



T.C.  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**AKUT İSKEMİK İNMEDE ANJİYOJENİNİN AKUT VE  
KRONİK (3 AYLIK) NÖROLOJİK DURUM, LEZYON  
VOLÜMÜ VE LİPİD PROFİLİ İLE İLİŞKİSİ**

Dr. BAHAR ERBAŞ  
UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2010







T.C.  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**AKUT İSKEMİK İNMEDE ANJİYOJENİNİN AKUT VE  
KRONİK (3 AYLIK) NÖROLOJİK DURUM, LEZYON  
VOLÜMÜ VE LİPİD PROFİLİ İLE İLİŞKİSİ**

Dr. BAHAR ERBAŞ  
UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. SEVİNÇ AKTAN

İSTANBUL 2010



## İÇİNDEKİLER

### Sayfalar

Özet .....	i
İngilizce Özet (Abstract) .....	ii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini .....	iii
1. Giriş ve Amaç .....	1
2. Genel Bilgiler .....	3
2.1. İskemik İnme Tanımı Ve Epidemiyolojisi .....	3
2.2. İskemik İnmelerde Etyolojik Sınıflama (TOAST sınıflaması) .....	4
2.1.1. Büyük Damar Ateroskerozu .....	4
2.1.2. Küçük Damar Hastalığı (Lakün) .....	4
2.1.3. Kardiyembolik İnme .....	5
2.1.4. Diğer Belirlenen Etyolojiler .....	5
2.1.5. Nedeni Belirlenemeyen İskemik İnme (Kriptojenik) .....	6
2.3. İnme Risk Faktörleri .....	6
2.3.1. Kesinleşmiş Risk Faktörleri .....	6
2.3.2. Kesinleşmemiş Risk Faktörleri .....	9
2.4. İskemik İnmede Klinik Durum ve Prognozu Değerlendirmede Kullanılan Skalalar .....	9
2.5. İskemik İnme ve Anjiyojenez .....	11
2.5.1. Anjiyojenezin Tanımı .....	11
2.5.2. Normal Beyinde Yeni Damarların Oluşumu .....	12
2.5.3. Anjiyojenezin Düzenlenmesi .....	16
2.5.4. Anjiyojeninin Anjiyojenezdeki Yeri .....	17
2.5.5. Anjiyojeninin Görevleri .....	22
2.5.6. İskemik İnme ve Anjiyojenez .....	23
2.5.7. İskemik ile İlgili Anjiyojenezde Anjiyojenin .....	25
3. Araştırmanın Materyel ve Metodu .....	27
3.1. Hasta Grubunun Oluşturulması ve Nörolojik İzlemi .....	27
3.2. Kan Örneklerinin Toplanması ve ANG Düzeylerinin Analizi .....	27
3.3. Lezyon Volümünün Ölçülmesi .....	28



3.4. İstatistiksel Analiz .....	29
4. Bulgular .....	30
5. Tartışma .....	37
6. Sonuçlar .....	48
7. Kaynaklar .....	50
8. Ekler .....	63
Ek 1. Hasta Bilgilendirme ve Onam Formları .....	63
Ek 2. Hasta Takip Formu .....	66
Ek 3. NIHSS Skalası .....	67
Ek 4. Modifiye Rankin Skalası .....	69
Ek 5. Barthel İndeksi .....	70



## ÖZET

**AMAÇ:** İskemik inmede anjiyojenezin nöronal hasarın tamirine yardımcı olduğu düşünülmektedir. Bu amaçla akut iskemik inmede anjiyojenik bir faktör olan anjiyojenin araştırılmış, anjiyojenin düzeylerinin akut dönem ve üçüncü aydaki nörolojik iyilik haline etkisi incelenmiş, buna ek olarak aterosklerotik risk faktörlerinin, ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanımının ve inme etyolojisinin anjiyojenin düzeylerine etkisi ve anjiyojenin düzeylerinin lezyon volümü ile ilişkisine bakılmıştır.

**METOD:** Çalışmaya 41 hasta (belirtilerin başlangıcından itibaren ilk 72 saat içinde başvuran, hemorajik inmenin dışlandığı) ve yaş, ateroskleroz risk faktörleri açısından benzer özellikler gösteren 22 kontrol dahil edilmiştir. Malignite, kronik sistemik infeksiyon veya romatolojik hastalığı saptananlar, son üç ay içinde geçirilmiş inme, miyokard infarktüsü ve ağır semptomları olan periferik damar hastalığı olanlar çalışma haricinde tutulmuştur. Hastalardan başvuru esnasında (ANG 1) ve 5-7.günler içinde (ANG 2). İlk 12 saat içinde başvuranların (n= 14) (ANG 1a) ve 12-72 saat içinde başvuranların (n=24) (ANG 1b) ANG 1 düzeylerinin istatistiksel analizi ayrı ayrı yapılmıştır. Hastaların başvuru NIHSS skoru kaydedilmiştir. Ayrıca taburculukta NIHSS ve modifiye Rankin Skalaları (mRS) hesaplanmıştır. Hastalar üçüncü ayda tekrar görülmüş, klinik durumları mRS ve Barthel indeksi (BI) ile değerlendirilmiştir.

Serum anjiyojenin düzeyleri ELISA tekniğiyle incelenmiştir. Lezyon volümü “pen-trace” metodu ile her bir aksiyal planda ölçülerek ölçümlerin toplamı alınmıştır. İnme etyolojisinin (TOAST sınıflandırmasına göre), diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi varlığının, hastanın daha önceki ASA, ACEİ grubu antihipertansif, statin kullanımının, yaş/ cinsiyet farklarını anjiyojenin düzeyleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ayrıca lezyon volümünün yanı sıra LDL-K, trigliserid, total kolesterol, HDL-K, lökosit, nötrofil, sedimentasyon, CRP düzeylerinin anjiyojenin düzeyleri ile korelasyonu analiz edilmiştir.

**SONUÇ:** Hem ANG 1 hem de ANG 2 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Anjiyojenin ve akut nörolojik durum (NIHSS, taburculuktaki mRS) arasında bağlantı saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ). Üçüncü aydaki



mRS'ye göre iyi prognoz gösteren (mRS=0-2) hastaların ANG 2 düzeyi kötü prognoz (mRS >2)gösterenlere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p <0,05). BI'ye göre kötü prognoz (BI <95) gösteren hastaların ANG 1 düzeyleri ANG 2 düzeylerine göre anlamlı olarak yüksektir (p <0,05). İnme öncesinde statin kullananlardaki (n=7) ANG 1b düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,05). ANG 1a düzeyleri arttıkça lezyon volümü anlamlı olarak azalmış, nötrofil sayısı arttıkça ANG 2 düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır (p<0,05). Ayrıca serum trigliserid ve total kolesterol düzeyleri, ANG 1a düzeyleri ile korele olarak anlamlı olarak artmıştır (p<0,05).

**YORUM:** Akut iskemik inmede anjiyojenin düzeylerinin üç aylık nörolojik izlem üzerinde anlamlı etkisi vardır. Anjiyojenin yüksekliği ilk 12 saatte lezyon volümünde düşme ile birlikte dir. Statin kullanımı akut iskemik hastalarında anjiyojenin düzeyini arttırarak anjiyojenez aracılı nöronal hasar tamirine katkıda bulunabilir.

**ANAHTAR SÖZCÜKLER,** Akut iskemik inme, anjiyojenezis, anjiyojenin, lezyon volümü, NIHSS, modifiye Rankin, Barthel indeksi, nörolojik durum.



## ABSTRACT

### THE EFFECTS OF ANGIOGENIN IN ACUTE ISCHEMIC STROKE PATIENTS: LESION VOLUME, ACUTE AND THIRD MONTH NEUROLOGICAL STATUS

**AIM:** Angiogenesis can facilitate the recovery of neuronal damage in ischemic stroke. In this study, we aimed to investigate the relationship between angiogenin levels and lesion volume, acute and chronic (third month) neurological status at acute ischemic stroke patients. Besides, we evaluated the effects of atherosclerotic risk factors, pre-stroke aspirine, ACE inhibitor and statin treatment and etiological classification of ischemic stroke on angiogenin levels.

**METHOD:** Forty one patients with acute stroke, confirmed by head CT or MRI scan, that admitted within 72 hours from the symptom onset and 22 age, gender and atherosclerotic risk factors matched controls were recruited for the study. The patients with malignity, chronic infectious disease, romathologic disease, peripheric arterial disease and suffering from MI or acute stroke in last three month were excluded. Blood samples were collected twice for each patients on admission (ANG 1) and between 5-7. day (ANG 2) from the symptom onset. Fourteen patients were admitted within 12 hours (ANG 1a) (n= 14), the others' angiogenin levels (ANG 1b) (n=24) were studied separately. NIHSS scores was recorded (on admission and at discharge from the hospital), modified Rankin scores (mRS) (on discharge from the hospital and at third month follow up) and Barthel index (BI) (on third month) were recorded. Serum angiogenin level were detected by ELISA technic. Lesion volume at admission was measured using "pen-trace" method on cranial MRI (DWI). Patients were classified into etiological subtypes according to TOAST criteria. Leucocytes, neutrophil, LDL-C, triglycerid, total cholesterol, HDL-C, sedimentation and CRP levels were measured and compared with angiogenin levels.

**RESULTS:** Angiogenin levels at ischemic stroke patients were not different from the control levels. There was no significant relationship between angiogenin levels and acute neurologic status (NIHSS and mRS on discharge). However, the patients with good prognosis (mRS 0-2) on third month had significantly high ANG 1 levels compared to the patients with poor prognosis (p <0,05). The patients with poor prognosis (BI <95) had significantly high ANG 1



levels compared with ANG 2 levels ( $p < 0,05$ ). ANG 1b levels of the patients with pre-stroke statin treatment ( $n=7$ ) were measured significantly high without statin treatment. There was a negative correlation between ANG 1a levels (within 12 hours) and lesion volumes ( $p < 0,05$ ), lesion volumes were decreasing while ANG 1a levels were increasing. There was also a negative correlation between neutrophil counts and ANG 2 levels ( $p < 0,05$ ). High neutrophil counts are associated with low ANG 2 levels.

**CONCLUSION:** Angiogenin levels can predict third month neurological status. High angiogenin levels within 12 hours are associated with low lesion volumes. And statins can contribute to neuronal recovery at ischemic stroke by means of angiogenin that promote angiogenesis.

**KEYWORDS,** Acute ischemic stroke, angiogenesis, angiogenin, lesion volume, NIHSS, modified Rankin, Barthel index, neurological status.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim

AF: Atriyal fibrilasyon

ANG: Anjiyojenin

BI: Barthel indeksi

FGF: Fibroblast büyüme faktörü- fibroblast growth factor

h-NL: İnsan nötrofil elastaz

mRS: Modifiye Rankin skalası

NIHSS: National Institute of Neurological Disorders and Stroke Score

OSA: Orta Serebral Arter

SVH: Serebrovasküler hastalık

TOAST: The Trial of Org 10172 in Acute İschemic Stroke Treatment

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü- vascular endothelial growth factor



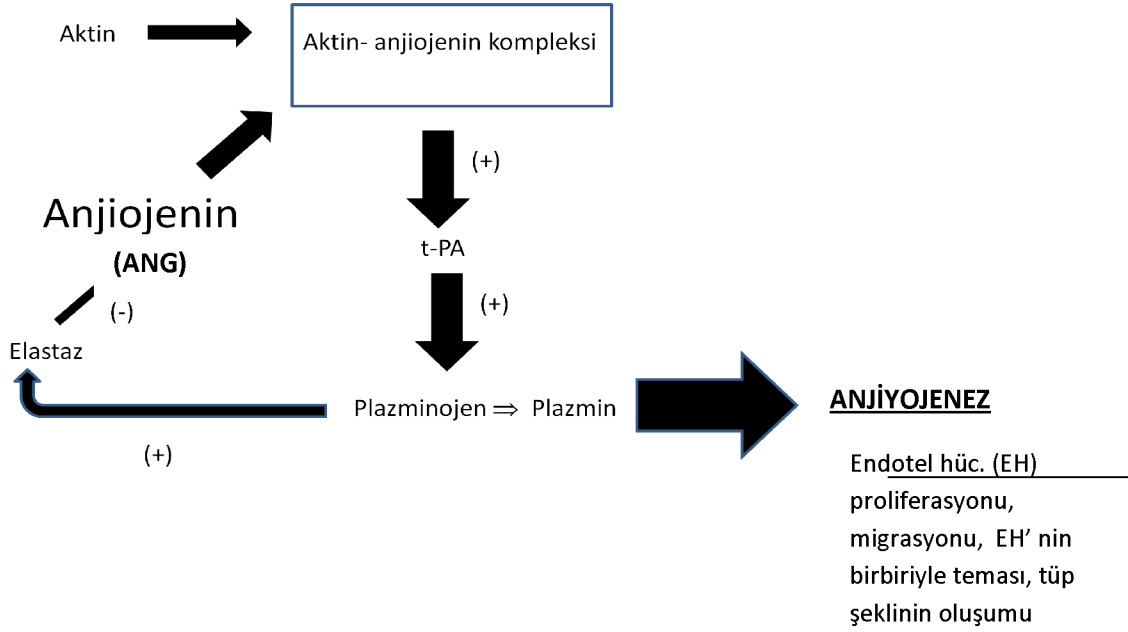
## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Anjiyojenez, etkilenmiş beyin dokusuna oksijen ve nutrientlerin sağlanmasına yönelik bir savunma mekanizması olarak yorumlanabilir. Bunun yanı sıra anjiyojenik damarlar yeni gelişmiş nöronal dokuya nörotrofik faktörlerin ulaşımını da desteklerler<sup>1-2</sup>. Bazı çalışmalarda vasküler desteğin oranının yüksek olmasının daha uzun bir sağ kalım ile orantılı olduğu bulunmuştur<sup>3</sup>. Ayrıca son çalışmalarda inme sonrası infarkt hacmi artışının günlerce sürdüğünün gösterildiği göz önüne alınacak olursa anjiyojenez ile kurtarılacak dokular olabilmesi de mümkündür<sup>4,5</sup>.

Anjiyojenin (ANG), anjiyojenezin potent stimülatörü olan 123 amino asitlik bir ribonükleazdır. Plazma ANG, travma, damar hasarı, oksidatif stres veya iskemi gibi nedenlerle ekstravasküler alana çıktığında kan damarlarının tamiri ve yara iyileşmesi için devreye girer. Anjiyojenez esnasında endotel hücrelerinin proliferasyonu, migrasyonu ve birbiriyle temasında, damarda tüp şeklinin oluşumunda görev alır<sup>6,7</sup>. Akut iskemik inmede belirtilerin başlangıcından 14.güne kadar ANG seviyelerini izleyen bir çalışmada, ilk 48 içinde, 3 ve 7.günlerdeki ANG seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu ve yüksekliğin infarkt büyüklüğü ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir<sup>8</sup>. ANG, aktine bağlanarak t-PA'yı stimüle eder. T-PA, plazminojeni plazmine çevirir. T-PA stimülasyonu ile üretilen plazmin yara iyileşmesi, anjiyojenez, inflamasyon, bazal membran ve ekstrasellüler matriks degradasyonu ve tümör metastazında önemli rol oynar. ANG ayrıca polimorfonükleer lökosit degranülasyonunu önleyici etki gösterir. Böylece "insan nötrofil elastaz" (hNL)'ın plazminojeni anjiostatine çevirmesi ve ANG'nin elastaz tarafından iki parçaya ayrılması önlenir. ANG'nin kendisi de hNL tarafından parçalanarak inaktive edilir<sup>6,7,9</sup>.

Dolaşımdaki ANG aktivitesi istenmeyen aşırı anjiyojenezin önlenmesi açısından sıkı kontrol altındadır. ANG, elastaz tarafından inaktive edilir. Plazminojen elastazın bu inaktive edici etkisini artırır. Plazminojenin elastaz tarafından parçalanmasıyla da potent bir anjiyojenez ve metastaz inhibitörü olan anjiostatin oluşur. ANG, plazminojen, plazminojen aktivatörleri, elastaz ve anjiostatin arasındaki ilişkiler anjiyojenez ve anjiyojenez arasında hassas bir denge kurulmasını sağlar<sup>6,7,9</sup> (Şekil-1.1).





**Şekil-1.1.** Anjiyojeninin (ANG) plazmin üzerinden anjiyojenezi arttırıcı etkisi. (ANG endotel hücrelerinin proliferasyonu, migrasyonu, birbiriyle teması ve tüp şeklinin oluşumuna katkıda bulunur).

İskemi tarafından indüklenen serebral anjiyojenezin çeşitli ajanlar, kök hücreleri ve diğer bazı manuplasyonlarla arttırılabildiği deneysel modeller üzerinde gösterilmiştir<sup>10,11</sup>. Buradaki ana problem inme hastasında beyin ödemi artırılmaksızın serebral anjiyojenezi hızlandırmaktır<sup>4,12</sup>. Bu sebeple inme ve anjiyojenez patogenezi ayrıntılı bir şekilde araştırılarak yorumlanmalıdır.

Bu çalışmada anjiyojenezde rol oynayan, göreceli olarak yeni bir faktör olan ANG'nin akut iskemik inmede akut ve kronik (3 aylık) nörolojik duruma etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bunun yanısıra lezyon volümü, aterosklerotik risk faktörleri (diyabet, hipertansiyon, dislipidemi), inme esnasında ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanımı, lipid profili, lökosit-nötrofil sayısı, akut faz reaktanları ve ANG arasındaki ilişki incelenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İskemik İnme Tanımı ve Epidemiyolojisi

İnme, gelişmiş ülkelerde uzun dönemli dizabilite sebepleri arasında ilk, ölüm sebepleri arasında ise üçüncü sırada yer alır. Dünya Sağlık Örgütü tanımlamasına göre, inme; vasküler nedenler dışında saptanan bir neden olmaksızın, beyin kan akımının bozulması sonucunda fokal serebral fonksiyon kaybına ait belirti ve bulguların hızla yerleşmesi ve bu bulguların 24 saatten daha uzun sürmesi ile karakterize klinik bir sendromdur<sup>13</sup>.

Her yıl beş milyondan fazla insan inme sebebiyle ölmekte, hayatta kalan her altı hastadan biri beş yıl içinde tekrar inme geçirmektedir<sup>14</sup>. Gelişmiş ülkelerde inme insidansı son dört dekad içinde %42 oranında azalmış olmasına karşın az ve orta derecede gelişmiş ülkelerde %100'den fazla bir artış olduğu, hatta 2000-2008 yılları arasında ilk kez gelişmiş ülkelerdeki inme insidansını %20 oranında aştığı görülmüştür<sup>15</sup>.

### 2.2. İskemik İnmelerde Etyolojik Sınıflama (TOAST sınıflaması)

Etyolojik sınıflama, prognoz, rekürrens riski, tedavi ve profilaksinin belirlenmesinde önemlidir. Çeşitli nörokimyasal çalışmalarda iskemik inme patofizyolojisindeki heterojenite gösterilmiş, subkortikal ve kortikal iskemiye ait biyokimyasal süreçlerde farklılıklar saptanmıştır<sup>16,17,18</sup>.

“The Trial of Org 10172 in Acute Ischemic Stroke Treatment” (TOAST) ile klinik bulgular, görüntüleme özellikleri, ekokardiyografi, anjiyografi ve diğer laboratuvar verileri değerlendirilmiş ve iskemik inmede beş etyolojik sınıf belirlenmiştir. Buna göre TOAST sınıflaması<sup>19</sup>:

1. Büyük damar ateroskleroza,
2. Küçük damar hastalığı,
3. Kardiyembolik inme,
4. Diğer nedenlere bağlı inme



## 5. Nedeni belirlenemeyen inme

Büyük damar ateroskleroza, küçük damar hastalığı ve kardiyembolik inme en sık görülen etyolojik alt tiplerdir. Bunların arasında ise kardiyembolik tip ön plana çıkarken, büyük arter ateroskleroza diğer iki tipe göre daha az sıklıkta görülmektedir<sup>20,21,22,23</sup>.

Geniş kapsamlı klinik çalışmalarda akut iskemik inme tedavisinde kullanılan ajanların küçük damar hastalığı ve büyük arter ateroskleroza bağlı iskemik inme tedavisindeki etkinliklerinin farklı olabileceği gösterilmiştir<sup>24,25,26</sup>.

### **2.1.1. Büyük damar ateroskleroza (BDA)**

Erken rekürrens riski diğer etyolojik alt gruplara göre daha fazladır ve IV t-PA 'ya yanıtı küçük damar hastalığı kadar iyi değildir. Ancak ilk 6 saat içinde İA t-PA veya ilk 8 saat içinde embolektomiden fayda görebilir<sup>27,28,29,30</sup>.

Bu hastalarda klinik ve beyin görüntüleme bulguları majör bir beyin arterinin veya kortikal arter dalının ateroskleroza bağlı anlamlı (>%50) darlığı veya oklüzyonunu gösterir. Klinik olarak serebral kortikal hasar bulguları (afazi, ihmal, motor kayıp vb.) veya beyin sapı/serebellar disfonksiyon bulguları görülebilir. Hastanın anamnezinde intermittan kladikasyon ve aynı bölgeyi işaret eden geçici iskemik ataklar, muayenesinde karotis üfürümü, nabızları almakta güçlük olması büyük arter ateroskleroza düşündürür. Yine kranyal BT veya MR görüntülerindeki kortikal, serebellar, beyin sapı veya subkortikal hemisferik lezyonların çapının 1,5cm'den büyük olması büyük arter ateroskleroza düşündürür<sup>19</sup>.

BDA'ya bağlı inme plak bölgesinde akut tromboz olması, plaktan kopan parçaların daha distal bir damarı tıkaması veya lümenin progresif olarak daralması ile meydana gelir. Söz konusu plakların en sık görüldüğü yerler karotis bifurkasyonu, ön-orta serebral arterlerin ve vertebral arterlerin çıkış yerleridir<sup>30</sup>.

### **2.1.2. Küçük damar hastalığı (lakün)**

Büyük damar ateroskleroza'nun aksine altta yatan mekanizma trombotik değildir. Tüm iskemik inmelerin %25'ini oluşturur<sup>31</sup>.



Küçük damar hastalığına bağlı inmede prognoz daha iyidir ve IV t-PA'ya iyi yanıt verir<sup>32,33</sup>. Erken rekürrens açısından en düşük riski taşıyan bu gruptur.

Hastalarda klinik laküner sendromlardan biri vardır, ancak bununla birlikte serebral kortikal disfonksiyon bulguları görülmemelidir. Diyabet ve hipertansiyon hikayesi tanıyı destekler. Kranyal BT veya MR görüntüleri normal olabilir veya çapı 1,5cm'den küçük subkortikal hemisferik lezyonlar bulunabilir. Kardiyemboli kaynağı veya ipsilateral ekstrakraniyal büyük arterlerde %50'nin üstünde bir stenoz saptanmaz<sup>19</sup>.

### **2.1.3. Kardiyembolik inme**

Bu gruptaki hastalarda kardiyak yapılardan kaynaklanan bir emboliye bağlı arteriyel oklüzyon söz konusudur. Emboliye neden olabilecek kardiyak patolojiler yüksek ve orta riskli kardiyak emboli kaynakları şeklinde ikiye ayrılır<sup>19</sup>.

Mekanik prostetik kapak, mitral stenozun eşlik ettiği atriyal fibrilasyon (AF), AF (yalnız AF hariç), hasta sinüs sendromu, yeni miyokard infarktüsü(<4 hafta), sol ventriküler trombus, dilate kardiyomiyopati, akinetik sol ventrikül segmenti, atriyal miksoma, infektif endokardit "**yüksek riskli kardiyak emboli kaynakları**" dır<sup>19</sup>.

Mitral kapak prolapsusu, mitral anulus kalsifikasyonu, AF olmaksızın mitral stenoz, sol atriyal türbülans, atriyal septal anevrizma, patent foramen ovale, atriyal flutter, yalnız AF, biyoprotez kalp kapağı, hipokinetik sol ventriküler segment ve miyokard infarktüsü (> 4hafta, < 6 ay) ise "**orta riskli kardiyak emboli kaynakları**" nı oluşturur<sup>19</sup>.

Kesin ya da olası kardiyembolik inme tanısı koyabilmek için en az bir kardiyemboli kaynağı bulunmalıdır. Klinik ve beyin görüntüleme bulguları, büyük damar ateroskleroza için tanımlananlarla benzerdir. Bir damar alanından daha fazla alanda GİA /inme öyküsü olması veya sistemik embolizm olması kardiyojenik inme tanısını destekler. Büyük damar ateroskleroza varlığı dışlanmalıdır. Orta riskte kardiyak emboli kaynağı olan ve başka inme nedeni bulunamayan olgular olası kardiyembolik inme grubuna girer.

### **2.1.4. Diğer belirlenen etyolojiler**

Bu gruptaki olgularda, nadir görülen inme nedenleri bulunur. Tüm iskemik inmelerin %5'inden daha az oranda görülürler<sup>34</sup>. Tedavi yaklaşımları diğer daha sık görülen inme



etyolojilerinden oldukça farklı olabilir ve yanıtlar da buna göre ayrı olarak değerlendirilmelidir. Santral sinir sisteminin primer ve sekonder vaskülitleri, CADASIL ( serebral otozomal dominant arteriyopati subkortikal infarktlar ve lökoensefalopati), serebral amiloid anjiyopati, konjenital damar hastalıkları, mitokondriyal hastalıklar, travma-diseksiyon, hiperkoagulopati durumları ve hematolojik bozukluklar gibi etyolojiler bu grupta yer alır. Bu olgularda akut iskemiye bağlı klinik ve BT / MR bulgusu olmalıdır. Lezyonların büyüklüğü ve lokalizasyonu önemli değildir. Arteriyografi veya kan testleri tanıyı desteklemelidir. Kardiyak emboli kaynağı veya büyük damar ateroskerozu tetkiklerle dışlanmalıdır<sup>19</sup>.

### **2.1.1. Nedeni belirlenemeyen iskemik inme (kriptojenik)**

Birden fazla açıklayıcı nedeni olan ancak kesin tanı konulamayan olgular ve ayrıntılı incelemeye rağmen nedeni belirlenemeyen olgular bu kategoride yer alır<sup>19</sup>. Bu hastaların çoğunda aterosklerotik hastalıklar vardır ve prognozları BDA'ya bağlı inmeye benzer. Kriptojenik olduğu düşünülen olguların bir kısmında inme kaynağının aortik arktaki aterom plakları olduğu gösterilmiştir<sup>22</sup>.

## **2.3. İnme Risk Faktörleri**

### **2.3.1. Kesinleşmiş risk faktörleri**

Bu gruba giren faktörlerin tedavi edilmesiyle inme insidansında azalma meydana geleceği tespit edilmiştir.

- Hipertansiyon
- Diyabetes mellitus ,hiperinsülinemi , glukoz intoleransı
- Kalp hastalıkları
- Hiperlipidemi
- Sigara
- Asemptomatik karotis stenozu
- Orak hücreli anemi



## **Hipertansiyon (HT)**

Hipertansiyon, serebrovasküler hastalık (SVH) profilaksisinde düzeltilebilen en önemli risk faktörüdür. Ateroskleroz oluşumunu hızlandırmasının yanısıra diyastolik disfonksiyon ve çeşitli kardiyak hastalıklara neden olur<sup>35</sup>.

Toplumda, 75 yaş üzeri kadınların dörtte üçü ve erkeklerin üçte ikisi HT'a sahiptir. Framingham çalışmasında; 55 yaşına kadar HT'u olmayan bireylerin; geri kalan yaşamları süresince HT geliştirme riski %90 civarında saptanmıştır. 65 yaş sonrası risk yine %90 olup, üçte ikisi ilk 10 yılda HT geliştirecektir<sup>36</sup>.

Kan basıncı (KB) ne kadar yüksekse, inme riski o kadar yüksektir. Framingham çalışmasına göre HT inme riskini KB 140/90 mmHg'nın altında seyreden bireylere göre 3 kat daha fazla arttırmakta ve inme öncesi hastaların %80'inde HT saptanmaktadır. Kan basıncı normal değeri 115/75 mmHg kabul edildiğinde, sistolik kan basıncında her 20 mmHg'lik, diyastolik basınçta da her 10 mmHg'lik artış inme mortalite hızını ikiye katlar<sup>37,38</sup>.

Yaşlılarda ortalama sistolik kan basıncı 174 mmHg olan ve 10.4 mmHg düşürülen üç büyük çalışmanın meta-analiz sonucu, inme tekrarlama riskinde %37 oranında bir düşme olduğunu kaydetmiştir. Yedi çalışmanın meta-analiz sonuçları göstermiştir ki KB 10/5 mmHg daha az düşürülmesine karşın, inme, MI ve vasküler olayların tümünde anlamlı bir rölatif risk azalması saptanmıştır<sup>39,40</sup>.

## **Dislipidemi**

Aterosklerotik damar hastalığı sıklığı ile serum kolesterol düzeyleri arasında önemli bir ilişki vardır. Total kolesterol, trigliserid, LDL-K, VLDL-K, HDL-K ile kardiyovasküler hastalıklar ve inme ilişkisi incelenmiştir. Total kolesteroldeki her 1mmol/L'lik (38.7mg/dl) artış iskemik inme hızında erkeklerde %6-25'lik, kadınlarda ise ölümcül iskemik inme riskinde %25'lik bir artışa yol açmaktadır<sup>32,34</sup>.

Kolesterolden en zengin lipoprotein olan LDL-K aterosklerozdan primer sorumlu olduğu için; NCEP ( National Cholesterol Education Program ) önerileri LDL-K üzerinedir. LDL-K'de her % 10 azalma; inme riskini % 15,6, karotid intima-media kalınlığını da % 0,73/ yıl azaltmaktadır<sup>41</sup>. Son altı ayda inme ve GİA geçiren, ancak koroner kalp hastalığı olmayan



hastaların randomize edildiği SPARCL çalışmasında lipid düşürücü ajan (80 mg atorvastatin) ve plasebo grubunda ortalama LDL-K sırasıyla 73 mg/dl, ve 129 mg/dl saptanmıştır. Ayrıca beş yıl süresince inme riski %16 azalmıştır<sup>42</sup>.

Yirmibinden fazla hastanın dahil edildiği “Medical Research Council British Heart Foundation (HPS)” de diğer bir lipid düşürücü ajan (40 mg simvastatin) kullanılmış ve inme sonlanmasında %25’lik bir rölatif risk azalması saptanmıştır<sup>43</sup>.

Düşük HDL-K seviyesi (<40mg/dl) ve yüksek trigliserid düzeyleri kardiyovasküler hastalıklar açısından bağımsız risk faktörleridir<sup>43</sup>.

### **Diyabet (DM)**

Diyabetlilerde kardiyovasküler hastalıkların sıklığı ve şiddeti büyük oranda artar. Bu birçok birbirine bağımlı ve bağımsız mekanizma üzerinden gerçekleşir. Tip II diyabet hastalarında insülin direncinden dolayı plazma insülin düzeyi artarak ateroskleroz süreci hızlanır, bunun yanı sıra hipertansiyon, obezite ve dislipidemi varlığı da sözkonusudur<sup>32,34</sup>.

Popülasyon tabanlı çalışmalar, DM’nin inme rekürrensinde bağımsız risk faktörü olduğunu göstermiştir. “Rochester-Minn”de tek başına diyabet ve yaşın, “Oxfordshire Stroke Project”te tek başına diyabet ve atriyal fibrilasyonun bağımsız rekürren inme risk faktörü olduğu vurgulanmıştır. Bir yıl içinde yinelenen inmelerin %9.1’i diyabete bağlanmıştır<sup>32,34</sup>.

Bunlara ek olarak, diyabetik hastalarda, primer ve sekonder inme profilaksisinde aterosklerotik risk faktörlerinin kontrolü için gerekli hedef değerler ve tedavi yaklaşımları, diyabeti olmayan hastalardan kısmen farklılıklar gösterir<sup>43,44,45</sup>.

### **Kalp hastalıkları**

Mekanik prostetik kapak, mitral stenoz ile birlikte olan atriyal fibrilasyon, atriyal fibrilasyon (yalnız atriyal fibrilasyon hariç), hasta sinüs sendromu, yeni miyokard infarktüsü (<4 hafta), sol ventriküler trombus, dilate kardiyomyopati, akinetik sol ventrikül segmenti, atriyal miksoma, infektif endokardit “**yüksek riskli kardiyak emboli kaynakları**”dır.

Mitral kapak prolapsusu, mitral anulus kalsifikasyonu, AF olmaksızın mitral stenoz, sol atriyal türbülans, atriyal septal anevrizma, patent foramen ovale, atriyal flutter, yalnız AF,



biyoprotez kalp kapağı, hipokinetik sol ventrikuler segment ve miyokard infarktüsü ( > 4 hafta, < 6 ay) ise “orta riskli kardiyak emboli kaynakları” nı oluşturur<sup>19</sup>.

### **Sigara**

Sigara içimi serebrovasküler hastalık riskini arttırmaktadır. Sigara içenlerde endotel disfonksiyonunun yanı sıra, fibrinojen seviyesinde ve trombosit aktivitesinde meydana gelen değişiklikler sonucunda koagülasyon eğilimi artmaktadır. Hipertansiyon ve diyabet hastalarında sigara kullanımına bağlı risk artışı daha fazladır<sup>32,34</sup>.

### **Asemptomatik karotis stenozu**

Popülasyon çalışmalarında 65 yaş üstü kişilerde %50'den fazla darlık yaratan asemptomatik karotis stenozu oranının % 4-5 civarında olduğu görülmektedir. Bu olgularda inme riskinin stenozun artmasıyla yükseldiği ileri sürülmektedir<sup>35</sup>.

### **Orak hücreli anemi**

Orak hücreli anemi tromboz eğiliminin arttığı hematolojik bir hastalık olup, orak hücreli anemi hastalarında inme prevalansının % 11 olduğu görülmüştür.

### **2.3.2. Kesinleşmemiş risk faktörleri**

Kesinleşmemiş risk faktörleri alkol, obezite, metabolik sendrom, fiziksel inaktivite, hiperhomosisteinemi, madde kullanımı ve bağımlılığı, hormon tedavisi, oral kontraseptif kullanımı, hiperkoagülabilité, fibrinojen ve migrendir.

### **2.4. İskemik İnmede Klinik Durum ve Prognozu Değerlendirmede Kullanılan Skalalar**

İskemik inmede hastaların nörolojik tablolarını değerlendirmek için bazı ölçekler kullanılmaktadır. Bu ölçeklerin başlıcaları İskandinav İnme Skalası, Kanada Nörolojik İnme Skalası, Avrupa İnme Skalası ve NIHSS (The National Institute of Health Stroke Scale)'dir<sup>46</sup>.

NIHSS inme skalası “ National Institute of Neurological Disorders and Stroke” tarafından tromboliz çalışmalarında kullanılmak amacıyla geliştirilmiş olup nörolojik



defisitleri izlemek için uygulanan ölçekler arasında en güvenilir ve en geçerli olanıdır<sup>47</sup>. Onbir bölümden oluşan bu skalanın bazı eksik tarafları da mevcuttur. Motor durum puanlanırken proksimal güç kaybına ağırlık verilmiştir ve distal güç kaybı değerlendirilmez. Gövde ve yürüyüş ataksisine puan verilmez ve ayrıca ekstremitate ataksisinin şiddeti yapılan puanlamada dikkate alınmaz. Duyu kaybı, afazi ve dizartri muayenesinde hafif ve orta derecedeki bozukluklar aynı puanı alırlar.

İnmelerin yol açtığı dizabilite düzeyinin belirlenmesi, uygun rehabilitasyon programının secimini sağlar ve prognoz hakkında bilgi verir. Hastaların işlevsel durumları, dizabilite dereceleri *Rankin Skalası* ve *Barthel İndeksi* ile belirlenir<sup>48</sup>. *Rankin Skalası* altı kategoriyi içerir ve bu kategoriler ortaya çıkan özür lülüğün günlük aktiviteyi ne derecede etkilediğini ve ne düzeyde yardım gerektirdiğini gösterir. *Barthel indeksi* ise hastaların kendilerine bakım görevlerindeki bağımsızlıklarını değerlendirmek amacıyla geliştirilmiştir. Barthel indeksinde, bağırsak, mesane kontrolü, kişisel bakım, tuvalet kullanımı, beslenme, yer değiştirme, mobilite, giyinme, banyo yapabilme gibi kriterler göz önüne alınır<sup>48</sup>.

## 2.5.. İskemik İnme Ve Anjiyojenez

### 2.5.1. Anjiyojenezin Tanımı

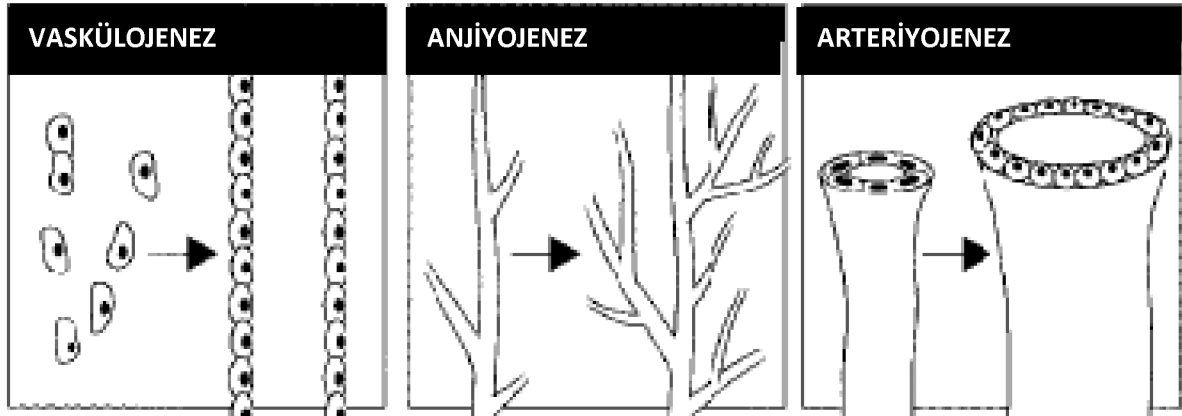
Vasküler yapıların oluşumuyla ilgili ilk gözlem 1853 yılında Meyer tarafından yapılmıştır. Meyer, kurbağalarda kapillerlerden içcik şekilli yapıların çıkarak bir oyuk ve tüp oluşturduğunu gözlemlemiştir. Bunu takip eden iki önemli gözlem 1929 ve 1940 yıllarında yapılmış, endotel hücre dizileri ile ilişkili düz kas hücrelerinin fibroblastların değişimi yoluyla oluştuğu ve kapillerler içindeki akımın kapiller gelişimini “arterioel” yönünde belirlediği saptanmıştır<sup>49</sup>. Folkman, 1960-1970’lerde yaptığı tümör anjiyojenez ile ilgili çalışmalarında tümörün büyümesi için anjiyojenezin bir gereksinim olduğunu belirtmiştir. Yeni damar oluşumunun diğer bazı fizyolojik ve patolojik durumlardaki önemi de daha yakın zamanlarda fark edilmiştir<sup>50</sup>.

Damarlar “anjiyojenez” “vaskülojenez” olmak üzere iki ayrı mekanizma ile meydana gelir . Anjiyojenez, erişkin dokuda daha önceden varolan bir damar ağından kapillerlerin



tomurcuklanması yoluyla yeni damarların oluşmasıdır<sup>49</sup>. Vaskülojenez, başlıca embriyonik gelişim esnasında görülür ve anjiyojenezden farklı olarak önceden varolan bir damar ağı yoktur<sup>4,49</sup>. Arteriyojenez ise varolan kollateral arteriollerden daha geniş arterlerin oluşumudur (Şekil 2.1). Bu süreçlerin herbirinde ortak yolaklar olduğu gibi sürecin yönünü belirleyen farklı sinyalizasyon sistemleri de vardır<sup>51</sup>.

Anjiyojenez yoluyla oluşan yeni damarlar sayesinde üreme (menstruel siklus), gelişim ve tamir (yara iyileşmesi) gibi fizyolojik olaylar için gerekli olan oksijen ve nutrientler ihtiyaç duyulan bölgeye ulaştırılırken oluşan zararlı maddeler de bölgeden uzaklaştırılır<sup>4,52</sup>. Anjiyojenez fizyolojik olayların yanı sıra kanser (solid ve hematolojik tümörler), kardiyovasküler hastalıklar (ateroskleroz), kronik inflamasyon (romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları vb.), diyabet (diyabetik retinopati), psöriazis ve endometriyozis gibi birçok hastalığın patogenezinde de rol oynar<sup>52</sup>.



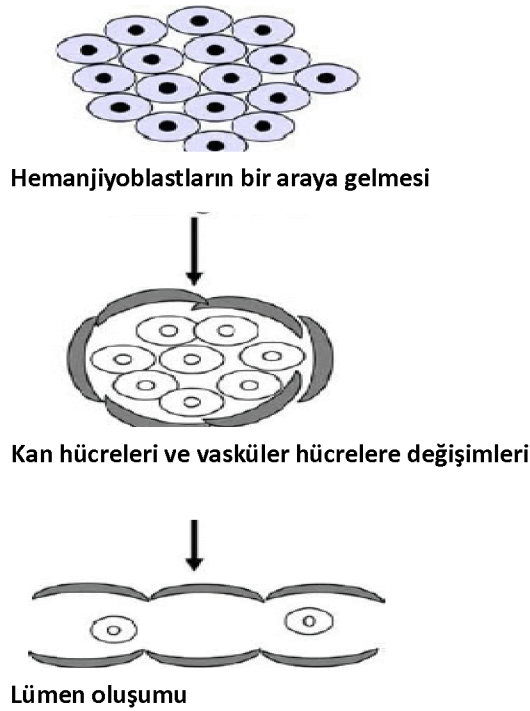
**Şekil 2.1.** Vaskülojenez, anjiyojenez ve arteriyojenezin şematik görünümü. *Harrigan MR ve ark. Angiogenic factors in the central nervous system. Neurosurgery 53:639-661, 2003'den değiştirilerek alınmıştır.*

### 2.5.2. Normal Beyinde Yeni Damarların Oluşumu

Normal beyinde vaskülojenez iki basamakta meydana gelmektedir: Anjiyoblastların (veya hemanjiyoblastların) mezodermden farklılaşması (Şekil 2.2) ve primitif kan damarlarını oluşturmak üzere organizasyonu. Anjiyoblastların mezodermden farklılaşmasında FGF



(fibroblast büyüme faktörü- fibroblast growth factor) rol oynar. Bunu anjiyoplastların bir araya gelmesiyle oluşan kan adalarının kan hücreleri ve primer vasküler pleksusa değişimi süreçleri izler<sup>4,51</sup>. Erken embriyogenezde baş bölgesine göç eden anjiyoplastlar, VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü- vascular endothelial growth factor) ve onun tirozin kinaz aktiviteli reseptörü VEGFR-1'den oluşan parakrin bir sinyal sistemi yoluyla endotel hücrelerine dönüşür. Endotel hücrelerinden lümen formasyonu, bazal lamina üretimi ve damar duvarının şekillenmesi sürecinde ise VEGF'in yanı sıra anjiopöietinler gibi anjiyojenik faktörler, hücre adhezyon molekülleri ve transkripsiyon faktörleri görev alır. Vaskülojenin büyük ölçüde embriyogenez ile sınırlı olmakla birlikte, son zamanlarda yapılan çalışmalarda erişkin beyninde de görülebildiği saptanmıştır<sup>51</sup>.



**Şekil 2. 2.** Hemanjiyoplastlardan

yeni damar oluşumu .

Mezodermden gelişen

hemanjiyoplastlar endotel

hücrelerine dönüşür.

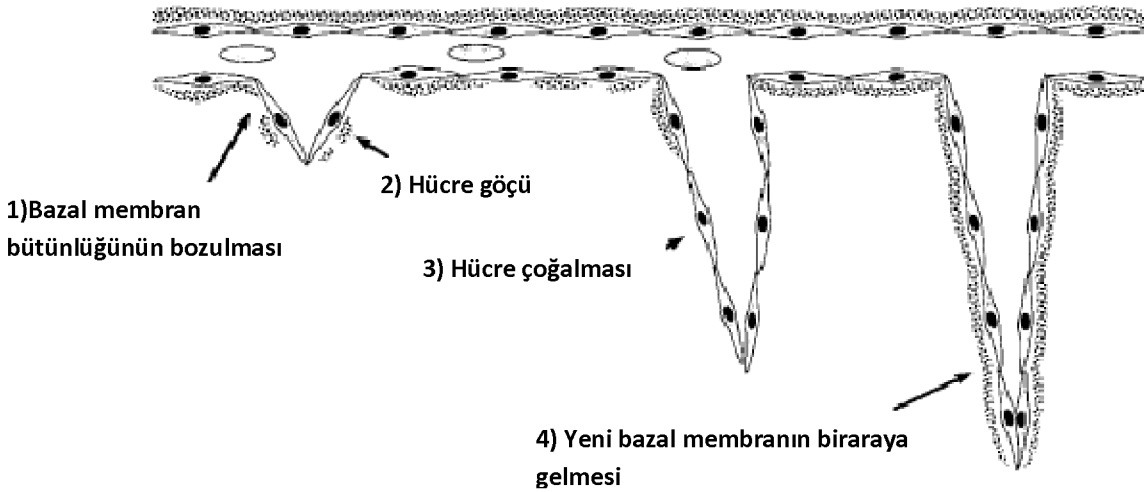
*Hayashi T ve ark. Cerebral ischemia and angiogenesis. Curr Neurovasc Res. 2006 May;3(2):119-29'den değiştirilerek alınmıştır.*

Beyindeki vaskularizasyon primer olarak anjiyojeniz yoluyla olur. Tomurcuklanma (Şekil 2.3) ve bölünme (Şekil 2.4) olmak üzere iki farklı anjiyojeniz şekli tarif edilmiştir. Tomurcuklanma şeklindeki anjiyojeniz büyüme ve stabilizasyon olarak iki fazda meydana gelir. Büyüme fazının ilk basamağı nitrik oksit aracılı vazodilatasyon ve VEGF etkisinden



anjiojenik faktörlerin salınımıdır. VEGF vasküler permeabiliteyi arttırarak plazma proteinlerinin ekstravazasyonunu sağlar, böylece endotel hücrelerinin proliferasyonu desteklenir. Eş zamanlı olarak bazal membran ve öncü damar etrafındaki interstisyel matriks metalloproteinazları gibi proteazlar tarafından çözünür<sup>49-51</sup>. Perisitler öncü damar endotelinden ayrılarak matriksin erimesiyle oluşan boşluğun içerisine doğru yönelirken, endotel hücreleri stabil durumlarından şekil değiştirebilen ve proliferere olabilen tipe dönüşerek perisitleri izler<sup>51,53</sup>. VEGF ve anjiyopietinler gibi spesifik endotel hücre mitojenlerinin yanı sıra ANG, FGF, epidermal büyüme faktörü, kemokinler ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 de hücre proliferasyonunu arttırır<sup>6</sup>.

Böylece endotel tomurcuğu oluşur. Bunu tomurcuk içinde lümen oluşumu ve tomurcukların füzyonu ile çember şeklinin meydana gelmesi takip eder<sup>51,53</sup>.

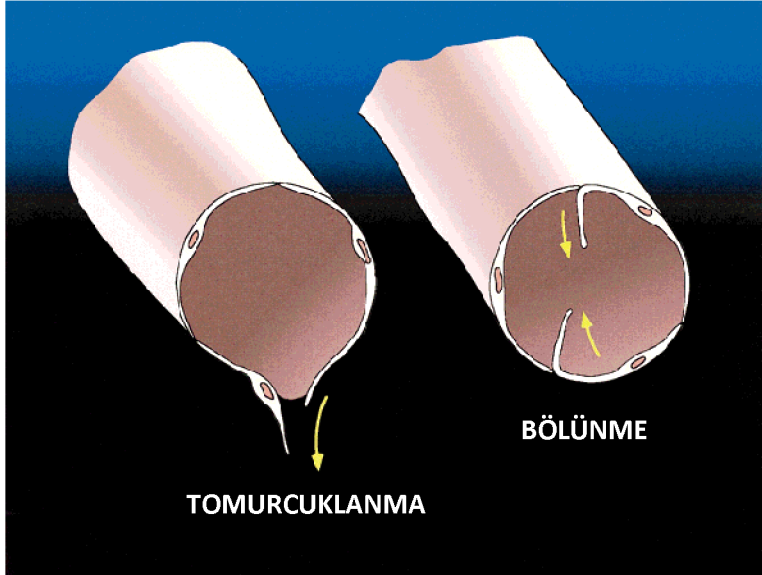


**Şekil 2.3.** Tomurcuklanma şeklindeki anjiyojenez.; 1.bazal membran ayrışır, 2.endotel hücre migrasyonu, 3. hücre proliferasyonu, 4.hücre migrasyonu ve proliferasyonu durur ve yeni bazal membran şekillenir. *Tomanek R, ve ark. Angiogenesis: New Insights And Therapeutic Potential The Anatomical Record (New Anat.) 2000, 261:126-135'den değiştirilerek alınmıştır.*



Stabilizasyon fazında mezenkim hücreleri bu bölgeye göç ederek prolifer olup sonrasında perisitlere dönüşerek yeni oluşmakta olan damarı kuşatır. Aynı zamanda endotel hücreleri arası kontak güçlendirilir ve matriksin olgunlaşması ile yeni damar stabilize olur<sup>53,54</sup>. Damar stabilizasyonu yokluğunda immatür damar apoptoza uğrar<sup>55</sup>. Bu basamakta çeşitli VEGF formları ve integrinler ( $\alpha_v\beta_3$ ,  $\alpha_v\beta_5$ ,  $\alpha_5\beta_1$ ) önemli rol oynar<sup>53,56</sup>.

Bölünme tarzındaki anjiyojenezde yeni hücre kolonları ana damarın lümenine doğru yerleşir. Bu kolonların büyüme ve stabilizasyonu ile ayrışma ve yeniden şekillenme ile yeni damarlar oluşur.



**Şekil 2.4.** Tomurcuklanma ve bölünme tarzındaki anjiyojenezin karşılaştırılması. Tomurcuklanmada ana damardan dışarıya doğru büyüme söz konusu iken, bölünme tarzındaki anjiyojenezde endotel hücreleri içeriye doğru büyür.

*Tomanek R, ve ark. Angiogenesis: New Insights And Therapeutic Potential The Anatomical Record (New Anat.) 2000, 261:126–135'den değiştirilerek*

Anjiyojenezin yüksek oranda meydana geldiği dönem beynin gelişim dönemidir. Genişleyen nöroektodermin artan metabolik talepleriyle anjiyojenez teşvik edilir<sup>57</sup>. Kapiller Tomurcuklar ekstraserebral vasküler pleksuslardan nöroektodermin içine doğru göç ederek gelişen beyne penetre olurlar. Burada VEGF başta olmak üzere nöroektodermin tarafından üretilen solubl anjiyojenik faktörler ve anjiopietin sistemi yönlendirici görev yapar<sup>51</sup>.

Gelişen beynin aksine erişkin beyninde anjiyojenez daha düşük oranda gerçekleşir ve stimülatör ve inhibitörlerin sıkı kontrolüyle dengede tutulur. Başka bir deyişle inhibitörler



baskındır. İskemi, hipoksi, neoplazi ve diyabet gibi metabolik düzensizliklerin varlığında denge anjiyojenez lehine kayar<sup>51,52</sup>.

Arteriojenez, varolan arteriolar kollaterallerin geniş kollateral arterler biçiminde yeniden şekillenmesidir. Böylece kan akımı daha yüksek talebin olduğu bölgeye yönlendirilir. Anjiyojenik faktörlerce düzenlenen anjiyojenezden farklı olarak arteriojenez inflamatuvar mediyatörler ve monositlerce düzenlenir<sup>4,51</sup>.

Son bulgular göstermiştir ki vaskülojenez, anjiyojenez ve arteriojenez birbirinden ayrı süreçler değil, devam eden bir dizi olayın parçalarıdır<sup>49,51</sup>.

### 2.5.3. Anjiyojenezin Düzenlenmesi

Normal koşullarda anjiyojenez kontrol altındadır. Solubl polipeptidler ve membrana bağlı proteinlerin yanı sıra hücreler arası ve hücre-matriks arası etkileşim de önemlidir<sup>49,52,53</sup>. Normal anjiyojenezi düzenleyen faktörler tablo 2.1.'de verilmiştir.

**Tablo 2. 1.** Normal anjiyojenezi düzenleyen faktörler.\*

<i>Etken</i>	<i>Biyolojik işlevler</i>
<i>Çözünür mediyatörler</i>	
VEGF	Endotelial hücre geçirgenliğini artırır Endotelial hücrelerin uPA/PAI-1 üretimini uyarır Endotelial hücrelerin proliferasyonunu uyarır Endotelial hücre apoptozunu inhibe eder Endotelial hücre göçünü artırır İn-vivo anjiyojenezi uyarır
Anjiyopietin 1	İn-vitro endotelial hücre çoğalmasını uyarır Endotelin boyut ve dayanıklılığını artırır
Anjiyopietin 2	Ang1'i antagonize eder/ endotelin dengesini bozar



aFGF bFGF	<p>Endotelyal hücre çoğalmasını uyarırlar</p> <p>Endotelyal hücre göçünü artırır</p> <p>Endotelyal hücrelerin PA/kollajenaz üretimini uyarırlar</p> <p>Endotelyal hücrelerin tüp oluşturmalarını uyarırlar</p> <p>İn-vivo anjiyojenezi uyarırlar</p>
PDGF	<p>Endotelyal hücrelerde DNA yapımını uyarır</p> <p>İn-vitro endotelyal hücrelerin kolon oluşturmalarını uyarır</p> <p>Düz kas hücrelerinin ve perisitlerin çoğalmasını uyarır</p> <p>vWF, VEGF ve VEGFR-2 üretimini kardiyak endotelyal hücrelerde artırır</p> <p>Kapiller duvar dayanıklılığını artırır</p>
TGF- $\beta$	<p>Fibroblastların tek ve kümeli büyümesini destekler</p> <p>Endotelyal hücrelerin çoğalmasını ve göçünü engeller</p> <p>İn-vitro endotelyal hücrelerin tüp oluşumunu uyarır/engeller</p> <p>uPA/PAI-1 üretim seviyelerini modüle ederek net antiproteolitik aktivite üretir</p> <p>Diğer proteazların üretimini engeller/proteaz inhibitörlerinin üretimini uyarır</p> <p>Perisitlerden VSMA üretimini uyarır</p> <p>Monosit ve fibroblastlar için kemotaktiktir</p> <p>İnflamatuvar yanıt varlığında in-vivo anjiyojenezi uyarır</p> <p>Damar duvar dayanıklılığını artırır</p>
TNF- $\alpha$	<p>İn-vivo anjiyojenezi uyarır</p> <p>İn-vitro endotelyal hücre tüp oluşumunu uyarır</p> <p>Endotelyal hücre çoğalmasını engeller</p>
EGF, TGF- $\alpha$	<p>Endotelyal hücre çoğalmasını uyarırlar</p> <p>İn-vivo anjiyojenezi uyarırlar</p>
G-CSF, GM-CSF	<p>Endotelyal hücre çoğalmasını ve göçünü uyarırlar</p>



Anjiyojenin ( ANG)	İn-vivo anjiyojenezi uyarır Endotelyal hücre bağlanmasını ve yayılmasını destekler
Anjiotropin	Rastlantısal kapiller endotelyal hücre göçünü uyarır Endotelyal hücre tüp oluşumunu uyarır İn-vivo anjiyojenezi uyarır
Doku faktörü, Faktör 5	Yolk kesesinin damarlanmasında rol oynarlar
Prostaglandin, Nikotinamid	İn-vivo anjiyojenezi uyarırlar
Monobutirin	İn-vivo anjiyojenezi uyarır İn-vitro endotelyal hücre göçünü uyarır
<i>Membran bağlı proteinler</i>	
$\alpha_v\beta_3$ -İntegrin	Aktive endotelyal hücrelerden yoğun salınır Endotelyal hücre bağlanması, yayılması ve göçüne aracılık eder Anjiyojenik kapiller tomurcuklarda bulunur İn-vivo bFGF aracılı anjiyojenezde gereklidir Kapiller tomurcuklanma için MMP-2'de yer alır Endotelyal hücre apoptozunu engeller
$\alpha_v\beta_5$ -İntegrin	İn-vivo VEGF aracılı anjiyojenezde gereklidir
$\alpha_5\beta_1$ -İntegrin	İn-vivo VEGF aracısız anjiyojenezde gereklidir
VE-kadherin	Endotelin geçirgenliğini ayarlayabilir İn-vivo anjiyojenezde gereklidir Endotelyal hücre apoptozunu engeller
Eph-4B/Ephrin-B2	Gelişen embriyoda venöz/arteriyel ara yüzlerde birlikte bulunurlar Başın ve yolk kesesinin anjiyojenezisinde gereklidirler Miyokardiyal trabeküllenmede gereklidir
Ephrin-A1	TNF- $\alpha$ 'nın tetiklediği in-vivo anjiyojenezde gereklidir İn-vitro endotelyal hücreler için kemotaktiktir



Eph-2A	İn-vitro endotelial hücre tüp oluşumunda gereklidir
<i>Biomekanik güçler</i>	
Kan akımı/"SHEAR STRESS"	Endotelial stres fiber oluşumunu artırır (laminer ise) Endotelial hücre bölünmesini tetikler (turbulan ise) bFGF ve TGF- $\beta$ genlerinin kopyalanmasını uyarır

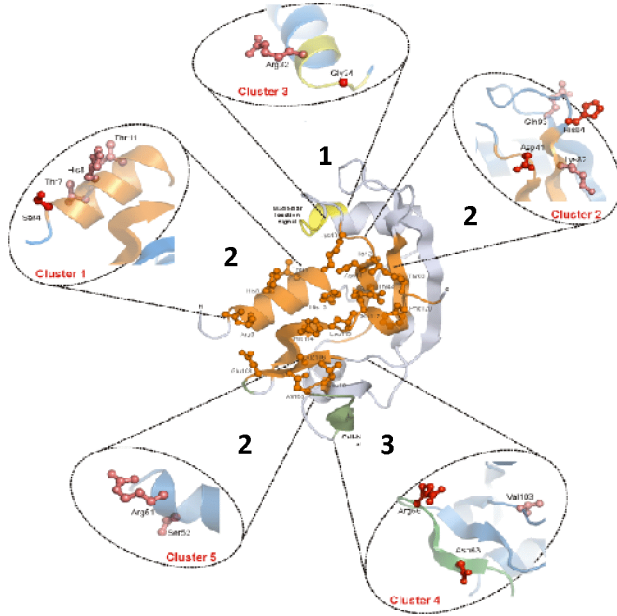
\*Papetti ve ark. *Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. Am J Physiol Cell Physiol* 2002, 40(7): 619-624'den değiştirilerek alınmıştır.

#### 2.5.4. Anjiyojenin'in Anjiyojenezdeki Yeri

Anjiyojenin (ANG), ilk kez 1984 yılında insan kolon adenokarsinomu tarafından salgılanan anjiyojenik faktörlerin araştırıldığı sistematik bir çalışmada izole edilmiştir<sup>58</sup>. ANG, ribonükleaz (endonükleaz) aktivitesi gösteren 14.1-kDa ağırlığında bir polipeptiddir<sup>6</sup>. Ancak ANG'de diğer ribonükleazlarda olan dördüncü disülfid bağı yer almaz. Bu sayede endotel hücrelerini stimüle ederek anjiyojenezini indükleyebilir<sup>6</sup>. Katalitik aktivitesi diğer ribonükleazlara göre zayıftır. ANG'nin farklı yapısı ona endotele bağlanması için gerekli yapıyı kazandırır. Fizyolojik olarak dolaşımında yüksek miktarda (250-360ng/ml ) bulunur ve proliferatif etki göstermez ancak inflamasyon esnasında indüklenerek yara iyileşmesine katkıda bulunur. Ayrıca mikrobisidal aktivite gösterir<sup>6,9,59</sup>.

ANG'nin anjiyojenezdeki etkisi dört yolla olur: Ribonükleaz aktivitesi, bazal membran yıkımı, sinyal iletimi ve nükleer translokasyon<sup>7, 60</sup>(Şekil 2.5).





**Şekil 2.5.** ANG'nin aktif bölgeleri

Nükleer aktivite gösteren (1), ribonükleaz aktivitesi gösteren (2) (üç ayrı bölge), endotel hücrelerine bağlanma (3) bölgeleri.

*Osorio ve ark. Structural and functional implications of positive selection at the primate ANG gene, 2007, 7:167'den değiştirilerek*

ANG endotel ve düz kas hücrelerini etkiler<sup>7</sup>. Endotel üzerinde bazı yüzey proteinlerine, düz kas hücrelerinde ise  $\alpha$ -aktine bağlanarak etki gösterir<sup>6,7</sup>. ANG'nin hücre yüzeyinde farklı yapılara bağlanması farklı sonuçlar meydana getirir, yani bu reseptörler anjiyogenezin değişik basamaklarında görev alırlar. Bu sebeple endotel hücreleri yüzeyinde eş zamanlı olarak üretilmezler<sup>9</sup>.

Endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan reseptöre bağlanan ANG biçimsel bir değişikliğe uğrar . Bu bağlanma mekanizması ANG'nin dolaşımında gezinebilen normal bir yapıtaşı olmasına olanak sağlar<sup>6</sup>. ANG'nin endotel hücrelerine bağlanmasıyla endotel hücreleri çevrelerini saran dokunun içine doğru invazyon gösterir ve anjiyogenez stimulus kaynağına doğru migrasyona başlar. Bu esnada yeni damar yapısını oluşturmak üzere proliferasyon ve değişime uğrarlar<sup>9</sup>.

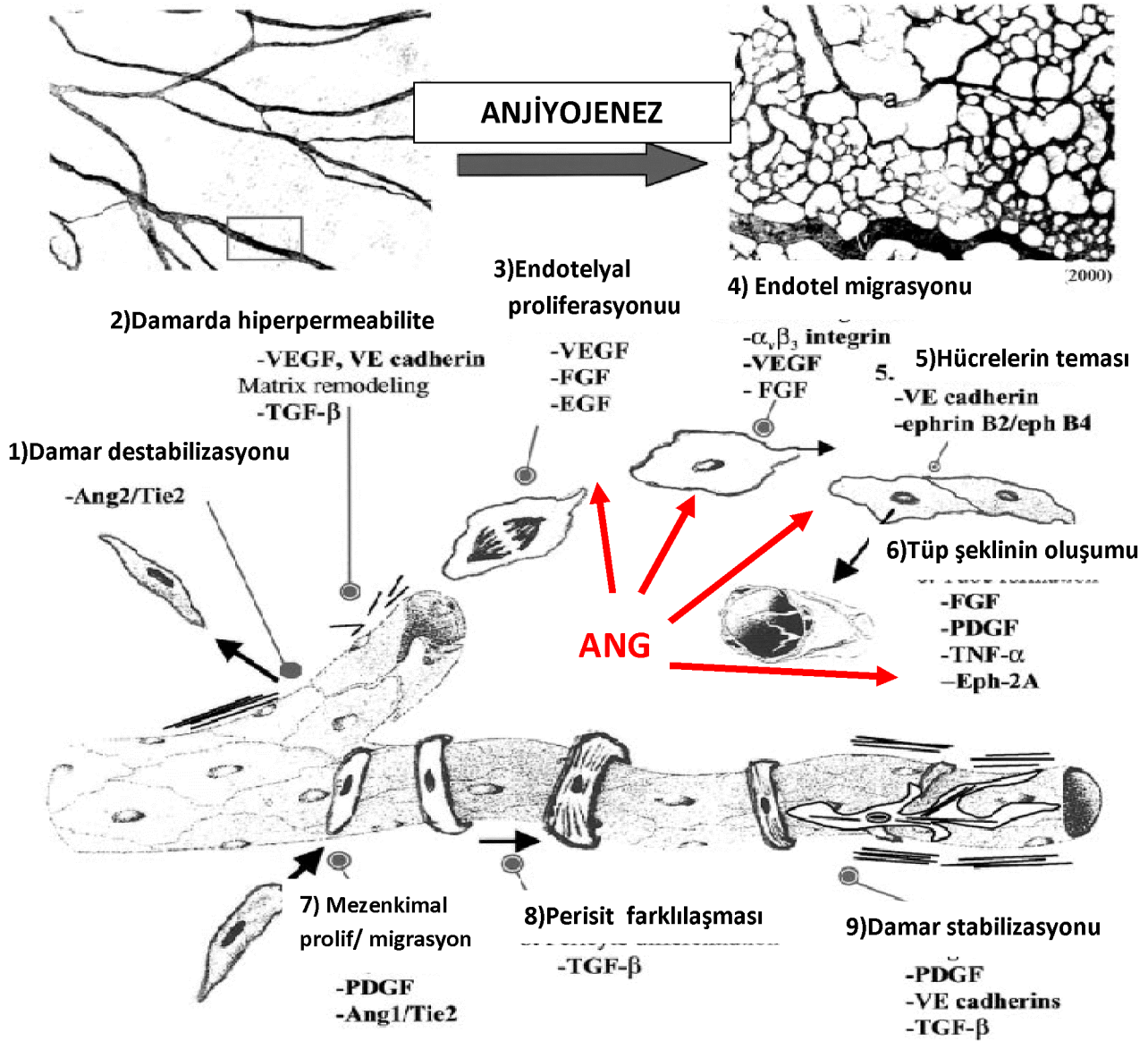
ANG'nin  $\alpha$ -aktine bağlanması bazal membran ve ekstrasellüler matris yıkımıyla ilgili bir prosesin parçasıdır. Ayrıca ANG-aktin kompleksinin bir kısmı hücre yüzeyinden ayrılarak t-PA yoluyla plazminojenden plazmin oluşumunu hızlandırmada görev alır<sup>7,9</sup>. Bununla birlikte ANG-aktin kompleksi varlığında plazminin katalitik aktivitesinde artış görülürken bazal membrandaki laminin ve fibronektin yıkımı artar. Dahası ANG sitozolik bir protein olan  $\alpha$ -aktinin 2 proteini vasıtasıyla arteriyel düz kas hücrelerinin proliferasyonuna yardımcı olur. ANG'nin anjiyogenez sürecindeki rolü şekil 2.7' de özetlenmiştir<sup>9,10</sup>.



ANG cevaplı endotel hücreleri üzerinde tanımlanan ve sadece bu hücrelerin yüzeyinde üretilen 170-kDa ağırlığındaki bir protein ise endotel hücrelerinin proliferasyonuna aracılık eder<sup>6</sup>. Bu protein belli şartlar altında endotel hücreleri üzerinde üretilir ve ANG aktivitesi ile korelasyon gösterir. Örneğin endotel hücrelerinin bazal membran içine migrasyon ve invazyonu esnasında bölgedeki hücre sayısının azalması ile kalan hücrelerde ANG reseptör protein (170-kDa) sentezi artar. Böylece bu hücreler meydana gelmiş olan boşluğu doldurana kadar çoğalırlar<sup>6,9</sup>. Bu arada ANG düz kas ve endotel hücrelerinin proliferasyonuna farklı yollarla etki eder ve düz kas hücreleri üzerindeki proliferatif etkisi endotel hücreleri üzerindeki kadar kritik değildir<sup>61</sup>.

Doku kültürlerinde yapılan çalışmalarda ANG'in endotel hücre yüzeyindeki özgün proteinine bağlanmasıyla hızlı bir endositoz, inozitol spesifik fosfolipaz A2 gibi ikincil mesajcı kaskadların aktivasyonu ve ekstrasellüler sinyal bağımlı kinaz1 /2 (Erk1/2) ile protein kinase B/Akt'in geçici fosforilasyonunun meydana geldiği görülmüştür<sup>6</sup>.

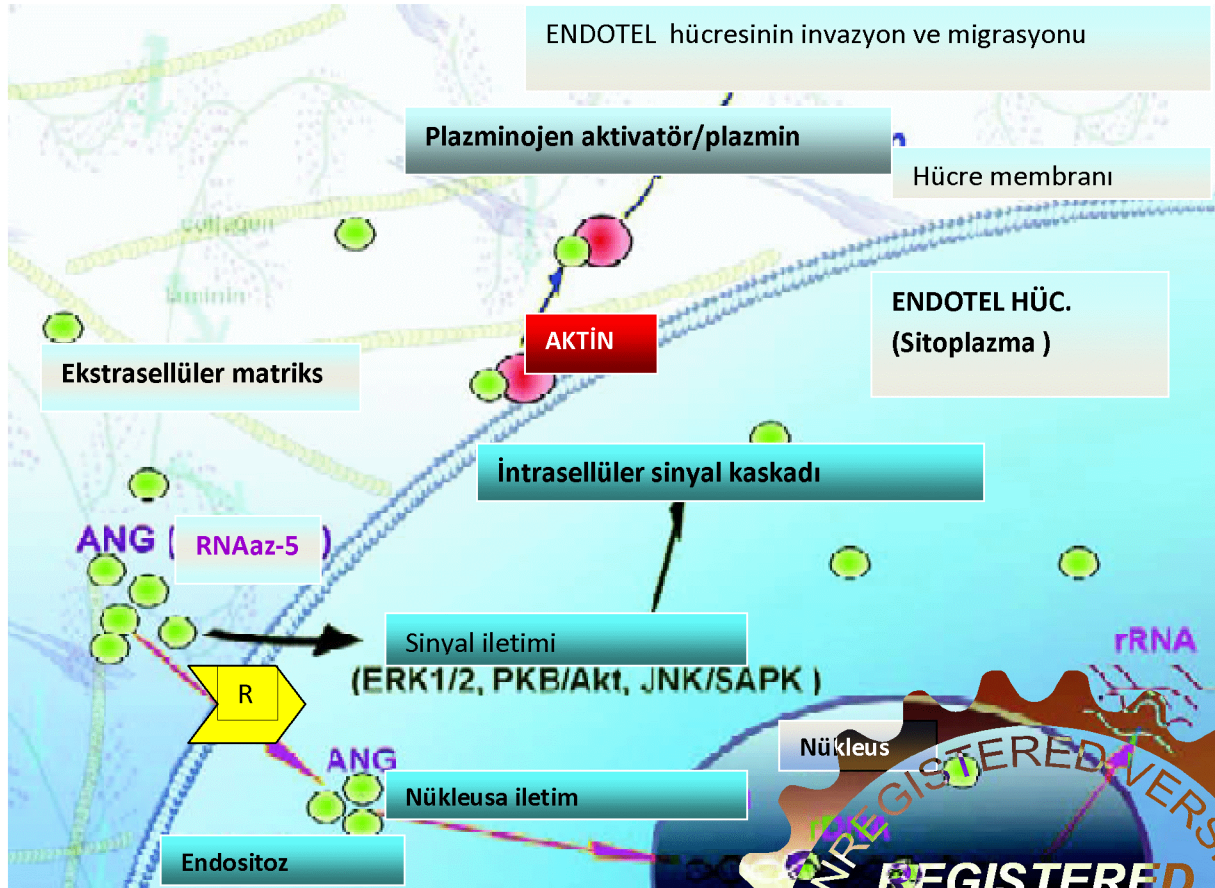




**Şekil 2.7.** Anjiyojenez basamakları. ANG 3, 4, 5 ve 6. basamaklarda görev alır. Ang2, angiotensin II; VEGF, Vascular endothelial growth factor; TGF, transforming growth factor; FGF, fibroblast growth factor; EGF, epidermal growth factor; PDGF, platelet-derived growth factor; TNF-α, tumor necrosis factor-α. Papetti ve ark. *Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis*. Am J Physiol Cell Physiol 2002, 282:947-970'den değiştirilerek alınmıştır.



Daha ileri aşamada ANG endotel ve düz kas hücrelerinde nükleer translokasyona uğrar ve DNA'ya bağlanır (Şekil 2.8). Bu aşamanın inhibisyonu veya nükleer lokalizasyon sekansının ilgili bölgesinin mutasyonu anjiyojenik aktiviteyi engeller<sup>6,7</sup>. ANG'in nükleer translokasyonu hızlıdır, ancak sıkı bir şekilde hücre yoğunluğuna bağlıdır<sup>61,62</sup>. ANG'in nükleustaki fonksiyonu rRNA transkripsiyonunu arttırmaktır. Bunu rDNA üzerindeki "ANG-bağlayan element (ABE)" e bağlanarak gerçekleştirir. Nükleustaki ANG aktivitesi endotel hücre proliferasyonunda anahtar rollerden birini oynar ve asidik fibroblast büyüme faktörü (aFGF), bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve VEGF gibi diğer anjiyojenik faktörlerin fonksiyonu için de gereklidir<sup>7</sup>.



Şekil 2.8. ANG'nin anjiyojeniz sürecinde endotel hücresi ile ilişkisi. ANG'nin hücre içine girmesi, hücre içi sinyal mekanizmalarının devreye girmesi, nükleusa ulaşımı, rRNA sentezine etkisi ve aktin, plazmin üzerinden anjiyojenizin gerçekleşmesi. (R, ANG reseptörü) *Gao X. Mechanisms of action of ANG. Acta Biochim Biophys Sin 2008, 40(7): 619-624'den değiştirilerek alınmıştır.*

Sonuçta oluşan kapillerler eğer arteriyel yapıya dönüşecek ise proliferere olduktan sonra bazal membrandan geçerek penetre olan endotel hücrelerini düz kas hücrelerinin migrasyonu ve proliferasyonu izler. Böylece matür damar duvarı oluşur<sup>6</sup>.

ANG aynı zamanda PNL degranülasyonunu önler. Böylece nötrofil elastazın plazminojeni anjiostatine dönüştürücü ve ANG'yi ayrıştırıcı etkisini önler<sup>6,9</sup>. ANG'nin kendisi de nötrofil elastaz tarafından parçalanarak etkisiz hale getirilir<sup>9</sup>.

ANG endotel ve düz kas hücreleri dışında nöronların membranlarına da bağlanırlar. Reseptörleri tam olarak tanımlanmamıştır. ANG direkt olarak motor nöronların sağkalmında da etkilidir<sup>63,64</sup>.

### 2.5.5. Anjiyojeninin Görevleri

#### Fizyolojik

ANG başlıca anjiyojenezin çeşitli basamaklarında görev alır ve bu ön planda yara iyileşmesi açısından önemlidir. Plasental damarların gelişiminde rol alır<sup>6,7</sup>. Bunun yanısıra mikrobisidal etkili olduğu da gösterilmiştir<sup>60</sup>.

Anjiyojenin anjiyojenez ve nöronal fonksiyonlar arasındaki direkt bağlantıda (cross-talk) da rol alır. ANG ve birçok anjiyojenik molekül hem vasküler hem de nöronal fonksiyonlar üzerindeki çifte etkileri sebebiyle “anjionörinler” adını alırlar<sup>63</sup>. Vasküler ve nöronal sistemlerin gelişimindeki ortak yönler düşünüldüğünde bu durum daha iyi anlaşılabilir. Anjiyojenler nöroproteksiyon, nörorejenerasyon ve sinaptik plastisitede görev alırlar<sup>63-66</sup>.

#### Patolojik

Anjiyojenez neoplastik ve neoplastik olmayan bazı olayların patogeneğinde önemli rol oynar. ANGIN de ilk kez tümör hücrelerinden izole edilmiştir<sup>58</sup>.



ANG ekspresyonunun birçok değişik kanser çeşidinde arttığı görülmüştür. Bunların arasında meme, serviks,kolorektal, endometriyal, gastrik, hepatik, renal, over, pankreatik, prostat , astrositom, lösemi (akut miyeloid lösemi ve miyelodisplastik sendrom), lenfoma, melanom, osteosarkom ve Wilms tümörü vardır. Serum ANG düzeyinin tümör büyümesi, progresyonu , tümörün agresifliği ve kötü prognoz ile yakından ilişkili olduğu saptanmıştır<sup>6,7,68</sup>.

ANG'nin rol aldığı neoplastik olmayan durumlar arasında ise periferik vasküler hastalıklar, endometriozis, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, romatoid artrit, obezite ve proliferatif diyabetik retinopati-vitrepati gibi hastalıklar vardır. ANG bir akut faz reaktanı gibi yanıt verebilir. İnflamatuvar bağırsak hastalarında yapılan çalışmalarda hastalık aktivitesi ile serum ANG düzeyinin arttığı gösterilmiştir<sup>6,67</sup>.

ANG motor nöronlar üzerinde nöroprotektif etki gösterir Bunu iki şekilde yapar: Nörovasküler perfüzyonu artırarak ve direkt olarak motor nöronu etkileyerek. Hayvan çalışmalarında spinal kord ve dorsal kök gangliyonlarında yüksek oranda eksprese edildiği saptanmıştır<sup>6,63,65,66</sup>. Familial ve sporadik ALS hastalarında ANG geninde mutasyonlar saptanmıştır<sup>64</sup>.

## 2.5.6. İskemik İnme Ve Anjiyojenez

İskemik inmede anjiyojenez oksijen ve besin kaynaklarının etkilenmiş beyin bölgesine ulaşımını sağlayan doğal bir savunma mekanizması gibi görev görür. Bunun yanı sıra anjiyojenezle oluşan damarlar yeni oluşmuş nöron ve nöroblastlara nörotrofik destek sağlarlar<sup>1,69</sup>. Deneysel orta serebral arter (OSA) oklüzyon modelinde, normal beyinde olduğu gibi, vasküler tomurculardan çıkan yeni damarların intakt damarlarla düzenli bağlantılar oluşturduğu görülmüştür<sup>70</sup>. Ayrıca iskemik sınırdaki mikro-damar yoğunluğunun fazlalığının inme hastalarında daha yüksek yaşam beklentisi ile birlikte olduğu, miyokard infarktüsü ve ekstremitelerde iskemisinde terapötik anjiyojenezin doku hasarını azaltmada başarılı olduğu saptanmıştır<sup>3,71-73</sup>. Dahası VEGF gibi anjiyojenik moleküllerin direkt hücre koruyucu etkileri de gösterilmiştir<sup>74</sup>.



Anjiyojenezin geçici iskemik ataklar (GİA) sonucu oluşan iskemi toleransında da görev aldığı düşünülmektedir<sup>75</sup>. İskemi toleransı kavramı ilk kez angina hastalarında yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır. Miyokard infarktüsü öncesi anginaları olan hastalarda yapılan çalışmalarda bu hastaların adaptasyon mekanizması olarak iskemiye tolerans geliştirdikleri ve bu sebeple geçirdikleri infarktüsün şiddetinin anginası olmayanlara göre daha az olduğu saptanmıştır<sup>76</sup>. Weih ve ark.'larının buradan yola çıkarak yaptıkları bir çalışmada inme öncesinde GİA'ları olan hastalarda başvuru esnasındaki inme şiddetinin daha az olduğu ve bu hastaların takiplerinde daha yüksek oranda iyileşme gösterdikleri saptanmıştır<sup>75</sup>. Bir diğer çalışmada inme öncesinde GİA'ları olan ve olmayan hastaların kraniyal görüntülemeleri karşılaştırılmış, perfüzyon ağırlıklı MR görüntülemeleri ve serebral kan akımları aynı olmasına karşın sonuçta oluşan infarkt alanlarının (DWI) daha küçük olduğu görülmüştür<sup>77</sup>. Dolayısıyla iskemi ile indüklenen anjiyojenez mekanizmaları üzerinden yeni tanı ve tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi olasıdır.

Hayvan çalışmalarında deneysel OSA oklüzyon modellerinde infarktlı beyin dokusunu saran endotel hücrelerinin 12-24 saat içinde proliferasyona başladığı ve üçüncü günde damarların arttığı gösterilmiştir<sup>10</sup>. İskemik inmede anjiyojenez için ilk basamak olan perisitlerin ayrışması sonrası anjiopietin-2 (12-24 saat) artışı, endotelial hücre proliferasyonu ve anjiopietin-1 artışı (7-14.gün) görülmüştür<sup>78,79</sup>. Buradaki anjiopietin -1 artışının sebebi artmış vasküler permeabiliteyi azaltmak ve yeni damar oluşumunu durdurup, süreci oluşmuş yeni damarın olgunlaşması yönüne doğru kaydırmaktır. Aşırı artmış permeabilite ödem etkisiyle beyin için zararlı olabilir. VEGF düzeyleri ise çalışmadan çalışmaya değişen oranlarda ve iskemi sonrası 1-3 saat gibi erken dönemlerde artmaya başlar<sup>80,81</sup>

İnsanlarda yeni damar formasyonu artışının peri-infarkt sahada 3-42.günlerde, infarkt olan hemisferde ise 5-92. günlerde olduğu görülmüştür<sup>82,83,84</sup>. Bunlara ek olarak akut iskemik inmeli hastalarda beyin dokusunda, serumda, nöronlarda, astrositlerde, damarlarda ve makrofajlarda VEGF artışı saptanmıştır<sup>85,86</sup>. Serum VEGF seviyesi ile infarkt volümü, klinik dizabilite ve periferik lökosit sayısı arasında korelasyon tespit edilmiştir<sup>87</sup>.

Diğer bir anjiogenik bir madde olan PDGF'in intraserebroventriküler olarak verilmesi ile infarkt alanında küçülme tespit edilmiştir<sup>88</sup>. Bunun dışında plasental büyüme faktörü



(PLGF), nöropilinler, anjiopoietin/ tie reseptör sistemi, eritropoetin, nitrik oksit sentaz , dönüştürücü büyüme faktörü–beta (Transforming growth factor beta (TGF beta), fibroblast büyüme faktörü ve daha birçok faktörün beyinde iskemi sonrası anjiyojenezde rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir<sup>10,89</sup>.

Bunun yanı sıra başlamış olan post-iskemi anjiyojenezin ne kadar süreceğine dair yapılmış bir çalışmada bu sürenin 21 gün kadar olduğu, hatta yeni damar sayısı ve iskemik inmede yaşam beklentisi arasındaki korelasyonun 92.güne kadar devam ettiği görülmüştür<sup>3,82</sup>.

Diğer taraftan yeni damarların gelişimi birkaç gün aldığından inme anında çoğu nöronun bir gün içinde dejenerasyona uğraması terapötik anjiyojenez açısından önemli bir sorundur<sup>90</sup>. Bununla birlikte infarkt volümünün inme sonrası birkaç gün boyunca arttığına saptanması da yeni damarların dokuyu kurtarması açısından bir şans olabileceği düşüncesini doğurmuştur<sup>91</sup>. Dahası anjiyojenezin infarkt sahasını azaltmasa dahi fonksiyonel prognozun daha iyi olmasına katkıda bulunabileceğine dair ipuçları mevcuttur. Örneğin demans gelişen inme hastalarında infarkt olmayan sahalarda şiddetli serebral kan akımı azalması saptanmıştır<sup>92</sup>.

### 2.5.7. İskemi İle İlgili Anjiyojenezde Anjiyojenin

ANG, diğer birçok anjiyojenik faktöre göre görece olarak daha yeni bir molekül olup , iskemik kardiyovasküler hastalıklardaki rolü ve risk faktörleri ile ilişkisini aydınlatmak üzere hakkında giderek artan sayıda araştırmalar yapılmaktadır<sup>6,93,94</sup>. Akut koroner sendrom hastalarında ANG düzeyinin stabil koroner arter hastalığı olanlara göre daha yüksek olduğu ve aşırı derecede artmış ANG düzeylerinin istenmeyen sonuçlar açısından anlamlı bir gösterge olduğu görülmüştür<sup>95</sup>. Bunun yanı sıra periferik okluif arter hastalığında özellikle şiddetli olgularda ANG düzeyleri yüksek bulunmuştur<sup>93</sup>.



Akut iskemik inmede de ANG düzeylerinde artış görülmüş, ancak ANG düzeylerinin klinik izlem üzerine etkisi araştırılmamıştır. ANG düzeyinin ilk 48 saat içinde anlamlı olarak arttığı ve 14.gündeki ölçümlerde kontrol seviyesine döndüğü görülmüştür<sup>8</sup>.

İskemik inmede kanda diğer biyo-belirteçlerin kullanımını çok sayıda çalışmada ele alınmıştır. Biyo-belirteçlerin inme ile ilişkisi açısından incelendiği alanlar daha çok tanısal amaçlı olup diğer alanlar lezyon büyüklüğü, risk altındaki doku (penumbra), prognostik açıdan lezyonun geçirdiği evrenin ve büyümesinin belirlenmesi , malin orta serebral arter infarktı, trombolize terapötik yanıtın izlenmesi ve arteriyel rekanalizasyonu ile ilgilidir<sup>96</sup>. Laskowitz ve ark.'nın<sup>97</sup> 2009'da yayınlanan çalışmasında (özellikle acil durumlarda yararlanılabilecek kraniyal görüntüleme ünitesi olmayan hastanelerde kullanılması için) inme tanısını destekleyecek biyo-belirteçlerin saptanması amaçlanmıştır. Bu çalışmada kolayca elde edilebilmesi amacıyla matris metalloproteinaz- 9 (MMP-9), D-dimer, S100 $\beta$  and B-tipi natriüretik peptid kullanılmıştır. Hastalarda %91 sensitivite, %45 spesifite ile (semptomların başlangıcından ilk 3 saat içinde) iskemik inme tanısı konmuştur. BNP inmeyi taklit eden durumları ayırmada en başarılı olan belirteçti. Ancak Whiteley ve ark.'ları iskemik inme tanısında faydalanmak üzere kandaki belirteçlerin araştırıldığı ve 58 belirtecin kullanıldığı 21 çalışmayı incelemiş, sonuçta çalışma dizaynları da göz önüne alındığında, iskemik inme tanısı ve kısa dönem prognozunu belirlemede ek fayda sağlayacak bir biyo-belirteç saptamamıştır<sup>98</sup>. Bu bağlamda iskemik inmede farklı biyo-belirteçlerin araştırılmasına gereksinim vardır ve dolayısıyla bizim çalışmamızda bu açıdan gelecek vaadeden ANG ile akut iskemik inme ilişkisi ele alınmıştır.



### 3. ARAŞTIRMANIN MATERYEL VE METODU

**3.1.Hasta grubu:** Çalışmaya Nisan- Aralık 2009 tarihleri arasında akut iskemik inme şikayeti ile Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Kliniği'ne başvuran ve tanısı kraniyal BT ve/veya MR görüntülemesi ile doğrulanarak servisimize interne edilen 41 hasta (belirtilerin başlangıcından itibaren ilk 72 saat içinde başvuran, hemorajik inmenin dışlandığı) ile yaş, cinsiyet, ateroskleroz risk faktörleri (hipertansiyon, diyabet ve hiperlipidemi) açısından benzer özellikler gösteren 22 kontrol dahil edilmiştir.

Projemiz Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu tarafından incelenerek MAR-YÇ-2009-0120 protokol numarası ile onaylanmıştır. Tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır (Ek 1).

Bilinen veya hastanede yatışı veya takibi esnasında malignite, kronik sistemik infeksiyon veya romatolojik hastalığı saptananlar, son üç ay içinde geçirilmiş inme ve ağır semptomları ve periferik damar hastalığı olanlar çalışma haricinde tutulmuştur. Hastaların başvuru NIHSS skoru kaydedilmiştir. Ayrıca taburculukta NIHSS ve modifiye Rankin skalaları (mRS) hesaplanmıştır. Hastalar üçüncü ayda tekrar görülmüş, klinik durumları mRS ve Barthel indeksi (BI) ile değerlendirilmiştir<sup>99</sup>.

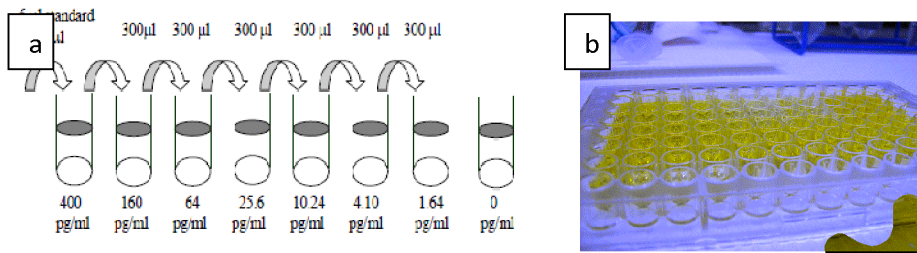
NIHSS ve mRS değerlerindeki en az bir puanlık düşme anlamlı olarak (**iyi prognosis**) kabul edilmiştir<sup>100</sup>. Ayrıca mRS 0-2 (2 dahil) ve BI 95 ve üzerinde olan hastalar iyi durumdaki hastalar olarak değerlendirilmiş, mRS>2 ve BI <95 olması kötü prognosis lehine yorumlanmıştır<sup>101,102</sup>.

Hastaların inme etyolojilerinin değerlendirilmesi TOAST sınıflamasına göre (büyük damar, küçük damar, kardiyembolik, diğer belirlenen etyolojiler ve kriptojenik nedenler) yapılmış, ayrıca inme esnasında ASA, ACE inhibitörü grubu, antihipertansif ve statin kullanımları, LDL-K, trigliserid, total kolesterol, HDL-K, lökosit, nötrofil, sedimentasyon, CRP değerleri kaydedilmiştir.



**3.2. Kan örneklerinin toplanması ve ANG düzeylerinin analizi:** Hastalardan başvuru esnasında (ANG 1)ve 5-7.günler içinde (ANG 2). ANG 1 düzeylerinin istatistiksel analizi ilk 12 saat içinde alınmış olanlar (ANG 1a) (n= 14) ve 12-72 saat içinde alınmış olanlar (ANG 1b) (n=24) şeklinde ayrı ayrı yapılmıştır.

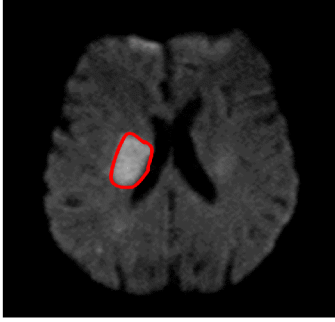
Kan örnekleri toplandıktan sonra uygun pıhtılaşma ve çökmenin oluşması için 30dk-1saat oda ısısında bekletildikten sonra 10.000 rpm de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası serum örnekler ayrılaraq -20°C de saklanmıştır. Serum anjiyojenin düzeyleri ELISA tekniğiyle (RayBio® marka ticari kit ve Siemens 20218 ile) bakılmıştır. Prosedürün başlangıcında tüm reagenler, örnekler ve standart solüsyon oda sıcaklığına getirildi ve kılavuzda belirtildiği şekilde kullanıma hazırlandı. Her bir bölüme 100µl standart solüsyon ve örnek konularak (Şekil 3.2 1) 2,5 saat inkübe edildi. Üzerlerine biyotin antikoru (100µl), streptavidin solüsyonu (100µl) ve TMB tek-adım substrat reajeni (100µl) konuldu. Bu solüsyonların her biri eklendikten sonra sırasıyla 1 saat, 45 dk ve 30dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Son olarak 50 µl stop solüsyonu eklendi ve 450nm de absorbans değerleri okundu. Herbir standart, kontrol ve örnek seti için ortalama absorbans değerleri alınarak hesaplama yapıldı.



**Şekil 3.2.1.** Serum ANG düzeylerinin ELISA ile analizi. a) Standart solüsyonun hazırlanması. b) Solüsyonların eklendiği viyaller.



**3.3. Lezyon volümünün ölçülmesi:** Lezyon volümü “pen-trace” metodu ile her bir aksiyal planda lezyon alanı ölçüldü<sup>103</sup>. Her kesit için kesit kalınlığı ve iki kesit arası boşluk ile alanın çarpılması işlemi tekrarlandı. Sonuçlar toplanarak lezyon volümü elde edildi (Şekil 3.3.1).



**Şekil 3.3.1** Kranyal MR (DWI)'da pen-trace ile lezyon sınırlarının belirlenmesi.



### 3.4. Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 15.0 programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotları (Ortalama, Standart sapma) kullanılmıştır.

Niceliksel değişkenler arası ilişkileri saptamak için Parametrik olmayan bir yöntem olan Spearman Korelasyon analizi kullanılmıştır.

Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında iki grup durumunda, normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında ikiden fazla grup durumunda, normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

Kruskal Wallis testi, tek yönlü varyans analizinin parametrik olmayan alternatifidir. Amaç, varyans analizinde olduğu gibi her biri  $n_j$  hacimli  $k$  sayıda bağımsız örneğin aynı yığından gelip gelmediğine karar vermektir. Mann Whitney U testi, Bağımsız örneklem  $t$  testinin parametrik olmayan alternatifidir. Mann Whitney U testi, iki bağımsız örneklemden elde edilen test puanlarının birbirlerinden anlamlı bir şekilde farklılık gösterip göstermediğini test eder.

Sonuçlar % 95 güven aralığında, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde çift yönlü olarak değerlendirilmiştir.



#### 4. BULGULAR

Çalışmamıza Nisan –Aralık 2009 tarihleri arasında kliniğimize başvuran 41 akut iskemik inme hastası dahil edilmiştir. Bu hastalarda akut (başvuru anında) ve subakut dönemde (5-7. gün) serum ANG düzeyleri ölçülmüş, Ondört hasta semptomların başlangıcından sonraki ilk 12 saat içinde başvurmuştur. ANG'nin başvuru esnasındaki NIHSS değeri, taburculuktaki NIHSS ve mRS değerleri, 3. ayda mRS ve Barthel ölçümleri ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Ayrıca hastaların başvurusunda (ilk 72 saat içinde) çekilmiş olan difüzyon ağırlıklı kraniyal MR'larda ölçülen lezyon volümü ile ANG düzeyleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. Buna ek olarak lökosit ve nötrofil sayıları, trigliserid, total kolesterol, LDL-K ve HDL-K düzeyleri, ESR ve CRP değerlerinin ANG düzeyleri ile istatistiksel ilişkisi incelenmiştir.

Hasta grubunu oluşturan 41 kişinin (13 kadın, 28 erkek) yaş ortalaması 69,59±10,2 kontrol grubunu oluşturan 22 kişinin (10 kadın, 12 erkek) yaş ortalaması 67,1±9,6 bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Ayrıca diyabet, hipertansiyon ve hiperlipidemi varlığı ve ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanımı açısından da anlamlı bir fark saptanmamıştır

Hasta ve kontrol grubunun demografik ve ilaç kullanım özellikleri Tablo-1'de verilmiştir.

**Tablo-1.** Çalışmaya alınan hastaların ve kontrollerin demografik ve ilaç kullanım özellikleri.

	Çalışma (n=41)	Kontrol (n=22)	P
Cinsiyet K/E	13/28	10/12	0,111
Yaş	69,59±10,2	67,1±9,6	0,267
Diyabet	22 (% 53,65)	8 (% 36,36)	0,591
Hipertansiyon	32 (% 78,04)	17 (% 77,27)	0,998
Hiperlipidemi	30 (% 73,17)	14(% 63,63)	0,573
ASA	18 (% 43,90)	9 (% 40,90)	0,944
ACEİ	19 (% 46,34)	12(% 54,54)	0,796
Statin	7 (% 17,07)	8 (% 36,36)	0,137

ASA, Asetilsalisilik asit; ACEİ, Anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü

Hastaların TOAST sınıflamasına göre etyolojik olarak dağılımı Tablo-2'de verilmiştir.



**Tablo-2.** Hastaların iskemik inme açısından TOAST sınıflamasına göre dağılımı.

TOAST sınıflaması	n(%)
Büyük damar aterosklerozu	15 (%36,58)
Küçük damar hastalığı	7 (%17,07)
Kardiyoembolik inme	13 (%31,70)
Diğer nedenlere bağlı inme	0
Nedeni belirlenemeyen inme	4 (%9,75)

### Yaş, cinsiyet ve ANG arasındaki ilişki:

Yaş ve cinsiyet ile ilk 12 saat, 12-72 saat ve 5-7.gün arası ANG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).

### Hastalarda diyabet, hipertansiyon ve hiperlipideminin ANG düzeylerine etkisi:

Diyabet, hipertansiyon ve hiperlipidemisi olan hastalar ile olmayanların ilk 12 saat, 12-72 saat ve 5-7. gün ANG düzeylerinde anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 3.** Hasta grubunda diyabet, hipertansiyon ve hiperlipideminin ANG düzeylerine etkisi.

### ANG düzeyi (pg/ml)

Hastalık durumu	İlk 12 saat	12-72 saat	5-7.gün
DM olan* (n=22)	171,63±78,98	202,74± 49,06	192,74± 39,06
olmayan (n= 19)	203,39±35,96	198,20± 45,63	168,20± 35,63
HT olan*(n=32)	197,57±55,12	198,75±51,12	178,75±41,12
olmayan (n=9)	171,89±18,76	202,96±43,46	192,96±43,46
HL olan*(n=30)	211,22±38,48	207,84±41,13	197,84±31,13
olmayan (n=11)	159,14±68,91	126,41±42,44	166,41±32,44

Tablodaki ANG değerleri ( $\pm SS$ ) ile birlikte verilmiştir.\* Gruplar arasında ANG düzeyleri açısından anlamlı fark yoktur ( $p > 0,05$ ) DM,diyabetes mellitus; HT ,hipertansiyon; HL, hiperlipidemi.



**Hastaların iskemik inme öncesi ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanımı ile ANG düzeyleri arasındaki ilişki:**

ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanan ve kullanmayan hastaların ilk 12 saat ANG düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanan ve kullanmayan hastaların 12-72 saat ANG düzeyleri karşılaştırıldığında statin grubu ilaç alan hastalarda ANG düzeyi almayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p= 0,038$ ).

**Tablo 4.** Hastaların iskemik inme öncesi ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanımı ile 12-72 saat arası ANG düzeyleri arasındaki ilişki

<b>İlaç kullanımı</b>	<b>12-72saat ANG (<math>\pm</math>SS)</b>	<b>P değeri</b>
ASA kullanan (n= 18)	202,74 $\pm$ 49,06	0,664
kullanmayan (n=23)	198,20 $\pm$ 45,63	
ACEİ kullanan (n= 19)	198,75 $\pm$ 51,12	0,951
kullanmayan (n=22)	202,96 $\pm$ 43,46	
Statin kullanan (n=7)	207,84 $\pm$ 41,13	<b>0,038</b>
kullanmayan (n=34)	126,41 $\pm$ 42,44	

*ASA, Asetilsalisilik asit; ACEİ, Anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü*

ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanan ve kullanmayan hastaların 5-7.gün ANG düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Aynı şekilde kontrol grubunda bu ilaçları kullananlar ve kullanmayanlar arasında ANG düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).



### ANG düzeyleri ve lezyon volümü arasındaki ilişki:

İlk 12 saat içindeki ANG düzeyi arttıkça, lezyon volümünün anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır ( $p < 0,05$ ), Lezyon volümü ile 12-72 saat ve 5-7.gün arası ANG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

**Tablo 5.** Lezyon volümü ile ANG düzeyi arasındaki ilişki

	Spearman's rho	P değeri
ANG 1a	-0,582	<b>0,037</b>
ANG 1b	0,341	0,196
ANG 2	-0,039	0,852

*ANG 1a, ilk 12 saate ölçülmüş olan ANG; ANG 1b, 12-72 saat arasında ölçülmüş olan ANG; ANG 2, 5-7.günlerde ölçülmüş olan ANG düzeyleri*

### TOAST klasifikasyonuna göre inme etyolojisi ve ANG düzeyleri arasındaki ilişki:

Hastalar TOAST'a göre etyolojileri açısından gruplara ayrıldıklarında ilk 12 saat ( $n=14$ ), 12-72 saat ( $n= 27$ ) ve 5-7.gün arası ANG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).

### ANG düzeyleriyle lökosit, nötrofil, lipid profili ve sedimentasyon arasındaki ilişki:

Trigliserid ve total kolesterol düzeyleri arttıkça ilk 12 saat ANG düzeyleri anlamlı olarak artmıştır ( $p < 0,05$ ). 12-72 saat ve 5-7.gün arası ANG düzeyleri ile trigliserid ve total kolesterol düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Nötrofil sayısı arttıkça 5-7.gün arası ANG düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır ( $p < 0,05$ ). İlk 12 saat ve 12-72 saat arasındaki ANG düzeyleri ile nötrofil sayısı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Lökosit sayısı, LDL-K ve HDL-K düzeyi, sedimentasyon ile ilk 12 saat, 12-72 saat ve 5-7.gün arası ANG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.



**Tablo 5.** İlk 12 saat ANG düzeyleriyle lökosit, nötrofil, lipid profili ve sedimentasyon arasındaki ilişki

	<b>Spearman's rho</b>	<b>P değeri</b>
Beyaz Küre Sayısı	-0,055	0,852
Nötrofil Sayısı	-0,013	0,964
LDL-K (mg/dl)	0,224	0,533
Trigliserid (mg/dl)	0,782	<b>0,008</b>
T.Kolesterol (mg/dl)	0,697	<b>0,025</b>
HDL-K (mg/dl)	-0,182	0,614
Sedimentasyon	0,331	0,166

**Tablo 6.** 5-7.gün arası ANG düzeyleriyle lökosit, nötrofil, lipid profili ve sedimentasyon arasındaki ilişki

	<b>Spearman's rho</b>	<b>P değeri</b>
Beyaz Küre Sayısı	-0,244	0,165
Nötrofil Sayısı	-0,406	<b>0,017</b>
LDL-K (mg/dl)	0,039	0,829
Trigliserid (mg/dl)	0,108	0,549
T.Kolesterol (mg/dl)	0,096	0,595
HDL-K (mg/dl)	0,065	0,720
Sedimentasyon	0,065	0,720

#### **NIHSS skoru ve ANG ilişkisi:**

Hastaneye başvuru esnasındaki NIHSS skoru (NIHSS 1) ile ilk 12 saat, 12-72 saat, 5-7. gün ANG değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.



**Tablo 7.** Hastaneye başvuru esnasındaki NIHSS skoru ve ANG düzeyleri arasındaki korelasyonun incelenmesi.

	<b>N</b>	<b>Spearman's rho</b>	<b>P değeri</b>
NIHSS 1- ANG 1 a	11	0,018	0,957
NIHSS 1- ANG 1b	24	-0,002	0,993
NIHSS 1- ANG 2	22	-0,141	0,426

NIHSS 1, hastaneye başvuru esnasındaki NIHSS değerleri; ANG 1a, ilk 12 saate ölçülmüş olan ANG; ANG 1b, 12-72 saat arasında ölçülmüş olan ANG; ANG 2, 5-7.günlerde ölçülmüş olan ANG düzeyleri

Akut dönemde (hastaneye yatışı esnasında) iyi prognoz gösteren hastaların NIHSS değerleriyle (NIHSS ip) (n=6) kötü prognoz gösteren hastaların NIHSS değerleri (NIHSS kp) arasında ANG 1a, ANG1b ve ANG 2 açısından anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).

**Tablo 8.** NIHSS skoruna göre iyi prognoz ve kötü prognoz gösteren hastaların ANG düzeylerinin karşılaştırılması.

	<b>ANG düzeyi (pg/ml)</b>			<b>P değeri</b>
	<b>NIHSS ip</b>	<b>NIHSS kp</b>	<b>SS</b>	
ANG 1a	180,18	198,76	-	0,343
ANG 1b	200,62	195,80	57,90	
ANG 2	204,69	183,75	29,86	0,631

NIHSS ip, İyi prognoz gösteren hastalar; NIHSS kp, kötü prognoz gösteren hastalar; ANG 1a, ilk 12 saate ölçülmüş olan ANG; ANG 1b, 12-72 saat arasında ölçülmüş olan ANG; ANG 2, 5-7.günlerde ölçülmüş olan ANG düzeyleri

Akut dönemde (hastaneye yatışı esnasında) iyi prognoz gösteren hastaların (NIHSS ip) ilk 72 saat içinde ölçülmüş olan ANG 1 düzeyleri ANG 2 düzeylerinden yüksek/altıak bu



fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,917$ ). Kötü prognoz olan olgularda ANG 2 düzeyleri, ANG1 düzeylerinden düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,288$ ).

Kontrol grubuyla ile NIHSS ip veya NIHSS kp hastaların ANG 1a, ANG 1b veya ANG 2 düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Akut dönemde (hastaneye yatışı esnasında) iyi prognoz gösteren hastalarla kötü prognoz gösteren hastaların lezyon volümleri karşılaştırıldığında aradaki fark anlamlı değildi ( $p=0,206$ ).

### Üçüncü aydaki mRS ile ANG düzeyleri arasındaki ilişki:

Modifiye Rankin skoruna göre iyi prognoz gösteren (mRS 0-2) hastaların ( $n=17$ ) başvuru anındaki ANG düzeyleri kötü prognoz gösterenlerinkine (mRS>2) oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p=0,043$ ).

**Tablo 9.** mRS skoruna göre iyi prognoz ve kötü prognoz gösteren hastaların ANG düzeylerinin karşılaştırılması.

	mRS ip	mRS kp	P değeri
ANG 1 (pg/ml)	204,05	193,76	0,349
ANG 2 (pg/ml)	222,21	161,64	<b>0,001</b>

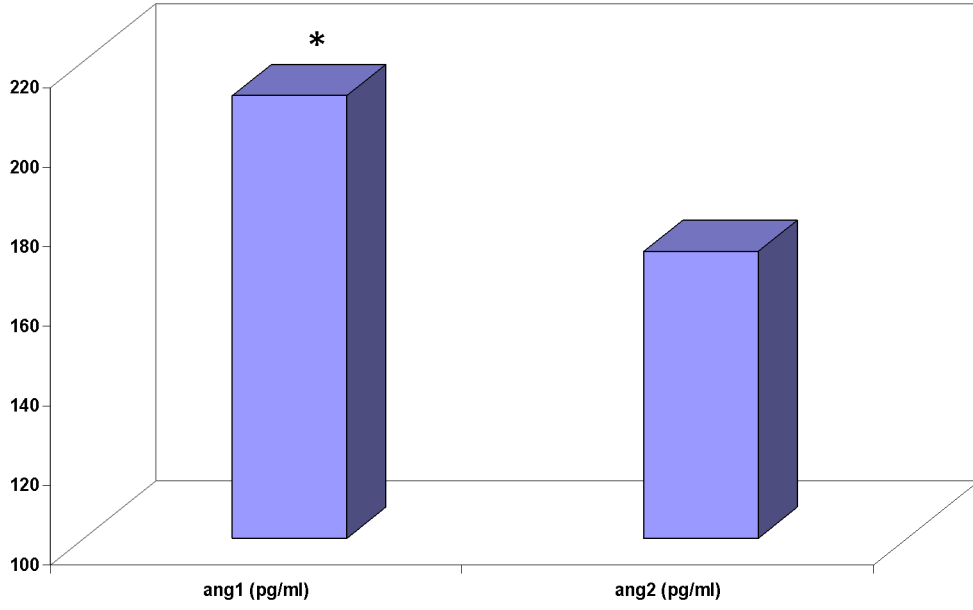
Değerler ortalama olarak verilmiştir. mRS ip, iyi prognoz (mRS 0-2); mRS kp, kötü prognoz (mRS>2)

### Üçüncü aydaki Barthel İndeksi ile ANG düzeyleri arasındaki ilişki:

Barthel indeksine göre kötü prognoz (BI<95) olarak değerlendirilen hastaların 5-7. gün ANG düzeyleri, ilk 72 saat ANG düzeylerine göre ( $p=0,017$ ) anlamlı olarak düşük bulundu.



Barthel kötü prognoz olanların Ang1-Ang2 ölçümleri



ANG 1, ilk 72 saat ANG düzeyleri; ANG 2, 5-7. gün ANG düzeyleri. \*p< 0,05



## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda semptomların başlangıcından itibaren ilk 72 saat içinde başvuran iskemik inme hastalarında (n=41) akut (başvuru anında) ve subakut dönemde (5-7. gün) serum ANG düzeyleri ölçülmüştür. ANG'nin akut ve 3 aylık nörolojik tabloya etkisini değerlendirmek için akut dönemde başvuru esnasındaki NIHSS skoru, taburculukta NIHSS ve mRS skorları, kronik dönemde mRS ve Barthel indeksi (BI) değerlendirilmiştir. Akut nörolojik durum ile ANG düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamış, ancak ilk 12 saatteki ANG düzeyleri artarken lezyon volümlerinin bununla korele olarak azaldığı görülmüştür (p=0,038). Üç aylık izlemdeki nörolojik durumlarına bakıldığında ise iyi prognoz gösteren hastaların (mRS 0-2) subakut dönemdeki (5-7. gün) düzeyleri kötü prognoz gösterenlerinkine (mRS>2) oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0,043). Ayrıca kötü prognoz gösteren hastaların (BI <95) subakut dönemdeki (5-7. gün) ANG düzeylerinin başvuru anındaki ANG düzeylerine göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (p=0,017).

Literatürde iskemik inmede ANG düzeylerini inceleyen sadece bir klinik çalışma mevcuttur. Huang ve ark.'nın<sup>8</sup> bu çalışmada akut inme hastalarında ANG düzeylerinin değişimi ve lezyon büyüklüğü ile bağlantısı incelenmiştir. ANG düzeyleri semptomların başlangıcından itibaren ilk 48 saat içinde, 3,7 ve 14.günlerde ölçülmüş, ilk 48 saat içindeki ANG düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunduğu, 7.günde aradaki farkın pik yaptığı, 14.günde ise farkın azaldığı ve anlamlılığın kaybolduğu görülmüştür. Bununla birlikte Bhatia ve ark.'nın<sup>104</sup> romatoid artrit hastalarında ANG ve VEGF düzeyleri ile inme (ve koroner kalp hastalığı) riski ilişkisini araştırdıkları çalışmada ANG düzeyleri ve inme riski arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak bu çalışma prospektif bir izlem çalışması olmayıp, bir olgu-kontrol çalışmasıdır. İnme riski Framingham kriterlerine göre (10 yıllık) hesaplanarak elde edilmiş ve ANG ile korelasyonu incelenmiştir.

Deneyisel bir çalışmada da orta serebral arter oklüzyon modeli uygulanan sıçanlarda ilk 72 saat içindeki ANG mRNA değişimleri incelenmiş, 10 saatte pik yapan mRNA düzeylerinin 72. saate kadar yüksek düzeyde kalmaya devam ettiği saptanmıştır<sup>105</sup>. Bir diğer deneyisel çalışmada ise iskemi sonrası reperfüze edilen beyin dokusunda immünohistokimyasal olarak ANG ekspresyonuna bakılmış, 24 saatte kontrol grubuna göre yüksek olan seviyelerin 21. günden sonra dahi devam ettiği görülmüştür<sup>106</sup>. Bizim



çalışmamızda da ilk 72 saat ve 5-7.günlerdeki ANG düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, ancak aradaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür.

Huang ve ark.'nın<sup>8</sup> çalışmasında lezyon büyüklüğü ile ANG düzeylerinin ilişkisine bakılmış olmasına karşın, nörolojik tablo ile ANG ilişkisine bakılmamıştır. Huang ve ark.'nın çalışmasında lezyonun en geniş görüldüğü kesitteki lezyon çapı alınmış, lezyonlar büyüklüklerine göre büyük (>4cm), orta (1,5-4cm) ve küçük (<1,5cm) olarak gruplara ayrılmıştır. Sonuçta büyük çaplı lezyonu olan hastaların ANG düzeyleri orta ve küçük çaplı lezyonu olan hastalara göre tüm ölçümlerde (ilk 48 saat içinde, 3,7 ve 14.günlerde) daha yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ilk 12 saatteki ANG düzeyleri artarken lezyon volümlerinin bununla korele olarak azaldığı görülmüştür. Huang ve ark.'nın çalışmasının bizim çalışmamızdan çeşitli farklılıkları vardır; lezyon büyüklüğü sadece lezyonun en büyük olduğu kesitte lezyonun en geniş olduğu çapın ölçülmesi ile değerlendirilmiş ve ilk 48 saatin ANG düzeyleri alt gruplara ayrılmadan analiz edilmiş, lezyon büyüklüğü ve ANG düzeyleri arasındaki korelasyon incelenmemiştir. Bizim çalışmamızda ilk 12 saatteki ANG düzeyleri arttıkça lezyon büyüklüğünün azalması ANG'nin ribonükleaz aktivitesi ile açıklanabilir. İskemi esnasında hasar gören hücrelerden salınan RNA'nın kan beyin bariyerinin geçirgenliğini artırarak ödem oluşumuna katkıda bulunduğu in vitro olarak gösterilmiştir<sup>107</sup>. Bununla ilgili olarak Walberer ve ark.'nın<sup>108</sup> çalışmasında deneysel olarak ribonükleaz veriliminin akut iskemik inmede lezyon büyüklüğünü ve ödem formasyonunu azalttığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamız akut iskemik inmede ANG düzeyleri ve nörolojik durum arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmadır. Çalışmamızda akut dönemdeki ANG düzeylerinin yüksek olması uzun dönemdeki(üç aylık) nörolojik duruma olumlu etki etmekte ve yine bu dönemde ANG düzeylerinin düşüş göstermesi kötü prognozla birliktelik göstermektedir. Ayrıca kronik dönemdeki nörolojik tablo ile gösterilen bu bağlantının akut dönem ile gösterilememesinin sebepleri arasında akut dönemdeki nörolojik durumun tespitinde kullanılan NIHSS'nun (Bkz Bölüm 2.4) yaygın olarak kullanılmasına karşın özellikle hastaların distal motor güçsüzlüğü gibi bazı nörolojik defisitleri değerlendirmedeki eksikliği ve dolayısıyla aradaki bağlantıyı göstermedeki yetersizliği olabilir. Ayrıca NIHSS ile gösterilmemesine karşın lezyon volümü ile ANG düzeyleri arasında gösterilen bağlantı ANG'nin akut dönemde de etki edebileceği düşüncesini desteklemektedir.



Krupinski ve ark.'nın<sup>3</sup> yaptığı çalışma anjiyojenezin iskemik inmede sağkalımı etkilediği düşüncesini destekleyen en önemli çalışmalardan biridir. Bu çalışmada iskemik inme hastalarında infarktli dokularda ve özellikle bu dokuların etrafında bulunan penumbradaki anjiyojenez oranının sağkalım süresi ile doğru orantılı olduğu görülmüştür. Aynı grup tarafından vasküler tomurcuklanma ile oluşan yeni damarların normal beyinde görülen şekilde bir hafta içinde intakt mikrodamarlar ile bağlantı kurduklarını deneysel olarak göstermiştir<sup>70</sup>.

Ayrıca iskemik beyin dokusu sınırında anjiyojenik faktörlerin arttığı PET ile gösterilmiş, yine PET ve SPECT çalışmalarında iskemik inme hastalarında damar yoğunluğu arttıkça prognozun daha iyi olduğu görülmüştür<sup>3,109</sup>.

Anjiyojenik birçok faktörün hipoksik bölgelerde arttığı, koroner ve periferik arter hastalarında hipovaskülarizasyona bağlı hipoksik alanlarda anjiyojenezin lokal stimülasyonu ile, ki bazen bu yöntem “moleküler by-pass greftleme” olarak adlandırılmaktadır, hipoksinin azaltıldığı gösterilmiştir<sup>111-113</sup>. Deneysel modellerde miyokard iskemisinde anjiyojenik büyüme faktörlerinin eksojen verilimi ile (intraarteriyel, miyokard içine vb) infarkt alanında küçülme, sistolik fonksiyonlarda düzelme ve koroner kan akımı ile infarktli bölgede histolojik olarak damar yoğunluğunda artma saptanmıştır<sup>114,115</sup>. VEGF, bFGF ve TGF- $\beta$  gibi anjiyojenezi arttıran polipeptid büyüme faktörleri de iskemik inme sonrası iyileşme ile yakından ilişkili bulunmuştur<sup>87</sup>.

İskemik kor etrafındaki kurtarılabılır doku olarak tanımlanan penumbra bölgesindeki anjiyojenezin iskemiye doğal bir cevap olduğu düşünülmektedir<sup>50,87</sup>. Bu yüzden anjiyojenez erken başladığı veya başlatıldığı takdirde, bu bölge ve ilişkili bölgeler için gerekli nöronal re-organizasyona, kök hücre diferensiasyonuna ve fonksiyonel iyileşmeye katkıda bulunabilir<sup>50</sup>. Hatta son zamanlardaki beynin kendini yenileyebilme düşüncesiyle birlikte anjiyojenezin iskemik dokudaki potansiyel faydalarının penumbra dokusuna ilaveten nörojeniz ve nöroproteksiyonu da içerebileceği düşünülmektedir<sup>10,50,63</sup>.

İskeminin indüklediği anjiyojenez kök hücrelerde dahil olmak üzere birçok mesod ve ajanla daha da arttırılabilir<sup>116</sup>. Anjiyojenezi arttırmak için uygulanan farmakolojik yaklaşımlarda en çok üzerinde durulmuş olan aracı VEGF'tir. Kronik serebral hipoperfüzyon uygulanan hayvan modellerinde insan VEGF gen transferi beyinde kapiller yoğunluğu



arttırmış, nörolojik defisiti azaltmıştır<sup>50</sup>. Başka bir çalışmada intraventriküler anti-VEGF antikor verilmesi ile infarkt bölgesinde artış izlenmiştir<sup>10</sup>.

Anjiyojenezi indükleyici tedavilerde zamanlama önemlidir. Zhang ve ark.'nın<sup>12</sup> çalışmasında, VEGF'in ilk 1 saat gibi erken bir dönemde verilimi kan beyin bariyerinde kaçak oluşmasına yol açarak zararlı olabilirken 48 saat sonra veriliminin nöronal iyileşme ile faydalı olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte iskemik nöronların çoğu 24 saat içinde dejenere olduğundan (nekrotik bölgeden çok kurtarılabilir bölgede) anjiyojenezin katkısıyla nörogenez ve sinaptogenez gibi nörorestoratif olayların düzeltilmesi yoluyla da nöronal fonksiyonlarda düzelmeye beklenebilir<sup>10</sup>.

Ayrıca verilim yolu da etkinlik ve istenmeyen etkilerin oluşması açısından önemlidir. Miyokard iskemisi ile ilgili çalışmalarda yapıldığı üzere intraarteriyel veya lokal uygulamaların daha kontrol edilebilir bir etki sağlayacağı düşünülmektedir<sup>50</sup>. Kaya ve ark.<sup>117</sup> tarafından beyin ile ilgili uygulamalarda VEGF intraserebroventriküler verilmiş ve fokal iskemiye karşı beyni koruyabildiği gösterilmiştir.

Bu bağlamda uygun verilim zamanı, verilim yolu ve hasta seçimi kriterlerinin belirlenmesi sonrasında anjiyojenezin terapötik veya diyagnostik amaçlı kullanılmasının önü açılacak, anjiyojenik moleküllerin beyin ödemi artırıcı ve aterosklerotik plakta patolojik değişiklik yapma gibi istenmeyen etkileri de minimuma indirilmiş olacaktır. Dolayısıyla çalışmamızda elde edilen sonuçlar bu düşünceyi destekler niteliktedir.

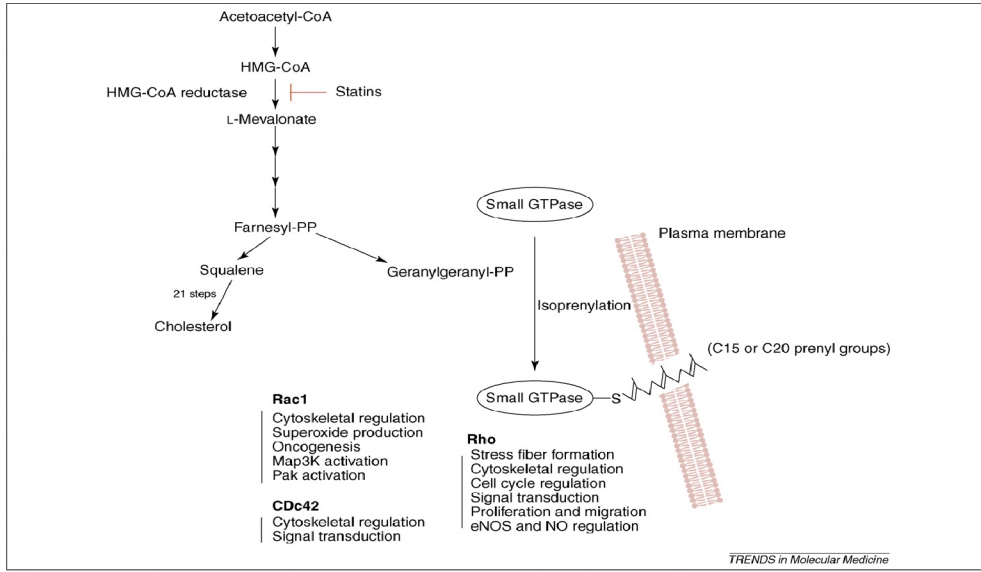
Lipid profili ve ANG düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında Chackathayil ve ark.'nın<sup>118</sup> koroner arter hastalarında yaptığı çalışmada ANG ve trigliserid düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu çalışmada serum trigliserid düzeyleri ile ANG düzeyleri arasında korelasyon bulunmuş, trigliserid düzeyleri arttıkça ilk 12 saat içindeki ANG düzeylerinin arttığı görülmüştür. Literatürde benzer sonuçlar mevcuttur. Patel ve ark.<sup>119</sup> sol ventrikül disfonksiyonu olan hastalarda yaptığı çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde ANG düzeylerinin trigliserid düzeyleriyle korele olarak arttığı, total kolesterol düzeylerinin ANG ile ilişkisi olmadığı saptanmıştır. Çalışmamızda saptadığımız total kolesterol seviyesi ve ANG düzeyleri arasındaki korelasyon daha önce gösterilmemiş olup, bugüne kadar yapılan çalışmalarda total kolesterol ve ANG düzeyleri arasında bir ilişki saptanmamıştır.



Hiperlipidemi tedavisinde kullanılan statinlerin ANG ile ilişkisi Siebert ve ark.'nın<sup>120</sup> Tip II DM hastlarında yaptığı çalışmada incelenmiş statin kullanımı ve ANG düzeyleri arasında anlamlı ilişki gösterilmemiştir. Aynı şekilde Patel ve ark.'nın<sup>121</sup> kalp yetmezliği olan hastalarda yaptığı çalışmada lipid düşürücü ilaç kullanımı ile ANG arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır, ancak bu ikinci çalışmada hangi tip lipid düşürücü ilaçların kullanıldığı belirtilmemiştir. Akut koroner sendromu olan hastalarda Montoliu ve ark.'nın yaptığı çalışmada statin tedavisi altında olanların ANG düzeyleri ile statin kullanmayanlar arasında anlamlı fark saptanmamıştır<sup>95</sup>. Bizim çalışmamızda statin kullanan hastalarda 12-72 saat arası ANG düzeyleri statin kullanmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu etki LDL-K kolesterol düzeylerinden bağımsızdır. Çalışmamız akut iskemik inme hastalarında statin ve ANG arasındaki bu ilişkiyi gösteren ilk çalışmadır.

Statinler HMG-CoA redüktaz enzimini inhibe ederek kolesterol ve hücrelerde farklı fonksiyonları düzenleyen izoprenoidlerin sentezini inhibe ederler<sup>122,125</sup>. Başka bir şekilde söylemek gerekirse kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan ve HMG-CoA redüktaz enziminin göreve aldığı mevalonik asitin sentezi basamağı statinler tarafından inhibe edilirken, mevalonik asitin aynı zamanda steroid olmayan izoprenoid bileşiklerinin prekürsörü olması sebebiyle bu bileşiklerin oluşumu da azaltılmış olur<sup>122</sup>. İzoprenoidler bazı proteinlerin (nükleer laminler, Ras, Rho, Rac ve Rap) post-translasyonel modifikasyonunda görev alır. İzoprenile olmuş proteinler hücrel proteinlerin %2'sidir ve farklı hücrel fonksiyonları kontrol ederler. Bu yüzden statinlerin lipid düşürücü etkilerinin ötesinde immünomodülasyon, nöroproteksiyon gibi ek etkileri olması şartıdır<sup>123</sup>.





**Şekil 6.** Statinlerin kolesterol ve izoprenoidler üzerindeki etki mekanizmaları ve izoprenoidlerin başlıca görevleri. eNOS: endothelial nitric oxide synthase; Map3K: mitogen-activated protein kinase; Pak: p21-activated kinase. Wang CY ve ark.. Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. Trends Mol Med. 2008;14(1):37-44'den alınmıştır.

Statinler sadece hiperkolesterolemik hastalarda değil normokolesterolemik hastalarda da kardiyovasküler olayları azaltır. İskemik olmayan kalp yetmezliğinde kardiyak fonksiyonlara ve sağkalıma olumlu etki ederler. MS ve romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklarda hastalık aktivitesini azaltıcı etkileri gösterilmiştir<sup>123</sup>.

Statinlerin kolesterol düşürücü etkilerinin ötesinde pleiotropik etkileri sayesinde nöroproteksiyon ve anjiyojenez modifikasyonu dahil olmak üzere birçok farklı etkileri ortaya çıkabilir<sup>124,125</sup>. Pleiotropik kelimesi “birden fazla yol vasıtasıyla” anlamına gelen Yunanca “pleion es tropos” kelimesinden gelmektedir<sup>122</sup>. Başlıca pleiotropik etkileri inflamasyon sürecin zayıflatılması, endotelial fonksiyonların ve koagülasyon-fibrinoliz sisteminin normalizasyonudur<sup>124</sup>. Statinlerin etkilerinin ne dereceye kadar kolesterol düşürücü ya da pleiotropik etkilerine bağlı olduğunu ayırt etmek oldukça zordur. Bununla birlikte aterosklerotik plak stabilizasyonu, ateroskleroz progresyonunun modifikasyonu ve endotelial fonksiyonlarının düzenlenmesi büyük ölçüde lipid düşürücü etkilerine atfedilir<sup>123</sup>. Bu bağlamda mevalonik asit statin tedavisinin ilk 1-2 saatinde %70'e kadar azaldığı için özellikle erken dönemdeki



etkilerin 6-7 gün içinde anlamlı hale gelen LDL-K düşüşünden çok pleiotropik etkiyle oluştuğu ve statinlerin pleiotropik etkilerinin izoprenile proteinler üzerindeki direkt inhibitör etkilerinden kaynaklandığı düşünülebilir<sup>122</sup>.

Aterosklerozda modifiye ve okside LDL-K monosit-makrofaj aktivasyonu ve serbest radikal oluşumu gibi inflamatuvar olaylara yol açar. Sonuçta ortaya çıkan endotel disfonksiyonu aterosklerozun anahtar nedenlerinden birini oluşturur<sup>123</sup>. Statinler bu inflamatuvar süreci engelleyici etki gösterir<sup>125</sup>. Ayrıca statin tedavisi ile endotel fonksiyonları düzenlenir ve endotelial nitrik oksit sentezi artar. Nitrik oksit (NO) vasküler relaksasyon, platelet agregasyonunun inhibisyonu, vasküler düz kas hücrelerinin ve endotel-lökosit etkileşiminin inhibisyonu gibi olaylarda rol alır<sup>122</sup>. Endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesindeki artışa bağlı olarak serebral kan akımını artırır, inmeyle ilgili hasarı azaltır<sup>123</sup>. Etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte statinler plateletleri de etkiler, hasarlı damarlarda platelet birikimini ve platelet trombüs formasyonunu azaltır<sup>122</sup>.

Statinlerin plateletler üzerindeki etkilerinin endotelial nitrik oksit sentaz düzeyini artırması, tromboksan A2 üretimini azaltması ve plateletlerin membranlarındaki kolesterol içeriğini değiştirmesi sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir<sup>122</sup>.

Statinlerin beyin iskemisinde de önemli bir rol oynarlar. Özellikle iskeminin akut fazında NO, glutamat, inflamasyon, platelet agregasyonu, immün cevaplar ve apoptoz üzerine etkileri gösterilmiştir<sup>122</sup>. Bunun yanı sıra uzun dönemdeki sonuçları iyileştirebilecek nörotamir mekanizmalarıyla da ilişkili oldukları düşünülmektedir. Bu mekanizmalar arasında anjiyogenezin, endojen hücre proliferasyonunun, nörogenezin ve yeni sinaps formasyonunun artırılması yer alır. Ayrıca Alzheimer hastalığına karşı koruyucu etkileri olduğu saptanmıştır<sup>125</sup>.

Hayvan deneylerinde simvastatinin normokolesterolemik tıvısanlarda iskemik ekstremitelelerinde protein kinaz Akt aktivasyonu yoluyla endotelial nitrik oksit sentazın fosforilasyonunu hızlandırmış ve böylece NO oluşumunu arttırmış, sonuç olarak anjiyogenez ile yeni damar oluşumunu arttırmıştır<sup>124,125</sup>. Bir diğler statin olan serivastatin de iskemi sonucu ortaya çıkan kollateral oluşumunu arttırmıştır<sup>124</sup>. Deneysel bir iskemi modelinde lazer dopler ve kapiller yoğunluk incelemesi yoluyla kollateral ve anjiyogenez ölçülmüş, pravastatin tedavisi alanlarda yüksek olduğu görülmüştür. In vitro olarak umbilikal kord endotel hücrelelerinde pravastatinin bu etkisi ayrıntılı olarak incelendiğinde AMP ile



aktive olan protein kinaz(AMPK) yoluyla endotelial nitrik oksit sentaz fosforilasyonu artmış, endotel hücreleri yeni damar oluşturmak üzere migrasyon göstermiş ve tüp şekli oluşturmuştur. Bu AMPK antagonisti ( compound c) ile engellenebilmiştir<sup>126</sup>. Farklı bir çalışmada iskemik inme modeli uygulanan hayvanlarda atorvastatinin (inmeden 1 gün sonra) anjiyogenez ile birlikte fonksiyonel nörolojik iyileşmede artışa yol açtığı gösterilmiştir<sup>125</sup>.

Buna karşın statinlerin anti-anjiyojenik etkileri de vardır. Serivastatin martrijel ve koryoallantoik membrandaki, simvastatin VEGF ve PGF aracılı anjiyogenezini inhibe etmiştir<sup>124</sup>. Statinlerin anjiyogenez üzerindeki karşıt etkilerinin doza bağımlı olduğu düşünülmekte, düşük dozlarda anjiyogenezini arttırdığına, ancak yüksek dozda aksi etki ettiğine inanılmaktadır<sup>124</sup>. Burada diğer bir faktör anjiyogenezini indükleyen etkidir. İnflamasyon ağırlıklı ve iskemi ağırlıklı anjiyogenezde farklı mediyatörler baskın olabilir ve ayrıca çeşitli anjiyojenik faktörlerin kan düzeylerine ve bu düzeylerin değişimine eş zamanlı olarak bakıldığında bunların bir kısmının anlamlı bir birliktelik göstermediği saptanmıştır<sup>127</sup>. Anjiyogenezle ilgili çalışmaları değerlendirirken bu etken göz önünde bulundurulmalı, bir olay üzerinde anjiyojenik bir mediyatörün zararlı etkileri olabileceken bir diğerinin faydalı etki gösterebileceği de unutulmamalıdır. Bu bağlamda inflamatuvar anjiyogenez üzerinde atorvastatinin etkisine bakıldığında, VEGF düzeyinde (dolayısıyla inflamasyonla ortaya çıkan anjiyogenezde) artışın engellendiği saptanmıştır<sup>124</sup>. Aslında VEGF'in inme sonrası meydana gelen ve mortalite ve morbiditeyi arttıran beyin ödeminin oluşumunda önemli rol oynadığı düşünülürse VEGF aracılı anjiyogenezin statinler ile engellenmesi de olumlu bir sonuçtur.

Akut iskemik inme hastalarında nötrofil sayısı ve ANG düzeyini inceleyen bir çalışma yoktur. Çalışmamızda nötrofil sayısı arttıkça 5-7.günlerdeki ANG düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Hu ve ark.'nın çalışmasında ANG'nin plazminojen tarafından düzenlenen bir süreç içinde nötrofil elastaz tarafından parçalanarak inaktive edildiği gösterilmiştir<sup>9</sup>. Nötrofil elastaz, nötrofiller tarafından salgılanır. Artmış olan nötrofil sayısı ile birlikte ANG düzeyinin azalması bu bağlamda mantıklıdır. Buna ek olarak nötrofiller toksik oksijen metabolitleri ve sitokinler de salgılayarak beyin dokusuna zarar verirler. Shimakura ve ark.'nın<sup>130</sup> çalışmasında deneysel akut inme modelinde aktive nötrofillerden nötrofil elastaz salgılandığı, nötrofil elastaz inhibitörü veriliminin serebral hasarın büyüklüğünü azalttığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda lökosit sayısı, ESR,CRP değerleri ile ANG arasında korelasyon gösterilmemiştir. Bhatia ve ark.'nın<sup>104</sup> çalışmasında romatoid artrit hastalarında ESR düzeyi



ve ANG arasında zayıf bir bağlantı saptanmış, ESR arttıkça ANG'nin arttığı görülmüştür. Koutroubakis ve ark.'nın<sup>131</sup> inflamatuvar bağırsak hastalarında yaptığı çalışmada ise lökosit sayısı, ESR ve CRP ile ANG arasında ilişki gösterilmemiştir.

Çalışmamızda yaş ve cinsiyetin serum ANG düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Pantsulaia ve ark.'nın<sup>127</sup> ANG düzeylerini etkileyen genetik ve çevresel faktörleri inceledikleri geniş ölçekli ve popülasyon tabanlı çalışmada erkeklerdeki ANG düzeyleri kadınlara oranla yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte postmenopozal kadınlarda premenopozal kadınlara göre yüksek ANG oranları saptanmıştır. Aynı çalışmada yaşın her iki cinsiyette ANG düzeylerini etkilediği gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada incelenen örneklemdeki yaş aralığı bizim çalışmamıza göre çok daha geniştir ve genç bireyleri de içermektedir. Koutroubakis ve ark.'nın çalışmasında inflamatuvar bağırsak hastalarında ANG düzeyleri yaş ve cinsiyete göre farklılık göstermemiştir.

Aterosklerotik risk faktörlerinin ANG ile ilişkisi bazı çalışmalarda irdelenmiştir. Tip 2 diyabet hastalarında ANG düzeyleri araştırılmış ve sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğu görülmüştür<sup>122</sup>. Bu sonuç, düşük ANG'nin Tip 2 diyabet hastalarında iskemik dokudaki yetersiz kollateral gelişiminin bir sebebi olduğu yönünde değerlendirilmiştir. Ancak genç Tip 1 diyabet hastalarında (3-24 yaş) ANG düzeyleri sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmuş, ANG'nin HbA1c düzeyiyle korele olarak arttığı saptanmıştır<sup>132</sup>. Burada mikrovasküler komplikasyonlar ile yüksek ANG düzeylerinin bağlantılı olduğu düşünülmüş, diyabetik proliferatif retinopatide ANG düzeyi artışının anlamlı olmamasına karşın nefropati şiddetinin ANG düzeyi ile birlikte arttığı görülmüştür. Aynı çalışmada kan glikoz düzeyinde kontrol sağlanması ile ANG düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Bhatia ve ark.'nın<sup>104</sup> çalışmasında ciddi kardiyovasküler hastalığı olmayan sağlıklı kişilerde ANG düzeylerinin sistolik tansiyon ile korele olduğu, sistolik tansiyon arttıkça ANG'nin azaldığı, romatoid artrit hastalarında ise HT veya DM varlığının ANG'yi etkilemediği gösterilmiştir. Ancak literatürde akut iskemik inme hastalarında diyabetik olanlar ve olmayanların ANG düzeylerini karşılaştıran çalışma yoktur. Çalışmamızda akut iskemik inme geçiren hastalarda hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabet varlığının ANG düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını göstermiştir. Bizim çalışmamızla benzer şekilde, Patel ve ark.'nın<sup>133</sup> kalp yetmezliği ve koroner arter hastalarında yaptığı iki ayrı çalışmada HT, HL ve DM varlığının ANG düzeylerine etkisi olmadığı gösterilmiştir.



Yaptığımız çalışmada ASA, ACE inhibitörü kullanımı ve ANG düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Siebert ve ark.'nın<sup>120</sup> Tip II DM hastalarında yaptığı çalışmada ACE İnhibitörü kullanımı ile ANG arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ayrıca Patel ve ark.'nın<sup>121</sup> kalp yetmezliği olan hastalarda yaptığı çalışmada da aynı şekilde ACE İnhibitörü, bunun yanısıra antitrombotik (antitrombotik tipi belirtilmemiştir) kullanımı ile ANG arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Buna ek olarak Patel ve ark.'nın<sup>119</sup> farklı bir çalışmasında koroner arter hastalarında ASA ve ACE inhibitörü kullanımının ANG ile bağlantısı gösterilememiştir. Akut koroner sendromu olan hastalarda Montoliu ve ark.'nın<sup>95</sup> yaptığı çalışmada da ASA ve ACE inhibitörü tedavisi altında olanların ANG düzeyleri ile bu ilaçları kullanmayanlar arasında anlamlı fark saptanmamıştır

Sonuç olarak, akut iskemik inme hastalarında ANG düzeyi artarken lezyon volümünde düşüş izlenmiş, takiplerinde üçüncü ayda iyi prognoz gösteren hastaların (mRS 0-2) subakut dönemde ANG düzeyleri kötü prognoz gösterenlerinkine (mRS>2) oranla anlamlı olarak yüksek bulunduğu, ayrıca kötü prognoz gösteren hastaların (BI <95) subakut dönemdeki (5-7. gün) ANG düzeylerinin başvuru anındaki ANG düzeylerine göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür. Statin kullanan hastalarda, LDL-K düzeylerinden bağımsız olarak statinlerin damar koruyucu ve anjiyojenezi arttırıcı özelliklerinden dolayı ANG düzeyleri yüksek bulunmuştur. Anjiyojenezi indükleyen ANG akut iskemik inmede akut evrede volüm azalması sayesinde yararlı olabileceği düşünülmektedir. Üçüncü aydaki iyilik hali ise ANG'nin yeni damar yapımını arttırarak risk altındaki bölgenin kanlanmasını sağlamasının yanısıra nörojenesis, nöroproteksiyon ve sinaptik plastisitede oynadığı role bağlıdır. Statinler de ANG düzeyini arttırarak ANG'nin bu etkisine katkıda bulunabilir. Dahası çalışmamızda gösterdiğimiz ilk 12 saat içinde ANG düzeyi ve lezyon volümü arasındaki bağlantı göz önüne alınacak olursa akut iskemik inmede statinlerin mümkün olduğunca erken başlanması ek faydaları olabilir.

Ancak çalışmanın prospektif ve kontrol karşılaştırmalı bir çalışma olmasına karşın hasta sayısının az olması beraberinde bir takım kısıtlamalar getirmiştir. Çalışmamız bir öncü çalışma olarak kabul edilirse yakın gelecekte anjiyojenezi arttırıcı moleküllerin hayvan deneyleri ve klinik çalışmalarda ele alınmasıyla hem akut evredeki iyilik hali hem de sonraki izlemdeki etkilerine ışık tutulabilir. Statinler gibi antitrombotik ve antiinflamatuar ilaçların akut iskemide kullanımının anjiyojenezi arttırarak faydalı olabilir. Bu bağlamda akut



iskemik inmede anjiyojenezin rolüyle ilgili geniş kapsamlı randomize klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.



## 6. SONUÇLAR

- İlk 12 saat içindeki ANG düzeyi arttıkça, lezyon volümünün anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır ( $p < 0,05$ ), Lezyon volümü ile 12-72 saat ve 5-7.gün arası ANG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.
- ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanan ve kullanmayan hastaların 12-72 saat ANG düzeyleri karşılaştırıldığında statin grubu ilaç alan hastalarda ANG düzeyi almayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p = 0,038$ ).
- Modifiye Rankin skoruna göre iyi prognoz gösteren (mRS 0-2) hastaların ( $n=17$ ) başvuru anındaki ANG düzeyleri kötü prognoz gösterenlerinkine (mRS>2) oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p=0,043$ ).
- Barthel indeksine göre kötü prognoz (BI<95) olarak değerlendirilen hastaların 5-7.gün ANG düzeyleri, ilk 72 saat ANG düzeylerine göre ( $p=0,017$ ) anlamlı olarak düşük bulundu.
- Nötrofil sayısı arttıkça 5-7.gün arası ANG düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır ( $p < 0,05$ ). İlk 12 saat ve 12-72 saat arasındaki ANG düzeyleri ile nötrofil sayısı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.
- Yaş ve cinsiyet ile ilk 12 saat, 12-72 saat ve 5-7.gün arası ANG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).
- Diyabet, hipertansiyon ve hiperlipidemisi olan hastalar ile olmayanların ilk 12 saat, 12-72 saat ve 5-7.gün ANG düzeylerinde anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).
- ASA, ACE inhibitörü ve statin kullanan ve kullanmayan hastaların ilk 12 saat, 5-7.gün ANG düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).
- Hastalar TOAST'a göre etyolojileri açısından gruplara ayrıldıklarında ilk 12 saat ( $n=14$ ), 12-72 saat ( $n= 27$ ) ve 5-7.gün arası ANG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).
- Hastaneye başvuru esnasındaki NIHSS skoru (NIHSS 1) ile ilk 12 saat, 12-72 saat, 5-7.gün arası ANG değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Akut dönemde (hastaneye yatışı esnasında) iyi prognoz gösteren hastaların NIHSS değerleriyle (NIHSS ip) ( $n=6$ ) kötü prognoz gösteren hastaların NIHSS değerleri (NIHSS kp) arasında ANG 1a, ANG1b ve ANG 2 açısından anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ).



## 7.KAYNAKLAR

- 1 Leventhal C, Rafii S, Rafii D, Shahar A, Goldman SA. Endothelial trophic support of neuronal production and recruitment from the adult mammalian subependyma. *Mol Cell Neurosci* 1999;13:450–464.
2. Yang EY, Moses HL. Transforming growth factor beta 1-induced changes in cell migration, proliferation, and angiogenesis in the chicken chorioallantoic membrane. *J Cell Biol* 1990;111:731–741.
3. Krupinski J et al. Role of angiogenesis in patients with cerebral ischemic stroke. *Stroke*. 1994;25(9):1794-8.
4. Hayashi T, Deguchi K, Nagotani S, Zhang H, Sehara Y, Tsuchiya A, Abe K. Cerebral ischemia and angiogenesis. *Curr Neurovasc Res*. 2006;3(2):119-29.
5. Matsui, T, Mori, T, Tateishi, N, Kagamiishi, Y, Satoh, S, Katsube, N, Morikawa, E, Morimoto, T, Ikuta, F, Asano, T. Astrocytic activation and delayed infarct expansion after permanent focal ischemia in rats. Part I: enhanced astrocytic synthesis of s-100beta in the periinfarct area precedes delayed infarct expansion. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 711-22.
6. Tello-Montoliu A, Patel JV, Lip GY. Angiogenin: a review of the pathophysiology and potential clinical applications. *J Thromb Haemost*. 2006;4(9):1864-74.
7. Gao X, Xu Z. Ve ark. Mechanisms of action of angiogenin. *Acta Biochim Biophys Sin* 2008, 40(7): 619-624.
8. Huang L, Guo H, Cheng M, Zhao Y, Jin X. The kinetic change of the serum angiogenin level in patients with acute cerebral infarction. *Eur Neurol*. 2007;58(4):224-7.
9. Hu GF. *J Protein Chem*. Limited proteolysis of angiogenin by elastase is regulated by plasminogen. 1997;16(7):669-79.
10. Beck H, Plate KH. Angiogenesis after cerebral ischemia. *Acta Neuropathol*. 2009;117(5):481-96.
11. Sun Y, Jin K, Xie L. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J Clin Invest* 2003;111:1843–1851.



12. Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q et al (2000) VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. *J Clin Invest* 106:829–838.
13. Cerebrovascular disorders. A clinical and research classification. WHO Offset Publ 1978 No:43 Geneva.
14. Montaner et al. Etiologic Diagnosis of Ischemic Stroke Subtypes With Plasma Biomarkers. *Stroke* 2008;39:2280-2287.
15. Feigin et al. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. *Lancet Neurology* 2003; 2: 43–53
16. Brouns R, Sheorajpanday R, Wauters A, De SD, Marien P, De Deyn PP. Evaluation of lactate as a marker of metabolic stress and cause of secondary damage in acute ischemic stroke or TIA. *Clin Chim Acta* 2008;397:27–31.
17. Uyttenboogaart M, Koch MW, Stewart RE, Vroomen PC, Luijckx GJ, De Keyser J. Moderate hyperglycaemia is associated with favourable outcome in acute lacunar stroke. *Brain* 2007;130:1626–30.
18. Waxman S. Molecular mechanisms of subcortical versus cortical infarction. In: Donnan G, Norrving B, Bamford J, Bogousslavsky J, editors. *Subcortical stroke*. Oxford, U.K.: Oxford Medical Publications; 2002. p. 67–83.
19. Adams HP et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment *Stroke* 1993;24:35-41.
20. Bogousslavsky J, Van Melle G, Regli F: The Lausanne Stroke Registry: Analysis of 1,000 consecutive patients with first stroke. *Stroke* 1988;19:1083-1092.
21. Mohr JP, The Harvard Cooperative Stroke Registry: A prospective registry. *Neurology* 1978;28:754-762.
22. Sacco RL, Infarcts of undetermined cause: The NINCDS Stroke Data Bank. *Ann Neurol* 1989;25:382-390.
23. Kolominsky-Rabas PL Epidemiology of Ischemic Stroke Subtypes According to TOAST Criteria: Incidence, Recurrence, and Long-Term Survival in Ischemic Stroke Subtypes: A Population-Based Study *Stroke* 2001;32:2735-2740.
24. Aslanyan S, Weir CJ, Muir KW, Lees KR. Magnesium for treatment of acute lacunar stroke syndromes: further analysis of the IMAGES trial. *Stroke* 2007;38:1269–76



25. Aerden L, van Raak E, Boreas A, Kessels A, Lodder J. Common drugs in acute ischemic stroke and their influence on outcome: an observational study in 1013 stroke patients. *Clin Neuropharmacol* 2008;31:74–9.
26. Greenberg SM. Small vessels, big problems. *N Engl J Med* 2006;354:1451–3.
27. Lovett JK. Early risk of recurrence by subtype of ischemic stroke in population-based incidence studies *Neurology* 2004;62:569–573.
28. Christou I, Felberg RA, Demchuk AM, et al. Intravenous tissue plasminogen activator and flowimprovement in acute ischemic stroke patients with internal carotid artery occlusion. *J Neuroimaging* 2002;12:119–23.
29. Furlan A, Higashida R, Wechsler L, et al. Intra-arterial prourokinase for acute ischemic stroke. The PROACT II study: a randomized controlled trial. *Prolyse in Acute Cerebral Thromboembolism*. *JAMA* 1999;282:2003–11.
30. Smith WS, Sung G, Starkman S, et al. Safety and efficacy of mechanical embolectomy in acute ischemic stroke: results of the MERCI trial. *Stroke* 2005;36:1432–8
31. Khamasta MA et al. The Management of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *N Eng J Med* 1995;332:993-997.
32. Bamford J, Sandercock P, Jones L, Warlow C. The natural history of lacunar infarction: the Oxfordshire Community Stroke Project. *Stroke* 1987;18:545–51.
33. Wahlgren N, Ahmed N, Davalos A, et al. Thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke in the Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST): an observational study. *Lancet* 2007;369:275–82.
34. Yatsu FM et al. Community hospital-based stroke programs: North Carolina, Oregon, and New York. I: goals, objectives. *Stroke* 1986; 17:276-284.
35. Broderick JP et AL. Relationship of cardiac disease to stroke occurrence, recurrence and mortality. *Stroke* 1992; 23:1250-1256.
36. Vasan RS, Beiser A, Seshadri S, Larson MG, Kannel WB, D'Agostino RB, Levy D. Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged women and men: The Framingham Heart Study. *JAMA* 2002;287:1003-1010).
37. PA Wolf, RB D'Agostino, AJ Belanger. Probability of stroke: a risk profile from the Framingham Study. *Stroke*. 1991;22:312-318



38. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R; Prospective Studies Collaboration.. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002;366:1903-13.
39. Staessen JA, Gasowski J, Wang JG, Thijs L, Den Hond E, Boissel JP, Coope J, Ekblom T, Gueyffier F, Liu L, Kerlikowske K, Pocock S, Fagard RH. Risks of untreated and treated isolated systolic hypertension in the elderly: meta-analysis of outcome trials. *Lancet* 2000;355:865-872.
40. Parveen Rashid, Jo Leonardi-Bee . Blood Pressure Reduction and Secondary Prevention of Stroke and Other Vascular Events: A Systematic Review. *Stroke*. 2003;34:2741-2748.
41. Abdullah Nassief and James D. Marsh Statin Therapy for Stroke Prevention. *Stroke*. 2008;39:1042-1048
42. Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A 3rd, Goldstein LB, Hennerici M, Rudolph AE, Sillesen H, imunovic L, Szarek M, Welch KM, Zivin JA; Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) Investigators. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. *N Engl J Med*. 2006;355:549-559.
43. Collins R, Armitage J, Parish S, Sleight P, Peto R; Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003;361:2005-2016.
44. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, Pasternak RC, Smith SC Jr, Stone NJ; National Heart, Lung, and Blood Institute; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004;110:227-239.
45. Stevens RJ, Coleman RL, Adler AI, Stratton IM, Matthews DR, Holman RR Risk factors for myocardial infarction case fatality and stroke case fatality in type 2 diabetes: UKPDS 66. *Diabetes Care*. 2004;27(1):201-7.



46. Orgogozo JM, Dartigues JF. Methodology of clinical trials in acute cerebral ischemia. *Cerebrovascular Disease* 1991;1: 100-111.
47. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA stroke study group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 1995; 335: 1581-1587.
48. Wade DT. *Measurement in Neurological Rehabilitation. Handicap and Quality of Life.* Oxford University. 1992; 89- 96.
49. Tomanek RJ et al. Angiogenesis: New Insights and Therapeutic Potential. *The Anatomical Record (New Anat.)* 2000; 261:126–135,
50. Slevin M et al. Can angiogenesis be exploited to improve stroke outcome? Mechanisms and therapeutic potential. *Clinical Science* 2006; 111, 171–183.
51. Harrigan MR et al. Angiogenic factors in the central nervous system. *Neurosurgery* 2003; 53:639-661.
52. Griffioen AW et al. Angiogenesis: Potentials for Pharmacologic Intervention in the Treatment of Cancer, Cardiovascular Diseases, and Chronic Inflammation 2000; 52:237–268.
53. Papetti et al. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 40(7): 619-624.
54. Folkman J, D'Amore P: Blood vessel formation: What is its molecular basis? *Cell* 1996; 87:1153–1155.
55. Benjamin L, Hemo I, Keshet E: A plasticity window for blood vessel remodeling is defined by pericyte coverage of the preformed endothelial network and is regulated by PDGF-B and VEGF. *Development* 1998; 125:1591–159.
56. Kurz H. Physiology of angiogenesis. *J Neurooncol* 2000; 50: 17–35.
57. Stone J, Itin A, Alon T, Pe'er J, Gnessin H, Chan-Ling T, Keshet E. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci* 1995; 15:4738–4747.
58. . Fett JW, Strydom DJ, Lobb RR, Alderman EM, Bethune JL, Riordan JF, Vallee BL. Isolation and characterization of angiogenin, an angiogenic protein from human carcinoma cells. *Biochemistry* 1985; 24: 5480–5486.



59. Hooper LV, Stappenbeck TS, Hong CV, Gordon JI. Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nat Immunol* 2003; 4: 269–73.
60. Osorio et al. Structural and functional implications of positive selection at the primate angiogenin gene. 2007, 7:167.
61. Xu Z, Monti DM, Hu G. Angiogenin activates human umbilical artery smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 909–14.
62. Hu G, Xu C, Riordan JF. Human angiogenin is rapidly translocated to the nucleus of human umbilical vein endothelial cells and binds to DNA. *J Cell Biochem* 2000, 76: 452–462.
63. Zacchigna S, Lambrechts D, Carmeliet P. Neurovascular signalling defects in Neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9(3):169-81.
- 64 . Subramanian V, Feng Y. A new role for angiogenin in neurite growth and pathfinding: implications for amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet.* 2007 Jun 15;16(12):1445-53.
65. Kermani P, Rafii D, Jin DK, Whitlock P, Schaffer W, Chiang A, Vincent L, Friedrich M, Shido K, Hackett NR, Crystal RG, Rafii S, Hempstead BL. Neurotrophins promote revascularization by local recruitment of TrkB+ endothelial cells and systemic mobilization of hematopoietic progenitors. *Clin Invest.* 2005;115(3):653-63.
66. Carmeliet P, Tessier-Lavigne M. Common mechanisms of nerve and blood vessel wiring. *Nature.* 2005;14;436(7048):193-200.
67. Lip GY, Blann AD. Thrombogenesis, atherogenesis and angiogenesis in vascular disease: a new \_vascular triad\_. *Ann Med* 2004; 36:119–25.
- 68, Shimoyama S, Shimizu N, Tsuji E, Yamasaki K, Kawahara M, Kaminishi M. Distribution of angiogenin and its gene message in colorectal cancer patients and their clinical relevance. *Anticancer Res* 2002; 22: 1045–52.
69. Yamashita T, Ninomiya M, Hernández Acosta P, García-Verdugo JM. Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum. *J Neurosci.* 2006 ;14;26(24):6627-36.



70. Krupinski J, Stroemer P, Slevin M, Marti E, Kumar P, Rubio F. Three-dimensional structure and survival of newly formed blood vessels after focal cerebral ischemia. *Neuroreport*. 2003 ;11;14(8):1171-6.
71. Slevin M, Krupinski J, Kumar P, Gaffney J, Kumar S. Gene activation and protein expression following ischaemic stroke: strategies towards neuroprotection. *J Cell Mol Med*. 2005;9(1):85-102.
72. Banai S, Jaklitsch MT, Shou M, Lazarous DF, Scheinowitz M, Biro S, Epstein SE, Unger EF. Angiogenic-induced enhancement of collateral blood flow to ischemic myocardium by vascular endothelial growth factor in dogs. *Circulation*. 1994;89(5):2183-9.
73. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LQ, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest*. 1994;93(2):662-70.
74. Sun FY, Guo X. Molecular and cellular mechanisms of neuroprotection by vascular endothelial growth factor. *J Neurosci Res*. 2005;1-15;79(1-2):180-4.
75. Weih M, Kallenberg K, Bergk A, Dirnagl U, Harms L, Wernecke KD, Einhüpl KM. Attenuated stroke severity after prodromal TIA: a role for ischemic tolerance in the brain? *Stroke*. 1999;30(9):1851-4.
76. Jennings RB, Murry CE, Reimer KA. Preconditioning myocardium with ischemia. *Cardiovasc Drugs Ther*. 1991;5(5):933-8.
77. Wegener S, Gottschalk B, Jovanovic V MRI in Acute Stroke Study Group of the German Competence Network Stroke. Transient ischemic attacks before ischemic stroke: preconditioning the human brain? A multicenter magnetic resonance imaging study. *Stroke*. 2004;35(3):616-21.
78. Noshita N, Sugawara T, Hayashi T, Lewén A, Omar G, Chae PH. Temporal profile of angiogenesis and expression of related genes in the brain after ischemia. *J Neurosci*. 2002 15;22(18):7923-30.
79. Lin TN, Wang CK, Cheung WM, Hsu CY. Induction of angiopoietin and Tie receptor mRNA expression after cerebral ischemia-reperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2000;20(2):387-95.



80. Kovács Z, Ikezaki K, Samoto K, Inamura T, Fukui M. VEGF and flt. Expression time kinetics in rat brain infarct. *Stroke*. 1996;27(10):1865-72
81. Hayashi T, Abe K, Suzuki H, Itoyama Y. Rapid induction of vascular endothelial growth factor gene expression after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke*. 1997;28(10):2039-44.
82. Szpak GM, Lechowicz W, Lewandowska E, Bertrand E, Wierzba-Bobrowicz T, Dymecki J. Border zone neovascularization in cerebral ischemic infarct. *Folia Neuropathol*. 1999;37(4):264-8.
83. Krupiński J, Kałuża J, Kumar P, Kumar S, Wang JM. Some remarks on the growth-rate and angiogenesis of microvessels in ischemic stroke. Morphometric and immunocytochemical studies. *Patol Pol*. 1993;44(4):203-9.
84. Marti HJ, Bernaudin M, Bellail A, Schoch H, Euler M, Petit E, Risau W. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia. *Am J Pathol*. 2000;156(3):965-76.
85. Issa R, Krupinski J, Bujny T, Kumar S, Kaluza J, Kumar P. Vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, in human brain tissue after ischemic stroke. *Lab Invest*. 1999;79(4):417-25.
86. Gunsilius E, Petzer AL, Stockhammer G, Kähler CM, Gastl G. Serial measurement of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta1 in serum of patients with acute ischemic stroke. *Stroke*. 2001 Jan;32(1):275-8.
87. Slevin M, Krupinski J, Slowik A, Kumar P, Szczudlik A, Gaffney J. Serial measurement of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta1 in serum of patients with acute ischemic stroke. *Stroke*. 2000 Aug;31(8):1863-70.
88. Kawabe T, Wen TC, Matsuda S, Ishihara K, Otsuda H, Sakanaka M. Platelet-derived growth factor prevents ischemia-induced neuronal injuries *in vivo*. *Neurosci Res*. 1997;29(4):335-43.
89. Issa R, AlQteishat A, Mitsios N, Saka M, Krupinski J, Parkowski E, Gaffney J, Slevin M, Kumar S, Kumar P. Expression of basic fibroblast growth factor mRNA and protein in the human brain following ischaemic stroke. *Angiogenesis*. 2005;8(1):53-62.



90. Chen HH, Chien CH, Liu HM. Correlation between fibroblast growth factor expression and cell proliferation in experimental brain infarct: studied with proliferating cell nuclear antigen immunohistochemistry. *Stroke*. 1994;25(8):1651-7.
91. Matsui T, Mori T, Tateishi N, Kagamiishi Y, Satoh S, Katsube N, Morikawa E, Morimoto T, Ikuta F, Asano T. Astrocytic activation and delayed infarct expansion after permanent focal ischemia in rats. Part I: enhanced astrocytic synthesis of s-100beta in the periinfarct area precedes delayed infarct expansion. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002;22(6):711-22.
92. Schmidt R, Schmidt H, Fazekas F. Vascular risk factors in dementia. *J Neurol*. 2000;247(2):81-7.
93. Burgmann H, Hollenstein U, Maca T, Zedwitz-Liebenstein K, Thalhammer F, Koppensteiner R, Ehringer H, Graninger W. Increased serum laminin and angiogenin concentrations in patients with peripheral arterial occlusive disease. *J Clin Pathol*. 1996;49(6):508-10.
94. Silha JV, Krsek M, Sucharda P, Murphy LJ. Angiogenic factors are elevated in overweight and obese individuals *Int J Obes (Lond)*. 2005 Nov;29(11):1308-14.
95. Tello-Montoliu A, Marín F, Patel J, Roldán V, Mainar L, Vicente V, Sogorb F, Lip GY. Plasma angiogenin levels in acute coronary syndromes: implications for prognosis. *Eur Heart J*. 2007;28(24):3006-11.
96. Castellanos M, Serena J. Applicability of biomarkers in ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2007;24 Suppl 1:7-15.
97. Laskowitz DT, Kasner SE, Saver J, Remmel KS, Jauch EC; BRAIN Study Group. Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: the Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) study. *Stroke*. 2009;40(1):77-85.
98. Whiteley W, Tseng MC, Sandercock P. Blood biomarkers in the diagnosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke*. 2008;39(10):2902-9.
99. Jeong SY, Park SS, Koh EJ, Eun JP, Choi HY. Multimodal therapy for patients with acute ischemic stroke : outcomes and related prognostic factors. *J Korean Neurosurg Soc*. 2009;45(6):360-8.
100. Ding D, Lu CZ, Fu JH, Hong Z; China Ischemic Stroke Registry Study (CISRS) investigators. Association of antiplatelet therapy with lower risk of death and recurrent



cerebrovascular events after ischemic stroke--results from the China Ischemic Stroke Registry Study. *Circ J.* 2009;73(12):2342-7.

101. Barrett KM, Ding YH, Wagner DP, Kallmes DF, Johnston KC; ASAP Investigators. Change in diffusion-weighted imaging infarct volume predicts neurologic outcome at 90 days: results of the Acute Stroke Accurate Prediction (ASAP) trial serial imaging substudy.

*Stroke.* 2009;40(7):2422-7.

102. Mateen FJ, Nasser M, Spencer BR, Freeman WD, Shuaib A, Demaerschalk BM, Wijndicks EF. Outcomes of intravenous tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke in patients aged 90 years or older. *Mayo Clin Proc.* 2009;84(4):334-8.

103. Tong DC, Yenari MA, Albers GW, O'Brien M, Marks MP, Moseley ME. Correlation of perfusion- and diffusion-weighted MRI with NIHSS score in acute (<6.5 hour) ischemic stroke. *Neurology.* 1998;50(4):864-70.

104. Bhatia GS, Sosin MD, Patel JV, Grindulis KA, Khattak FH, Davis RC, Lip GY. Plasma indices of angiogenesis in rheumatoid disease: Relationship to cardiovascular risk factors and cardiac function. *Int J Cardiol.* 2009 Jan 28.

105. **MA Shu-bei<sup>1,2</sup>, SUN Wei<sup>3</sup>, LI X.** Expressions of angiogenin-1 mRNA and angiogenin-2 mRNA after focal cerebral ischemia in rat brain tissue. *Journal of Jilin University.* 2009-1.

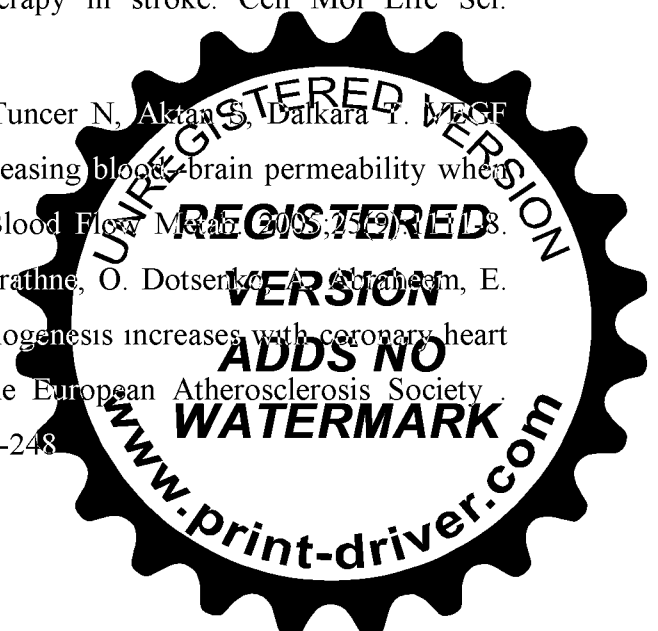
106. Ma J, Luo Y. Effects of electroacupuncture on expressions of angiogenesis factors and anti-angiogenesis factors in brain of experimental cerebral ischemic rats after reperfusion. *J Tradit Chin Med.* 2008;28(3):217-22.

107. Fischer S, Gerriets T, Wessels C, Walberer M, Kostin S, Stolz E, Zheleva K, Hocke A, Hippenstiel S, Preissner KT. Extracellular RNA mediates endothelial-cell permeability via vascular endothelial growth factor. *Blood.* 2007 ;1;110(7):2457-65.

108. Walberer M, Tschernatsch M, Fischer S, Ritschel N, Volk K, Friedrich C, Bachmann G, Mueller C, Kaps M, Nedelmann M, Blaes F, Preissner KT, Gerriets T. RNase therapy assessed by magnetic resonance imaging reduces cerebral edema and infarction size in acute stroke. *Curr Neurovasc Res.* 2009;6(1):12-9.



109. Cai W, Guzman R, Hsu AR, Wang H, Chen K, Sun G, Gera A, Choi R, Bliss T, He L, Li ZB, Maag AL, Hori N, Zhao H, Moseley M, Steinberg GK, Chen X. Positron emission tomography imaging of poststroke angiogenesis. *Stroke*. 2009;40(1):270-7.
110. Banai S, Shweiki D, Pinson A, Chandra M, Lazarovici G, Keshet E. Upregulation of vascular endothelial growth factor expression induced by myocardial ischemia: implications for coronary angiogenesis. *Cardiovasc Res*. 1994;28:1176-1179.
111. Hashimoto E, Ogita T, Nakaoka T, Matsuoka R, Takao A, Kira Y. Rapid induction of vascular endothelial growth factor expression by transient ischemia in the rat heart. *Am J Physiol*. 1994;267:H1948-H1954.
112. Cohen MV, Vernon J, Yaghdjian V, Hatcher VB. Longitudinal changes in myocardial fibroblast growth factor (FGF-2) activity following coronary artery ligation in the dog. *J Mol Cell Cardiol*. 1994;26:683-690.
113. Pepper MS. Manipulating angiogenesis. From basic science to the bedside. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(4):605-19.
114. Yanagisawa-Miwa A, Uchida Y, Nakamura F, Tomaru T, Kido H, Kamijo T, Sugimoto T, Kaji K, Utsuyama M, Kurashima C, Ito H. Salvage of infarcted myocardium by angiogenic action of basic fibroblast growth factor. *Science*. 1992;257:1401-140.
115. Uchida Y, Yanagisawa-Miwa A, Nakamura F, Yamada K, Tomaru T, Kimura K, Morita T. Angiogenic therapy of acute myocardial infarction by intrapericardial injection of basic fibroblast growth factor and heparin sulfate: an experimental study. *Am Heart J*. 1995;130:1182-1188.
116. Locatelli F, Bersano A, Ballabio E, Lanfranconi S, Papadimitriou D, Strazzer S, Bresolin N, Comi GP, Corti S. Stem cell therapy in stroke. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66(5):757-72.
117. Kaya D, Gürsoy-Ozdemir Y, Yemisci M, Tuncer N, Aktar S, Daikara T. VEGF protects brain against focal ischemia without increasing blood-brain permeability when administered intracerebroventricularly. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005;25(9):1411-18.
118. J. Chackathayil, N. Panja, J. Patel, A. Gunarathne, O. Dotsenko, A. Abrameem, E. Hughes and G. Lip. Angiogenin, a marker of angiogenesis increases with coronary heart disease severity . Abstracts 77<sup>th</sup> Congress of the European Atherosclerosis Society . *Atherosclerosis supplements* May 2008, Pages 247-248.



119. Patel JV, Abraheem A, Chackathayil J, Gunning M, Creamer J, Hughes EA, Lip GY. Circulating biomarkers of angiogenesis as indicators of left ventricular systolic dysfunction amongst patients with coronary artery disease. *J Intern Med.* 2009;265(5):562-7.
120. Siebert J, Reiwer-Gostomska M, Babińska Z, Myśliwska J, Myśliwski A, Skopińska-Rózewska E, Sommer E, Skopiński P. Low serum angiogenin concentrations in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2007;30(12):3086-7.
121. Patel JV, Sosin M, Gunarathne A, Hussain I, Davis RC, Hughes EA, Lip GY. Elevated angiogenin levels in chronic heart failure. *Ann Med.* 2008;40(6):474-9.
122. Athyros VG, Kakafika AI, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Pleiotropic effects of statins--clinical evidence. *Curr Pharm Des.* 2009;15(5):479-89.
123. Wang CY, Liu PY, Liao JK. Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. *Trends Mol Med.* 2008;14(1):37-44.
124. Araújo FA, Rocha MA, Mendes JB, Andrade SP. Atorvastatin inhibits inflammatory angiogenesis in mice through down regulation of VEGF, TNF-alpha and TGF-beta1. *Biomed Pharmacother.* 2010;64(1):29-34.
125. Chen J, Zhang ZG, Li Y, Wang Y, Wang L, Jiang H, Zhang C, Lu M, Katakowski M, Feldkamp CS, Chopp M. Statins induce angiogenesis, neurogenesis, and synaptogenesis after stroke. *Ann Neurol.* 2003 Jun;53(6):743-51.
126. Izumi Y, Shiota M, Kusakabe H, Hikita Y, Nakao T, Nakamura Y, Muro T, Miura K, Yoshiyama M, Iwao H. Pravastatin accelerates ischemia-induced angiogenesis through AMP-activated protein kinase. *Hypertens Res.* 2009;32(8):675-9.
127. Patsulaia Ia, Trofimov S, Kobylansky E, Livshits G. Genetic and environmental determinants of circulating levels of angiogenin in community-based sample. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006;64(3):271-9.
130. Shimakura A, Kamanaka Y, Ikeda Y, Kondo K, Suzuki Y, Umemura K. Neutrophil elastase inhibition reduces cerebral ischemic damage in the middle cerebral artery occlusion. *Brain Res.* 2000 ;6,858(1):55-60.
131. Koutroubakis IE, Xidakis C, Karmiris K, Sfiridaki A, Kandidaki E, Koutroubaki EA. Serum angiogenin in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2004 Nov-Dec;49(11-12):1758-62.



132. Chiarelli F, Pomilio M, Mohn A, Tumini S, Verrotti A, Mezzetti A, Cipollone F, Wasniewska M, Morgese G, Spagnoli A. Serum angiogenin concentrations in young patients with diabetes mellitus. Eur J Clin Invest. 2002;32(2):110-4.



## 8. EKLER

### EK 1. HASTA BİLGİLENDİRME FORMU

#### Hastalığınızın adı nedir- sebepleri nelerdir?

Hastalığınız “ akut iskemik inme”-beyin hücrelerine yeterli kanın ulaşamayıp hücrelerin ölmesiyle beynin o bölümünün görev yapamamasıdır. Bu durum sıklıkla beyninize giden damarlarınızın boyunda veya beyin içinde seyrederken tıkanmasıyla ortaya çıkmaktadır. Beyin damarlarındaki tıkanıklık “ateroskleroz” yani damar sertliğinin zaman içinde ilerleyip bu damarları daraltması veya kalp içinde oluşan bir pıhtının hareket ederek beyin damarlarına ulaşmasıyla olabilir. (Kalp içindeki pıhtı genellikle kabin normal bir ritim-düzen içerisinde atmamasına bağlı olarak meydana gelir.) Daha nadir olarak daralmış damarlardaki kan akımının ani düşük tansiyon karşısında iyice azalarak beyne gerekli kanı sağlayamaması sebebiyle ortaya çıkabilir. Ayrıca hastalığınızın sebepleri ortaya çıktığı yaş grubuna göre değişebilir. Örneğin daha genç hastalarda “vaskülit”-yani damarlarda iltihabik değişiklik, kalp kapakçığında veya duvarlarında bozukluk, pıhtılaşmaya yatkınlık ve beyne giden damarların duvarlarındaki tabakaların birbirinden ayrılarak o damarı tıkaması (yani diseksiyonu) gibi sebepler ön planda düşünülür.

#### Tedavi yaklaşımları nelerdir?

Hastalığınızın şiddeti ve iyileşme süreci beyninizde görev yapamaz hale gelmiş hücrelerin oranı, genel sağlık durumunuz ve beyin damarlarınızın mevcut durumu ile bağlantılıdır. Doktorunuz tarafından yapılacak tedavi ; ön planda hastanızın solunum ve dolaşım gibi yaşamsal fonksiyonlarının düzenlenmesi ve hasarlı beyin bölgesine giden kan akımının yeniden sağlanması-tıkanıklığın ilerlemesinin önlenmesi amaçlı ilaç tedavisinden oluşmaktadır. Size başlanacak en uygun ilaca doktorlarınız hastalığınızın sebebi ve mevcut durumunuzu göz önünde bulundurarak karar verecektir. Akut iskemik inmede hastalık belirtilerinin başlamasından sonraki belli bir süre içinde başvurduğunda ve ilacın kullanım açısından uluslararası kabul edilmiş özelliklere uygun olduğu takdirde “tPA” isimli damar açıcı ilaç uygulanabilir. Bunun dışında hastanın durumu ve özelliklerine göre önleyici ve tedavi edici olarak asetilsalisilikasit (aspirin), klopidogrel ve kumadin gibi ilaçlar başlanacaktır. İnmeyi kolaylaştıran; diyabet(şeker), hipertansiyon (yüksek tansiyon) ve



hiperlipidemi (yüksek kolesterol) ve inme sonrasında ortaya çıkan nöbetler gibi hastalıklar için de ayrı tedaviler ve yaşam tarzı değişiklikleri uygulanacaktır. Hastanede ve taburculuğunuz sonrasında uygulanacak fizik tedavide hastalığınız sonucu ortaya çıkmış kas gücü kaybı ve dengesizlik gibi bulguların düzelmesine veya azalmasına büyük katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızın amacı, çalışmada sizden beklenenler, çalışmadan görebileceğiniz fayda ve zararlar nelerdir?

“Akut iskemik inmede anjiyojeninin akut ve kronik (3 aylık) nörolojik durum, lezyon volümü ve lipid profili ile ilişkisi” isimli bu çalışmada kanda yeni beyin damarı oluşumuna etki edebilecek çeşitli maddelerin düzeyi ölçülerek bunların hastalığınızın klinik seyrinde etkili olup olmadığının saptanması amaçlanmaktadır. Bu doğrultuda hastalığınızla ilgili yeni tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunulması hedeflenmektedir. Çalışma amacıyla size herhangi bir ilaç verilmeyecek, tamamen rutin olarak uygulanan inme tedavisi uygulanacaktır. Bu sebeple çalışmadan herhangi bir zarar görmeniz beklenmemektedir. Çalışmaya katılım tamamen gönüllülük usulüne dayandığından, katılmamaya karar vermeniz durumunda tedavinizde herhangi bir aksama olmayacaktır. Çalışmaya katılma kararı vermeniz durumunda ise istediğiniz anda bu karardan vazgeçme hakkınız saklıdır ve bu karar değişikliğiyle ilgili herhangi bir soru sorulmayacaktır. Çalışma içerisinde sizden beklenen taburculuğunuz sonrası ortalama 3 hafta ve 3 ay sonra yapılacak olan kontrollere gelmenizdir. Çalışma açısından bilgi edinmek ve irtibat kurmak için 0216-327 10 10/257 -266 numaralı telefonlardan Dr. Bahar Erbaş’a veya Prof. Dr. Sevinç Aktan’ a ulaşabilirsiniz.

Bu çalışma tamamen tıbbi amaçlı olup çalışmayı düzenleyen ve çalışmaya katılanların maddi bir karşılık sağlaması söz konusu değildir.



## HASTA ONAM FORMU

Projenin adı: “Akut iskemik inmede anjiyojeninin akut ve kronik (3 aylık) nörolojik durum, lezyon volümü ve lipid profili ile ilişkisi”

Çalışmaya katılan hastanın adı ve soyadı:

Telefon ve adres:

“Akut İskemik İnmede Anjiyojeninin Akut Ve Kronik (3 Aylık) Nörolojik Durum, Lezyon Volümü Ve Lipid Profili İle İlişkisi” isimli ve Mar-yç-2009-0120 protokol numaralı çalışmaya ait hasta bilgilendirme formunu okuduğumu, gerekli açıklamaların doktorum tarafından bana yapıldığını, gönüllü olarak bu çalışmaya katıldığımı beyan ederim.

İmza –Tarih:

Çalışmayı düzenleyen araştırmacının adı ve soyadı:

Telefon ve adres:

İmza –Tarih:

Onayın alınmasına başından sonuna kadar eşlik eden kişinin adı ve soyadı:

Telefon ve adres:

İmza –Tarih:



## EK 2. HASTA TAKİP FORMU

### (ÇALIŞMA GRUBU)

Hastanın adı-soyadı:

Tarih:

Yaşı: Cinsiyeti: tel:

Adres:

Protokol no:

Çalışma başlangıcı: Vizit 0

Semptomların başlangıç tarih ve saati:

Hastaneye başvuru tarih ve saati:

Hastaneye başvuru şikayeti:

İlk başvuru nörolojik muayene bulguları:

Ateş: TA:

Romatolojik hastalıklara ait belirti ve bulguların varlığı (artrit-artralji, malar raş, fotosensitivite, eritema nodosum, folikülit, livedo retiküleris, oral-genital aft, saç dökülmesi, üveit, kuru göz-ağız kuruluğu, topuk diken-i-topuk ağrısı , abortus ve tromboz hikayesi ESR ve CRP yüksekliği ):

İnfeksiyona ait belirti ve bulguların varlığı:

Malignite hikayesi veya maligniteye ait belirti ve bulguların varlığı:

DM: HT: HL:

İlk 72 saatteki NIHSS:

Hastanın TOAST sınıflamasına dahil olduğu inme tipi:

Kranyal MR daki lezyon hacmi:

İlk kan örneğinin semptom başlangıcından kaç saat sonra alındığı:

Anjiyojenin kan değeri:

Taburculuk NIHSS, mRS:

VİZİT- (3. AY)

Nörolojik muayene bulguları:

mRS ve Barthel değerler



### **EK 3. NIHSS İNME SKALASI**

#### **BİLİNÇ DÜZEYİ**

0 = Uyanık, tepkiler canlı

1 = Uykulu, minor stimulyasyonla uyandırılabilir, yanıt ya da tepki verebilir

2 = Yalnızca refleks motor veya otonom etkilere tepki verir veya tamamen tepkisizdir

#### **BİLİNÇ DÜZEYİ SORGUSU : Hastaya hangi ayda olduğumuz ve yaşı sorulur**

0 = Her ikisi de doğru

1 = Biri doğru

2 = Her ikisi de yanlış ya da yanıt veremiyor

#### **BİLİNÇ DÜZEYİ KOMUTLARI : Hastadan gözleri ve eli kapaması istenir**

0 = Her ikisi de doğru

1 = Biri doğru

2 = Her ikisi de yanlış ya da yanıt veremiyor

#### **EN İYİ DİL : Standart resimleri adlandırır**

0 = Normal

1 = Hafif ile orta derece arasında adlandırma hataları, kelime bulma hataları veya parafazi.

Sozlu veya ifadelerle anlatımda bozukluk

2 = Sessiz veya global afazik

#### **EN İYİ GÖRME : Eş zamanlı parmak hareketi ile her iki alanda görmeyi test edin**

0 = Normal

1 = Asimetri

2 = Tam hemianopi

3 = Kortikal korluk

#### **EN İYİ SABİT BAKIŞ : Ekstraokuler göz hareketleri**

0 = Normal

1 = Parsiyel bakış paralizisi

2 = Zorlu deviyasyon, total bakış paralizisi

#### **DİZARTRİ :**

0 = Normal

1 = Kelimelerin hafif ile orta derece arasında karıştırılması, anlaşılabilir



2 = Ciddi anlaşılmaz artikulasyon

**EN İYİ MOTOR KOL :** Hasta kolunu dışa doğru 90 derece gerginlikte tutar

0 = Kolu 90 derecede 10 saniye tutuyor

1 = Kolu 90 derecede 10 saniyeden az tutuyor

2 = Kolu 90 derecede tutamıyor, yer çekimini yenmekte zorlanıyor

3 = Kol düşüyor, yer çekimini yenemiyor

4 = Hic bir hareket yok, tam pleji

**EN İYİ MOTOR BACAK :** Hasta bacağına 30 derecede 5 saniye kaldırır

0 = Bacak 30 derece pozisyonunda 5 saniye tutulur

1 = Bacak 30 derece pozisyonunda 5 saniyenin altında tutuluyor

2 = Bacak 30 derece pozisyonunda tutulamıyor, yer çekimini yenmekte zorlanıyor

3 = Bacak yer çekimini yenemiyor

4 = Hic bir hareket yok

47

**EKSTREMİTE ATAKSİSİ :** Parmak-burun ve topuk-incik kemiği testi

0 = Yok

1 = Bir ekstremitede var

2 = İki ekstremitede var

**FASİYAL PARALİZİ**

0 = Normal

1 = Minimal

2 = Parsiyel

3 = Tam

**DUYUSAL**

0 = Duyu kaybı yok

1 = Orta derecede duyu kaybı var

2 = Ciddi veya tam duyu kaybı var

**İHMAL**

0 = Yok

1 = Gorsel, işitsel, dokunsal sondurme fenomeni

2 = Şiddetli ile total duyu kaybı arasında, dokunulduğunun farkında değil



#### **EK 4. MODİFİYE RANKİN SKALASI**

0 Hiç semptom yok.

1 Belirgin defisit yok, semptomlara rağmen hasta günlük aktivitelerini ve görevlerini yerine getirebiliyor.

2 Hafif defisit; geçmişte yaptığı bütün aktiviteleri yapamıyor ama yardım olmaksızın kendi işlerini yapabiliyor.

3 Orta derecede defisit; kısmen yardıma ihtiyacı var, ama kendi başına yardımsız yürüyebiliyor.

4 Ağır defisit; yardımsız yürüyemiyor ve yardımsız bedensel ihtiyaçlarını karşılayamıyor.

5 Çok ağır defisit; yatağa bağımlı, enkontinan ve sürekli hemşire bakımına ve dikkatine muhtaç.

6 Ölüm



## EK 5. BARTHEL İNDEKSİ

### Bağırsak Bakımı:

0= İnkontinan

5= Bazen kaçırma veya suppozituar koymak gibi yardıma ihtiyaç duyar

10= Kontinan

### Mesane Bakımı:

0= İnkontinan veya kateterli veya kontrol edemez

5= Bazen tuvalete yetişemez, altına kaçıtır

10= Kontinan veya toplayıcı araç varsa bunu rahatlıkla idare eder

### Kendine Bakım:

0= Kişisel bakımda yardıma ihtiyaç duyar

5= Yüzünü yıkar, saçını tarar, dişlerini fırçalar

### Tuvalet Kullanımı:

0= Bağımlı

5= Yardıma ihtiyaç duyar, ancak bazı hareketleri kendi yapabilir

10= Bağımsız (Oturup kalkma, giyinme, tuvalet kağıdını kullanma)

### Beslenme:

0= Yapamaz

5= Kesme ve yağ sürmede yardıma ihtiyaç duyar

10= Eğer yemek sağlanırsa bağımsız

### Tekerlekli Sandalye/ Yatak transferi:

0= Tamamen yatağa bağımlı

5= Oturabilir, ancak transfer için fazla yardım gerekir

10= Transfer için çok az yardım (Sözle veya fiziksel)

15= Bağımsız

### Mobilite:

0= Tekerlekli sandalyede oturabilir, ancak kullanamaz

5= Tekerlekli sandalyede köşeler dahil bağımsız

10= Bir kişinin yardımıyla yürüyebilir

15= Bağımsız ancak destek kullanır

### Merdiven İnip Çıkma:

0= Yapamaz

5= Yardıma ihtiyaç duyar (Sözel/ fiziksel)

10= Bağımsız inip, çıkabilir ancak destek kullanır

### Yıkama:

0= Yardıma ihtiyaç var

5= Bağımsız

### Giyinme:

0= Bağımlı

5= Yardıma ihtiyaç var yarısından fazlasını yapar

10= Bağımsız



