

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİMDALİ**

**RATLARDA OLUŞTURULAN GLOBAL SEREBRAL
İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE MEMANTİN
UYGULAMASININ OLUŞAN BEYİN HASARI ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. GÜL MERAL KOCABEYOĞLU (HOŞGÖREN)**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR. HASAN KUTLUK PAMPAL**

**ANKARA
ARALIK 2017**

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Gül Meral KOCABEYOĞLU
Baba Adı	İbrahim
Doğum Yeri/Tarihi	Çankırı / 08.09.1988
Diploma Tarihi/Diploma No	30.06.2013-165955
Mezun Olduğu Fakülte	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Ay:
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

Uzmanlık Tezinin Adı: " Ratlarda Oluşturulan Global Serebral İskemi/Reperfüzyon Modelinde Memantin Uygulamasının Oluşan Beyin Hasarı Üzerindeki Etkileri"

JÜRİ KARARI:

02.01.2018 tarihinde saat 10⁰⁰ da toplanan Sınav Jürisi, adayın yapmış "**Ratlarda Oluşturulan Global Serebral İskemi/Reperfüzyon Modelinde Memantin Uygulamasının Oluşan Beyin Hasarı Üzerindeki Etkileri**" isimli uzmanlık tezini değerlendirmiş ve oy birliği ile yeterli olarak kabul etmiştir

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN

Prof. Dr. Ömer KURTİPEK
Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.Başkanı



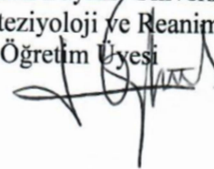
ÜYE

Doç. Dr. H. Kutluk PAMPAL
Anesteziyoloji ve Reanimasyon
A.D. Öğretim Üyesi



ÜYE

Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK
Yıldırım Bayazıt Üniversitesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon
A.D. Öğretim Üyesi



KISALTMALAR

SOR:	Serbest Oksijen Radikalleri
NO:	Nitrik Oksit
PAF:	Trobozit Aktive Edici Faktör
O₂ :	Oksijen
O⁻²:	Süperoksit
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit
OH⁻:	Hidroksil Radikali
RO⁻²:	Peroksil Radikalleri
RO⁻²:	Alkoksil Radikalleri
-SH:	Sülfhidril Radikali
NOS:	Nitrik Oksit Sentaz
Na-K ATPaz:	Sodyum Potasyum Adenozin Trifosfataz
cGMP:	Siklik Guanosin Monofosfat
NAD:	Nikotinamid Adenin Dinükleotidin
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinüklotid Fosfat
PRAP:	Poli-ADP-riboz-polimeraz
MDA:	Malondialdehit
XO:	Ksantin oksidaz
NSE:	Nöron Spesifik Enolaz
Na⁺:	Sodyum
Ca⁺⁺:	Kalsiyum
Mg⁺⁺:	Magnezyum
Cl⁻ :	Klor

K⁺:	Potasyum
Zn⁺⁺:	Çinko
ATP:	Adenin Tri fosfat
AMP:	Adenin Mono Fosfat
KDH:	Ksantin Dehidrojenaz
GPx :	Glutasyon peroksidaz
GST :	Glutasyon S- Transferaz
SOD:	Süperoksit dismutaz
CAT:	Katalaz
GSH:	Glutasyon
Cu:	Bakır
Zn:	Çinko
Fe:	Demir
Fe⁺³:	Ferrik demir
Fe⁺²:	Ferroz demir
Mn:	Mangan
NMDA:	N-metil-D-aspartat
AMPA:	α-mino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazopropiyonik asit
IP3.	İnositol Trifosfat
LDL:	Lipoprotein
BKA:	Beyin Kan Akımı
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
EEG:	Elektroensefalografi
BBT:	Bilgisayarlı Beyin Tomografisi
GKS:	Glaskow Koma Skalası

PCP:	Fensiklidin
MK-801:	Dizocilpine
Memantin:	1-amino-3,5-dimetil amantadine hidroklorid
FDA:	Food and Drug Administration
sn:	Saniye
dk:	Dakika
α:	Alfa
β:	Beta
γ:	Gama

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Tez Tutanağı.....	i
Kısaltmalar	ii
İçindekiler	v
Tablolar	vii
Grafikler	vii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. İskemik ve Hipoksik Hasarlanma.....	3
2. 2. İskemi- Reperfüzyon Hasarlanması.....	4
2. 3. Oksidan ve Antioksidan Sistemler.....	6
2. 3. 1. Serbest Radikaller	6
2. 3. 2. Oksidatif Stres.....	6
2. 3. 3. Antioksidan Mekanizmalar	10
2. 3. 3. 1. Endojen Antioksidanlar	10
2. 3. 3. 2. Eksojen Antioksidanlar.....	12
2. 4. Serebral İskemi- Patofizyoloji.....	13
2. 5. NMDA Reseptörü.....	16
2. 6. Memantin (1-amino-3,5-dimetil amantadine hidroklorid).....	18
2. 7. Nöron Spesifik Enolaz (NSE) ve S-100B.....	19
2. 7. 1. S-100β.....	20
2. 7. 2. Nöron Spesifik Enolaz (NSE).....	20
3. MATERYAL VE METOD.....	22
3. 1. Denek Seçimi.....	22

3. 2. Kullanılan Yöntemler.....	22
3. 3. Deney Grupları.....	23
3. 3. 1. Kontrol Grubu.....	23
3. 3. 2. İskemi Grubu.....	23
3. 3. 3. İskemi-Reperfüzyon Grubu	23
3. 3. 4. İskemi-Reperfüzyon ve Memantin Grubu.....	23
4. İSTATİSTİK	24
5. BULGULAR.....	25
5. 1. S-100 β.....	25
5. 2. Nöron Spesifik Enolaz (NSE).....	26
5. 3. Antioksidanlar.....	27
5. 3. 1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	27
5. 3. 2. Malondialdehid (MDA).....	28
5. 3. 3. Katalaz (CAT).....	29
5. 3. 4. Glutatyon S- Transferaz (GST).....	30
6. TARTIŞMA.....	32
7. KAYNAKLAR.....	41
8. ÖZET.....	54
9. SUMMARY.....	56
10. EKLER.....	57
10. 1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Onayı.....	57
11. ÖZGEÇMİŞ.....	58

TABLolar

	Sayfa No
Tablo 1 SOD düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	35
Tablo 2 MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	36
Tablo 3 CAT düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	37
Tablo 4 GST düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	38

GRAfİKLER

	Sayfa No
Grafik 1: S-100 β düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	32
Grafik 2: NSE düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	33

1. GİRİŞ

İskemi reperfüzyon hasarı cerrahi girişimler de dahil olmak üzere pek çok patolojik sürece sekonder ortaya çıkmakta, etkilediği dokuda ciddi yıkım oluşturmaktadır [1]. Hedef doku kan akımının yeniden sağlanması iskemi sonrası ana hedef tedavi olarak görülse de, reperfüzyon ile birlikte doku hasarında artış ile karşılaşılabilir [2]. Serebral kan dolaşımının geçici süre ile kesildiği, aort anevrizması tamiri gibi majör damar cerrahilerinde, merkezi sinir sisteminin anoksiye hassas olması nedeniyle postoperatif nörolojik hasar gelişimi sık görülen ve korkulan bir komplikasyon olarak karşımıza çıkmaktadır [3]. Nörolojik hasar gelişiminde iskemi ve reperfüzyon olası potansiyel kaynaklardır [4]. Global serebral iskemiden beyini korumak için, hipotermik arrest, selektif serebral perfüzyon ve retrograd serebral perfüzyon gibi yöntemler uygulanmaktadır [5]. Ancak reperfüzyon ile oluşan serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyon artışı, doku hasarını daha fazla artırabilmektedir [6].

N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörü kalsiyum (Ca^{++}) geçişine izin veren hücre membranında bulunan bir reseptör çeşitidir. Sinaptik bağlantıların stabilizasyonu, nekrotik ve apoptotik nöronal ölüm gibi farklı sonuçların ortaya çıkmasını sağlayarak, intraselüler sinyal yollarının aktivasyonuna neden olur. Yani NMDA reseptör aktivitesi hücre hasarına neden olabilen mekanizmaları da aktive edebilmektedir [7].

Memantin (1-amino-3,5-dimetil amantadine hidroklorid) orta şiddetli Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan non-kompetitif, düşük afiniteli NMDA reseptör antagonistidir [8-10]. Memantin bir “açık kanal blokeridir”, yani etkisini NMDA reseptör kanalları açıkken, kanaldaki akımı bloke ederek gösterir. Memantin NMDA reseptörlerinin fizyolojik fonksiyonlarını değiştirmez, patolojik aktivasyonu önler [11].

Biz ratlarda oluşturulan global serebral iskemi modelinde memantin uygulamasının iskemi ve reperfüzyon hasarı üzerine olan etkilerini, antioksidan metabolitler ile , NSE ve S-100 β düzeylerini ölçerek araştırdık.

Bu çalışmada ratlarda oluşturulan global serebral iskemi reperfüzyon modelinde, oluşan serebral hasar üzerine memantin etkilerini antioksidan düzeyleri ile NSE ve S-100 β düzeylerini ölçerek araştırdık.



2. GENEL BİLGİLER

2. 1. İskemik ve Hipoksik Hasarlanma

İskemi yani dokuyu besleyen kan akımının azalması, en sık görülen hücre hasarlanması nedenidir. Hipoksida anaerobik glikoliz ile enerji üretimi devam edebilse de, iskemide, glikoliz için gerekli maddelerin ortama getirilmesinde sorun vardır. Bu nedenle, iskemik dokularda substratlar tükendiğinde veya metabolitler birikip glikolizi inhibe ettiğinde anaerobik enerji üretimi de durur. Buna bağlı olarak iskemi, hipoksiden daha hızlı doku hasarına neden olur. [12]

Hipoksida asıl hasara neden olan patoloji azalan oksijen sebebiyle ATP üretiminin azalmasıdır. Hücre içi ve dışı arası iyon dengesini sağlayan pompalar ATP bağımlı olduğu için bu pompaların fonksiyonu bozulur. Bu durum özellikle Ca^{++} iyonunun hücre içinde artıp birikmesine neden olur. Ayrıca glikojen depolarının boşalması, laktik asit birikimi, hücre içi pH azalması ve protein sentezinin azalması enerji bağımlı hücre sistemlerinin bozulmasına sebep olur. [13]

İlerleyen süreçte, patoloji düzeltilmezse ATP eksikliği derinleşir, hücre içi su, sodyum(Na^{+}) ve klor (Cl^{-}) konsantrasyonu artar, hücre tümü organelleriyle (mitokondri, endoplazmik retikulum) birlikte belirgin olarak şişme potasyum konsantrasyonu azalır. Yeniden oksijen sağlanırsa, tüm bu değişiklikler de geri dönüş olabilir. Ancak, hipoksi/iskemi devam ederse, geri dönüşsüz hasarlanma ve nekroz meydana gelir. Geri dönüşsüz hasarlanma mitokondri ve lizozomların şişmesi ve plazma membranlarında ağır hasar ile karakterizedir.

Hücre ölümü genelde nekroz yoluyla olsa da; apoptozis de bu sürece katkıda bulunur. Apoptozis, yapısı bozulmuş mitokondrilerden sitoplazmaya geçen pro-apoptotik moleküller tarafından aktive edilir. Hücre bileşenleri ilerleyici biçimde parçalanır ve hücre içi enzimler interselüler alana yayılır. Ölü hücrelerin yerini fosfolipidlerden oluşmuş,

miyelin figürleri alır. Daha sonra miyelin figürler, lökositler tarafından fagosite edilir veya kalsifiye olabilen yağ asitlerine parçalanır.[12]

2. 2. İskemi- Reperfüzyon Hasarlanması

Hücre hasarı geri dönüşlü ise; kan akımının yeniden sağlanması, hücrenin iyileşmesine olanak verebilir. Ancak, bazen iskemik fakat canlı olan dokuda kan akımının yeniden sağlanması, paradoksal olarak hasarlanmanın artması ve hızlanması ile sonuçlanabilir. Bu durumda dokularda iskemik dönem sonrası geri dönüşümsüz hasarlanan hücreye ek hücre kaybı yaşanır. İskemi/reperfüzyon hasarlanması olarak adlandırılan bu süreç, kalp ve beyin infarktüslerinde doku hasarlanmasındaki artıştan sorumlu mekanizmadır [12].

Reperfüzyon hasarında nötrofiller, endotelial faktörler, serbest oksijen radikalleri (SOR) başta olmak üzere birçok karmaşık mekanizma etkin rol oynar [14]. Özellikle membran fosfolipidleri, proteinler, nükleik asitler ve DNA molekülleri, reperfüzyon hasarına en duyarlı hücresel yapılar olmakla beraber hasara katkı yapan pek çok madde ve biyokimyasal reaksiyon tanımlanmıştır [15]. Birbirleriyle etkileşerek reperfüzyon hasarının oluşumunda öncelikle rolleri olan serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasını sağlayan maddeler şunlardır;

- Ksantin oksidaz (XO)
- Nötrofil aktivasyonu
- Endotelial faktörler:
 - Araşidonik asit metabolitleri
 - Nitrik oksit (NO)
 - Endotelin
- Trombosit aktive edici faktör (PAF)

- Kompleman
- Sitokinler
- Prostoglandinler
- Katekolamin oksidasyonu

İskemik dokuda reperfüzyon ile hücre hasarı artışında rol oynayan birkaç mekanizmayı özetlemek gerekirse;

- Yeni hasarlanma, parankimal, epitelyal hücrelerin ve infiltre olan lökositlerin reoksijenizasyon sırasında daha çok serbest oksijen radikali üretmesi nedeniyle oluşabilir. İskemi sırasında mitokondride fonksiyon kaybı oluşmuştur. Bu yüzden dokudaki oksijen miktarı artışı mitokondri tarafından tolere edilemez ve oluşan oksidazlar lökosit endotel hücreleri ve parankim hücrelerinin üretmiş olduğu serbest radikallerin etkilerini potansiyelize eder. Hücrenin antioksidan savunma sistemleri de iskemiden olumsuz etkileneceğinden serbest radikallerin birikimi kolaylaşır.
- İskemik hasara inflamasyon eşlik edebilir. Buna bağlı olarak ortama daha fazla lökosit ve plazma proteini gelerek reperfüzyon hasarını artırır. Kompleman sisteminin aktivasyonu da iskemi/reperfüzyon hasarını şiddetlendirebilir. Bazı antikorlar iskemik dokulara çökmeye yatkındırlar. Reperfüzyon durumunda, kompleman proteinleri biriken antikorlara bağlanıp, aktifleşerek hücre hasarı ve inflamasyonu artırır.[12]

2. 3. Oksidan ve Antioksidan Sistemler

2. 3. 1. Serbest Radikaller

Elektronlar atom ve moleküllerin yapısında çiftler halinde bulunur ve her çift elektron çekirdek etrafındaki boşlukta hareket eder. Serbest oksijen radikalleri; bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren yapılardır. Eşleşmemiş, serbest elektron içeren atom veya moleküllerin kimyasal reaktivitesi değişir ve daha reaktif hale gelir [16, 17].

Serbest oksijen radikalleri , pek çok molekül ile reaksiyona girerek, radikal zincir reaksiyonu yoluyla yeni radikallerin ortaya çıkmasına neden olurlar [18].

Fizyolojik koşullarda reaktif oksijen molekülleri üretimi ve yıkımı arasında bir denge vardır. Ödem, damar hasarı, damar oklüzyonu, kardiyak arrest gibi serebral iskemi ile sonuçlanan patolojik durumlarda reaktif oksijen moleküllerinin üretimi artarken, yıkımı azalmaktadır. Serebral iskemide özellikle rol alan serbest oksijen radikalleri; Süperoksit ($O^{\cdot -}$), Nitrik Oksit (NO), Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ve Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$) olarak sayılabilir [19].

2. 3. 2. Oksidatif Stres

Eliminasyondan çok daha yüksek miktarda serbest oksijen radikallerinin oluşumu yani; oksidasyon-antioksidasyon dengesinin, oksidasyon lehine zarar verici şekilde değişmesine oksidatif stres denilir [19, 20]. Serebral dokunun metabolizma hızının yüksek olması, yüksek oksijen gereksinimine yol açarak, serebral dokuyu oksidatif strese daha duyarlı hale getirir. Serebral iskemi ve ödem sonrası, metalloproteinlerden metallerin mobilize olması sonucu serbest radikal üretimi katalize olmaktadır. Bununla beraber iskemi ve ödemin patofizyolojik getirileri doğrultusunda artan hücre içi kalsiyum düzeyleri nitrik oksit sentaz (NOS) ve XO enzimleri gibi enzimleri aktifleştirerek serbest oksijen radikalleri oluşumunu ve NO düzeylerini artırmaktadır. Peroksinitrit oldukça nörotoksik bir madde olup NO ve serbest oksijen radikallerinin birleşimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Nörotoksik

olayların başlamasından sadece Ca^{++} artışını sorumlu tutmak yanlış bir tutum olmakla beraber, diğer tetikleyici faktörlerin devreye girmesi ile kalsiyumun hücre içinde yüksek düzeyde bulunması bir seri nörotoksik mekanizmanın başlamasında kritik öneme sahiptir. Nöron hasarını oluşturan birçok enzim yüksek hücre içi Ca^{++} seviyelerine ihtiyaç duymaktadır. Bu enzimler protein kinaz C, proteazlar ,fosfolipazlar ve NOS olarak sınıflandırılabilir. Hücre membranında bulunan, hücre içi ve hücre dışı arasında iyon dengesini sağlamakta etkin rol oynayan sodyum potasyum adenozin trifosfat (Na-K ATPaz) iyon pompasının aktivitesini inhibe eden reaktif oksijen molekülleri, hücre nekrozuna yol açmaktadır [19-21] .

İnflamatuvar reaksiyonlar veya eksitotoksisitede rol oynayan serbest oksijen radikallerinin oluşuna yol açan diğer bir mekanizma da serbest yağ asitlerinin oksidasyonudur. Serbest radikallerin demir gibi metallerdeki serbest iyonlarla iletişime girmesi sonrası hücre membranında peroksidasyon reaksiyonu başlar, devam ederse nöronların membranlarında ve sinaptik fonksiyonlarında kayıplar başlar[21]. Oksidatif stres durumunda özellikle önemli olan serbest radikaller $O^{\cdot -}$ ve Nitrik oksit'dir (NO) [20].

Nitrik oksit, L-arginin başta olmak üzere çeşitli kaynaklardan endojen olarak sentezlenebilmektedir. L-arginin bir aminoasit olup NOS enzimi ile NO'e çevrilir. Nitrik oksit guanilat siklazın hem yapısındaki +2 değerlikli demir molekülü ile reaksiyona girerek bu bileşiğin aktifleşmesine ve hücre içi siklik guanosin monofosfat (cGMP) artmasına sebep olur. Nitrik oksit sentaz enzimi üzerinde katalizör etkili olan Nikotinamid Adenin Dinüklotid Fosfat (NADPH), Ca^{++} ve kalmudilin, NO sentezini hızlandırır [22, 23]. Merkezi sinir sisteminde L-arginin NO yolu gösterilebilmiştir. İnsan ve hayvan beyinlerinin hemen hemen her bölgesinde NO sentezi mevcuttur. Bunun yanında sinir sisteminin yayıldığı vücuttaki tüm bölgelerde de NO bir nörotransmittör olarak fonksiyon görmektedir. İskemide olduğu gibi eksitatötör aminoasitlerin ortaya çıkması ile NOS aşırı aktivasyonu

sonucu NO miktarı kontrolsüz şekilde artar ve nöronal hasar gelişir. Yapılan deneysel çalışmalardaki sonuçlar tartışmalı olmakla birlikte hayvanlarda serebral infarkt ve epilepsinin patogeneğinde NO miktarının artışının olduğu tespit edilmiştir [22, 23].

Serebral fokal iskemi modellerinin kullanıldığı deneysel hayvan çalışmalarında NOS'un bloke edilmesi ile kortikal infarkt alanlarında belirgin azalma olduğu tespit edilmiştir [24].

Lipidler serbest radikallere karşı en hassas molekülerlerdir. Serbest radikaller hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağlarıyla reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluşturur. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımına lipid peroksidasyonu adı verilir. Lipid peroksidasyonu başladıktan sonra ard arda reaksiyonlar şeklinde ilerler. Hücre membranında lipid serbest radikalleri ve lipid peroksit radikalleri oluşumu, reaktif oksijen metabolitlerinin oluşturduğu hücre hasarının önemli bir göstergesidir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonu nonenzimatik lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır.

Lipid peroksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre yüzeyinde metabolize edilir ya da başlangıçtaki etki alanında difüze olarak diğer bölümlerde hasar oluşturur. Oksidatif stres durumunda lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malonildialdehid (MDA), üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelir. Malondialdehid hücre membranında iyon geçirgenliğini ve enzim aktivitesini etkileyerek iyon alışverişini bozar. Ayrıca DNA içerisinde bulunan nitrojen ile reaksiyona girer ve hem genotoksik hemde karsinojenik etkilere sahiptir [25-28].

Ksantin oksidaz iskemik dokuda reaktif oksijen türlerini oluşturan enzimatik mekanizmalardan biridir. İskemik dokuda kan akımının kesilmesi ile gerekli oksijen desteğinin sağlanamaması sonucu yüksek enerjili fosfatlar azalır. Hücre membranındaki

ATP bağımlı iyon pompaları inhibe olur. Hücre içinde Na^+ ve Ca^{++} konsantrasyonu artar. İyon konsantrasyon değişimi ile proinflatuar sitokinlerin, lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış olmasına karşın, antioksidan enzim oluşumunda azalma olur. İskemi döneminde ATP üretimi durmuş olsa da hücre ATP kullanmaya devam eder ve ATP'den adenin mono fosfat (AMP) ve adenozin oluşur. Adenozin hızla hücre dışına difüze olarak inozin ve hipoksantine parçalanır. İskemide ATP'nin yıkılması, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) XO'a dönüşümüne neden olur. Normal şartlarda elektron alıcısı olarak nikotinamid adenin dinükleotidin (NAD) katılımıyla hipoksantin ürik aside metabolize olur. Ancak iskemi durumunda KDH'nın, XO'a dönüşümü sebebiyle, hipoksantin ürik asit dönüşüm reaksiyonu XO tarafından katalize edilir ve elektron alıcısı olarak moleküler oksijen kullanılır [29]. Ksantin oksidaz beyin ödemi, iskemi gibi klinik durumlarda, oksidatif hasara neden olmaktadır [30].

Serbest oksijen radikalleri ve oluşturdukları hasar farklı metodlar ile değerlendirilebilir. Ekstraselüler süperoksid anyon konsantrasyonu sitokrom C ile kaplanmış implante elektrotlar ile ölçülebilir. Serbest radikallerin eksojen salisilat ile reaksiyonu sonrası oluşan dihidroksi benzoik asit konsantrasyonu vücut sıvıları veya beyin dokusunda ölçülebilir. Ansatüre yağ asit deriveleri lipid peroksidasyonu sonucu (MDA) veya 4-hidroksinonenal gibi aldehit derivelerine dönüşür. Malonildialdehit, konjuge dien, pentan ve organik hidroperoksit gibi ürünlerin kan seviyeleri ölçülebilmekte ve SOR ile indüklenmiş peroksidasyon derecesi belirlenebilmektedir [19, 31].

2. 3. 3. Antioksidan Mekanizmalar

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonu önleyen ya da serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip ajanlara “antioksidan” adı verilir [32]. Antioksidanlar, okside edilebilir bir madde ile karşılaştığında düşük konsantrasyonlarda bile oksidasyonu önlerler ya da geciktirirler. Dokuda oksijen konsantrasyonunu azaltır, oksijeni ortamdaki uzaklaştırırlar. Singlet oksijenin temizlenmesi veya bastırılmasını sağlarlar. $O^{\cdot -}$ ve H_2O_2 gibi reaktif oksijen türlerini non-radikal ürünlere dönüştürüp ortamdaki uzaklaştırırlar. Reaktif moleküllerle etkileşime giren katalitik metal iyonlarının ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlarlar. Hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksil radikalleri ($RO^{\cdot -}$) ve alkoksil radikalleri ($RO^{\cdot}$) gibi peroksidasyonda yer alan radikalleri temizlerler ve yağ asidi zincirlerinden hidrojen iyonunun çıkmasını önleyerek sürecin başlamasına neden olan zincirin kırılmasını sağlarlar [33].

Antioksidan mekanizmalar, radikal oluşumunun herhangi bir basamağında etkili olabilirler. Antioksidanlar eksojen ve endojen olmak üzere iki grupta incelenebilir;

2. 3. 3. 1. Endojen Antioksidanlar

Enzim yapısında olan ve enzim yapısında olmayan olmak üzere iki grupta incelenebilir.

Enzim yapısındaki antioksidanlar; Glutasyon peroksidaz (GPx), Glutasyon S-Transferaz (GST), Süperoksit dismutaz (SOD), Hidroperoksidaz, Katalaz (CAT), Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi

Enzim yapısında olmayan endojen antioksidanlar; melatonin, serüloplazmin, ferritin, glutasyon (GSH), sistein, metiyonin, hemoglobin, bilirubin, miyogloblin, ürat, laktoferrin, albümin

Başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda sistein, glisin ve glutamat bileşiklerinin, γ -glutamil sistein sentaz ve glutatyon sentetaz enzimlerinin katalizi ile girdiği reaksiyon sonucu GSH sentezlenir [34]. Glutatyon tüm hücrelerde bulunur. Hücrelerin protein yapısı dışındaki sülfidril grubu içeriğinin % 90 kadarını oluşturur. Antioksidan enzimlere substrat olarak bağlanarak, radikal tutucu gibi fonksiyon gösterir. Glutatyon, intraselüler antioksidan bileşiklerin en önemlisidir. Glutatyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girer ve oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünü engeller. Proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Böylece proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engelleyerek fonksiyonlarını devam ettirmelerine yardımcı olur. Glutatyon hücre içinde tekli O_2 , süperoksit anyonu (O^{2-}), hidroksi ($OH^\cdot$) radikalleri gibi bir çok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın reaksiyona girip inhibe eder. Glutatyon yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membran transportunu sağlar [35, 36]. Glutatyon peroksidaz dört selenyum atomu içerir ve sitozolde bulunur. Glutatyonun indirgenmiş halini elektron vericisi olarak kullanarak oksitlenmiş formuna dönüşümünü sağlar. Peroksitlerin detoksifikasyonunda merkezi bir rol oynar, lipid peroksidasyonu başlaması ve ilerlemesini önler [37]. Glutatyon peroksidaz eritrositlerdeki oksidatif strese karşı en etkili antioksidan mekanizmadır. Yaşlı ve Down sendromlu hastalarda eritrositlerdeki GPx aktivitesi yüksek, prematürelerde düşüktür. Lökositlerdeki GPx aktivitesi ise, yaşlılarda ve hipertansiyonlularda yüksektir [34, 38] .

Süperoksit dismutaz (SOD) O^{2-} 'nin detoksifikasyonunu sağlayan hücre içi enzimdir. Bakır (Cu)-çinko (Zn) içeren, demir (Fe) içeren ve mangan (Mn) içeren alt tipleri mevcuttur. Cu-Zn SOD enzimi O^{2-} detoksifikasyonunda kilit rol oynar ve O^{2-} 'nin H_2O_2 'ye dönüşümünü katalize eder. Mn-SOD enzimi primer olarak mitokondri matriksinde yerleşmiştir. Diğer

SOD'lara göre daha yavaş reaksiyonlara neden olan Fe-SOD enzimi dismutasyon reaksiyonlarını yürütür [20].

OH⁻ oluşumuna neden olarak biyolojik sistemlere zarar veren H₂O₂ detoksifiye eden, glikoprotein yapılı antioksidan enzimin adı katalazdır (CAT). Katalazın doku aktiviteleri oldukça değişkendir. En yüksek katalaz aktivitesi karaciğer ve böbrekte saptanmıştır [20, 39].

Bilinen en potent antioksidan olan melatonin, OH⁻ temizleyen lipofilik yapılı bir hormondur. Kan beyin bariyerini rahatlıkla geçebilmesi, diğer antioksidanlardan üstün olmasını sağlar [40].

2. 3. 3. 2.Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olarak sınıflandırılabilirler. Vitamin yapısındaki antioksidanlar Alfa-tokoferol (vitamin E), β -karoten, Askorbik asit (vitamin C), Folik asit'tir (folat).İlaçlar yapısındaki antioksidanlar; XO inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar), rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox-C (vitamin E analogu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein), nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar ve demir şelatörleridir [37].

Alfa-tokoferol hücre membranına bağlanabilir. Lipid peroksidasyonunun başlamasıyla oluşan peroksil radikalleri yağ asitleri yerine alfa-tokoferol ile reaksiyona girmekte ve oksidatif süreç sonlanmaktadır. Ancak önemli bir nöroprotektif ajan olmasına rağmen beyinde uptakeinin kısıtlı olması etkinliğini oldukça sınırlamaktadır [41].

Askorbik asit Ferrik demiri (Fe^{+3}) Ferroz demire (Fe^{+2}) indirgeyen O_2 dışındaki tek hücrel ajandır. Kronik inflamatuvar hastalıklar ve lipid peroksidasyonunun arttığı durumlar ile askorbik asit düzeyinin düşüklüğü arasında korelasyon mevcuttur. Sigara içimi ile oluşan düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunun, diyetle alınan vitamin C ile azaldığı tespit edilmiştir [18, 41].

2. 4. Serebral İskemi- Patofizyoloji

Serebral metabolizma yüksek enerji gereksinimi göstermekte olup, mevcut enerjinin %60'ı elektriksel fonksiyonlarda, %40'ı bazal fonksiyonlarda kullanılır [42]. Serebral metabolizma yüksek enerji ihtiyacı gerektirmesine rağmen beyinin enerji depolama kapasitesi oldukça sınırlıdır. Buna bağlı olarak oksijen ve glukoz ihtiyacının karşılanamaması halinde beyinde ciddi hasarlar ortaya çıkabilir. Normal şartlar altında, toplam beyin kan akımı (BKA) yaklaşık 50mL/100g/dk'dır. Beyin kan akımının azalmasına bağlı olarak oksijen desteğinin azalması ile nöral fonksiyonlar ilerleyici bir şekilde hasarlanır. Beyin perfüzyonu düşük BKA düzeylerinde de devam ettirebilse de, BKA 22mL/100g/dk seviyesinde iken EEG'de iskemi belirtileri başlar. BKA düzeyi 15mL/100g/dk olduğunda ise kortikal EEG izoelektrik hale gelir. Ancak, BKA yaklaşık 6mL/100g/dk'ya inince hızla geri dönüşümsüz membran hasarı oluşmaya başlar [43]. Enerji yetersizliği nöronal depolarizasyona, bu da glutamat reseptör aktivasyonuna neden olur. Membran hasarı ve glutamat reseptör aktivasyonu ile hücre içi ve hücre dışı arasındaki Na^+ , Ca^{++} , Cl^- ve K^+ gradienti tersine döner [44].

Kardiyak arrestteki komplet serebral iskemi ile majör serebral damar tıkanıklığı ya da şiddetli hipertansiyondaki inkomplet serebral iskemi arasındaki fark çok sayıda çalışma ile araştırılmıştır. İnkompaket iskemide rezidüel kan akımı bir miktar ATP yapımı için yeterli oksijen sunumunu sağlayabilir. Böylece normotermik komplet serebral iskemide görülen,

dakikalar içinde gelişen geri dönüşümsüz membran kaybı, inkomplet iskemide engellenebilir. Enerji desteğindeki bu fark fokal iskeminin komplet iskemiden daha az hasar vermesini sağlar [44]. Klinikte asıl önemli olan başlangıçtaki hasarın patofizyolojisinden çok hasarın şiddetidir. Hiperglisemi durumunda rezidüel perfüzyonun sınırlı olması bir istisna oluşturur. Düşük seviyeli rezidüel akım, oksijen radikallerinin oluşumuna izin vermektedir [43].

Enerji yetersizliği, serebral iskemi sırasında patolojik mekanizmaları tetikleyen esas olaydır. Membran fonksiyonunu ve bütünlüğünü korumak için ATP gereklidir. Enerji sunumunda yetersizlik hızla membran depolarizasyonuna neden olur. Nöron içine Na^+ ve Ca^{++} girer, voltaj bağımlı kalsiyum kanalları aktive olur. Presinaptik terminallerin depolarizasyonu, özellikle glutamat başta olmak üzere eksitatör nörotransmitterlerin sinaptik aralığa geçmesine yol açar. Glutamaterjik reseptörler, NMDA ve α -mino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazopropiyonik asit (AMPA) reseptörlerdir. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda serebral hücrelerin glutamat reseptör antagonisti olan NMDA ile uyarılması sonucu endotelden derive olan relaksasyon faktörü de salınmaktadır [45]. Bu reseptörlere glutamatın bağlanması ile sodyum ve kalsiyumun hücre içine girişi artar. Reseptörlerin aktivasyonu ile hücresel uyarı başlaması inositol trifosfat (IP3) tarafından endoplazmik retikülümde depolanmış Ca^{++} hücre içine serbestçe geçmesine yol açar. Hücre içine iyon hareketi beraberinde suyun da girişi ile hücresel ödeme sebep olur. Yoğun glutamat reseptör aktivitesi ile birlikte oluşan nöral hasar ekzitotoksisite olarak adlandırılır. Kalsiyum hücrelerde ikincil mesajcı olarak fonksiyon gösterir ve çeşitli enzim sistemlerinin aktivasyonu için gereken bir kofaktördür. Hücre içi Ca^{++} düzeyinde hızlı, kontrolsüz artış; hasarı tetikleyen mekanizmaların aktive olmasına neden olur. Çeşitli enzimlerin aktive olması ile birçok proteinin yapısında bozulmalar meydana gelir. Aktin hücre iskeletinde önemli fonksiyonu olan bir proteindir ve Ca^{++} 'un kontrolsüz artışı ile proteazlar tarafından

bağlanarak, fonksiyon görmesi engellenir ve yapısında bozulmalar başlar. Hücre membran fonksiyonları için kritik öneme sahip olan membran lipidleri lipaz enzimi aktivasyonu ile hasar görür. En önemli lipaz olan fofolipaz A₂ membranlardan araşidonik asit serbestler. Araşidonik asitin siklooksijenaz ve lipooksijenaz tarafından metabolize edilmesi ile prostoglandin ve lökotrien oluşumunu görülür. Prostoglandin ve lökotrienler, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu tetikler. Serbest oksijen radikalleri, mitokondriyal yaralanma ile oluşan diğer serbest radikallerle birlikte lipid peroksidasyonuna ve membran yaralanmasına yol açar. Prostoglandinler ve lökotrienler inflamatuvar yanıtı da uyaran kuvvetli kemotaktik ajanlardır. Damar içinde trombositlerin aktivasyonu, lökositlerin yaralı alana girişi ile tıkanıklık yaratarak iskemiye artırır. İskemik nöronal hasarda, DNA hasarı en kritik olaydır. Araşidonik asit metabolizması, mitokondri hasarı ve NO'dan peroksinitrit oluşumu sırasında oluşan serbest radikaller, DNA'nın oksidatif hasarına yol açar. DNA zincir kırılmalarına neden olan endonükleazların aktivasyonu da hasarın şiddetlenmesine katkıda bulunur. Normal şartlarda, DNA hasarı, DNA onarımına katılan bir enzim olan poli-ADP-riboz-polimeraz (PRAP) aktivasyonuna yol açar. Aşırı DNA hasarında ise normalde koruyucu olan PRAP aktivitesi kontrolsüz artar ve bu artmış aktivite bir PRAP substratı olan nikotinamid dinükleotidin (NAD) baskılanmasına sebep olur. NAD enerji metabolizmasının önemli bir koenzimidir ve baskılanması enerji kaybını artırarak hasarın daha da artmasına neden olur [45]. Etiyolojiden bağımsız iskemi ile oluşan oksijen düşüşü aneorobik glikolizi hücreler için zorunlu kılar ve laktik asitin hücre içi birikimi ile pH düşüşü görülür. PH düşüşü hücre içi enzimatik olayların artışına katkıda bulunur. Kan glukoz seviyeleri yüksek olduğunda aneorobik glikoliz için ek substrat sağladığından olaylar ivme kazanır [46].

Hipoksinin/iskeminin geçici olmayıp devam etmesi ile yüksek laktik asit konsantrasyonu görülür, , ATP depoları tükenir, membran permabilitesi artar, eksitatör nörotransmitörlerle apoptotik metabolitlerin salınımı artar ve ödem formasyonu oluşur.

Apoptoz aktif bir hücre formu olup, ödem ile seyretmez. Regülatör proteinlerin düzenlenmesi ve kaspaz yolunun (ICE-like protein) başlattığı progresif yıkım ile membranlarda ve DNA yapısında değişimler olur (DNA fragmentasyonu, kromatin kümelenmesi, apoptotik body oluşumu). Apoptoz süreci günler veya haftalar sürebilir [47].

2. 5. NMDA Reseptörü

N-metil D-aspartat reseptörleri beyin korteksi, amigdala, hipokampus, striatum ve septumda çok fazla sayıda bulunmakta olup, postsinaptik yerleşimlidir. Motor fonksiyonların koordinasyonu ve programlanması ile duyuşal ileti ve bu iletilerin integrasyonunda rol alırlar [48].

N-metil D-aspartat reseptörleri üzerinde Ca^{++} geçişine izin veren kanallar mevcuttur. Bu kanallar, magnezyum (Mg^{++}) ile voltaj bağımlı bloke olur. Normal nöronal istirahat potansiyeli sırasında Mg^{++} ile NMDA reseptör aracılı akımın %90 dan fazlası inhibe olur. Postsinaptik depolarizasyon sırasında ise kanal içi voltaj alanının değişmesi sonucu Mg^{++} bağladığı yerden ayrılarak, NMDA reseptör aracılı akımın artmasına neden olur. Beraber oluşan presinaptik ve postsinaptik aktivite artışı, NMDA reseptörü içinden Ca^{++} geçişini artırır. Bu sinaptik bağlantıların stabilizasyonu, nekrotik ve apoptotik nöronal ölüm gibi farklı sonuçların ortaya çıkmasını sağlayarak, intraselüler sinyal yollarının aktivasyonuna neden olur. Yani NMDA reseptör aktivitesi hücre hasarına neden olabilen mekanizmaları da aktive edebilmektedir [7].

N-metil D-aspartat reseptörlerinin altı bağlanma bölgesi tanımlanmıştır. Bunlar; NMDA ve diğer agonistleri tanıma bölgesi, Mg^{++} 'un bağlandığı katyon tanıma bölgesi, glisin bağlanma bölgesi, poliamin bağlanma bölgesi, çinko (Zn^{++}) bağlanma bölgesi ve kanal antagonistlerin bağlanma bölgesidir. Reseptörü aktive eden en önemli madde glutamattır. Glisin ve poliaminler de aktivasyonda rol alır. Magnezyum en önemli bloke

edici ajan olmakla beraber, poliamin antagonistlerde reseptörde inhibitöretkiye sahiptir [7, 48].

Glutamat ve aspartatın kontrolsüz salınımı α -amino-3-hidroksi-5-metil-izoksazolpropoionik asit (AMPA) ve NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, membran depolarizasyonu iyon dengesinin bozulmasına neden olur. Hücre içi Ca^{++} , lipaz, endonükleaz, proteaz ve protein kinaz C gibi enzimlerin aktif forma geçmesinin hücre hasarı ve hücre ölümüne neden olduğu düşünülmektedir [49]. Hücre lizisi ile daha fazla glutamat ortama salınır ve bu progresif süreç hücre ölümü ile sonuçlanır [50, 51]. N-metil D-aspartat reseptörlerine bağlanarak inaktif hale getiren maddelere “NMDA reseptör antagonisti” denir. Etki ettikleri bölgelere göre 3 farklı tipte reseptör antagonisti vardır:

- **Kompetitif antagonistler:** Blokajı glutamat bağlanma bölgesi üzerinden yarışmalı olarak yaparlar. Fosfonat yapısında olup kan beyin bariyerini geçişleri sınırlıdır. Düşük doz non kompetatif ilaçlar ile bile etkileri sınırlanır.
- **Non-kompetitif antagonistler:** Glutamat ile yarışmaz, aksine etkilerinin ortaya çıkması için glutamatın varlığı gerekmektedir. Reseptör üzerinde glutamat bağlanma bölgesi dışında bir yere bağlanır. Glutamat reseptör içine ne kadar çok alınırsa, non kompetatif antagonizma o kadar güçlü olur.
- **Un-kompetitif antagonistler:** Magnezyum iyonları santral sinir sisteminde NMDA reseptörlerini dinlenim membrane potansiyelinde bloke ederler. Magnezyumun bu blokajı voltaj bağımlıyken, membran depolarizasyonunda kanal blokajı iyon bağımlıdır. Ketamin ve fensiklidin (PCP) kanal içindeki iyon bağlanma bölgesine yüksek afinite ile bağlanır. Memantin, deksmetorfan, dekstrorfan düşük afiniteli, dizocilpine (MK-801) ise yüksek afiniteli kanal blokerleridir. Bu ajanlardan MK-801 ve PCP, reseptör bölgelerinden yavaş ayrılır. Bu yüzden psikomimetik, hafıza ve öğrenme

bozukluğu gibi yan etkileri çok daha fazladır ve şizofreni benzeri semptomlar oluşturabilir. Bu yüzden bu ajanların kullanım alanı kısıtlanmıştır. Memantin ise bu ajanlardan hızlı kanaldan ayrılma kinetiğiyle ayrılır ve psikomimetik etkileri daha az olup daha iyi tolere edilir [52, 53].

2. 6. Memantin (1-amino-3,5-dimetil amantadine hidroklorid)

Memantin (1-amino-3,5-dimetil amantadine hidroklorid), orta şiddetli Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan non-kompetitif, düşük afiniteli NMDA reseptör antagonistidir [8-10]. Memantin hiperglisemi tedavisi için sentezlenmiş ancak bu konuda başarılı olamamıştır. 1972 yılına gelindiğinde ise memantin Parkison Hastalığı, spastisite, koma ve serbrovasküler olaylar gibi merkezi sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde etkili olduğu tespit edilmiştir [9].

Memantin bir “açık kanal blokeridir” yani etkisini NMDA reseptör kanalları açıkken, kanaldaki akımı bloke ederek gösterir. Reseptör kanalı memantin ile bloke edildikten sonra kapanır ve memantin tuzak mekanizması ile reseptör kanalı içinde kalır, başka agonist kanala bağlanamaz. Memantin NMDA reseptörlerinin fizyolojik fonksiyonlarını değiştirmez, patolojik aktivasyonu önler [11].

Memantin oral alımı takiben gastrointestinal sistem tarafından emilerek 3-6. saatlerde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır. Biyoyararlanım beraberinde alınan gıdalardan etkilenmez, mutlak biyoyararlanım %100'dür. Plazma proteinlerine bağlanma %45 oranında gerçekleşir. Kan- beyin bariyerini geçer. Dağılım hacmi yaklaşık 10L/kg'dır [54].

Eliminasyon ömrü 60-100 saattir. Yaklaşık %80'i dolaşımda değişmeden kalır. %75-90 oranında değişmeden renal yolla atılır. Hem renal tübüler sekresyona hem de katyonik transport proteinleri yoluyla reabsorpsiyona uğrar. Metabolitleri; N-3,5-dimetil-gludantan,

4-ve 6- hidroksimemantinin karma izomerleri ve 1-nitro-3,5-dimeti-adamantan'dır. Metabolitler NMDA reseptörüne antagonist etki göstermezler [54].

Memantin yan etkileri nadirdir; bunların arasında konstipasyon, kusma, senkop, ataksi, baş ağrısı, konfüzyon, ciltte döküntü, vertigo ve anemi sayılabilir. Böbrek yetmezliği, yakın zamanlı miyokard enfarktüs öyküsü, konjestif kalp yetmezliği, epileptik nöbet hikayesi ve kontrolsüz hipertansiyonu olan hastalarda dozu ayarlanarak dikkatli kullanılmalıdır [54].

Nörolojik bozuklukların tedavisinde memantin kullanılabileceği fikri ortaya atıldıktan sonra, çeşitli hayvan deneyleri yapılmıştır. Oluşturulan hayvan modellerinde ilacın sinaptik plastisitede meydana gelen değişiklikleri geri çevirebileceği gösterilmiştir [55]. Hayvan deneylerinin ardından yapılan faz 2-3 ilaç çalışmalarında Alzheimer ve vasküler demans türlerini içeren klinik ilaç araştırmaları yapılmıştır. Klinik çalışmalarda, memantin öğrenme, hafız ve ağrı üzerine olumlu etkileri ile nöroprotektif özellikleri olduğu tespit edilmiştir [56]. 2003 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi onayı ile Alzheimer hastalığı tedavisi için kullanılmaya başlanmış olup, günümüzde Parkinson, epilepsi tedavisinde de kendine yer bulmuştur [57].

2. 7. Nöron Spesifik Enolaz ve S-100β

Son yıllarda, beyin hasarını göstermek için biyokimyasal belirteç arayışı sırasında glial hücrelerden salınan nöron spesifik enolaz (NSE) ve S-100β ön plana çıkmıştır [58]. Bu belirteçlerin kandaki düzeyleri ile inme, travmatik beyin hasarı, kardiyak arrest ve kardiyopulmoner bypass cerrahisi sonrası oluşan beyin hasarının korale olduğu gösterilmiştir [59, 60].

2. 7. 1. S-100β

1965 yılında sığır beyinde S100 proteinin subselüler fraksiyonu elde edilmiştir. Nötral pHda %100 amonyum sülfat içinde çözünebildiği için S100 adı verilmiştir. Yapılan çalışmalarda 2 ayrı predominant polipeptit tanımlanmıştır. Bu polipeptitler yaklaşık 10.000 Da ağırlığında, EF-el Ca^{++} bağlayıcı proteinler için yüksek afiniteye sahip olup, S-100 A1 ve S-100β olarak adlandırılmıştır. Beyin için daha spesifik olan S-100β 1980'lerde NEF olarak da adlandırılmıştır, çünkü S-100β nöral büyüme ve gelişme sırasında proliferen olan astrositler tarafından salgılanır. Salgılanan bu formun primer nöronlar ve nöroblastom hücreleri üzerinde nörotrofik etkinliği vardır [61].

S-100β farklı izoformları olan 21-kDa ağırlığında, Ca^{++} bağlayan bir proteindir. Ağırlıklı olarak astrogial ve mikrogial hücrelerden salgılanan S-100β $-\alpha\beta$ ve $-\beta\beta$ izoformları beyin için oldukça spesifiktir. Normalde kanda saptanamayan S-100β düzeyleri, inme, kafa travması, subaraknoid kanama ve kardiyopulmoner bypass sırasında oluşturulan ekstrakorporeal dolaşım sonrası hızla yükselir [62]. β 2-mikroglobulin gibi diğer küçük proteinlerin eliminasyonuna benzer eliminasyon mekanizmasına sahip olup, böbreklerde glomerüler filtrasyon, reabsorpsiyon ve proksimal tübüllerde degradasyona uğrar [61].

2. 7. 2. Nöron Spesifik Enolaz

Beyin dokusunda çözünebilir proteinlerin %1,5'unu oluşturan NSE glikolitik bir enzimdir. α , β ve γ izoenzimleri şeklinde, üç farklı dimerik yapıda bulunur. α izoenzimi sadece astrositlerde bulunurken, γ izoenzimi nöronlar ve bazı nöroektodermal hücrelerde bulunur. Nöronal hasar durumunda, NSE beyin omurilik sıvısına (BOS), serebral kan dolaşımına ve sistemik dolaşıma salınır [63, 64]. İskemik inme, intraserebral kanama ve kafa travması gibi nöronal hasarın olduğu durumlarda, beyin omirilik sıvısı ve kanda NSE düzeyinde artış olduğunu gösteren çok sayıda çalışmanın olması, parankimal beyin

hasarında duyarlı ve kantitatif bir belirteç olarak NSE'nin kullanımını desteklemektedir [64-66].



3. MATERİYAL VE METOD

Bu deneysel çalışmanın etik kurul onayı Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan G.Ü.ET-17.037 kod numarası ile alınmıştır.

3. 1. Denek Seçimi

Araştırma; Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'da 01.11.2017- 02.11.2017 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

Bu çalışmada, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, 24 adet erkek Wistar-Albino rat kullanıldı. Ratlar araştırma başlangıcına kadar 12 saat aydınlık -12 saat karanlık ortamda barındırılarak ortama adaptasyonları sağlandı. Denekler ışık ve sıcaklığı standardize edilmiş ortamda bırakıldı. Beslenmeleri için standart pallet yem kullanıldı.

3. 2. Kullanılan Yöntemler

Tüm işlemler, ratlara 40mg/kg ketamin HCl ve 5 mg/kg xylasin HCl'nin intramusküler tatbiki ile dissosiatif anestezi oluşturularak yapıldı. Anesteziyi takiben bütün işlemler steril şartlarda gerçekleştirildi. Ratlar, rastgele olarak 4 gruba ayrıldı:

Kontrol grubu haricindeki hayvanlara serebral iskemi/reperfüzyon modeli olarak, Pulsinelli ve arkadaşları tarafından tarif edilen 4 damar oklüzyon modeli uygulandı [67]. Bu model 24 saat ara ile gerçekleştirilen 2 cerrahi işlemi kapsamaktadır. İlk işlem ratlar prone pozisyonda iken mikroskop altına alınarak gerçekleştirildi. Alar foraminaller ve ilk vertebranın kemik gövdesinden elektrokoter ile ilerlenerek vertebral arterlerin seyrettiği hat koterize edilerek vertebral dolaşım engellendi. Vertebral arterlerin koterizasyonundan 24 saat sonra karotid arterlerin oklüzyonu gerçekleştirildi. Bu amaçla mikroskop altında her iki kommon karotid arter disseke edilerek vasküler klemplerle oklude edildi.

3. 3. Deney Grupları

3. 3. 1. Kontrol Grubu (Gr K, n=6): Bu gruptaki hayvanlarda herhangi bir işlem yapılmadan, intrakardiak kan alınarak hayvanlar sakrifiye edildi ve kraniyotomi yapılarak beyin dokusu çıkardı. Alınan serumda NSE ve S-100 β düzeyleri çalışıldı, çıkarılan beyin dokusunda GST, katalaz, MDA ve SOD değerlendirildi.

3. 3. 2. İskemi Grubu (Gr İ, n=6): Bu gruptaki hayvanlara serebral iskemi modeli uygulandı ve iskemi süresinin sonunda intrakardiak Kan alınarak hayvanlar sakrifiye edildive kraniyotomi yapılarak beyin dokusu çıkardı. Alınan serumda NSE ve S-100 β düzeyleri çalışıldı, çıkarılan beyin dokusunda GST, katalaz, MDA ve SOD değerlendirildi.

3. 3. 3. İskemi-Reperfüzyon Grubu (Gr İR, n=6): Bu gruptaki hayvanlara serebral iskemi modeli uygulandı ve 20 dakika iskemi süresinin sonunda 1 saat süre ile reperfüzyon uygulandı; sonrasında intrakardiak kan alınarak hayvanlar sakrifiye edildi ve kraniyotomi yapılarak beyin dokusu çıkarıldı. Alınan serumda NSE ve S-100 β düzeyleri çalışıldı, çıkarılan beyin dokusunda GST, katalaz, MDA ve SOD değerlendirildi.

3. 3. 4. İskemi-Reperfüzyon ve Memantin Grubu (Gr İR-M, n=6): Bu gruptaki hayvanlara serebral iskemi modeli uygulandı ve iskemi süresinin sonunda 1 saat süre ile reperfüzyon beklendi. Bu gruptaki hayvanlara reperfüzyonla eş zamanlı olarak memantin HCI(20 mg/kg) intraperitoneal olarak verildi. İşlemden sonra intrakardiak kan alınarak hayvanlar sakrifiye edildi ve kraniyotomi yapılarak beyin dokusu çıkarıldı. Alınan serumda NSE ve S-100 β düzeyleri çalışıldı, çıkarılan beyin dokusunda GST, katalaz, MDA ve SOD değerlendirildi.

4. İSTATİSTİK

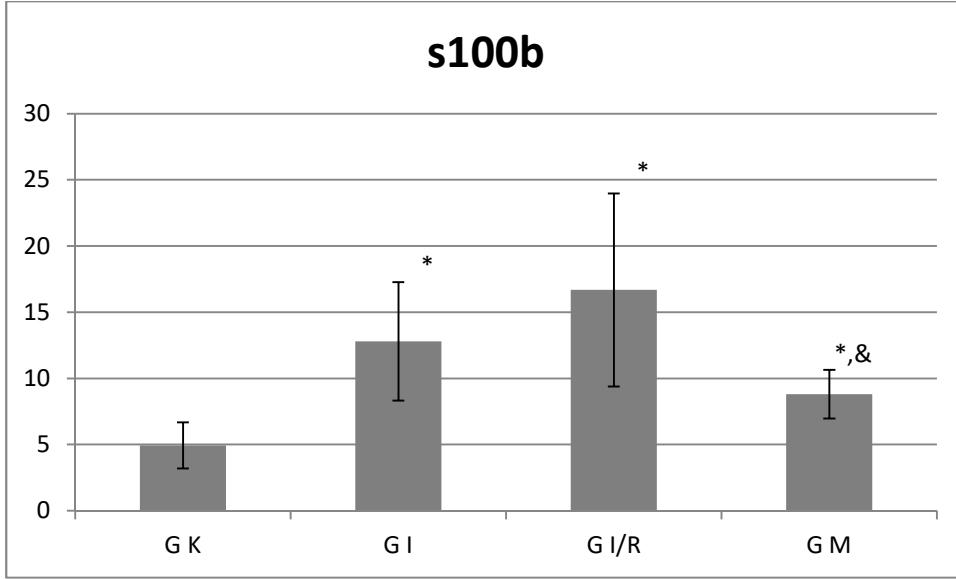
İstatistiksel analiz için SPSS (sürüm 20.0, Chicago, IL, ABD) kullanılmıştır. Gruplar arası farklılıklar Kruskal-Wallis testi kullanılarak hesaplandı. Kruskal-Wallis testinde farklılık çıktığında, hangi grubun diğerlerinden farklı olduğunu belirlemek için Mann-Whitney U testi uygulandı. Bütün değerler ortalama $\pm$ standart sapma (en düşük-en yüksek) şeklinde analiz edildi. $P < 0.05$ istatistik olarak anlamlı kabul edildi.



5. BULGULAR

5.1. S-100 β

İskemi grubunda S-100 β düzeyi 12.808 ± 4.474 (9.00-21.0), iskemi ve reperfüzyon grubunda 16.683 ± 7.299 (9.4-27.20) memantin grubunda 8.816 ± 1.846 (6.20-10.40) iken kontrol grubunda 4.933 ± 1.74 (3.20-7.80) bulunmuştur (Grafik 1).



Grafik 1 : S-100 β düzeylerinin gruplara göre dağılımı

G K: Kontrol grubu, G I: İskemi Grubu G I/R: İskemi-Reperfüzyon Grubu G M: Memantin Grubu

*: $p < 0.05$ Grup K ile karşılaştırıldığında

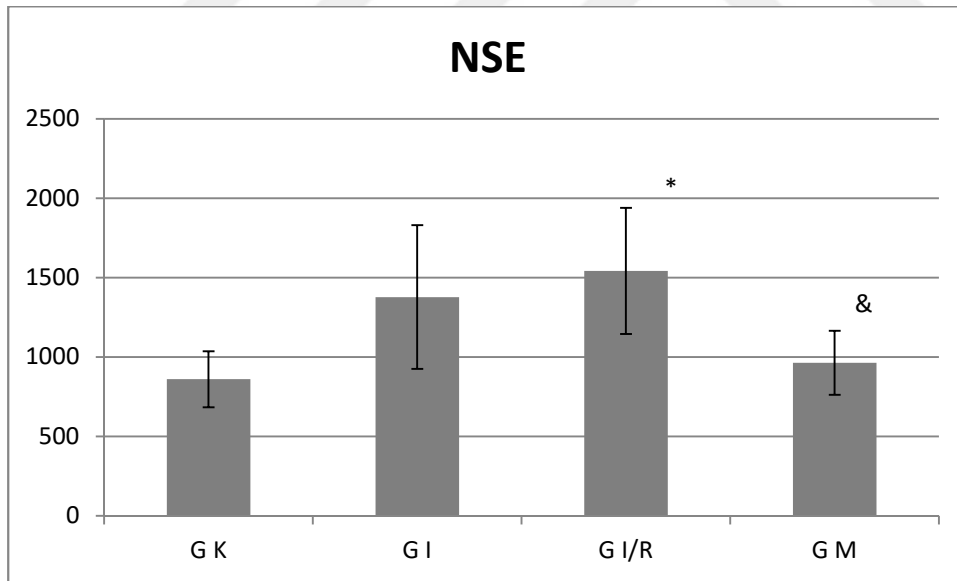
&: $p < 0.05$ Grup I/R ile karşılaştırıldığında

S-100 β düzeyi, kontrol grubuyla kıyaslandığında, iskemi grubu ve iskemi reperfüzyon grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($P=0.004$). İskemi reperfüzyon grubunda, iskemi grubundan daha yüksek S-100 β sonuçları elde edilmiş olsa da, fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.297$). Memantin grubunda, kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek S-100 β düzeyleri tespit edilmiştir ($p=0.010$). Memantin

grubunda, iskemi reperfüzyon grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük S-100 β düzeyleri ölçülmüştür ($p=0.045$). Ancak, memantin grubunda, iskemi grubuna göre S-100 β düzeyleri daha düşük bulunmakla beraber sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.109$).

5. 2. Nöron Spesifik Enolaz (NSE)

NSE düzeyleri Kontrol, İskemi, İskemi reperfüzyon ve memantin gruplarında sırasıyla 860 ± 175.484 (644-1055), 1377.83 ± 452.272 (720-1827), 1541.833 ± 396.728 (1087-2077) ve 963.5 ± 201.134 (812-1265) olarak saptanmıştır (grafik 2).



Grafik 2: NSE düzeylerinin gruplara göre dağılımı

G K: Kontrol grubu, G I: İskemi Grubu G I/R: İskemi-Reperfüzyon Grubu G M: Memantin Grubu göre

* : $p<0.05$ Grup K ile karşılaştırıldığında

& : $p<0.05$ Grup I/R ile karşılaştırıldığında

İskemi grubunda kontrol grubuna göre NSE düzeyleri artmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.078$). Ancak iskemi reperfüzyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı NSE yüksekliği tespit edilmiştir ($p=0.004$). İskemi reperfüzyon grubu, iskemi grubundan daha yüksek NSE düzeylerine sahip olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.522$). Memantin grubu iskemi reperfüzyon grubundan daha düşük NSE düzeylerine sahip olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.025$). Memantin grubu ile kontrol grubu arasında NSE düzeyleri açısından anlamlı fark yoktur ($p=0.337$).

5. 3. Antioksidanlar:

5. 3. 1. Süperoksit Dismutaz

Çalışma gruplarına ait SOD değerleri Tablo 1’de verilmiştir. İskemi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı SOD yüksekliği saptanmıştır ($p=0.02$). İskemi reperfüzyon grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı artış saptanmıştır ($p=0.01$). Ancak iskemi grubu ile iskemi reperfüzyon grubu arasında istatistiksel anlamlı anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.818$). Memantin grubu iskemi reperfüzyon grubundan daha düşük SOD düzeylerine sahip olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.037$). İskemi grubu ile memantin grubu arasında anlamlı SOD düzeyi farklılığı tespit edilmemiştir ($p=0.108$). Memantin grubu ile kontrol grubu arasında SOD düzeyleri açısından anlamlı istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0.150$).

Tablo 1: SOD düzeylerinin gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	SOD (Umol/mg prot) [ortalama±SD (en düşük-en yüksek)]
G K	4.71±1.26 (3.57-6.74)
G I	10.43±4.23* (4.80-14.60)
G I/R	1205±4.90* (4.70-19.00)
G M	6.71±2.37& (3.45-9.80)

G K: Kontrol grubu, G I: İskemi Grubu G I/R: İskemi-Reperfüzyon Grubu G M: Memantin Grubu göre

* : $p < 0.05$ Grup K ile karşılaştırıldığında

& : $p < 0.05$ Grup I/R ile karşılaştırıldığında

5. 3. 2. Malondialdehid

Çalışma gruplarına ait MDA düzeyleri Tablo 2’de verilmiştir. İskemi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı MDA yüksekliği saptanmıştır ($p=0.02$). İskemi reperfüzyon grubunda da saptana artış kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.01$). Ancak iskemi grubu ile iskemi reperfüzyon grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.748$). Memantin grubu iskemi reperfüzyon grubundan daha düşük SOD düzeylerine sahip olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.037$). İskemi grubu ile memantin grubu arasında anlamlı MDA düzeyi farklılığı tespit edilmemiştir ($p=0.108$). Memantin grubu ile kontrol grubu arasında MDA düzeyleri açısından anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p=0.150$).

Tablo 2 : MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	MDA (nmol/mg prot) [ortalama±SD (en düşük-en yüksek)]
G K	34.62±11.44 (22.30-53.30)
G I	54.11±17.36* (34.40-72.70)
G I/R	84.66±19.98* (47.60-106.60)
G M	42.20±16.08 ^{&} (15.10-60.90)

G K: Kontrol grubu,G I: İskemi Grubu G I/R: İskemi-Reperfüzyon Grubu G M: Memantin Grubu göre

* : $p<0.05$ Grup K ile karşılaştırıldığında

& : $p<0.005$ Grup I/R ile karşılaştırıldığında

5. 3. 3. Katalaz

Çalışma gruplarına ait CAT değerleri Tablo 3’de verilmiştir. İskemi grubunda kontrol grubuna göre CAT düzeylerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p=0.149$), iskemi reperfüzyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptanmıştır ($p=0.01$). İskemi grubu ile iskemi reperfüzyon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.078$). İskemi reperfüzyon grubu ile karşılaştırıldığında, memantin grubunda saptanan düşük CAT düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.010$). İskemi grubu ile memantin grubu arasında anlamlı CAT düzeyi farklılığı tespit edilmemiştir ($p=0.199$). Memantin grubu ile kontrol grubu arasında CAT düzeyleri açısından anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p=0.873$).

Tablo 3 : CAT düzeylerinin gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	CAT (IU/mg prot) [ortalama±SD (endüşük-en yüksek)]
GK	3075.48±2571(732.00-6901.71)
GI	9254.31±7502.09(1138.67-18178)
GI/R	19158.08±9414.47*(5090-32533)
GM	5326.83±6036.17 ^{&} (244-13566.4)

G K: Kontrol grubu, G I: İskemi Grubu G I/R: İskemi-Reperfüzyon Grubu G M: Memantin Grubu göre

* : p<0.05 Grup K ile karşılaştırıldığında

& : p<0.05 Grup I/R ile karşılaştırıldığında

5. 3. 4. Glutasyon S- Transferaz

Çalışma gruplarına ait GST değerleri Tablo 4’da verilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gerek iskemi gerekse iskemi reperfüzyon gruplarında GST düzeylerinde artış saptanmıştır. Bu artış kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı iken (p=0.006), iskemi reperfüzyon grubunda anlamlı bulunmamıştır (p=0.055). İskemi grubu ile iskemi reperfüzyon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0.262). Memantin grubu ile iskemi reperfüzyon grubu arasında GST düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0.109). Memantin grubu, iskemi grubundan daha düşük GST düzeylerine sahip olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0.037). Yine memantin grubunda saptanan artış kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(p=0.045).

Tablo 4 : GST düzeylerinin gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	GST (mIU/mg prot)
G K	66.08±9.40
G I	112.55±30.52*
G I/R	178.75±119.06
G M	80.66±14.09*, %

G K: Kontrol grubu, G I: İskemi Grubu G I/R: İskemi-Reperfüzyon Grubu G M: Memantin Grubu göre

* : $p<0.05$ Grup K ile karşılaştırıldığında

& : $p<0.05$ Grup I/R ile karşılaştırıldığında

%: $p<0.05$ Grup I ile karşılaştırıldığında

6. TARTIŞMA

Ratlarda, global serebral iskemi reperfüzyon hasarı üzerine memantinin etkilerini araştırdığımız çalışmamızda, memantin uygulamasının iskemi reperfüzyon hasarını azaltmada etkin bir ajan olduğunu S-100 β , NSE ve antioksidan düzeylerini değerlendirerek tespit ettik.

İskemi ve reperfüzyon, organlarda, süre ve şiddetine bağlı olarak hasar oluşturmaktadır. Serebral iskemi durumunda beyin hasarı çok kısa sürede gelişmekte, iskemi düzeltilse bile reperfüzyona bağlı hasar oluşumu devam edebilmektedir. İskemi durumunda öncelikle hipokampus ve korteks etkilenir. Kan akımını restore etme çabaları hızla gelişen nöronal hücre ölümü nedeniyle başarısız olabilmektedir [68].

Kardiyak arrest gibi global iskemi yaratan durumlarda ortaya çıkan erken nörolojik disfonksiyon, nörolojik sekelli bir sağkalım ile ilişkili olabilir [69]. Mekanik ventilatör altında sedasyon ve kas gevşeticiler ile uyutulan hastaların nörolojik muayenesinin güvenilir şekilde yapılmasındaki zorluklar, çeşitli belirteçlerin sağ kalım ve serebral iskeminin boyutunu belirlemek için kullanılmasını zorunlu hale getirmektedir. Sedatif ve kas gevşetici ilaçlar kullanılarak mekanik ventilatörde takip edilen hastaların nörolojik muayenesinin değerlendirilmesindeki zorluklar, bu hastalarda serebral iskeminin boyutunu ve sağkalımı belirleyebilmek adına çeşitli belirteçlerin kullanımını gerekli kılmaktadır. [70]. Bu belirteçlerin kullanımı tedavinin etkinliğinin de değerlendirilmesini mümkün kılabilir.

Yaptığımız çalışmada ratlarda global serebral iskemi reperfüzyon oluşturmak için daha önce Pulsinelli ve ark. tarafından tanımlanan dört damar oklüzyon yöntemini kullandık. Global serebral iskemi, iskemi reperfüzyon ve iskemi reperfüzyon sonrası memantin uygulaması sonrası, nöronal hasar belirteçlerinden NSE, S-100 β düzeyleri,

antioksidanlardan SOD, CAT, GST ve membrane lipid peroksidasyon ürünü MDA düzeylerini değerlendirdik [67].

S-100 ailesi omurgalılarda bulunan EF-el tipi Ca^{++} modüle proteinlerdendir. S-100 β S-100 ailesinin üyesi olup, 21 kDa molekül ağırlığında 2 beta alt ünitesine sahip homodimerik asidik bir proteindir. Özellikle astrositlerde ve Schwann hücrelerinde bulunur. S-100 β 'nin sinirsel gelişim, farklılaşma ve beynin onarımında önemli bir faktör olduğu ve beyin hasarından sonraki ekstraselüler konsantrasyonundaki artışlardan kaynaklanan ek hücre hasarlarının da nörodejeneratif oluşum patofizyolojisinde rol aldığı öne sürülmektedir. (anlaşılması zor bir cümle) [71-73]. S-100 β , beyin hasarında BOS'a ve daha sonra kana rahatlıkla geçmektedir

S-100 β , beyaz ve kahverengi yağ dokusunda, iskelet kasında, deride, melanom ve glioblastom hücrelerinde normalden daha yüksek oranda bulunur. Ayrıca β -adrenerjik agonist veya fosfodiesteraz inhibitörleri ile uzun süre tedavi görmüş hastalarının serum düzeylerinin de yüksek bulunduğu gösterilmiştir. Buna karşın, serebral hasardan sonra serum S-100 β düzeyinde saptanan artış, diğer durumlar ile kıyaslandığında çok daha yüksektir [74, 75].

Hermann ve ark. yapmış oldukları çalışmada akut serebral inme geçiren hastalarda S-100 β ve glial fibriller asit protein (GFAP) kan düzeylerinde saptanan artışın bilgisayarlı beyin tomografisi (BBT) ile belirlenen serebral infarkt alanı genişliği ve hastaların klinik durumlarının ciddiyeti ile korele olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, GFAP ve S-100 β 'nın inme tedavisinde ilaç etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılabilecek parametreler olduğunu ileri sürmüşlerdir [76].

Biz de çalışmamızda iskemi ve iskemi reperfüzyon grubunda S-100 β düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiğini tespit ettik. Ingebrigtsen ve ark. S-100 β düzeyinin serebral hasar ile ilişkisini inceledikleri çalışmalarında, kafa travması geçiren hastalarda, bizim verilerimizle uygun şekilde S-100 β düzeylerinin yükseldiğini tespit

etmişlerdir. Ayrıca major ve minor kafa travmasından sonra S-100 β düzeylerinin Glaskow Koma Skalası (GKS) ve BBT ile uyumlu olarak yükselmekte olduğunu tespit etmişlerdir. [77]. Benzer şekilde, Raabe ve ark.da ciddi beyin travmalarında 2 gr/L'den yüksek S-100 β düzeylerinin yüksek mortalite ile ilişkili olduğunu ve devam eden S-100 β artışının primer hasarı takip eden sekonder süreçlerle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. [78, 79].

Çalışmamızda reperfüzyon hasarını engellemek amacıyla kullandığımız memantin, S-100 β düzeylerini olumlu etkilediği ve bu sonuca bakarak reperfüzyon hasarını azalttığını söyleyebiliriz.

Ekstraserebral salınımı olan, eritrosit ve plateletler ile küçük hücreli akciğer kanseri, nöroendokrin,ve pankreatik tümörlerde de sentezlenen NSE, kardiyak arrest gibi global serebral iskemi yaratan durumlarda, hasarın gösterilmesi açısından önemli bir belirteç olmaya devam etmektedir. Fugate ve ark. kardiyak arrest sonrası hipotermi uygulanan ve uygulanmayan hastalarda nörolojik hasarın boyutunu NSE, EEG paternleri, BBT ve global serebral ödem bulguları ile değerlendirmişler ve kardiyak arrest sonrası 1-3 günde NSE değerlerinin 33ng/ml üzerinde seyretmesinin kötü prognoz göstergesi olduğunu bildirmişlerdir [80]. Floerchinger ve ark. kardiyak arrest sonrası ekstrakorporal yaşam desteği uygulanan hastalarda NSE düzeylerini, nörolojik disfonksiyon bulgularını ve hastanede kalış sürelerini incelenmiş ve NSE düzeylerinin arttığını, ancak bu artış ile fokal hasar arasında bir korelasyon olmadığını bulmuşlardır. Ayrıca hipoksik serebral hasarda da NSE düzey artışı saptanmıştır [81]. Çeşitli serebral iskemi modelleri ve hayvan çalışmalarında ise NSE düzeylerinin serebral iskeminin şiddeti ile korele olduğu gösterilmiş, geri dönüşümsüz beyin hasarından önce yükselen NSE düzeylerinin, nöroprotektif önlemlerin uygulanması için kılavuz olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır [82-84].

Bizde çalışmamızda literatürdeki çoğu çalışmayla korele olarak, iskemi ve iskemi reperfüzyon grubunda serum NSE düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede

yüksek olduğunu tespit ettik. Uzan ve ark. ratlarda global beyin hasarı modeli uyguladıkları çalışmalarında BOS NSE düzeylerinin motor nöron hasarıyla, serumdaki NSE düzeylerine kıyasla daha fazla korelasyonunun olduğunu göstermişlerdir [85]. Ancak insanlarda yapılan benzer çalışmalarda, BOS ve serum NSE düzeylerinin birbirleriyle korele olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde BOS ve serum NSE düzeylerinin serebral infarktın boyutu ve şiddeti ile de korelasyon gösterdiği saptanmıştır [86-88]. Araştırmamızda sadece serum NSE düzeyleri değerlendirilmiş olmakla beraber, serum ve BOS NSE düzeylerinin birbirleriyle korele olduğunu gösteren çalışmalardan elde edilen veriler serum NSE ölçümlerinin klinik uygulamalarda kullanılabileceğini göstermektedir.

İskemi durumunda glutamatın artışı ile hücre hasarı artmaktadır. Glutamat NMDA reseptörleri üzerinden hücre içi Ca^{++} artışı yaparak çeşitli hasar yaratan enzimlerin aktive olmasını sağlar. Bu durum da beyin hasarının şiddetlenmesine neden olur [89]. Memantin NMDA reseptör antagonisti olarak Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalarda kullanılabildiği gibi, nöroprotektif olarak iskemik serebral hasarlar ile kafa travmasında da kullanılabilmektedir [90].

Ratlarda yapılan global serebral hasar durumunda memantin kullanımının incelendiği bir çalışmada, ratların bilateral common carotid arterleri bağlanarak ratlar 10 ve 30dk'lık süreçlerde iskemiye maruz bırakılmış. Daha sonra memantin uygulanmış, özellikle 10dk iskemiye maruz bırakılan ratlarda memantin uygulanmayan gruba göre anlamlı düşük düzeyde pirimidal nörol hasar olduğu tespit edilmiştir [91].

Ghaffary ve ark. postoperatif serebral disfonksiyonların görece sık görüldüğü kardiyak cerrahiden sonra postoperatif kognitif disfonksiyonu önlemek amacıyla farklı dozlarda memantin uygulamıştır. Çalışmaya 45-75 yaş aralığında elektif kardiyak cerrahi geçirecek hastalar dahil edilmiş, çalışma sonunda memantin uygulanan grupta, memantin

uygulanmayan kontrol grubuna göre daha az postoperatif kognitif disfonksiyon bulguları saptanmıştır [92].

Bizde memantin grubunda S-100 β ve NSE düzeylerini, iskemi reperfüzyon grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunduk. S-100 β ve NSE düzeylerindeki azalma, memantin ile iskemi reperfüzyon hasarının gerileyebileceğini göstermektedir.

Sies oksidatif stresi ‘pro-oksidan/antioksidan dengesinin pro-oksidanlar lehine bozulması’ olarak tanımlamıştır [93]. Oksidatif stres tüm doku ve organları etkilese de özellikle beyin gibi organların oksidatif strese ve buna bağlı hasar oluşumuna yatkınlığı daha fazla olabilmektedir. Ayrıca beyin dokusu çeşitli metabolik yollar ile daha fazla serbest radikal üretimine sebep olan, dopamin, adrenalin ve noradrenalin gibi hormonların üretiminde önemli rol oynamaktadır [94]. Özellikle iskemi, hipoksi, travma gibi oksijenizasyonun bozulduğu patolojik süreçlerde beyin, antioksidan ajanların artışına ihtiyaç duymaktadır. Bu antioksidan ajanlar, endojen salgılanabildiği gibi reaktif oksijen metabolitlerinin üretimini inhibe eden veya oluşmuş metabolitleri deaktif eden ekzojen antioksidanlar olabilir. İskemiye maruz kalan beyin dokusunda oksidanlara bağlı ikincil hasarın önlenmesi ile doku kaybının ilerlemesi sınırlandırılabilir. [95] .

Serebral iskemide çalışmalar reperfüzyon hasarını önlemeyi amaçlayan ilaç ve tedavi yöntemlerine odaklanmaktadır [96, 97]. Ancak serebral hasar patogenezinde rol oynayan, eksitator aminoasit toksisitesi, inflamatuvar yollar, intraselüler Ca^{++} artışı ve oksidatif stres gibi çok farklı mekanizmaların olması, etkin tedavilerin bulunmasını zorlaştırmaktadır. Bu reaksiyon kaskatları, nöral nekroz ve apoptoza neden olabildiği gibi, kan beyin bariyerinin bozulmasına da sebep olabilmektedir [98-101].

Memantin, Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan bir NMDA antagonistidir. Memantin glutamat düzey artışının neden olduğu hücre içi Ca^{++} birikimini, NMDA reseptörlerini bloke ederek engeller ve antioksidan etkiler oluşturur [102].

Superoksit dismutaz, oksidatif stres durumunda kilit öneme sahiptir. İskemi ve reperfüzyon sürecinde farklı evrelerde farklı kaynaklardan üretilir. Cu, Zn-SOD (SOD1) sitozol ve lizozomlarda bulunduğu gibi mitokondrinin membranları arasındaki boşlukta da bulunur [103]. Mn SOD (SOD2) mitokondri matriksinde bulunur. SOD1 ve SOD2 nöral dokularda yüksek oranda bulunur, bu yüzden serebral hasarda serum düzeylerinin ölçümü son derece önemlidir.

Yapılan bazı çalışmalar, SOD 1 enzimi aşırı ekspresyonunun post-iskemik hasar sonrası protein kinaz aktivasyonunu, DNA fragmentasyonunu, erken sitokrom salınmasını, kaspaz aktivasyonunu ve hücre ölüm sinyalinin ortaya çıkışını azalttığını göstermiştir [104-106].

Kim ve ark. farelerde SOD2 enziminin üretiminin engellendiğinde, orta serebral arter oklüzyonunun sonuçlarının kötüleştiğini tespit etmişlerdir [107].

Tüm bu çalışmalarda görülebildiği gibi iskemi reperfüzyon hasarı sırasında SOD'ın pro-apoptotik rolü önemlidir. İskemi reperfüzyon hasarında SOD aşırı ekspresyonunun sağlanması veya SOD benzeri maddelerin verilmesi hasarı hafifletebilir gibi görülmektedir. Ancak yine de yapılan çalışmalarda SOD aşırı salınımının etkilerinin uzun dönemli incelemesi yapılmamıştır. Yapılacak yeni araştırmalar ile SOD aşırı ekspresyonun yararlı etkileri kesinleştirildikten sonra yeni tedavi yöntemleri mümkün olabilcekse de, günümüzde SOD serebral iskemik reperfüzyon hasarının ciddiyeti ile korele bir belirteç olarak ve tedavi seçeneklerinin etkinliği için yol gösterici olarak kullanılmaktadır [108].

Biz çalışmamızda iskemi ve iskemi reperfüzyon grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı SOD yüksekliği tespit ettik. Bu durum Yang ve ark. çalışmasına benzer şekilde, serebral hasarı koruma çabası ile SOD enzim artışı olarak yorumlanabilir.

Başka bir çalışmada Yan ve ark.SOD enzimini serebral hasarı gösteren biyokimyasal bir parametre olarak kullanmışlardır. Çalışmamızın parçası olan memantin antioksidan etkileri de göz önüne alarak, SOD değerlerinin memantin grubunda iskemi reperfüzyon grubuna göre anlamlı şekilde düşük ölçülmesi, klinik anlamda memantin iskemi reperfüzyon hasarının azalttığı şeklinde yorumlanabilir.

Superoksit dismutaz, süperoksidi hidrojen peroksit ve oksijene indirgeyen bir enzimdir. Hidrojen peroksit de, hücre hasarında önemli rol oynayan serbest oksijen grubuna sahip reaktif bir oksijen radikalidir [109]. Oksidatif hasarın önlenmesi için hidrojen peroksitin eliminasyonu bu noktada büyük bir önem kazanır. Eliminasyonda da CAT ve GPx rol alır [110].

Aebi ve ark. ratlarda iskemik ve postiskemik beyin ödemi modelinde SOD ve CAT enzimlerinin iskemiden 3-24 saat sonra hafifçe azaldığı, 72 saat sonra ise arttığı göstermişlerdir [111]. Ancak biz çalışmamızda iskemi ve iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulduktan hemen sonra aldığımız kan örneklerinde SOD ve CAT düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığını tespit ettik. Hem bizim çalışmamız hem de Aebi ve ark. çalışmalarından farklı olarak, Werns ve ark. SOD ve CAT düzeylerinin serebral iskemiden etkilenmediğini öne sürmüşlerdir [112]. Ancak Kim ve ark. yapmış olduğu çalışmada serebral iskemi ve reperfüzyon ile CAT ve SOD düzeylerinin artışının vurgulaması, bizim deney sonuçlarımızla da örtüşmektedir [107].

Çalışmamızda memantin grubu ile serebral iskemi ve iskemi/reperfüzyon grubu karşılaştırıldığında, memantin grubunun CAT düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu saptanmıştır. Bu da memantin antioksidan etkilerine paralel olarak, serebral hasarın azaldığını bize göstermektedir [113].

Serebral iskemide hasar, oksidatif stres artışı ile reaktif oksijen metabolitlerinin birikimine neden olur. Oksidatif strese karşı rol alan en önemli moleküllerden biri GSH'dur.

Glutasyon S-Transferaz (GST) ise toksik komponentlerin inaktivasyon mekanizmasında rol alır. Oksidan strese karşı savunma mekanizmasında GST'nin önemli rolü olduğu bilinmektedir. Wang ve ark. serebral inme geçiren hastalarda oksidatif strese bağlı GST düzeylerinin azaldığını göstermişlerdir [114]. GST enzimi polimorfiktir ve polimorfizm nedeniyle eksik salınımı sonucu detoksifikasyonda azalma ve iskemik inme gelişimi, kalıcı hasar oluşumu için risk faktörü olabileceği ileri sürülmüştür [115].

Ratlarda eclipta albanın global serebral hasar üzerindeki etkilerinin incelendiği deneysel çalışmada GST ve antioksidanların düzeyleri değerlendirilmiş, iskemi ile GST düzeylerinin azaldığı eclipta alba ile GST düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir [116].

Ancak, Mansoorali ve ark. aksine çalışmamızda GST düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla, iskemi ve iskemi reperfüzyon grubunda arttığını tespit ettik. Memantin grubunda ise iskemi grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük GST düzeyleri olduğunu saptadık. Bu sonuçlar, yine memantin antioksidan etkileri ile örtüşmektedir.

Oksidatif stres bir çok organın iskemi ve reperfüzyon sonucu hasarlanmasında major rol oynar [117]. Oksidatif stres ile birlikte lipid peroksidasyonunda artış olur. Lipid peroksidasyonunun güvenilir göstergelerinden biri MDA'dır [118].

Çalışmamızda iskemi ve iskemi reperfüzyon hasar gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış MDA düzeyleri olduğunu tespit ettik. Serebral iskemi reperfüzyon hasarında MDA düzeylerinin arttığını gösteren çalışmalarla bizim yaptığımız çalışma verileri örtüşmektedir [119-121]. Kaptanoğlu ve ark. deneysel omurilik travmasında tiyopental ve propofolün antioksidan etkileri ve mikro yapısal bulgularını araştırmışlardır. Serebral kontüzyon hasarı olan ratlarda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak MDA düzeylerinin arttığını bulmuşlardır. Tiyopental ve propofolün lipid peroksidasyonunu azalttığını, MDA düzeylerini düşürdüğü ancak propofolün mikro yapıyı düzeltmediğini göstermişlerdir [122]. Biz de global serebral iskemi ve iskemi reperfüzyon

hasarı üzerine memantin uygulamasının etkilerini değerlendirmek için diğer parametrelerle beraber MDA düzeylerini de kullandık. Çalışmamızda memantin grubunda MDA düzeylerinin iskemi reperfüzyon grubundan daha düşük saptanması memantin lipid peroksidasyonunu azaltarak da iskemi reperfüzyon hasarı sırasında nroproteksiyona katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Serebral iskemi sonrası en önemli hedef hastalarda ortaya çıkacak sekonder hasarın ve klinik olarak ortaya çıkabilecek sekellerin engellenmesidir. Bu amaçla gerek deneysel gerekse klinik çalışmalarda birçok ajan denenmiş ama ideal bir ajan halen bulunamamıştır. Günümüzde de bu konu ile ilgili çalışmalar tüm hızıyla devam etmektedir. Biz de, NMDA reseptör antagonisti olan memantin, global serebral iskemi ve iskemi reperfüzyon hasarına etkisini araştırdığımız bu deneysel çalışamada, memantin, NSE, S-100 β ve antioksidan parametreleri olumlu yönde değiştirdiğini bulduk. Her ne kadar özellikle klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekse de bu bulgular ışığında memantin global serebral iskemi ve iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkili bir ajan olduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR:

1. Grace, P., *Ischaemia-reperfusion injury*. British Journal of Surgery, 1994. **81**(5): p. 637-647.
2. Kukreja, R.C. and M.L. Hess, *The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection*. Cardiovascular Research, 1992. **26**(7): p. 641-655.
3. Coselli, J.S., S. Büket, and B. Djukanovic, *Aortic arch operation: current treatment and results*. The Annals of thoracic surgery, 1995. **59**(1): p. 19-27.
4. Svensson, L., E. Crawford, and J. Sun, *Ischemia, reperfusion, and no-reflow phenomenon*. Cardiovascular and vascular disease of the aorta. Philadelphia: WB Saunders Co, 1997: p. 194-218.
5. Pagano, D., et al., *Retrograde cerebral perfusion: clinical experience in emergency and elective aortic operations*. The Annals of thoracic surgery, 1995. **59**(2): p. 393-397.
6. Braugher, J.M. and E.D. Hall, *Central nervous systems trauma and stroke: I. Biochemical considerations for oxygen radical formation and lipid peroxidation*. Free Radical Biology and Medicine, 1989. **6**(3): p. 289-301.
7. Johnson, J.W. and S.E. Kotermanski, *Mechanism of action of memantine*. Current opinion in pharmacology, 2006. **6**(1): p. 61-67.
8. Lipton, S.A., *Failures and successes of NMDA receptor antagonists: molecular basis for the use of open-channel blockers like memantine in the treatment of acute and chronic neurologic insults*. NeuroRx, 2004. **1**(1): p. 101-110.
9. Parsons, C., W. Danysz, and G. Quack, *Memantine is a clinically well tolerated N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist—a review of preclinical data*. Neuropharmacology, 1999. **38**(6): p. 735-767.

10. Robinson, D.M. and G.M. Keating, *Memantine*. Drugs, 2006. **66**(11): p. 1515-1534.
11. Palmer, G.C., *Neuroprotection by NMDA receptor antagonists in a variety of neuropathologies*. Current drug targets, 2001. **2**(3): p. 241-271.
12. Kumar, V., et al., *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition E-Book*. 2014: Elsevier Health Sciences.
13. Maldonado, C., et al., *Administration of exogenous adenosine triphosphate to ischemic skeletal muscle induces an energy-sparing effect: role of adenosine receptors*. journal of surgical research, 2013. **181**(1): p. e15-e22.
14. Bathe, O.F., A.W. Chow, and P. Phang, *Splanchnic origin of cytokines in a porcine model of mesenteric ischemia-reperfusion*. Surgery, 1998. **123**(1): p. 79-88.
15. Jiang, F., N. Guo, and G.J. Dusting, *Modulation of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase expression and function by 3', 4'-dihydroxyflavonol in phagocytic and vascular cells*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2008. **324**(1): p. 261-269.
16. Cross, C.E., et al., *Oxygen radicals and human disease*. Annals of internal medicine, 1987. **107**(4): p. 526-545.
17. McCord, J.M., *Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury*. New England Journal of Medicine, 1985. **312**(3): p. 159-163.
18. Halliwell, B., *Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?* The lancet, 1994. **344**(8924): p. 721-724.
19. Wilson, J.X. and A.W. Gelb, *Free radicals, antioxidants, and neurologic injury: possible relationship to cerebral protection by anesthetics*. Journal of neurosurgical anesthesiology, 2002. **14**(1): p. 66-79.
20. Warner, D.S., H. Sheng, and I. Batinić-Haberle, *Oxidants, antioxidants and the ischemic brain*. Journal of experimental biology, 2004. **207**(18): p. 3221-3231.

21. Stelmasiak, Z., et al., *Idiopathic hypoparathyroidism with intracranial calcifications and dominant skin manifestations*. Medical Science Monitor, 2000. **6**(1): p. CS145-CS150.
22. Moncada, S. and A. Higgs, *The L-arginine-nitric oxide pathway*. New England Journal of Medicine, 1993. **329**(27): p. 2002-2012.
23. Änggård, E., *Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine*. The Lancet, 1994. **343**(8907): p. 1199-1206.
24. Buisson, A., M. Plotkine, and R. Boulu, *The neuroprotective effect of a nitric oxide inhibitor in a rat model of focal cerebral ischaemia*. British journal of pharmacology, 1992. **106**(4): p. 766-767.
25. Kalender, S., et al., *Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E*. Toxicology, 2004. **202**(3): p. 227-235.
26. Niki, E., *Antioxidants in relation to lipid peroxidation*. Chemistry and Physics of Lipids, 1987. **44**(2-4): p. 227-253.
27. Placer, Z.A., L.L. Cushman, and B.C. Johnson, *Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems*. Analytical biochemistry, 1966. **16**(2): p. 359-364.
28. Shi, G.-F., G.-Y. Wang, and X.-F. Chen, *Screening of radical-scavenging natural neuroprotective antioxidants from Swertia chirayita*. Acta Biologica Hungarica, 2013. **64**(3): p. 267-278.
29. Parks, D.A., T.K. Williams, and J.S. Beckman, *Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation*. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 1988. **254**(5): p. G768-G774.

30. Lavelli, V., C. Peri, and A. Rizzolo, *Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using xanthine oxidase, myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000. **48**(5): p. 1442-1448.
31. Gutteridge, J. and B. Halliwell, *Free radicals and antioxidants in the year 2000: a historical look to the future*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2000. **899**(1): p. 136-147.
32. Elliott, J.G., *Application of antioxidant vitamins in foods and beverages: Developing nutraceuticals for the new millenium*. Food Technology, 1999. **53**(2): p. 46-48.
33. Gutteridge, J.M., *Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection*. Chemico-biological interactions, 1994. **91**(2-3): p. 133-140.
34. Reiter, R.J., *Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain*. The FASEB journal, 1995. **9**(7): p. 526-533.
35. Mogulkoc, R., et al., *Melatonin prevents oxidant damage in various tissues of rats with hyperthyroidism*. Life sciences, 2006. **79**(3): p. 311-315.
36. Valko, M., et al., *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. The international journal of biochemistry & cell biology, 2007. **39**(1): p. 44-84.
37. Fujii, J., et al., *Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissues*. Asian journal of andrology, 2003. **5**(3): p. 231-242.
38. Masella, R., et al., *Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes*. The Journal of nutritional biochemistry, 2005. **16**(10): p. 577-586.
39. Miller, J.D., et al., *Early insults to the injured brain*. Jama, 1978. **240**(5): p. 439-442.

40. Wakatsuki, A., et al., *Melatonin protects against ischemia and reperfusion-induced oxidative lipid and DNA damage in fetal rat brain*. Journal of pineal research, 1999. **26**(3): p. 147-152.
41. Vinson, J., et al., *Lipid peroxidation and diabetic complications: effect of antioxidant vitamins C and E*, in *Free Radicals in Diagnostic Medicine*. 1994, Springer. p. 430-432.
42. Sahu, S., et al., *Biochemical changes in the injured brain*. World journal of biological chemistry, 2017. **8**(1): p. 21.
43. Miller, R.D., et al., *Miller's Anesthesia*. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2010, Elsevier.
44. Traystman, R.J., *Animal models of focal and global cerebral ischemia*. ILAR journal, 2003. **44**(2): p. 85-95.
45. Fonnum, F., *Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain*. Journal of neurochemistry, 1984. **42**(1): p. 1-11.
46. Folbergrová, J., et al., *Focal and perifocal changes in tissue energy state during middle cerebral artery occlusion in normo-and hyperglycemic rats*. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 1992. **12**(1): p. 25-33.
47. Thal, S.C., K. Engelhard, and C. Werner, *New cerebral protection strategies*. Current Opinion in Anesthesiology, 2005. **18**(5): p. 490-495.
48. Kayaalp, S.O., *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. 2005: Hacettepe Taş Kitapçılık Limited Şti.
49. MacDermott, A.B., et al., *NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones*. Nature, 1986. **321**(6069): p. 519-522.

50. Choi, D.W., *Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage*. Trends in neurosciences, 1988. **11**(10): p. 465-469.
51. Nishizawa, Y., *Glutamate release and neuronal damage in ischemia*. Life sciences, 2001. **69**(4): p. 369-381.
52. Kim, A., G. Kerchner, and D. Choi, *Blocking excitotoxicity*, in *CNS neuroprotection*. 2002, Springer. p. 3-36.
53. Lipton, S.A., *Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: memantine and beyond*. Nature reviews Drug discovery, 2006. **5**(2): p. 160-170.
54. Jarvis, B. and D.P. Figgitt, *Memantine*. Drugs & aging, 2003. **20**(6): p. 465-476.
55. Möbius, H.-J., *Pharmacologic rationale for memantine in chronic cerebral hypoperfusion, especially vascular dementia*. Alzheimer Disease & Associated Disorders, 1999. **13**: p. S172-S178.
56. Ancelin, M., G. De Roquefeuil, and K. Ritchie, *Anesthésie et troubles cognitifs postopératoires chez le sujet âgé: état des connaissances cliniques et épidémiologiques*. Rev Epidemiol Sante Publique, 2000. **48**(5): p. 459-72.
57. McShane, R., A. Areosa Sastre, and N. Minakaran, *Memantine for dementia*. The Cochrane Library, 2006.
58. Kuniyara, T., et al., *Arterio-jugular differences in serum S-100 β proteins in patients receiving selective cerebral perfusion*. Surgery today, 2006. **36**(1): p. 6-11.
59. Herrmann, M., et al., *Neurobehavioral outcome prediction after cardiac surgery*. Stroke, 2000. **31**(3): p. 645-650.
60. Mielck, F., et al., *Cerebral inflammatory response during and after cardiac surgery*. European journal of anaesthesiology, 2005. **22**(5): p. 347-352.
61. Zimmer, D.B., et al., *The S100 protein family: history, function, and expression*. Brain research bulletin, 1995. **37**(4): p. 417-429.

62. Jönsson, H., et al., *Significance of serum S100 release after coronary artery bypass grafting*. The Annals of thoracic surgery, 1998. **65**(6): p. 1639-1644.
63. HIZLI, T., et al., *ÇOCUKLARDA EPİLEPTİK NÖBET SONRASI SERUM NÖRON SPESİFİK ENOLAZ DÜZEYLERİ*. 1999.
64. Schoerhuber, W., et al., *Time course of serum neuron-specific enolase*. Stroke, 1999. **30**(8): p. 1598-1603.
65. Herrmann, M., et al., *A contrastive analysis of release patterns of biochemical markers of brain damage after coronary artery bypass grafting and valve replacement and their association with the neurobehavioral outcome after cardiac surgery*. European journal of cardio-thoracic surgery, 1999. **16**(5): p. 513-518.
66. KÜÇÜKGÜÇLÜ, S., et al., *SERUM NEURON SPECIFIC ENOLASE LEVELS IN EXPERIMENTAL GLOBAL CEREBRAL ISCHEMIA*. 2000.
67. Pulsinelli, W. and A. Buchan, *The four-vessel occlusion rat model: method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation*. Stroke, 1988. **19**(7): p. 913-914.
68. Head, B.P. and P. Patel, *Anesthetics and brain protection*. Current Opinion in Anesthesiology, 2007. **20**(5): p. 395-399.
69. Earnest, M.P., et al., *Quality of survival after out-of-hospital cardiac arrest redictive value of early neurologic evaluation*. Neurology, 1979. **29**(1): p. 56-56.
70. Longstreth, W. and S.S. Dikmen, *Outcomes after cardiac arrest*. Annals of emergency medicine, 1993. **22**(1): p. 64-69.
71. Donato, R., *Intracellular and extracellular roles of S100 proteins*. Microscopy research and technique, 2003. **60**(6): p. 540-551.
72. Heizmann, C.W., G. Fritz, and B. Schafer, *S100 proteins: structure, functions and pathology*. Front Biosci, 2002. **7**(1): p. 1356-1368.

73. Rothermundt, M., et al., *S100B in brain damage and neurodegeneration*. Microscopy research and technique, 2003. **60**(6): p. 614-632.
74. Ilg, E.C., B.W. Schäfer, and C.W. Heizmann, *Expression pattern of S100 calcium-binding proteins in human tumors*. International journal of cancer, 1996. **68**(3): p. 325-332.
75. Kahn, H., et al., *Immunoreactivity of S100 beta in heart, skeletal muscle, and kidney in chronic lung disease: possible induction by cAMP*. Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc, 1991. **4**(6): p. 698-701.
76. Herrmann, M., et al., *Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke*. Stroke, 2000. **31**(11): p. 2670-2677.
77. Ingebrigtsen, T., et al., *Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome*. Neurosurgery, 1999. **45**(3): p. 468-476.
78. Raabe, A., et al., *Correlation of computed tomography findings and serum brain damage markers following severe head injury*. Acta neurochirurgica, 1998. **140**(8): p. 787-792.
79. Raabe, A., et al., *Jugular venous and arterial concentrations of serum S-100B protein in patients with severe head injury: a pilot study*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 1998. **65**(6): p. 930-932.
80. Fugate, J.E., et al., *Predictors of neurologic outcome in hypothermia after cardiac arrest*. Annals of neurology, 2010. **68**(6): p. 907-914.
81. Floerchinger, B., et al., *NSE serum levels in extracorporeal life support patients—Relevance for neurological outcome?* Resuscitation, 2017. **121**: p. 166-171.

82. Barone, F.C., et al., *Neuron-specific enolase increases in cerebral and systemic circulation following focal ischemia*. Brain research, 1993. **623**(1): p. 77-82.
83. Horn, M., F. Seger, and W. Schlote, *Neuron-specific enolase in gerbil brain and serum after transient cerebral ischemia*. Stroke, 1995. **26**(2): p. 290-297.
84. Steinberg, R., et al., *Experimental Brain Ischemia: Neuron-Specific Enolase Level in Cerebrospinal Fluid as an Index of Neuronal Damage*. Journal of neurochemistry, 1984. **43**(1): p. 19-24.
85. Uzan, M., et al., *The significance of neuron specific enolase levels in cerebrospinal fluid and serum after experimental traumatic brain damage*. Acta neurochirurgica, 1995. **135**(3): p. 141-143.
86. Hay, E., et al., *Cerebrospinal fluid enolase in stroke*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 1984. **47**(7): p. 724-729.
87. Royds, J., et al., *Enolase isoenzymes in the cerebrospinal fluid of patients with diseases of the nervous system*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 1983. **46**(11): p. 1031-1036.
88. Vermuyten, K., A. Lowenthal, and D. Karcher, *Detection of neuron specific enolase concentrations in cerebrospinal fluid from patients with neurological disorders by means of a sensitive enzyme immunoassay*. Clinica chimica acta, 1990. **187**(2): p. 69-78.
89. Lai, T.W., W.-C. Shyu, and Y.T. Wang, *Stroke intervention pathways: NMDA receptors and beyond*. Trends in molecular medicine, 2011. **17**(5): p. 266-275.
90. Lipton, S.A., *Paradigm shift in NMDA receptor antagonist drug development: molecular mechanism of uncompetitive inhibition by memantine in the treatment of Alzheimer's disease and other neurologic disorders*. Journal of Alzheimer's Disease, 2004. **6**(s6): p. S61-S74.

91. Gill, R., A. Foster, and G. Woodruff, *Systemic administration of MK-801 protects against ischemia-induced hippocampal neurodegeneration in the gerbil*. Journal of Neuroscience, 1987. **7**(10): p. 3343-3349.
92. Ghaffary, S., et al., *Effect of memantine on post-operative cognitive dysfunction after cardiac surgeries: a randomized clinical trial*. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017. **25**(1): p. 24.
93. Sies, H., *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*. Experimental physiology, 1997. **82**(2): p. 291-295.
94. Evans, P., *Free radicals in brain metabolism and pathology*. British Medical Bulletin, 1993. **49**(3): p. 577-587.
95. Abd-Elfattah Foda, M.A. and A. Marmarou, *A new model of diffuse brain injury in rats: Part II: Morphological characterization*. Journal of neurosurgery, 1994. **80**(2): p. 301-313.
96. Mellon, L., et al., *Stroke warning campaigns: delivering better patient outcomes? A systematic review*. Patient related outcome measures, 2015. **6**: p. 61.
97. Uchiyama, S., et al., *Final results of cilostazol-aspirin therapy against recurrent stroke with intracranial artery stenosis (CATHARSIS)*. Cerebrovascular diseases extra, 2015. **5**(1): p. 1-13.
98. Liu, B., et al., *Gadd45b is a novel mediator of neuronal apoptosis in ischemic stroke*. International journal of biological sciences, 2015. **11**(3): p. 353.
99. Nadjafi, S., S.-A. Ebrahimi, and N. Rahbar-Roshandel, *Protective effects of berberine on oxygen-glucose deprivation/reperfusion on oligodendrocyte cell line (OLN-93)*. International journal of preventive medicine, 2014. **5**(9): p. 1153.
100. Suzuki, G., et al., *Evaluation of neuronal protective effects of xanthine oxidoreductase inhibitors on severe whole-brain ischemia in mouse model and*

- analysis of xanthine oxidoreductase activity in the mouse brain*. *Neurologia medico-chirurgica*, 2015. **55**(1): p. 77-85.
101. Zhong, L., et al., *Systolic hypertension related single nucleotide polymorphism is associated with susceptibility of ischemic stroke*. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2017. **21**(12): p. 2901.
 102. Sonkusare, S., C. Kaul, and P. Ramarao, *Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders—memantine, a new hope*. *Pharmacological Research*, 2005. **51**(1): p. 1-17.
 103. Okado-Matsumoto, A. and I. Fridovich, *Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver Cu, Zn-SOD in mitochondria*. *Journal of Biological Chemistry*, 2001. **276**(42): p. 38388-38393.
 104. Fujimura, M., et al., *Copper-zinc superoxide dismutase prevents the early decrease of apurinic/apyrimidinic endonuclease and subsequent DNA fragmentation after transient focal cerebral ischemia in mice*. *Stroke*, 1999. **30**(11): p. 2408-2415.
 105. Noshita, N., et al., *Copper/zinc superoxide dismutase attenuates neuronal cell death by preventing extracellular signal-regulated kinase activation after transient focal cerebral ischemia in mice*. *Journal of Neuroscience*, 2002. **22**(18): p. 7923-7930.
 106. Saito, A., et al., *Overexpression of copper/zinc superoxide dismutase in transgenic mice protects against neuronal cell death after transient focal ischemia by blocking activation of the Bad cell death signaling pathway*. *Journal of Neuroscience*, 2003. **23**(5): p. 1710-1718.
 107. Kim, G.W., et al., *Manganese superoxide dismutase deficiency exacerbates cerebral infarction after focal cerebral ischemia/reperfusion in mice*. *Stroke*, 2002. **33**(3): p. 809-815.

108. Yan, R., et al., *The protective effect and its mechanism of 3-n-butylphthalide pretreatment on cerebral ischemia reperfusion injury in rats*. European review for medical and pharmacological sciences, 2017. **21**(22): p. 5275-5282.
109. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. 2015: Oxford University Press, USA.
110. Marklund, S.L., et al., *Copper-and zinc-containing superoxide dismutase, manganese-containing superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in normal and neoplastic human cell lines and normal human tissues*. Cancer Research, 1982. **42**(5): p. 1955-1961.
111. Abe, K., S. Yuki, and K. Kogure, *Strong attenuation of ischemic and postischemic brain edema in rats by a novel free radical scavenger*. Stroke, 1988. **19**(4): p. 480-485.
112. Werns, S.W., et al., *Reduction of the size of infarction by allopurinol in the ischemic-reperfused canine heart*. Circulation, 1986. **73**(3): p. 518-524.
113. Fornasari, E., et al., *Synthesis and Antioxidant Properties of Novel Memantine Derivatives*. Central nervous system agents in medicinal chemistry, 2017. **17**(2): p. 123-128.
114. Wang, J., et al., *Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase genes GSTM1, GSTT1 and risk of coronary heart disease*. Mutagenesis, 2010. **25**(4): p. 365-369.
115. Um, J.-Y., et al., *Glutathione s-transferase gene polymorphism and ischemic cerebrovascular disease*. International journal of neuroscience, 2006. **116**(1): p. 55-65.
116. Mansoorali, K., et al., *Cerebroprotective effect of Eclipta alba against global model of cerebral ischemia induced oxidative stress in rats*. Phytomedicine, 2012. **19**(12): p. 1108-1116.

117. Abd-Elsameea, A., A. Moustaf, and A. Mohamed, *Modulation of the oxidative stress by metformin in the cerebrum of rats exposed to global cerebral ischemia and ischemia/reperfusion*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014. **18**(16): p. 2387-2392.
118. Abdel-Salam, O.M., et al., *Neuroprotective and hepatoprotective effects of micronized purified flavonoid fraction (Daflon®) in lipopolysaccharide-treated rats*. Drug Discoveries & Therapeutics, 2012. **6**(6): p. 306-314.
119. Aras, M., et al., *Effects of ebselen on ischemia/reperfusion injury in rat brain*. International Journal of Neuroscience, 2014. **124**(10): p. 771-776.
120. Ono, T., et al., *Xanthine oxidase is one of the major sources of superoxide anion radicals in blood after reperfusion in rats with forebrain ischemia/reperfusion*. Brain research, 2009. **1305**: p. 158-167.
121. Shao, A., et al., *Astragaloside IV alleviates early brain injury following experimental subarachnoid hemorrhage in rats*. International journal of medical sciences, 2014. **11**(10): p. 1073.
122. Kaptanoglu, E., et al., *Antioxidant actions and early ultrastructural findings of thiopental and propofol in experimental spinal cord injury*. Journal of neurosurgical anesthesiology, 2002. **14**(2): p. 114-122.

8. ÖZET

RATLARDA OLUŞTURULAN GLOBAL SEREBRAL İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE MEMANTİN UYGULAMASININ OLUŞAN BEYİN HASARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Kardiyak arrest ve majör damar cerrahiler sırasında serebral kan akımının kesintiye uğramasıyla global serebral iskemi oluşmaktadır. Global serebral iskemide oluşan beyin hasarı, iskemi ve reperfüzyona sekonder; N-methyl-D-aspartate reseptör aktivasyonu, hücre içi Ca^{++} homeostazisinde bozulma, oksidatif stresi içeren kompleks patofizyolojik süreçler sonucunda gelişmektedir. Ekstrasinaptik NMDA reseptör inhibitörü olan memantin, insanlarda yan etkilerinin az olmaları nedeniyle nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanımları söz konusu olan moleküldür. Çalışmamızın amacı, serebral iskemi ve iskemi reperfüzyon hasarında memantinin etkilerini araştırmaktır.

Bu çalışmada 24 adet erkek Wistar-Albino ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı; kontrol grubu (G K), iskemi grubu (G I), iskemi-reperfüzyon grubu (G I/R), memantin grubu (G M). Kontrol grubu haricindeki ratlarda serebral iskemi modeli Pulsinelli ve arkadaşları tarafından tarif edilen 4 damar oklüzyon modeli kullanılarak gerçekleştirildi. İskemi reperfüzyon grubunda 20 dakika iskemiyi takiben 1 saat reperfüzyon uygulandı ve memantin grubunda reperfüzyon ile eş zamanlı olarak memantin verildi. Dört grupta NSE, S-100 β ile antioksidan parametrelerden SOD, CAT, MDA ve GST düzeyleri çalışıldı.

G K ile kıyaslandığında S-100 β ve NSE düzeyleri G I ve G I/R da istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. S-100 β ve NSE düzeyleri G M’de, G I/R’dan istatistiksel olarak anlamlı derece düşük olduğu tespit edildi. Antioksidan parametrelerden SOD, CAT, MDA düzeylerinde G M’da G I/R’dan istatistiksel olarak anlamlı düşük düzeyler tespit edildi. Ancak GST düzeylerinde G M ve G I/R arasında anlamlı fark bulunamadı.

Sonuç olarak, global serebral iskemide memantin uygulamasının iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Global serebral iskemi, reperüzyon, memantin



9. SUMMARY

Cessation of cerebral blood flow during cardiac arrest and major vascular surgery leads to global cerebral ischemia. Cerebral injury is related to pathological processes including N-methyl-D-Aspartate receptor activation, impairment of intracellular Ca^{++} homeostasis and oxidative stress as a result of ischemia and reperfusion. Extrasynaptic NMDA receptor antagonist memantine is preferred for the treatment of neurodegenerative diseases for its low adverse event profile. The aim of the study is to evaluate the effects of memantine on cerebral ischemia and ischemia reperfusion injury.

Twenty four Wistar-Albino rats were enrolled into 4 groups; control group (GC), ischemia group (IG), ischemia reperfusion group (GI/R) and memantine group (GM). In all groups except control ischemia was performed using the 4 vessel occlusion model described by Pulsinelli et al. In GI/R 1 hour of reperfusion was performed after 20 minutes of ischemia and memantine was given with the beginning of reperfusion in GM. Neuron specific enolase, s100b, SOD, CAT, MDA and GST were used for evaluating the degree of injury.

The elevation in S100b and NSE levels were statistically significant in GI and GI/R when compared to GC and decrease in GM was statistically significant when compared to GI/R. SOD, CAT, MDA were significantly lower in GM when compared to GI/R. GST levels were comparable in GM and GI/R.

We believe that memantine administration may be protective against ischemia reperfusion injury in global cerebral ischemia.

Keywords: Global cerebral ischemia, reperfusion, memantine

10. EKLER

10. 1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu

Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 05/06/2017-E.80900



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Doç. Dr. Hasan Kutluk PAMPAL
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanlığı - Uzman Dr.

Araştırmacı grubu Hasan Kutluk PAMPAL, Gül Meral KOCABEYOĞLU, Mustafa KAVUTÇU'dan oluşan, G.Ü.ET-17.037 kod numaralı ve *"Ratlarda Oluşturulan Global Serebral İskemi/Reperfüzyon Modelinde Memantin Uygulamasının Oluşan Beyin Hasarı Üzerindeki Etkileri"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-17.037 and entitled *"The Effects of Memantine on Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Rats"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Rat Wistar Albino(Erkek)
Hayvan Sayısı : 24

Ek:1 Liste

Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için :Esengül BOŞNAK
Genel Evrak Sorumlusu

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Gül Meral KOCABEYOĞLU (HOŞGÖREN)

Doğum Tarihi: 08.09.1988

Doğum Yeri: MERKEZ / ÇANKIRI

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

E-mail: gmeralhosgoren@hotmail.com

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	FEN BİLİMLERİ	KIRIKKALE FEN LİSESİ	2006
Lisans	TIP	ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	2013

Görev Yeri ve Ünvanlar:

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl
Pratisyen Dr.	Yozgat Devlet Hastanesi Acil Servis	2013-2014
Arş.Gör.	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı	2014-halen

ESERLER

A.Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler:

A1. Gaygısız Ü, Boyacı N, **Hoşgören G M**, Karabıyık L, Complications due to central venous catheterization and the guide wire in a patient with multiple traumas. 20 th International Intensive Care Symposium, İstanbul , 8-9 May 2015.

A2. Sonmez K, Karabulut R, Turkyilmaz Z, Turkyilmaz C, Isik B, Eryilmaz S, Seref K, Ozcan E, Hosgoren GM, Basaklar AC. Our experience in two cases of type IV

laryngotracheoesophageal cleft (LTEC) with a diagnosis of antenatal esophageal atresia. Pan Afr Med J. 2017 Feb 1;26:55. doi: 10.11604/pamj.2017.26.55.10647

B.Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

C. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

C1. Hoşgören G M, Atak F, Işık B, Fındıkçıoğlu K. Beklenmedik bir yanık komplikasyonu, bir olgu nedeniyle, 49. Ulusal Türk anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Kongresi, Antalya, 2-6 Aralık 2015.

C2. Hoşgören G M, Baltacı S, Pampal K, Kartagener sendromlu hastada laringeal maske uygulaması, 49. Ulusal Türk anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Kongresi, Antalya, 2-6 Aralık 2015.

C3. İnan G, Hoşgören G M, Ünal E, Son Trimestr Gebede Spinal Cerrahi, 49. Ulusal Türk anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Kongresi, Antalya, 2-6 Aralık 2015.

D. Sertifikalar:

D1. ALS Provider Course, Eurpean Resustasyon Council, October 2015, Ankara.

D2. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu 2017, Ankara

E. Katıldığı Kurslar:

E1.Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi 2015, Ankara

E2. Klinik USG kullanım Kursu TARK 2016, İstanbul

F. Katıldığı Kongreler:

F1. 20 th İnternational İntensive Care Symposium, İstanbul, 8-9 May 2015.

F2. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği 50. Ulusal Kongresi

