

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NORÖLOJİ ANABİLİM DALI**

**İSKEMİ-REPERFÜZYON MODELİ OLUŞTURULMUŞ RAT
BEYİN DOKUSUNDA TRPM2 KATYON KANALLARININ
EKSPRESYONU**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Ferhat BALGETİR**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Caner Feyzi DEMİR**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur

Prof. Dr. Bülent MÜNGEN
Nöroloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....
Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....
.....
.....
.....
.....

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince benden desteklerini esirgemeyen, bilgisinden ve tecrübesinden her zaman yararlandığım, Nöroloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Bülent MÜNGEN'e, tezimin hazırlanması aşamasında destekleriyle bana her zaman yardımcı olan ve asistanlık eğitimime büyük katkı sağlayan, tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Caner Fevzi DEMİR'e, asistanlık eğitimime katkılarından dolayı Nöroloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyeleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Serpil BULUT'a, Prof. Dr. M. Said BERİLGİN'e ve Yrd. Doç. Dr. Murat GÖNEN'e, tezimin her aşamasında desteğini gördüğüm, deneyiminden ve bilgisinden faydalandığım Fırat Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, yine katkılarından dolayı Tbbi Biyoloji öğretim üyesi Doç. Dr. Ebru ÖNALAN'a ve Nöroloji Anabilim dalında birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca devamlı arkamda olduğunu bildiğim sevgili eşime, beni kendilerinden çok düşünen, şefkat ve dualarıyla her zaman yanımda olan anneme, babama ve ablama teşekkür ederim.

ÖZET

Beyin hasarına neden olan inmenin iki temel mekanizması iskemi ve hemorajidir. İskemik inmede, artmış oksidatif strese bağlı olarak beyin hücrelerinde meydana gelen apoptozise bağlı olarak fonksiyon bozukluğu oluşmaktadır.

Bu çalışmada, iskemi-reperfüzyonun (İ-R) oksidatif stress ile aktive edilen Transient Reseptör Potansiyel Melastatin2 (TRPM2) kanal ekspresyonu üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, 28 adet 8-10 haftalık Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 6 hayvan olacak biçimde 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna deney süresince bir uygulama yapılmadı. Sham gruplarında (sham2-sham6) bilateral karotis kommunis arterler ortaya çıkarıldıktan sonra ciltleri kapatılıp deneyin 2.ve 6. saatinde dekapite edildi. İ-R gruplarında ise bilateral karotis kommunis arterler ortaya çıkarıldıktan sonra anevrizma klip'leri ile 45 dakika süre ile kliplenip ardından klipler açılarak İ-R2 grubunda 2 saat, İ-R6 grubunda 6 saat reperfüzyonu sağlandı.

Deney sonunda sıçanlar anestezi altında dekapite edildi ve beyin dokuları çıkartıldı. MDA ve TRPM2 mRNA düzeyleri için beyin dokuları çalışmanın sonuna kadar -80°C 'de saklandı. Histolojik çalışma için rutin takip işlemi ile dokular parafin bloklara gömüldü. Bloklardan alınan kesitlere apoptotik hücrelerin belirlenmesi için TUNEL metodu, TRPM2 immünreaktivitesi için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi uygulandı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında İ-R6 grubunda belirgin olmak üzere İ-R gruplarında MDA, apoptozis ve TRPM2 seviyesi artış gözlemlendi.

Deneyisel iskemi-reperfüzyonun beyin dokusunda MDA, apoptozis ve TRPM2 seviyelerini arttırdığı, iskemi-reperfüzyonun beyin dokusunu etkilemesinin patofizyolojisinde TRPM2'nin önemli bir rol oynayabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: İskemi-reperfüzyon, Sıçan, Beyin, TRPM2, Apoptozis

ABSTRACT

THE EXPRESSION OF TRPM2 CATION CHANNELS ON RAT BRAIN TISSUE THAT HAS ISCHEMIA REPERFUSION MODEL DONE

Stroke is a heterogeneous group of diseases caused by decreased perfusion of the brain due to occlusion of the blood vessels supplying the brain or a haemorrhage originating in them. In ischemic stroke, apoptosis in the brain cells induced by the increased oxidative stress causes dysfunctions.

The main objective of this study is to analyze the effects of ischemia reperfusion (I-R) on Transient Receptor Potential Melastatin 2 (TRPM2) channel expression activated by oxidative stress.

28 Wistar albino 8-10 weeks old male rats were used in the study. Experimental animals were divided into 5 groups with 6 animals each. Control group was not administered with anything during the tests. In Sham groups (sham2 – sham6), after bilateral carotid communis arteries were extracted, the dermis was sealed and the rats were decapitated on the 2nd and 6th hours of the experiment. In I-R groups, after the bilateral carotid communis arteries were extracted, they were clipped using aneurysm clips for 45 minutes and then unclipped and left for reperfusion for 2 hours in I-R2 group and for 6 hours in I-R6 group.

At the end of the experiment, rats were decapitated under anesthesia and brain tissues were dissected. Brain tissues were stored in -80°C for MDA and TRPM2 mRNA levels until the end of the study. The tissues were buried in paraffin blocks with routine follow-up procedure for histologic study. TUNNEL method was applied to the sections removed from the blocks for determination of apoptotic cells and avidin-biotin-peroxidase method was applied for TRPM2 immunoreactivity.

It was observed that MDA, Apoptosis and TRPM2 levels increased in I-R groups, with a significant increase in the I-R6 group, when compared to the control group.

It was concluded that empirical ischemia reperfusion increased MDA, apoptosis and TRPM2 levels in brain tissues and TRPM2 could play a significant role in the pathophysiology of the effects of ischemia reperfusion on the brain tissue.

Keywords: Ischemia reperfusion, rats, brain, TRPM2, Apoptosis

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISLATMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1 İskemik İnme	2
1.1.1 Tanım	2
1.1.2. Epidemiyoloji	2
1.1.3. Etiyoloji	3
1.1.4 Risk Faktörleri	6
1.1.5 Patofizyoloji	9
1.2. İskemik İnme Kliniği	12
1.2.1 Tanı	16
1.2.2. Ayırıcı Tanı	17
1.2.3. Tedavisi	18
1.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	19
1.4. Hücre Zarının Yapısı ve Hücre Zarı Kanalları	20
1.4.1 Transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) kanalları	20
1.4.2 Transient Reseptör Potensiyal Melastatin2 (TRPM2)	21
2. GEREÇ VE YÖNTEM	22
2.1. Deney Hayvanları Ve Beslenmeleri	22
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	23
2.3. Doku Örneklerinin Alınması	23
2.4. Malondialdehid (MDA) Çalışması	24
2.5. TUNEL Metodu	25
2.6. İmmünohistokimyasal İnceleme	26

2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) Metodu	28
2.8. İstatistiksel Analiz	31
3. BULGULAR	32
3.1. MDA Bulgular	32
3.2. TUNEL Bulgular	32
3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Bulguları	36
3.4. TRPM2 İmmünreaktivitesi	38
4. TARTIŞMA	42
5. KAYNAKLAR	46
6. ÖZGEÇMİŞ	57

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Kardiyoembolik İnme Nedenleri ve Risk Düzeyleri	5
Tablo 2.	İnme Benzeri Yapan Non Vasküler Nedenler	18
Tablo 3.	Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi.....	22
Tablo 4.	Histolojik Takip Serileri	24
Tablo 5.	TUNEL Boyama Prosedürü.	26
Tablo 6.	İmmünohistokimyasal boyama prosedürü	28
Tablo 7.	cDNA karışım miktarı	29
Tablo 8.	cDNA sentezi için uygulanan PZR programı.....	30
Tablo 9.	RT-PZR’da kullanılan primerler	30
Tablo 10.	RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler	30
Tablo 11.	Uygulanan RT-PZR programı	31
Tablo 12.	Doku MDA değerleri.....	32
Tablo 13.	Apoptotik İndeks (%).	32
Tablo 14.	TRPM2 mRNA düzeyleri.	37
Tablo 15.	Histoskor	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Kontrol grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler.....	33
Şekil 2.	Sham I grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler.....	33
Şekil 3.	Sham II grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	34
Şekil 4.	İ-R2 grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler	34
Şekil 5.	İ-R6 grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler	35
Şekil 6.	TUNEL negatif kontrol.	35
Şekil 7.	TUNEL pozitif kontrol. Meme dokusu.....	36
Şekil 8.	Kontrol grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi.....	39
Şekil 9.	Sham I grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi.....	39
Şekil 10.	Sham II grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	40
Şekil 11.	İ-R2 grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi.....	40
Şekil 12.	İ-R6 grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi.....	41
Şekil 13.	TRPM2 negatif kontrol.	41

KISALTMALAR LİSTESİ

ACA	: Anterior Serebral Arter
AI	: Apoptotik indeks
AICA	: Anterior inferior serebellar arter
DAB	: Diaminobenzidine
FÜBAP	: Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
GAPDH	: Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz
GİA	: Geçici iskemik ataklar
İ-R	: İskemi-reperfüzyonun
KH	: Kalp Hastalıkları
LACI	: Laküner infarktlar
MCA	: Orta serebral arter
MDA	: Malondialdehid
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSS	: Merkezi Sinir Sisteminin
NVAF	: Nonvalvüler AF
PACI	: Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları.
PBS	: Phosphate buffered saline
PICA	: Posterior inferior serebellar arter
POCI	: Posterior sirkülasyon infarktları.
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SPB	: Serebral perfüzyon basıncı
SOR	: Serbest Oksijen radikali
TACI	: Total anterior sirkülasyon infarktları.
TOAST	: Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment
TRPM	: Transient reseptör potansiyel melastatin

1. GİRİŞ

İnme batı ülkelerinde ölüm nedenleri arasında kardiyak hastalıklar ve kanserlerden sonra üçüncü ve erişkin dönemdeki sakatlıkların en sık ikinci nedenidir. 1999 yılında dünyada 5,5 milyon insan inmeye bağlı olarak ölmüştür. Bu yaklaşık olarak dünyadaki tüm ölümlerin %10'unu oluşturmaktadır (1).

İnme'nin % 80-85'ini iskemik inme oluşturmaktadır ve nörolojik hastalıkların en sık görüleni ve en çok ölüme neden olanıdır (2).

Ülkemizde inme hastalarının genel özellik ve risk faktörlerinin araştırıldığı hastane tabanlı çok merkezli bir çalışmada; hemorajik inme %28, iskemik inme %72 oranında bulunmuştur (3). Tüm iskemik inmelerin %50'sinin nedeni geniş arter aterosklerozudur. İskemi, sıklıkla ekstrakranial ve nadir olarak intrakranial damarlarda ve bunların bifurkasyon bölgelerinde, yıllar içerisinde gelişen aterom plaklarının bozulmasıyla ortaya çıkan trombozlara bağlı olarak gelişir (4).

Beyin hasarına neden olan inmenin iki temel mekanizması iskemi ve hemorajidir. İnmelerin yaklaşık %80'inin nedeni olan iskemik inmede kan dolaşımının azalmasıyla nöronlar kendileri için gerekli maddelerden yoksun kalmaktadır. İskeminin etkisi beyinde oldukça hızlıdır. Çünkü kendisi için primer enerji kaynağı olan glukozu saklamaz ve anaerobic metabolizmaya maruz kalır (5). Serebrovasküler hastalıkta gelişen klinik sendrom damar tıkanmasıyla etkilenen beyin bölgesinin fonksiyonlarının kaybına bağlı olarak değişir. İskemik inmenin tedavisinde amaç, hasarlı beyin dokusunu en az düzeye indirmek, oluşabilecek ikincil hasarları engellemektir. Ayrıca akut dönemde oluşabilecek komplikasyonların önüne geçmekte tedavinin diğer amacıdır. Antiagregan, antikoagülan, trombolitik, antiödem ve nöroprotektif tedaviler bu yaklaşımların ana başlıklarını oluşturmaktadır. Akut iskemik inmede üzerinde en çok araştırma yapılmış antiagregan ajan aspirindir. Tiklopidin, klopidoğrel, dipiridamol ve glikoprotein IIb/IIIa antagonistleri ile akut dönemde tedavi konusunda yeterli bilgi henüz mevcut değildir (6).

Serbest radikaller; proteinler, lipidler, karbonhidratlar, nükleik asitler ve DNA üzerinde hasar yapıcı etkiye sahiptirler. Bundan dolayı, hücre içi savunma yollarını inaktive edebilir ve belirli bir konsantrasyona ulaştıklarında hücre içi

bileşenlerle reaksiyona girerek metabolik ve hücrel bozukluklara sebebiyet verebilirler (7).

Serbest oksijen radikalleri (SOR) ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında, kanser oluşumunda, diabette, iskemi/reperfüzyon hasarlarında, inflamatuvar rahatsızlıklarda, nöro-dejeneratif hastalıklarda ve yaşlanmanın etyopatogenezinde rol oynadığı bilinmektedir (8).

Transient reseptör potansiyel melastatin 2 (TRPM2) kanalı oksidatif stress ile aktive edilebildiği için, son zamanlarda, diyabet, inflamasyon, miyokardiyal enfarktüs ve nörodejeneratif hastalıklar da dahil olmak üzere, oksidatif strese bağlı ortaya çıkan hastalıklara karşı potansiyel bir terapötik hedef olarak görülmüştür (9).

Bu çalışmada İskemi-reperfüzyon modeli oluşturulmuş rat beyin dokusunda TRPM2 katyon kanallarının ekspresyonu'nun incelenmesi amaçlanmıştır.

1.1. İskemik İnme

1.1.1. Tanım

2006 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan tanımlamaya göre İskemik İnme; vasküler neden dışında başka bir neden olmaksızın, hızlı olarak yerleşip fokal veya global serebral fonksiyon bozukluğuna yol açan 24 saat veya daha uzun sürebilen bununla beraber bazen ölümle de sonuçlanabilen klinik bir durumdur (10).

1.1.2. Epidemiyoloji

İnme batı ülkelerinde ölüm nedenleri arasında kardiyak hastalıklar ve kanserlerden sonra üçüncü ve erişkin dönemdeki sakatlıkların en sık ikinci nedenidir. 1999 yılında dünyada 5,5 milyon insan inmeye bağlı olarak ölmüştür. Bu yaklaşık olarak dünyadaki tüm ölümlerin %10'unu oluşturmaktadır (1).

İnme'nin % 80-85'ini iskemik inme oluşturmaktadır ve nörolojik hastalıkların en sık görüleni ve en çok ölüme neden olanıdır. İskemik inme; kişi, aile ve toplum üzerinde psikososyal problemlere yol açmaktadır, bunun dışında ekonomik yönden

de yük oluşturmaktadır. Bu nedenle inmenin önlenmesi ve tedavisi, çok önemli bir halk sağlığı sorunudur (2).

Yılda 700.000 inme olgusu ortaya çıkan ABD'de; inme kalp hastalıkları ve kanserden sonraki üçüncü ölüm nedenini oluşturmaktadır. İnme sonrasında hastaların % 50-70'i fonksiyonel olarak bağımsızlık kazanmakta, %15-30'unda kalıcı sekel kalarak yaşamakta, %20'si bakıma muhtaç kalmaktadır (11).

Ülkemizde inme hastalarının genel özellik ve risk faktörlerinin araştırıldığı hastane tabanlı çok merkezli bir çalışmada; hemorajik inme %28, iskemik inme %72 oranında bulunmuştur (3).

Yapılan çalışmalarda yaşlara göre yıllık inme insidansı; 55-64 yaşlarında 1,7-3,6/1000 kişi, 65-75 yaşlarında 4,9-8,9/1000 kişi, 75 yaştan sonra 13,5-17,9/1000 kişidir (12). Kadınlarda 55-64 yaş arası inme insidansı erkeklere göre 2-3 kat daha az olup 85 yaşına doğru bu farkın azaldığı bildirilmiştir (13).

1.1.3. Etiyoloji

Etiyolojiye göre sınıflandırma, serebral infarktlarda akut iskeminin tedavisi ve prognozunda önemli olduğu kadar ikincil koruma açısından da çok önemlidir.

Bamford ve arkadaşları 1991 yılında klinik bulgulara göre bir sınıflandırma yapmışlardır (14).

1. Total anterior sirkülasyon infarktları (TACI).
2. Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları (PACI).
3. Posterior sirkülasyon infarktları (POCI).
4. Laküner infarktlar (LACI).

1. Total anterior sirkülasyon infarktları (TACI):

Yüksek kortikal fonksiyon bozukluğunun (disfazi, diskalkuli, vizyospasyal bozukluk), homonim hemianopsinin ve motor/duysal defisit bulgularının bir arada olduğu durumdur.

2. Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları (PACI):

Tek başına yüksek kortikal fonksiyon bozukluğu veya kontralateral motor/duysal defisitinin olması veya Üç TACI komponentinden ikisinin olduğu durumu içerir.

3. Posterior sirkülasyon infarktları (POCI):

Bu grup içinde Wallenberg sendromu, serebellar infarkt, sınırlı beyin sapı tutulumu, geniş beyin sapı tutulumu, baziler tepe sendromları, iyi tanımlanamayan posterior sirkülasyon sendromları yer alır.

4. Laküner infarktlar (LACI):

Bu grup içinde Pur motor inme, pur duysal inme, ataksik hemiparezi, dizatri-beceriksiz el sendromu yer alır.

Bu sınıflamanın güvenilirliğini denemek amacıyla iki araştırmacı birbirinden habersiz olarak aynı hastaları değerlendirmişler ve aralarında orta iyi derecede uyumluluk bulmuşlardır (15).

Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) 1993 yılında çalışmasında kullanılan sınıflandırmada, klinik bulgulara ek olarak etiyolojiye de yer verilmiştir (16).

1. Geniş arter ateroskleroza (tromboz veya emboli).
2. Kardiyoembolizm.
3. Küçük damar oklüzyonu (lakün).
4. Diğer belirlenen etiyojiler.
5. Sebebi belirlenemeyenler.

1. Geniş arter ateroskleroza (tromboz veya emboli).

Tüm iskemik inmelerin %50'sinin nedeni geniş arter aterosklerozudur. İskemi, sıklıkla ekstrakranial ve nadir olarak intrakranial damarlarda ve bunların bifurkasyon bölgelerinde, yıllar içerisinde gelişen aterom plaklarının bozulmasıyla ortaya çıkan trombozlara bağlı olarak gelişir. Gelişen aterotrombotik olay damarın darlığı veya tıkanmasına yol açar. Proksimal arterin %70-80 ve üzeri darlıklarında hemodinamik bozulma olmakta ve böylelikle daha distal sınır bölgelerde (Watershedarea) infarktlara da yol açabilmektedir. Bunun dışında, aterotrombotik lezyondan kopan trombosit, kolesterol gibi bazı parçalar arterden artere emboli mekanizması ile distal arterlerde tıkanmaya neden olabilmektedir (4).

2. Kardiyoembolizm: Tüm iskemik inmelerin %20'sini oluşturur. Kalpten kaynaklanan emboliler arteriyel oklüzyonun nedenidir. Emboliye yol açan kalp hastalıkları, yüksek riskli ve orta riskli olarak alt gruba ayrılmıştır. (Tablo 1) Orta

riskli hastalıklarda kardiyembolizme bağılı inme tanısı konulabilmesi için diğeri inme nedenleri dışlanmalıdır (4).

Tablo 1. Kardiyembolik İnme Nedenleri ve Risk Düzeyleri (17)

Yüksek Risk	Orta Risk
Atrial Fibrilasyon	Patent Foramen Ovale
Hasta sinüs sendromu	Atrial Septal Anevrizma
Sol Atrial Trombüs	Atrial Septal Defekt
Sol Atrial Miksoma	Atrial Flutter
Mitral Darlık	Mitral Annulus Kalsifikasyonu
Protez Kapak	Mitral Kapak Prolapsusu
Endokardit	Biyoprotez Kapak
Sol Ventrikül Trombüs	Kalsifiye Aort Stenoza
Sol ventrikül Miksoma	Subaortik Hipertrofik Kardiyomiyopati
Dilate Kardiyomiyopati	Akinetik-Diskinetik Ventrikül
Yeni Geçirilmiş Miyokard İnfarktüsu	Duvar Segmenti
	Konjestif Kalp Yetmezliği

3. Küçük damar oklüzyonu (lakün): Tüm İskemik inmelerin %25'ini oluşturan bu inme daha çok hipertansiyon veya diyabeti olan yaşlı hastalarda ortaya çıkar. Bu olgularda, küçük damar oklüzyonuna bağılı inme diyebilmek için potansiyel kardiyembolizm olmamalı ve aynı taraf arterde %50'den fazla darlığa yol açan büyük damar tıkanmaları bulunmamalıdır. Bu hastalık için karakteristik, nörolojik bulguların (saf motor, saf duysal, sensorimotor inme, dizatri-beceriksiz el sendromu ve ataksik hemiparezi v.b.) olmasının yanında nöroradyolojik olarak 1,5 cm'den küçük, derin infarktların gözlenmesi tanı koydurucudur (4).

Nörolojik semptomu olmayan 40 yaş üzeri olan ve bireylerde manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile yapılmış çalışmalarda Laküner İnfarktların (Lİ) çoğununa semptomatik olduğu gösterilmiştir (18).

4. Diğer belirlenen etiyolojiler: İskemik inmelerin %5 inden azını oluşturan bu grupta, Merkezi Sinir Sisteminin (MSS) birincil ve ikincil vaskülitleri, CADASIL (serebral otozomal dominant arteriyopati ile subkortikal infarktlar ve lökoensefalopati) ve serebral amiloid anjiyopati gibi nadir küçük damar hastalıkları, fibromusküler displazi, konjenital damar hastalıkları, mitokondriyal hastalıklar, travma ve diseksiyon ile kan hastalıkları yer alır (4, 19).

5. Sebebi belirlenemeyenler: Yeterince incelenemeyen veya ayrıntılı tetkiklere rağmen nedeni saptanamayan ve iki ya da daha fazla olası nedeni bulunan inmeler bu grupta yer alır (12).

1.1.4 Risk Faktörleri

İnme insidansının toplumlar arasında farklılık göstermesi değişen sosyo ekonomik faktörler, diyet, yaşam tarzı, alışkanlıklar ve çevresel koşullar ile açıklanabilir. En az çevresel faktörler kadar homeostatik sistemdeki bozuklukların da önemli olduğunu gösteren veriler mevcuttur (20).

1. Değiştirilemeyen risk faktörleri

Yaş: Yaşın ilerlemesiyle inme geçirme riski artmaktadır. Erkeklerde 45 yaşüstü, kadınlarda ise 55 yaş üstü önemli risk faktörü olarak kabul edilmektedir (12).

Cinsiyet: Yetmişbeş yaşına kadar erkeklerde iskemik inme geçirme riski kadınlardan daha yüksek olmasına rağmen yaşam boyu prevalans kadınlarda daha yüksektir (20).

İrk: İskemik inme siyah ırkta, beyaz ırktan daha fazla görülmektedir. Bu durumun olmasında diabetes mellitus ve hipertansiyonun siyah ırkta beyaz ırka göre daha fazla rastlanmasıyla açıklanabilir (20).

Aile öyküsü: Benzer yaşam tarzları, beslenme alışkanlıkları ve bazı herediter özelliklerden dolayı inme için risk faktörü olmaktadır (12).

Genetik: Monozigot ikizlerde, dizigot ikizlere göre daha sık görülmektedir. (20).

2. Değiştirilebilir risk faktörleri

a) Kesinleşmiş risk faktörleri

Hipertansiyon: Yaş faktöründen sonra inme için en kuvvetli ve en önemli düzeltilebilen risk faktörüdür (21). Endotelde fonksiyon bozukluğuna yol açan hipertansiyon, endotelin lipoproteinlere geçirgenliğini artırarak ateroskleroz oluşumuna kolaylık sağladığı öne sürülmüştür. Bunun dışında kalp hastalığı gelişimine neden olarak inme riskini üç ile dört kat artırmaktadır (20).

Sistolik ve diyastolik kan basıncının artmasıyla orantılı olarak inme riski artar. Hipertansiyon tedavisi yaşlılarda inme insidansını %36 oranında azaltabilir (22).

Diyabetes Mellitus: Beyin damar hastalıkları için diyabet önemli bir risk faktörüdür. İnme insidansı diyabetik hastalarda 2.5-3.5 kat artmaktadır (23). Diyabetik hastalara hipertansiyon, hiperlipidemi ve obezitenin eşlik etmesi inme riskinin artmasına neden olmaktadır. Diabet inme riskini artırmakla beraber inme gelişen vakalarda mortalite ve morbiditeyi de artırmaktadır. Diyabet ile birlikte hipertansiyonun sık olarak eşlik etmesi diabetin inme için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır (24).

Geçici iskemik ataklar (GİA): GİA sonrası inme görülme ihtimali en fazla ilk ay içerisinde ve bu risk yılda %15 - %20 dolayındadır. Tüm inmeli hastaların yaklaşık % 10' u GİA öyküsü vermektedir

Sigara: Sigara serebrovasküler hastalık için bilinen iyi bir risk faktörüdür. Hipertansiyon ve/veya diyabetes mellitusu olan hastalarda sigaranın oluşturduğu risk daha belirgindir (25).

Asemptomatik karotis stenozu: 65 yaş üzerindeki popülasyonda %50'den fazla asemptomatik karotis stenozu oranı erkeklerde %7-10, kadınlarda ise %5-7'dir. Karotis üfürümü olanlarda yıllık inme insidansı yaklaşık %1-2'dir (26).

Asymptomatic Carotid Atherosclerosis (ACAS) çalışmasında, endarterektomi yapılan vakaların medikal tedavi alanlara kıyasla 5 yıllık mutlak riskteki azalma %5.9'dur. Bu durumda, cerrahi riski %3'ün altında olan merkezlerde beklenen yaşam süresi 5 yıldan fazla olan ve %60-99 karotis darlığı olan hastalara cerrahi operasyon önerilmektedir (27).

Kalp Hastalıkları (KH): İskemik inmelerin %20'sinin nedeni kardiyak embolizmdir.

Gençlerde, kriptojenik inmelerin %40'ında potansiyel kardiyak emboli kaynağı mevcuttur. Gençlerdeki en önemli emboliye neden olan kalp hastalıkları, dilate kardiyomiopatiler, tek başına mitral stenoz, AF'nin eşlik ettiği mitral stenoz, kapak replasmanı, infektif endokardit, tek başına veya interseptal anevrizma ile birlikte olan patent foramen ovale, kardiyak tümörler, mitral regürjitasyon ve mitral valv prolapsusudur. Orta yaş ve üzerinde en sık kardioemboli sebebi MI'dır. MI'dan

sonra inme gelişme riski ilk iki hafta içerisinde en yüksek seviyededir. İleri yaş ve ventriküler disfonksiyon riski artırmaktadır. İleri yaşta ise en sık görülen kardiyak emboli riski taşıyan hastalık nonvalvüler AF (NVAF)'dir. Nonvalvüler AF (NVAF)'nin görülme sıklığı yaşla birlikte artar (28).

Kalp hastalıkları: İskemik inmenin önemli bir risk faktörünü de kalp hastalıkları oluşturmaktadır. Atrial fibrilasyon, miyokard infarktüsü, koroner arter hastalığı, kalp kapak hastalıkları, konjestif kalp yetmezliği, sol atrial hipertrofi ve mitral kapak prolapsusu iskemik inme riskini artıran kalp hastalıklarından başlıcalarıdır. Bunların dışında, erkeklerde iskemik kalp hastalığı ve sol ventrikül hipertrofisini gösteren EKG bulgusu da iskemik inme için majör bir risk faktörüdür (19-21, 29-32).

Dislipidemi: Total kolesterol/HDL kolesterol oranı arttıkça erkek ve kadınlarda miyokard infarktüsü için doğru orantılı bir şekilde riskin arttığı görülürken, aterotrombotik beyin iskemisi için de miyokard infarktüsü gibi riskin arttığı saptanmıştır (33).

Orak Hücreli Anemi: Otozomal dominant geçiş gösteren orak hücreli anemi hastalığı bulunan vakalarda inme prevalansı %11'dir (34). Stroke Prevention Trial (STOP) çalışmasında, orak hücreli anemisi bulunan ve sık kan transfüzyonu uygulanan grupta inme riskinin %10'dan %1'e düştüğü gösterilmiştir (35).

b) Kesinleşmemiş risk faktörleri

Alkol kullanımı: Miyokard infarktüsünde olduğu gibi alınan alkolün miktarına bağlı olarak inme riski artmaktadır (36).

Alkolün aşırı alımı paroksizmal atriyal fibrilasyonu, trigliserid düzeylerini, kan basıncını ve kardiyomiyopatiyi artırmaktadır. Ara sıra ve yüksek olmayan dozda alkol almak inme riskini artırmamaktadır (37).

Obezite: Obezitenin, iskemik inme için bir risk faktörü olduğu klinik çalışmalarla gösterilmiştir. Obezite ile birlikte hipertansiyon, hiperlipidemi ve hipergliseminin varlığı inme riskini artırır. Vücut kitle indeksinin 30 kg/m²'nin üzerinde olması ve özellikle erkeklerde sık görülen abdominal obezitenin, inme riskini 1.75-2.37 kat artırdığı tespit edilmiştir (12).

Hiperhomosisteinemi: Aterosklerotik ve tromboembolik hastalıklar için hiperhomosisteinemi bağımsız, modifiye edilebilir bir risk faktörüdür. Plazma

homosisteinin orta derecedeki yüksekliği folik asit veya B12 takviyesi ile düzeltilebilir (38).

Fiziksel inaktivite: Çeşitli çalışmalarda düzenli fiziksel egzersizin inme riskini azalttığına dair veriler mevcuttur. Bu azalma, obezite, HT, hiperlipidemi gibi diğer risk faktörlerinin azaltılması yanı sıra, plazma fibrinojen düzeyinin azalması ve plazma tPA ve HDL kolesterol düzeyinin artışına bağlı olabilir (12).

İlaç kullanımı ve bağımlılığı: Amfetamin, kokain ve eroin gibi bağımlılık yapan maddelerin hem hemorajik, hem de iskemik inmeye yol açtığı bilinmektedir. Bu maddelerin etkinliği multifaktöriyel olup, ani kan basıncı yükselmesi, vaskülit ve hematolojik bozukluğa yol açmaları önde gelen inme nedenleridir (12).

Oral kontraseptif kullanımı: Oral kontraseptiflerin içerdikleri östradiol ile ilişkili olarak inme riskini artırmaktadır. Estradiol trombositler ve koagülasyon faktörlerini etkileyerek tromboza yatkınlığa neden olmaktadır. 50 mikrogramdan fazla estradiol içeren ilk jenerasyon ilaçlarda bu risk daha yüksektir (39).

Hiperkoagülabilité: Protein C protein ve S Antitrombin III, gibi doğal antikoagülanların eksikliği ve bozuklukları ile hiperüriseminin inme riskini artırdıkları ileri sürülmektedir (29).

Antitrombin III, trombinin ve diğer pıhtılaşma faktörlerinin inhibitörüdür. Protein S, aktive protein C'nin enzimatik olmayan bir kofaktörü olarak hareket ederek, protein C'nin trombosit membranına bağlanmasını kolaylaştırır (20, 29).

Çocuklar ve gençlerde tekrarlayıcı inmelerin bir diğer nedeni antifosfolipid antikor sendromudur (40).

1.1.5 Patofizyoloji

Beyin hasarına neden olan inmenin iki temel mekanizması iskemi ve hemorajidir. İnmelerin yaklaşık %80'inin nedeni olan iskemik inmede kan dolaşımının azalmasıyla nöronlar kendileri için gerekli maddelerden yoksun kalmaktadır. İskeminin etkisi beyinde oldukça hızlıdır. Çünkü kendisi için primer enerji kaynağı olan glukozu saklamaz ve anaerobic metabolizmaya maruz kalır (5). Emboli veya trombüs serebral arterde tıkanıklığa yol açarak damarın suladığı alanda iskemiye neden olur. Hücresel düzeyde nöronal hasara neden olan mekanizmada

hipoksi veya anoksi rol oynar .İlerlemeyi ve iskemik hasarı belirleyen birçok faktör mevcuttur (41-44).

Tıkanıklığın büyüklüğü ve süresi:

İskemik olayın kısa süreli ve yavaş başlaması beyin tarafından daha iyi tolere edilebilir.

Kollateral dolaşım: Etkilenen beyin bölgesindeki kollateral dolaşımın durumu iskemik hasarı büyük ölçüde etkiler.

Sağlıklı sistemik dolaşım: Yeterli sistemik kan basıncı sürekli serebral perfüzyon basıncı sağlar. Herhangi bir nedenden dolayı meydana gelen sistemik hipotansiyon yaygın serebral iskekiye neden olabilir.

Hematolojik faktörler: Hiperkoagülabilité damar tıkanıklığının progresyonunu artırır.

Sıcaklık: Vücut sıcaklığının fazla olması daha büyük iskemik hasarla ilişkilidir.

Glukoz metabolizması: Glukoz yüksekliği ve düşüklüğü enfarktüs boyutunu artırabilir (45).

Erişkinlerde beyne giden kan miktarı kardiyak outputun yaklaşık beşte bir kadardır. Yani akciğerler tarafından absorbe edilen oksijenin %20'sini beyin kullanmaktadır.

Beyine dakikada yaklaşık olarak 1000 ml. kan taşınmakta olup, bunun 800 ml. kadarı karotis sistemiyle, geri kalanı ise vertebrobasiller sistemle sağlanmaktadır (46).

Normal şartlarda beyin kan akımı birkaç durumdan etkilenmektedir. Beyin kaidesindeki serebral perfüzyon basıncı (SPB) ve kanın vizkozitesi ve intrakranial damar çaplarının durumuna göre oluşan serebrovasküler rezistans durumudur. SPB, kanın serebral sirkülasyona yollanmasını sağlayan arteriyel basınç ile venöz basınç farkıdır (47).

Serebral damarlar beyin içinde değişen fizyolojik şartlara göre çaplarını değiştirebilme özelliğine sahiptir ve buna otoregülasyon denir. Otoregülasyon sistemi iki şekilde çalışır. Birincisi serebral damarlar ve dokulardaki karbondioksit ve oksijen basınçları ile pH değişimlerine göre oluşan otoregülasyon (kemoregülasyon) mekanizmasıdır. İkincisi ise sistemik kan basıncı değişimlerine

göre oluşan otoregölasyon mekanizmasıdır. Yaş ilerledikçe otoregölasyon mekanizmalarının etkisi azalır (47).

Otoregölasyon sayesinde sistemik arteriel basıncın belli bir değere kadar düşmesi düz kaslarda vazodilatasyona, yükselmesi ise vazokonstrüksiyona neden olmaktadır.

Ortalama arteriel basıncın 70-160 mmHg arasındaki değişikliklerinde serebral otoregölasyon işler. Bu değerlerin dışındaki durumlarda serebral otoregölasyon mekanizması yetersiz kalır (29, 48).

Serebral kan akımındaki ciddi azalma sonucu serebral iskemi oluşmaktadır. Kardiyak arrest, sinir dokusunun kanlamasını sağlayan serebral damar oklüzyonu veya uzamış hipotansiyon sonucunda serebral kan akımında azalma meydana gelmektedir. Serebral kan akımındaki uzamış ve ciddi azalmalar oksijen ve glukozun beyine taşınmasını bozar, toksik maddelerin yapımına neden olur. Sinir hücreleri kendileri için gerekli olan alternatif enerji kaynaklarını depolayamadıklarından iskemi sonrası olan hemodinamik değişiklikler sonucu ATP'de azalma meydana gelir. ATP'nin azalmasıyla metabolik stres, enerji açığı, iyonik dengesizlik ve iskemik hasar meydana gelir. Ağır iskemiye maruz kalan hücreler dakikalar içinde ölebilir. Metabolik bozukluk ve iyon dengesizliğinin erken düzelerek hücre canlılığının devam etmesi reperfüzyonun erken sağlanmasına bağlıdır (49).

Serebral kan akımı beyinin farklı bölgelerinde değişik olmakla birlikte 100 gr beyin için ortalama olarak 50-60 ml'dir. İskemiye cevap olarak serebral otoregölasyon mekanizmalarıyla oluşan kollateraller ve vazodilatasyon ile serebral kan akımındaki azalma kompanse ediliyor ve kandan glukoz ve oksijen alımı artırılıyor. Fakat serebral kan akımı 100 gr beyin için 20 ml/dk'nın altına düştüğünde enerji depolarını korumak amacıyla beyinde elektriksel aktivitede azalmalar olur. Kan akımı 10 ml/dk'nın altına düştüğünde irreversibl nöronal hasar meydana gelir (5, 50-55).

1.2. İskemik İnme Kliniği

Serebrovasküler hastalıkta gelişen klinik sendrom damar tıkanmasıyla etkilenen beyin bölgesinin fonksiyonlarının kaybına bağlı olarak değişir (56).

Geçici iskemik ataklar: İskemik inmelerin yaklaşık olarak %75-80'i karotid dolaşımından, %20-25'i vertebrobaziler sistemden kaynaklanır. İnme için prognostik

belirteç olan GİA tedavi edilmediğinde hastaların 1/3'ü 3 ay içinde inmeye maruz kalır. GİA, 24 saatten kısa süren, geçici, ani başlangıçlı, ilerleyici olmayan, beyin, retina veya kohleanın fokal iskemisine bağlı olarak meydana gelen nörolojik defisit olarak tanımlanır. Gelişen iskemik olayın GİA olarak adlandırılması için klinik düzelme tam olmalıdır. İpsilateral amarozis fugaks, kontralateral duysal veya motor disfonksiyon, afazi, kontralateral homonim hemianopsi veya bu semptomların kombinasyonları karotid sisteminde GİA'ları düşündürecek semptomlardır. Bilateral veya yer değiştiren motor ve duysal disfonksiyon, her iki gözde homonim alanlarda oluşan komplet veya parsiyel görme kaybı veya bu semptomların herhangi bir kombinasyonu vertebrobaziler sistemdeki GİA'ları düşündürecek semptomlardır. Vertigo, diplopi, disfaji, ataksi, tinnitus, amnezi, düşme atakları veya dizartrinin izole olarak meydana gelmesi GİA olarak düşünülmemeli, yukarıda sıralanan semptomların bir veya fazlasıyla birliktelik gösteriyorsa GİA olarak değerlendirilmelidir (57-59).

Karotid Arter Sistem Sendromları:

Karotid Arter Sendromları: Amarozis fugaks ani başlayan sisli, puslu, perde inmiş gibi bulanık görme şeklinde tarif edilebilir. Görme kaybı genellikle kısa, ani ve ağrısızdır. Görme kaybı 1-5 dk kadar sürer, nadiren 30 dakikadan uzun sürer. Görme genellikle tamamen düzelir (59, 60).

Orta Serebral Arter Sendromları : Orta serebral arter; Kaudat nükleus, putamen, internal kapsül, globus pallidum ve talamusun major kısımları, insula, frontal lob ön kısmı, parietal lob arkası ve temporal lobu beslemektedir (47). Karotid arter sendromunu orta serebral arter (MCA) sendromundan ayıran tek özellik amarozis fugakstır (59). MCA enfarktı serebrovasküler hastalıkların en sık görülen tipini oluşturmaktadır (61, 62).

Oklüzyonun kökte, üst dal, alt dal veya lentikülostriat dallarından hangisinde olduğu ve eşlik eden kollateral dolaşımın olup olmamasıyla ilişkili olarak MCA enfarktlarının klinik özellikleri farklılık gösterir. MCA kök tıkanıklığında genellikle hemisferde büyük tıkanıklık meydana gelir ve klinik olarak kontralateral hemipleji, enfarkt tarafına konjüge göz deviasyonu, hemihipoestezi ve homonim hemianopsi gelişir. Dominant hemisfer tutulduğunda global afazi, non dominant hemisfer tutulduğunda ihmal meydana gelir. MCA üst dal enfarktlarında kök enfarktlarından

farklı olarak yüz ve kol bacakdan daha fazla etkilenir. Broca tipi afazi MCA üst divizyonun anterior dal tutulumunda olur (59, 63).

Orta serebral arter (MCA) alt dal tutulumunda dominant hemisfer tutulmuşsa Wernicke tipi afazi, dominant olmayan hemisfer tutulmuşsa kişilik değişikliği meydana gelir. Lentikülostriat arter tutulmasında internal kapsül etkilenerek laküner enfarkta neden olabilir ve saf motor hemiparezi sendromu görülebilir. Aleksi ve agrafi, sol taraf angüler girus tutulumunda meydana gelebilir. Dominant hemisfer pariyetal lezyonlar sonucu parmak agnozisi, akalküli, sağ sol karıştırma, agrafi kliniği ile seyreden Gerstman Sendromu oluşabilir. Dominant hemisfer enfarktlarında oluşan afazi tipi tutulum tipi ve yayılım genişliğine göre Broca, Wernicke, iletim, transkortikal veya global tip olabilir. Kontralateral homonim hemianopsi veya kontraateral inferior kuadrantanopsi herhangi bir hemisfer enfarktlarında meydana gelebilir (59, 64).

Anterior Serebral Arter Sendromları :

Kortikal dalları, sulkus parietookspitalisin arkasına kadar korteks serebrinin medial yüzünün tamamını besler. Ayrıca buraya komşu korteksin lateral yüzünün 1 inç'lik dar bir kısmını da besler. Santral dallarının bir grubu substantia perforata anterioru delerek nukleus kaudatus ve nukleus lentiformis' in bir kısmı ile kapsula interna' nın beslenmesine yardım eder (65).

Anterior Serebral Arter enfarkt özellikleri tutulum alanına ve kollateral dolaşıma göre değişir. Alt ekstremitenin sıklıkla etkilendiği, üst ekstremitenin daha az sıklıkla etkilendiği kontralateral güçsüzlük ACA hemisferik dalların suladığı alanların enfarktlarının karakteristik özelliğidir. Diğer karakteristik özellikleri abuli, akinetik mutizm (bilateral meziofrontal etkilenmede) bozulmuş emosyonel labilite, transkortikal motor afazi (dominant hemisferik lezyonlarda), lezyona doğru baş ve gözlerin deviasyonu, paratoni, proprioseptif duyu kaybı ve sfinkter inkontinansdır.

Anterior koroidal arter sendromu internal kapsül arka bacak tutulumuna bağlı hemiparezi, talamusun posterolateral çekirdeği veya talamokortikal liflerin tutulumuna bağlı olarak hemihipoestezi, lateral genikulat cisimcik veya genikulokalkarin trakt tutulumuna bağlı hemianopsiye neden olur. Sağ hemisferik enfarktlarda sol uzaysal ihmal ve sol hemisferik enfarktlarda hafif dil bozuklukları daha az sıklıkla görülebilir (59).

Laküner Sendromlar: Çapları 0,5 ile 15 mm arasında değişen beyin veya beyin sapında derin bölgelerinde yerleşen küçük iskemik enfarktlar olup, genellikle hipertansiyon ve diabetes mellituslu yaşlı hastalarda görülmekle birlikte tüm iskemik inmelerin %19-25'ini oluşturur (16, 59).

Bu hastalarda, emboliye neden olabilecek bir kardiyak kaynak olmamalıdır veya aynı tarafta bulunan arterde %50' den fazla darlığa yol açan damar hastalıkları bulunmamalıdır (66).

Penetran arterlerin ateroskleroza bağlı oklüzyonu veya mikroembolisi sonucunda laküner enfarktlar oluşur. En az 20 tip laküner enfarkt tanımlanmış olmakla birlikte en iyi tanımlanmış beş sendrom;

- 1) Saf motor hemiparezi
- 2) Saf duyuşal inme
- 3) Duyusal motor inme
- 4) Ataksik hemiparezi
- 5) Dizatri-beceriksiz el sendromu (59).

Vertebrobaziler Sistem Sendromları:

Posterior inferior serebellar arter (PICA)'nın sulama alanı değişkendir (59, 67). Eğer vermis ve vestibuloserebellumu içeren medial dal etkilenmişse klinik bulgu olarak vertigo, ataksi ve nistagmus ortaya çıkar. Lateral serebellar hemisferi içeren enfarkt meydana gelirse vertigo, yürüyüş ataksisi, ekstremitelerde dismetri ve ataksi, bulantı, kusma, konjuge ve nonkonjuge bakış palsisi, miyozis ve dizatri gelişebilir. Enfarkt büyükse ödem etkisiyle beyin sapı basısı sonucu konfüzyon ortaya çıkabilir veya 4.ventrikül basısı ile hidrosefali veya herniasyon gelişebilir.

Anterior inferior serebellar arter (AICA), baziler arterden çıkararak abduşens, fasiyal ve vestibulokoklear sinirle birlikte ponsu çevrelemektedir (68).

Anterior inferior serebellar arter tıkanıklığında ventral serebellar enfarkt gelişir. Vestibuler nükleus tutulumu nedeniyle vertigo, bulantı, kusma ve nistagmus gibi semptomlar, trigeminal sinir nükleus ve traktus tutulumu nedeniyle ipsilateral fasiyal hipoaljezi, termoaestezi ve korneal hipoestezi, lateral pontomedullar tegmentum tutulumu nedeniyle ipsilateral sağırılık ve fasiyal paralizisi, inen okülosempatik liflerin tutulumu ile Horner Sendromu, lateral spinotalamik trakt

nedeniyle kontralateral gövde ve ekstremitelerde hipoaljezi ve termoaestezi, serebellar pedinkül nedeniyle ipsilateral ataksi meydana gelebilir.

Baziler tepe sendromu sıklıkla rostral baziler arterin embolik olarak tıkanmasıyla mezensefalon, talamus, temporal ve oksipital lob enfarktları sonucu oluşur. Klinik olarak somnolans içeren davranış değişikliği, halüsinasyon, hafıza kaybı veya ajite delirium tablosudur.

Locked-in sendromu bilateral ventral pontin lezyonu sonucu oluşur ve klinik olarak kuadripleji, afoni ve bazı hastalarda horizontal göz hareketlerinde bozulmayla seyrederek (59, 69).

Anterior inferior serebellar arter tıkanıklığı lateral inferior pontin sendroma neden olabilir. Klinik olarak ipsilateral fasiyal paralizi, fasiyal duyu kusuru, lezyon tarafına konjuge bakış paralizisi, sağırılık ve tinnitustur.

Midbaziler arterin paramediyal dallarının oklüzyonu lateral midpontin sendromunun karakteristik bulgusu olan aynı taraf trigeminal sinir motor ve duysal fonksiyon kaybı ve ekstremitelerde ataksiye neden olur.

Lateral süperior pontin sendrom süperior serebellar arter tıkanmasına bağlı oluşur, klinik olarak ipsilateral horner sendromu, horizontal nistagmus, konjuge bakış kısıtlılığı, bazen sağırılık, yürüyüş ataksisi gelişir.

Lateral medüller sendrom (Wallenberg Sendromu) sıklıkla vertebral arter daha az sıklıkta PICA tıkanıklığı sonucu olur. Klinik olarak ipsilateral Horner sendromu, yüzde ağrı-ısı duysusu kaybı, vokal kordlar, farenks ve palatal arklarda güçsüzlük ve serebellar ataksi meydana gelir (59, 70).

Posterior Serebral Arter Sendromları: PCA sulama alanı enfarktlarında klinik bulgular oklüzyonun bölgesine ve kollateral dolaşım varlığına göre değişiklik gösterir.

Talamik Enfarkt Sendromları: Talamik enfarktlar 4 ana vasküler bölgeyi içerir.

Posterolateral talamik enfarktlar PCA'nın P2 segmentinden çıkan talamogenikulat dalların oklüzyonu ile oluşur. Saf duysal inme, sensorimotor inme, Dejerine-Roussy talamik sendroma neden olabilir.

Anterior talamik enfarkt tuberotalamik arter oklüzyonu sonucu meydana gelir. Nöropsikiyatrik dalgalanmalar, emosyonel-fasiyal parezi, ara sıra olan

hemipareziye neden olabilir. Sol taraf enfarktında disfazi gözlenebilirken sağ taraf enfarktında ihmal gözlenebilir.

Paramedian talamik enfarktlar paramedian talamik veya subtalamik arter oklüzyonu sonucu meydana gelir. Bilinç düzeyinde azalma, hafıza kaybı ve vertikal bakış anomalisi gelişir.

Dorsal talamik enfarkt posterior koroidal arterin tıkanıklığı sonucu oluşur. Homonim kuadrantanopsi görülebilir (59).

Watershed İskemik Sendromları: Büyük arter hastalıklarında, hemodinamik bozukluklarda (kardiyak arrest ve blok gibi) veya embolizasyon sonucunda gelişebilir. Özellikle ASA ile OSA sulama alanları arasında veya OSA ile PSA tarafından beslenen alanlar arasında gelişen infarktlardır. Anterior alanda gelişen infarktlarda genelde ayakta belirgin parezi, posterior alanda gelişen infarktlarda görme alanı defektleri veya nöropsikolojik bozukluklar ön planda olacak şekilde ortaya çıkabilir (71).

1.2.1 Tanı

İnme tipinin ve hastanın klinik durumunun belirlenmesinde hastasının ilk klinik değerlendirmesi hayati önem taşır. Klinik nörolojik muayene inmenin boyutunun belirlenmesinde önemlidir ve sık olarak inmenin özünü belirleyebilir.

Öykünün alınması inme hastalarının değerlendirilmesinin ilk basamağını oluşturur. İlk semptomlar, başlangıç zamanı, süresi ve progresyonu yada iyileşmenin bulunup bulunmadığı hekim tarafından sorgulanmalıdır. Öyküden vücudun bir tarafında güçsüzlük, konuşma bozukluğu, bilinç bulanıklığı, çift görme, duyuşsal yakınmalar, denge kaybı, baş ağrısı veya baş dönmesi gibi semptomların olup olmadığı belirlenebilir. Hasta uyaranlara tepki veremiyor veya afazi nedeni ile konuşamıyorsa yakını veya olayı gözleyen bir kişiden yardım alınmalıdır (2).

İnmeli hastada ilk değerlendirmede temel olarak acil durum yönetimi (havayolu, nefes alma, kan dolaşımı v.s.) üzerinde durulmalı fakat daha önemli olarak hızlı nörolojik değerlendirme yapılmalı hastanın son normal zamanı belirlenerek inmenin oluş zamanı belirlenmeli (72, 73).

Nörolojik muayene bilinç durumun değerlendirilmesi ile başlar. Hastalara adları, bulundukları yeri, zamanı ve güncel olaylarla ilgili sorulara cevap vermesi

istenir. Hasta uyaranlara tepki veremiyor veya afazi nedeni ile konuşamıyorsa yakını veya olayı gözleyen bir kişiden yardım alınmalıdır. Daha sonra kraniyal sinirler, pupilla refleksi, ekstraoküler hareketler, görme alanı ve göz dibi bakışı yapılmalıdır. Yüz, dil, çene ve damak hareketleri muayene edilmelidir. Motor muayenesinde her omuz, dirsek, el bileği, parmaklar, kalçalar, dizler, ayak bilekleri ve ayak parmaklarındaki her eklem hareketini sağlayan kas gruplarının fleksiyon ve ekstensiyon kas güçleri ve hareketliliği değerlendirilmelidir. Ayrıca kas tonusu spastisite, rijidite ve fleksidite açısından değerlendirilmelidir. Ağrı, ısı, vibrasyon, eklem pozisyonu duyusu değerlendirilmelidir. Derin tendon refleksleri incelenmelidir. Babinski ve babinski eşdeğerleri gibi patolojik refleksler değerlendirilir. Serebellar sistemi değerlendirmek için değerlendirme yapılmalıdır. Öykü ve muayene ile anatomik lokalizasyon ortaya konmalı ve olası etiyolojik sebeplerin belirlenmesi için sentezlenmelidir. Hastaların uygun tedavisinin belirlenmesi için temel hematolojik ve serum biyokimyası testlerinin yapılması gereklidir.

İlk klinik değerlendirme ve hızlı görüntüleme algoritmasının başlatılması hastayı stabil etmede önemlidir. Her türlü inmede genel görüntüleme yöntemi kontrastsız beyin BT'dir. Kontrastsız beyin BT'nin birinci amacı iskemi hemoraji ayırımını yapmaktır, tedavi zıt olduğundan önemlidir. Manyetik rezonans görüntüleme (MRI) inmede daha spesifik ve sensitif fakat zaman alıcı ve hastalar tarafından daha az tolere edilmektedir (2, 72, 74-76).

1.2.2. Ayırıcı Tanı

Ayırıcı tanı hızla yapılmalıdır. Hasta yönetimi ani gelişen nörolojik defisitte, hasta veya gözlemleyen kişiden dikkatli öykü alma ile başlar. Hastaneye başvuru sırasındaki klinik tablo hastanın mevcut tablosu ve öntanısı hakkında bilgi vererek inme tanısında yol gösterilir. Öykünün detaylandırılması, laboratuvar testleri tanıyı daha da kesinleştirmeye yardımcı olur. (Tablo 2) (77).

Tablo 2. İnme Benzeri Yapan Non Vasküler Nedenler

İnme Benzeri Yapan Non Vasküler Nedenler
Tümör
Abse, Ensefalit veya diğer enfeksiyonlar
Metabolik Bozukluklar (Hiperglisemi veya hipoglisemi, Hiper-hipokalsemi, Hiper-hiponatremi)
Postiktal Defisit
Travma (subdural hematoma, serebral kontüzyon)
Migrene bağlı
Demyelizan Hastalık (örneğin Multipl Skleroz)

1.2.3. Tedavisi

İskemik inmenin tedavisinde amaç, hasarlı beyin dokusunu en az düzeye indirmek, oluşabilecek ikincil hasarları engellemektir. Ayrıca akut dönemde oluşabilecek komplikasyonların önüne geçmekte tedavinin diğer amacıdır. Antiagregan, antikoagülan, trombolitik, antiödem ve nöroprotektif tedaviler bu yaklaşımların ana başlıklarını oluşturmaktadır. Akut iskemik inmede üzerinde en çok araştırma yapılmış antiagregan ajan aspirindir. Tiklopidin, klopidoğrel, dipiridamol ve glikoprotein IIb/IIIa antagonistleri ile akut dönemde tedavi konusunda yeterli bilgi henüz mevcut değildir (6).

Akut iskemik inme vakalarında kontrendikasyon yoksa ve Bilgisayarlı Tomografi'de hemorajik inme dışlanmışsa, rutin olarak bütün hastalara aspirinin başlanması önerilmiştir. Akut iskemik inme klavuzlarında aspirin kullanılmasını önermektedir (78).

Akut iskemik inmelerde kullanılan tedavi seçeneği olan antikoagülasyon tedavinin etkinliğini kanıtlayan bir çalışma henüz yapılmamıştır. Heparin tedavisinin iskemik inmelerde ilerlemeyi engellediği, embolik kökenli inmelerde tekrarlayan embolileri azalttığı ve ileri derecede aterosklerotik büyük damarlarda tıkanaklığı önlemede etkin olduğu düşünülmekle birlikte, literatürde bunu kanıtlayan çalışmalar yoktur (6).

Kardiyoembolik inme olgularında; atrial fibrilasyon, mural trombüs, yeni geçirilmiş miyokard infarktüsü gibi erken tekrarlayan inme riskini artıran koşullar varsa, intravenöz heparin ve warfarini birlikte başlamayı tercih edenler vardır. Bu durumda aPTT ve INR değerleri dikkatlice monitörize edilir. INR yükselmesi sağlandıktan sonra heparin kesilerek, warfarinle uzun dönem sekonder korumaya devam edilir (19).

Doğru bir triaj sonrası semptomlarının başlangıcı 3 saat içinde olan hastalar iv TPA'ya aday kabul edilirler. Bu yapılan randomize çalışmalarla plaseboya üstün olduğu gösterilmiştir (79-81).

1.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller; atomik veya moleküler yörüngesinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş “elektron” bulunduran molekül, atom veya iyonlardır. Başka bir ifadeyle serbest radikaller, negatif yüklü elektron sayısının, pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir (82, 83).

Serbest radikaller; proteinler, lipidler, karbonhidratlar, nükleik asitler ve DNA üzerinde hasar yapıcı etkiye sahiptirler. Bundan dolayı, hücre içi savunma yollarını inaktive edebilir ve belirli bir konsantrasyona ulaştıklarında hücre içi bileşenlerle reaksiyona girerek metabolik ve hücresel bozukluklara sebebiyet verebilirler (7, 71).

Normal şartlarda insan vücudunda oluşan SOR ile antioksidan savunma sistemi denge halinde bulunmaktadır. Antioksidan savunma sistemi ile serbest radikal oluşumunu hızlandıran faktörler arasındaki denge bozulduğunda oksidatif stres ortaya çıkar (84).

Serbest oksijen radikalleri (SOR) ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında, kanser oluşumunda, diabette, iskemi/reperfüzyon hasarlarında, inflamatuvar rahatsızlıklarda, nöro-dejeneratif hastalıklarda ve yaşlanmanın etyopatogenezinde rol oynadığı bilinmektedir (8).

İskemi/reperfüzyon sırasında beyinde oksidatif ve nitratif stresin kilit rol oynadığı son yıllarda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (85, 86).

Serbest oksijen radikalleri direkt nöron hasarı dışında ekzitotoksik nöron hasarını ve apoptotik süreci başlatan yolları aktifleyerek hücre ölümüne neden olur. İn vitro ve in vivo global-fokal iskemi/reperfüzyon modellerinde apoptotik nöronal hücre ölümü çalışılmıştır. Hücre içi yaşam/ölüm sinyal yollarının aktivasyonu apoptozise neden olur (87).

Yapılan birçok çalışmada iskemik inmede oksidatif hasarın arttığı gösterilmiştir (88, 89).

İskemi sırasında hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelmektedir.

Dokuya gelen kan akımının azalması veya kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve enerji depoları boşalır. Bunun sonucu olarak hücre zarında bulunan Na⁺K⁺-ATP az pompası inhibe olur. Oksidatif strese kalsiyum dengeleri ve mitokondrial membran potansiyeli değişir. Bu değişiklik mitokondriumlarda ve DNA'da hasara yol açarak hücreyi programlı ölüme yani apoptozise sürükler (90-92).

1.4. Hücre Zarının Yapısı ve Hücre Zarı Kanalları

Hücrenin etrafını sararak, onu içinde bulunduğu ortamdan ayıran ve ona şekil kazandıran seçici geçirgenlik özelliği gösteren yapı 'hücre zarı' olarak tanımlanmaktadır. Hücre zarı enzim ve organeller sayesinde canlılıklarını devam ettirmekte olup elastik, ince ve kıvrılabilir bir yapıdadır. 7.5-10 nanometre kalınlığında olup lipit ve proteinlerden oluşmuştur. Hücre içi sıvı ile hücreler arası sıvı arasında madde geçişlerini sağlayan protein tabiatındaki yapılara hücre zarı kanalları adı verilmektedir (93).

1.4.1. Transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) kanalları

Transient Reseptör Potansiyel (TRP) proteini ilk kez uzun süreli aydınlatmaya maruz bırakılmış ve buna bağlı olarak görme bozukluğunun olduğu *Drosophila melanogaster*'in mutan suşunda keşfedilmiştir (94).

Transient Reseptör Potansiyel (TRP) proteinleri katyon kanallarının büyük ailesini temsil etmektedir. TRP kanalları, Sodyum (Na⁺), Kalsiyum(Ca⁺²) ve magnezyum (Mg⁺²)'a geçirgen olup nonselektif katyon kanallarıdır (95). TRP kanalları, böbrekte Ca⁺²-Mg iletimi, kan basıncının regülasyonu, tat, koku ve sesin algılanması, gen ekspresyonu ve apoptozis gibi önemli hücresel süreçlerde ve iyon giriş çıkışı gibi birçok mekanizma da rol oynamaktadır (96, 97).

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin (TRPM) alt ailesinin Memelilerde ilk olarak tümör supresör proteinlerde bulunmasıyla 4 homolog çift halinde tanımlanmıştır. Bunlar; Transient Reseptör Potansiyel Melastatin1/Transient Reseptör Potansiyel Melastatin3 (TRPM1/TRPM3), Transient Reseptör Potansiyel Melastatin2/Transient Reseptör Potansiyel Melastatin8 (TRPM2/TRPM8), Transient

Reseptör Potansiyel Melastatin4/Transient Reseptör Potansiyel Melastatin5 (TRPM4/TRPM5) ve Transient Reseptör Potansiyel Melastatin6/Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 7 (TRPM6/TRPM7) (98).

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 1 (TRPM1) kanalı dışındaki diğer TRPM kanallarının mekanizması tam olarak açıklanamamış olsa da ADPR pirofosfataz ile aktif olabilen ve fonksiyonel NUDT9-H (TRPM üzerinde bulunan enzimatik bölge) homoloji alanı içeren TRPM2 Ca^{+2} iyonuna çok geçirgendir. Bununla birlikte TRPM4 /TRPM5 TRPM6 /TRPM7 Ca^{+2} iyonuna geçirgenlikleri farklı derecelerde olup, TRPM4- TRPM5'in hem ısıya hemde Ca^{+2} iyonuna duyarlı olduğu gösterilmiştir (99).

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 4 (TRPM4) ve TRPM5 kanalları kalp, bağırsaklar ve damar endotelinde belirgin olarak tespit edilmiştir (100).

1.4.2. Transient Reseptör Potansiyel Melastatin2 (TRPM2)

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) kanalları başlıca kemik iliği ve beyin olmak üzere bağırsak, karaciğer, böbrek, pankreas, akciğer, iskelet kası, testis, prostat, lökositler ve arka kök gangliyonları gibi birçok doku ve hücrede ekprese edilmiştir (101).

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) Ca^{+2} iyonuna geçirgen nonselektif çok fonksiyonlu katyon kanalıdır. TRPM2 kanalı oksidatif stress ile aktive edilebildiği için, son zamanlarda, diyabet, inflamasyon, miyokardiyal enfarktüs ve nörodejeneratif hastalıklar da dahil olmak üzere, oksidatif strese bağlı ortaya çıkan hastalıklara karşı potansiyel bir terapötik hedef olarak görülmüştür (102).

Hidrojen peroksit ile indüklenen ve dolayısıyla TRPM2 kanalı üzerinde oluşan oksidatif strese bağlı olarak ADPR oluşumunu tetiklediği görülmüştür (103).

Oksidatif stres, TRPM2 iyon kanallarının açılmasına neden olup hücre içi Ca^{+2} artışını sağlamaktadır (104, 105).

Bu çalışmada İskemi-reperfüzyon modeli oluşturulmuş rat beyin dokusunda TRPM2 katyon kanallarının ekspresyonu'nun incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 09.05.2013 tarih ve 63 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) biriminde ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında yapıldı. Çalışma bütçesinin tamamı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP)' nin TF.1457 proje no' lu kararı gereğince karşılandı.

2.1. Deney Hayvanları Ve Beslenmeleri

Deneylerde kullanılan 30 adet 8-10 haftalık erişkin Wistar albino cinsi erkek sıçanlar, FÜDAM biriminden temin edildi. Hayvanlar FÜDAM hayvan laboratuvarında bulundukları ortamın sıcaklığı 22–25°C arasında sabit tutularak 12 saat ışık (07:00-19:00) ve 12 saat (19:00- 07:00) karanlıkta takip edildi. Sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi ve her gün altları temizlendi. Tüm hayvanlara aynı standart sıçan yemi verilerek add libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Hayvan yemleri Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda hazırlandı. Yemlerin terkibi Tablo 3'de gösterildi.

Tablo 3. Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi

Sıçan Yeminin Terkibi	%
Buğday	15
Mısır	10
Arpa	27
Kepek	8
Soya	29,4
Balık Unu	8
Tuz	0,6
Kavimix VM 23-Z*	0,2
Methionin	0,2
DCP **	1,6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0,32 mg Folic acid, 0,02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Ağırlıkları 200-230 gr arasında değişen 8-10 haftalık 30 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçanlar her grupta 6 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

Grup I (Kontrol grubu); Deney süresince herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup II (Sham grubu 2.saat); Bu gruptaki sıçanlar supine pozisyonda sabitlenenip servikal orta hatta basit bir insizyonla bilateral karotis kommunis arterler ortaya çıkarıldıktan sonra ciltleri 3-0 ipek ile kapatılıp deneyin 2. saatinde dekapite edildi.

Grup III (Sham grubu 6.saat); Bu gruptaki sıçanlar supine pozisyonda sabitlenenip servikal orta hatta basit bir insizyonla bilateral karotis kommunis arterler ortaya çıkarıldıktan sonra ciltleri 3-0 ipek ile kapatılıp deneyin 6. saatinde dekapite edildi.

Grup IV (İskemi-reperfüzyon grubu 2.saat); Bu gruptaki sıçanlar supine pozisyonda sabitlenenip servikal orta hattın basit bir insizyonla bilateral karotis kommunis arterler ortaya çıkarıldıktan sonra anevrizma klip'leri ile 45 dakika süre ile kliplenip klipler açılarak 2 saat reperfüzyonu sağlandıktan sonra dekapite edildi.

Grup V (İskemi-reperfüzyon grubu 6.saat); Bu gruptaki sıçanlar supine pozisyonda sabitlenenip servikal orta hattın basit bir insizyonla bilateral karotis kommunis arterler ortaya çıkarıldıktan sonra anevrizma klip'leri ile 45 dakika süre ile kliplenip klipler açılarak 6 saat reperfüzyonu sağlandıktan sonra dekapite edildi.

2.3. Doku Örneklerinin Alınması

Deneyin sonunda tüm gruplardaki sıçanlar ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların beyin dokuları hızla çıkarıldı. Beyin dokuları MDA ve TRPM2 mRNA düzeyleri için çalışmanın sonuna kadar – 80°C de saklandı. Histolojik alışma için her gruptan alınan beyin dokuları formol solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin histolojik takip serilerinden (Tablo 4) geçirilerek dehidrate edildi. Dokular daha sonra ksilolde parlatılıp parafin bloklara gömüldü.

Tablo 4. Histolojik Takip Serileri

1	%70 Alkol	2 saat
2	%80 Alkol	1,5 saat
3	%96 Alkol I	30 dakika
4	% 96 Alkol II	30 dakika
5	%100 Alkol I	30 dakika
6	%100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol + Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin + Sert parafin	1,5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

2.4. Malondialdehid (MDA) Çalışması

0.42 gr Tris-Base + 1.43 gr Tris-HCl + 3 gr KCl ve 0.5 ml Tween 20, 250 ml distile suda hazırlandı. Hazırlanan bu tampon örneklerin homojenatında kullanıldı. X gr doku üzerine 5 ml tampon ilave edildi ve parçalandı. Homojenat 5000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısımdan 1 ml başka bir tüpe alındı. Alınan 1ml örnek üzerine 1ml %10 'luk TCA (10 gr TCA 100 ml distile suda hazırlandı) ilave edildi. Üzerine 1ml %0.6 TBA (0.6 gr TBA 100 ml distile suda hazırlanır hazırlanan TBA +4 en fazla bir gün saklanabilir) ilave edildi. Üzerine 1ml distile su ilave edildikten sonra, son olarak 0.5 ml %4 HCl ilave edildi.(4ml HCl 100 ml distile suda hazırlanır, asit ve su şiddetli reaksiyona girdiği için mümkünse asit damlalar şeklinde suya ilave edilmelidir). Hazırlanan karışım 90-95°C de 120 dk inkübasyona bırakıldı İnkübasyon sonrası tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve üzerine 3 ml bütanol ilave edilip vortekslendi. Daha sonra tüpler 5 dk 5000 rpm de santrifüj edilir ve oluşan (bütanol faz) Süpernatanttaki kırmızı-pembe renk spektroküvetine pipet yardımıyla alınır ve bütanole karşı 532 nm de okundu. Okunan absorban değerleri $x: (okunan_{ABS} + 0.0344)/0.0492$ formülüyle hesaplandı. Bulunan değer 5 ile çarpıldı (nedeni doku homojenatı 5ml tamponda hazırlandı) çıkan sonuç homojenatta kullanılan doku ağırlığı kadardır.

2.5. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi.

Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. 0.05% 'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için % 3 hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37°C' de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer+%30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Perosidaz ile 30 dakika muamele edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoksilen ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Pozitif kontrol için meme dokusu kullanıldı. Negatif kontrol dokusunda Tdt enzimi yerine Reaction Buffer kullanıldı.

Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. TUNEL Boyama Prosedürü.

	İşlem	Süre
1	60°C etüv	Bir gece
2	Xylol	3X15 dakika
3	%100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1:500 d ilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7	PBS	3X5 dakika
8	Endojen peroksit blokajı (% 3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9	PBS	3X5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11	Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) 37°C'de	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (2ml) +Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3X5 dakika
15	DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10 dakika
16	PBS	3X5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilen	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21	Xylol	2X5 dakika
22	Kapatma medyumunu kullanılarak lamel ile kapatma.	

2.6. İmmünohistokimyasal İnceleme

Beyin dokusunda TRPM2 immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleksi yöntemi uygulandı. (Tablo 6).

Parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H₂O₂ ile muamele edildi. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 12 dakika kaynatıldı. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu ile 5 dakika muameleden sonra primer antikor (Rabbit Anti-TRPM2 antibody, ab101738, Abcam, Cambridge, UK) ile 60 dakika inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi.

Sekonder antikor uygulanmasından sonra Streptavidin Alkaline Phosphatase (TS-060-AP, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra distile su içerisine alındı. Dokulara Fast Red Substrate System (TA-125-AF, Lab Vision Corporation, USA) solusyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak distile su ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoxilen ile zıt boyaması yapılan dokular distile sudan geçirilerek uygun kapatma solusyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Pozitif kontrol için, meme dokusu ile karşılaştırıldı. Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine PBS kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde; immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4:%26-50, 0.6:%51-75, 0.9:%76-100) ve şiddeti (0:yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu. (Histoskor= yaygınlık x şiddet).

Tablo 6. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü

Sıra	İşlem	Süre
1	Xylol I	10 dakika
2	Xylol II	10 dakika
3	Xylol	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PBS (Phosphate Buffered Saline)	3X5 dakika
11	H ₂ O ₂	10 dakika
12	PBS	3X5 dakika
13	Normal blok solüsyonu	5 dakika
14	Primer antikor	60 dakika
15	PBS	3X5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3X5 dakika
18	Streptavidin Alkaline Phosphatase	20 dakika
19	PBS	3X5 dakika
20	Fast Red Substrate	5 dakika
21	Distile su	5 dakika
22	Zıt boya olarak Mayer's hematoksilen	10 saniye
23	Akarsu	5 dakika
24	Özel kapatma maddesi ile kapatma	

2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) Metodu

Testis dokusunda RNA izolasyonu için PureLink™ RNA Mini Kiti kullanıldı. Çalışma prosedürü aşağıdaki gibidir:

Kit içerisindeki lizis buffer'dan 1ml ve 2-merkaptoetanol'dan 10 µl falkon tüpüne alınıp karıştırılarak Lizis tampon çözeltisi elde edildi. Testis dokusu ile eşit miktarda homojenizatör boncuğu ve hazırladığımız çözeltiden 600µl alınarak kilitli eppendorf tüplere bırakıldı. Homojenizatörde 6 dakika (dk) 9. hızda parçalama işlemi yapıldı. Örnekler 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. RNA içeren sıvı fazın hepsi yeni bir ependorfa alınarak üzerine 500 µl %70'lik etanol eklendi ve vortekslendi. Örneklerden 700 µl alınarak kit içerisindeki kolonlara aktarıldı ve 12.000xg'de 15 saniye oda sıcaklığında santrifüj edildi. Kalan örneklerde kolonlara aktarılacak aynı şekilde santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpünün altında biriken sıvı boşaltıldı. Yıkama işlemleri kitin içindeki Wash I ve Wash II ile yapıldı. Örnekler 700 µl Wash I eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi.

Toplam tüpü değiştirildi. Örnekler 500 µl Wash II eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi ve bu işlem iki defa tekrarlandı. Tüpün altındaki sıvı boşaltılarak hiçbir şey eklenmeden 12.000xg'de 2 dk santrifüj edildi. Kolonlar alınarak yeni ependorf tüplere bırakıldı ve üstüne 30 µl RNase içermeyen su eklenerek oda sıcaklığında 1 dk bekletildi ve 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Ependorf tüpün dibindeki sıvı kısım bu aşamadan sonra RNA içermektedir. RNA örnekleri kullanılıncaya kadar -80°C'de saklandı.

Spektrofotometrik RNA Ölçümü

Bu çalışmada RNA ölçümü için Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen/Molecular Probes) kullanıldı. RNA miktarı µg/ml olarak ölçüldü. cDNA sentezi için RNA miktarlarının eşitlenmesi amacıyla okunan en düşük RNA değeri standart alındı. Komplementer DNA sentezi (cDNA) için her bir gruptaki örneklerden RNA havuzu hazırlandı.

Komplementer DNA Sentezi

Çalışmamızda cDNA sentezi için havuz yapılan RNA örneklerinden 10 µl kullanıldı. cDNA sentezi toplam 20µl hacimde gerçekleştirildi. Sentez için 10µl RNA örneği, 2 µl 10XRT random primer, 2 µl 10XRT buffer, 0.8 µl 25XdNTP mix, 4.2 µl nükleaz içermeyen su ve en son olarak 1µl MultiScribe™ Reverse Transcriptase enzimi kullanıldı. Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. 25°C'de 10 dk, 37°C'de 120 dk, 85°C'de 5 dk ve 4°C'de ∞ olacak şekilde cihazda bekletildi. Oluşan cDNA örnekleri -20°C'de saklandı.

Tablo 7. cDNA karışım miktarı

Bileşik	Hacim (µl)	Katalog No
10X RT Tamponu	2.0	4319981
25X dNTP karışımı (100mM)	0.8	4367381
Multi Scribe™ Revers Transkriptaz	1.0	4319983
10XRT Random Primer	2.0	4319979
Nükleaz içermeyen H ₂ O	4.2	
Reaksiyon toplamı	10.0	

Tablo 8. cDNA sentezi için uygulanan PZR programı

PZR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	25 ⁰ C	37 ⁰ C	85 ⁰ C	4 ⁰ C
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk	∞

Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu:

Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA'lar sekans spesifik primerlerin varlığında Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) ile amplifiye edildi. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) ve TRPM2 genlerinin belirlenmesi için aşağıdaki tabloda verilen primerler kullanıldı.

Tablo 9. RT-PZR'da kullanılan primerler

TaqMan Gene Expression Assay Gex: AB Applied Biosystems, ABD, 250µl	
Test	Katalog Numarası
Gapdh	Rn-01775763-g1
TRPM2	Rn-01429417-m1

Real Time PZR 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. RT-PZR Plate hazırlanırken cDNA örneklerinde her bir kuyucuğa 2µl kondu. Buz üzerinde her bir örnek için 5µl TaqMan Master Mix, 2.5 µl nükleaz içermeyen su ve 0.5 µl primer hibridizasyon probu olacak şekilde örnek sayısına göre hesaplanan bileşen miktarları ependorflara kondu ve vortekslendi. Plate'deki cDNA örneklerinin üzerine 8µl hazırlanan karışımdan bırakılarak plate'in üzeri optik yapıştırıcı filmle kapatıldı. Plate örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla Mini plate spin cihazında 1 dakika santrifüj edildi.

Tablo 10. RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler

Bileşikler	Hacim(µl)X Örnek Sayısı
cDNA	2.0
Primer	0.5
TaqMan Mix	5.0
Nükleaz içermeyen H ₂ O	2.5
Toplam	10.0

Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems 7500 Real-Time PZR sistemi ile ölçüldü. Çalışmada GAPDH kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Isı

koşulları 50⁰C’de 2 dakika, 95⁰C’de 10 dakika, 95⁰C’de 15 saniye ve 60⁰C’de 1 dakika olacak şekilde ayarlandı.

Tablo 11. Uygulanan RT-PZR programı

RT-PCR X 40 döngü				
	1. Adım	2.Adım	3.Adım	4.Adım
Sıcaklık	50 ⁰ C	95 ⁰ C	95 ⁰ C	60 ⁰ C
Zaman	2dk	10dk	15sn	1dk

2.8. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve Posthoc Tukey testi ile yapıldı. $p<0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. MDA Bulgular

Spektrofotometrik olarak ölçülen doku MDA düzeyleri; kontrol, Sham2 ve sham6 gruplarında benzerdi. Kontrol gruplarıyla kıyaslandığında İ-R2 ve İ-R6 gruplarında MDA düzeyleri anlamlı olarak artmış bulundu ($p<0.05$). İ-R2 ve İ-R6 grupları arasında anlamlı bir farklılık izlenmedi. (Tablo 12).

Tablo 12. Doku MDA değerleri

GRUP	MDA (nmol/g protein)
Kontrol	117.60± 3.00
Sham 2	116.53± 4.56
Sham 6	120.86± 2.95
İ-R2	142.38± 4.98 ^a
İ-R6	144.11± 11.79 ^a

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).

3.2. TUNEL Bulgular

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği beyin dokusunda nöroglial hücrelerde gözlemlendi. TUNEL pozitifliği; kontrol (Şekil 1), Sham2 (Şekil 2) ve Sham6 (Şekil 3) gruplarında benzerdi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında İ-R2 (Şekil 4) grubunda anlamlı bir değişiklik gözlenmezken İ-R6 (Şekil 5) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p<0.05$). Negatif kontrolde (Şekil 6) TUNEL pozitifliğine rastlanmadı. Pozitif kontrol (Şekil 7) için sıçan meme dokusu kullanıldı. (Tablo 13). Skala bar: 50µm.

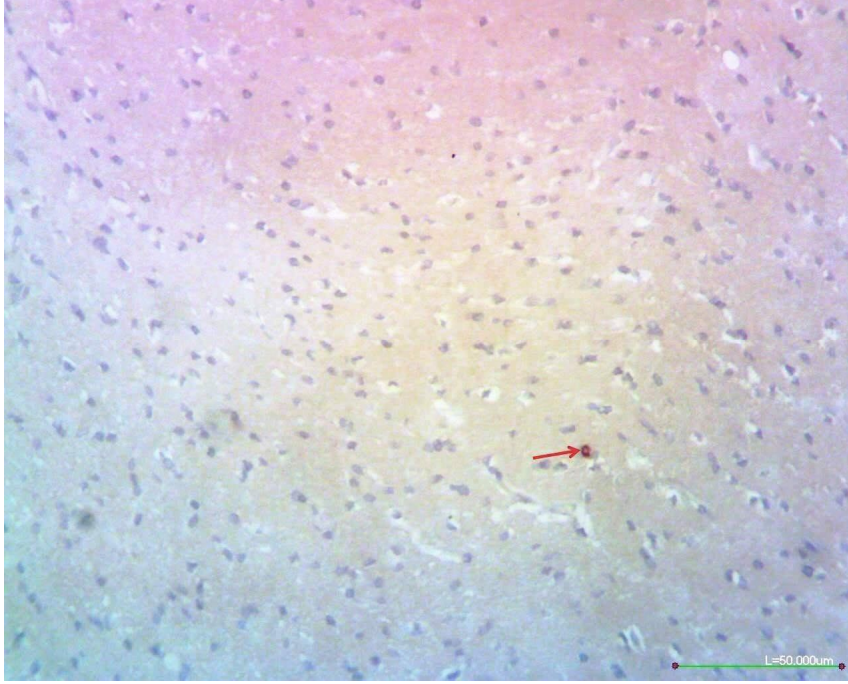
Tablo 13. Apoptotik İndeks (%)

GRUP	Apoptotik İndeks (%)
Kontrol	0.83± 0.40
Sham2	1.16± 0.40
Sham6	0.83± 0.40
İ-R2	1.16± 0.40
İ-R6	2.16± 0.40 ^{ab}

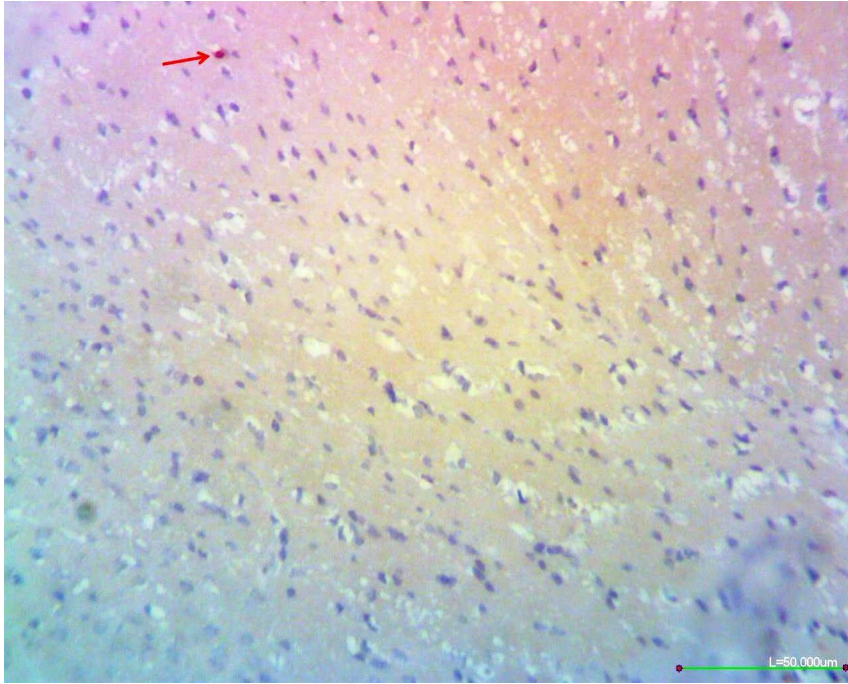
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

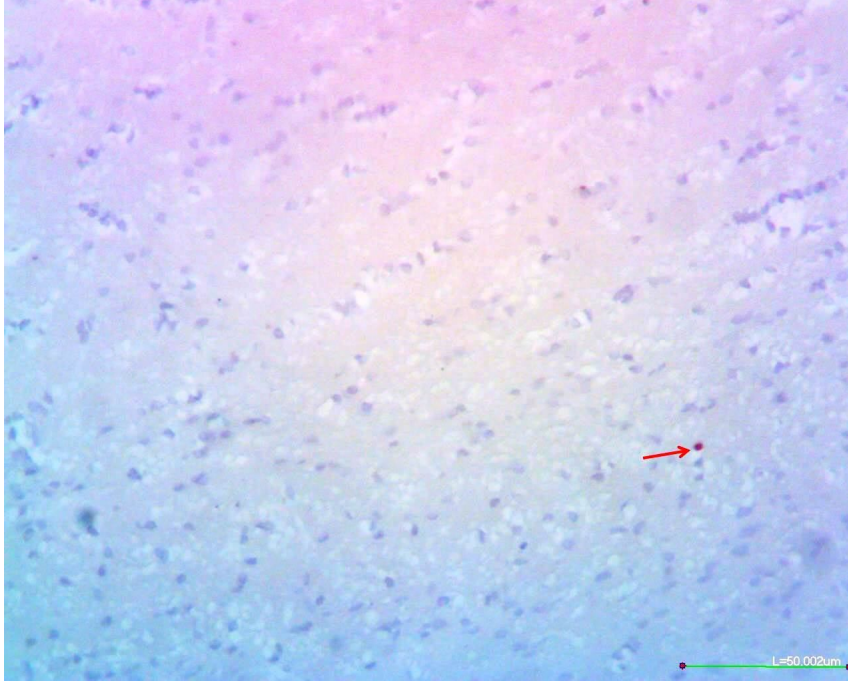
^b İ-R2 grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



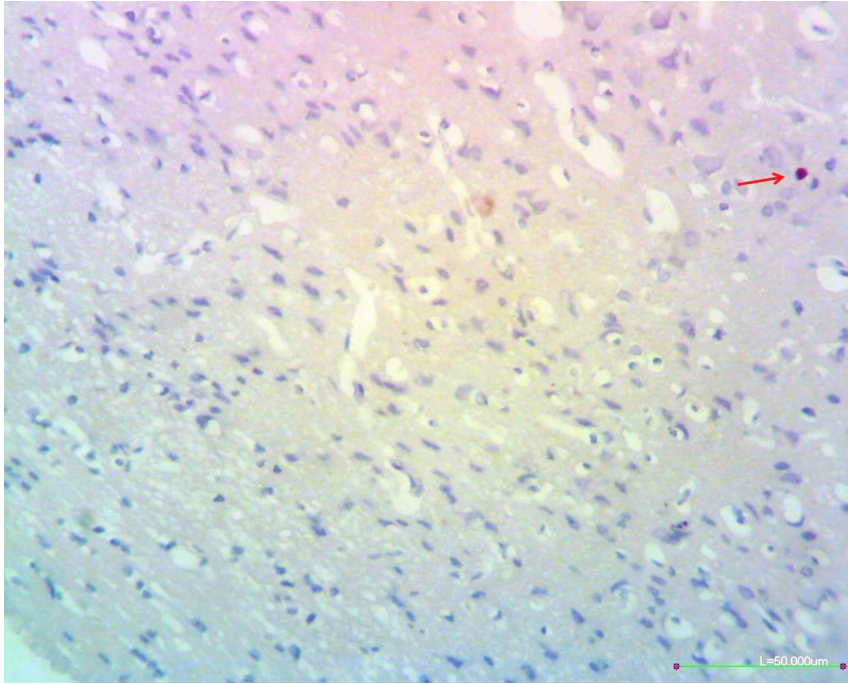
Şekil 1. Kontrol grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).



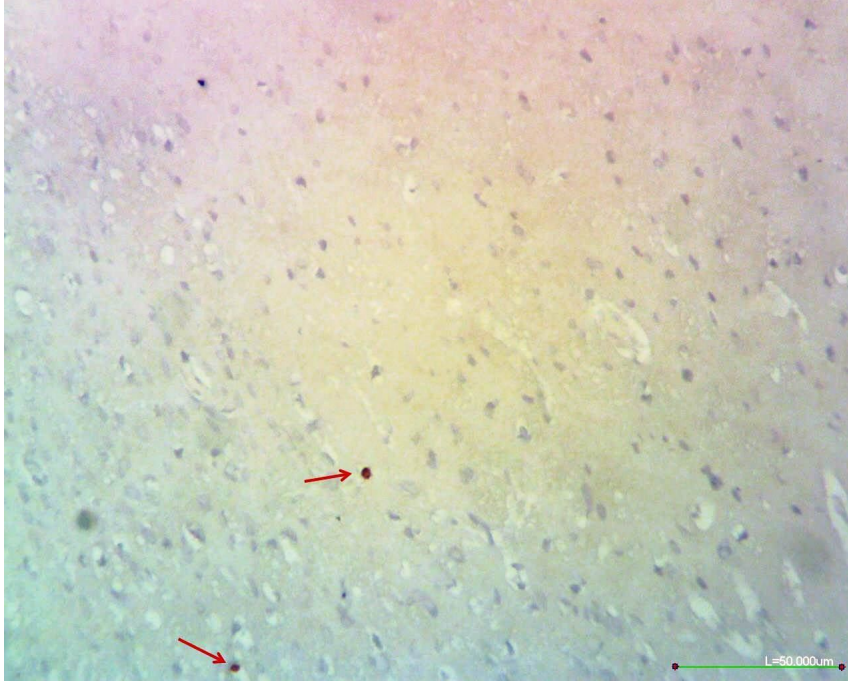
Şekil 2. Sham I grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).



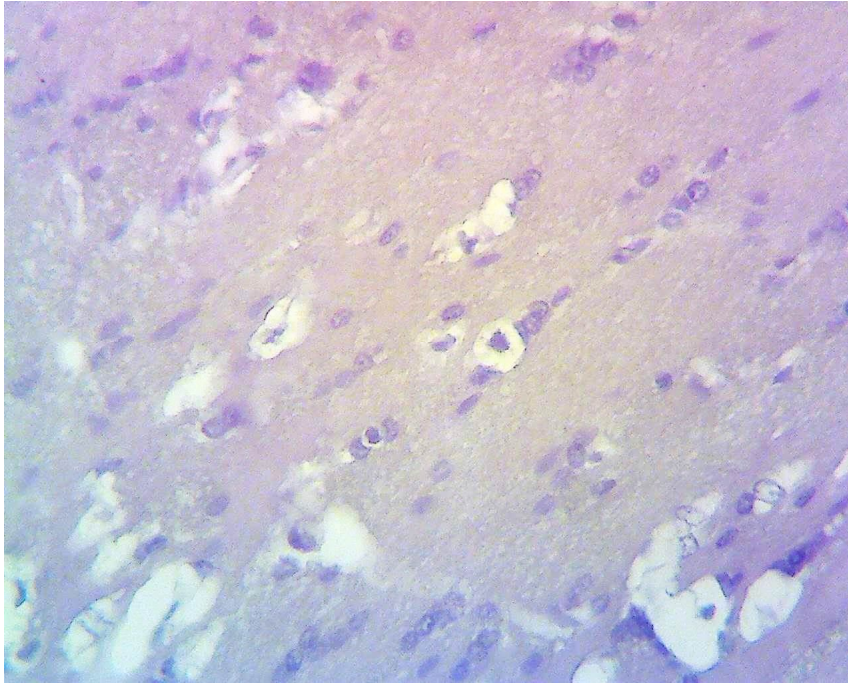
Şekil 3. Sham II grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).



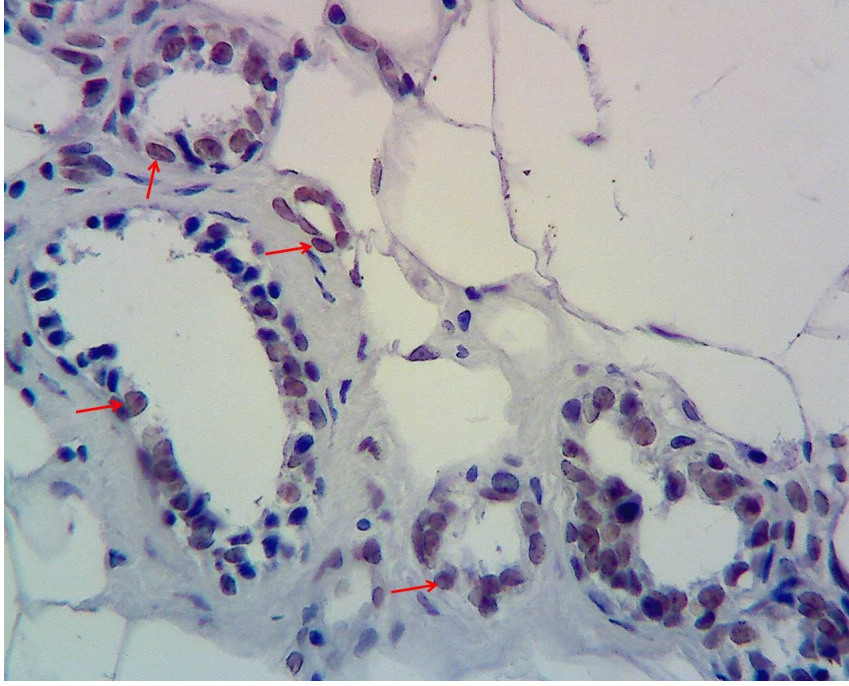
Şekil 4. İ-R2 grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).



Şekil 5. İ-R6 grubuna ait beyin dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→).



Şekil 6. TUNEL negatif kontrol.

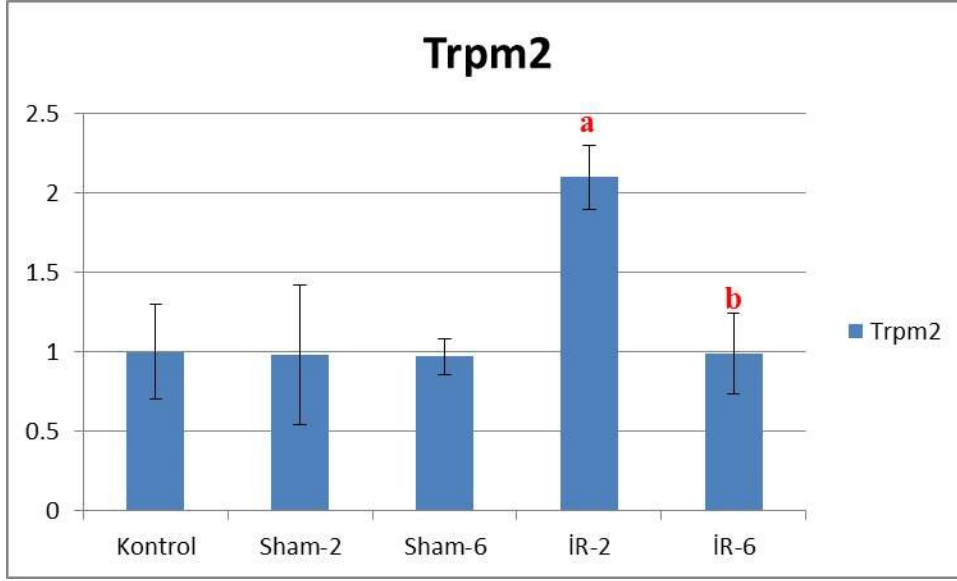


Şekil 7. TUNEL pozitif kontrol. Meme dokusu. (→).

3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Bulguları

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) mRNA düzeyleri için yapılan PZR çalışması sonucu; beyin dokusunda kontrol, sham2 ve sham6 gruplarında TRPM2 mRNA düzeyleri benzerdi. Kontrol gruplarıyla kıyaslandığında İ-R2 grubunda TRPM2 mRNA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0.05$). İ-R2 grubuyla karşılaştırıldığında ise İ-R6 grubunda anlamlı bir azalma izlendi ($p<0.05$) (Tablo 14).

Tablo 14. TRPM2 mRNA düzeyleri.



Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b İR-2 grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p < 0.05$).

3.4. TRPM2 İmmünreaktivitesi

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPM2 immünreaktivitesi beyin dokusunda nöronal (kırmızı ok) ve nöroglial (siyah ok) hücrelerde görüldü. TRPM2 immünreaktivitesi; kontrol (Şekil 8), Sham2 (Şekil 9) ve Sham6 (Şekil 10) gruplarında benzerdi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında İ-R2 (Şekil 11) ve İ-R6 (Şekil 12) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p<0.05$). İ-R2 grubuyla karşılaştırıldığında ise İ-R6 grubunda anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0.05$). Negatif kontrolde (Şekil 13) TRPM2 immünreaktivitesine rastlanmadı. (Tablo 15). Skala bar: 50 μ m.

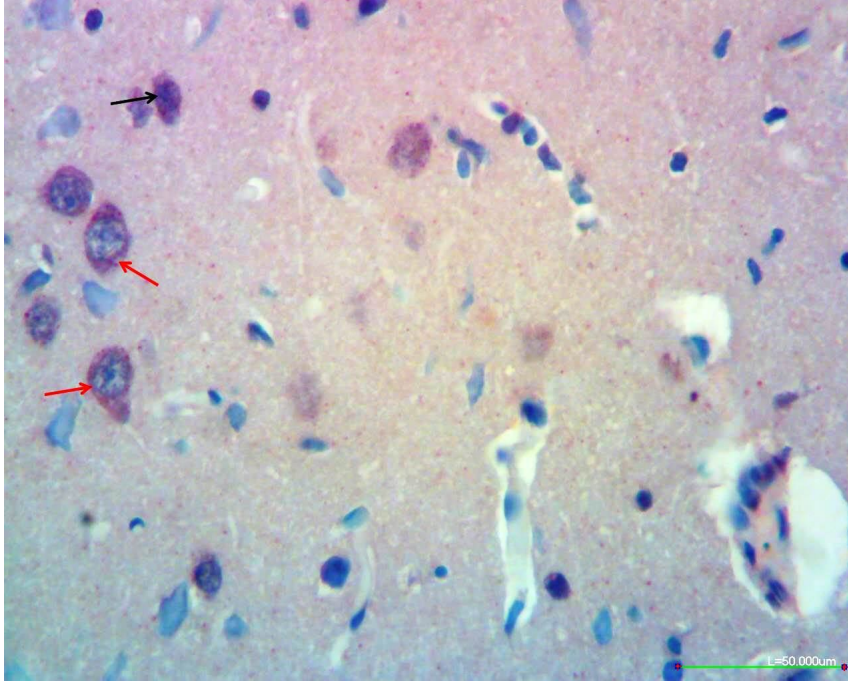
Tablo 15. Histoskor

GRUP	Histoskor (TRPM2)
Kontrol	0.02 $\pm$ 0.008
Sham2	0.018 $\pm$ 0.004
Sham6	0.016 $\pm$ 0.005
İ-R2	1.067 $\pm$ 0.20 ^a
İ-R6	1.50 $\pm$ 0.32 ^{ab}

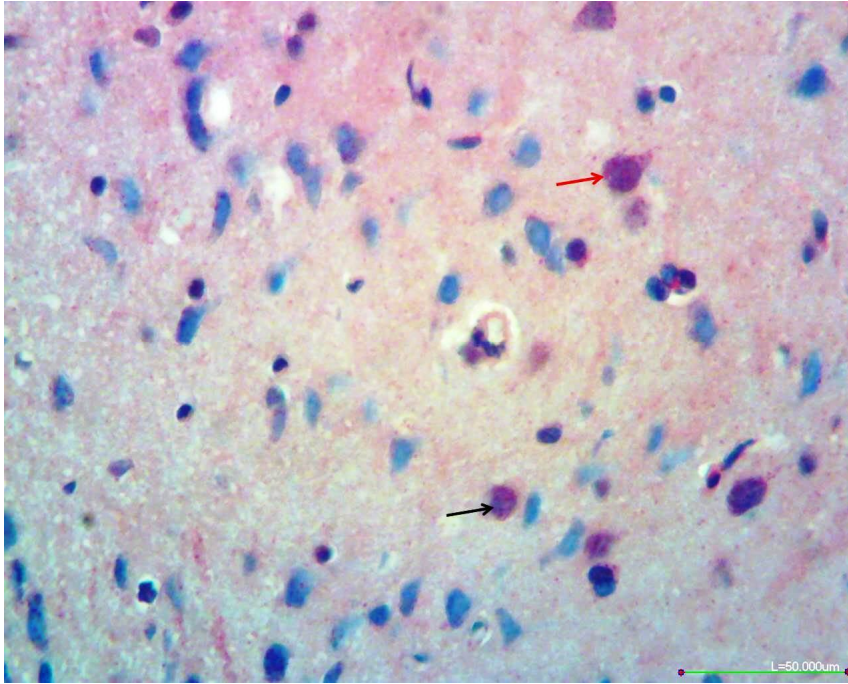
Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

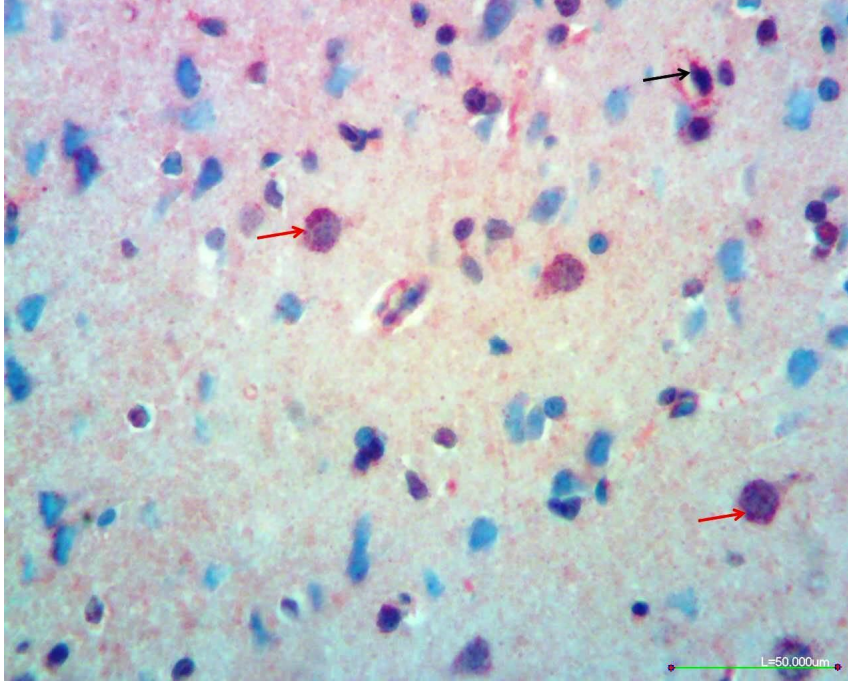
^b İ-R2 grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



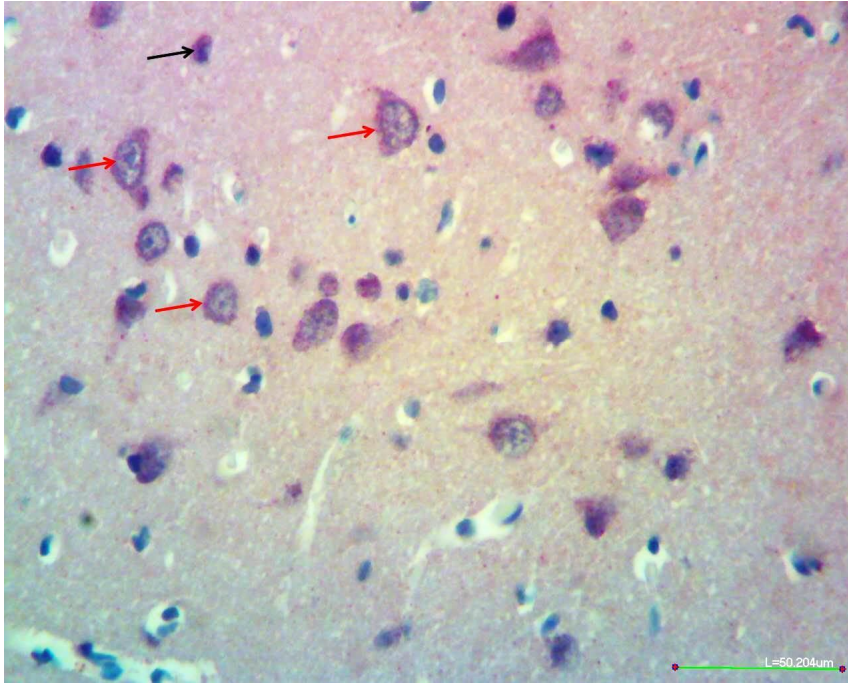
Şekil 8. Kontrol grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi (→).



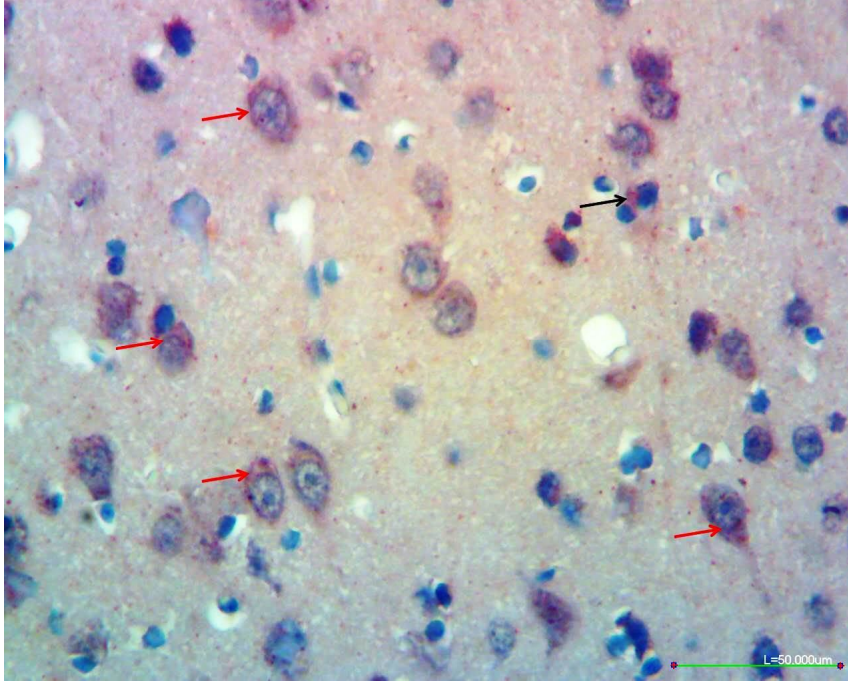
Şekil 9. Sham I grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi (→).



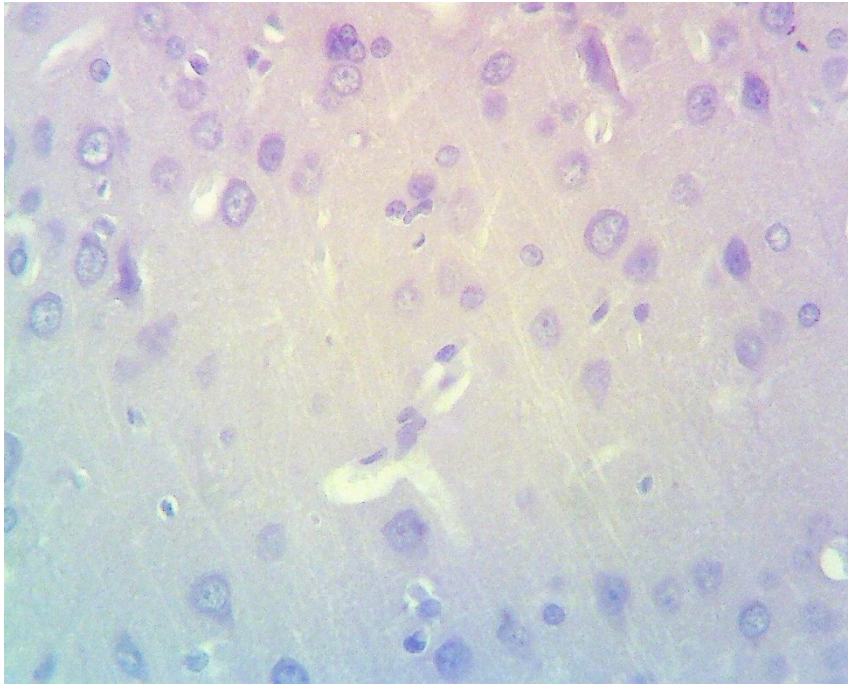
Şekil 10. Sham II grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi (→).



Şekil 11. İ-R2 grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi (→).



Şekil 12. İ-R6 grubuna ait beyin dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi (→).



Şekil 13. TRPM2 negatif kontrol.

4. TARTIŞMA

İskemik İnme; vasküler neden dışında başka bir neden olmaksızın, hızlı olarak yerleşip fokal veya global serebral fonksiyon bozukluğuna yol açan 24 saat veya daha uzun sürebilen bununla beraber bazen ölümle de sonuçlanabilen klinik bir durumdur (10).

İnme'nin % 80-85'ini iskemik inme oluşturmaktadır ve nörolojik hastalıkların en sık görüleni ve en çok ölüme neden olanıdır. İskemik inme; kişi, aile ve toplum üzerinde psikososyal problemlere yol açmaktadır, bunun dışında ekonomik yönden de yük oluşturmaktadır. Bu nedenle inmenin önlenmesi ve tedavisi, çok önemli bir halk sağlığı sorunudur (2).

Ülkemizde inme hastalarının genel özellik ve risk faktörlerinin araştırıldığı hastane tabanlı çok merkezli bir çalışmada; hemorajik inme %28, iskemik inme %72 oranında bulunmuştur (3).

İnme insidansının toplumlar arasında farklılık göstermesi değişen sosyo ekonomik faktörler, diyet, yaşam tarzı, alışkanlıklar ve çevresel koşullar ile açıklanabilir. En az çevresel faktörler kadar homeostatik sistemdeki bozuklukların da önemli olduğunu gösteren veriler mevcuttur (20).

Beyin hasarına neden olan inmenin iki temel mekanizması iskemi ve hemorajidir. İnmelerin yaklaşık %80'inin nedeni olan iskemik inmede kan dolaşımının azalmasıyla nöronlar kendileri için gerekli maddelerden yoksun kalmaktadır. İskeminin etkisi beyinde oldukça hızlıdır. Çünkü kendisi için primer enerji kaynağı olan glukozu saklamaz ve anaerobic metabolizmaya maruz kalır (5). Emboli veya trombus serebral arterde tıkanıklığa yol açarak damarın suladığı alanda iskemiye neden olur. Hücresel düzeyde nöronal hasara neden olan mekanizmada hipoksi veya anoksi rol oynar. İlerlemeyi ve iskemik hasarı belirleyen birçok faktör mevcuttur (41-43).

Serebro vasküler hastalıkta gelişen klinik sendrom damar tıkanmasıyla etkilenen beyin bölgesinin fonksiyonlarının kaybına bağlı olarak değişir (56).

Geçici iskemik ataklar: İskemik inmelerin yaklaşık olarak %75-80'i karotid dolaşımından, %20-25'i vertebrobaziler sistemden kaynaklanır. İnme için prognostik belirteç olan GİA tedavi edilmediğinde hastaların 1/3'ü 3 ay içinde inmeye maruz kalır. GİA, 24 saatten kısa süren, geçici, ani başlangıçlı, ilerleyici olmayan, beyin,

retina veya kohleanın fokal iskemisine bağlı olarak meydana gelen nörolojik defisit olarak tanımlanır (57, 59).

İnme tipinin ve hastanın klinik durumunun belirlenmesinde hastasının ilk klinik değerlendirmesi hayati önem taşıır. Klinik nörolojik muayene inmenin boyutunun belirlenmesinde önemlidir ve sık olarak inmenin özünü belirleyebilir.

Öykünün alınması inme hastalarının değerlendirilmesinin ilk basamağını oluşturur. İlk semptomlar, başlangıç zamanı, süresi ve progresyonu yada iyileşmenin bulunup bulunmadığı hekim tarafından sorgulanmalıdır. Öyküden vücudun bir tarafında güçsüzlük, konuşma bozukluğu, bilinç bulanıklığı, çift görme, duyuusal yakınmalar, denge kaybı, baş ağrısı veya baş dönmesi gibi semptomların olup olmadığı belirlenebilir. Hasta uyaranlara tepki veremiyor veya afazi nedeni ile konuşamıyorsa yakını veya olayı gözleyen bir kişiden yardım alınmalıdır (2).

Ayrııcı tanı hızla yapılmalıdır. Hasta yönetimi ani gelişen nörolojik defisitte, hasta veya gözlemleyen kişiden dikkatli öykü alma ile başlar. Hastaneye başvuru sırasındaki klinik tablo hastanın mevcut tablosu ve öntanısı hakkında bilgi vererek inme tanısında yol gösterilir. Öykünün detaylandırılması, laboratuvar testleri tanıyı daha da kesinleştirmeye yardımcı olur (77).

İskemik inmenin tedavisinde amaç, hasarlı beyin dokusunu en az düzeye indirmek, oluşabilecek ikincil hasarları engellemektir. Ayrıca akut dönemde oluşabilecek komplikasyonların önüne geçmekte tedavinin diğer amacıdır. Antiagregan, antikoagölan, trombolitik, antiödem ve nöroprotektif tedaviler bu yaklaşımların ana başlıklarını oluşturmaktadır. Akut iskemik inmede üzerinde en çok araştırma yapılmış antiagregan ajan aspirindir. Tiklopidin, klopidoğrel, dipiridamol ve glikoprotein IIb/IIIa antagonistleri ile akut dönemde tedavi konusunda yeterli bilgi henüz mevcut değildir (6).

Serbest oksijen radikalleri (SOR) direkt nöron hasarı dışında ekzitotoksik nöron hasarını ve apoptotik süreci başlatan yolları aktifleyerek hücre ölümüne neden olur. İnvitro ve invivo global-fokal iskemi/reperfüzyon modellerinde apoptotik nöronal hücre ölümü çalışılmıştır. Hücre içi yaşam/ölüm sinyal yollarının aktivasyonu apoptozise neden olur (87).

Serbest oksijen radikalleri (SOR) ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında, kanser oluşumunda,

diabette, iskemi/reperfüzyon hasarlarında, inflamatuvar rahatsızlıklarda, nöro-dejeneratif hastalıklarda ve yaşlanmanın etyopatogenezinde rol oynadığı bilinmektedir (8).

İskemi/reperfüzyon sırasında beyinde oksidatif ve nitratif stresin kilit rol oynadığı son yıllarda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (85, 86, 88, 89).

Beyin İskemi/reperfüzyon hasarının yaygın gözlenmesi ve etyopatolojisi yukarıda belirtilen geniş kapsamlı çalışmalara rağmen henüz tam olarak ortaya koyulamadığından bu çalışma beyin iskemi/reperfüzyonun etyopatolojisi ne katkı yapabilmek amacıyla dizayn edilmiştir.

Çalışmamızda, ilk olarak tüm gruplara ait beyin dokularında spektrofotometrik olarak MDA düzeyleri ölçüldü. Doku MDA düzeyleri; kontrol, Sham2 ve sham6 gruplarında benzer olarak izlendi. Kontrol gruplarıyla kıyaslandığında İ-R2 ve İ-R6 gruplarında MDA düzeylerinde anlamlı olarak artmış bulundu.

Malondialdehid (MDA) lipid peroksidasyonunun son ürünü olup aynı zamanda oksidatif hasarın temel göstergesidir (106).

Oksidatif stress serebral iskemi hasarını şiddetlendiren primer faktörlerden biri olarak kabul edilir (107-110).

Diğer organlarla karşılaştırıldığında beyin düşük rejenerasyon kapasitesi ve yüksek metabolik hızından dolayı SOR'un zararlarına karşı savunmasızdır (111)

Abd-Elsameea ve ark. (112). 2014 yılında çalışmamıza benzer şekilde ratlarda deneysel iskemi oluşturmuş olup I-R grubunda MDA seviyesini belirgin olarak arttığını tedavi olarak verilen metforminin MDA seviyesini azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışmada 30 dakika iskemi ve ardından 60 dakika reperfüzyon sonrası ratlar dekepite edilmiştir.

Bununla birlikte yapılan birçok çalışmada iskemide mda arttığını göstermişlerdir (113-114).

Yapılan deneysel çalışmalar iskemi sırasında meydana gelen serebral hasarda oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını doğrulamışlardır (117, 118).

Son çalışmalarda akut iskemik strok patogenezinde mitokondrial disfonksiyon ve oksidatif stresin ana rol oynadığı vurgulanmıştır (119, 120).

Çalışmamızda IR 6 grubundaki artmış TUNEL pozitifliği Oksidatif stresin DNA hasarına neden olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Zira İskemi sırasında hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelmektedir. Dokuya gelen kan akımının azalması veya kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve enerji depoları boşalır. Bunun sonucu olarak hücre zarında bulunan Na⁺, K⁺-ATP az pompası inhibe olur. Oksidatif strese kalsiyum dengeleri ve mitokondrial membran potansiyeli değişir. Bu değişiklik mitokondriumlarda ve DNA'da hasara yol açarak hücreyi programlı ölüme yani apoptozise sürükler (90-92).

Çalışmamızda TRPM2 immünreaktivitesi kontrol grubuyla kıyaslandığında IR2 ve IR6 gruplarında anlamlı olarak artmış bulundu.

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) katyon kanallarının aktive olmasında bazı hücre dışı etkenlerin olduğu bilinmektedir. Bunlar; oksidatif stres, ADPR/NAD⁺ metabolizması ve tümör nekroz faktörü alfa' dır (104).

Oksidatif stres, TRPM2 iyon kanallarının açılmasına neden olup hücre içi Ca⁺² artışını sağlamaktadır (104, 105)

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) kanalı oksidatif stres ile aktif olduğu için son yıllarda, diyabet, enflamasyon, miyokard enfarktüsü ve nörodejeneratif hastalıklar da dahil olmak üzere, oksidatif stresle ilgili hastalıklara karşı terapötik bir hedef olarak ortaya çıkmıştır (9, 121).

Nörolojik hastalıklarda oksidatif stress oluştuğu rapor edilmiştir. Oluşan bu stresin beyindeki fosfolipitlerin oksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki artan MDA düzeyleri beyindeki fosfolipitlerin bu yolla okside olabileceğini göstermektedir. Ayrıca beyindeki TRPM2 ekspresyonlarındaki artışta bu bilgiyi doğrulamaktadır. Çünkü yapılan birçok çalışmada oksidatif hasara bağlı TRPM2 nin arttığı ve bunundan doğrudan MDA ile ilgili olduğu bildirilmiştir (9, 97, 122-126).

Sonuç olarak; deneysel iskemi-reperfüzyonun beyin dokusunda MDA, apoptozis ve TRPM2 seviyelerini arttırdığı, iskemi-reperfüzyonun beyin dokusunu etkilemesinin patofizyolojisinde TRPM2'nin önemli bir rol oynayabileceği ve TRPM2 blokerleri ve/veya inhibitörleriyle ileride daha geniş çalışmaların yapılması ile klinik olarak iskemik inmede TRPM2 ile ilgili tedavi seçeneklerinin kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

5. KAYNAKLAR

1. Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms, challenges and opportunities stroke. *Neuroscience* 2003; 4: 399.
2. Weinberger J. Stroke. Pennsylvania; Handbooks in Health Care Co., 2002.
3. Özdemir G, Özkan S, Uzuner N, Özdemir Ö, Gücüyener D. Türkiye’de beyin damarhastalıkları için majör risk faktörleri. Türk çok merkezli stroke çalışması. *Türk BeyinDamar Hastalıkları Dergisi* 2000; 6: 31–35.
4. Utku U, Çelik Y. Strokta etiyoloji, sınıflandırma ve risk faktörleri. *Serebrovasküler Hastalıklar*. Balkan S (Ed). Antalya: Güneş Kitapevi, 2005; 57-71.
5. Jones TH, Morawetz RB, Crowell RM. Thresholds of focalischemia in a wake monkeys. *J Neurosurg* 1981; 54: 773-782.
6. Sarıbaş O, Topçuoğlu MA, Arsava EM. Akut iskemik inmelerde tedavi yaklaşımları. Balkan S (ed). *Serebrovasküler Hastalıklar*. Antalya: Güneş Kitapevi, 2005: 289-311.
7. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 17: 7915-7922.
8. Valko M, Leibfritz D, Mancol J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *J Biochem Cell Biolog* 2007; 39: 44-84.
9. Takahashi N, Kozai D, Kobayashi R, Ebert M, Mori Y. Roles of TRPM2 in oxidative stress. *Cell Calcium* 2011; 50: 279–287.
10. WHO. Steps Stroke Manual: the WHO stepwise approach to stroke surveillance. Geneva, 2006.
11. Rosamond W, Flegal K, Friday G. Heartdiseaseand strokestatistics–2007 update: a reportfromthe. American Heart Association Statistics Committeeand Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2007; 115: 69-172.
12. Balkan S. *Serebrovasküler Hastalıklar*. 1. Baskı, Ankara: Öncü Basımevi, 2002: 3-31.
13. Bonita R, Steward A, Beaglehole R. International trends in strokemortality: 1970-1985. *Stroke* 1990; 21: 989-992.

14. Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Burn J, Warlow C, Classification and natural history of clinical subtypes of cerebral infarction. *Lancet* 1991; 337: 1521-1526.
15. Lindley RI, Warlow CP, Interobserver reliability of clinical classification of acute cerebral infarction. *Stroke* 1993; 24: 1801-1804.
16. Adams HP, Bendixen BH, Kapelle J, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE. The TOAST investigators. Classification of subtypes of acute ischemic stroke. Definition for use in multicenter clinical trial. *Stroke* 1993; 24: 35-41.
17. Bakaç G. Kardiyoembolik inme. Balkan S (ed). *Serebrovasküler Hastalıklar*. Antalya: Güneş Kitabevi, 2005: 117-127.
18. Dora B, Balkan S. Laküner infarktlar. Balkan S (ed). *Serebrovasküler Hastalıklar*. Antalya: Güneş Kitabevi, 2005: 103-115.
19. Kutluk K. İskemik inme. Kutluk K (ed). *Klinik yaklaşım ve sınıflama* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2004: 61-73.
20. Bradley WG, Daroff BR, Fenichel GM, Marsden CD. *Neurology in Clinical Practice. The Neurological Disorders. Third Edition. Vascular Diseases of The Nervous System* 2000: 1125-1126.
21. Kumral E. İnme Epidemiyolojisi. Balkan S (ed). *Serebrovasküler Hastalıklar*. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 39-56.
22. Wolf PA, Belanger AJ, D'Agostino RB. Management of risk factors. *Neurol Clin* 1992; 10: 177-179.
23. Kanter MC, Sherman DG. Strategies for preventing stroke. *Current Opinion in Neurology and Neuro surgery* 1993; 6: 60-65.
24. Kuusisto J, Mykkanen L, Laasko M. Non-insulin dependent diabetes and its metabolic control are important predictors of stroke in elderly subjects. *Stroke* 1994; 25: 1157-1164.
25. Rohr J, Kittner S, Feaser B. Traditional risk factors and ischemic stroke in young adults: The Baltimore-Washington Cooperative Young Stroke Study. *Arch Neurol* 1996; 53: 603-605.

26. Zuber M, Mass JL. Epidemiologie des accidents vasculaires cérébraux. *Rev Neurol* 1992; 148: 245-255.
27. Inzitari D, Eliasziw M, Gates P. The causes and risk of stroke in patients with asymptomatic internal carotid artery stenosis. *N Engl J Med* 2000; 342: 1693-1700.
28. Benjamin EJ, Wolf PA, D'Agostino RB, Silbershatz H, Kannel WB, Levy D. Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998; 98: 946-952.
29. Kumral K, Kumral E. Santral Sinir Sisteminin Damarsal Hastalıkları. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 1993: 440-446.
30. Rowland LP. Vascular Diseases. *Merritt's Neurology*. Tenth Edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 217-256.
31. Cerebral Embolism Study Group. Immediate anticoagulation of embolic stroke: a randomized trial. *Stroke* 1983; 14: 668-676.
32. Kittner SJ, Sharkness CM, Price TR, Plotnick GD, Dambrosia JM, Wolf PA, et al. Infarcts with a cardiac source of embolism in the NINCDS Stroke Data Bank: historical features. *Neurology* 1990; 40: 281-84.
33. Simons LA. Triglyceride levels and the risk of coronary artery disease. Review from Australia. *Am J Cardiol* 1992; 70: 15-19.
34. Ohene FK, Weiner SJ, Sleeper LA. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 1998; 91: 288-294.
35. Ohene-Frempong K. Stroke in sickle cell disease: demographic, clinical, and therapeutic considerations. *Semin Hematol* 1991; 28: 213-219.
36. Palomaki H, Kaste M. Regular light to moderate intake of alcohol and the risk of ischemic stroke. Is there a beneficial effect? *Stroke* 1993; 24: 1828-1832.
37. WHO Stroke 1989. Recommendation on stroke prevention, diagnosis and therapy. *Stroke* 1989; 20: 1407-1431.
38. Sarkar PK, Lambert LA. Etiology and treatment of hyper homocysteinemia causing ischemic stroke. *Int J Clin Pract* 2001; 55: 262-268.

39. Gillum LA, Mamidupidi SK, Johnson SC. Ischaemic stroke risk with oral contraceptives, a meta analysis. JAMA 2000; 284: 72-78.
40. Adams RD, Victor M, Ropper HA, Brown HB. Principles Of Neurology. 8th ed. USA McGraw Hill Co 2006; 34: 660-746.
41. Wass CT, Lanier WL. Glucose modulation of ischemic brain in jury: review and clinical recommendations. Mayo Clin Proc 1996; 71: 801-812.
42. Bruno A, Biller J, Adams HP. Acute blood glucose level and out come from ischemic stroke. Neurology 1999; 52: 280-284.
43. Reith J, Jorgensen HS, Pedersen PM. Body temperature in acute stroke: relation to stroke severity, infarct size, mortality, and outcome. Lancet 1996; 347: 422-425.
44. Schwab S, Spranger M, Aschoff A. Brain temperature monitoring and modulation in patients with severe MCA infarction. Neurology 1997; 48: 762-767.
45. <https://www.uic.edu/com/ferne/pdf/pathophys0501.pdf> . Erişim tarihi 26.04.2015
46. Afifi AK, Bergman RA. Cerebral Circulation. Functional Neuroanatomy 2005; 27: 348-367.
47. Oğul E. Beyin damar hastalıkları. Klinik Nöroloji. 1. Baskı, İstanbul: Motif Basım, 2002: 1-28.
48. Garcia JH, Yoshida Y, Chen H, Li Y, Zhang ZG, Lian J, et al. Progression from ischaemic injury to infarct following middle cerebral artery occlusion in therat. Am J Pathol 1993; 142: 623-635.
49. Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. J Cereb Blood Flow Metab 2004; 24: 133-150.
50. Pulsinelli WA. The ischemic penumbra in stroke. Sci Med 1995; 1: 16-25.
51. Hakim AM. Ischemic penumbra, the therapeutic window. Neurology 1998; 51: 44-46.
52. Astrup J, Seisjo BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia—the ischemic penumbra. Stroke 1981;12: 723-725.
53. Zivin JA, Choi DW. Stroketherapy. Sci Med 1991; 265: 56-53.

54. Wise RJ, Bernardi S, Frackowiak RS, Legg NJ, Jones T. Serial observations on the pathophysiology of acute stroke: the transition from ischaemia to infarction as reflected in regional oxygen extraction. *Brain* 1983; 106: 197-222.
55. Heros R. Stroke: early pathophysiology and treatment. *Stroke* 1994; 25: 1877-1881.
56. Bogousslavsky J, Caplan L. *Stroke Syndromes*. Second Edition. Cambridge, 2001.
57. Porth C. *Essentials of pathophysiology: concepts of altered health states*. Porth C (eds). *Disorders of brain function*. 3rd edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins 2011: 927-966.
58. Flemming KD, Brown RD, Petty GW, Huston J, Kallmes DF, Piepgras DG. Evaluation and management of transient ischemic attack and minor cerebral infarction. *Mayo Clin Proc* 2004; 79: 1071-1086.
59. Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J. *Neurology in Clinical Practice*. Selekler K (ed). (Çev.: Tan E, Özdamar SE), İstanbul: Güneş Kitabevi, 2008: 1165-1223.
60. Ropper AH, Brown HR. *Cerebrovascular Diseases*. Foltin F, Nogueira I, Edmonson GK (Eds). *Adams and Victor's Principles of Neurology*. 8th ed. Mc Graw Hill Co, 2005: 821-924.
61. Gillen G. Upper extremity function and management. Gillen G, Burkhardt A (eds), *Stroke rehabilitation a function-based approach*. 2nd ed. Philadelphia: Mosby, 2004. : 172-218.
62. Gilroy J. Karadudak R. *Serebrovasküler Hastalıklar*. Temel Nöroloji. Güneş Kitabevi 2002; 8: 237-239.
63. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi. *Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları –Nöroloji-* Nobel Tıp Kitabevi, 2004: 193.
64. Dere F. MSS'nin kanlanması. *Nöroanatomî*. Fonksiyonel nöroloji atlası ve ders kitabı. Adana: Nobel Tıp Kitabevi 2000; 3: 433-434.
65. Snell RSM. *Tıp Fakültesi Öğrencileri için Klinik Nöroanatomî*. Yıldırım M (Çev. Ed) 4. Ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000: 506-511.

66. Grau AJ, Weimar C, Buggle F, Heinrich A, Goertler M, Neumaier S, et al. Risk factors, outcome, and treatment in subtypes of ischemic stroke: the German stroke data bank. *Stroke* 2001; 32: 2559-66.
67. Yaşargil MG. *Microneurosurgery*. Volum I. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 1984:128-143.
68. Martin RG, Grant JL, Peace D, Theiss C, Rhoton AL. Microsurgical relationship of the anterior inferior cerebellar artery and the facial-vestibulocochlear nerve complex. *Neurosurgery* 1980; 6: 493-507.
69. Lule D, Zickler C, Hacker S, Bruno MA, Demertzi A, Pellas F, et al. Life can be worth living in locked-in syndrome. *Prog Brain Res* 2009;177:339-351.
70. Atkinson WJ. The anterior inferior cerebellar artery; its variations, pontine distribution, and significance in the surgery of cerebello-pontine angle tumours. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1949; 12: 137-151.
71. Kumral E. *Akut İskemik İnme*. İstanbul: Akal Ofset, 2001: 1-68.
72. Adams HP, del ZG, Alberts MJ. Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists. *Stroke* 2007; 38: 1655-711.
73. Adams RJ, Albers G, Alberts MJ. Update to the AHA/ASA recommendations for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack. *Stroke* 2008; 39: 1647–1652.
74. Fryback DG, Thornbury JR. The efficacy of diagnostic imaging. *Med Decis Making* 1991: 88-94.
75. Schramm P, Schellinger PD, Klotz E, Kallenberg K, Fiebach J, Külkens S, et al. Comparison of perfusion computed tomography and computed tomography angiography source images with perfusion-weighted imaging and diffusion-weighted

imaging in patients with acute stroke of less than 6 hours' duration. *Stroke* 2004; 35: 1562-1568.

76. Hand P, Wardlaw JM, Rowat AM, Haisma JA, Lindley RI, Dennis MS. MR brain imaging in patients with acute stroke-feasibility and patient-related difficulties. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 1525-1527.
77. Önal MZ, Fisher M, Bogousslavsky J. Current review of Cerebrovascular Disease. Fourth Edition ed. Fisher M, Bogousslavsky J (eds). *Clinical Evaluation Of Stroke* Philadelphia: Current Medicine Inc, 2001: 101.
78. Adams HP Jr, Adams RJ, Brott T, del Zoppo GJ, Furlan A, Goldstein LB, et al. Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke. A scientific statement from the stroke council of the American stroke association. *Stroke* 2003; 34: 1056-1083.
79. Stroke Study Group Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The national institute of neurological disorders and stroke rt-PA. *N Engl J Med* 1995; 333: 1581-1587.
80. Albers GW, Clark WM, Madden KP, Hamilton SA. ATLANTIS trial: results for patients treated within 3 hours of stroke onset. Alteplase thrombolysis for acute noninterventional therapy in ischemic stroke. *Stroke* 2002; 33: 493–495.
81. Hacke W, Kaste M, Bluhmki E. Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 2008; 359: 1317–1329.
82. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Basım, Yayım ve Dağıtım, 1995: 201-202.
83. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue-injury. *Biochemical J* 1984; 222: 1-15.
84. Warner DS, Sheng H, Batinic-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol* 2004; 207: 3221-3231
85. Gursoy Y, Ozdemir Y. Role of endothelial nitric oxide generation and peroxynitrite formation in reperfusion injury after focal cerebral ischemia. *Stroke* 2000; 31: 1974-1980.

86. Gursoy Y, Ozdemir Y, Can A, Dalkara T. Reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to neurovascular unit after focal cerebral ischemia. *Stroke* 2004; 35: 1449-1453.
87. Christophe M, Niolas S. Mitochondria: A target for neuroprotective interventions in cerebral ischemia/reperfusion. *Current Pharmaceutical Design* 2006; 12: 739-757.
88. Nanetti L, Raffaelli F, Vignini A, Perozzi C, Silvestrini M, Bartolini M, et al. Oxidative stress in ischaemic stroke. *Eur J Clin Invest* 2011; 41: 1318-1322.
89. Taffi R, Nanetti L, Mazzanti L, Bartolini M, Vignini A, Raffaelli F, et al. Plasma levels of nitric oxide and stroke outcome. *J Neurol* 2008. 255: 94-98.
90. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaslanma. *Cerrahpasa Journal of Medicine* 2004; 35: 159-169.
91. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42: 225-246.
92. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun* 1989; 7: 255-264.
93. Guyton AC, Hall EJ. *Textbook of Medical Physiology*. 11th Ed. Philadelphia: Saunders, 2006.
94. Cosens DJ, Manning A. Abnormal electroretinogram from a *Drosophila* mutant. *Nature* 1969; 224: 285-287.
95. Nilius B. Transient receptor potential (TRP) cation channels: rewarding unique proteins. *Bull Mem Acad R Med Belg* 2007; 162: 244-253.
96. Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature* 2003; 426: 517-524.
97. Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. *J Membr Biol* 2006; 209: 31-41.
98. Fleig A, Penner R. The TRPM ion channel subfamily: molecular, biophysical and functional features. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 633-639.

99. Nilius B, Prenen J, Droogmans G, Voets T, Vennekens R, Freichel M, et al. Voltage dependence of the Ca^{+2} activated cation channel TRPM4. *J Biol Chem* 2003; 33: 30813-30815.
100. Watanabe H, Murakami M, Ohba T, Takahashi Y, Ito H. TRP channel and cardiovascular disease. *Pharmacol Therapeut* 2008; 118: 337-351.
101. Hecquet CM, Malik AB. Role of H_2O_2 -activated TRPM2 calcium channel in oxidant-induced endothelial injury. *Thromb Haemost* 2009; 101: 19-25.
102. Takahashi N, Kozai D, Kobayashi R, Ebert M, Mori Y Roles of TRPM2 in oxidative stress. *Cell Calcium* 2011; 50: 279–287.
103. Wehage E, Eisfeld J, Heiner I, Jungling E, Zitt C, Luckhoff A. Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTRPC2) by hydrogen peroxide. A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose. *J Biol Chem* 2002; 277: 23150–23156.
104. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, Maeno E, Nishida M, Yoshida T, et al. LTRPC2 Ca^{2+} - permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002; 9: 163-173.
105. Lange I, Yamamoto S, Partida-Sanchez S, Mori Y, Fleig A, Penner R. TRPM2 functions as a lysosomal Ca^{2+} -release channel in beta cells. *Sci Signal* 2009; 19: 23.
106. WHO. STEPS Stroke Manual: The WHO Stepwise Approach to Stroke Surveillance. Geneva, 2006.
107. Jianping S. Ischemia, reperfusion and no-reflow phenomenon. Svenson LG, Crawford ES. Cardiovascular and Vascular Disease of the Aorta, Philadelphia. WB Saunders Company 1997.
108. Chan P, Chan H. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Metab* 2001; 21: 2–14.
109. Bozkurt AK. Deneysel iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde pentoksifillinin rolü. *Damar Cer Derg* 2001; 3: 101-104.

110. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem* 1997; 43: 1209-1214.
111. Janardhan V, Qureshi, AI. Mechanisms of ischemic brain injury. *Current Cardiology Reports* 2004; 6: 117–123.
112. Andersen JK, Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? *Nat. Med.* 2004; 10: 18–25.
113. Abd-Elsameea AA, Moustaf AA, Mohamed AM. 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: 2387-2392.
114. Aras AB, Guven M, Akman T, Ozkan A, Sen HM, Duz U, et al. Neuroprotective effects of daidzein on focal cerebral ischemia injury in rats. *Neural Regen Res* 2015; 10: 146-152.
115. Tu Q, Cao H, Zhong W, Ding B, Tang X. *Exp Brain Res.* Atorvastatin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury through anti-inflammatory and antioxidant effects. *Neural Regen Res* 2014; 9: 268-2675.
116. Vagnozzi R, Tavazzi B, Di Pierro D, Giardina B, Fraioli B, Signoretti S, et al. *Exp Brain Res.* Effects of increasing times of incomplete cerebral ischemia upon the energy state and lipid peroxidation in the rat. 1997; 117: 411-418.
117. Xie Y, Zhang B, Zhang Y. Protective effects of *Acanthopanax* polysaccharides on cerebral ischemia-reperfusion injury and its mechanisms. *Int J Biol Macromol* 2015; 72: 946-50.
118. Manzanero S, Santro T, Arumugam TV. Neuronal oxidative stress in acute ischemic stroke: sources and contribution to cell injury. *Neurochem Int* 2013; 62: 712–718.
119. Radak D. Resanovic I, Isenovic ER. Link between oxidative stress and acute brain ischemia. *Angiology* 2014; 65: 667–676.
120. del Zoppo GJ. Stroke and neurovascular protection. *N Eng J Med* 2006; 354: 553–555.

121. Aydin S, Eren MN, Kuloglu T, Aydin S, Yilmaz M, Gul E, et al. *Biotech Histochem.* Alteration of serum and cardiac tissue adropin, copeptin, irisin and TRPM2 expressions in DOX treated male rats. 2015; 90: 197-205.
122. Gao G, Wang W, Tadagavadi RK, Briley NE, Love MI, Miller BA, Reeves WB. TRPM2 mediates ischemic kidney injury and oxidant stress through RAC1. *J Clin Invest* 2014; 124: 4989-5001.
123. Zhang W, Hirschler-Laszkiewicz I, Tong Q, Conrad K, Sun SC, Penn L, et al. TRPM2 is an ion channel that modulates hematopoietic cell death through activation of caspases and PARP cleavage. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290: 1146–1159.
124. Hiroi T, Wajima T, Negero T, Ishii M, Nakano Y, Kiuchi Y, et al. Neutrophil TRPM2 channels are implicated in the exacerbation of myocardial ischaemia/reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2013; 97: 271-281.
125. Knowles H, Li Y, Perraud AL. The TRPM2 ion channel, an oxidative stress and metabolic sensor regulating innate immunity and inflammation. *Immunol Res* 2013; 55: 241-248.
126. Naziroğlu M. New molecular mechanisms on the activation of TRPM2 channels by oxidative stress and ADP-ribose. *Neurochem Res* 2007; 32: 1990-2001.

6. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Elazığ'ın Palu İlçesi'nde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2003 yılında Elazığ 75.Yıl Lisesi'nden mezun oldum. 2003 yılında girdiğim Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2009 yılında mezun oldum. 2014 yılında evlendim. Temmuz 2011 tarihinden itibaren Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda ihtisasa devam etmekteyim.