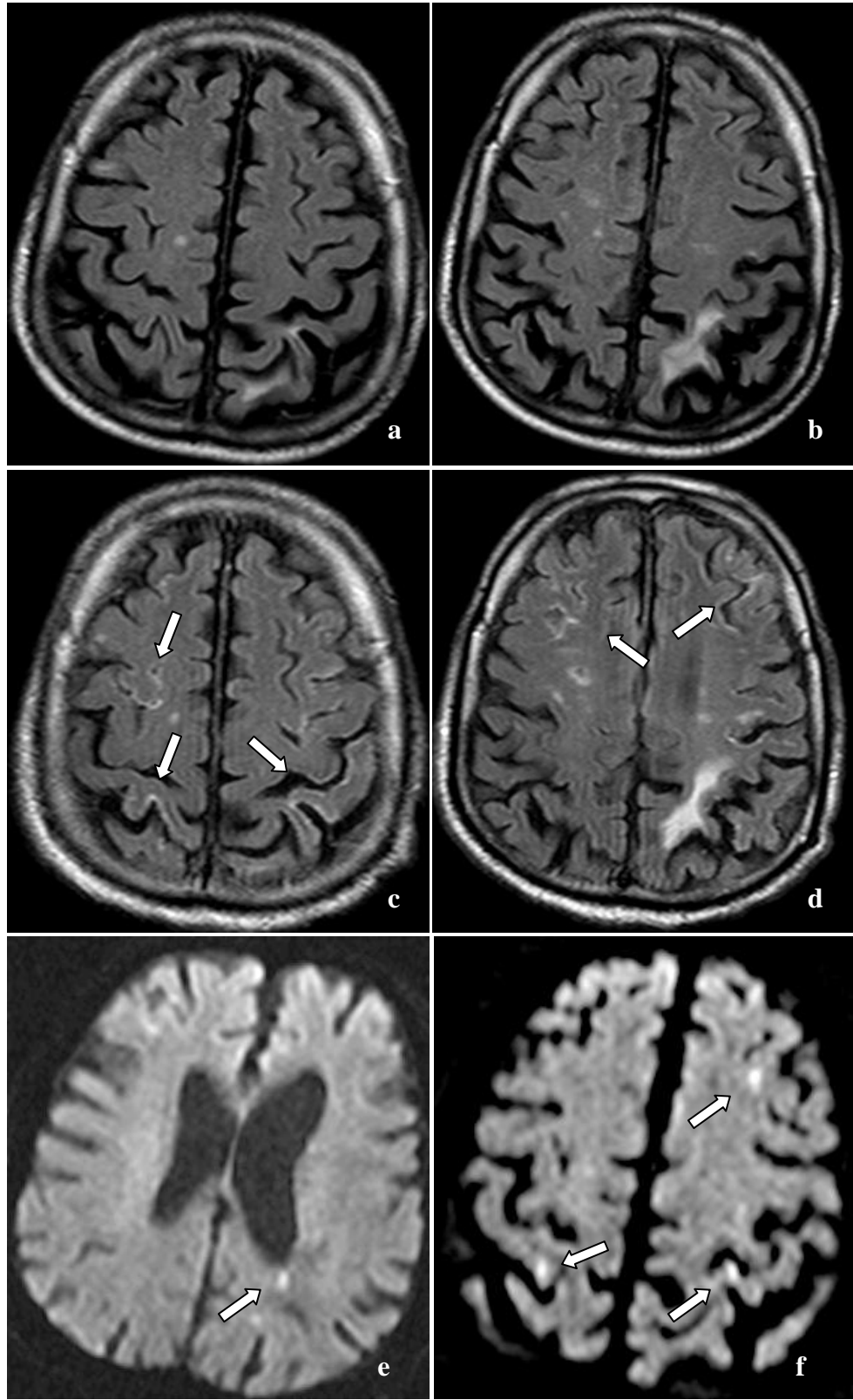
Hasta no	MMP-9			MMP-2			3-NT			Hiperperf	HARM
	1.st-bazal	3.st-bazal	24.st-bazal	1.st-bazal	3.st-bazal	24.st-bazal	1.st-bazal	3.st-bazal	24.st-bazal		
Hasta 1	6	63	115	9	10	27	234	97	5	yok	
Hasta 2	0	-18	-16	-7	-7	-51	-2	53	3	yok	yok
Hasta 3	73	0	43	50	64	124	-11	46	93	yok	yok
Hasta5	1	-11	-9	-1	-28	-42	-58	-50	8	yok	yok
Hasta6	24	-18	-27	-15	-16	-13	27	74	0	yok	yok
Hasta7	55	1	-30	15	45	-52	24	36	41	VAR	yok
Hasta8	-61	29	138	-80	46	38	33	40	108	VAR	yok
Hasta9	53	32	85	14	60	93	-19	29	96	yok	VAR
Hasta10	56	-35	50	-14	-79	-20	114	154	180	VAR	
Hasta11	43	-35	2	-8	-54	-20	11	10	-21	yok	
Hasta12	5	-20	29	-15	-59	62	118	71	-3	VAR	VAR
Hasta 14	-3	-13	77	-32	-38	-29	-44	3	36	yok	yok
Hasta15	85	37	99	70	0	15	-17	-27	9	VAR	yok
Hasta17	-14	10	-23	-22	-53	-14	3	108	2	VAR	yok
Hasta18	112	230	202	82	62	95	110	23	19	VAR	yok
Hasta20	0	-10	10	33	64	70	-20	45	0	yok	
Hasta21	45	4	-15	98	-26	-53	28	36	-24	VAR	yok
Hasta22	-64	43	27	-46	1	31	-36	5	42	yok	yok
Hasta23	4	-23	-47	-25	-45	-19	115	58	66	yok	yok
Hasta24	44	36	16	74	113	156	104	51	26	yok	yok
Hasta25	15	7	-17	-18	-7	5	29	47	63	yok	yok
Hasta26	12	-3	-16	-48	-31	-44	372	320	387	yok	yok
Hasta27	36	52	38	24	118	119	-6	-34	9	yok	yok
Hasta29	26	26	21	21	28	5	-30	-52	-10	VAR	VAR
Hasta30	146	182	76	-14	-30	-9	16	-10	-33	yok	yok
Hasta32	98	82	67	4	9	-1	98	11	143	VAR	yok
Hasta33		-9	20		-1	-12		97	120	VAR	
Hasta35	169%			8%			-14%	-7%	47%	VAR	yok
Hasta36	-41	-17	-14	-22	-18	-24	24	14	37	VAR	VAR
Hasta37		6	-5		-25	-16		-7	28	yok	yok

37 hastadan ikisinde –hasta 5 ve hasta 21- serebral kanama saptandı. Hasta-5'in işlem sonrası çekilen GRE sekans MRG'sinde sol bazal gangliada, tek seansta görülen, milimetrik hemoraji vardı

Hasta-21'in işlem sonrası çekilen ilk GRE sekans dahil, MRG'lerinde kanamaya dair bir bulgu izlenmedi; nörolojik muayenesinde kötüleşme gözlenmedi; hastanın işlem sonrası TKD'sinde hiperperfüzyon olması nedeniyle takip edilmekteydi; işlemden 1 hafta sonra şiddetli baş ağrısı olması nedeniyle çekilen BT'de sol frontal fokal kanama saptandı; takip BT'lerde kanamanın rezorbe olduğu gözlemlendi (şekil 4.1).



Şekil 4.1 : Hasta 21'in işlemden 1 hafta sonra kanamanın ortaya çıktığı (a) ve takipte giderek rezorbe olduğunu gösteren (b) beyin BT görüntüleri



Şekil 4.2 : Hasta-3'ün stent işlemi sonrası çekilen MRG'leri :

Şekil 4.2 devamı : Kontrastsız FLAIR (a-b), HARM (c-d) ve difüzyon ağırlıklı (e-f) MR görüntüleri. Difüzyon ağırlıklı görüntülerde bilateral milimetrik akut iskemik lezyonlar; HARM sekansa sağda daha belirgin bilateral frontoparietal sulkal sınırlı kontrast tutulumu beyaz oklarla gösterilen alanlarda görülmekte.

4-2 Tromboliz Hasta Grubu

Çalışmaya Ekim/2008-Haziran/2009 tarihleri arasında rekanalizasyon ve reperfüzyonun gözlendiği toplam 15 tromboliz hastası dahil edildi. Hastaların 5'i kadın, 10'u erkek hastaydı, yaşları 39-83 aralığındaydı (ortalama 61,8±3,3). Hastaların demografik özellikleri ve acil servise başvurdıkları sırada gözlenen klinik özellikleri tablo 4.5'te gösterilmiştir. Bütün hastalara hastaneye başvurdıkları sırada beyin BT ve tıkalı damarı göstermek amacıyla beyin BT anjiyografi yapıldı. 3 hastadan 3. saatte serum örnekleri alınamadığı için biyobelirteçler çalışılmadı.

Tablo 4.5 : Tromboliz uygulanan hastaların demografik özellikleri, acil servise başvurdıkları sırada saptanan kan basınçları, ve NIH inme ölçeği skorları. KB : kan basıncı; NIHSS : NIH inme ölçeği skoru; HT : hipertansiyon; KAH : koroner arter hastalığı; HL : hiperlipidemi; AF : atriyal fibrilasyon

Hasta no	Yaş	Cinsiyet	Risk Faktörü	Antiagregan/Antikoagülan Kullanımı	Bazal KB mmHg	Bazal NIHSS
Hasta 1	54	E	HT/KAH/Sigara	Aspirin	125/75	13
Hasta 2	52	E	Yok	yok	100/50	17
Hasta 3	53	E	HT/KAH/Sigara	Aspirin	140/100	15
Hasta 4	76	E	HT/HL/AF/Sigara	Aspirin	180/90	16
Hasta 5	62	E	HT/AF	Aspirin	120/80	27
Hasta 6	72	E	HT/HL	Klopidogrel ve Aspirin	170/85	16
Hasta 7	78	K	HT/HL/AF	yok	140/80	17
Hasta 8	69	E	HT/DM/HL/Sigara	Klopidogrel ve Aspirin	175/110	29
Hasta 9	59	K	HT	yok	120/80	10
Hasta 10	83	K	HT/KAH/AF	yok	240/115	30
Hasta 11	69	E	HL/AF/Sigara	Klopidogrel ve Aspirin	175/85	20
Hasta 12	55	K	HT/AF/Sigara	Kumadin ve Aspirin	150/75	26
Hasta 13	39	K	Sigara	yok	140/110	12
Hasta 14	68	E	HT/KAH	Aspirin	110/60	16
Hasta 15	67	E	HT/HL/KAH	Klopidogrel ve Aspirin	110/70	26

15 hastanın 9'unda OSA, 5'inde baziler arter, 1'inde posterior serebral arter oklüzyonu vardı. Hastaların 9'una sadece i.v. rtPA; 1'ine sadece mekanik tromboliz, 4'üne i.v. rtPA ve mekanik tromboliz, 1'ine intraarteriyel ürokinaz ve mekanik tromboliz uygulandı (tablo 4.6). Tromboliz sonrası yaklaşık 24. saatte çekilen beyin BT'de 7 hastada kanama vardı ve bu hastalardan birisi öldü. Kanama olmayan hastalar içinde ölen olmadı.

Tablo 4.6 : Tromboliz hastalarının tıkalı damar, tromboliz yöntemi ve kanama özellikleri. OSA : orta serebral arter; PSA : posterior serebral arter; i.a. : intraarteriyel; i.v. : intravenöz

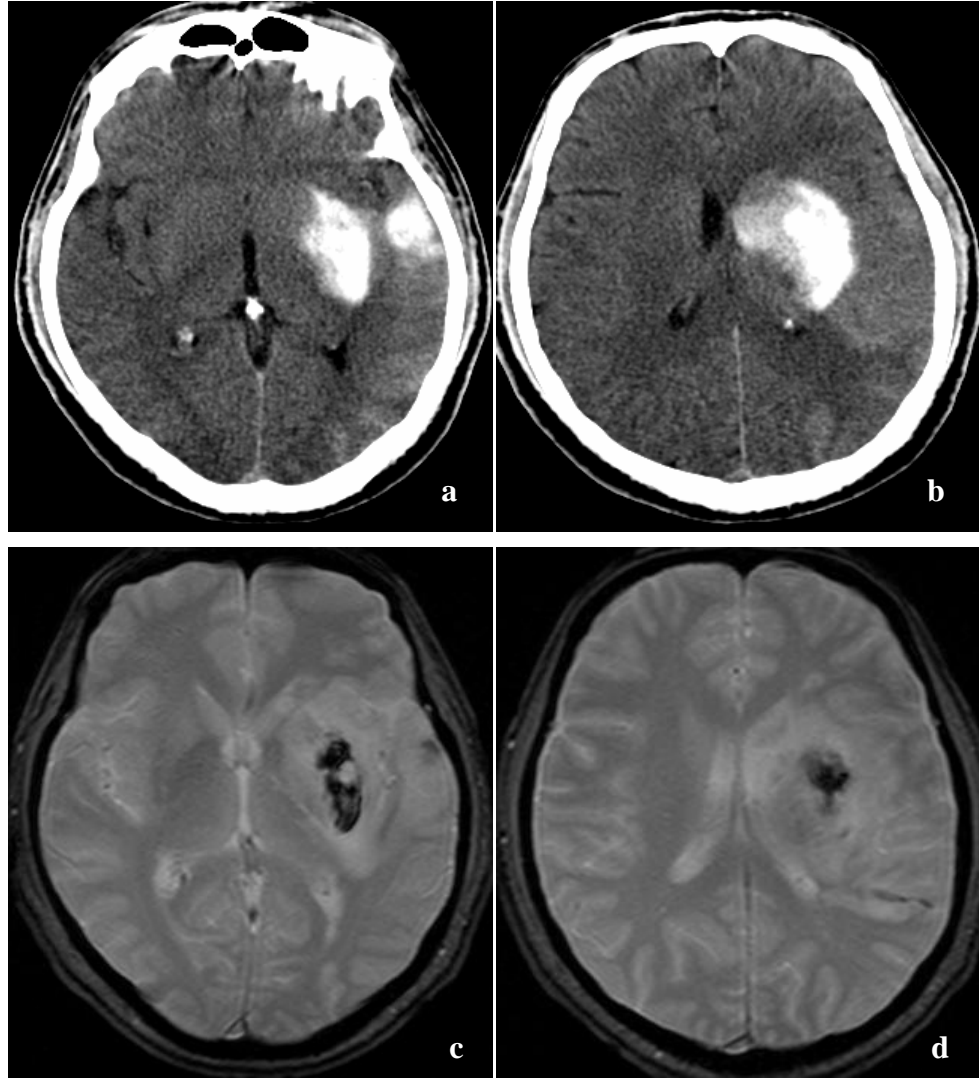
Hasta no	Tıkalı damar	Tromboliz Yöntemi	BTde Kanama	Kanama tanımlama
Hasta 1	OSA	i.v. rtPA	yok	
Hasta 2	OSA	i.v. rtPA + mekanik tromboliz	var	Bazal gangliada 3,5x1,5cm
Hasta 3	OSA	i.v. rtPA	yok	
Hasta 4	PSA	i.v. rtPA	var	PSA enfarktı içine 3,5x2,5cm
Hasta 5	Baziler	i.v. rtPA + mekanik tromboliz	yok	GRE'da ponsta milimetrik kanama
Hasta 6	OSA	i.v. rtPA	yok	
Hasta 7	OSA	i.v. rtPA + mekanik tromboliz	var	0,6x0,8cm lentiform nukleusta
Hasta 8	Baziler	i.a. ürokinaz + mekanik tromboliz	var	Subaraknoid kanama
Hasta 9	OSA	i.v. rtPA	var	3,5x3,5cm lentiform nukleusta
Hasta 10	Baziler	i.v. rtPA	var	
Hasta 11	OSA	i.v. rtPA	yok	
Hasta 12	Baziler	mekanik tromboliz	yok	
Hasta 13	OSA	i.v. rtPA + mekanik tromboliz	var	Bazal gangliada 2x1cm
Hasta 14	Baziler	i.v. rtPA	yok	
Hasta 15	OSA	i.v. rtPA	yok	

Endovasküler yöntemle ve intraarteriyel tromboliz uygulanan 6 hastanın 5'inde işlem sonrası çekilen BT'de kontrast ekstravazasyonu olduğu (şekil 4.3 ve 4.4), bu 5 hastanın 4'ünde takip BT'lerde kanama geliştiği gözlemlendi. BT'sinde kontrast ekstravazasyonunun olmadığı hastada kanama izlenmedi.

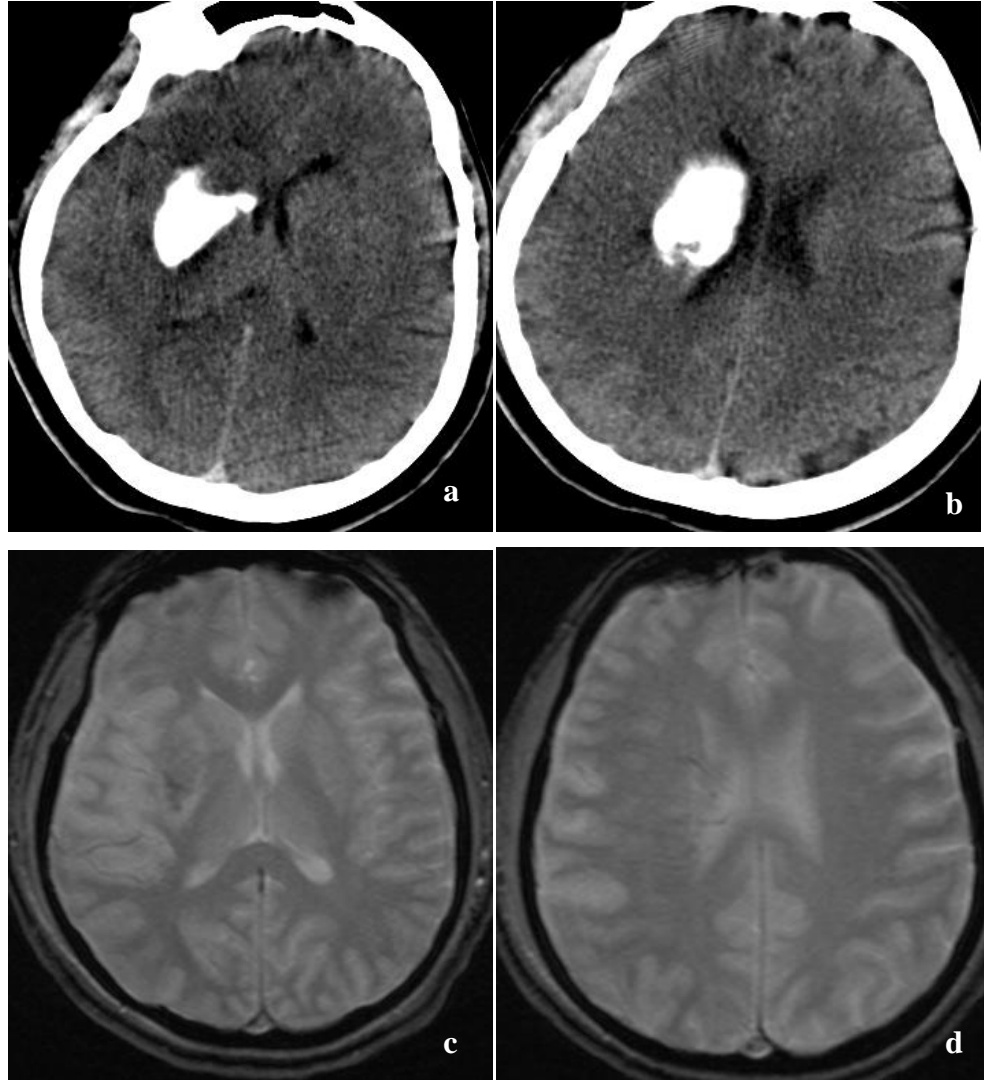
Tromboliz grubu hastalarının serum biyobelirteç özellikleri ve reperfüzyon hasarının klinik ve radyolojik özellikleri tablo 4.7'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7 : Reperfüzyon hasarının klinik, radyolojik ve serum biyobelirteç özellikleri. MMP-9, MMP-2 aktivitelerinin ve 3-nitrotirozin düzeylerinin zamansal yüzde farkları gösterilmiştir. BT’de kontrastlanma : Endovasküler yöntemle ve intraarteriyel tromboliz uygulanan hastaların işleminden sonra çekilen beyin BT’lerinde kontrast ekstrasvazyon varlığı; Başlangıç-tromboliz süresi; hastanın şikayetleri başladıktan sonra hastaya tromboliz yapıncaya kadar geçen süre; NIHSS : NIH inme ölçęęi skoru; 3NT : 3-Nitrotirozin

						MMP-9		MMP-2		3-NT	
Hasta no	Bazal NIHSS	taburculuk NIHSS	Başlangıç-tromboliz süresi	BT'de kontrastlanma	BTde kanama	3.st-bazal	24.st-bazal	3.st-bazal	24.st-bazal	3.st-bazal	24.st-bazal
Hasta 1	13	6	115 dak		yok	5	11	-6	-44	-16	-6
Hasta 2	17	18	95 dak	VAR	VAR	77	40	41	-26	87	66
Hasta 3	15	7	165 dak		yok	199	91	7	-36	2	-26
Hasta 4	16	13	210 dak		VAR	0	44	-27	7	-37	-7
Hasta 5	27	23	175 dak	VAR	yok	5	9	34	5	254	570
Hasta 6	16	2	120 dak		yok						
Hasta 7	17	4	150 dak	VAR	VAR	-10	1	-17	-24	55	12
Hasta 8	29	exitus	210 dak	VAR	VAR	-8	48	-44	-15	70	65
Hasta 9	10	4	110 dak		VAR						
Hasta 10	30	15	190 dak		VAR						
Hasta 11	20	2	110 dak		yok	42	5	2	-38	-28	37
Hasta 12	26	2	210 dak	YOK	yok	117	127	28	35	155	-13
Hasta 13	12	7	135 dak	VAR	VAR	125	77	0	15	-22	-44
Hasta 14	16	2	150 dak		yok	22	23	1	39	12	-20
Hasta 15	26	6	100 dak		yok	40	55	-2	26	-10	96



Şekil 4.3 : Hasta-2'nin işlemden yaklaşık 4 saat sonra çekilen beyin BT'de yoğun kontrastlanma izlendi (a-b). İşlemden 2 gün sonra çekilen MRG GRE sekansında kanamanın görünüşü (c-d).



Şekil 4.4 : Hasta-13'ün mekanik trombolizden hemen sonra çekilen beyin BT görüntüleri (a-b); BT'den 7 saat sonra çekilen GRE sekans MR görüntüleri (c-d)

4.3 Serum Biyobelirteçlerinin Analizi

Serum biyobelirteçleri bazal değerleri %100 olacak şekilde normalize edildi. MMP-9 aktivitelerinde tromboliz grubunda bazale göre zaman içinde anlamlı yükselme saptandı ($F=7,134$, $p=0,004$, tekrarlayan ölçümlerde ANOVA). İkili karşılaştırmalar yapılmış hem 180 dakika hem de 24 saat sonunda MMP-9 aktivitesinin anlamlı olarak artmış olduğu belirlendi. (Wilcoxon sign-for dependent, z test): bazal-3.saat ($p=0,039$; $p=0,021$), bazal-24 saat ($p=0,001$ $p=0,002$) ve 3.saat-24 saat ($p=0,388$ $p=0,590$). (İlk “p” değeri nonparametrik Wilcoxon ve ikincisi t-testi, bağımlı örneklerde) (Şekil 4.5 ve şekil 4.6).

Stent grubunda da MMP-9 aktivitesinin bazale göre zaman içinde arttığı belirlendi. İkili karşılaştırmalar ile bakıldığında MMP-9 aktivitesinin 1. saatte yükseldiği ve 24 saat boyunca yüksek kaldığı gözlemlendi: ($F=4,418$, $p=0,013$ tekrarlayan ölçümlerde ANOVA). bazal-1. saat ($p=0,002$; $p=0,004$); bazal-3.saat ($p=0,150$; $p=0,059$), bazal-24 saat ($p=0,015$; $p=0,007$); 1.saat-3.saat ($p=0,325$; $p=0,707$), 1.saat-24. saat ($p=0,883$; $p=0,646$) ve 3.saat-24 saat ($p=0,443$ $p=0,283$). (İlk “p” değeri nonparametrik Wilcoxon ve ikincisi t-testi, bağımlı örneklerde) (şekil 4.5 ve şekil 4.7)

MMP-2 aktiviteleri tromboliz grubunda zaman içinde farklılık göstermedi ($F=0,172$, $p=0,8444$ tekrarlayan ölçümlerde ANOVA). İkili karşılaştırmalarda da farksız idi: bazal-3.saat ($p=0,774$; $p=0,834$), bazal-24 saat ($p=1$; $p=0,597$) ve 3.saat-24 saat ($p=1$; $p=0,564$). (İlk “p” değeri nonparametrik Wilcoxon ve ikincisi t-testi, bağımlı örneklerde) (şekil 4.8 ve 4.9).

Stent grubunda da MMP-2 aktivitelerinde zamansal farklılık saptanmadı ($F=0,949$, $p=0,433$ tekrarlayan ölçümlerde ANOVA). İkili karşılaştırmalarda da fark görülmedi: bazal-1.saat ($p=0,891$; $p=0,539$); bazal-3.saat ($p=0,940$; $p=0,703$), bazal-24 saat ($p=0,417$; $p=0,131$); 1.saat-3.saat ($p=0,970$; $p=0,993$), 1.saat-24 saat ($p=0,124$; $p=0,220$) ve 3.saat-24 saat ($p=0,074$; $p=0,136$). (İlk “p” değeri nonparametrik Wilcoxon ve ikincisi t-testi, bağımlı örneklerde) (şekil 4.8 ve 4.10).

3-nitrotirozin düzeylerinde tromboliz grubunda zaman içinde istatistiksel düzeyde anlamlı değişiklik görülmedi: ($F=0,172$, $p=0,844$ tekrarlayan ölçümlerde ANOVA). İkili karşılaştırmalarda da fark bulunmadı: Bazal-3.saat ($p=0,774$; $p=0,834$), bazal-24 saat ($p=1$; $p=0,597$) ve 3.saat-24 saat ($p=1$; $p=0,564$). (İlk “p” değeri nonparametrik Wilcoxon ve ikincisi t-testi, bağımlı örneklerde). Analiz Friedman metodu ile yapıldığında da fark saptanmadı ($Ki-kare=0,5$, $p=0,779$). Burada özellikle 1. ve 3. saatte olan ölçüm yapılamayan hastaların sayısının çokluğu (sırasıyla 7 hasta ve 3 hasta) da rol oynamış olabilir. Çünkü eğer 3. ve 24. saatlerde en az bir ölçümü bulunan hastalarda maksimum değerler alınarak analiz tekrar edilirse (Paired-t test; $t=-2,097$ ve $p=0,055$) artış yönünde trend olduğu görülmektedir. Bu eğilim en iyi değerlerin grafiksel ifadesinde dikkati çekmektedir (Şekil 4.11 ve şekil 4.12)).

Stent grubunda da 3-nitrotirozin düzeyleri dağılım aralığı geniş olduğu için tercih edilen Friedman yöntemi ile ANOVA sonucu bazale göre işlem sonrası artış olduğu ve bunu 24 saat yüksek kaldığı belirlendi ($Ki-kare: 12,24$, $p=0,007$). Aynı sonuç tekrarlayan ölçümlerde ANOVA ile de elde edilebilmekteydi ($F=8,018$, $p=0,008$). İkili karşılaştırmalarda değerlerin işlem sonrası ilk ölçümde yükseldiğı hemen hemen ilk 24 saat boyunca yükselmiş olarak kaldığı saptandı (şekil 4.11 ve 4.13): Bazal-1.saat ($p=0,057$; $p=0,012$); bazal-3.saat ($p=0,008$; $p=0,007$), bazal-24 saat ($p=0,001$; $p=0,002$); 1.saat-3.saat ($p=0,614$; $p=0,939$), 1.saat-24 saat ($p=0,704$; $p=0,440$) ve 3.saat-24 saat ($p=0,411$, $p=0,312$). (İlk “p” değeri nonparametrik Wilcoxon ve ikincisi t-testi, bağımlı örneklerde)

Tromboliz grubunda tedavi sonrası BT’de kontrastlanma ve/veya erken dönemde (36 saat) kanama olan ve olmayan hastalar arasında MMP-9, MMP-2 aktivitelerinde ve 3-nitrotirozin düzeylerindeki değişikliklerde anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu alt grup analizi için hasta sayısının kısıtlılığının önemli olduğu görülmektedir (konstastlanma ve/veya kanama olanların sayısı 8 ve olmayanlar 7 hasta). (Tablo 4.7 ve 4.9).

Stent grubunda hiperperfüzyon ve/veya HARM’da kontrastlanma olan (sırasıyla 13 ve 4 hasta) ve olmayan hastalar kıyaslandığında MMP-9, MMP-2 aktivite ve 3-

nitrotirozinin düzeylerindeki değişikliklerde anlamlı bir farklılık görülmemiştir. (Tablo 4.4 ve 4.10)

Tablo 4.8 : Stent ve tromboliz gruplarının serum biyobelirteçlerinin ortalama değerleri. Serum biyobelirteçlerinin bazal değerleri %100 olacak şekilde normalize edilmiştir. Bazal, 1., 3. ve 24 saatteki değerlerin ortalamaları ve standart hata değerleri gösterilmiştir.

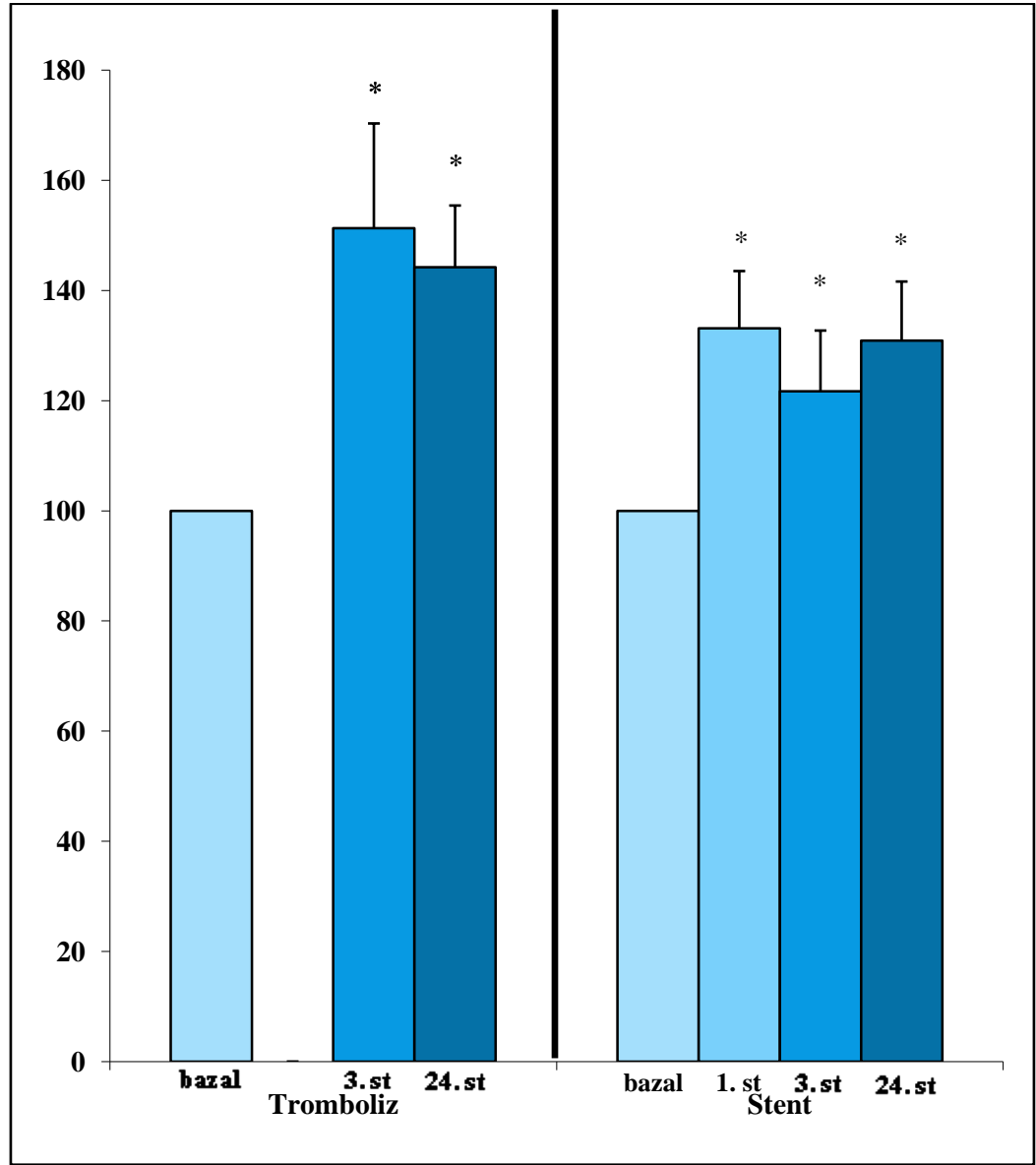
	Tromboliz Grubu	Stent Grubu
MMP-9		
Bazal	100	100
60 dak		133,1±10,4
180 dak	151,3±19,0	121,7±11,0
24 saat	144,2±11,2	130,9±10,7
MMP2		
Bazal	100	100
60 dak		104,8±7,8
180 dak	101,5±7,1	103,9±9,3
24 saat	95,4±8,5	116,3±10,5
3-Nitrotirozin		
Bazal	100	100
60 dak		143,6±17,4
180 dak	143,7±25,3	141,3±12,9
24 saat	160,7±47,9	149,3±14,9

Tablo 4.9 : Tromboliz grubunda BT’de kontrastlanmanın ve ilk 36 saatte BT’de kanamanın birincil sonlanım olarak değerlendirildiği alt grup analizinin gösterildiği tablo. MMP-9, MMP-2 ve 3-nitrotirozinin farklı zamanlardaki ortalama değerleri gösterilmiştir.

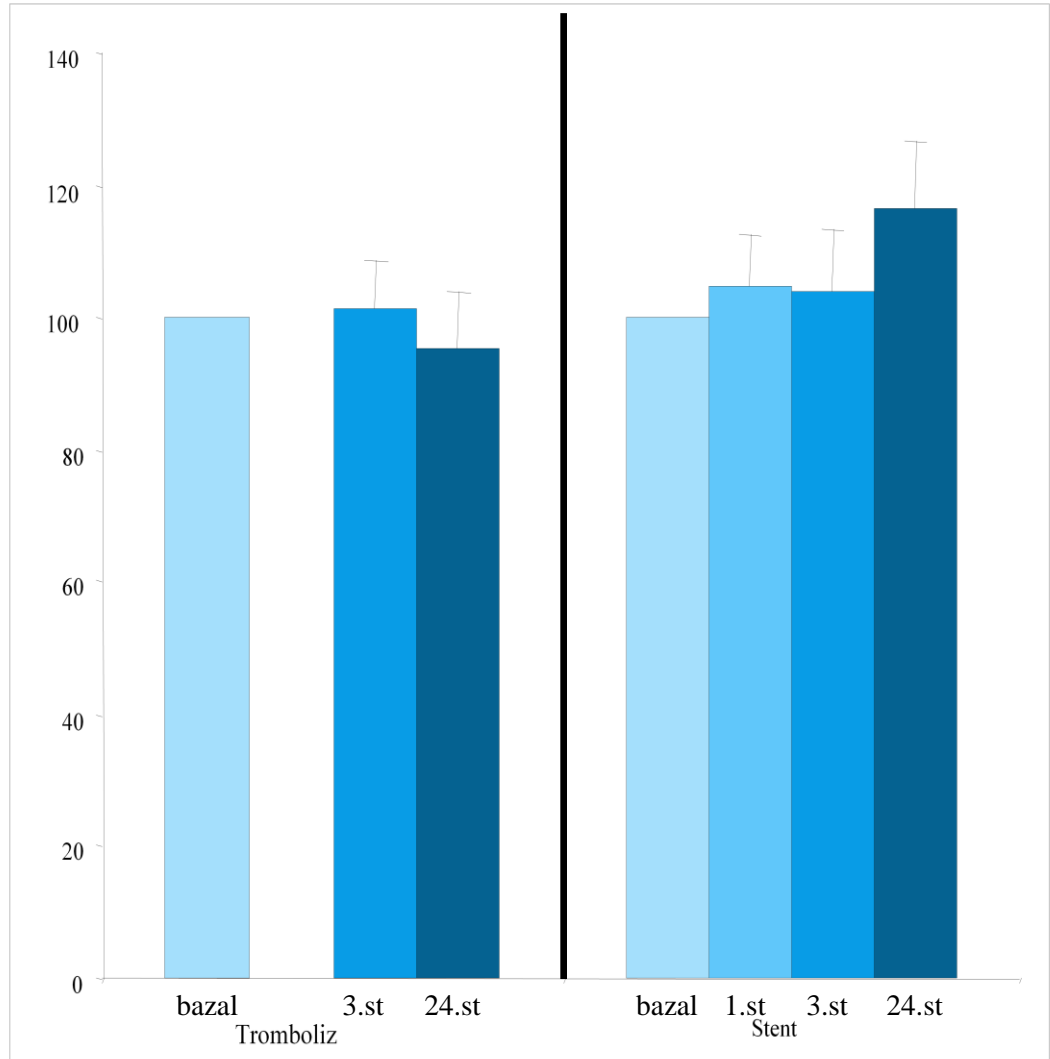
MMP-9	Birincil Sonlanım	
	Var	Yok
Bazal	100	100
180. dakika	136,9±27,4	161,7±27,1
24. saat	142,1±12,1	145,7±17,9
MMP-2		
Bazal	100	100
180. dakika	90,8±14,5	109,2±5,9
24. saat	91,4±8,3	98,1±13,8
3-Nitrotirozin		
Bazal	100	100
180. dakika	130,7±25,1	152,9±40,9
24. saat	131,8±25,5	191,0±81,5

Tablo 4.10 : Stent grubunda hiperperfüzyon ve HARM'da kontrastlanmanın birincil sonlanım olarak değerlendirildiği alt grup analizinin gösterildiği tablo. MMP-9, MMP-2 ve 3-nitrotirozinin farklı zamanlardaki ortalama değerleri.

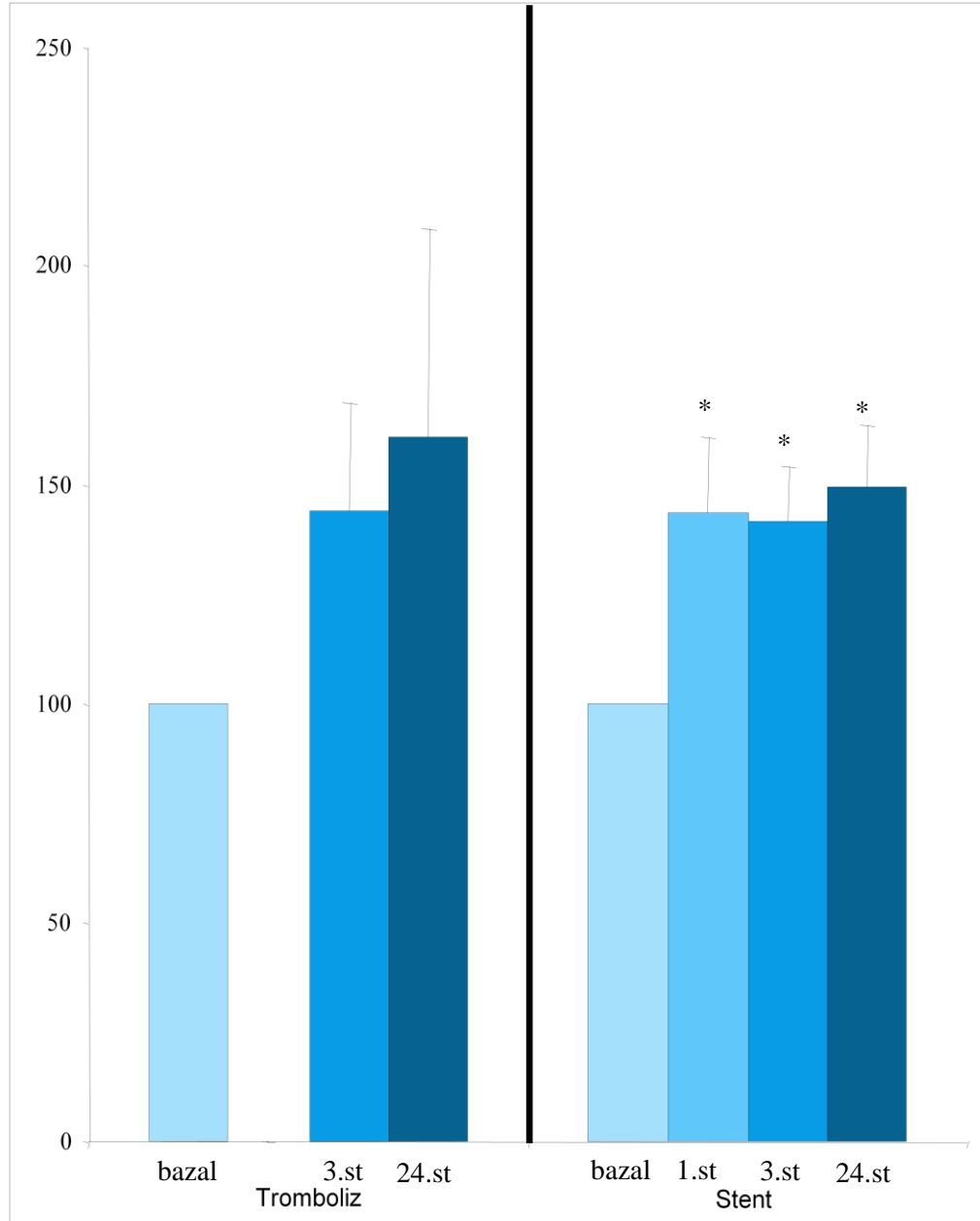
	Birincil Sonlanım	
	Var	Yok
MMP-9		
Bazal	100	100
60. dakika	145,3±17,7	122,5±11,8
180. dakika	128,4±18,8	116,2±13,2
24. saat	148,4±19,1	116,8±10,9
MMP-2		
Bazal	100	100
60. dakika	112,2±13,4	98,5±8,9
180. dakika	101,0±12,9	105,7±13,6
24. saat	114,4±13,2	118,0±16,3
3-Nitrotirozin		
Bazal	100	100
60. dakika	136,4±15,2	150,6±27,2
180. dakika	138,1±14,6	135,7±19,8
24. saat	154,8±17,0	141,6±21,7



Şekil 4.5 : Tromboliz ve stent hastalarında MMP-9 aktivitesinin bazale kıyasla 1., 3., ve 24. saatlerdeki değişiminin sütun grafikte gösterildiği şekil



Şekil 4.6 : Tromboliz ve stent hastalarında MMP-2 aktivitesinin bazale kıyasla 1., 3., ve 24. saatlerdeki değişiminin sütun grafikte gösterildiği şekil



Şekil 4.7 : Tromboliz ve stent hastalarında 3-nitrotirozin düzeylerinin bazale kıyasla 1., 3., ve 24. saatlerdeki değişiminin sütun grafikte gösterildiği şekil

TARTIŞMA

İnsanlarda serebral reperfüzyon hasarının patofizyolojisini aydınlatmak ve kan beyin bariyeri geçirgenliğindeki bozulmayı yansıtan kolayca ölçülebilen belirteçleri saptamak, hastaları reperfüzyon sonrasında takip etmekte klinisyene yardımcı olacağı gibi bu hasarı önlemeye yarayacak nöroprotektif ilaç çalışmalarına da ışık tutacaktır.

Serebral reperfüzyon ve reperfüzyon hasarı pek çok deneysel çalışma ile incelenmiştir. Hayvan çalışmalarında reperfüzyonun oksidatif ve nitratif strese yol açtığı, MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir (54,59). Deneysel olarak gerek oksidatif/nitratif stresin gerek MMP-9'un inhibisyonunun reperfüzyon hasarını azalttığı ve nöroproteksiyon sağladığı saptanmıştır (62,65-66). Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada ise sıçanlarda iskemi sırasında periferik kandaki ve beyindeki MMP-9 aktivitesi artışlarının uyumlu olduğu gösterilmiştir (78).

Literatürde oksidatif/nitratif stres ve MMP aktivasyonunun reperfüzyon hasarıyla ilişkisini inceleyen klinik çalışmalar ise sınırlı sayıdadır. Bu çalışmalarda MMP-2 ve MMP-9'un serum düzeyleri ölçülerek, bu düzeylerdeki artışın reperfüzyon hasarı, serebral hemorajik transformasyon, enfarkt alanının büyüklüğü ve klinik kötüleşmeyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür (63,71). Ancak bu çalışmalarda MMP artışının protein düzeyinde saptanmış olması nedeniyle MMP aktivitesi değil protein indüksiyonu gösterilmiştir. Dolayısıyla bu bulgu kan beyin bariyeri zedelenmesini başlatan MMP aktivitesi ile ancak dolaylı olarak ilişkilendirilebilir.

Literatürde serebral reperfüzyon sırasında serumda MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerinin incelendiği ve bu aktivitelere eşlik eden peroksinitrit oluşumunun araştırıldığı insan çalışması bulunmamaktadır. Bizim çalışmamız insanlarda serebral rekanalizasyon ve reperfüzyon hasarının klinik ve radyolojik göstergelerine eşlik eden MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerinin ve beraberinde peroksinitrit oluşumunun araştırıldığı ilk çalışmadır.

Çalışmamızda serebral reperfüzyonla plazmada MMP-9 aktivitesi ve peroksinitritin *in-vivo* belirteci olan 3-nitrotirozin artışı olduğu, MMP-2 aktivitesinde ise anlamlı bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. MMP-9 aktivitesinin ve 3-nitrotirozinin artışının reperfüzyon hasarının klinik ve radyolojik olarak saptandığı hastalarda daha belirgin olduğu gözlemlendi ancak bu veriyi daha sağlıklı değerlendirmek için tromboliz grubu hasta sayısının artırılması gereklidir. Bu bulgular insanlarda da deney hayvanlarında saptandığı gibi oksidatif/nitratif stresin ve MMP-9 aktivasyonunun patofizyolojiye eşlik ettiğine işaret etmektedir.

Tromboliz grubunda olduğu gibi stent grubunda da MMP-9 aktivasyonunun görülmesi, bu artışın rtPA'nın periferik kandaki proteolitik etkisinden bağımsız olarak doğrudan serebral reperfüzyonla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

MMP-9 aktivitesinde ve peroksinitrit düzeyindeki artış literatürdeki deneysel ve klinik çalışmalarla uyumlu olmakla beraber; rodentlerde izlenen MMP-2 aktivitesi artışının bizim çalışmamızda görülmemiş olması MMP-2'nin insanlardaki patofizyolojideki yeri ile ilgili şüphe yaratmaktadır. Bu durum iki farklı şekilde açıklanabilir; insan beynindeki sınırlı MMP-2 aktivasyonu periferik kana yansımıyor olabilir; veya daha önceki yayınlarda belirtildiği gibi rodentler ve primatlar arasındaki MMP-2 aktivasyonunun farklılığına benzer şekilde (79-80) insanlarda reperfüzyon sırasında serebral MMP-2 aktivasyonu görülmüyor olabilir.

Endovasküler tromboliz uygulanmasının ardından BT'de kontrast ekstravazasyonunun sıklıkla serebral kanamaya eşlik etmesi, bu durumun reperfüzyon hasarının erken bir radyolojik göstergesi olduğuna işaret etmektedir. Bu çalışmada BT'de kontrast ekstravazasyonunun olduğu hastalarda erken dönemdeki 3-nitrotirozin artışının daha belirgin olduğu görülmüştür ancak bu bulguyu desteklemek için hasta sayısının artırılması gerekmektedir. kan beyin bariyeri geçirgenliğindeki bozulmayı göstermek amacıyla son dönemde uygulanmaya başlanan HARM'ın güvenilirliği ile ilgili henüz yeterli sayıda çalışma mevcut değildir (75-76). Bizim çalışmamızda HARM verileriyle serum biyobelirteçleri arasında sıkı bir ilişki bulunamamıştır.

Tromboliz grubunda sadece rekanalizasyon görülen hastaların alınmış olması ve bu grupta hasta sayısının az olması bu çalışmanın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır. İleride tromboliz grubunda rtPA verilen ancak rekanalizasyonun ve reperfüzyonun olmadığı hastaların da dahil edilmesi rtPA'nın reperfüzyondan bağımsız olarak MMP-9 aktivitesi ve 3-nitrotirozin düzeyleri üzerindeki etkilerini göstermekte yardımcı olacaktır.

Literatürde ilk defa insanlarda serebral rekanalizasyon ve reperfüzyon hasarı sırasında MMP-9 aktivitesinde ve peroksinitrit düzeyinde artışı birlikte gösteren bu çalışmanın yukarıda bahsedilen kısıtlılıklar giderilerek sürdürülmesi, hem nöroproteksiyon çalışmaları açısından yol gösterici hem de hastaların klinik takibinde yardımcı olabilir.

SONUÇLAR

- 1) Akut iskemik inmeyle başvuran ve tromboliz ile rekanalizasyon sağlanan hastalarda klinik ve görüntüleme yöntemleri ile reperfüzyon hasarının göstergesi olan serebral kanama 15 hastanın 7'sinde gözlemlendi.
- 2) Tromboliz yapılan hastalarda reperfüzyona ve reperfüzyon hasarına eşlik eden MMP-9 aktivitesinde artış ve 3-nitrotirozin düzeyinde ise artış eğilimi saptandı.
- 3) Tromboliz grubu hastalarında reperfüzyona MMP-2 aktivitesi değişikliğinin eşlik etmediği belirlendi.
- 4) Semptomatik arter stenozunda serebral hipoperfüzyonu olduğu dökümente edilen ve rekanalizasyon yapılan stent grubu hastalarından 37 hastanın 15'inde işlem sonrasında hiperperfüzyon gelişimi gösterildi.
- 5) Stent grubunda HARM ile değerlendirilen 30 hastanın 6'sında kan beyin bariyeri geçirgenliğinin bozulmasını gösteren kontrast geçişi gözlemlendi.
- 6) Stent grubu hastalarında da işlem sonrası MMP-9 aktivitesinde ve 3-nitrotirozin düzeyinde anlamlı artış saptandı.
- 7) Stent grubu hastalarında MMP-2 aktivitesinde değişiklik olmadığı belirlendi.
- 8) Deneysel çalışmalarda olduğu gibi hastalarda da reperfüzyon oksidatif/nitratif strese ve MMP-9 aktivasyonuna yol açmaktadır fakat periferik kandaki bu bulgular kan beyin bariyeri hasarının radyolojik bulgularıyla güçlü bir ilişki göstermemektedir.
- 9) Bu çalışmada serebral reperfüzyonla plazmada MMP-9 aktivitesi ve 3-nitrotirozin düzeyi artışı olduğu, MMP-2 aktivitesinde ise anlamlı bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir.

REFERANSLAR

1. Truelsens, T., Ekman, M., Boysen, G. (2005) Cost of stroke in Europe. *Eur J Neurol*, 12 Suppl 1, 78-84.
2. Wahlgren, N., Ahmed, N., Davalos, A., Ford, G.A., Grond, M., Hacke, W. ve diğeri. (2007) Thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke in the Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST): an observational study. *Lancet*, 369 (9558), 275-282.
3. Thomalla, G., Sobesky, J., Kohrmann, M., Fiebach, J.B., Fiehler, J., Zaro Weber, O. ve diğeri. (2007) Two tales: hemorrhagic transformation but not parenchymal hemorrhage after thrombolysis is related to severity and duration of ischemia: MRI study of acute stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator within 6 hours. *Stroke*, 38 (2), 313-318.
4. Trouillas, P., von Kummer, R. (2006) Classification and pathogenesis of cerebral hemorrhages after thrombolysis in ischemic stroke. *Stroke*, 37 (2), 556-561.
5. Derex, L., Hermier, M., Adeleine, P., Pialat, J.B., Wiart, M., Berthezene, Y. ve diğeri. (2005) Clinical and imaging predictors of intracerebral haemorrhage in stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 76 (1), 70-75.
6. Wang, Q., Tang, X.N., Yenari, M.A. (2007) The inflammatory response in stroke. *J Neuroimmunol*, 184 (1-2), 53-68.
7. Park, S.Y., Lee, J.H., Kim, C.D., Rhim, B.Y., Hong, K.W., Lee, W.S. (2007) Beneficial synergistic effects of concurrent treatment with cilostazol and probucol against focal cerebral ischemic injury in rats. *Brain Res*, 1157, 112-120.
8. Gursoy-Ozdemir, Y., Bolay, H., Saribas, O., Dalkara, T. (2000) Role of endothelial nitric oxide generation and peroxynitrite formation in reperfusion injury after focal cerebral ischemia. *Stroke*, 31 (8), 1974-1980; discussion 1981.
9. Rowland, L.P., Merritt, H.H. (2005). Merritt's neurology (11th bs.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
10. Neurology in clinical practice Texte imprimé with 120 contrib. authors (4th ed. bs.). (2004). Philadelphia: Butterworth-Heinemann.
11. Goldstein, L.B., Adams, R., Alberts, M.J., Appel, L.J., Brass, L.M., Bushnell, C.D. ve diğeri. (2006) 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. *Circulation*, 113 (24), e873-923.
12. Donnan, G.A., Fisher, M., Macleod, M., Davis, S.M. (2008) Stroke. *Lancet*, 371 (9624), 1612-1623.
13. Lo, E.H., Dalkara, T., Moskowitz, M.A. (2003) Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat Rev Neurosci*, 4 (5), 399-415.

- 14.Lo, E.H. (2008) A new penumbra: transitioning from injury into repair after stroke. *Nat Med*, 14 (5), 497-500.
- 15.Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. (1995) *N Engl J Med*, 333 (24), 1581-1587.
- 16.Hacke, W., Kaste, M., Bluhmki, E., Brozman, M., Davalos, A., Guidetti, D. ve diğerleri. (2008) Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke. *N Engl J Med*, 359 (13), 1317-1329.
- 17.Hacke, W., Donnan, G., Fieschi, C., Kaste, M., von Kummer, R., Broderick, J.P. ve diğerleri. (2004) Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials. *Lancet*, 363 (9411), 768-774.
- 18.Adams, H., Adams, R., Del Zoppo, G.,Goldstein, L.B. (2005) Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: 2005 guidelines update a scientific statement from the Stroke Council of the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 36 (4), 916-923.
- 19.Hacke, W., Kaste, M., Fieschi, C., von Kummer, R., Davalos, A., Meier, D. ve diğerleri. (1998) Randomised double-blind placebo-controlled trial of thrombolytic therapy with intravenous alteplase in acute ischaemic stroke (ECASS II). Second European-Australasian Acute Stroke Study Investigators. *Lancet*, 352 (9136), 1245-1251.
- 20.Marti-Fabregas, J., Bravo, Y., Cocho, D., Marti-Vilalta, J.L., Diaz-Manera, J., San Roman, L. ve diğerleri. (2007) Frequency and predictors of symptomatic intracerebral hemorrhage in patients with ischemic stroke treated with recombinant tissue plasminogen activator outside clinical trials. *Cerebrovasc Dis*, 23 (2-3), 85-90.
- 21.Lansberg, M.G., Albers, G.W.,Wijman, C.A. (2007) Symptomatic intracerebral hemorrhage following thrombolytic therapy for acute ischemic stroke: a review of the risk factors. *Cerebrovasc Dis*, 24 (1), 1-10.
- 22.Bluhmki, E., Chamorro, A., Davalos, A., Machnig, T., Sauce, C., Wahlgren, N. ve diğerleri. (2009) Stroke treatment with alteplase given 3.0-4.5 h after onset of acute ischaemic stroke (ECASS III): additional outcomes and subgroup analysis of a randomised controlled trial. *Lancet Neurol*, 8 (12), 1095-1102.
- 23.Larrue, V., von Kummer, R.R., Muller, A.,Bluhmki, E. (2001) Risk factors for severe hemorrhagic transformation in ischemic stroke patients treated with recombinant tissue plasminogen activator: a secondary analysis of the European-Australasian Acute Stroke Study (ECASS II). *Stroke*, 32 (2), 438-441.
- 24.Nedeltchev, K., Fischer, U., Arnold, M., Ballinari, P., Haefeli, T., Kappeler, L. ve diğerleri. (2006) Long-term effect of intra-arterial thrombolysis in stroke. *Stroke*, 37 (12), 3002-3007.
- 25.Wang, X., Tsuji, K., Lee, S.R., Ning, M., Furie, K.L., Buchan, A.M. ve diğerleri. (2004) Mechanisms of hemorrhagic transformation after tissue plasminogen activator reperfusion therapy for ischemic stroke. *Stroke*, 35 (11 Suppl 1), 2726-2730.

26. Pfefferkorn, T., Rosenberg, G.A. (2003) Closure of the blood-brain barrier by matrix metalloproteinase inhibition reduces rtPA-mediated mortality in cerebral ischemia with delayed reperfusion. *Stroke*, 34 (8), 2025-2030.
27. Kaur, J., Zhao, Z., Klein, G.M., Lo, E.H., Buchan, A.M. (2004) The neurotoxicity of tissue plasminogen activator? *J Cereb Blood Flow Metab*, 24 (9), 945-963.
28. Ning, M., Furie, K.L., Koroshetz, W.J., Lee, H., Barron, M., Lederer, M. ve diğ erleri. (2006) Association between tPA therapy and raised early matrix metalloproteinase-9 in acute stroke. *Neurology*, 66 (10), 1550-1555.
29. Yepes, M., Roussel, B.D., Ali, C., Vivien, D. (2009) Tissue-type plasminogen activator in the ischemic brain: more than a thrombolytic. *Trends Neurosci*, 32 (1), 48-55.
30. Meschia, J.F., Brott, T.G., Hobson, R.W., 2nd. (2007) Diagnosis and invasive management of carotid atherosclerotic stenosis. *Mayo Clin Proc*, 82 (7), 851-858.
31. Rothwell, P.M., Eliasziw, M., Gutnikov, S.A., Fox, A.J., Taylor, D.W., Mayberg, M.R. ve diğ erleri. (2003) Analysis of pooled data from the randomised controlled trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis. *Lancet*, 361 (9352), 107-116.
32. Ederle, J., Brown, M.M. (2009) Vascular intervention in stroke prevention: endarterectomy and angioplasty. *Cerebrovasc Dis*, 27 Suppl 1, 134-139.
33. Coward, L.J., Featherstone, R.L., Brown, M.M. (2005) Safety and efficacy of endovascular treatment of carotid artery stenosis compared with carotid endarterectomy: a Cochrane systematic review of the randomized evidence. *Stroke*, 36 (4), 905-911.
34. Endovascular versus surgical treatment in patients with carotid stenosis in the Carotid and Vertebral Artery Transluminal Angioplasty Study (CAVATAS): a randomised trial. (2001) *Lancet*, 357 (9270), 1729-1737.
35. Schnaudigel, S., Groschel, K., Pilgram, S.M., Kastrup, A. (2008) New brain lesions after carotid stenting versus carotid endarterectomy: a systematic review of the literature. *Stroke*, 39 (6), 1911-1919.
36. Palombo, G., Faraglia, V., Stella, N., Giugni, E., Bozzao, A., Taurino, M. (2008) Late evaluation of silent cerebral ischemia detected by diffusion-weighted MR imaging after filter-protected carotid artery stenting. *AJNR Am J Neuroradiol*, 29 (7), 1340-1343.
37. Cho, A.H., Suh, D.C., Kim, G.E., Kim, J.S., Lee, D.H., Kwon, S.U. ve diğ erleri. (2009) MRI evidence of reperfusion injury associated with neurological deficits after carotid revascularization procedures. *Eur J Neurol*, 16 (9), 1066-1069.
38. van Mook, W.N., Rennenberg, R.J., Schurink, G.W., van Oostenbrugge, R.J., Mess, W.H., Hofman, P.A. ve diğ erleri. (2005) Cerebral hyperperfusion syndrome. *Lancet Neurol*, 4 (12), 877-888.
39. Tseng, Y.C., Hsu, H.L., Lee, T.H., Hsieh, I.C., Chen, C.J. (2009) Prediction of cerebral hyperperfusion syndrome after carotid stenting: a cerebral perfusion computed tomography study. *J Comput Assist Tomogr*, 33 (4), 540-545.
40. Medel, R., Crowley, R.W., Dumont, A.S. (2009) Hyperperfusion syndrome following endovascular cerebral revascularization. *Neurosurg Focus*, 26 (3), E4.

41. Warner, D.S., Sheng, H., Batinic-Haberle, I. (2004) Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol*, 207 (Pt 18), 3221-3231.
42. Jian Liu, K., Rosenberg, G.A. (2005) Matrix metalloproteinases and free radicals in cerebral ischemia. *Free Radic Biol Med*, 39 (1), 71-80.
43. Yoshida, H., Yanai, H., Namiki, Y., Fukatsu-Sasaki, K., Furutani, N., Tada, N. (2006) Neuroprotective effects of edaravone: a novel free radical scavenger in cerebrovascular injury. *CNS Drug Rev*, 12 (1), 9-20.
44. Peluffo, G., Radi, R. (2007) Biochemistry of protein tyrosine nitration in cardiovascular pathology. *Cardiovasc Res*, 75 (2), 291-302.
45. Chan, P.H. (2001) Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 21 (1), 2-14.
46. Yemisci, M., Gursoy-Ozdemir, Y., Vural, A., Can, A., Topalkara, K., Dalkara, T. (2009) Pericyte contraction induced by oxidative-nitrative stress impairs capillary reflow despite successful opening of an occluded cerebral artery. *Nat Med*, 15 (9), 1031-1037.
47. Moncada, S., Palmer, R.M., Higgs, E.A. (1988) The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension*, 12 (4), 365-372.
48. Pacher, P., Beckman, J.S., Liaudet, L. (2007) Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*, 87 (1), 315-424.
49. Li, H., Forstermann, U. (2000) Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol*, 190 (3), 244-254.
50. Andrew, P.J., Mayer, B. (1999) Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res*, 43 (3), 521-531.
51. Garthwaite, J. (2008) Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *Eur J Neurosci*, 27 (11), 2783-2802.
52. Bogousslavsky, J. (2003). Acute stroke treatment (2nd bs.). London ; New York Independence, KY: M. Dunitz ;
Distributed in the USA by Taylor & Francis.
53. Love, S. (1999) Oxidative stress in brain ischemia. *Brain Pathol*, 9 (1), 119-131.
54. Gursoy-Ozdemir, Y., Can, A., Dalkara, T. (2004) Reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to neurovascular unit after focal cerebral ischemia. *Stroke*, 35 (6), 1449-1453.
55. Grandati, M., Verrecchia, C., Revaud, M.L., Allix, M., Boulu, R.G., Plotkine, M. (1997) Calcium-independent NO-synthase activity and nitrites/nitrates production in transient focal cerebral ischaemia in mice. *Br J Pharmacol*, 122 (4), 625-630.
56. Ohta, K., Graf, R., Rosner, G., Heiss, W.D. (1997) Profiles of cortical tissue depolarization in cat focal cerebral ischemia in relation to calcium ion homeostasis and nitric oxide production. *J Cereb Blood Flow Metab*, 17 (11), 1170-1181.
57. Lo, E.H., Hara, H., Rogowska, J., Trocha, M., Pierce, A.R., Huang, P.L. ve diğerleri. (1996) Temporal correlation mapping analysis of the hemodynamic penumbra in mutant mice deficient in endothelial nitric oxide synthase gene expression. *Stroke*, 27 (8), 1381-1385.

58. Beckman, J.S. (1996) Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite. *Chem Res Toxicol*, 9 (5), 836-844.
59. Suzuki, M., Tabuchi, M., Ikeda, M., Tomita, T. (2002) Concurrent formation of peroxynitrite with the expression of inducible nitric oxide synthase in the brain during middle cerebral artery occlusion and reperfusion in rats. *Brain Res*, 951 (1), 113-120.
60. Romero, N., Denicola, A., Radi, R. (2006) Red blood cells in the metabolism of nitric oxide-derived peroxynitrite. *IUBMB Life*, 58 (10), 572-580.
61. Gross, J., Lapiere, C.M. (1962) Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 48, 1014-1022.
62. Candelario-Jalil, E., Yang, Y., Rosenberg, G.A. (2009) Diverse roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia. *Neuroscience*, 158 (3), 983-994.
63. Rosell, A., Lo, E.H. (2008) Multiphasic roles for matrix metalloproteinases after stroke. *Curr Opin Pharmacol*, 8 (1), 82-89.
64. Zhao, B.Q., Tejima, E., Lo, E.H. (2007) Neurovascular proteases in brain injury, hemorrhage and remodeling after stroke. *Stroke*, 38 (2 Suppl), 748-752.
65. Sood, R.R., Taheri, S., Candelario-Jalil, E., Estrada, E.Y., Rosenberg, G.A. (2008) Early beneficial effect of matrix metalloproteinase inhibition on blood-brain barrier permeability as measured by magnetic resonance imaging countered by impaired long-term recovery after stroke in rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 28 (2), 431-438.
66. Yang, Y., Estrada, E.Y., Thompson, J.F., Liu, W., Rosenberg, G.A. (2007) Matrix metalloproteinase-mediated disruption of tight junction proteins in cerebral vessels is reversed by synthetic matrix metalloproteinase inhibitor in focal ischemia in rat. *J Cereb Blood Flow Metab*, 27 (4), 697-709.
67. Lu, A., Clark, J.F., Broderick, J.P., Pyne-Geithman, G.J., Wagner, K.R., Ran, R. ve diğerleri. (2008) Reperfusion activates metalloproteinases that contribute to neurovascular injury. *Exp Neurol*, 210 (2), 549-559.
68. Kelly, P.J., Morrow, J.D., Ning, M., Koroshetz, W., Lo, E.H., Terry, E. ve diğerleri. (2008) Oxidative stress and matrix metalloproteinase-9 in acute ischemic stroke: the Biomarker Evaluation for Antioxidant Therapies in Stroke (BEAT-Stroke) study. *Stroke*, 39 (1), 100-104.
69. Rosell, A., Ortega-Aznar, A., Alvarez-Sabin, J., Fernandez-Cadenas, I., Ribo, M., Molina, C.A. ve diğerleri. (2006) Increased brain expression of matrix metalloproteinase-9 after ischemic and hemorrhagic human stroke. *Stroke*, 37 (6), 1399-1406.
70. Montaner, J., Molina, C.A., Monasterio, J., Abilleira, S., Arenillas, J.F., Ribo, M. ve diğerleri. (2003) Matrix metalloproteinase-9 pretreatment level predicts intracranial hemorrhagic complications after thrombolysis in human stroke. *Circulation*, 107 (4), 598-603.
71. Montaner, J., Alvarez-Sabin, J., Molina, C., Angles, A., Abilleira, S., Arenillas, J. ve diğerleri. (2001) Matrix metalloproteinase expression after human cardioembolic stroke: temporal profile and relation to neurological impairment. *Stroke*, 32 (8), 1759-1766.

72. Rosell, A., Alvarez-Sabin, J., Arenillas, J.F., Rovira, A., Delgado, P., Fernandez-Cadenas, I. ve diğerleri. (2005) A matrix metalloproteinase protein array reveals a strong relation between MMP-9 and MMP-13 with diffusion-weighted image lesion increase in human stroke. *Stroke*, 36 (7), 1415-1420.
73. Wang, X., Lee, S.R., Arai, K., Tsuji, K., Rebeck, G.W., Lo, E.H. (2003) Lipoprotein receptor-mediated induction of matrix metalloproteinase by tissue plasminogen activator. *Nat Med*, 9 (10), 1313-1317.
74. Larsen, P.H., Wells, J.E., Stallcup, W.B., Opendakker, G., Yong, V.W. (2003) Matrix metalloproteinase-9 facilitates remyelination in part by processing the inhibitory NG2 proteoglycan. *J Neurosci*, 23 (35), 11127-11135.
75. Latour, L.L., Kang, D.W., Ezzeddine, M.A., Chalela, J.A., Warach, S. (2004) Early blood-brain barrier disruption in human focal brain ischemia. *Ann Neurol*, 56 (4), 468-477.
76. Warach, S., Latour, L.L. (2004) Evidence of reperfusion injury, exacerbated by thrombolytic therapy, in human focal brain ischemia using a novel imaging marker of early blood-brain barrier disruption. *Stroke*, 35 (11 Suppl 1), 2659-2661.
77. Snoek-van Beurden, P.A., Von den Hoff, J.W. (2005) Zymographic techniques for the analysis of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Biotechniques*, 38 (1), 73-83.
78. Park, K.P., Rosell, A., Foerch, C., Xing, C., Kim, W.J., Lee, S. ve diğerleri. (2009) Plasma and brain matrix metalloproteinase-9 after acute focal cerebral ischemia in rats. *Stroke*, 40 (8), 2836-2842.
79. Chang, D.I., Hosomi, N., Lucero, J., Heo, J.H., Abumiya, T., Mazar, A.P. ve diğerleri. (2003) Activation systems for latent matrix metalloproteinase-2 are upregulated immediately after focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 23 (12), 1408-1419.
80. Hosomi, N., Lucero, J., Heo, J.H., Koziol, J.A., Copeland, B.R., del Zoppo, G.J. (2001) Rapid differential endogenous plasminogen activator expression after acute middle cerebral artery occlusion. *Stroke*, 32 (6), 1341-1348.