

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

İSKEMİK İNME HASTALARINDA
ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİNDE T786C VE G894T
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Vedat ÇİLİNGİR
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Temel TOMBUL

VAN-2010

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

İSKEMİK İNME HASTALARINDA
ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİNDE T786C VE G894T
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Vedat ÇİLİNGİR
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Temel TOMBUL

VAN-2010

ÖZET

İnme dünya toplumlarında en sık ölüm nedenlerinden biri, sakatlık ve özürlülük yapan hastalıklar arasında birinci nedendir. İskemik inme etiyolojisinde genel kabul görmüş risk faktörleri yanında son yıllarda yapılan çalışmalar genetik faktörlerin de rolü olduğunu göstermektedir. İskemik inmeye yatkınlık oluşturduğu düşünülen çok sayıda genetik mutasyon tespit edilmiştir. Endotelyal nitrik oksit sentaz geni polimorfizmleri bu mutasyonlar arasında yer almaktadır.

Çalışmamızda endotelyal nitrik oksit gen polimorfizmleri ile iskemik inme alt grupları arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık ve eNOS G894T, eNOS T786C gen polimorfizmlerini araştırdık. Çalışma 60 akut iskemik inme hastası ile yapıldı. Yaptığımız çalışmada eNOS T786C polimorfizminin genotipik dağılımı TOAST sınıflamasına göre inme alt tiplerinde anlamlı farklılık gösterdi. Polimorfizme heterozigot veya homozigot sahip olan hastalarda geniş arter aterosklerozuna bağlı inmenin daha sık geliştiği tespit edildi. Çalışmamızda eNOS T786C polimorfizmi için mutant alel dominant kabul edildiğinde, istatistik anlamlılık derecesine yakın düzeyde olmak üzere bu aleli taşıyan hastalarda geniş arter aterosklerozuna bağlı inme riskinin artmış olduğu bulundu.

Muhtemel haplotiplerden 786C+894G haplotipini taşıyan hastalarda istatistik anlamlılık derecesine yakın düzeyde olmak üzere geniş arter aterosklerozuna bağlı inme riskinin arttığı tespit edildi.

Çalışmamızda eNOS T786C gen polimorfizmi iskemik inme alt gruplarından geniş arter aterosklerozu ile anlamlı derecede ilişkili bulundu. Bu sonuçlara bakıldığında geniş arter aterosklerozunun etiyolojisinde eNOS T786C polimorfizminin rol aldığı kanısına varıldı.

SUMMARY

Stroke is one of the most frequent causes of death and the leading disease that cause disability. There is increasing evidence for the potential pathophysiological role of genetic factors in ischemic stroke etiology. Many genetic mutations have been suspected for increasing ischemic stroke risk which includes endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms.

The aim of our study was to determine the relationship between eNOS G894T and eNOS T786C polymorphisms and ischemic stroke subgroups. The study population included 60 patients with ischemic stroke. Significant differences in the distribution of eNOS T786C polymorphism genotypes were seen between ischemic stroke subgroups according to TOAST classification.

Patients in the large artery atherosclerosis subgroup had the eNOS T786C polymorphism heterozygote or homozygote genotypes more frequently. Accepting a dominant model of inheritance for eNOS T786C polymorphism, although could not reach the statistical significance, an increased risk for large vessel disease when compared with other ischemic stroke subgroups were detected.

For the potential haplotypes the eNOS 786C+ eNOS 894G haplotype found to be associated with increased risk of large vessel atherosclerotic ischemic stroke while this finding could not reach the statistical significance.

In our study we found that the eNOS T786C gene polymorphism was associated with large vessel atherosclerosis subgroup. Finally with these results we emphasize that eNOS T786C gene polymorphism has pathophysiological role on large vessel atherosclerotic ischemic stroke.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
İNGİLİZCE ÖZET.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER.....	vi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 İnme.....	3
2.2 İskemik İnme.....	3
2.3 Vasküler Anatomi	4
2.4 Fizyopatoloji	9
2.5 İnme Tanısı	14
2.6 İskemik İnme Risk Faktörleri	17
2.7 İskemik İnme Sınıflaması	22
2.8 İskemik İnme Tedavisi	27
2.9 İnme Komplikasyonları	28
2.10 Nitrik Oksit	29
2.11 Polimeraz Zincir Reaksiyonu Tekniği	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
4. BULGULAR.....	51
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ	73
7.KAYNAKLAR	75
8. ÖZGEÇMİŞ	84

KISALTMALAR

GİA	: Geçici İskemik Atak
CCA	: Arteria Karotis Communis
MCA	: Arteria Cerebralis Media
ACA	: Arteria Cerebralis Anterior
PCA	: Arteria Cerebralis Posterior
ACoA	: Anterior Kommunikan Arter
VA	: Vertebral Arter
PİCA	: Posterior İnferior Serebellar Arter
BA	: Baziler Arter
AİCA	: Anterior İnferior Serebellar Arter
SKA	: Serebral Kan Akımı
NMDA	: N-Metil D-Aspartat
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NO	: Nitrik Oksit
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MR	: Manyetik Rezonans
DG	: Difüzyon görüntüleme
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	: Ribo nükleik asit
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
TOAST	: Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment
TACİ	: Total Anterior Sirkülasyon Enfarktı
PACİ	: Parsiyel Anterior Sirkülasyon Enfarktı
POCİ	: Posterior Sirkülasyon Enfarktı
LACİ	: Laküner Enfarkt
EKG	: Elektrokardiyografi

TEE	: Trans Özofajial Ekokardiyografi
TTE	: Transtorasik Ekokardiyografi
HT	: Hipertansiyon
DM	: Diyabetes Mellitus
OCSP	: Oxfordshire Community Stroke Project
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
IL-6	: İnterlökin 6
EDRF	: Endotelyal Kaynaklı Gevşetici Faktör
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat

ŞEKİLLER

Şekil 1: L-Arginin'den Nitrik Oksid sentez yolu.....	29
Şekil 2: Nitrik Oksit'in arteryal düz kas üzerine etkisi.....	31
Şekil 3: Nitrik Oksit'in etkileri	32
Şekil 4: Nitrik Oksit metabolizması.....	34
Şekil 5: eNOS geni ve çalışılan polimorfizm bölgeleri	41

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Beyin damarlarının çeşitli nedenlerle daralması veya tıkanması sonucu ortaya çıkan klinik tablolara iskemik beyin damar hastalıkları adı verilir. Damarda tam tıkanma oluşmuşsa buna serebral enfarkt denir. Tüm beyin damar hastalıklarının %85'ini iskemik olaylar oluşturur (Bradley WG, 2008).

Dünya Sağlık Örgütü tanımlamasına göre inme; vasküler nedenler dışında görünür bir neden olmaksızın, fokal serebral fonksiyon kaybına ait belirti ve bulguların hızla yerleşmesi ile karakterize klinik bir sendromdur. İskemik inme en sık inme nedeni olup, hemorajik inme, primer intraserebral kanama ve subaraknoid kanama olarak ikiye ayrılabilir (Krespi Y, Bahar SZ, 2004).

Toplumda önemli morbidite ve mortalite sebeplerinden olan iskemik inme önemli bir sağlık problemidir. İskemik inme için genel kabul görmüş hipertansiyon, hiperlipidemi, diabetes mellitus, atrial fibrilasyon, sigara tüketimi ve iskemik kalp hastalığı gibi klinik risk faktörleri yanında son yıllarda inme patofizyolojisinde genetik mutasyonların rolü olduğunu gösteren artan miktarda çalışma yayınlanmaktadır (Kumral E ve ark, 1998, Hassan A ve ark, 2000).

Nitrik oksit endotelial hücrelerde, nöronlarda, glia hücrelerinde ve makrofajlarda L-Arginin ve oksijenden nitrik oksit sentaz tarafından sentezlenen güçlü bir vazodilatör mediatördür.

Dokularda gaz mediatör olarak bulunur, serebral kan akımının otoregülasyonunda rol alır, platelet agregasyonunu monosit adezyonunu ve trombogenesisi vasküler düz kas hücresi proliferasyonunu inhibe eder (Freedman JE ve ark, 2008).

Bu özellikleri nedeni ile endotelial Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) genindeki mutasyonların iskemik strok oluşumuna neden olabileceği düşünülmekte ve buna yönelik araştırmalar yapılmaktadır. (Willmot M ve ark, 2005)

eNOS geninde sık rastlanan iki mutasyon eNOS geninin promotör bölgesinde yer alan T786C tek nükleotid polimorfizimi ve Exon 7'de 894 üncü nükleotid pozisyonunda G - T konversiyonudur her iki mutasyonu iskemik inme ve alt tipleri ile ilişkili bulan çalışmalar mevcuttur (Marsden PA ve ark, 1993).

Bu çalışmada akut iskemik inme nedeni ile başvuran hastalarda eNOS T786C ve eNOS G894T polimorfizmlerinin dağılımını, bu polimorfizmlerin inme alt tipleri, nörolojik inmenin şiddeti ve diğer klinik özellikler ile ilişkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnme

Dünya Sağlık Örgütü tanımlamasına göre inme; vasküler nedenler dışında görünür bir neden olmaksızın, fokal serebral fonksiyon kaybına ait belirti ve bulguların hızla yerleşmesi ile karakterize klinik bir sendromdur. (Krespi Y, Bahar S.Z, 2004).

2.2 İskemik İnme

Beyin damar hastalıkları en sık ölüm sebeplerinden ve morbidite yönünden de birinci sırada olan hastalıklar grubudur. İnme, kaynaklandığı damara göre arteriyel veya venöz olabilir. Arteriyel kaynaklı olan inme iskemik veya hemorajik özelliktedir. Batı toplumu ve Amerika'da tüm inme hastalarının %85 kadarı iskemik inmeli hastalardır. İskemik inmenin %5 kadarını geçici iskemik ataklar oluşturmaktadır (Chancellor AM ve ark, 1989).

İskemik İnmeler zaman içindeki klinik gelişimlerine göre:

- 1) Geçici iskemik atak (GİA)
 - 2) Reversibl iskemik nörolojik defisit
 - 3) İlerleyici inme (Progresif stroke)
 - 4) Yerleşmiş inme (Complete stroke)
- olarak sınıflandırılır.

GİA'lar çoğunlukla 2-15 dakika süreli, nadiren 24 saate kadar uzayabilen, vasküler kaynaklı, geçici fokal serebral fonksiyon bozukluklarıdır. Kalıcı nörolojik hasar bırakmaz. Klinik tablonun bir günden daha uzun sürede (genellikle 3 haftadan kısa) sekelsiz ya da tama yakın iyileşmesi durumuna Reversibl (geri dönebilen) iskemik nörolojik defisit, bu süreyi aşan ve genellikle değişmeden kalanlara “yerleşmiş inme”, hastanın gözlem altında tutulduğu sırada nörolojik defisit artması ya da yeni nörolojik belirtilerin eklenmesi durumuna ‘ilerleyici inme’ denir (Yaltkaya K, 1996).

Gelişmiş ülkelerde ortalama yaşam süresinin artması bu grup hastalıkların görülme sıklığını artırmıştır. Bu sebeple risk faktörlerinin tespiti, primer ve sekonder profilaksi, erken tanı, inme rehabilitasyon ünitelerinin devreye girmesi mortalite ve morbiditeyi azaltmada nöroloji pratiğinde önemli bir çalışma alanını oluşturmaktadır.

2.3. Vasküler Anatomi

2.3.1. Arteriyel dolaşım

Beyin arcus aorta ve dallarından ayrılan karotis ve vertebral arterler aracılığı ile beslenir. Oksipital lob dışında kalan serebral hemisferlerin kan akımını karotis interna dalları, infratentoriyel bölgede yer alan beyin sapı ve serebellum ile supratentoriyel yapılarından oksipital lob ile talamusun kan akımını vertebral arter ve dalları sağlar.

Supratentoriyel bölgeyi besleyen arteria carotis interna (ICA), a.carotis communis (CCA)'in dalıdır. A. carotis communis solda doğrudan arcus aorta'nın dalı olarak çıkar, sağ a.carotis communis ise a.anonyma'nın dalıdır.

2.3.2. İnternal karotid arter (ICA)

A.carotis communis servikal bölgede dal vermeden dördüncü servikal vertebra düzeyine kadar yükseldikten sonra tyroid kıkırdağın üst sınırına yakın bölgede iki dala ayrılır. A.carotis eksterna ve arteria carotis interna dallarını verir. A. carotis interna servikal bölgede dal vermeden yükselerek kafa tabanında karotis kanalına girer. İntrakranial bölgede karotis kanalından çıktıktan sonra orta kafa çukurundaki duramateri delerek kavernöz sinüsün içine girer. Arter daha sonra kavernöz sinüsü oluşturan dura yaprağını delerek subaraknoid bölgeye ulaşır.

Subaraknoid aralıkta uç dallarına ayrılmadan önceki parçasına “supraklinoid segment“ denir (Bahar S.Z, 2004). İnternal karotid arter, beyin yüzeyine optik kiazmanın lateralinde çıkar ve iki terminal dala ayrılır. Bunlar anterior serebral arter ve orta serebral arterlerdir. İnternal karotid arter bu seyrini başlıca 4 segmentte tamamlar.

Bunlar;

1. Servikal segment: Ana karotid arterden karotid kanala girişine kadar olan segmenttir. Bu bölgede dal vermez.

2. Petrozal segment: Temporal kemiğin petrozal parçası içindeki segmenttir.

Bu bölgede;

- Karotikotimpanik arter
- Pterigoid arter dallarını verir.

3. Kavernöz segment: Kavernöz sinüs içindeki segmenttir. Bu sinüs içinde internal karotid arter, 3, 4, 5'in oftalmik ve maksiller dalları ve 6. kranial sinirlerle komşudur.

Bu bölgede;

- Hipofizeal arter
- Anterior meningeal arter
- Oftalmik arter dallarını verir.

4. Serebral (supraklinoid segment): Kavernöz sinüs çıkışından optik kiazmanın lateralinde, anterior serebral arter ve orta serebral arter dallarına ayrıldığı bifurkasyonuna kadar olan segmenttir.

Bu bölgede;

- Superior hipofizeal arter
- Posterir kommunikan arter
- Anterior koroidal arter dallarını verir.

2.3.3. Arteria serebri media (MCA)

Bu arter internal karotid arterin en büyük dalıdır. Anterior perforans substansın ventralinde horizontal ve laterale doğru bir seyir göstererek lateral (sylvian) fissüre girer ve burada dallara ayrılır. Bu arterin başlıca 4 segmenti vardır;

- **M1** (sfenoidal) segment: Sfenoid kanala paralel, posterior seyirlidir.
- **M2** (insular) segment: İnsulada seyreder.
- **M3** (opercular) segment: Frontal, parietal ve temporal operkularların üzerinde seyreder.
- **M4** (kortikal) segment: Lateral fissür içinde seyrederek frontal, parietal ve temporal lobların lateral yüzündeki kortekste yayılır.

Orta serebral arterin bu seyri boyunca verdiği santral (perforan) ve kortikal dalları vardır.

1. Santral (perforan dallar): Bu dallar orta serebral arterden ilk ayrılan dallardır.

Bunlar kaudat nukleus, putamen, internal kapsül, globus pallidus ve talamusun majör kısımlarının arteriyel dolaşımını sağlayan lentikülostriat arterlerdir.

2. Kortikal dallar;

- Anterior temporal arter: Sıklıkla posterior serebral arterin temporal dalları ile anastamoz yapar.

- Lateral orbitofrontal arter: Anterior serebral arterin frontopolar dalı ile anastomoz yapabilir.
- Asendan frontal arter
- Pre-rolandik (presantral) arter
- Rolandik (santral) arter
- Post-rolandik (anterior parietal) arter
- Posterior parietal arter
- Angular arter
- Posterior temporal arter

2.3.4. Anterior serebral arter (ACA)

ICA'dan optik kiazmanın lateralinde ayrılır ve optik sinirin dorsalinde seyrederek interhemisferik fissüre ulaşır. Bu arter hemisferin medial yüzünde korpus kallozumun genu'su etrafında seyrederek perikallosal arter olarak devam eder.

Perikallosal arterin dallarında, vertebrobaziller sistemden posterior serebral arterin dalları ile anastomoz yaparak ön ve arka dolaşım sistemi ilişkisi sağlar. Her iki anterior serebral arter interhemisferik bölgede anterior kommunikan arter ile bağlanırlar. Böylece sağ ve sol karotis sistemi arasında önemli bir ilişki sağlanmış olur. Anterior serebral arterin sulama alanı serebral hemisferlerin medial yüzünde parieto-okspital fissüre kadardır. Bu arterin majör santral ve kortikal dalları şunlardır.

1. Medial striat arter (heubner'in rekürren arter'i): Bu arter, anterior kommunikan artere çok yakın olarak (proksimalinde veya distalinde) 1-3 adet olarak ayrılır. Sulama alanları, subkortikal olarak internal kapsülün anterior bacağı ve genu'su, kısmen kaudat nukleus'un baş kısmı, globus pallidum ve rostral putamen, kortikal olarakta girus rektus ve orbitofrontal korteksin posterior kısımlarıdır.
2. Medial orbitofrontal arter: Anterior kommunikan arterin distalinden ayrılır. Sulama alanı, frontal lobun orbital girusları ve kısmen septal alandır.
3. Frontopolar arter: Sulama alanı, frontal polustur ve orjini korpus kallozum'un genu'su düzeyindedir.
4. Kallozomajinal arter: Anterior serebral arterin majör dalıdır. Parasantal lobule giden 'parasantal arter' ile sonlanır ve yukarı, arkaya seyri esnasında internal frontal dallarını

vererek süperior frontal girusun posterior kısmı ve frontal lobun medial yüzünde presantral girusa kadar arteriyel dolaşım sağlar.

5. Perikallosal arter: Korpus kallozum ile singulat girus arasındaki sulkusta seyreder. Anterior serebral arterin terminal dalıdır. Parietal lobdaki prekuneus girusunun arteriyel dolaşımını sağlayan pekuneal dalını verir ve sonra da hemisferin konvesitesini geçerek süperior parietal lobülün dolaşımını sağlar (Balkan S,2005).

2.3.5. Vertebrobaziller sistem

Bu sistem sağ ve sol subklavian arterlerden ayrılan vertebral arterler ve bunların birleşimi ile oluşan baziller arter ve dallarından oluşmuştur. Sistemden ayrılan dallar spinal kord, beyin sapı, serebellum, talamus, internal kapsül, bazal ganglia, oksipital korteks ve inferomezial temporal korteksin arteriyel dolanımını sağlarlar (Balkan S,2002).

2.3.5.1. Vertebral arter

Vertebral arter, subklavian arterden genellikle tiroservikal trunkus yanında nadiren de arkus aortadan çıkar. Üst altı servikal vertebranın transvers foraminaları içinde yukarı doğru seyreder, atlasın arkasına doğru kıvrım yaparak kranium boşluğuna foramen magnumdan girer ve medullanın ventrolateralinde seyreder. Her iki vertebral arter, ponsun anterior yüzü üzerine orta hatta bulunan baziller sulkusun kaudal ucunda birleşerek baziller arteri oluştururlar. Bu birleşmeden önce vertebral arter 3 dal verir;

- Posterior spinal arter: Medullanın ve spinal kordun posterior yüzünün dolaşımını sağlar.
- Anterior spinal arter: Medullanın piramidleri ve paramedian strüktürlerin ve spinal kordun 2/3 anterior kısmının dolaşımını sağlar.
- Posterior inferior serebellar arter: Medullanın dorsolateral yüzü, serebellumun inferior yüzü, 4. ventrikülün koroid pleksusu ve serebellar nukleusların dolaşımını sağlar.

2.3.5.2. Baziller arter

Ponsun ventral yüzünde kaudaldan başlar ve rostral uçta ikiye ayrılarak posterior serebral arterleri oluşturur. Baziller arterin kısa ve uzun sirkumferensiyel ve perforan dalları vardır.

Bunlar;

- Anterior inferior serebellar arter: Serebellumun anteroinferior yüzünün, brakium pontisin, restiform cismin, ponsun tegmentumu ve üst medullanın sulanmasını sağlar.
- Oditer arter: Fasial sinirin kök lifleri ve iç kulağın sulanmasını sağlar.
- Pontin arterler: Ponsun anterolateral ve posterolateral kısımlarının sulanmasını sağlar.
- Süperior serebellar arter: Serebellumun süperior yüzü, nukleus dentatusun bir kısmı, brakium pontis ve konjuktivum, üst ponsun tegmentumu ve inferior kollikusların sulanmasını sağlarlar.
- Posterior serebral arter: Kortikal dalları ile oksipital lob, temporal lobun inferomedial yüzü (temporal polus dışında) ve kaudal süperior parietal lobülün dolaşımını sağlar. Posterior serebral arterin posterior temporal ve internal oksipital olmak üzere başlıca iki dalı vardır.

1. Posterior temporal arter: Orta serebral arterin anterior temporal dalı ile anastamoz yapar ve sulama alanı oksipital temporal bölgeye kadar uzanır.

2. İnternal oksipital arter: Oksipital lobun medial yüzünün arteriyel dolaşımı sağlar. Posterior serebral arterin 2 adet perforan dalı vardır, bunlar talamogenikulat arter ve posterior koroidal arterlerdir. Serebral pedinkül, mamiller cisimler ve mesensefalonun dolaşımını sağlarlar. Ayrıca talamogenikulat arter, lateral genikulat cisim ve posterior talamusun dolaşımını sağlarken, posterir koroidal arter ise 3 ve 4. ventriküllerin koroid pleksusları, tektum ve talamusun dolaşımını sağlarlar.

2.3.5.3. Willis poligonu

Beyin kaidesinde sağ ve sol karotid sistemlerin hem birbirleri ile hem de vertebrobaziller sistemle anastamoz yapması ile oluşan poligondur. Bu poligonda anterior kommunikan arter, her iki anterior serebral arteri bağlarken, posterior kommunikan arter ise internal karotid arteri posterior serebral artere bağlar. Bu poligonu oluşturan arterlerden çıkan küçük damarlar beyin parankimi içine penetre olurlar, bunlara perforan arterler denir.

2.3.6. Arteriyel anastomotik bağlantılar

Beyinde arteriyel sirkülasyonda anastomotik bağlantılar vardır. Bu anastomozlar sayesinde, bir arterde stenoz veya oklüzyon olması halinde o arterin sulama alanında sabit kan akımı sağlanabilir. Ancak bu kollateral sirkülasyon kişiler arasında değişkendir. Yetersiz olabilir veya konjenital olarak olmayabilir. Beyinde başlıca 3 grup anastomotik bağlantı vardır.

1. İntrakranial anastomozlar: Esas olarak willis poligonunda ve ayrıca kortikal düzeyde serebellumda süperior, anterior-inferior ve posterior-inferior serebellar arterler arasında oluşur.

2. Ekstrakranial-intrakranial anastomozlar: İki gruptur;

- Eksternal karotid arter ile oftalmik arter arasındadır,
- Eksternal karotid arterin meningeal ve etmoidal dalları ile serebral arterlerin leptomeningeal dalları arasındadır.

3. Estrakranial anastomozlar: Servikalde vertebral ve eksternal karotid arterler arasındadır (Balkan S, 2005).

2.4. Fiziopatoloji

Bir dakikada 750 ml kan alan beyin, bu kanın 500 ml'sini karotid arterler, 250 ml'sini vertebrobaziler sistemden sağlamaktadır. Serebral iskemiye yol açan bir patolojik süreç sonunda beyin kan akımı 100 gr beyin dokusu için dakikada 20 mililitrenin altına inerse elektrofizyolojik sessizlik ortaya çıkar.

Beyin kan akımı 100 gr beyin dokusu için 10 ml/dak. olduğunda hücre içi harabiyeti başlar. Normal şartlarda hücre içinde bulunan potasyum iyonu ile ekstraselüler bölgede bulunan sodyum ve kalsiyum iyonları arasındaki dengeyi sağlayan iyon pompasının ihtiyacı olan enerji sağlanamaz hale gelir.

Yüksek enerjili fosfatların tükenip membran iyon pompasının iflas etmesi, K^+ 'un hücre dışına, Na^+ , Ca^{++} , Cl^- ve suyun hücre içine girmesine yol açarak membran depolarizasyonuna neden olur. ATP anaerob yolla üretilmeye başlanır. Buraya kadar meydana gelen olaylar geri dönüşümlü olup, kalıcı hasar meydana gelmeyebilir. ATP'nin anaerobik yolla üretilmesiyle laktat ve hidrojen iyonları birikmeye başlar. Bu iyonlar da serbest radikallerin oluşumunu başlatır. Anoksik depolarizasyona eksitator aminoasitlerin toksik düzeyde salınımı eşlik eder (Kumral K, 1993 Bahar S.Z, 2004).

İskemik bölgenin periferinde, kollaterallerce sağlanan rezidüel kan akımının olması, nöronların kısa bir süre için olsa da morfolojik ve biyokimyasal bütünlüğünü korur. Orta veya hafif derecede iskemik kalmış beyin dokusundaki nöronlar akut dönemde elektriksel olarak sessiz olmakla birlikte yapısal bütünlüklerini sürdürürler.

Bu bölgeye penumbra denir. Serebral kan akımı 7-17 ml/100 gr/dk arasındadır. Penumbra iskemik alanın, iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak enfarkta doğru ilerlediği dinamik bir süreçtir.

Penumbranın periferinde, serebral kan akımının normalin altında olduğu, ancak enfarkt tehlikesinin bulunmadığı alan benign oligeminin olduğu alan vardır. Doku perfüzyonundaki hafif düşüklükler genellikle tehlike yaratmazken, ani kan basıncı düşüklüğü gibi büyük hemodinamik yetersizlikler bu alan için risk oluşturabilir (Balkan S, 2004, Kutluk K, 2004).

Kan akımının ileri derecede azalmış olduğu penumbra bölgesi zaman içerisinde nekroza dönüşür. Bu dönüşümde rol oynayan önemli bir faktör hemodinamik bozukluklardır ve özellikle kan basıncındaki ufak oynamalar, otoregülasyonun bozulduğu, dolayısıyla bölgesel kan akımının perfüzyon basıncına bağımlı hale geldiği iskemik alanlarda, kan akımının fonksiyonel eşiğin altına düşmesine neden olur.

Doku perfüzyonunun en önemli belirleyicileri, serebral perfüzyon basıncı (sistolik ile diastolik kan basınçları arasındaki fark), kan viskozitesi ve ilgilenilen bölgelerdeki arteriollerin yarıçapıdır. Normalde, serebral damarlar perfüzyon basıncının azaldığı durumlarda vazodilatasyon mekanizması ile kan akımını sabit tutmaya çalışırlar (otoregülasyon). Ancak iskemik beyin bölgelerinde, otoregülasyon mekanizması hemen bozulur. Sonuç olarak, penumbra bölgesindeki kan akımı, sistemik kan basıncına ve kan viskozitesine bağımlı hale gelir. Kan basıncındaki azalma veya kan viskozitesindeki artış bölgesel kan akımında azalmaya ve penumbra dokusunun kaybedilmesine yol açar.

Ayrıca serebral iskemi sonrasında, birçok inflamatuvar aracı molekülün aktivitesinde artış olmaktadır. Damar içerisinde inflamatuvar hücre aktivasyonu, lökositlerin damar duvarına yapışmasına ve agregasyonuna neden olarak, kan akımının daha da azalmasına yol açabilirler. İskemik bölgelerde, eritrosit deformabilitesinin azalması ile yavaş akıma bağlı pıhtılaşma odaklarının ortaya çıkması sonucunda da mikrodolaşım bozulur.

Serebral iskemi fizyopatolojisinde yer alan serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu, eksitotoksisite ve aşırı kalsiyum yüklenmesi gibi mekanizmalar birbirleriyle karmaşık bir ilişki içindedir ve programlanmış hücre ölümü, nekroz gibi hücre ölüm mekanizmalarını tetiklerler. Nekrotik hücre ölümüne ek olarak programlanmış hücre ölümünün iskemideki nöron kaybı ile ilişkili olduğu artık bilinmektedir. Beyin yüksek oksidatif metabolizma ve yoğun glutamaterjik sinaptik aktivite nedeniyle diğer dokulara göre özellikle eksitotoksisiteye ve serbest radikal hasarına duyarlıdır. İskemide kan akımının tekrar sağlanmasından sonrada bu mekanizmalarla hücre hasarı oluşabilmektedir (reperfüzyon hasarı)(Yemişçi M ve ark, 2004).

2.4.1. İskemik hücre ölümü

Fokal iskemi oluştuğunda bazı hücreler eksitotoksik şişme, osmotik parçalanma ve nekroz ile hızla ölürken, bazılarında apoptotik mekanizmalarla daha yavaş ölmekte, diğerleri ise apoptoz ve nekroz kombinasyonu ile ölmektedir. Nöronlardaki nekrozun klasik morfolojik bulgusu, erken hücrel şişme, plazma ve nükleer membran bütünlüğünün kaybı ile en sonunda ortaya çıkan hücrel parçalanmadır. Apoptozda ise nükleer büzülme, kromatin öbeklenmesi, nükleer segmentasyon ve apoptotik cisimcikler görülmektedir. Mitokondri apoptoz ve nekroz arasında zedelenmenin şiddetine karar verilmesinde rol oynar.

Çok kısa süreli (10-20 dakika) iskemiden sonra dokuya kan sağlandığında nöronlar canlılıklarını başlangıçta kazansada izleyen günler içinde (yaklaşık 3 gün) yavaş yavaş ölürlar (gecikmiş hücre ölümü). Hücre ölüm fenotipi yaşa, hücre tipine, tetikleyen faktörlere ve dokunun o sırada bulunduğu koşullara göre belirgin olarak değişebilir (Yemişçi M ve ark, 2004).

2.4.2. Hücre ölümü mekanizmaları

2.4.2.1. Serbest radikaller

En dış yörüngesinde tek sayılı elektron içeren atom veya moleküllere serbest radikal denir. Serbest radikaller normal fizyolojik koşullarda hücre sinyal iletiminde, biyolojik olaylarda rol oynar, birçok hücrel enzim ve elektron taşıma sisteminde ara ürün olarak sınırlı miktarda oluşurlar. Oluşan serbest radikaller, normal fizyolojik koşullarda biyolojik korunma mekanizmaları ile ortamdan uzaklaştırılırlar. Süperoksit

dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerle zararsız hale getirilirler. Serbest radikallerin hücre hasarı oluşturabilmesi için aşırı miktarda oluşması veya detoksifikasyon mekanizmalarının yetersiz olması gereklidir. Oksijen serbest radikallerinden olan hidroksil radikali ve süperoksit iyonu aşırı reaktiftir ve nükleik asitlere, lipidlere, karbonhidratlara ve proteinlere bağlanarak onları zedeler.

Okside glutatyon ve endojen serbest radikal tutucu enzimler iskemi sırasında hızla azalır. Reperfüzyonda yeniden oksijen sağlanmasıyla serbest radikal oluşumu aşırı derecede artar. İskemide ve özellikle reperfüzyonda serbest radikal oluşumu kan-beyin bariyerinin bozulması yoluyla vazojenik ödem oluşmasına ve iskemik bölgeye enflamatuvar hücre girişine yol açar (Yemişçi M ve ark, 2004)

2.4.2.2. Ca sitotoksitesi

İskemi sırasında nöronlarda hücre içi serbest Ca düzeyinde hızlı bir artış olurken hücre dışı kalsiyum düzeyinde hızlı bir azalma olur. Hücre içinde kalsiyum hem NMDA reseptörünün iyon kanalı, hem voltaj kapılı kalsiyum kanalları, hemde asıl hücre içinde kalsiyum artışında sorumlu hücre içi depolardan kalsiyum salınımı ile artar. Hücre içinde artan kalsiyum lipazları, proteazları, endonukleazları, nitrik oksit oluşturan NOS enzimini aktif hale getirir ve serbest radikal oluşumuna neden olur. Serbest radikal oluşumu kalsiyum atılımını engelleyerek kısır bir döngü oluşturur.

2.4.2.3. Glutamat eksitotoksitesi

İskemi sırasında ekstraselüler glutamatın artışı NMDA ve non-NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılmasına neden olur. Bu durum hücre içine fazla Na, Cl ve su girişine, böylece akut dönemde hücrede hızlı bir şişmeye yol açar. Aşırı miktarda glutamata maruz kalınması durumunda NMDA reseptörü aracılı gecikmiş hücre ölümü ortaya çıkar. Hücre içine NMDA reseptörlerinden aşırı Ca girişi gerçekleşir. Ca, fosfolipaz A2, kalpain gibi enzimlerin aktivasyonuna ve serbest radikal oluşuma ve sonuçta gecikmiş hücre ölümüne yol açar.

2.4.2.4. Nitrik oksit

İskemiyi takip eden erken dönemde vasküler endotelden endotelial nitrik oksit sentaz enzimi aracılığı ile salınan nitrik oksit kan akımını artırarak koruyucu özellik gösterirken nöronal nitrik oksit sentaz tarafından üretilen nitrik oksit nörotoksik etki göstermektedir.

Yüksek konsantrasyondaki Nöronal tip Nitrik oksit sentetaz enzimini tarafında oluşturulan nitrik oksit ise nörotoksik bir döngüyü başlatır. İskemik dokuda NO'nin N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini etkileyerek ortaya çıkardığı aşırı miktarda glutamat'ın hücre ölümünde etkili olduğunu gösteren bulgular vardır. Ayrıca yüksek miktardaki nitrik oksit mitokondrial solunumu inhibe eder, glikolizi baskılar, hücre içi glutatyon seviyelerini azaltır, DNA nitrasyonu, deaminasyonu ve oksidasyonu yolu ile DNA yapısını zedeler ve sitotoksitesine neden olur. NO bu tip nörotoksitenin dışında, merkezi sinir sisteminde oksijen nörotoksitesine de kısmen aracılık etmektedir (Aladağ MA, 2000).

2.4.2.5. Enflamasyon

Lokal bir reaksiyon olan enflamasyon, hücrelerin ve sıvının intravasküler alandan dokuya geçerek koruma ve tamir görevi yaptıkları süreçtir. Serebral iske mi sonrasında, endotel lökosit adehezyon molekülü-1, hücreler arası adehezyon molekülü-1, vasküler hücre adezyon molekülü-1 ve birçok inflamatuvar aracılı moleküler (TNF-ALFA, IL-6) aktivitesinde artış olmaktadır. Damar içerisinde inflamatuvar hücre aktivasyonu, lökositlerin damar duvarına yapışmasına ve agregasyonuna neden olarak, kan akımının daha da azalmasına yol açar.

İskemik bölgelerde, eritrosit deformabilitesinin azalması ile yavaş akıma bağlı pıhtılaşma odalarının ortaya çıkması sonucunda mikrodolaşım bozulur. İnflamatuvar hücre aktivasyonlarının en önemli sonuçlarından birisi lizozomal enzimlerin ve serbest oksijen radikallerinin ortama salınmasıdır. Lizozomal enzimler, direkt doku harabiyetine yol açar ve hücre membranı yıkım ürünlerinden yeni serbest oksijen radikallerinin meydana gelmesine neden olur. Serbest oksijen radikalleri de kalıcı hasarın daha fazla büyümesine neden olur (Ay H, 2005)

2.5. İnme Tanısı

İnmeden şüphelenilen bir hasta ile karşılaşıldığında cevaplanması gereken ilk soru semptomların gerçekten vasküler kaynaklı olup olmadığıdır. İnme tanısında öykünün yeri çok önemlidir. Öykü alınırken semptomların başlangıç şekli ve seyri, hangi vücut parçalarının ve fonksiyonlarının etkilendiği, fokal-nonfokal semptomların ayırımı, vasküler orijin düşündüren negatif (motor, duyusal veya vizüel fonksiyon kaybı) semptomların büyük olasılıkla nonvasküler kaynaklı pozitif (istemsiz hareket, hallüsinasyon gibi) semptomlardan ayırt edilmesi, eşlik edebilecek semptomlar (baş ağrısı, epileptik nöbet, panik ve anksiyete, kusma, hıçkırık, bilinç bozukluğu, göğüs ağrısı, pulsatil tinnitus), varsa geçirilmiş inme ve geçici iskemik atak özellikleri, özellikle vasküler olmak üzere özgeçmiş ve soygeçmiş özellikleri (hipertansiyon, hiperlipidemi, diabetes mellitus, angina pectoris, myokard enfarktüsü, intermittant kladikasyo, arterit), alışkanlıklar (sigara, alkol, diyet, fizik aktivite, ilaçlar) belirlenmelidir. İnmelerin çoğunda semptomlar herhangi bir presipitan faktör olmaksızın aniden başlar.

Klinik olarak inme tanısı konduktan sonra ikinci adım inmenin patolojik tipini belirlemektir. Bu tanının konması için görüntüleme yöntemlerine başvurulur (Çoban O 2004). Son 30 yılda gelişen görüntüleme teknolojisi ile görüntüleme yöntemleri akut inmede sadece tanı aşamasında kullanılmamakta, yapılacak medikal veya girişimsel (endovasküler veya cerrahi) müdahaleler ile klinik araştırmalarada yön vermektedir.

Difüzyon ve perfüzyon görüntüleme gibi yeni manyetik rezonans görüntüleme tekniklerinin kullanılması ile serebral enfarkt tanısının daha erken ve kesin konmasının yanısıra, sadece enfarktın gelişeceği alan değil tüm iskemik risk alanındaki dokuyu belirlemek mümkün olmuştur. Manyetik rezonans anjiyografi ve bilgisayarlı tomografi anjiyografi tekniklerinin gelişmesi ile de serebral enfarkt nedenleri ortaya konulabilmektedir.

İlk 24 saate akut inmenin saptanmasına manyetik rezonans görüntüleme, bilgisayarlı tomografiye (BT) göre çok daha hassas olduğu gösterilmiş olmasına karşın BT halen hızlı, ucuz, invazif ve tüm hastalar için kolay uygulanabilir olduğundan primer tarama yöntemi olmaya devam etmektedir.

2.5. 1. Bilgisayarlı Tomografi (BT)

BT akut iskemik olayda çoğu kez ilk birkaç saatte normaldir ve bu dönemdeki çekim amacı intraserebral kanama olasılığını ekarte etmektir. Akut iskemik olay olduğunda BT de bu dönemde majör arteryel oklüzyon, erken parankimal ödem olup olmadığı değerlendirilir. Majör arterlerde asimetrik hiperdensite BT de erken bulgulardan biridir ve arterin emboli veya trombüsle tıkanması sonucu oluşur. Bu görünüm pıhtının lizisi ve damarın rekanalizasyonu sonucunda bir hafta içinde kaybolur. Bu görünüm daha çok orta serebral arter ve baziller arter için tanımlanmıştır.

BT’de parankimal değişikliklerin ne kadar erken saptanabileceği iskeminin süresi, şiddeti, etkilenen alan genişliği ve lokalizasyonuna göre değişiklik gösterir. Bazı durumlarda sitotoksik ödem inme başlangıcından bir saat içinde bile görünür hale gelebilirken vazojenik ödem sıklıkla inme başlangıcından 6 saat veya daha fazla süre geçmeden tespit edilemez. Ödem arttıkça BT’deki hipodansite belirginleşir. İskemik değişiklik ilerlediğinde sitotoksik ve vazojenik ödem gelişecektir, bu da dokunun hipodens görülmesine neden olur, geniş enfarktlarda kitle etkisi daha fazla olup sulkuslarda silinme ve ventriküllere bası bulgusu oluşturur.

2.5. 2. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG)

Akut inmede MRG’de en erken sinyal değişikliği sıklıkla gri cevherde olur; vasküler dağılım alanına uyan kortikal sinyal intensite değişikliği (T1 ağırlıklı serilerde hipo, T2 ağırlıklı serilerde hiperintens olmak üzere) ve giruslarda hafif şişme şeklinde kendini gösterebilir.

2.5. 3. Manyetik Rezonans-Difüzyon görüntüleme (DG)

Manyetik rezonans (MR) –Difüzyon görüntüleme (DG), su moleküllerinin mikroskobik rastgele hareketlerine hassas bir MRG tekniği olup dokuları su difüzyonu hızlarını esas alarak karakterize eder.

En önemli kullanım alanlarından biri serebral iskemik alanların değerlendirilmesidir. Henüz bilgi edinilemeyen akut inme'nin ilk birkaç saatinde bile var olan değişiklikleri gösterebilmektedir.

Serbest difüzyon gösteren su molekülleri daha sonra uygulanan gradient ile durağan dokular kadar refaze olmazlar. Sinyal kaybı en belirgin BOS'ta olup hipointens görünür. Sitotoksik ödem olan dokuda (örneğin enfarkt, travmatik hasar) sinyal kaybı en azdır çünkü su hareketi tamamen sınırlanmıştır. Dolayısı ile bu alanlar normal beyin dokusuna göre hiperintens görülürler. DG'de farklı gradient güçlerinin uygulanması ile (yani farklı b değerleri) 'Apparent Diffusion Coefficient' (ADC) haritaları elde edilir. Bu değerler sitotoksik ödem alanında azalmış olup, DG 'de düşük ADC değerleri olan alanlar (örneğin akut enfarkt alanları) hiperintens, ADC görüntülerin de ise hipointens olarak görülürler (Saatci I, 2005).

2.5. 4. Renkli Doppler

Transkranyal Doppler veya transkranyal renkli doppler inceleme ile öncelikle Willis poligonu olmak üzere intrakranyal damarlar araştırılabilir. Transtemporal akustik pencere arteria serebri media, anterior ve posteriorun incelenmesine olanak sağlar. Yine suboksipital yol ve foramen magnum aracılığı ile vertebral arterlerin PICA dalları, distal V4 segmentleri, baziler arterin proksimal ve bir ölçüde 1/3 orta segmentleri incelenebilir. Renkli Doppler inceleme ile beraber yapılabilen dupleks sonografik inceleme, darlığı ortaya koymanın yanı sıra darlığa yol açan aterosklerotik plağın yapısı ve yüzey özellikleri ile bu plağın yol açtığı proksimal ve distal hemodinamik değişiklikler hakkında önemli bilgiler verir. Ultrasonografik inceleme aterosklerotik plağın yapısının ayrıntılı bir şekilde incelenebilmesine olanak tanıyan önemli bir damar inceleme yöntemidir.

Karotis ultrasonografisi genç hastalarda olası bir karotis arter diseksiyonunun araştırılmasında da güvenilir bir yöntemdir. Tüm bu sayılan nedenlerle karotis ultrasonografik incelemelerinin, karotis sulama alanında iskemik inme ile başvuran bir hastada başvurulması gereken ilk inceleme olduğu söylenebilir. (Wardlaw JM ve ark, 2008).

2.6. İskemik İnme Risk Faktörleri

Bir etkene risk faktörü denebilmesi için, hastalıkla nedensel ilişkinin gösterilmiş olması gerekir (Kutluk K, 2004). Risk faktörleri ya nöronal doku elemanlarını, ya kan-beyin bariyerini veya vasküler sistem elemanları olan endotel, damar çapı, koagülasyon dengesi, fibrinolitik denge ve perfüzyon basıncındaki dengeyi etkileyerek inmeye yol açmaktadır (Özdemir G, 2004).

2.6.1. Değiştirilemez risk faktörleri

2.6.1.1. Genetik

İskemik inme etyolojisi multifaktöryeldir. Klasik herediter geçiş gösterilememişse de yakın zamanda yapılan çalışmalar kuvvetle genetik faktörlerin önemine dikkat çekmektedir. Monozigotik ikizlerde inme riski, dizigot ikizlere göre daha yüksektir. Yapılan çalışmalarda inmenin genetik temeli olmakla birlikte, tek bir “inme geni”nin sorumlu olmadığını ve çevresel faktörlerle ilişkinin önemli olduğunu göstermektedir. Serebrovasküler hastalıkların patolojisinin ve tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde kullanılan biyolojik çalışmalar DNA, RNA ve proteinler arasındaki ilişkilerin ve fonksiyonların araştırılması temeline dayanmaktadır. Her gen bir veya daha fazla protein için kod taşımakta ve fenotipi belirlemeye katkı sağlamaktadır. DNA yapısındaki varyasyonlar insanlar arasındaki fenotipik farklılıklara neden olmaktadır. Bu genomik değişikliklerin kimi zaman çok büyük farklılıklara sebep olduğu, kimi zaman da yalnızca etkilerinin görüldüğü bilinmektedir. Bireyler arasındaki hastalıklara karşı farklı yatkınlık durumlarının bazı genlerde ortaya çıkan varyasyonlardan kaynaklandığı bilinmektedir (Nussbaum ve ark 2005, Öztaş ve ark 2005).

2.6.1.2. Yaş

Yaş inme ile ilgili en önemli risk faktörüdür. İnme geçirenlerin yaklaşık %70'i 65 yaşın üzerindedir. İnme riski 55 yaşından sonra her dekatta hem erkek hemde kadınlarda iki kattan daha fazla artar. İnmenin etiyolojisi de yaşla değişir. 45 yaşın altında kardiyembolik inme sıklığında artış görülürken, 65 yaşından sonra aterosklerotik ve küçük arter oklüzyonuna bağlı inme daha sıktır. İnmede yaş, prognozu da etkiler (Sacco RL ve ark, 1997).

2.6.1.3.Cinsiyet

İnme insidans hızı erkeklerde kadınlardan %25 daha fazladır ve erkeklerde insidans 174/100.000, kadınlarda 122/100.000'dir. Ancak kadınların yaşam süresi erkeklerden uzun olduğu için, inme nedenli mutlak ölüm sayısı kadınlarda daha yüksektir.

2.6.1.4.Irk

Siyah ırkta inme insidansı daha yüksek olup 233/100.000'dir. Bu oran İspanyollarda 196/100.000, beyazlarda ise 93/100.000'dir (Bradley SJ, 2002). Siyah ırktaki bu yükseklikten, popülasyondaki hipertansiyon, obezite ve diyabetin fazla olması sorumlu tutulmuştur (Kutluk K, 2004).

2.6.2.Değiştirilebilir risk faktörleri

2.6.2.1. Hipertansiyon

Hipertansiyon toplumda prevalansı en yüksek olan, hem serebral enfarkt hemde intraserebral hemoraji için en önemli risk faktörüdür. Yaş, atrial fibrilasyon gibi diğer risk faktörleri ile etkileşimi ve kan basıncının düzeyi ile riskin artması nedeniyle, gerçek relatif risk değerinin belirlenmesi oldukça güçtür. Bununla birlikte, antihipertansif tedavinin inme riskini belirgin şekilde azalttığı ortaya konmuştur (Utku U,2005).

İnme riski, hipertansiyonu olmayanlarla karşılaştırıldığında hipertansiflerde yani kan basıncı 140/90 mmHg ve üzerinde olanlarda 3-4 kat, kan basıncı 130-139/85-89 mmHg arasında olan sınırdaki hipertansiflerde 1,5 kat artmıştır. Hipertansiyon servikal ve serebral büyük damarlarda ateroskleroz oluşumunu indükler. Arteriyel embolik ve hemodinamik tipte iskemik inmelere yol açar. Diğer taraftan hipertansiyon ile ilişkili koroner arter hastalıklarının kardiyak komplikasyonları (akut miyokard infarktusunu gibi) serebral büyük arterlerde hastalık olmaksızın kardiyolojik inmelere neden olabilir (Balkan S, 2004).

2.6.2.2. Diabetes mellitus, hiperinsülinemi ve glukoz intoleransı

Çeşitli çalışmalarda diyabetin, iskemik inme riskini 2-6 kat artırdığı gösterilmiştir. Çoğu çalışmada önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir. Bazı araştırmalarda diyabetin genç inmelerde rölatif bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Tuomilehto J ve ark, 1996). Kontrol hastalarıyla karşılaştırıldığında diyabetik hastalarda inme riski 10 kattan fazla artış göstermektedir (You RX ve ark, 1997).

Glukoz intoleransının ve serum insülin konsantrasyonunun inme riskini artırdığına ilişkin bazı çalışmalar mevcut olmakla birlikte, bu artış muhtemelen oldukça düşüktür.

2.6.2.3. Kalp hastalıkları

İskemik inmelerin yaklaşık %20'si kardiyak embolizme bağlıdır. Gençlerde ise, kriptojenik inmelerin %40'ında potansiyel kardiyak emboli kaynağı mevcuttur. Gençlerdeki önemli embolijenik kalp hastalıkları, atrial fibrilasyon ile birlikte veya yalnız olarak görülen mitral stenoz, kapak replasmanı yapılması ve bu hastalarda sık görülen infektif endokardit, tek başına veya interseptal anevrizma ile birlikte olan patent foramen ovale, kardiyak tümörler, mitral regurjitasyon veya atrial fibrilasyon ile birlikte olan mitral valv prolapsusu, Libman-Sack endokarditi, dilate kardiyomyopatilerdir.

Orta yaş ve üzerinde en sık görülen kardiyemboli sebebi myokard enfarktüsüdür. Myokard enfarktüsünden sonra inme gelişme riski ilk 2 hafta içerisinde yüksek olup ileri yaş ve ventriküler disfonksiyon riski artırmaktadır. İleri yaşta en önemli kardiyojenik emboli riski taşıyan hastalık nonvalvüler atrial fibrilasyondur.

2.6.2.4. Hiperlipidemi

Prevalansı 65 yaş üzerindeki kadınlarda %40'a kadar çıkan hiperlipidemi'nin, koroner arter hastalığı için önemli bir risk faktörü olduğu gösterilmekle birlikte, 450.000 kişiyi kapsayan 45 çalışmada, serum lipidleri ile inme arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (Utku U,2005). Plazmadaki temel lipidler; kolesterol, trigliseridler ve fosfolipidlerdir. Plazmada bunlar lipid-protein kompleksi halinde bulunur ve taşınırlar. Düşük (LDL) ve orta dansiteli lipoproteinlerle şilomikron kalıntılarının plazmada yüksek düzeyde bulunmasıyla birlikte yüksek dansiteli lipoproteinlerin (HDL) azalması aterosklerozda önemli bir risk faktörü olarak görülmektedir. HDL, LDL'nin hücre duvarına girişini engelleyerek koruyucu etki yapar. Statin grubu ilaçlarla yapılan çalışmalarda, koroner kalp hastalığının yanı sıra iskemik inme insidansında da önemli bir azalma sağlanabildiği gösterilmiştir (Çoban O, 2004).

2.6.2.5. Sigara

Sigara içilmesi, prevalansı oldukça yüksek olması (ortalama %25) nedeni ile önemli bir risk faktörüdür. Sigara içilmesi inme riskini yaklaşık 2 kat artırır. İçilen

miktar arttıkça risk de artmaktadır. Sigaranın bırakılması ile inme riski hızla azalır ve 2-4 yıl içinde normale yaklaşır.

2.6.2.6. Aseptomatik karotis stenozu

% 50'den fazla aseptomatik karotis stenozu, 65 yaş üzerindeki erkeklerde %7-10, kadınlarda %5-7'dir. Çeşitli çalışmalarda bu vakalarda yıllık ipsilateral inme riski %1-2 olarak bulunmuştur. Özellikle stabil darlıklara göre hızlı progresyon gösteren darlıklarda bu risk daha yüksektir.

2.6.2.7. Alkol kullanımı

Alkol hipertansiyonu indüklemekte, koagülasyon sistemini aktive etmekte ve trombosit agregasyonunu artırmaktadır. Serebral kan akımını azaltmaktadır. Yapılan bir çalışmada alkol kullanan ve hiç kullanmamış hastalar arasında her iki cinsiyette de iskemik inme bakımından bir fark bulunmamıştır. Ancak geçmişte alkol kullanmış hastalarda hiç kullanmamışlara göre inme riskinde artma olduğu görülmüştür (Djousse L ve ark, 2002). İskemik inmeyle ilişkili olarak, günlük 20-30 gr etil alkol alanlarda risk azalır. Hafif ve orta dereceli alkol kullanımının; yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol düzeyini artırdığı, platelet agregasyonunu azalttığı ve fibrinojen miktarını düşürdüğü ileri sürülmüştür (Kutluk K, 2004).

2.6.2.8. Obezite

Obezite; kan basıncında, glisemide ve aterojenik kan lipitlerinde artışa yol açabilir ve bazı çalışmalarda bağımsız olarak inme insidansı ile ilişkili bulunmuştur. Santral obezite (abdominal bölgede yağ toplanması) genel obeziteye göre aterojenik hastalıklar açısından daha önemli olabilir.

2.6.2.9. Orak hücreli anemi

Otozomal dominant geçişli bir hastalık olan orak hücreli aneminin prevalansı düşük (zencilerde % 0.25) olmakla birlikte rölatif riski 200-400'dür. Bu hastalarda 20 yaşına kadar inme prevalansı ise %11'dir. "Stroke Prevention Trial "(stop) çalışmasında sık kan tranfüzyonları uygulanan grupta, inme riskinin yılda %10'dan %1'e düştüğü gösterilmiştir (Utku U, 2005).

2.6.2.10. Oral kontraseptif kullanımı

Oral kontraseptiflerin inme riski, içeriklerindeki estradiol miktarı ile ilişkili olup, 50 mikrogramdan fazla estradiol içeren ilk nesil ilaçlarda bu risk yüksektir. Son zamanlarda kullanılan düşük estradiollü ve kombine preparatlar ile yapılan çalışmalarda inme riskinde hafif bir artış gözlenmiştir. Oral kontraseptiflerin inmeye yol açma mekanizmaları; antitrombin III aktivitesini artırmaları, serum antitrombin düzeyini azaltmaları, bazı koagülasyon faktörlerinin düzeyini artırmaları ve trombosit agregasyonunu değiştirmeleridir (Kemmeren JM ve ark, 2002). 35 yaşın üzerinde sigara içen, migren, hipertansiyonu bulunan ve ailede subaraknoid kanama öyküsü bulunan kadınlarda diğer kontraseptif yöntemler önerilmektedir.

2.6.2.11. Hiperhomosisteinemi

Yüksek homosistein düzeyinin, endotel disfonksiyonuna ve ateroskleroz gelişimine yol açması nedeniyle, koroner, periferik arter ve serebrovasküler hastalıklarda bağımsız bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Özdemir AO, 2004). Plazma homosistein düzeylerinin 15 mikromol/L üzerine çıkması ile aterosklerotik damar hastalığı riski artmaktadır. Kan homosistein düzeyi, genetik faktörler, B6, B12 vitaminleri ve folik asit alımı ile belirlenir. Homosistein metabolizmasında rol oynayan metilen tetrahidrofolat reduktaz geninin nokta mutasyonu ile enzim aktivitesi düşmekte ve plazma homosistein düzeyleri artmaktadır. Hiperhomosisteinemi varlığında B6, B12 ve folik asit kullanılmasıyla kan homosistein düzeyleri düşürülebilir. Ancak böyle bir girişimle iskemik inme ve miyokard infarktusu sıklığında azalma henüz gösterilmemiştir (Krespi Y, Bahar S.Z, 2004).

2.6.2.12. Migren

Migren ile birlikte iskemik inmenin birlikte görüldüğü CADASIL ve antifosfolipid sendromu gibi nadir hastalıklar dışında, migrenin iskemik inmede bir risk faktörü olup olmadığına yönelik yapılan çalışmalarda migrenin iskemik inme için bir risk faktörü olduğu ve auralı migrenlilerde bu oranın aurasız migrenlilere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Utku U, 2005).

2.6.2.13. Hiperkoagülabilité

Bu duruma yol açan trombofililer (protein C, S eksikliği, aktive protein C rezisansı, antitrombin 3 eksikliği, protrombin 20210 mutasyonu) öncelikle venöz

tomboza yol açmakla birlikte, iskemik inmelere de neden olabilirler, ancak diğer risk faktörleri elemine edildiğinde, gerçek risk değerleri oldukları kuşkuludur. Antifosfolipid antikor sendromu ile yapılan çalışmalarda bu sendromunda prevalansı ve inme riski tartışmalıdır.

2.7. İskemik İnme Sınıflaması

Özellikle tedavinin yarar ve zararı arasındaki denge, iskemik inme alt gruplarında ayrı özellikler taşımaktadır. Oxfordshire Community Stroke Project (OCSP) çalışmasında önerilmiş olan Bamford Klinik Klasifikasyonu'na göre inmeli olgular; total anterior dolaşım enfarktı (TACI), parsiyel anterior dolaşım enfarktı (PACI), posterior dolaşım enfarktı (POCI), laküner enfarkt (LACI) olmak üzere 4 ana grupta sınıflandırılmıştır. Bamford ve arkadaşlarının tanımladığı OCSP klinik sınıflaması ile henüz BT ve MRG normalken bile olgular klinik olarak değerlendirilebilmektedir.

Bu klinik sınıflama akut dönemde maksimum defisit bulguları göz önüne alınarak, görüntüleme özelliklerinden bağımsız olarak yapılır (Lindley RI ve ark,1993).

İskemik inme alt tipini belirlemek için en çok kullanılan sınıflamalardan biri, TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) sınıflamasıdır. Bu sınıflama başlıca etiyolojiye dayanıp, klinik özellikler ve yardımcı inceleme bulguları, hastanın hangi gruba sokulacağını belirler (Adams HP ve ark, 1993).

2.7.1. Bamford Klinik Sınıflaması

2.7.1.1. POCİ (Posterior Sirkülasyon Enfarktı)

Vertebrobaziller sistemin suladığı bulbus, pons, mesensefalon ve oksipital lobların etkilenimi sonucu oluşur. Wallenberg sendromu, sınırlı beyin sapı tutulumu, serebellar enfarkt, geniş beyin sapı tutulumu, baziller tepe sendromları, iyi tanımlanamayan posterior dolaşım sendromları bu grup içinde değerlendirilir.

2.7.1.2. TACİ (Total Anterior Sirkülasyon Enfarktı)

Arteria Carotis İnterna veya Arteria Serebri Media'nın tıkanması sonucu oluşur. Yüksek kortikal fonksiyon bozukluğu (disfazi, diskalküli, vizyospasyal bozukluk), homonim hemianopsi ve motor-duysal defisit bulgularının bir arada olmasıdır.

2.7.1.3. PACİ (Parsiyel Anterior Sirkülasyon Enfarktı)

Arteria Serebri Medianın dallarından birinin veya arteria Serebri Anterior'un tıkanması sonucu oluşur. Üç TACİ komponentinden ikisi veya tek başına yüksek kortikal fonksiyon bozukluğu veya sınırlı kontralateral motor-duysal defisit bulunmasıdır.

2.7.1.4. LACİ (Laküner Enfarkt)

Derin penetran arterlerden sadece birinin tıkanmasına bağlı olarak oluşur. Pür motor, pür duysal inme, ataksik hemiparezi, dizartri-beceriksiz el sendromu bu grupta yer alır.

Bamford ve arkadaşları bu sınıflamanın prognoz hakkında da bilgi verdiğini ileri sürmüşlerdir. Yukarıda tanımlanmış klinik sınıflamalar arasında prognoz yönünden farklılıklar görülmüştür. TACİ grubu önemsenmeyecek derecede olumlu fonksiyonel sonuç şansına sahipken bu grupta mortalite ve ağır dizabilitenin yüksek olduğu saptanmıştır. Yine bu grupta, immobilizasyona bağlı gelişen komplikasyonlar sonucu ölümler, nörolojik sekellere bağlı gelişen ölümlerden iki kat daha fazla bulunmuştur. PACİ grubundaki hastalarda diğer gruplara göre erken rekürrens eğilimi gözlenmiştir. POCI grubundakilerde nüksün meydana gelme riski olaydan 1 yıl içinde daha yüksek olmasına rağmen olumlu fonksiyonel sonuç açısından en iyi şansa sahiptir. LACİ grubunda, enfarkt büyüklüğü sınırlı olmasına rağmen enfarktın lokalizasyonu nedeniyle ağır motor defisitli hastalar bulunabilir. İnme tedavisinin planlanmasına bu bulgular önemlidir ve alt gruplara spesifik olarak farklı tedaviler önerilmektedir (Bamford J, ve ark 1991)

2.7.2. İskemik inmelerin etiyolojik sınıflaması

Adams ve arkadaşları ilk iskemik inmeli olguları, klinik bulguları, görüntüleme özellikleri, ekokardiyografi, anjiyografi, doppler ultrasonografi ve diğer laboratuvar sonuçlarını değerlendirerek TOAST sınıflamasını (The Trial of Org 10172 in Acute Ischemic Stroke Treatment) geliştirmişlerdir. Etiyolojik sınıflama tedavi ve profilaksinin belirlenmesinde önemlidir (Adams HP ve ark, 1993).

TOAST sınıflaması, iskemik inmeyi 5 kategoriye ayırır:

1. Büyük arter ateroskleroza
2. Kardiyoembolizm
3. Küçük arter okluzyonu (lakün)
4. Belirlenebilen diğer nedenler
5. Etiyolojisi bilinmeyen inme

2.7.2.1. Geniş arter ateroskleroza

Bu iskemi alt grubu, özellikle ekstrakranial ve daha nadir olmak üzere intrakranial damarlarda ve bunların bifurkasyon bölgelerinde, yıllar içerisinde gelişen aterom plaklarının stabilizasyonlarının bozulmasıyla ortaya çıkan trombozlara bağlı olarak gelişir. Ortaya çıkan aterotrombotik lezyon, damarın stenozu veya oklüzyonuna yol açtığı gibi, hemodinamik mekanizmalarla, daha distal sınır bölgelerde (watershed area) enfarktlara da yol açabilir. Klinik tablo, tıkanan artere göre gelişip, lezyon kortekste, subkortekste, serebellumda ya da beyin sapında olabilir. Lezyon 1,5 santimetreden büyüktür. Potansiyel kardiyoemboli kaynağı yoktur. Muayenede karotis üfürümü ve distal nabızların alınmaması önemlidir.

Hastalarda geçici iskemik atak, koroner ya da periferik arter hastalığı öyküsü bulunabilir. Hastalara yapılan ekstrakraniyal karotid-vertebral arter doppler USG'si veya serebral anjiyografi normal ya da minimal değişiklik gösteriyorsa ateroskleroza bağlı iskemik inme tanısı konulamaz (Utku U, 2005).

2.7.2.2. Kardiyoembolizm

Klinik ve lokalizasyon özellikleriyle büyük damar ateroskleroza benzer. En ayırt edici fark, kardiyak bir emboli kaynağının gösterilmesidir. Kardiyak emboli kaynağı, yüksek riskli ve orta riskli grup olarak ikiye ayrılır. Ani başlangıç tipik olup, genellikle bilinç bozulur ve maksimum defisit beş dakika gibi kısa sürede gelişebilir. Semptomların çok hızlı gerilemesi de kardiyoembolik inme lehinedir. Hastaların özgeçmişinde, birden fazla arter alanını etkileyen geçici iskemik atak ya da inme öyküsü bulunabilir.

Görüntüleme yöntemleriyle farklı arter alanlarında multipl enfarktlar saptanabilir. Tıkanmış damarın erken rekanalizasyonu ve iskemik lezyonun hemorajik

transformasyonu görülebilir. Enfarkt dokusundaki hemoraji, peteşiyal kanamadan masif hematoma kadar değişik derecelerde olabilir.

2.7.2.2.1. TOAST Sınıflamasına Göre Kardiyoembolizm Risk Faktörleri

1. Yüksek Risk Faktörleri

Mekanik prostetik kapak
Atriyal fibrilasyonlu mitral stenoz
Atriyal fibrilasyon
Sol atriyal trombus
Yeni geçirilmiş miyokard infarktusu (<4 hafta)
Sol ventrikuler trombus
Hasta sinüs sendromu
Dilate kardiyomiyopati
Akinetik sol ventrikuler segment
Atriyal mixoma
İnfektif endokarditis

2. Orta Risk Faktörleri

Mitral valv prolapsusu
Mitral annulus kalsifikasyonu
Mitral stenoz
Atriyal septal anevrizma
Patent foramen ovale
Konjestif kalp yetmezliği
Hipokinetik sol ventrikuler segment
Miyokard infarktusu (>4 hafta, <6 ay) (Çoban O, 2004)

Tablo 1. Emboli kaynağı olabilecek kalp hastalıkları ve bunların tüm kardiyembolik enfarktler içindeki sıklıkları

	Görülme Sıklıkları
Nonvalvuler atrial fibrilasyon %45	%45
Akut miyokard enfarktüsü	%15
Geç dönem miyokard enfarktüsü (akinetik segment vb.)	%10
Romatizmal kalp hastalığı	%10
Protez kalp kapakçığı	%10
Diğer nedenler*	%10

*Diğer nedenler; (mitral kapakçık prolapsusu, mitral anulus kalsifikasyonu, nonbakteriyel trombotik endokardit, kalsifiye aort stenozu, kardiyak miksuma, paradoksal emboli, noniskemik dilate kardiyomyopati, infeksiy endokardit).

2.7.2.3. Küçük Arter Oklüzyonu

Genellikle, hipertansiyon veya diyabeti olan yaşlı hastalarda ortaya çıkan bu inme tipi, tüm iskemik inmelerin %25'ini oluşturur. Semptomları açıklayan tarafta %50'den daha fazla bir stenoz bulunmamalı ve kardiyak etiyoloji dışlanmalıdır. Radyolojik görüntülemelerde ya hiç lezyon görülmez ya da klinikle uyumlu 1,5 santimetreden daha küçük bir enfarkt saptanır. İnmeye yol açan laküner enfarkt, subkortikal yerleşimli olup, bir perforan arterin tıkanması sonucu gelişir. Bazal ganglia, talamus, korona radiata, internal kapsül ve beyin sapı enfarktın görülebildiği bölgelerdir. Klasik laküner inme sendromlarından biri meydana gelebilir. Hastaların hipertansiyonu ve diabetes mellitusu bulunması tanıyı destekler.

2.7.2.4. Belirlenen Diğer Nedenlere Bağlı İnme

Bu grupta, santral sinir sisteminin primer ve sekonder vaskülitleri, CADASIL ve serebral amiloid anjiopati gibi nadir küçük damar hastalıkları, konjenital damar hastalıkları, mitokondrial hastalıklar, travma ve diseksiyon ile kan hastalıkları yer alır ve tüm iskemik inmelerin %5'inden az yer tutarlar. Anjiyografi, leptomeningial biyopsi ve ayrıntılı hematolojik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik testlerle tanı konulur.

2.7.2.5. Nedeni Belirlenemeyen İnme

İskemik inme nedeninin bulunamadığı durumlardır. Ya ayrıntılı incelemeye rağmen etiyoloji saptanamamış ya da aynı olayı açıklayabilecek birden fazla neden söz konusudur. İncelemeleri eksik kalmış hastalar da bu gruba girer.

2.8. İskemik İnme Tedavisi

Beyni besleyen bir damarın tromboembolik mekanizmayla tıkanması ve bu damarın beslediği dokunun kan akımının kesintiye uğraması, iskemiye yol açan en önemli nedendir. Bu amaçla trombolitik, antikoagulan, antiplatelet tedaviler uygulanabilir.

Trombolitik tedavi doku plazminojen aktivatörü ile intravenöz yolla yapılır. Tedavi iskemik inmenin ilk saatlerinde yapılırsa hastaların prognozlarında iyileşmeye yol açar. Trombolitik tedavinin amacı beyin kan akımını tekrar sağlamaktır. Böylece iskemik hasarın azaltılması hedeflenir. Ancak intrakranyal kanama, trombolitik tedavinin başlangıcından bu yana en önemli kısıtlayıcı etken olmuştur (Sarıbaş O, 2005). Meta-analizler akut iskemik inmede trombolitik tedavinin, kanama riski başta olmak üzere bütün yan etkilerine rağmen hayat kurtarıcı olduğunu bildirmişlerdir (Schellinger PD ve ark, 2004).

Akut iskemik inmede aspirin tedavisinin etkinliği gösterilmiştir. Asetil salisilik asit tedavisi herhangi bir kontrendikasyon olmadıkça inmenin ilk 48 saatinde BT ‘de hemorajik inme dışlandıktan sonra 160–300 mg dozunda uygulandığında küçük de olsa anlamlı bir yarar sağlamaktadır. Tedavi edilen hastalarda ilk haftalarda ölüm veya ölümcül olmayan inme sıklığı azalmaktadır. Birkaç hafta veya birkaç aylık bir izleme dönemi sonunda bu tedavi ile ölüm veya sakatlık riski azalmaktadır

Akut iskemik inmede cerrahi endikasyonlar çok sınırlıdır. Geniş serebellar enfarktılar beyin sapına basıya yol açarak ölüme yol açabilir. Bu tip enfarktlarda arka çukur dekompresyon cerrahisi hayat kurtarıcıdır.

İskemik inme geçiren bir hastayı ikinci inmeden korumada aterotrombotik inme için antiplatelet tedavi, kardiyembolik inmede antikoagulan tedavi, ekstrakraniyal karotis hastalığında ise cerrahi tedavi yararı kanıtlanmış tedavi yöntemleridir.

Akut iskemik inmelerdeki tedavi yaklaşımlarından birini son yıllarda üzerinde çok fazla sayıda araştırma yapılan nöroprotektif yaklaşımlar oluşturmaktadır. Nöroprotektif tedavinin esas amacı yetersiz kan akımı sırasında oluşan doku hasarını minimuma indirmektir. Bu denenmiş veya denenmekte olan nöroprotektif ajanlar; glutamat antagonistleri, kalsiyum ve sodyum kanal antagonistleri, glisin antagonistleri, serbest

radikal oluşumuna yönelik tedaviler, membran stabilize edici ajanlar, antienflamatuar ajanlar ve statinlerdir (Kutluk K, 2004).

İskemik inmeden primer korumada ve hastayı yeni bir inmeden korumada en önemli faktörlerin başında vasküler risk faktörlerinden hastanın korunmasıdır. Değiştirilebilir risk faktörleri arasında hipertansiyon, hiperlipidemi, diabetes mellitus ve sigara gelmektedir ve bu risk faktörlerinden hastanın korunması primer ve sekonder korumada en önemli basamaktır. Genellikle ilk 24 saatte yatak istirahatına alınan hastalar sonraki 2-3 gün içinde tolere edebildikleri kadar mobilize edilmelidir. Mobilizasyon, hastada gelişebilecek komplikasyonların önlenmesinde de en önemli yollardan biridir (Krespi Y, Bahar S.Z, 2004).

2.9. İnme Komplikasyonları

İnmeli hastalarının %40'ı orta, %15-30'u ise ciddi derecede özürlü olarak hastaneden ayrılmaktadır (Roberts L, 1998).

İnme geçiren hastalarda klinik tablo ne kadar ağır derecede ise nörolojik ve diğer sistemlerle ilgili komplikasyon gelişme riski o derece yüksektir. Bu komplikasyonlar ve komorbid durumların hastanın acilde gözlenmeye başladığı dönemden başlayarak sürekli monitorize edilmesi ve tedavi edilmesi gerekmektedir. Nörolojik komplikasyonlar sıklıkla; baş ağrısı, beyin ödemi, hidrocefali, konvulziyon, hemorajik transformasyon, tekrarlayıcı iskemik inme, akut konfüzyonel durum şeklinde sıralanır. Solunum yolları ile ilgili olarak; hava yolu obstruksiyonu, hipoventilasyon, ateletazi, aspirasyon pnömonisi, kardiyovasküler sistemde; miyokard infarktusu, periferik iskemi, kardiyak aritmiler, pulmoner ödem, ortostatik hipotansiyon, derin ven trombozu, pulmoner emboli, metabolik ve gastrointestinal sistemde; stres ülserlerine bağlı gastrointestinal kanamalar, konstipasyon, gastroparezi, dehidratasyon, elektrolit imbalansı, beslenme bozukluğu, üriner sistemde; üriner sistem enfeksiyonları ve idrar inkontinansı, ortopedik ve dermatolojik olarak ise; bası yaraları, kontraktürler, spastisite, omuz subluksasyonu, düşme ve kırıklar sıklıkla gözlenebilecek komplikasyonlardır (Krespi Y, Bahar S.Z, 2004).

İnme sonrasında psikiyatrik olarak sık görülen komplikasyonlar ise depresyon ve anksiyete bozukluklarıdır (Togay I, 2005). Komplikasyon gelişimi aynı zamanda başarılı bir rehabilitasyonu da geciktirmektedir (Langhorne P ve ark, 2000).

2.10. Nitrik Oksit

2.10.1.Tanımı ve Tarihçesi

Nitrik oksid (NO) lipofilik, kimyasal olarak stabil, reseptör bağımsız, bilinen en düşük molekül ağırlıklı serbest radikal bir gazdır (Broderick JP ve ark, 1993). 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki endotelial kaynaklı gevşetici faktörü (EDRF) keşfetmişlerdir (Furchgott RF ve ark, 1980). Daha sonra Palmer ve arkadaşları EDRF' nin kimyasal yapısının NO olduğunu ortaya koymuşlardır (Palmer R M J ve ark, 1988). 1987 yılında Hibbs ve arkadaşları nitrik oksidin arginin aminoasidinden sentezlendiğini bulmuşlardır (Iadecola C ve ark, 1992).

2.10.2. Nitrik Oksit Sentezi ve Nitrik Oksit Sentaz

L-arginin aminoasidinden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentezlenen nitrik oksit, önemli bir endojen vazodilatatördür. NO sentezine aracı olan NOS enziminin, nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS), immünolojik nitrik oksit sentaz (iNOS), endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) olmak üzere üç formu vardır (Broderick JP ve ark, 1993).

NOS'lar L-arginin nitrik oksit dönüşümünü iki basamakta katalizler (Şekil 1).



CaM: Calmodulin

Şekil 1: L-Arginin'den Nitrik Oksid sentez yolu

I – Argininden hidroksiarginin oluşumu; bu basamakta kofaktör olarak NADPH, kalsiyum, kalmodilin ve tetrahidrobiopterin kullanılır. Bu basamağı karbonmonoksit bloke eder.

II – Hidroksi argininden nitrik oksid ve sitrüllin oluşumu; bu basamak oksidasyon işlemidir. NADPH, moleküler oksijen, kalsiyum, kalmodilin ve tetrahidrobiopterin

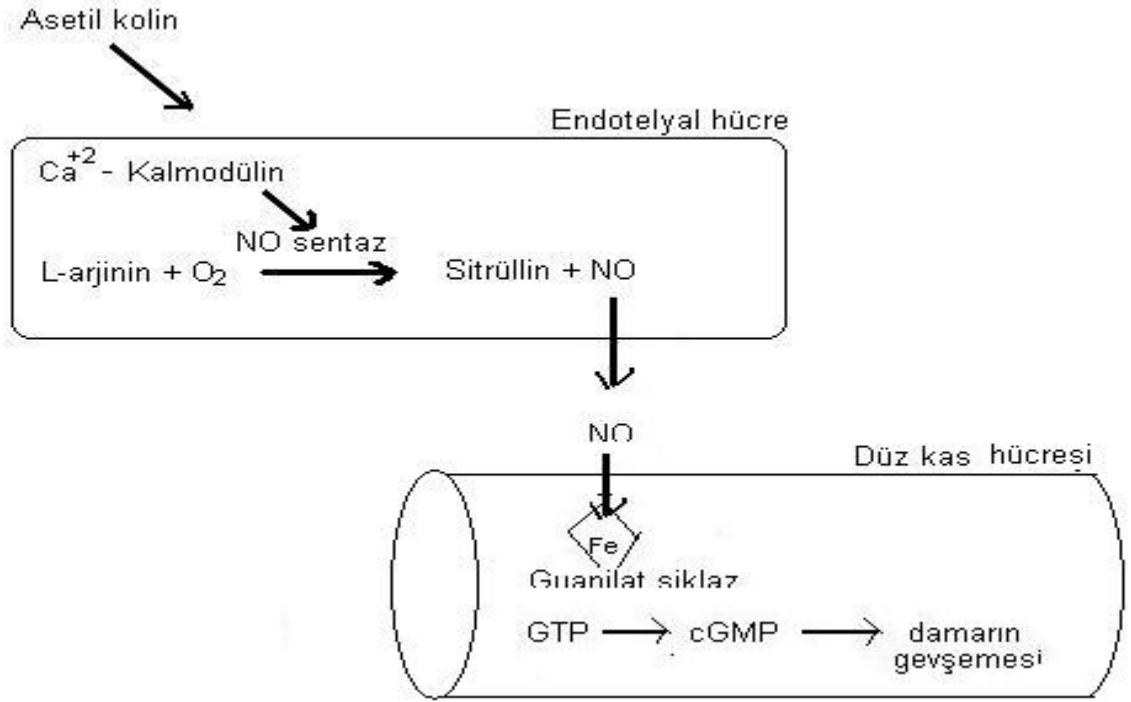
kullanılır. Karbonmonoksit ve arginin analogları bu basamakta blokaj yapar. Ayrıca üretilen NO, NOS'un hem prostatik grubuna bağlanarak, bu basamakta negatif feed back ile üretimi azaltarak kontrolü sağlar (Jesung Moon ve ark,2002).

Endotelial NOS ve nöronal NOS devamlı aktif halde iken, iNOS devamlı aktif olarak ortamda bulunmaz. İmmunolojik NOS toksik ya da enfeksiyöz uyarı ile aktif hale gelir. İmmunolojik NOS kalsiyum bağımlı değildir. Fakat eNOS ve nNOS kalsiyum bağımlıdır. İmmunolojik NOS uyarı sonucunda devamlı ve yüksek oranda NO sentezleyebilir. Böylece iNOS' un sitotoksik özelliği ortaya çıkar. eNOS ve nNOS ise küçük hacimde ve aralıklı olarak NO sentezler. Bunlar NO'in moleküler messenger fonksiyonuna uygun olarak yüksek kontrol altında çalışır (Jan M. Friedman, 1995).

Her üç tip NOS formu için enzim yıkım yolu ile kontrol mekanizması vardır. Bir diğer kontrol yolu ise L-arginin ve kalmodülin miktarının kullanım sonucunda azalmasıdır. NOS enzimi L-argininin tükenmesi durumunda üzerine aldığı iki elektronu nitrik oksid sentezinde değil, süperoksit anyon sentezinde kullanır. NOS, hem NO hem de süperoksit anyonu birlikte sentezleyebilir (Jan M. Friedman, 1995).

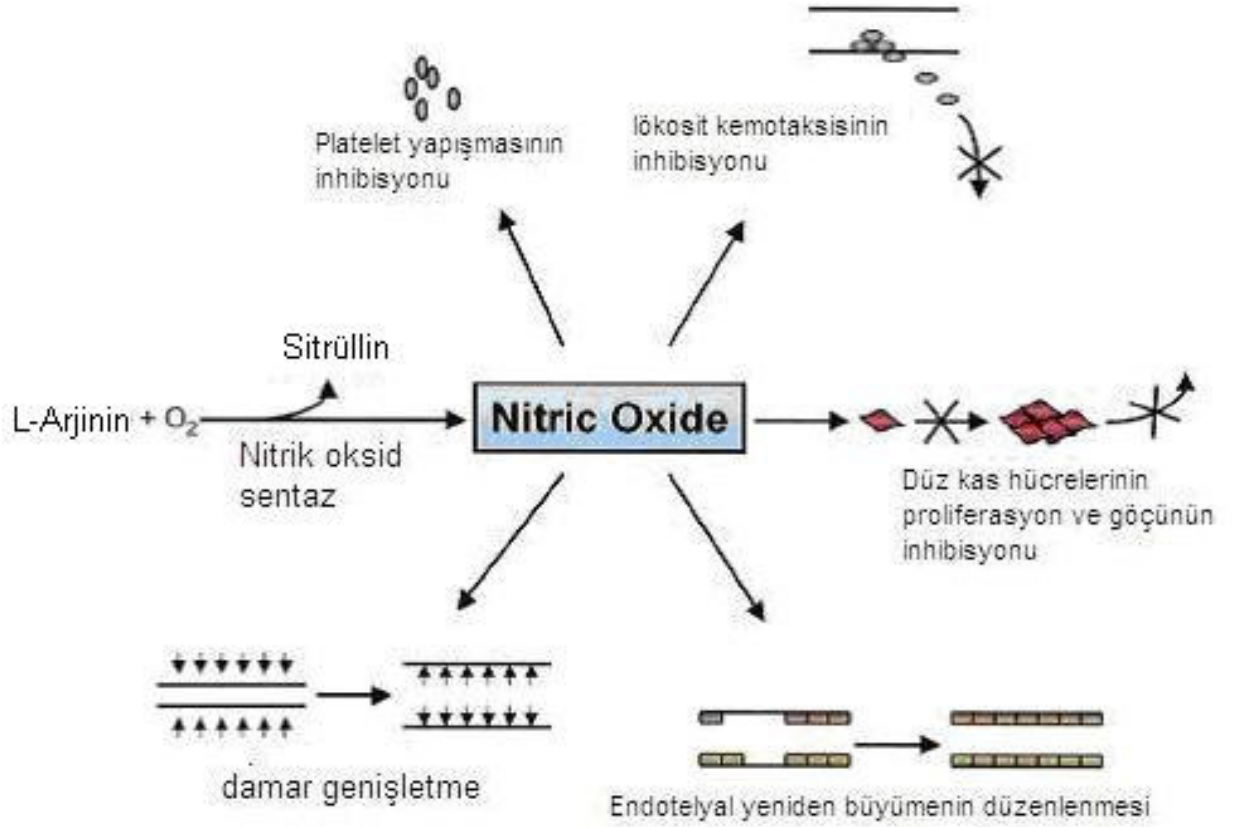
2.10.3. Nitrik Oksit'in Etki Mekanizması

Vasküler endotel damar duvarındaki kontraktiletiyi, sekreatuar fonksiyonları, mitojenik aktiviteyi ve damar lümenindeki hemostatik mekanizmayı kontrol eden dinamik bir endokrin organdır. Sorunsuz bir vasküler yapı için, vücudun en büyük endokrin organı olarak işlev gören endotelin damar duvarı ile dolaşım arasındaki hassas dengeleri koruma görevini uygun bir şekilde yerine getirmesi gerekmektedir. NO'nun ilk tanımlanan fonksiyonu vasküler düz kas hücreleri üzerindeki etkisidir (Bogdan C, 2001). NO, vasküler düz kas hücrelerinin direkt olarak gevşemesini sağlayarak kan damarlarının genişlemesine sebep olmaktadır (Şekil 2).



Sekil 2. NO'nun arteryal düz kas üzerine etkisi. Asetil kolin gibi bir mesajcı molekül endotel hücreindeki asetilkolin reseptörüne bağlanır ve kalsiyumu aktive eder. Kalsiyum kalmoduline bağlanarak arjinin ve oksijeni sitrüllin ve NO'ya dönüştüren endotelial NOS'u aktive eder. NO endotelial hücreden dışarı diffüze olur ve komşu düz kas hücresine geçer, hem grubundaki demire bağlanarak guanilat siklazı aktive eder. Sıklık guanizin monofosfat (cGMP) nin artışı düz kasın gevşemesine ve böylece vazodilatasyona sebep olur (Lowenstein ve ark 1994).

NO'nun tespit edilen vasküler sistemdeki fonksiyonları; vazomotor tonusun düzenlenmesi, hücre proliferasyonun kontrolü ile platelet aktivasyonu, adezyon ve agregasyonun inhibisyonu, miyokardial kasılmanın modülasyonu şeklinde özetlenebilir (**Sekil 3**) (Lowenstein ve ark 1994, Barbato ve Tzeng 2004).



Şekil 3. Nitrik Oksit'in etkileri (Barbato ve Tzeng 2004)

Asetilkolin molekülleri endotelial hücrelerde kendi reseptörüne bağlandığında intrasellüler kalsiyum (Ca) seviyesinin artışına sebep olmakta, Ca kalmadülin bağlanması gerçekleşmekte ve Ca kalmodülin kompleksi de eNOS'u aktive ederek NO salınımını sağlamaktadır.

NO lipofilik bir maddedir. Bu nedenle vasküler endotelden düz kas hücrelerine kolaylıkla difüze olarak, guanilat siklaz enziminin hem grubuna bağlanır. Bu enzimi aktif hale getirip, düz kas hücrelerinde siklik guanozin mono fosfat (cGMP) düzeyini yükseltir. Bu da protein kinaz G'yi aktive eder (Massberg S ve ark,1999). Protein kinaz G aktivasyon cGMP miktarının artmasına neden olur. cGMP miktarının artması vasküler düz kas hücrelerinde gevşemeye, trombosit aktivasyon, adezyon ve agregasyonunda inhibisyona sebep olur (Jan M. Friedman, 1995).

NO sentez ve salınımının artması trombüs büyümesini inhibe eder. Sağlıklı bireylerde NOS inhibisyonunun kanama zamanını uzattığı gösterilmiştir (Radomski MW, 1987).

NO sadece sistemik dolaşımın regölasyonunu sağlamakla kalmaz ayrıca beyin, kalp, karaciğer gibi organlarda lokal dolaşımı da regölö eder. Nonkolinerjik ve nonadrenerjik terminallerden salınan NO, vazodilatatör etkiyle kan basıncı ve akışını düzenler (Loscalzo J, 1995).

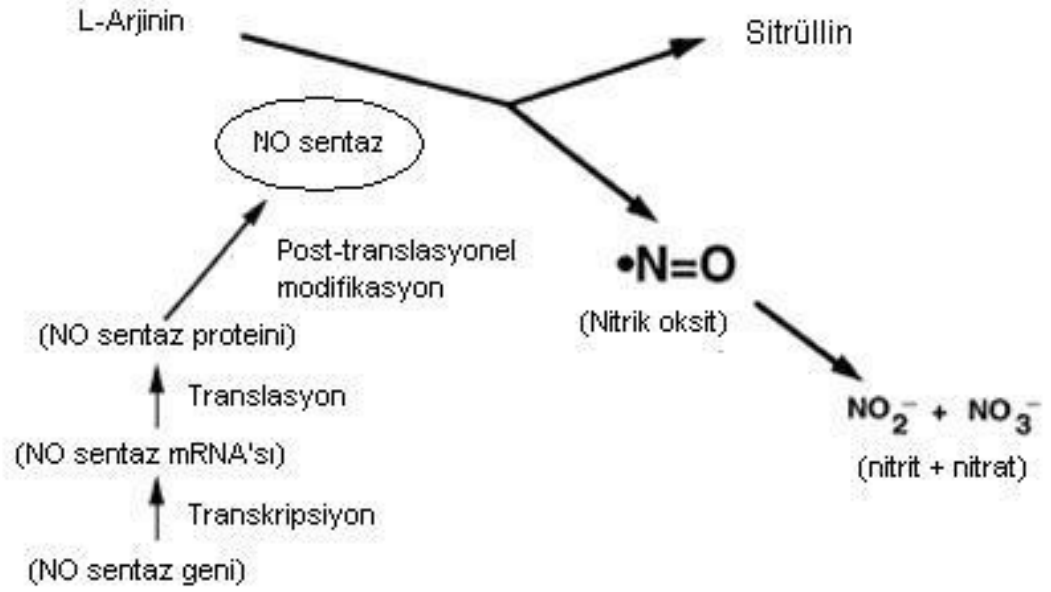
Yapılan inhibisyon denemelerinde endotel kaynaklı NOS'in inhibe edilmesi ile vazokonstriksiyon ve sonuçta hipertansiyon ortaya çıkmaktadır. NO'nun dolaşım sistemine salınımı otonomik sinir sistemi ile de kontrol edilmektedir (Moncada S, 1991).

NO sinir uçlarından salgılanır ve damarın dış yüzeyinden düz kas hücrelerine diffüze olarak vazorelaksiyona neden olur. Biyolojik ortamlarda yarılanma ömrünün 2-30 saniye olması sebebi ile daha fazla NO ürünü olmadıkça vazodilatasyon etkisi kendiliğinden kaybolmakta ve tekrar önceki konumuna dönmektedir (Lucas ve ark, 2000).

2.10.3. Nitrik oksitin yıkımı

NO, diğer serbest radikaller gibi çok kısa yarılanma süresine sahip olup 2-30 saniye içinde daha stabil bir yapı olan nitrata oksitlenir.

Düşük konsantrasyondaki NO, O₂'e nazaran hemoglobine 3000 kat fazla bir affiniteyle bağlanır. Hemoglobin oksi formunda ise NO'ı kısa sürede nitrata (NO₃) oksitleyerek etkisizleştirir. Özellikle dolaşımdaki oksihemoglobin NO için kuvvetli bir inhibitördür. NO, nitrite de (NO₂) okside olabilir ancak nitrit tekrar oksitlenerek kısa sürede nitrata dönüşüm gösterir (Massberg S ve ark, 1999).



Şekil 4. NO metabolizması. NO, L-argininden NOS geni tarafından sentezlenen NOS enzimleri ile üretilir ve sonuçta serbest radikal olan NO ve sitrüllin oluşur. Yarılanma ömrü kısadır ve NO₂ ve NO₃'e okside olur. NOS ekspresyonu ve aktivitesi transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel mekanizmalarla düzenlenir (Geller ve Billiar 1998).

2.10.8. Serebrovasküler hastalıklar ve genetik

Moleküler biyolojideki yeni gelişmeler, araştırmacıları hastalıkların etyolojisinin ve bu hastalıkların moleküler temelini araştırmaya yönlendirmiştir. Bir hastalığın genetik temelini ve moleküler mekanizmasının anlaşılması ile genetik bilginin çevresel faktörlerle olan etkileşim mekanizmalarını ortaya koyan epigenetik araştırmalar bu hastalıkların tedavisinde ve korunmada izlenecek yolların belirlenmesinde çok büyük öneme sahiptir.

Hastalıkların moleküler temelini bir bütün olarak değerlendirilmesi hastalığın ortaya çıkma mekanizmalarının tamamen anlaşılması, burada rol alan genler ve genlerdeki değişikliklerin ortaya konması ile mümkün olmaktadır. Bunun sonucu, doğru tanı konulması, optimum tedavi protokollerinin belirlenerek uygulanması ve hastalıktan korunma yolları gibi temel kavramların aydınlatılması gerekmektedir (Doevendans ve ark 2001, Hunter 2005).

İnsan genetiği araştırmalarında anahtar rol oynayan polimorfik yapılar genetik markırlar olarak da kullanılmakta ve genetik hastalıkların tanısı, taşıyıcılık tespiti, hastalıklara yatkınlık veya dirençlilik gibi bireyler arasında farklılıklar gösteren pek çok biyolojik süreçte önemli rol almaktadırlar (Housman 1995, Puğdu ve ark 2005, Gerritsen 2005).

eNOS geninde meydana gelen varyasyonların, eNOS enzimi ve eNOS enziminin etkilediği yollarda değişikliklere sebep olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Wang ve ark 2000, Gerritsen 2005, Puğdu ve ark 2005). eNOS genindeki mutasyonları inme gelişimine zemin hazırladığı düşünölmektedir.

2.10.4. eNOS geni ve serebral iskemik inme

İskemik serebrovasköler hastalıklar multifaktöryel hastalıklardır. İskemik inme sıklıkla ateroskleroz, hipertansiyon, kalp hastalığı, vaskölitler, sigara tüketimi ve diğer etyolojik faktörlere bağlı oluşur. Yakın zamanda endotelial disfonksiyon aracılığı ile genetik faktörlerin de iskemik inme etyolojisinde rol aldığı gösterilmiştir (Elbaz A ve ark, 1999)

Vasköler endotelin esas görevi trombosit ve diğer kan hücrelerinin adezyon ve agresyonunu engellemek, kan damarlarını yeterli akımı sağlayacak kadar dilate tutmaktır. Bunu sağlamak için sentezlediği maddelerden biri nitrik oksittir.

NO Serebral sirkölasyonun regölasyonunu da içeren vasköler hemostazın sağlanması ve sürdürölmesinde merkezi role sahiptir (Moncada S ve ark, 2002). Endotelial disfonksiyonun aterosklerozun başlangıç basamağı olduğu ve hayvan modellerinde enos inhibisyonunun aterogenesisi artırdığı gösterilmiştir (Cayatte AJ ve ark, 1994).

NOS inhibitörlerinin sistemik kullanımları küçük arter ve arteriollerde kan basıncını artırır. Bu durum damar endotelinde yapılan NO'in kan basıncını ve kan akımını düzenlemedeki rolüne işaret eder.

Endotelyal NO, aterogenezis ile ilgili genlerin ekspresyonu ile ilişkilidir. Bunlardan biri, NO kemoatraktan protein, CD11/CD18 gibi yüzey adezyon molekülleri, vasküler hücre adezyon molekülü-1 ve intraselüler adezyon molekülü-1'in ekspresyonunu azaltarak lökositlerin vasküler endotele adezyonunu ve vasküler duvara göçünü engellemektedir. NO aynı zamanda endotel geçirgenliğinin azalması ile lipoproteinlerin vasküler duvara bağlanmalarını azaltmakta ve LDL oksidasyonunu inhibe ederek anti-aterojenik özellikler de göstermektedir (Li ve Förstermann 2000).

NO'nun DNA sentezini, mitojenezini ve vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Li ve Förstermann 2000). Aynı zamanda platelet adezyonunun engellenmesi, düz kas hücrelerinin platelet kaynaklı büyüme faktörlerin etkilerinden korunmasını sağlayarak vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etmektedir. Bu şekilde, vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve göçlerinin inhibe edilmesi ile NO'nun aterojenezin geç fazlarında da koruma sağladığı düşünülmektedir.

Deney hayvanları ile yapılan çalışmada, eNOS aktivasyonunun inhibe edildiği tavşanlarda, ateroskleroz gelişimi olduğu görülmüştür (Li ve Förstermann 2000, Barbato ve Tzeng 2004).

Endotelya NO birçok koruyucu ekiyi ortaya çıkardığından eNOS genindeki polimorfik değişiklikler inme riskini artıran faktör olmaya adaydır (Adachi T ve ark, 1998).

2.10.5. İmmün sistemde NO

NO immün sistemde nonspesifik olarak tüm hücre veya patojenleri bozucu etki göstermektedir. Buna karşılık antikor veya sitotoksik T lenfositler; spesifik patojenleri veya infekte hücreleri ilk tanıyan ve onları tahrip edici ajanlar olarak görev almaktadırlar ve buna bağlı olarak NO fonksiyonlarının geniş bir hücre spektrumunda nonspesifik etkiler gösterdiği ve lenfositlerin kompleks ve spesifik etkileşimleri öncesinde görev alan birincil immün sistem olduğu belirtilmektedir (Geller ve Billiar 1998).

Deaminasyon yoluyla DNA üzerinde etki göstererek hedef hücre harabiyetine neden olabilmesi nedeniyle NO, kanser tedavisinde kullanılabilir. NO'nun otoimmün hastalıklarda, normal hücrelerin yapısını bozduğu da belirtilmektedir (Lucas ve ark 2000).

2.10.6. Sinir sisteminde NO

Beyindeki NO sentezi, belirli nöronal grupları içinde gerçekleşmekte ancak spesifik yolları bilinmemektedir. NO'nun özellikle serebellar nöronlarda bulunması sebebi ile koordinasyon ve denge sağlanmasında görev aldığı belirtilmektedir (Lowenstein ve ark 1994).

Salgılanan NO komşu nöronlara difüzyon yolu ile yayılmakta ve daha sonra perisinaptik nöronlarda bulunan glutamatın NMDA (n-metil-d-aspartat) reseptörüne bağlanmaktadır. Bu reseptör nöronal NOS aktivasyonu için gerekli olan kalmodüline bağlanan kalsiyum kanallarına sahiptir ve cGMP seviyelerinin değişimine neden olmaktadır. Böylece perisinaptik ve postsinaptik nöronlar arasında sinyal iletimi gerçekleşmektedir. NO'nun aşırı salınımının nörotoksik etki gösterdiği de bilinmektedir (Lowenstein ve ark 1994).

2.10.7. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri

NOS, ilk kez 1989'da tanımlanmış, 1991 ve 1994 yılları arasında bu enzimin üç izoformu izole edilmiş ve %51-57 arasında homoloji gösterdiği tespit edilmiştir. Bu enzimleri kodlayan genlerin farklı genler olduğu gösterilmiş ve klonlanmıştır. Daha sonraki yıllarda ise NOS enzimlerinin yapısı, fonksiyonu ve inhibisyonu ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. NOS enziminin izoformlarının, farklı hücre tiplerinde bulunduğu, farklı yerlerde lokalize olduğu, regülasyonları, katalitik özellikleri ve inhibitör duyarlılıklarının değişik olduğu bildirilmiştir (Li ve Förstermann 2000, Barbato ve Tzeng 2004).

NOS enziminin izoformları; konstitüf veya indüklenebilir olmaları, kalsiyum bağımlı veya bağımsız olmaları, hücresel lokalizasyonları, sitozolik veya partikül halde olmaları ve alt ünitelerinin büyüklükleri gibi çeşitli karakteristik özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır (Alderton ve ark 2001).

NOS enziminin izoformları nomenklatürde; ilk kez nöronal dokularda bulunan nöronal NOS (nNOS- Tip I, NOS-I ve NOS-1), pek çok hücre ve dokularda indüklenabilen NOS (iNOS-Tip II, NOS-II ve NOS- 2) ve ilk kez vasküler endotelial hücrelerde bulunan endotelial NOS (eNOS- Tip III, NOS-III ve NOS-3) olarak isimlendirilmiştir (Alderton ve ark 2001, Barbato ve Tzeng 2004) (Tablo 2).

Tablo 2. NOS enzimlerinin genel özellikleri (Geller ve Billiar 1998, Alderton ve ark 2001, Gerritsen 2004).

Enzim	Alternatif isimler	Hücre tipi	Kromozomal lokalizasyonu	Gen büyüklüğü ve yapısı
1. eNOS	a) Konstitif NOS endotelial tip b) ecNOS c) NOS3	a) endotelial hücreler	7q35-7q36	21 kb 26 ekzon 25 intron
2. nNOS	a) Konstitif NOS nöronal tip b) ncNOS c) NOS1 d) Beyin NOS	a) nöronlar, b) iskelet kas hücreleri, c) kardiyak kas hücreleri	12q24-12q24	160 kb 29 ekzon 28 intron
3. iNOS	a) indüklenabilir NOS b) NOS2 c) makrofaj NOS	a) makrofaj b) nötrofil, c) hepatosit	17q11.2	37 kb, 26 ekzon 25 intron

2.10.8. Polimorfizm

Genetik polimorfizm, bir popülasyonda farklı allellere bağlı olarak, genetik olarak belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotipin aynı anda görülmesi durumudur. Eğer bir lokustaki allel frekansı en az 0.01 ise ve bu alleli taşıyan heterozigotların frekansı %2'den büyükse bu gen lokusuna polimorfik denebilir. Proteinleri kodlayan insan gen lokuslarının en az 1/3'ünün polimorfik olduğu saptanmıştır (Levin B, 2000).

Eğer belli bir allelin varlığı ya da yokluğu herhangi bir avantaj ya da dezavantaj sağlamıyorsa, polimorfizm doğal olarak kabul edilir. Bir polimorfizm popülasyon için yararlı olabilir. Polimorfik bir popülasyonda genetik tek tip popülasyona kıyasla belirli çevre şartlarına ve değişikliklere daha iyi hazırlanmış bireylerin bulunma şansı vardır.

DNA'nın nükleotid baz dizilerindeki bireysel farklılık belirlenebilir. Eğer dizideki bir değişiklik kodonda da bir değişikliğe neden oluyorsa, ilgili bölgeye farklı bir amino asit katılacaktır. Bu, gen ürünü incelenmesi ile gösterilebilir (Passarge E, 2000).

Polimorfizm kimi zaman geçici olabilir, fakat kimi zamanda fenotipler kuşaklar boyu aynı sıklığı sürdürebilir; heterozigot üstünlüğünün de söz konusu olduğu bu durum dengeli polimorfizm olarak adlandırılır (Basaran N, 1999).

Polimorfizmlerin biyolojik sistemlerdeki etkileri açısından değişikliğin oluş şekli kadar genin hangi bölgesinde meydana geldiği de önemlidir. Promoter bölge, genin dışında bulunan ve kopyalanmanın başladığı kısa DNA dizisidir. Genelde promoter bölgedeki polimorfizmler mRNA kopyalanmasını etkileme, dolayısıyla enzimin düzeyini değiştirme potansiyeline sahiptir. Ekzon bölgeleri kodlanan kısımlardır.

Buradaki polimorfizmler protein yapısını etkileyerek enzim aktivitesini değiştirebilir. İntronlar genlerdeki kodlamayan bölgelerdir. Bu yüzden intronlardaki polimorfizmlerin promoter veya ekzon bölgesi varyantlarına göre daha az işlevsel role sahip olduğu düşünülür (Hingorani AD ve ark, 1999).

İnsan genomunda yer alan DNA polimorfizm örnekleri genel olarak 3 grupta değerlendirilebilir:

1. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism: RFLP)

DNA sarmalı özgül Restriksiyon Enzimi (RE) ile kesildiği zaman farklı uzunlukta fragmentler oluşur ve jel elektroforezinde gözlenir. Bu fragmentler RFLP olarak adlandırılır. RFLP'ler birçok hastalıkta kalıtsal marker olarak kullanılır. Eğer belirlenemeyen bir proteine ilişkin bir genin kalıtımı incelenmek isteniyor ve bu gene bağlı olan RFLP'ler bulunuyorsa, ailede bu genin kalıtımını belirlemek için bu markerlerden yararlanılır (Basaran N, 1999).

2. Basit Dizi Tekrarları (Simple Sequence Repeats: SSR)

SSR belirleyicileri VNTR (Variable Number of Tandem Repeats)'lere benzer, çünkü değişken sayıda nükleotidler birbiri ardına tekrarlanmıştır. DNA molekülünde yer alan bu basit dizi tekrarları çok küçük diziler olduğundan yalnızca PCR analizi ile tanımlanabilir (Akar N, 2000).

3. Değişken Sayıda Ardışık Dizi Polimorfizmleri (Variable Number of Tandem Repeats: VNTR)

VNTR lokuslarının en önemli özellikleri ardışık tekrar sayılarının ve tekrar birimlerindeki nükleotid dizilerinin değişim göstermesidir. Bu nedenle büyük oranda alelik varyasyon gösterirler. Bu varyasyonların eşit olmayan çapraz geçişler veya replikasyon kayması ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. VNTR lokuslarının analizleri ile ardışık tekrar kopyalarının sayısının çok değişken olduğu, birden yüzlerce keze kadar değişebileceği saptanmıştır. VNTR lokusları yüksek polimorfik özellikleri nedeniyle önemli genetik belirleyiciler olarak kabul edilirler. Bu nedenle çeşitli alanlarda yaygın olarak uygulanmaktadırlar (Akar N, 2000).

2.10.9. eNOS Geni ve Polimorfik Özellikleri

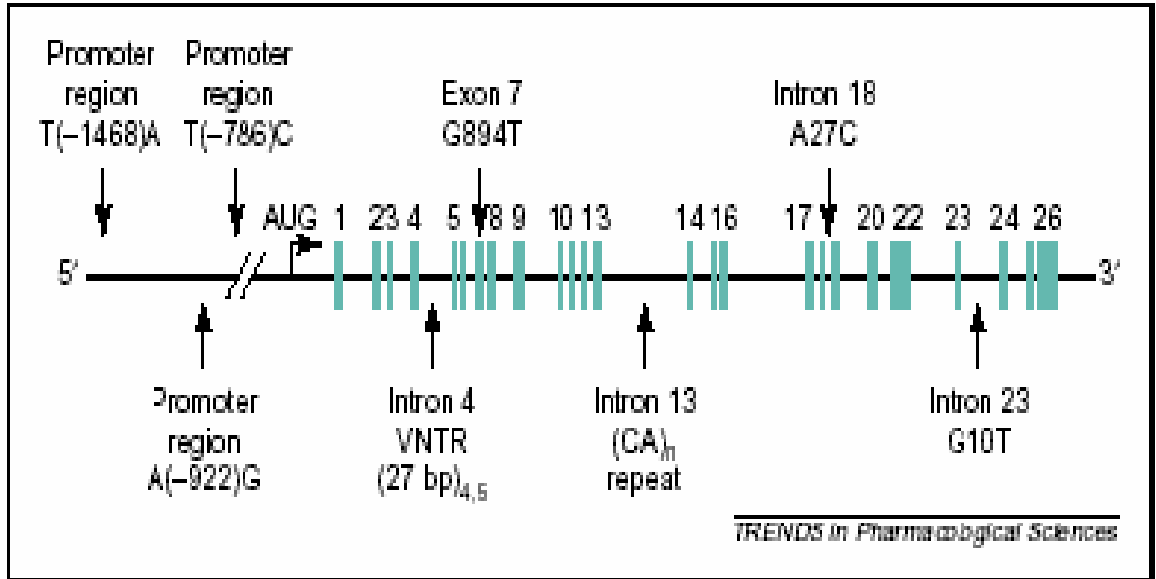
eNOS geni kromozom 7q35-36'da lokalizedir ve 21 kb'lık 26 exon içerir. Bu gende meydana gelebilecek bir varyasyon NOS enziminde fonksiyon değişikliklerine yol açar. eNOS geninin, yakın bir zamanda fonksiyonel olarak polimorfik olduğu gösterilmiştir.

DNA daki eNOS geni varyasyonları ile vasküler hastalıklar arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için yapılmış pek çok araştırma mevcuttur. Bugüne kadar iskemik inme, miyokard enfaktüsü, hipertansiyon koroner arter hastalığı ve renal hastalıklar gibi pek çok vasküler bozukluk eNOS geni polimorfizmi ile ilişkili bulunmuştur (Vini G, 2003 Tajouri L, 2004).

Bu gen için çeşitli polimorfizmler tanımlanmıştır bu polimorfizmlerin NOS sentezinde ve salınımında düzensizliğe, bunun sonucunda da endotel disfonksiyonuna zemin hazırlamaktadır (Vini G, 2003).

eNOS enzimindeki spesifik alellik varyasyonlar, eNOS enzim özelliklerini direkt olarak etkiler ya da eNOS gen yapısında doğrudan etkiler yapabilecek başka keşfedilmemiş varyasyonlarla indirekt olarak ilişkilendirilir (Suvara K, 2001).

Kabaca üç çeşit polimorfizm tanımlanmıştır; intron bölgesindekiler, ekson bölgesindekiler ve promotor bölgesindekiler (Şekil 5).



Şekil 5: eNOS geni ve çalışılan polimorfizm bölgeleri (Suvara K, 2001)

2.10.9.1. eNOS Geninde İntron Bölgesindeki Varyasyonlar

eNOS geninde tanımlanmış varyasyonların büyük çoğunluğu intronlar içindedir. İki tane tek nükleotid varyasyonu tanımlanmıştır; intron 18’de “Ala 27 Cys” ve intron 23 “Gly 10 Tyr”. Her ikisi de esansiyel hipertansiyonla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca eNOS geninin intron 13 ve intron 4 bölgelerinde iki ayrı VNTR polimorfizmi bulunmuştur. Bazı çalışmalarda bunların vasküler hastalıklarla ilişkileri bulunmuştur. İkinci bir VNTR polimorfizmi; intron 4’de, 5 (major alel) veya 4 (minör alel) kopyalı bir 27 bp tekrarı olması ile tanımlanmıştır (Stangl K, 2000).

2.10.9.2. Promotor Bölgesindeki Polimorfizimler

Nakayama ve arkadaşları eNOS geninin 5' flanking bölgesinde, bağlantılı 3 tane mutasyon olduğunu kanıtlamışlardır. Bunlar; “Thr 786 Cys”, “Ala 922 Gly”, “Thr 1468 Ala” varyasyonlarıdır. eNOS T786C polimorfizminin eNOS geninin promotor aktivitesinde belirgin düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (Nakayama M, 1999). İkinci bir tip alellik varyasyonuna promotor bölgede keşfedilmiştir. Bu variant tipinin, transkripsiyonu ve dolayısı ile enzim seviyelerini direkt olarak etkileme potansiyeli vardır.

2.10.9.3. Ekson 7 Tek Nükleotid Polimorfizmi

Üçüncü tip alellik varyasyon da eNOS için ekson 7’de tanımlanmıştır. Bu varyant proteinin primer yapısını değiştirir ve direkt olarak enzimin bir veya daha fazla fonksiyonel özelliğini değiştirme potansiyeli vardır.

Bu tek nükleotid polimorfizmi; pozisyon 894’te guanin’den timin’e, amino asid pozisyon 298’de glutamik asidin aspartik aside değişimiyle uyumludur. Glu298Asp polimorfizminin birçok hastalık ve durumla ilişkisini inceleyen çok sayıda çalışma vardır. Bu polimorfizmin azalmış NO üretimi ve değişmiş NO metabolizması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Metzger IF ve ark, 2007).

2.11. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Tekniği

Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction: PCR), dizisi bilinen iki bölge arasında uzanan bir DNA parçasını çoğaltmak için kullanılır. İki oligonükleotid, bir DNA polimeraz tarafından katalizlenen bir seri sentetik tepkimenin primerleri olarak kullanılır. Kalıp DNA önce iki oligonükleotidin ve dört deoksiribonükleotid trifosfatın (dNTP) varlığında ısıtılarak denatüre edilir.

Tepkime karışımı, daha sonra kalıp dizilerine oligonükleotid primerlerinin yapışmasına olanak veren bir sıcaklığa dönüştürülür. Yapışmış primerler uygun bir sıcaklığa çıkartılarak DNA polimeraz ile uzatılır. Denatürasyon, annealing (yapışma) ve DNA sentezi döngüsü sonradan birçok kez tekrarlanır. Amplifikasyonun bir döngüsünün ürünleri sonraki döngü için kalıp işlevi gördüğünden her bir başarılı döngü, temel olarak istenilen DNA ürününün miktarını ikiye katlar (Akar N, 2000).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Kasım 2009-Haziran 2010 arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniğinde akut iskemik inme nedeni ile yatarak tedavi gören hastalar dahil edildi. Hastaların tamamında beyin BT veya beyin MRI ile serebral enfarkt lokalizasyonu tespit edildi.

Her bir hastanın ayrıntılı anamnezi inmeden sonraki ilk 24 saati içinde alınıp; fizik ve nörolojik muayeneleri yapıldı. Yine ilk 24 saat içinde inme şiddeti Kanada Nörolojik Skala puanları hesaplanarak belirlendi. İnme etiyolojisi TOAST Sınıflamasına, inme lokalizasyonu ise OCSP-Bamford sınıflamasına göre belirlendi.

Her bir hastaya EKG çekildi ve kardiyoloji bölümünce TTE EKO yapıldı gerekli olduğunda TEE EKO yapıldı sonuçlar kardiyoloji doktorunca değerlendirilerek hastanın kalp hastalığının ve atrial fibrilasyonunun olup olmadığı belirlendi.

Bireylerin rutin biyokimyasal parametrelerden trigliserit, total kolesterol ve low-density lipoprotein (LDL) seviyeleri rutin biyokimyasal metodlarla belirlendi. B-mode doppler ultrason ile her iki CCA ve İCA arterler aterosklerotik plak ve darlık açısından değerlendirildi.

Hastalardan periferik kan örnekleri 10 ml' lik vakumlu steril K3-EDTA'lı tüplere alındı. K3-EDTA' lı kanlar alındıkları andan itibaren ilk 3-5 gün DNA' ları izole edilene kadar +4°C'de saklandı ve sonra biyokimya mutasyon ve risk analizi laboratuvarında çalışıldı.

3.1. DNA izolasyon protokolü

3.1.1. DNA izolasyonu

Bütün hastalardan genomik DNA izolasyonu periferik kan dokusundan yapıldı. EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinin oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Kullanılmadan önce örnekler alt-üst edilerek karıştırıldı.

İzlenen basamaklar:

1. 1,5 ml'lik tüplere 100µl kan örnekleri pipetlendi.
 2. Üzerlerine 1 ml Lysis çözeltisi eklendi, tüplerin kapakları kapatılarak birkaç kez alt-üst yapılarak karıştırıldı.
 3. 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
 4. Tüpler 5 dakika 3000 rpm'de santrifuj edildi.
 5. Üst fazda kalan supernetan, yaklaşık 1 ml, alındı ve atıldı.
 6. Tüplerin üzerine 1 ml Lysis çözeltisi eklendi.
 7. Tüpler 5 dakika 12000 rpm'de santrifuj edildi.
 8. Tüplerin dibinde yaklaşık 50 µl görünebilen pellet kalana kadar üst faz alındı ve atıldı.
 9. Genextract resin birkaç kez alt üst edilerek karıştırıldı.
 10. Kalan pelletler üzerine 200 µl Genextract resin eklendi. Tüpler kapatılarak 10 saniye boyunca vortekslendi.
 11. Tüpler 20 dakika 56 °C'de inkübe edildi. 10 saniye vortekslendi.
 12. Tüpler 10 dakika 98 °C'de inkübe edildi. 10 saniye vortekslendi.
 13. Tüpler 5 dakika 12000 rpm'de santrifuj edildi ve buz üzerine alındı.
- Üst fazda kalan sıvıda DNA bulunmaktadır. Üst faz yeni tüplere alındı ve saklandı.

3.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

eNOS geninin ilgili bölgelerinin çoklu amplifikasyonu için Vienna Lab CVD PCR amplifikasyon kiti kullanıldı. Kit, bir amplifikasyon karışımı (12 gen bölgesine ait biyotin işaretli primerler ve diğer amplifikasyon için gerekli bileşenleri içerir) ve Taq DNA polimeraz tamponundan oluşmaktadır.

PCR karışım, her hasta için etiketlenmiş 0,2 ml eppendorf tüp ortamı;

Amplifikasyon karışımı: 15µl

Taq DNA polimeraz seyreltici tapon: 4,8µl

Taq DNA polimeraz: 0,2µl

Kalıp DNA: 5µl

Toplam hacim: 25 µl şeklinde hazırlandı.

Multipleks PCR koşulları aşağıdaki gibi ayarlandı:

94°C'de —————→ 2 dk (ilk denaturasyon)

94°C'de —————→ 15 sn (denaturasyon)

58°C'de —————→ 30 sn (bağlanma)

72°C'de —————→ 30 sn (uzama)

72°C'de —————→ 3 dk (son uzama)

35 döngüden sonra elde edilen PCR ürünleri strip test tekniğinde değerlendirilmek üzere +4°C'de saklandı.

3.1.3. Agaroz Jel Elektroforezi

Hibridizasyon işleminden önce elde edilen PCR ürünleri (4 µl) %1'lik agaroz jel elektroforezinde başarılı amplifikasyonlar açısından değerlendirildi. Başarılı amplifikasyon elde edilen PCR ürünlerinden 10µl ürün revers hibridizasyon analiz için kullanıldı.

3.1.4. Revers-Hibridizasyon

Southern Blot analiz için Revers-hibridizasyon ProfiBlot T48 (Tecan) hibridizasyon cihazı kullanıldı. Revers-hibridizasyon, biyotin işaretli primerlerle çoklu (multiplex) polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında oluşan ürünlerin nitrosellüloz membranlar (stripler) üzerindeki kendi komplementer zincirlerine bağlanması ve bir konjugat-substrat reaksiyonu oluşturması esasına dayanan bir tekniktir.

Revers Hibridizasyon 3 temel basamaktan ibarettir;

1) Strip üzerindeki problemler ve PCR ürünlerinin bağlanması-hibridizasyon cihazın örnek yükleme bölgesine (trey) yüklenen 10µl PCR ürünü kitle birlikte sağlanan 10µl DNAT (NaOH içerikli bir denatürasyon solüsyonu) solüsyonu kullanılarak denatüre edildi.

Treye strip yerleştirildi. Denatüre PCR ürünü ve strip, cihazın sallanan platformunda, 45°C’de sıcaklıkta (yaklaşık) 1ml hibridizasyon tamponu ile 30 dk inkübe edilerek strip PCR ürünü hibridizasyonu sağlandı. Hibridizasyon solüsyonu aspire edilerek ortamdan uzaklaştırıldı.

2) Yıkama

Hibridizasyon sonrasında ortamda bulunması istenmeyen PCR ürünleri ve non-spesifik bağlanma yapan oligonükleotidler kuvvetli bir yıkayıcı olan yıkama solüsyonu A (1ml) ile 45°C’de 15 dakikalık üç yıkama periyodu ile ortamdan uzaklaştırıldı.

3) Renk oluşumu

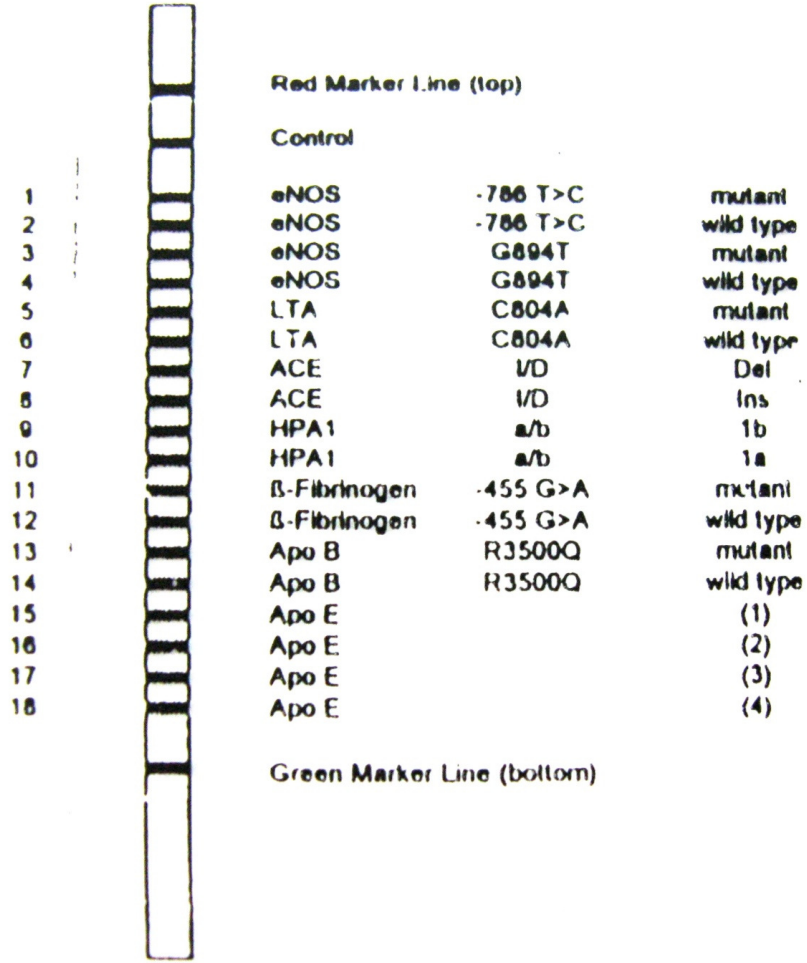
Stripler oda sıcaklığında 1ml konjugat solüsyonu ile 15 dk inkübe edilerek konjugat solüsyonu içinde bulunan streptavidin-alkalan fosfataz, biyotin işaretli hibrit DNA fragmentlerine bağlanması sağlandı.

Konjugat solüsyonunun artıkları daha yumuşak bir yıkama solüsyonu olan yıkama solüsyonu B ile 10, 5 ve 5 dakikalık üçer periyotda temizlendi.

Strip üzerindeki hibridize olmuş bantların görülür hale gelebilmesi için ortama 1ml alkalan fosfatazın subtratu olan nitro blue tetrazolium (NBT) ve 5-bromo-4-kloro-3-indolil fosfatdan (BCIP) oluşan renk geliştiricisi eklendi, oda sıcaklığında 15 dk inkübasyona tabi tutuldu. Strip son olarak distile su ile yıkandı, kâğıt havlu ile kurutulduktan sonra değerlendirme tablosuna özenle yerleştirildi.

3.1.5. Striplerin Değerlendirilmesi

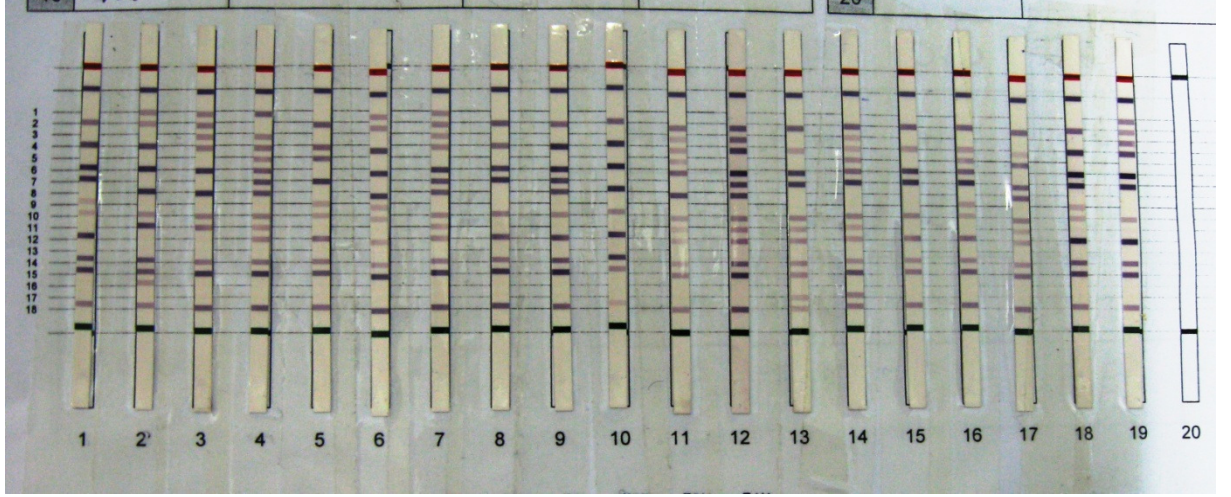
Her stripin üst tarafında kırmızı ve alt tarafında yeşil bir belirteç bulunmaktadır. Bunun dışında hibridizasyon sonrası striplerin değerlendirmeye alınabilmesi için kontrol bantının oluşmuş olması gerekmektedir. Kontrol bantları oluşmamış stripler değerlendirilmeye alınmazlar (**Resim 1**).



Resim 1. 8 farklı gende seçili mutasyonu gösteren stripin şematik gösterimi.

Hibridizasyon sonrası tüm doğal tip bantların mevcut olduğu ve mutant gen bölgelerine ait bantların bulunmadığı bir strip profili hastanın mutasyona sahip olmadığını gösterir.

Mutant gen bölgelerine ait bantlardan birinden sinyal alınıyorsa sinyal alınan mutasyonun yabancıl tip kodonuna bakılarak saptanan mutasyonun homozigot ya da heterozigot olma durumuna karar verilir. Mutasyonun doğal tip gen bölgesini gösteren bantın mevcut olması durumunda mutasyon heterozigot, mevcut olmaması durumunda ise homozigot olarak değerlendirilir (**Resim 2**).



Resim 2. Gen polimorfizmini araştırmak üzere kullanılan hastalara ait bazı stripler.

3.2. Bamford klinik sınıflandırması;

- 1) Total anterior sirkülasyon enfarktı (TACİ)
- 2) Parsiyel anterior sirkülasyon enfarktı (PACİ)
- 3) Posterior sirkülasyon enfarktı (POCİ)
- 4) Laküner enfarkt (LACİ)

Bamford sınıflaması ilk kez 1991 yılında OCSP (Oxfordshire Community Stroke Project) çalışmasında kullanılan bir sınıflama olup, temel bazı nörolojik bulgular değerlendirilerek (motor, duysal, kortikal bulgular, hemianopsi) enfarktın yerini ve genişliğini değerlendirerek alt tiplerini belirleme ve prognoz tahmini yapılmasında kullanılmıştır (Bamford J ve ark, 1991).

3.3. TOAST sınıflaması (Trial of Org 10172 in Acute İschemic Stroke Treatment)

- 1) Geniş arter ateroskleroza
- 2) Kardiyoembolizm
- 3) Laküner enfarkt
- 4) Diğer belirlenebilen etiyolojiler
- 5) Sebebi belirlenemeyenler (Adams HP ve ark, 1993)

3.4. Kanada Nörolojik Skalası:

Hastalık şiddeti Kanada Nörolojik Skalası (KNS) ile değerlendirildi. İnmeli hastalarda nörolojik fonksiyonları değerlendirmek için geliştirilmiş olan bu ölçek; bilinç düzeyi, oryantasyon, afazi ve motor gücün değerlendirilmesini içermektedir. Toplam skor 0 ile 11,5 arasında değişmekte olup yüksek skor daha iyi nörolojik performansı göstermektedir.

Kognitif durum		Skor
Bilinç düzeyi	Uyanık	3,0
	Uykuya meyilli	1,0
Oryantasyon	Oryante	1,5
	Oryante değil/değerlendirilemez	0,0
Konuşma	Normal	1,0
	İfade bozukluğu	0,5
	Anlama bozukluğu	0,0
BÖLÜM A1- ANLAMA BOZUKLUĞU YOK		
Motor Fonksiyon	Güçsüzlük	Skor
Yüz	Yok	0,5
	Var	0,0
Kol: proksimal	Yok	1,5
	Hafif	1,0
	Ciddi	0,5
	Total	0,0
Kol: distal	Yok	1,5
	Hafif	1,0
	Ciddi	0,5
	Total	0,0
Bacak: proksimal	Yok	1,5
	Hafif	1,0
	Ciddi	0,5
	Total	0,0
Bacak: distal	Yok	1,5
	Hafif	1,0
	Ciddi	0,5
	Total	0,0
BÖLÜM A2-ANLAMA BOZUKLUĞU MEVCUT		
Yüz	Simetrik	0,5
	Asimetrik	0,0
Kollar	Eşit	1,5
	Eşit değil	0,0
Bacaklar	Eşit	1,5
	Eşit değil	0,0

3.5. İstatistik Analiz

Üzerinde durulan özelliklerden sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değer olarak ifade edilirken, Kategorik değişkenler için sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler bakımından kategorik değişkenlere göre ortalamaları karşılaştırmada Tek yönlü varyans analizi yapılmıştır. Gruplar ile Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemede Ki-kare testi kullanılmıştır. Ayrıca Geniş Arter Aterosklerozu ve Küçük Damar Oklüzyonuna bağlı inme için mutasyon tiplerinin ve diğer risk faktörlerinin etkisi olup olmadığını belirlemek amacıyla Logisitik regresyon analizi yapılmış ve Odds oranları ile birlikte güven aralığı hesaplanmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada Ekim 2009-Mayıs 2010 arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniğinde yatarak tedavi gören iskemik inmeli toplam 60 hasta incelenmiştir. Hastaların yaş ortalaması 63.61 ± 16.53 'dir. Hastalar arasında en yüksek yaş 86, en düşük yaş 20'dir. Kadın hastaların sayısı 28 (%46.7), erkek hastaların sayısı 32 (%53.3)'dir. Kadınların yaş ortalaması 63.10 ± 20.14 , erkeklerin yaş ortalaması 64.06 ± 12.90 'dır.

TOAST sınıflamasına göre, geniş arter aterotrombozu grubundakilerin yaş aralığı 40-85, ortalaması 65.86 ± 12.98 ; kardiyoembolizm grubundakilerin yaş aralığı 30-85 ortalaması 67.77 ± 15.51 ; küçük damar oklüzyonu grubundakilerin yaş aralığı 20-76, ortalaması 53.50 ± 18.45 idi. Strokun nadir görülen etiyoloji grubunda ve etiyolojisi sınıflandırılmayanlarda yaş ortalamaları ise sırasıyla 23 ± 0.00 ve 69 ± 14.48 idi. Gruplar arasındaki yaş ortalamaları farklılık gösterdi ve istatistiksel anlamlı bulundu. Küçük damar oklüzyonu grubundakilerin yaş ortalaması diğerlerinden düşüktü, inmenin nadir görülen etiyoloji grubunda bir hasta vardı ve 23 yaşında idi ($p=0.008$) (Tablo 3).

Tablo 3. TOAST sınıflamasına göre inme alt gruplarında yaş ortalamaları

Yaş					
	n	Ortalama	Std. sapma	Minimum	Maximum
Küçük damar oklüzyonu	12	53,50	18,451	20,00	76,00
Geniş arter aterosklerozu	22	65,86	12,977	40,00	85,00
Kardioembolizm	18	67,77	15,509	30,00	85,00
Sebebi belirlenemeyen	7	69,00	14,479	44,00	86,00
Diğer etiyolojiler	1	23,00	-	23,00	23,00
Total	60	63,61	16,535	20,00	86,00

P=0.008

TOAST sınıflamasına göre, geniş arter aterotrombozu grubundakilerin Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamaları 6.68; kardiyoembolizm grubundakilerin ortalaması 6.88; küçük damar oklüzyonu olanların ortalaması ise 8.87; nadir görülen etiyoloji grubundakileri KNS puan ortalamaları 9.00 ve etiyolojisi sınıflandırılmayanlarda 3.00

idi. Gruplar arasında KNS puan ortalamaları farklılık gösterdi ve istatistiksel anlamlı bulundu ($p=0.005$) (Tablo 4).

Tablo 4. TOAST sınıflamasına göre inme alt gruplarında Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamaları

Kanada Nörolojik Skala puanı					
	n	Ortalama	Std. sapma	Minimum	Maximum
Küçük damar oklüzyonu	12	8,87	1,860	5,00	11,50
Geniş arter ateroskleroza	22	6,68	3,084	,00	11,50
Kardioembolizm	8	6,88	3,393	,00	11,00
Sebebi belirlenemeyen	7	3,00	3,640	,00	8,00
Diğer etyolojiler	1	9,00	.	9,00	9,00
Total	60	6,79	3,372	,00	11,50

$P=0,005$

OCSP-Bamford sınıflamasına göre LACİ grubundaki hastaların kanada nörolojik skala puan ortalaması 8.88, PACİ'de 8.56, TACİ'de 3.81, POCİ'de 5.16 idi. Beklendiği gibi LACİ grubunun klinik durumu en iyi ve TACİ grubunun klinik durumu en kötüydü. Ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulundu ($p = 0,001$) (Tablo 5).

Tablo 5. OCSP-Bamford sınıflamasına göre inme alt tiplerinde Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamaları

Kanada Nörolojik Skala puanı					
	n	Ortalama	Std. sapma	Minimum	Maximum
LACİ	13	8,88	1,781	5,00	11,50
PACİ	22	8,56	1,879	3,50	11,50
TACİ	19	3,81	2,625	,00	8,50
POCİ	6	5,16	4,986	,00	10,00
TOTAL	60	6,79	3,372	,00	11,50

$P=0,001$

Çalışma grubunda hipertansiyon 41 (%68.3) hastada, diabetes mellitus 17 (%28.3) kardiyak semptomlar 25 (%41.7) hastada mevcuttu. Sigara kullanan 25 (%41.7) sigara kullanmayan 35 (%58.3) hasta atrial fibrilasyonu olan 9 (%15) ve Geçici iskemik atak geçirme öyküsü olan 5 (%8.3) hasta vardı.

Hastaların %28.3'ünde hiperkolesterolemi tespit edilirken %71.7'sinde kolesterol değerleri normal sınırlarda bulundu. Ldl düzeyleri değerlendirildiğinde 43 hastanın ldl düzeyi 130 altında iken 17 hastanın 130 veya üzerinde bulundu. Hastaların %32.8'inin B-mode doppler ultrason ile inme tarafındaki CCA ve İCA'da aterosklerotik değişikliğe rastlanmazken %54.1'inde inme tarafında CCA veya İCA'da aterosklerotik değişiklikler saptandı. 7 hastanın genel durumu kötü olduğundan veya tetkik yapılamadan hasta hayatını kaybettiğinden B-mode doppler ultrason yapılamadı (Tablo 6).

Tablo 6. Örneklemde iskemik inme risk faktörlerine ilişkin tanımlayıcı istatistikler

		n	Yüzde(%)
Hipertansiyon	yok	19	31,7
	var	41	68,3
Diabetes Mellitus	yok	43	71,7
	var	17	28,3
Sigara Kullanımı	yok	35	58,3
	var	25	41,7
Kalp Hastalığı öyküsü	yok	35	58,3
	var	25	41,7
*Gia Öyküsü	yok	55	91,7
	var	5	8,3
Atrial Fibrilasyon	yok	51	85
	var	9	15
Hiperkolesterolemi	yok	43	71,7
	var	17	28,3
LDL düzeyi	Ldl <130	43	71,7
	Ldl >130	17	28,3
Karotis Arterde Aterosklerotik Değ.	yok	20	32,8
	var	33	54,1

*Geçici iskemik atak

Örneklemimizde 10 hasta yatışı esnasında hayatını kaybetti. Ölenlerin 6'sı erkek 4'ü kadın ve OCSP-Bamford sınıflamasına göre 9'u TACİ 1'i PACİ grubundaydı. TOAST sınıflamasına göre 5'i sebebi belirlenemeyen enfarkt grubunda 1'i geniş arter ateroskleroza ve 3'ü kardioembolik enfarkt grubundaydı. Ölen hastalardan 5'inde eNOS T786C gen polimorfizmi doğal tipte, 3'ünde heterozigot tipte, 2'sinde homozigot tipteydi. Ölenlerin 4'ünde eNOS G894T gen polimorfizmi doğal tipte, 4'ünde

heterozigot tipte ve 2'sinde homozigot tipteydi. Her iki gen polimorfizmi açısından ölen hastalar grubunda istatistik anlamlı farklılık bulunamadı (Tablo 7).

Tablo 7. Örneklemde mortalite ve gen polimorfizmi ilişkisine ait tanımlayıcı istatistikler

		Hayatını kaybedenlerin sayısı	Yaşayanların sayısı	P
eNOS T786C	Doğal tip	5	31	0,782
	Heterozygot	3	18	
	Homozigot	2	6	
	Total	10	50	
eNOS G894T	Doğal tip	4	34	0,099
	Herozygot	4	14	
	Homozigot	2	2	
	Total	10	50	

TOAST sınıflarına göre çalışma grubumuzda geniş arter ateroskleroza olan 22 (%36.7) hasta, kardiyembolik enfarktı olan 18 (%30.0) hasta, küçük arter oklüzyonu olan 12 (%20.0) hasta, sebebi belirlenemeyen 7 (%11.7) hasta, inmenin nadir görülen etiyolojileri grubunda vaskülit olan 1 (%1.7) hasta mevcuttu.

OCSP-Bamford sınıflarına göre LACİ grubunda hasta sayısı 13 (%21.7), PACİ grubunda 22 (%36.7) hasta, POCİ grubunda 6 (%10.0) hasta, TACİ grubunda 19 (%31.7) hasta mevcuttu (Tablo 8).

Tablo 8. TOAST sınıflaması ve OCSD-Bamford sınıflamasına göre iskemik inme alt tiplerine ilişkin tanımlayıcı istatistikler

		n (60)	Yüzde(%)
TOAST sınıflaması	Küçük damar oklüzyonu	12	20,0
	Geniş arter ateroskleroza	22	36,7
	Kardiyembolizm	18	30,0
	Sebebi belirlenemeyen	7	11,7
	Diğer etiyolojiler	1	1,7
BAMFORD sınıflaması	LACİ	13	21,7
	PACİ	22	36,7
	TACİ	19	31,7
	POCİ	6	10,0

Örnekleminizde eNOS T786C polimorfizmini doğal tipte (TT) taşıyanların sayısı 31 (%51.7) homozigot tipte (CC) taşıyanların sayısı 8 (%13.3) ve heterozigot tipte (TC) taşıyanların sayısı ise 21 (%35.0) idi. eNOS G894T gen polimorfizminin çalışma grubumuzdaki genotipik dağılımı incelendiğinde doğal tiptekilerin (GG) sayısı 38 (%63.3), homozigot tiptekilerin (TT) sayısı 18 (%30.0) ve heterozigot tiptekilerin sayısı 4 (6,7) idi (Tablo 9).

Tablo 9. Örnekleimde eNOS T786C ve eNOS G894T gen polimorfizmlerinin genotipik dağılımına ilişkin tanımlayıcı istatistikleri

		Sayı	Yüzde (%)
eNOS T786C	Doğal tip (TT)	31	51,7
	Heterozygot (TC)	21	35,0
	Homozygot (CC)	8	13,3
	Total	60	100
eNOS G894T	Doğal tip (GG)	38	63,3
	Heterozygot (GT)	18	30,0
	Homozygot (TT)	4	6,7
	Total	60	100

TOAST iskemik inme sınıflamasına göre geniş arter ateroskleroza grubunda eNOS T786C gen polimorfizminin homozigot bulunduğu 5 (%27.2) hasta varken kardioembolik enfarkt grubunda polimorfizmin homozigot bulunduğu hasta yoktu, küçük arter oklüzyonu grubunda 1 (%8.3) hasta vardı. Polimorfizmi heterozigot taşıyan geniş arter ateroskleroza grubunda 9 (%40.9) hasta iken kardioembolik enfarkt grubunda 4 (%22.2) hasta ve küçük arter oklüzyonu grubunda 4 (%33.3) hasta vardı. Örnekleminizde geniş arter ateroskleroza grubunda eNOS T786C polimorfizmine heterozigot ve homozigot olarak daha sık rastlandı ve istatistik olarak anlamlı bulundu ($p=0,037$) (Tablo 10).

Tablo 10. TOAST sınıflamasına göre alt gruplarda eNOS T786C gen polimorfizminin genotipik dağılımı

TOAST etiyolojik sınıflaması						
	Geniş arter ateroskleroza	Küçük arter oklüzyonu	Kardioembolizm	İnmenin nadir etyolojileri	Sebebi belirlenemeyen	TOTAL
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Doğal tip TT	8 (36,4)	7 (58,3)	14 (77,8)	0	2 (28,6)	31 (51,7)
HeterozigotTC	9 (40,9)	4 (33,3)	4 (22,2)	0	4 (57,1)	21 (35,0)
HomozigotCC	5 (27,2)	1 (8,3)	0	1 (100)	1 (14,3)	8 (13,3)
TOTAL	22 (100)	12 (100)	18 (100)	1 (100)	7 (100)	60 (100)

Kikare: 16,429 P: 0,037

TOAST sınıflamasına göre geniş arter ateroskleroza grubunda eNOS G894T polimorfizminin homozigot bulunduğu 1 (%4,5) hasta varken küçük arter oklüzyonu grubunda 1 (%8,3) hasta vardı ve kardioembolik enfarkt grubunda polimorfizmi homozigot genotipte taşıyan hasta yoktu. Heterozigot genotiptekilerin dağılımına bakıldığında geniş arter ateroskleroza grubunda 9 (%40,9) hasta, kardioembolik enfarkt grubunda 4 (%22,2) hasta ve küçük arter oklüzyonu grubunda 3 (%25,0) hasta vardı. Geniş arter ateroskleroza grubunda eNOS G894T polimorfizmine heterozigot olarak daha sık rastlansa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,346$) (Tablo11).

Tablo 11. TOAST sınıflamasına göre alt gruplarda eNOS G894T polimorfizminin genotipik dağılımı

TOAST etiyolojik sınıflaması						
	Geniş arter aterosklerozu	Küçük arter oklüzyonu	Kardioembolizm	İnmenin nadir etyolojileri	Sebebi belirlenemeyen	TOTAL
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Doğal tip GG	12 (54,5)	8(66,7)	14 (77,8)	1 (100)	3 (42,9)	38 (63,3)
HeterozigotGT	9 (40,9)	3(25,0)	4 (22,2)	0	2 (28,6)	18 (30,0)
Homozigot TT	1 (4,5)	1 (8,3)	0	0	2 (28,6)	4 (6,7)
TOTAL	22 (100)	12 (100)	18 (100)	1 (100)	7 (100)	60 (100)

Ki kare: 8,953 P: 0,346

OCSP-Bamford sınıflamasına göre LACİ grubunda eNOS T786C gen polimorfizminin homozigot bulunduğu hasta sayısı 2 (%15.4), PACİ grubunda 5 (%22.7) , TACİ grubunda 1 (%5.3) ve POCİ grubunda 0 idi. Polimorfizmi heterozigot taşıyan hastaların sayısı LACİ grubunda 4 (%30.8), PACİ grubunda 7 (%31.8), TACİ grubunda 6 (%31.6) ve POCİ grubunda 4 (%66.7) idi. Doğal tipte polimorfizme sahip olanlar LACİ grubunda 7 (%53.8), PACİ grubunda 10 (%45.5), TACİ grubunda 12 (%63.2) ve POCİ grubunda 2 (%33.3) hasta idi. Gruplar arasında eNOS T786C polimorfizminin genotipik dağılımında anlamlı fark yoktu (p=0,351) (Tablo 12).

Tablo 12. Örnekleme OCSP-Bamford sınıflamasına göre alt gruplarda eNOS T786C gen polimorfizminin genotipik dağılımı

BAMFORD sınıflaması					
	LACİ n (%)	PACİ n (%)	TACİ n (%)	POCİ n (%)	TOTAL n (%)
Doğal tip TT	7 (53,8)	10 (45,5)	12 (63,2)	2 (33,3)	31 (51,7)
Heterozigot TC	4 (30,8)	7 (31,8)	6 (31,6)	4 (66,7)	21 (35,0)
Homozigot CC	2 (15,4)	5 (22,7)	1 (5,3)	0	8 (13,3)
TOTAL	13 (100)	22(100)	19 (100)	6 (100)	60(100)

Kikare: 6,685 P: 0,351

OCSP-Bamford sınıflamasına göre LACİ grubunda eNOS G894T gen polimorfizminin homozigot genotipte bulunduğu 1 (%97.7) hasta, heterozigot tipte bulunduğu 3 (%23.1) hasta ve doğal tipte bulunduğu 9 (%69.2) hasta vardı. PACİ grubunda 2 (%9.1) hasta homozigot tipte, 6 (%27.3) hasta heterozigot tipte, 14 (%63.6) hasta doğal tipte genotipe sahipti. TACİ grubunda 1 (%5.3) hasta homozigot, 7 (%36.8) hasta heterozigot, 11 (%57.9) hasta doğal tipte iken POCİ grubunda 2 (%33.3) hasta heterozigot, 4 (%66.7) hasta doğal tipteydi. POCİ grubunda eNOS G894T gen polimorfizmini homozigot genotipte taşıyan hasta yoktu. Gruplar arasında eNOS T786C gen polimorfizmi açısından anlamlı farklılık bulunmadı (p= 0,937) (Tablo13).

Tablo 13. Örnekleme OCSP-BAMFORD sınıflamasına göre alt gruplarda eNOS G894T gen polimorfizminin genotipik dağılımı

BAMFORD KLİNİK sınıflaması					
	LACİ n (yüzde)	PACİ n (yüzde)	TACİ n (yüzde)	POCİ n (yüzde)	TOTAL n (yüzde)
Doğal tip GG	9 (69,2)	14 (63,6)	11 (57,9)	4 (66,7)	38 (63,3)
HeterozigotGT	3 (23,1)	6 (27,3)	7 (36,8)	2 (33,3)	18 (30,0)
Homozigot TT	1 (7,7)	2(9,1)	1 (5,3)	0	4(6,7)
TOTAL	13 (100)	22 (100)	19 (100)	6 (100)	60 (100)

Kikare: 1,805 P: 0,937

eNOS T786C gen polimorfizminin genotipik alt tiplerinde yaş ortalamaları doğal tipte 59.97, heterozigot tipte 71.22, homozigot tipte 64,00 idi. Yaş ortalamaları arasında anlamlı fark yoktu ($p=0,057$) (Tablo 14).

Tablo 14. Örneklemde eNOS T786C gen polimorfizmine göre yaş ortalamalarının tanımlayıcı istatistikleri

Yaş					
	n	Ortalama	St. Sap.	Minimum	Maximum
Doğal tip (TT)	38	59,97	16,514	23,00	85,00
Heterozygot (TC)	18	71,22	10,378	49,00	85,00
Homozygot (CC)	4	64,00	29,799	20,00	86,00
Total	60	63,61	16,535	20,00	86,00

P=0,057

Çalışma grubumuzunda eNOS G894T gen polimorfizmine göre yaş ortalamaları doğal tipte 61.06, heterozigot tipte 69.00, homozigot tipte 59.37 idi ve alt tipler arasında yaş ortalamaları anlamlı farklılık göstermedi ($p=0,176$) (Tablo 15).

Tablo 15. Örneklemde eNOS G894T gen polimorfizmine göre yaş ortalamalarının tanımlayıcı istatistikleri

Yaş					
	n	Ortalama	St. Sap.	Minimum	Maximum
Doğal tip (GG)	31	17,031	61,06	20,00	85,00
Heterozygot (GT)	21	11,785	69,00	44,00	85,00
Homozygot (TT)	8	22,984	59,37	23,00	86,00
Total	60	16,535	63,61	20,00	86,00

P=0,176

eNOS T786C gen polimorfizminin genotipik alt tiplerinde Kanada Klinik Nörolojik Skala puan ortalamaları değerlendirildiğinde doğal tipte taşıyıcıların puan ortalamaları 7.13, heterozigot taşıyıcıların 6.38 ve homozigot taşıyıcıların 5.37 idi. Alt tipler arasında ortalamalar arasında anlamlı fark yoktu ($p=0,517$) (Tablo 16).

Tablo 16. Örnekleme eNOS T786C gen polimorfizmine göre Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamalarının tanımlayıcı istatistikleri

Kanada Nörolojik Skala puanı					
	n	Ortalama	St. Sap.	Minimum	Maximum
Doğal tip (TT)	38	7,13	3,268	,00	11,50
Heterozygot (TC)	18	6,38	3,554	,00	11,50
Homozygot (CC)	4	5,37	3,902	,00	8,50
Total	60	6,79	3,372	,00	11,50

P=0,517

eNOS G894T gen polimorfizmine Kanada Klinik Nörolojik Skala puanları değerlendirildiğinde doğal tipte puan ortalamaları 7.13, heterozigot tipte 6.38 ve homozigot tipte 5.37 idi. Genotipler arasında Kanada Klinik Nörolojik Skala puan ortalamaları anlamlı farklılık göstermedi ($p=0,398$) (Tablo 17).

Tablo 17. Örnekleme eNOS G894T gen polimorfizmine göre Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamalarının tanımlayıcı istatistikleri

Kanada Nörolojik Skala puanı					
	n	Ortalama	St. Sap.	Minimum	Maximum
Doğal tip (GG)	31	3,358	6,56	,00	11,00
Heterozygot (GT)	21	3,767	6,54	,00	11,50
Homozygot (TT)	8	1,980	8,31	4,00	11,00
Total	60	3,372	6,79	,00	11,50

P=0,398

eNOS T786C gen polimorfizmi için mutant alleli içeren genotipler iki farklı şekilde birleştirilerek dominant (TC +CC vs. TT) ve resesif (CC vs TT+TC) olmak üzere 2 alt grup oluşturuldu.

Dominant ve resesif genotiplerin geniş arter aterosklerozuna bağlı inme riskine etkisini belirlemek üzere lojistik regresyon analizi yapıldı. Benzer analiz küçük damar oklüzyonuna bağlı inme geçiren hastalar için de yapıldı.

Her ne kadar sonuçlar istatistiksel anlamlı bulunmasa da eNOS 786C alleli dominant kabul edildiğinde bu alleli taşıyanlarda geniş arter aterosklerozuna bağlı inme riski diğer etiyolojik nedenlere bağlı inme riskine göre 2.68 kat artmış olarak bulundu ($p= 0,071$). C aleli resesif kabul edildiğinde ise geniş arter aterosklerozu ve diğer etiyolojik nedenler arasında inme sıklığı açısından anlamlı fark bulunmadı ($p =0,103$).

Benzer şekilde eNOS G894T polimorfizmi için resesif ve dominant gruplar oluşturuldu. T allel dominant (GG vs GT+TT) veya resesif (TT vs GG+GT) kabul edildiğinde geniş arter aterosklerozuna bağlı inme riskinde anlamlı değişiklik olmadı (eNOS 894T dominant için $p=0,282$ eNOS 894T resesif için $p=0,616$) (Tablo18).

Tablo 18. Örnekleme her iki polimorfizm açısından mutant alellerin geniş arter aterosklerozuna bağlı inme riskine etkisinin Logisitik regresyon analiziyle değerlendirilmesi

Geniş Arter Aterosklerozu vs Diğer Etiyolojik Gruplar		
	P	OR (%95 CI)
eNOS 786C resesif CC vs TT+TC	0,103	3,43 (0,73-16,07)
eNOS 786C dominant TT vs TC+CC	0,071	2,68 (0,90-7,94)
eNOS 894T resesif TT vs GG+GT	0,616	0,556 (0,54-5,69)
eNOS 894T dominant GG vs GT+TT	0,282	1,80 (0,62-5,33)

eNOS 786C alleli dominant veya resesif kabul edildiğinde eNOS 786C allel taşıyanlarda küçük damar oklüzyona bağlı inme riski ile diğer etiyolojik nedenlere bağlı inme riski arasında anlamlı fark bulunmadı (eNOS 786C dominant için $p=0,605$ eNOS 786C resesif için $p=0,569$).

Yine eNOS G894T polimorfizmi için T alleli dominant veya resesif kabul edildiğinde küçük damar oklüzyona bağlı inme riskinde değişiklik saptanmadı (eNOS 894T dominant için $p=0,789$ eNOS 894T resesif için $p=0,796$) (Tablo 19).

Tablo 19. Örneklemede her iki polimorfizm açısından mutant alellerin küçük damar oklüzyonuna bağlı inme riskine etkisinin Logisitik regresyon analiziyle değerlendirilmesi

Küçük Damar Oklüzyonu vs Diğer Etiyolojik Gruplar		
	P	OR (%95 CI)
eNOS 786C resesif CC vs TT+TC	0,569	1,87 (0,20-16,92)
eNOS 786C dominant TT vs TC+CC	0,605	1,40 (0,389-5,03)
eNOS 894T resesif TT vs GG+GT	0,796	0,73 (0,69-7,74)
eNOS 894T dominant GG vs GT+TT	0,789	1,20 (0,31-4,56)

eNOS T786C ve eNOS G894T gen polimorfizmleri birlikte değerlendirildiğinde olası 4 haplotip mevcuttur bunlar; eNOS 786C+ eNOS 894T, 786C+894G, 786T+894T ve 786T+894G haplotipleridir.

Muhtemel haplotiplerin geniş arter ateroskleroza ve küçük damar tıkanıklığına bağlı inme riskine etkileri lojistik regresyon analizi ile incelendi. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da örneklemimizde eNOS 786C+ eNOS 894G haplotipine sahip olanlarda TOAST sınıflamasına göre geniş arter ateroskleroza bağlı inme gelişme riski diğer etiyolojik gruplara bağlı inme gelişme riskine göre 2.77 kat artmıştı (p=0,061). Diğer haplotipler geniş arter ateroskleroza bağlı inme riskinde değişikliğe neden olmadılar (Tablo 20).

Tablo 20. Örneklemede muhtemel haplotiplerin geniş arter ateroskleroza bağlı inme riskine etkisinin Logisitik regresyon analiziyle değerlendirilmesi

Geniş arter ateroskleroz vs diğer etiyolojik gruplar		
Muhtemel Haplotipler	P	OR (%95 CI)
786C+894T	0,100	2,59 (0,81-8,22)
786C+894G	0,061	2,77 (0,94-8,19)
786T+894T	0,815	1,14 (0,36-3,57)
786T+894G	0,599	0,68 (0,16-2,85)

Olası haplotipler arasında küçük damar oklüzyonuna bağlı inme riskinde değişikliğe yol açan haplotip tespit edilmedi (Tablo 21).

Tablo 21 Örnekleme muhtemel haplotiplerin küçük damar oklüzyonuna bağlı inme riskine etkisinin Logisitik regresyon analiziyle değerlendirilmesi

Muhtemel Haplotipler	Küçük damar oklüzyonu vs diğer etiyolojik gruplar	
	P	OR (%95 CI)
786C+894T	0.086	5,50 (0,65-46,4)
786C+894G	0,896	1,08 (0,30-3,92)
786T+894T	0,778	0,82 (0,21-3,18)
786T+894G	0,857	1,17 (0,21-6,52)

5. TARTIŞMA

Nitrik oksit nitrik oksit sentaz enzimi tarafından L-arginine den sentezlenen güçlü bir vazodilatatördür. Nitrik oksit platelet agregasyonunu ve adezyonunu lökosit kemotaksisini ve adezyonunu inhibe ettiği gibi adezyon molekülü ve kemokin ekspresyonunu, düz kas hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu ve LDL oksidasyonunu da inhibe etmektedir bu nedenle antiaterojenik ve antitromboembolik etki göstermektedir (Casas JP ve ark, 2006).

Nitrik oksit üreten enzimlerin bir izoformu olan eNOS, hem anjiyogenezde, hem vaskülogenezde önemli bir rolü olan endotel hücrelerine spesifik bir enzimdir. eNOS ekspresyonu, eNOS geninin birçok fonksiyonel polimorfizmleri ile etkilenir. Özellikle eNOS gen ekspresyonunu azaltan ekzon 7'deki G894T ve promotor bölgedeki eNOS T786C polimorfizmleri iskemik inmeye zemin hazırladığı düşünülen polimorfizmler arasındadır.

Klaus Berger ve ark. 2007 yılında Almanya'nın iki farklı bölgesinden toplam 1901 iskemik inme hastası ve 1747 kontrol vakasının dahil edildiği iki çalışmanın sonuçlarını yayınladılar. Çalışma kapsamında iskemik inme ile muhtemel ilişkisi olan 63 farklı gendeki toplam 106 tek nükleotid polimorfizmi araştırıldı. 1,417 hasta ve 996 kontrol vakasının olduğu birinci çalışmada hastaların %70'inde hipertansiyon varken kontrol grubunun %13,3'ünde hipertansiyon vardı. Bu çalışmada 5 farklı tek nükleotid gen polimorfizminin (İnterleukin 13 4045C/T, Selectin P 40G/A, Chemokine receptor 2 46295G/A, NOS3 894G/T, Alpha 2 integrin 873G/A) hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi. 484 hastanın ve 751 kontrol vakasının olduğu ikinci çalışmada hipertansiyona hastaların %69,4'ünde diabetes mellitusa %33,8'inde ve hiperkolesterolemiye hastaların %19,1'inde rastlanırken kontrol grubunun sırasıyla %53,5 %15,1 %29,9'unda tespit edildi. Bu çalışmada hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı farklılık gösteren tek polimorfizm eNOS G894T oldu. Çalışmanın sonucunda her iki çalışmada da eNOS G894T tek nükleotid polimorfizmi ile artmış iskemik inme riski arasında ilişki tespit edildi ve eNOS G894T polimorfizminin iskemik inme için bağımsız risk faktörü olduğu sonucuna ulaşıldı (Berger K ve ark, 2007).

2000 yılında Fransa’da Elbaz A ve ark. 460 iskemik inmeli hasta ve aynı sayıdaki kontrol grubunda eNOS G894T gen polimorfizmini ve TOAST sınıflamasına göre inme alt tipleri ile olası ilişkisini araştırdılar. Gen polimorfizminin genotipik dağılımı hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gösterdi. eNOS 894GG genotipi (doğal tip) hasta grubunda daha sıklıkla TOAST sınıflamasına göre alt gruplar değerlendirildiğinde küçük damar oklüzyonu alt grubundaki hastalarda eNOS 894 GG genotipi kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha sıklıkla. Küçük damar oklüzyonu alt grubunda LDL seviyeleri daha yüksek tespit edilmiş ve bu grupta GG genotipi taşıyanlarda taşımayanlara oranla iskemik inme ile LDL seviyeleri arasında anlamlı ilişki olduğu sonucuna varmışlardır. Yazarlar çalışmalarının sonunda homozigot G allelinin iskemik inme ile özellikle küçük damar oklüzyonu alt grubu ile ilişkili olduğu, LDL kolesterol yüksekliği ve GG genotipi birlikteliğinin sinerjistik etki gösterdiği sonucuna varmışlardır (Elbaz A ve ark, 2000).

2008 yılında Türkiye’de Güldiken ve ark. çalışmalarında akut veya kronik dönemdeki iskemik inmeli 146 hasta ile 133 sağlıklı bireyde eNOS G894T gen polimorfizmini ve TOAST sınıflamasına göre inme alt gruplarında genotipik farklılığın inme riskine etkisini araştırdılar. Hastalardan oluşan grupta eNOS 894GG genotipi (doğal tip) %56.3 GT genotipi (heterozigot) %40.6 TT genotipi (homozigot) %3.1 iken kontrol grubunda GG genotipi %49.3 GT genotipi %45.8 TT genotipi 4,9 idi. G ve T alleli frekansları hasta grubunda G %76.6, T %23.4 kontrol grubunda G %72.2, T %27.8 idi. TOAST sınıflamasına göre Geniş arter ateroskleroza grubunda doğal tip polimorfizmin oranı GG %54.8, heterozigot GT %38.7, homozigot TT %6.5 iken küçük damar oklüzyonu grubunda GG %45, GT %50, TT %5 oranında görüldü. G ve T alel frekans oranları geniş arter ateroskleroza grubunda G aleli %74.1 T aleli % 25.9 küçük damar oklüzyonu grubunda G aleli %70 T aleli % 30 idi. Gruplar arasında istatistik anlamlı fark bulunamadı. Çalışma sonucunda kontrol grubu ile hastalar arasında eNOS G894 polimorfizmi dağılımı ve allel frekansları açısından anlamlı istatistiksel farklılık olmadığı sonucuna vardılar. Bu sonuçlarla eNOS geninde ekson 7’nin 894 üncü pozisyonundaki polimorfizmin iskemik inme ile ilişkisiz olduğu sonucuna varıldı (Güldiken B ve ark, 2009).

Macaristan'da 2005 yılında Szolnoki ve ark. 407 akut iskemik inme hastasında MTHFR C677T (methylenetetrahydrofolate reductase) mutasyonu, ACE I/D (angiotensin-converting enzyme) polimorfizmi ve eNOS G894T polimorfizmlerinin tek tek ve birlikte iskemik inme ve alt grupları ile olan ilişkilerini incelediler. Hasta grubu geniş arter enfarktı küçük damar enfarktı ve miks vaskülopati şeklinde 3 alt gruba ayrıldı. 295 kişilik kontrol grubu aynı bölgede yaşayan sağlıklı bireylerden rastgele seçim yaparak oluşturuldu. Tek tek genotipler gruplar arasında değerlendirildiğinde sadece ACE D/D genotipinin küçük damar enfarktı grubunda risk faktörü olduğu sonucuna ulaşıldı. Gen polimorfizmleri birlikte değerlendirildiğinde MTHFR 677 CT genotipi eNOS 894GT veya eNOS 894TT genotipi ile birlikte kontrol grubuna göre inme grubunda ve ayrıca geniş arter enfarktı alt grubunda anlamlı derecede daha sık görülmekte idi. Bezer şekilde ACE D/D genotipi ile eNOS 894GT veya eNOS 894TT genotipi inme grubunda ve her 3 inme alt grubunda ayrı ayrı kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha sık görüldü. Çalışmalarının sonucunda eNOS 894GT veya eNOS 894TT genotiplerinin tek başına iskemik inme veya inme alt tipleri açısından genetik risk oluşturmadıkları fakat MTHFR 677TT veya ACE D/D polimorfizmleri ile birlikte olduklarında iskemik inme için bağımsız genetik risk faktörü oldukları sonucuna vardılar (Szolnoki Z ve ark, 2005).

Grewal ve ark. 377 akut iskemik inmeli hastada eNOS geninde 2 farklı gen polimorfizminin dağılımını araştırdılar. Bakılan mutasyonlardan biri eNOS G894T diğeri eNOS intron 4 VNTR polimorfizmi idi. Sonuçlar 502 sağlıklı kontrol vakasının sonuçları ile karşılaştırdılar. Hastalar TOAST iskemik inme sınıflamasına göre alt gruplara ayrıldı ve gruplar arasında genotipik farklılıklar araştırıldı. Hasta ve kontrol grubu arasında eNOS G894T polimorfizminin genotipik dağılımı açısından anlamlı farklılık bulamadılar. TOAST sınıflaması alt grupları arasında da istatistiksel anlamlı farklılık yoktu. eNOS intron 4 VNTR polimorfizmi için artmış 4c allelin iskemik inme riskini artırdığı sonucuna ulaşıldı. 4c alleli inme alt gruplarından geniş arter aterosklerozu grubunda istatistiksel anlamlı derecede daha sık görüldü. Ayrıca genetik özelliklerin ırklar arasında farklılık gösterebileceği göz önüne alınarak hasta grubunun sonuçlarını African Amerikalılar ve Beyaz Amerikalılar olmak üzere iki gruba ayırarak incelediler. Afrikan Amerikalılar grubunda 4c allelinin istatistiksel anlamlı olarak daha sık görüldüğü ve artmış inme riski ile birlikte olduğu görüldü. Beyaz Amerikalılar grubunda ise 4c allelinin prevalansı oldukça düşük olmasına rağmen geniş arter

aterosklerozu alt grubunda anlamlı derecede sık görüldü. Sonuçta Grewal ve ark. genetik çalışmalarda seçilen etnik gruba göre farklı sonuçlar ortaya çıktığını kendi çalışmalarında eNOS G894T polimorfizmi ile gerek iskemik inme gerekse iskemik inme alt tipleri arasında anlamlı ilişki olmadığı fakat Afrikan Amerikalılarda eNOS intron 4c allelin artmış iskemik inme riski ile birlikte olduğu sonucuna vardılar (Grewal RP ve ark, 2007).

Londra kohortunda 1998 yılında yapılan çalışmada Markus ve ark. 361 iskemik inme veya geçici iskemik atak hastasında eNOS G894T polimorfizminin dağılımını incelediler. Farklı etnik gruplar arasında gen polimorfizmleri farklılık gösterebildiğinden çalışmaya sadece beyaz ırktan olanlar dahil edildi. 236 sağlıklı vakadan oluşan kontrol grubunun 129'u hastaların birinci derece akrabalarından seçilirken geri kalan 107 vaka hastaların akrabaları arasından seçildi. eNOS G894T polimorfizminin genotipik dağılımı değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. Sonuçlar her iki kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldı ve yine genotipik dağılımda anlamlı farklılık bulunmadı. G ve T allellerinin frekansları ile iskemik inme arasında anlamlı ilişki bulunmadı. İnmeli hastalar TOAST iskemik inme sınıflamasına göre alt gruplara ayrıldı gruplar arasında eNOS G894T plimorfizminin genotipik dağılımında anlamlı farklılığa rastlanmadı (Markus H ve ark,1998).

Majumdar ve ark. Güney Hindistan'ın Bangalore kentinde genç inme hastalarından oluşan popülasyonda yaptıkları çalışmada eNOS genine lokalize 3 farklı polimorfizm araştırıldı. Yaşları 15-45 arasında olan 177akut iskemik inme hastasında ve 219 yaş ve cinsiyet uyumlu kontrol vakası çalışmaya katıldı. eNOS T786C, eNOS intron 4 a/b ve eNOS G894T araştırılan mutasyonlar idi. eNOS T786C ve eNOS G894T polimorfizmleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmazken eNOS 4a alelinin kadın hastalarda genç yaş iskemik inme için bağımsız risk faktörü olduğu sonucu ortaya çıktı. Ayrıca sigara ve alkol tüketen eNOS 786 C allel taşıyıcılarında inme riskinde azalma tespit edildi. Muhtemel haplotiplerin hiçbiri iskemik inme riski ile ilişkili bulunmadı. Sonuçta eNOS intron 4 a/b polimorfizminin Güney Hindistan kadınlarında erken başlangıçlı iskemik inme için risk faktörü olduğu sonucuna ulaşıldı (Majumdar V ve ark, 2009).

Çin'in Shenzhen şehrinde 2003-2005 yılları arasında Cheng ve ark. Tarafından yapılan çalışmada eNOS -922A/G, eNOS 786T/C ve eNOS 894G/T gen polimorfizmleri araştırıldı. Toplam 309 akut iskemik inme hastası ile yapılan çalışmada aynı sayıda kadın ve erkek sağlıklı bireylerden kontrol grubu oluşturuldu. Vücut kitle indeksleri her iki grupta karşılaştırıldı fakat fark bulunamadı. eNOS 922 G aleline hasta grubunda anlamlı derecede daha sık rastlandı. eNOS 922 A/G polimorfizminde G alelin dominant kabul edildiği genotipler (AG+GG) iskemik inme riskini artırıyordu. eNOS 786 CC genotipinin eNOS 786 TT genotipi ile karşılaştırıldığında iskemik inme için bağımsız risk faktörü olduğu ortaya çıktı. Konvansiyonel risk faktörleri ile kombine edilerek değerlendirildiğinde gruplar arasında farklılık gösteren genotipe rastlanmadı. Olası haplotipler analiz edildiğinde GCG, GCT ve ACT haplotipleri artmış inme riski ile ilişkili bulundu. Çalışmalarının sonucunda Çin popülasyonunda eNOS 922A/G, eNOS 786T/C polimorfizmlerinin ve bazı haplotiplerin iskemik inme riskini artırdığı sonucuna vardılar (Cheng J ve ark, 2008).

Hassan ve ark. 2004 yılında Londra'da yaptıkları çalışmada laküner enfarktı olan 137 ve iskemik lökoariosizi olan 160 hastada 3 farklı eNOS gen polimorfizmini araştırdılar ve NO seviyelerini ölçtüler. Kontrol grubu 600 sağlıklı bireyden oluşturuldu. eNOS T786C, eNOS 4 a/b ve eNOS G894T araştırılan polimorfizmlerdi. eNOS 4 a/a gen polimorfizmine küçük damar oklüzyonu grubunda anlamlı olarak daha az rastlandı. eNOS 4 a aleli küçük damar oklüzyonu ile ilişkili bulundu. Muhtemel olan 8 haplotipten C-A-T ve C-A-G haplotipleri tüm hasta grubunda ve küçük damar oklüzyonu alt grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha nadir görüldü. NO seviyeleri hasta grubunda daha düşük düzeyde tespit edilmesine rağmen kontrol grubu ile aralarında anlamlı farklılık bulunmadı. eNOS 786 C aleli ve eNOS 4a/b genotipi ile yüksek NO seviyesi ilişkili bulundu. Sonuçta eNOS 4a alelinin küçük damar oklüzyonu için koruyucu olduğu fakat iskemik lökoariozis için benzer ilişki bulunamadığı ayrıca her iki iskemik hadisenin etyopatogenezlerinin farklı olduğu ve çalışmalarının iskemik inme etyolojisinde endotelial disfonksiyonunun rolü olduğuna işaret ettiği sonucuna vardılar (Hassan A ve ark, 2004).

Saidi S ve ark. retrospektif olarak 329 iskemik inme hastasını TOAST iskemik inme sınıflamasına göre alt gruplara ayırdılar ve eNOS T786C eNOS 4 a/b ve eNOS G894T polimorfizmlerinin inme ile ilişkisini araştırdılar. Kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında eNOS G894T gen polimorfizmi inme ile ilişkili bulundu. Haplotip dağılım analizinde 894T 4b 786T ve 894T 4b 786C, 894T 4a 786T haplotipleri hasta grubunda anlamlı derecede yüksek frekansta görülürken 894T 4b 786T haplotipi ise hasta grubunda anlamlı düzeyde az rastlandı. Çok değişkenli regresyon analizinde 894T 4b 786T, 894T 4b 786C ile birlikte 894T 4a 786T haplotipleri artmış iskemik inme riski ile ilişkili bulundu. Çalışmalarının sonunda eNOS 894 TT genotipi ve eNOS 894 T alelini içeren haplotiplerin bağımsız olarak iskemik inme ile ilişkili olduğu sonucuna vardılar (Saidi S ve ark, 2010).

Bizim çalışmamızda eNOS T786C gen polimorfizmini doğal genotipte taşıyan 31 (%51.7) hasta, heterozigot genotipte taşıyan 21 (%35.0) hasta ve homozigot genotipte taşıyan 8 (%13.3) hasta vardı. eNOS G894T gen polimorfizmini ise doğal genotipte taşıyan hastaların sayısı 38 (%63.3) heterozigot genotipte taşıyan hastaların sayısı 18 (%30.0) ve homozigot genotipte taşıyan hastaların sayısı 4 (%6.7) idi. Güldiken ve arkadaşlarının Türk popülasyonunda yaptıkları çalışmada hastalar arasında eNOS G894T (heterozigot) genotipinin frekansı % 40.6, eNOS 894 TT (homozigot) genotipinin frekansı ise % 3,1 bulunmuştu. Bizim popülasyonumuzda homozigot sıklığı daha yüksek iken heterozigot sıklığı daha düşüktü.

Literatürdeki çalışmalarda heterozigot ve homozigot oranları popülasyonlar arasında belirgin farklılıklar göstermektedir. Örneğin; Cheng ve arkadaşlarının Çin popülasyonundan seçtikleri önekleme eNOS 894 TT genotipi %1.3 eNOS 786 CC genotipi %0.9 oranında görülürken Saidi ve arkadaşlarının Tunus popülasyonunda yaptıkları çalışmada bu oranlar sırasıyla %18.5 ve %10.9 bulunmuştur. Genotipik özellikler toplumlar, ırklar arasında belirgin farklılık göstermektedir.

Çalışmamızda eNOS T786C gen polimorfizminin iskemik inme alt tipleri arasındaki dağılımı anlamlı farklılık gösterdi. TOAST sınıflamasına göre geniş arter ateroskleroza grubunda eNOS T786C gen polimorfizmini heterozigot ve homozigot genotipte taşıyan hastaların sayısı diğer gruplara göre istatistiksel anlamlı derecede daha sıklı ($p=0,037$). Çalışmamızda TOAST sınıflamasının alt gruplarında eNOS G894T gen polimorfizminin genotipik dağılımında farklılık tespit edilmedi.

Bizim çalışmamızda her iki polimorfizme ait alel frekansları ile inme alt tipleri arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak analiz ettik. eNOS G894T polimorfizminin dominant ve resesif alelleri ile inme riski arasında ilişki bulunmazken eNOS 786 C alelini taşıyan hastalarda geniş arter aterosklerozuna bağlı inme gelişme riskini istatistiksel anlamlılık derecesine ulaşmasa da 2,68 kat artmış bulundu ($p=0,071$). Bu sonuç Cheng ve ark. yaptığı çalışmanın sonucu ile uyumlu iken Saidi ve arkadaşları eNOS T786C polimorfizmini tek başına inme ile ilişkisiz bulmuş fakat eNOS G894T, eNOS 4 ab haplotipinin analizinde eNOS 786 C alelinin inme ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Hassan ve arkadaşları ile Majumdar ve ark. yaptıkları çalışmalarda ise eNOS T786C polimorfizminin inme riskini artırmadığı ve inme alt gruplarında dağılım farklılığı göstermediği sonucu ortaya çıkmıştır.

Çalışmamızda küçük damar oklüzyonuna bağlı inme ile hem eNOS T786C hem de eNOS G894T polimorfizmleri arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi. Mutant alel taşıyan genotiplerin dominant ve resesif alt gruplarında da küçük damar oklüzyonuna bağlı inme sıklığı farklılık göstermedi. Bu bulgu Güldiken ve ark, Majumdar ve ark, RP Grewal ve ark çalışmalarındaki bulgular ile uyumlu iken Elbaz A ve ark. eNOS 894 GG genotipinin iskemik inme riskini ve özellikle yüksek LDL seviyeleri ile birlikte ise lakün enfarkt alt tipinin görülme sıklığını artırdığı sonucuna varmıştır. Klaus Berger ve ark. ise çalışmalarında eNOS G894T polimorfizminin inme riskini artırdığı sonucuna ulaşmışlardır.

Her iki gen mutasyonunda olası haplotipler ile inme alt gruplarının ilişkisine bakıldığında 786C+894G haplotipinin her ne kadar istatistik anlamlı olmasa da geniş arter aterosklerozuna bağlı inme riskini 2.77 kat artırdığı tespit edildi ($p=0,061$). Bu sonuç Cheng ve ark. çalışmalarında ulaştıkları sonuç ile uyumludur. Çalışmamızda muhtemel haplotipler ile küçük damar oklüzyonuna bağlı inme riski arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi.

OCSP-Bamford sınıflamasına göre örneklemimizin %21.7'si LACİ, %36.7'si PACİ, %31.7'si TACİ, %10'u POCİ grubunda idi. Literatürde OCSP-Bamford sınıflaması ile eNOS gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştıran yeterli veri yoktur.

Bizim çalışmamızda OCSP-Bamford sınıflamasına göre alt gruplarda eNOS T786C ve eNOS G894T gen polimorfizminin dağılımında anlamlı farklılık yoktu. eNOS T786C polimorfizminin genotipik alt gruplarında yaş ortalamaları istatistiksel anlamlı farklılık göstermese de heterozigot genotipe sahip olan hastaların yaş ortalaması yüksek doğal tipte taşıyanların yaş ortalaması düşüktü. eNOS G894T gen polimorfizminin genotipik alt gruplarında yaş ortalamaları açısından farklılık tespit edilmedi. Literatürde inme hastalarında eNOS T786C ve eNOS G894T gen polimorfizmlerinin yaşla ilişkisini araştıran veriye rastlanmadı.

Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamaları beklendiği gibi küçük damar oklüzyonu grubunda en yüksek sebebi belirlenemeyen enfarkt alt grubunda en düşüktü ($p=0,005$). Tetkikleri tamamlanamayan ve genel durumu kötü olan hastaların sebebi belirlenemeyen infarkt alt grubunda yer almasının bu sonuca neden olduğu söylenebilir. Bamford klinik sınıflamasına göre Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamaları beklendiği gibi LACİ grubunda en yüksek TACİ grubunda en düşüktü ($p=0,001$).

Çalışmamızda eNOS G894T ve eNOS T786C gen polimorfizmlerinin genotipik alt gruplarında Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamaları arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı. Literatürde iskemik inme hastalarında eNOS G894T ve eNOS T786C gen polimorfizmlerinin hastaların Kanada Nörolojik Skala puanı ile ilişkisini araştıran veriye rastlanmadı.

Literatürde iskemik inme hastalarında mortalite ile eNOS G894T ve eNOS T786C gen polimorfizmlerinin ilişkisini araştıran veriye rastlanmadı. Bizim çalışmamızda hayatını kaybeden 10 hastada gen polimorfizmlerinin dağılımında anlamlı farklılık bulunmadı.

Çalışmamızda eNOS T786C gen polimorfizmi iskemik inme alt gruplarından geniş arter ateroskleroza ile anlamlı derecede ilişkili bulundu. Mutant alel geniş arter ateroskleroza grubunda hem heterozigot genotipte hem de homozigot genotipte daha sık görüldü. Her ne kadar istatistiksel anlamlı olmasa da eNOS geni 786 pozisyonunda C alelinin varlığının geniş arter ateroskleroza riskini 2,68 kat arttırdığı sonucu ortaya çıktı ($p=0,071$). Yine istatistiksel anlamlı olmasa da 786C+894G haplotipinin geniş arter ateroskleroza riskini 2,77 kat artırdığı görüldü ($p=0,061$).

Literatürdeki verilerin bir kısmı bizim bulgularımız ile uyumlu olsa da, verilerimizle uyuşmayan sonuçlar elde eden çalışmalar da mevcuttur. Genetik polimorfizmlerin frekansları ırklar arasında farklılık göstermektedir. Bu nedenle her popülasyon, kendi özellikleri dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Çalışmamızın handikaplarından biri kontrol grubumuzun olmaması, diğeri ise örneklem sayımızın sınırlı olmasıdır. Türkiye popülasyonunda endotelyal nitrik oksit sentaz genindeki polimorfizmler ile iskemik inme ilişkisini araştıran geniş tabanlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

- 1) eNOS T786C polimorfizminin genotipik dağılımı TOAST sınıflamasına göre inme alt tipleri arasında anlamlı farklılık gösterdi. Bu polimorfizme heterozigot veya homozigot sahip olan hastalarda geniş arter aterosklerozuna bağlı inme daha sık gelişti.
- 2) TOAST sınıflamasına göre inme alt tipleri arasında eNOS G894T polimorfizminin genotipik dağılımı anlamlı farklılık göstermedi.
- 3) eNOS T786C polimorfizmi için mutant alel dominant kabul edildiğinde istatistik anlamlılık derecesine yakın düzeyde olmak üzere mutant aleli taşıyan hastalarda geniş arter aterosklerozuna bağlı inme gelişme riskinin 2.68 kat artmış olduğu bulundu.
- 4) eNOS T786C polimorfizminin mutant aleli dominant ve resesif kabul edildiğinde küçük damar oklüzyonuna bağlı inme riskine etkisinin olmadığı tespit edildi.
- 5) eNOS G894T polimorfizminin mutant aleli dominant ve resesif kabul edildiğinde geniş arter aterosklerozuna ve küçük damar oklüzyonuna bağlı inme riskine etkisinin olmadığı tespit edildi.
- 6) Her iki gen polimorfizmi birlikte değerlendirildiğinde muhtemel haplotiplerden 786C+894G haplotipini taşıyan hastalarda istatistik anlamlılık derecesine yakın düzeyde olmak üzere geniş arter aterosklerozuna bağlı inme riskinin 2.77 kat arttığı tespit edildi.
- 7) Muhtemel haplotipler ile küçük damar oklüzyonuna bağlı inme riski arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi.
- 8) OCSP-Bamford sınıflamasına göre alt gruplarda eNOS T786C ve eNOS G894T gen polimorfizminin dağılımında anlamlı farklılık tespit edilmedi.
- 9) eNOS T786C ve eNOS G894T polimorfizminin genotipik alt gruplarında yaş ortalamaları istatistiksel anlamlı farklılık göstermedi.
- 10) Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı derecede küçük damar oklüzyonu grubunda en yüksek, sebebi belirlenemeyen enfarkt alt grubunda en düşük tespit edildi.

11) OCSP-Bamford klinik sınıflamasına göre Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi. Puan ortalaması LACİ grubunda en yüksek, TACİ grubunda en düşük tespit edildi.

12) eNOS G894T ve eNOS T786C gen polimorfizmlerinin genotipik alt gruplarında Kanada Nörolojik Skala puanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı.

13) Hayatını kaybeden hastalarda eNOS G894T ve eNOS T786C gen polimorfizmlerinin genotipik dağılımında anlamlı farklılık bulunmadı.

7. KAYNAKLAR

Adachi T, Wang XL. Association of extracellular-superoxide dismutase phenotype with the endothelial constitutive nitric oxide synthase polymorphism. FEBS Lett 1998;433:166-8.

Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ ve ark. Classification of Subtype of Acute Ischemic Stroke. Stroke 1993; 24(1):35-41.

Akar N: Klinik Moleküler Patolojiye Giriş. Birinci baskı, Ankara, A.Ü. Tıp Fakültesi Bilimsel Yayınlar Serisi, 2000;95-135.

Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İ.H. Nitrik Oksit ve Nörofizyopatolojik Etkileri. T. Klin Tıp Bilimleri. 2000; 20: 107-111.

Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG (2001) Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition, Biochem J. 1;357(Pt 3):593-615.

Ay H, Dalkara T: İskemik Penumbra ve Terapotik Zaman Aralığını Etkileyen Bahar S.Z: Beyin Kan Dolaşımının Anatomi ve Fizyolojisi, İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitabı, ÖGE A.E (ed), S:199-203-204, Nobel Tıp Kitabevleri, 2004.

Balkan S: Serebral Vasküler Anatomi, Klinik Nöroloji, Oğul E (ed), S:3, Nobel ve Güneş Kitabevi, 2002.

Balkan S: Serebral vasküler Anatomi, Serebrovasküler Hastalıklar, Balkan S (ed), S:1-11, Güneş Kitabevi, 2. Baskı, 2005.

Bamford J, Sandercock P, Dennis M ve ark. Classification and Natural History of Clinically Identifiable Subtypes of Serebral Infarction. The Lancet 1991;337:1521-1526.

Barbato JE, Tzeng E. Nitric oxide and arterial disease, J Vasc Surg. 2004;40(1):187-193.

Başaran, N. Tıbbi Genetik, 7. Baskı, Güneş ve Nobel Kitabevi. Bursa, 1999.

Berger K, Stögbauer F, Stoll M ve ark. The glu298asp polymorphism in the nitric oxide synthase 3 gene is associated with the risk of ischemic stroke in two large independent case-control studies Hum Genet 2007; 121:169–178.

Bogdan C Nitric oxide and the regulation of gene expression, Trends Cell Biol., 2001;11(2):66-75

Bradley SJ, Bernadette BA, Feng L ve ark. Stroke in the Young in the Northern Manhattan Stroke Study. Stroke 2002;33:2789-2793.

Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM. Neurology in Clinical Practice. Butterworth Heimemann- Elsevier, 5. Edition 2008 Chapter 55 A;1165-1225

Broderick JP, Brott TG, Tomsick T. Intracerebral Hemorrhage More than twice as common as subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 1993;78: 88–191.

Casas JP, Cavalleri GL, Bautista LE ve ark. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. Am J Epidemiol 2006;164:921–935.

Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K ve ark. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. Arterioscler Thromb 1994;14:753–9.

Chancellor AM, Glasgow GL, Ockelford PA ve ark. Etiology, prognosis, and hemostatic function after cerebral infarction in young adults. Stroke 1989;20:477-482.

Cheng J, Liu J, Li X ve ark. Effect of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase on ischemic stroke: A case-control study in a Chinese population. *Clinica Chimica Acta* 392 2008; 46–51.

Çoban O: İnme Sendromunun Ayırıcı Tanısı, İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitabı, ÖGE A.E (ed), S:221-222, Nobel Tıp Kitabevleri, 2004.

Djoussé L, Ellison RC, Beiser A ve ark. Alcohol consumption and risk of ischemic stroke: The Framingham Study. *Stroke* 2002;33(4):907-912.

Doevendans PA, Jukema W, Spiering W ve ark. Molecular genetics and gene expression in atherosclerosis, *Int J Cardiol.* 2001; 80(2-3):161-172.

Elbaz A, Amarenco P. Genetic susceptibility and ischaemic stroke. *Curr Opin Neurol* 1999;12:47-55

Elbaz A, Poirier O, Moulin T ve ark. Association Between the Glu298Asp Polymorphism in the Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Gene and Brain Infarction *Stroke* 2000;31:1634-1639.

Faktörler, Serebrovasküler Hastalıklar, Balkan S (ed), S:29-30-31-35, Güneş Kitabevi,2. Baskı, 2005.

Freedman JE Oxidative stress and platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:s11–s16.

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980; 288:373-6.

Geller DA, Billiar TR Molecular biology of nitric oxide synthases, Cancer Gerritsen ME. Genetic variations in vascular endothelial growth factor and endothelial nitric oxide synthase and their contributions to human disease, *Microcirculation*, 2005;12(1):129-140.

Grewal RP, Dutra AVC, Liao Y ve ark. The intron 4c allele of the NOS3 gene is associated with ischemic stroke in African Americans BMC Medical Genetics 2007, 8:76.

Güldiken B, Sipahi T, Guldiken S ve ark. Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in Turkish patients with ischemic stroke. Mol Biol Rep 2009 36:1539–1543

Hassan A, Gormley K,. O’Sullivan M ve ark. Endothelial Nitric Oxide Gene Haplotypes and Risk of Cerebral Small-Vessel Disease. Stroke 2004;35:654-659;

Hassan A, Markus H. Genetics and ischemic stroke. Brain 2000; 123,1784-1812.

Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J ve ark. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu2983Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. Circulation 1999; 100: 1515-1520.

Housman D. Molecular Medicine Human DNA Polymorphism, The New England Journal of Medicine, 1995;332(5):318-320.

Iadecola C. Nitric Oxide Participates in the Cerebrovasodilatation Elicited From Cerebellar Fastigial Nucleus. Am J Physiol Nov1992; 263: 1156-61.

Jan M. Friedman, Fred J Dill, Michael R. Genetik. The National Medical Series for Independent Study. Türkçe çeviri, editör Ferda Özkınay, Cihangir Özkınay. Saray Tıp Kitabevleri,1995, Bornova İzmir.

Jesung Moon, Suin Yoon, Eunkyung Kim ve ark. Lack of evidence for contribution of Glu298Asp (G894T) polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide levels. Thrombosis Research 2002;107: 129-134.

Kemmeren JM, Tanis BC, VanderBosh MA ve ark. Risk of arterial thrombosis in relation to oral contraceptives (RATIO) study: oral contraceptives and the risk of ischemic stroke. Stroke 2002;33(5):1202-1208.

Krespi Y, Bahar S.Z: İskemik Beyin Damar Hastalıklarında Tanı ve Tedavi Yaklaşımları, İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitabı, ÖGE A.E(ed), S:270-276, Nobel Tıp Kitabevleri, 2004.

Kumral E, Ozkaya B, Sagduyu A ve ark. The ege stroke registry: a hospital-based study in the Aegean region, Izmir, Turkey. Analysis of 2,000 stroke patients. Cerebrovasc Dis 1998;8:278-288

Kumral K, Kumral E. Santral Sinir Sisteminin Damarsal Hastalıkları. Ege Univ. Tıp Fak. Nöroloji ABD. 1993.

Kutluk K. İskemik İnme. Nobel Kitabevi. 2004.

Langhorne P, Stott DJ, Robertson L ve ark. Medical complications after stroke: a multicenter study. Stroke 2000; 31(6):1223–9.

Levin B. Genes VII. Oxford University Press, New York, 2000.

Li H and Förstermann U Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease, J Pathol, 2000;190: 244-254.

Lindley RI, Warlow C.P: İnterobserver Reliability of Clinical Classification of Acute Cerebral Infarction, Stroke 1993; 124 (12):1801-1804.

Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. Prog Cardiovasc Dis (USA) 1995; 38 (2): 87-104.

Lowenstein CJ, Dinerman JL and Snyder SH (1994) Nitric Oxide: A Physiologic Messenger, Ann Intern Med,120:227-237.

Lucas L, Soriano FG and Szabó C () Biology of nitric oxide signaling, Crit Care Med. 2000;28(4 Suppl):N37-N52.

Majumdar V, Nagaraja D, Karthik N ve ark. Association of Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms with Early-Onset Ischemic Stroke in South Indians. *J Atheroscler Thromb*, 2010;17:45-53.

Markus H, Ruigrok Y, Ali N ve ark. Endothelial Nitric Oxide Synthase Exon 7 polymorphism, Ischemic Cerebrovascular Disease, and Carotid Atheroma Stroke 1998;29:1908-1911.

Marsden PA, Heng HH, Scherer SW ve ark. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem*. 1993;268:17473-17488.

Massberg S, Sausbier M, Klatt P ve ark. Increased adhesion and aggregation of platelets lacking cyclic guanosine 3',5'-monophosphate kinase I. *J Exp Med* 1999;189:1255-64. *Metastasis Rev*, 1998;17(1):7-23.

Metzger IF, Sertorio JT, Tanus-Santos JE. Modulation of nitric oxide formation by endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes. *Free Radic Biol Med* 2007;43:987-992.

Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;30

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide. Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991;43: 109-42.

Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M ve ark. T-786-C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation*;99, 2864-2870.

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. İnsanlarda Genetik Varyasyon: Mutasyon ve Polimorfizm, Thompson & Thompson Tıbbi Genetik, 2005 6.Baskı, pp 79-89, Güneş Kitabevi, İstanbul.

Oğul E: İskemik Beyin Damar Hastalıkları, Klinik Nöroloji, S:16, Nobel & Güneş Tıp

Özdemir AO. Genç Stroklu Hastaya Yaklaşım. Türkiye Klinikleri. 2004; Vol 2 No:1:31-40.

Özdemir G: Serebrovasküler Hastalıklarda Strok'a Yaklaşım, Türkiye Klinikleri, 2004; Vol:2, No:1:1-14.

Öztaş S, Gül D, Tatar A (2005) İnsan Genomu: Genler ve DNA, Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci, 1(2):18-23.

Palmer R M J, Ashton D S, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesized nitric oxide from L-arginine. Nature.1988; 333: 644-6.

Passarge E. Renkli Genetik Atlası, Yüce Yayıncılık ve Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2000.

Puddu P, Cravero E, Puddu GM ve ark. Genes and atherosclerosis: at the origin of the predisposition, Int J Clin Pract. 2005;59(4):462-472.

Pulkkinen A, Viitanen L, Kareinen A ve ark Intron 4 polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with elevated blood pressure in type 2 diabetic patients with coronary heart disease, J Mol Med. 2000;78(7):372-379.

Radomski MW, Palmer RM, Moncada S.The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostocyclin and nitric oxide. Br J Pharmacol 1987; 92:639-46.

Roberts L, Counsell C. Assessment of clinical outcomes in acutestroke trials. Stroke Saatci I: İnmede Görüntüleme Yöntemleri, Serebrovasküler Hastalıklar, Balkan S (ed), S:217-238,Güneş Kitabevi, 2.Baskı, 2005.

Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP ve ark. Risk factors, AHA Conference Proceedings. Stroke 1997;28:1507-1517.

Saidi S, Mallat SG, Almawi WY ve ark. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b / a, and 786T>C gene polymorphisms and the risk of ischemic stroke. *Acta Neurol Scand*; 2010; 121: 114–119.

Sarıbas O, Topcuoğlu MA, Arsava EM. Akut iskemik inmede tedavi yaklaşımları. Balkan S (editor). *Serebrovaskuler hastalıklar*. Gunes kitabevi, 2005;289–305.

Schellinger PD, Kaste M, Hacke W. An update on thrombolytic therapy for acute stroke. *Curr Opin Neurol* 2004;17:69–77.

Stangl K, Cascorbi I, Laule M ve ark. High CA repeat numbers in intron 13 of the endothelial nitric oxide synthase gene and increased risk of coronary artery disease. *Pharmacogenetics*, 2000;10, 133–140.

Suvara K, Wattanapitayakul, Michael J. Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Trends in Pharmacological Sciences* 2001;Vol.22 No 7.

Szolnoki Z, Havasi V, Bene J ve ark. Endothelial nitric oxide synthase gene interactions and the risk of ischaemic stroke. *Acta Neurol Scand* 2005;111: 29–33.

Tajouri L, Martin V, Ovcarić M ve ark. Investigation of inducible nitric oxide synthase gene (NOS2A) polymorphism in a multiple sclerosis population. *Brain Res Bull* 2004;64: 9- 13.

The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group.

Togay I, İnme komplikasyonları. Balkan S (Editor). *Serebrovaskuler hastalıklar*, Güneş kitabevi, 2005;345-346.

Tuomilehto J, Rastenyte D, Jousilahti P ve ark. Diabetes mellitus as a risk factor death from stroke: Prospective study of the middle-aged Finnish population. *Stroke* 1996;27:210-215.

Utku U, Çelik Y: İnmede Etiyoloji, Sınıflandırma ve Risk Faktörleri, Serebrovasküler Hastalıklar, Balkan S(ed), S:57-58-59-60-61-62-63-65-66, Güneş Kitabevi, 2. Baskı, 2005.

Vini G, Khurana MD, Youvraj R ve ark. Endotelial nitric oxide synthase T786C Single nucleotide polymorphism. A Putative genetic marker differentiating small versus large ruptured intracranial aneurysms. Stroke November 2003; 2555-2559.

Wang XL and Wang J. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Sequence Variations and Vascular Disease, Molecular Genetics and Metabolism 2000;70, 241–251.

Wardlaw JM. Carotid imaging for secondary stroke prevention in routine practice. International Journal of Stroke. 2008;3: 20–32.

Willmot M, Gray L, Gibson C ve ark. A systematic review of nitric oxide donors and L-arginine in experimental stroke; effects on infarct size and cerebral blood flow. Nitric Oxide 200512:141–149.

Yaltkaya K, Balkan S, Oğuz Y. Nöroloji Ders Kitabı. Palme Yayıncılık. 1996

Yemişçi M, Gürer G, Dalkara T: İskemik İnmede Gelişen Fizyopatolojik Olaylar, Türkiye Klinikleri, Nöroloji Dergisi, Serebrovasküler Hastalıklar Özel Sayısı, Özdemir G (sed), 2004;S:22-23-24-25-26.

You RX, McNeil JJ, O'Malley HM ve ark. Risk factors for stroke due to cerebral infarction in young adults. Stroke 1997;28:1913-1918.