



**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL GLOBAL SEREBRAL İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARINDA DEKSPANTENOL'ÜN BEYİN DOKUSU ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Sarp ŞAHİN

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. S. Çağatay ÖNAL**

MALATYA-2021



**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL GLOBAL SEREBRAL İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARINDA DEKSPANTENOL'ÜN BEYİN DOKUSU ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**SARP ŞAHİN
ORCID ID: 0000 0002 1501 8313**

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. S. Çağatay ÖNAL**

MALATYA-2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Serebovasküler Hastalıklarda Epidemiyoloji ve Etyoloji	3
2.2. İskemik İnmelerin Sınıflandırılması	4
2.2.1. Büyük Damar Aterotrombotik Tıkanma	4
2.2.2. Küçük Damar Laküner tıkanma	4
2.2.3. Kardiyoembolik Tıkanma.....	4
2.2.4. Diğer Sebeblere Bağlı Tıkanma	4
2.3. İskemik İnmede Risk Faktörleri	5
2.3.1. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri	5
2.3.2. Kanıt Düzeyi Yüksek Değiştirilebilir Risk Faktörleri	5
2.3.3. Kanıt Düzeyi Düşük veya Potansiyel Değiştirilebilir Risk Faktörleri	5
2.4. Serebral Arteriyel Kan Dolaşımının Anatomisi	6
2.4.1. Arteria Karotis Interna.....	8
2.4.2. Arteria Vertebralis	9
2.4.3. Willis Poligonu.....	9
2.5. Kemirgenlerde Deneysel Serebral İskemi Modelleri	10
2.6. İskemik İnmede Patofizyoloji	10
2.7. Deneyde Kullanılan Temel Moleküller Hakkında Genel Bilgi.....	14
2.7.1. Dekspantenol	14
2.7.2. Pantotenik Asit (Vitamin B5).....	14
2.7.3. Glutasyon (GSH)	15
2.7.4. Malondialdehit (MDA).....	16
2.7.5. Superoksit Dismutaz (SOD)	17
2.7.6. Katalaz (CAT)	17

2.7.7. Glutasyon Peroksidaz (GPx).....	17
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Anestezi.....	19
3.2. Rota-rot, Akselere-rot Testi	19
3.3. Serebral İskemi Modeli ve Uygulaması	20
3.4. Deney Grupları.....	21
3.5. Histopatoloji ve Biyokimyasal Analizler için Doku Örneklerinin Alınması	22
3.5.1. Doku Redükte Glutasyon (GSH) Ölçümü	22
3.5.2. Doku Malondialdehid (MDA) Ölçümü	22
3.5.3. Doku Superoksid Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü	23
3.5.4. Doku Katalaz (CAT) Aktivitesinin Ölçülmesi	23
3.5.5. Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesinin Ölçümü	23
3.6. İstatiksel Analizler	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. Gruplar Arasındaki Rota- Rot Testi Sonuçları.....	25
4.2. Gruplar Arasındaki Akselere - Rot Testi Sonuçları	26
4.3. Gruplar arasındaki doku GSH, SOD,MDA,GPx ve CAT sonuçları	28
4.4. Grupların beyin parankiminin histopatolojik incelemesi	29
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇLAR.....	37
KAYNAKLAR	39
EKLER.....	48
EK-1. Etik Kurul Kararı	48

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, üzerimde büyük emekleri olan tez danışmanım ve Ana Bilim Dalı Başkanı hocamız Prof. Dr. S. Çağatay Önal'a, kliniğimizden ayrılan değerli hocalarım Prof. Dr. Arif Önder ve Doç. Dr. M. Namık Öztanır'a, nöroşirurji anabilim dalı öğretim üyesi hocalarım, Prof. Dr. Arif Aladağ, Doç. Dr. M. Akif Durak ve Dr. Öğretim Üyesi Bora Tetik'e, tez çalışmamda emeği geçen tüm öğretim üyesi hocalarıma, asistanlığım süresince beraber çalıştığım hepsi birbirinden değerli asistan arkadaşlarıma ve bana her zaman destek olan kıymetli aileme içtenlikle teşekkür ederim.

Dr. Sarp ŞAHİN

ÖZET

Deneysel Global Serebral İskemi-Reperfüzyon Hasarında Dekspantenol'ün Beyin Dokusu Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Bu çalışmada deneysel global serebral iskemi-reperfüzyon hasarında dekspantenolün koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal/Metot: Çalışmada ağırlıkları 200 - 250 gram arasında olan, 3 - 4 aylık 32 adet dişi Wistar-Albino rat kullanıldı ve ratlar herbiri 8'er hayvan içeren 4 gruba ayrıldı. Grup 1 Sham grubu. Grup 2, bilateral karotid arterlerin klemplenmesi ile 30 dk serebral iskemi, ardından 72 saat reperfüzyon oluşturulan ve ilaç uygulanmayan grup (IR). Grup 3, 30 dk serebral iskeminin ardından 72 saat reperfüzyon boyunca günde 1 defa 500 mg/kg dekspantenol uygulanan grup (IR+DXP). Grup 4, serebral iskemi yapılmadan 3 gün öncesinden başlayarak günde 1 defa 500 mg/kg dekspantenol uygulanan grup (DXP+IR). 72 saat reperfüzyon sonunda ratlar rota-rot, akselere-rot testlerinin yapılmasının ardından dekapite edilerek beyin dokuları çıkartıldı, histopatolojik olarak incelendi ve doku biyokimyasal parametreleri (SOD, CAT, GPx, GSH, MDA) değerlendirildi.

Bulgular: Rota-rot, akselere-rot testleri ile motor beceri fonksiyonlarındaki değişimler IR grubunda Sham grubuna göre bozulurken, IR+DXP ve DXP+IR grubunda IR grubuna göre anlamlı olarak düzeldi. ($p<0,05$) CAT, SOD ve GPx enzimlerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p>0,05$). MDA, IR grubunda Sham grubuna göre artarken, IR+DXP grubunda IR grubuna göre anlamlı olarak azaldı. ($p<0,05$) GSH seviyesi IR grubunda Sham grubuna göre azalırken IR+DXP grubunda IR grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0,05$). Histopatolojik olarak beyin dokuları nöronal dejenerasyon açısından değerlendirildi, IR grubunda Sham grubuna göre dejenerasyon nöron sayısı belirgin olarak artarken, IR+DXP grubunda IR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlenmiştir. ($p<0,05$)

Sonuç: Histopatolojik, motor beceri testleri ve serebral dokunun biyokimyasal parametrelerinin sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, iskemi sonrası ve reperfüzyon boyunca dekspantenol tedavisi uygulanan IR+DXP grubunda dekspantenolün nöroprotektif bir etkisi olabileceği düşünüldü. Serebral iskemiden önce dekspantenol tedavisi uygulanan DXP+IR grubunun ise sonuçlarda her ne kadar nisbi bir iyileşmeye neden olsa da bu iyileşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı için serebral iskemi öncesi verilen dekspantenolün nöroprotektif etkisi olmadığı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Dekspantenol, serebral iskemi, reperfüzyon hasarı, rat beyini

ABSTRACT

The Effects of Dexpanthenol on Brain Tissue in Experimental Global Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury

Objective: In this study, we aimed to investigate the protective and therapeutic effects of dexpanthenol in experimental global cerebral ischemia-reperfusion injury.

Materials and Methods: In the study, 32 female Wistar-Albino rats weighing between 200-250 grams, 3-4 months old, were used and the rats were divided into 4 groups, each containing 8 animals. Group 1 is the Sham group. Group 2 is the group in which 30 minutes of cerebral ischemia was created by clamping the bilateral carotid arteries, followed by 72 hours of reperfusion, and no drug was administered (IR). Group 3 is the group in which dexpanthenol was administered 500 mg / kg once a day for 72 hours of reperfusion after 30 minutes of cerebral ischemia (IR+DXP). Group 4 is the group in which dexpanthenol 500 mg / kg was administered once a day starting 3 days before cerebral ischemia (DXP+IR). At the end of 72 hours of reperfusion, the rats were decapitated after performing the rota-rod and accelerated-rod tests, and their brain tissues were removed, histopathologically examined and tissue biochemical parameters (SOD, CAT, GPx, GSH, MDA) were evaluated.

Results: While changes in motor skill functions with the rota-rod, accelerated-rod tests deteriorated in the IR group compared to the Sham group, it improved significantly in the IR + DXP and DXP + IR group compared to the IR group ($p<0,05$). There was no significant difference between the groups in terms of CAT, SOD and GPx enzymes ($p>0,05$). While MDA increased in IR group compared to Sham group, it decreased significantly in IR + DXP group compared to IR group ($p<0,05$). While GSH level decreased in IR group compared to Sham group, it was found to be significantly higher in IR + DXP group compared to IR group ($p<0,05$). Histopathologically, brain tissues were evaluated in terms of neuronal degeneration. While the number of degenerated neurons increased significantly in the IR group compared to the Sham group, a statistically significant decrease was observed in the IR + DXP group compared to the IR group ($p<0,05$).

Conclusion: When the results of histopathological, motor skill tests and biochemical parameters of cerebral tissue are evaluated together, dexpanthenol can have a neuroprotective effect in the IR + DXP group treated with dexpanthenol after ischemia and during reperfusion, while the DXP + IR group treated with dexpanthenol before cerebral ischemia caused a relative improvement in results. Although this improvement was not statistically significant, it was thought that dexpanthenol given before cerebral ischemia had no neuroprotective effect.

Key words: Dexpanthenol, cerebral ischemia, reperfusion injury, rat brain

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AF	: Atrial Fibrilasyon
ATP	: Adenozin Trifosfat
BOS	: Beyin Omirlik Sıvısı
CAT	: Katalaz
CoA	: Ko- enzim A
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DXP	: Dekspantenol
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Redükte Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
H-E	: Hemotoksilen Eozin
HT	: Hipertansiyon
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
IP	: İntraperitoneal
MDA	:Malondialdehit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
O₂	: Oksijen
O₂⁻	: Oksijen Radikali
OH⁻	: Hidroksil Radikali
PA	: Pantotenik Asit
PMNL	: Polimorfonükler Lökosit
RPM	: Revolution Per Minute(Dakikada Devir Sayısı)
SKA	: Serebral Kan Akımı
SOD	: Süperoksid Dismutaz

SOR : Serbest Oksijen Radikali

SF : Serum Fizyolojik

tGS : Total Glutasyon

WHO : Dünya Sağlık Örgütü



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Grup numaraları ve 3 günlük reperfüzyonun ardından yaşayan rat sayısı	22
Tablo 4.1. Gruplar Arasındaki Rota- Rot Testi Sonuçları	25
Tablo 4.2. Gruplar Arasındaki Akselere - Rot Testi Sonuçları.....	26
Tablo 4.3. Gruplar arasındaki doku GSH, SOD, MDA, GPx ve CAT sonuçları.....	28
Tablo 4.5. Gruplar arasındaki dejenere nöron sayısı.....	30



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Serebral arterler ve Willis poligonunun şematik gösterimi.....	7
Şekil 2.2. Wilis Poligonunun şematik gösterimi.....	10
Şekil 2.3. İskemi Yaralanmasındaki Zonların Şematik Gösterimi	11
Şekil 2.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Biyokimyası	13
Şekil 2.5. Dekspantenol Şematik gösterimi.....	14
Şekil 2.6. Glutasyon (GSH) şematik gösterimi.....	15
Şekil 2.7. Malondialdehit(MDA) Şematik gösterimi	16
Şekil 3.1. Ratlara rota-rot cihazında denge testi uygulanması	20
Şekil 3.2. Ratların bilateral karotis arterlerinin klemplenmesi.	21
Şekil 4.1. Gruplar arasındaki rota- rot ve akselere- rot testi sonuçları	27
Şekil 4.2. Gruplar arasındaki biyokimyasal doku analiz sonuçları	29
Şekil 4.3. Sham, IR, DXP+IR ve IR+DXP gruplarında serebral korteksin görünümü.....	31

1. GİRİŞ

Serebral iskemi, dünyada hastalıklara bağlı görülen ölümler ve sakatlıkların en sık nedenlerinden bir tanesidir (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) mevcut olan tanımına göre inme; vasküler kaynaklı bir neden haricinde başka bir neden olmadan, serebral, spinal kord ya da retinada, ani başlayıp, fokal veya global serebral fonksiyon bozukluğuna yol açan, 24 saat ya da daha uzun sürebilen, sakatlığa veya ölüme neden olabilen bir durum olarak tanımlanır (2). Batılı toplumlarda inmelerin yaklaşık olarak, %85'i iskemik, %15'i hemorajik nedenlerle ortaya çıkar ve bütün nörolojik hastalıklar arasında en yaygın olarak görülen ve en çok ölüme neden olan grubu oluşturur (3).

İnme (stroke), dünyada koroner arter hastalığı ve habis hastalıklardan sonra gelen, üçüncü sıradaki ölüm nedenidir. Günümüzde, toplumdaki yaşlı nüfus oranının artışına bağlı olarak, inme ve inmenin sebep olduğu komplikasyonlarla ilişkili ölümlerin sayısında da bu duruma paralel bir artış görülmektedir. İnme, yalnızca nörolojik bir problem olmanın ötesinde, psikiyatrik ve diğer birçok ek tıbbi komplikasyona neden olan bir hastalıktır. Kardiyopulmoner ve metabolik bozukluklar, anksiyete bozukları ve depresyon, gastrointestinal kanamalar, enfeksiyonlar, venöz tromboembolizm, bası yaraları ve malnutrisyon, inme sonrasında görülen önemli komplikasyonlar olarak sayılabilir. Hastalığın tedavisinin ve taburculuk sonrası rehabilitasyonunun getirdiği maliyetlerin yanısıra, üretimin azalmasındaki rolü göz önünde bulundurulduğunda inmeye bağlı ekonomik kayıpların önemli seviyelere ulaştığı anlaşılmaktadır (4). Dünya ölçeğinde inme, total sağlık giderlerinin %2-4'ünü, gelişmiş batılı ülkelerde ise %4'ün den fazlasını oluşturmaktadır (5).

Serebral iskemi, altta yatan etyolojiye bağlı olarak fokal ya da global şekilde meydana gelebilir. Global serebral iskemi kardiyak arrest ya da subaraknoid kanama sonrasında oluşan akut ilerleyici beyin ödemi sonucunda görülebilirken, fokal serebral iskemi anterior ve orta serebral arterlerin embolik tıkanmalarında, kafa travmaları sonrasında ve subaraknoid kanama sonrası oluşan lokal vazospazma bağlı oluşabilir (6, 7). Serebral iskemi, bir çok farklı etyolojik nedene bağlı olarak, serebral kan akımının (SKA) görece azalması ya da tam olarak durması neticesinde oksijen, ATP ve glukoz gibi enerji üretiminde kullanılan substratların tükenmesi ile başlayıp, nöral dokunun harabiyeti ile sonlanan bir olaylar silsilesinden oluşmaktadır (6). Reperfüzyon sonucu

oluşan hasardan, bir çok farklı mekanizma sorumlu iken, temel olarak serbest oksijenin hücre içine hızla girmesi ve sonrasında ortaya çıkan serbest oksijen radikelleri (SOR) sorumlu tutulmaktadır (7). Hücresel yapı taşlarından olan proteinler, nükleik asitler ve hücre membran lipidleri serbest oksijen radikallerine karşı duyarlılığı en fazla olan yapılar olarak bilinmektedir. Serbest radikallerin hasarına bağlı olarak hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleri okside olarak organellerde malonildialdehit (MDA) şeklinde birikir. Dokuların reperfüze olmasıyla oluşan hasar iskemiyle kıyaslandığında, reperfüzyon hasarının iskemiye bağlı hasara oranla çok daha ağır ve ciddi olduğu görülür (8, 9, 10). Oksidatif metabolizma sırasında oluşan serbest oksijen radikallerine bağlı hasarın önlenmesinde, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi oldukça önemli hücre içi antioksidan enzimler rol oynarlar (11).

Dekspantenol (D - pantenol; (+) - 2, 4 - dihidroksi - N - 3 - hidroksipropil 3, 3 dimetiltiriamid) (DXP) pantotenik asitin (PA) alkolik bir analogudur, aynı zamanda provitamin B5 olarak bilinir. Dokular içinde pantotenik aside (PA) okside olur (12). Pantotenik asit ve türevlerinin hücre içi redükte glutatyon (GSH), Koenzim A (Co A) özellikle mitokondrial Koenzim A ve adenosin-5'-trifosfat (ATP) sentezini artırdığı iyi bilinmektedir (13). Böylece Pantotenik Asid (PA) epitelizasyonu, anti-inflamatuvar cevabı ve antioksidanları artırır. Tüm bunlar, oksidatif stres ve inflamatuvar cevaba karşı, hücre savunması ve tamir sistemlerinde önemli bir rol oynar (14).

Geçmiş çalışmalar göz önüne alınarak, sıçanlarda deneysel global beyin iskemisi yaratmak suretiyle, iskemi reperfüzyon hasarı üzerine Dekspantenol'ün nöroprotektif etkilerinin motor beceri ve uyum testleri (rota-rot ve akselere-rot testi), histopatoloji ve biyokimyasal analizler (MDA, SOD, CAT, GPx, redükte glutatyon (GSH)) yardımı ile araştırılması amaçlanmıştır. Sıçanlarda her iki arteria karotis kommunislerin eş zamanlı olarak kliplenmesi ile serebral akımın azalması ya da tamamen kesilmesi, serebral iskemi patofizyolojisini çalışmak için kullanılan deneysel yöntemlerden biridir (15). Kolay uygulanabilmesi ve kraniektomiye ihtiyaç olmaması nedeniyle çalışma- mızda bu model tercih edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serebrovasküler Hastalıklarda Epidemiyoloji ve Etyoloji

İnme, dünya genelinde koroner arter hastalığı ve habis hastalıkların ardından üçüncü sıradaki ölüm nedeni olmakla birlikte, sakatlığa neden olan hastalıklar içerisinde birinci sırayı alır (16). ABD' deki mevcut inme hastası sayısı toplamda 7 milyon olup, yılda ortalama 795 bin kişi inme geçirmektedir. Bu inmelerin 610 bin kadarını ilk inmeler, geriye kalan 185 bin inmeyi ise tekrarlayan vakalar oluşturmaktadır. Ortalama olarak her 40 saniyede bir kişi inme geçirmekte ve her 19 ölümün bir tanesi inme nedeniyle olmaktadır (17). 2017 yılında yapılan bir araştırmaya göre inme kaynaklı en yüksek ölüm oranları Rusya ve Kazakistan' da 124-174/100.000 ile görülürken, en düşük ölüm oranı ise 25/100.000 ile Batı Avrupa, Kuzey Amerika ve Orta Amerika 'da görülmektedir (18).

Türkiye'de Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Enstitüsü'nün 2009 ile 2016 yılları arasında yapmış olduğu ve serebrovasküler hastalıklar için en kapsamlı epidemiyolojik araştırmalardan biri olarak kabul edilen Türkiye Hane Halkı Sağlık Araştırması' na göre, serebrovasküler hastalıklar, mortalite nedenleri içinde, %15 lik oranıyla, %22 oranla ilk sırayı alan kardiyovasküler hastalıkların ardından ikinci sırayı almaktadır (19).

Serebrovasküler hastalıklar başlıca iskemik ve hemorajik olarak iki gruba ayrılır. İskemik inme bu grubun büyük kısmını oluşturur ve beyin damarı ya da beyine giden bir damarın tıkanması sonucu, damarın beslediği beyin bölgesinde gerekli oksijen ve glikozun azalması sonucu fonksiyon kaybına neden olur. Hemorajik inme ise beyin parankimi içerisine kanama ya da subaraknoid kanama şeklinde ortaya çıkar ve benzer bir hasara yol açar. Serebrovasküler hastalıkların alt gruplarına göre görülme sıklığı; serebral iskemik % 60-80, intraparaknoidal hemorajiler % 10- 15 ve subaraknoid kanama % 3-4 şeklindedir. Her grup hastalığın tedavileri ciddi farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle doğru ve hızlı tanının ardından tedaviye bir an önce başlanması çok önemlidir (20, 21, 22).

Ülkemizde yapılan inme hastalığının risk faktörleri ve genel özelliklerinin araştırıldığı çok merkezli ve hastane tabanlı bir araştırmada, iskemik inme oranı % 72, hemorajik inme oranı ise % 28 olarak bulunmuştur (23). Hemorajik inme oranının ülkemizde batı toplumlarına göre daha fazla görülmesinin nedeni olarak, hemorajik

inme için majör risk faktörü olarak kabul edilen hipertansiyonun, yeterince doğru tanı alamaması ve tedavisindeki aksamaların olduğu düşünülmektedir (24).

2.2.İskemik İnmelerin Sınıflandırılması

İskemik inme kompleks bir hastalık olup, tıkanan damara ve tıkanıklığın oluş mekanizmasına göre birkaç ana hastalık grubundan söz edilebilir.

2.2.1. Büyük Damar Aterotrombotik Tıkanma

İskemik inmelerin % 20 sini oluşturur. Arteria karotis interna, arteria vertebralis ya da arteria basilaris gibi büyük damarlarda veya beynin orta büyüklükteki damarlarında görülebilir. Bu tür tıkanmalar, damar duvarı içerisindeki aterosklerotik bir plağın giderek büyüyerek damar duvarını daraltması ve kan akımının bozulması sonucu plağın olduğu yerde oluşan bir trombüsün koparak daha distal bir yerde tıkanmaya neden olmasıyla oluşur. Bazı vakalarda aterosklerotik bir plak olmadan da hiperkoagülopatiyeye bağlı olarak bu şekilde bir tıkanma meydana gelebilir.

2.2.2. Küçük Damar Laküner tıkanma

İskemik inmelerin %40'ını oluşturur. İntraserebral perforan arterlerdeki vaskulopatiler ve lipohyalinozis gibi bozukluklar nedeniyle görülebilmektedir. Bazal gangliyonlar, kapsüla interna ve beyin sapı gibi subkortikal alanlarda küçük enfarktlara neden olur. Enfarkt sonrasında oluşan alana lakün adı verilir.

2.2.3. Kardiyoembolik Tıkanma

Serebrovasküler tıkanmaların %20'lik kısmını oluşturan patolojidir. Yarıdan fazlası atrial fibrilasyona bağlı olarak oluşur. Genellikle arteria serebri media veya vertebrobasilar sistemin dallarının tıkanmasına neden olur. Arkus aortadaki plaklar, yakın dönemde geçirilmiş miyokard enfarktüsü, sol ventrikül yetmezliği ve kapak hastalıkları kardiyoembolik inme için risk faktörleridir.

2.2.4. Diğer Sebeblere Bağlı Tıkanma

Fibromusküler displazi, damar diseksiyonu, moya moya hastalığı ve etyolojisi saptanamayan nedenlerle oluşan %20'lik iskemik inme grubunu oluşturur (20).

2.3. İskemik İnmede Risk Faktörleri

İskemik inmede risk faktörleri inmenin çeşidine, risk faktörünün değiştirilebilirliğine ve kanıt düzeyi gözönüne alınarak bir sınıflandırmaya tabi tutulabilir.

2.3.1. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri

- İleri yaş
- Kadın cinsiyet
- Siyahi ırk
- Aile hikayesi
- Düşük doğum ağırlığı (25)

2.3.2. Kanıt Düzeyi Yüksek Değiştirilebilir Risk Faktörleri

- Sigara içme
- Hipertansiyon (HT)
- Diabetes mellitus (DM)
- Hiperlipidemi
- Atrial fibrilasyon (AF)
- Karotis stenozu
- Orak hücreli anemi
- Postmenapozal hormon replasmanı
- Kötü beslenme alışkanlığı
- Fiziksel inaktivite
- Obezite
- Diğer kardiyak hastalıklar (25)

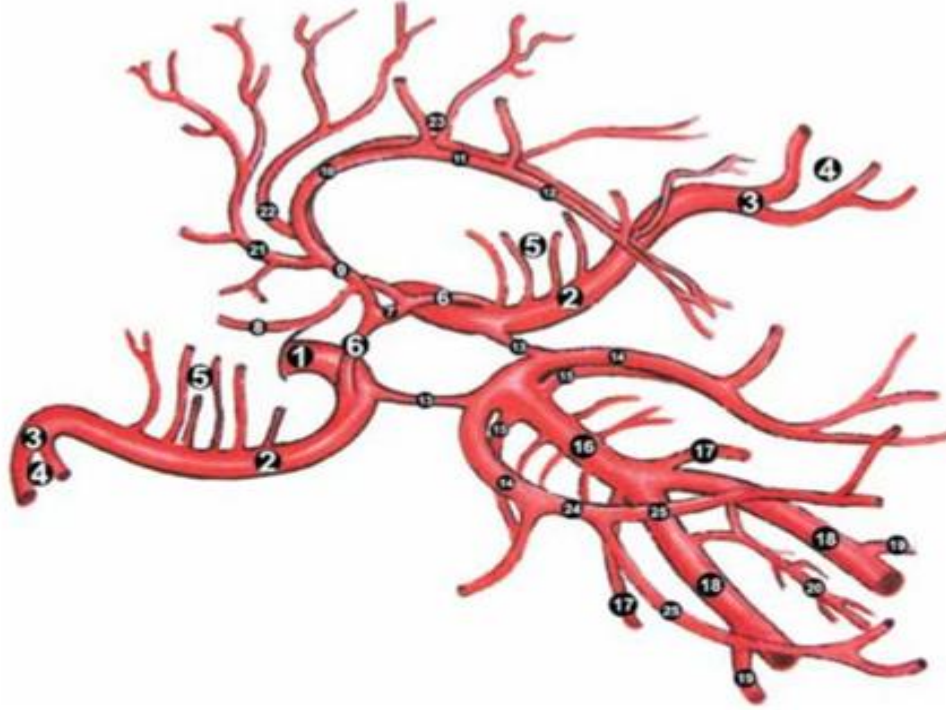
2.3.3. Kanıt Düzeyi Düşük veya Potansiyel Değiştirilebilir Risk Faktörleri

- Alkol kötüye kullanımı
- Metabolik sendrom

- Oral kontraseptif kullanımı
- İlaç kötüye kullanımı
- Hiperhomosisteinemi
- Hiperkoagülopati
- Uyku apne sendromu
- Migren
- İnflamasyon
- Enfeksiyon
- Yüksek lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2
- Yüksek lipoprotein a (25)

2.4. Serebral Arteriyel Kan Dolaşımının Anatomisi

Serebral arteriyel dolaşım, arkus aortadan köken alan iki karotis ve iki vertebral arter tarafından sağlanmaktadır. Karotis arterler beyin kan akımının % 80' ini sağlar ve beynin anterior bölümünde ön sirkülasyonu oluştururken, vertebrobaziller arterler posterior sirkülasyonun oluşmasından sorumludur (26).



1- İnternal karotid arter **2-** Orta serebral arter M1 dalı **3-** Orta serebral arter bifurkasyonu **4-** Orta serebral arter M2 dalı **5-** Lentikülostriat arterler **6-** Anterior serebral arter A1 dalı **7-** Anterior komunikan arter **8-** Frontopolar arter **9-** Anterior serebral arter A2 dalı **10-** Anterior serebral arter A3 dalı **11-** Anterior serebral arter A4 dalı **12-** Anterior serebral arter A5 dalı **13-** Posterior komunikan arter **14-** Posterior serebral arter P1 dalı **15-** Superior serebellar arter **16-** Baziler arter **17-** Anterior inferior serebellar arter **18-** Vertebral arter **19-** Posterior inferior serebellar arter **20-** Anterior spinal arter **21-** Kallosomarginal arter **22-** İnternal frontal arter **23-** Parasagittal arter **24-** Posterior serebral arter P2 dalı **25-** Posterior serebral arter P3 dalı

Şekil 2.1. Serebral arterler ve Willis poligonunun şematik gösterimi (27)

Serebral arterler fonksiyonel olarak iletici ve besleyici arterler olmak üzere iki gruba ayrılır. Arteria karotis interna, arteria serebri media, arteria serebri anterior ve trunkus bazilaris gibi büyük arterler iletici arterler sınıfında yer alırken, bu iletici arterlerin uç ve perforan dalları beyin parankiminin beslenmesinden asıl sorumlu olan damarsal yapılardır ve besleyici arterler olarak adlandırılırlar. Besleyici arterler end-arter olmaları dolayısıyla tıkanıklarında Willis Poligonunun kollateral akımından faydalanamazlar ve tromboembolik olaylar sonucunda ortaya çıkan oklüzif serebral iskemide önemli bir rol oynarlar. Willis Poligonu anterior ve vertebrobaziler sistemi birbirine bağlayan büyük bir anastomoz halkasıdır ve suprasellar ve interpedinkuler sistem içerisinde bulunur (28).

2.4.1. Arteria Karotis Interna

Arteria karotis kommunisin servikal bölgede verdiği iki uç daldan birisidir. Arteria karotis kommunis solda aortadan, sağda ise brakiosefalik turunkustan çıkar. Arteria karotis interna, arteria karotis komunislerin servikal bölgedeki bifurkasyon noktasından başlar ve petroz kemik hizasında kranial boşluğa girer.

Arteria karotis interna yedi segmentte incelenir.

C1 (Servikal segment): Arteria karotis interna bu bölgede herhangi bir dal vermez.

C2 (Petroz segment): Arteria karotis internanın petröz kemik içerisinde seyrettiği kısımdır. Bu bölgede a. karotikotimpanika ve a.canalispterigoidei (vidian arter) dallarını verir.

C3 (Lacerum segmenti): Arteria karotis internanın foramen lacerum üzerinden petrolingual ligamente kadar olan kısmını tanımlar. Ekstra duraldır ve herhangi bir dal vermez.

C4 (Kavernöz segment): Arteria karotis internanın petrolingual ligamentten, proksimal dural halkaya kadar olan kısmını tanımlar ve buradaki seyri esnasında her iki tarafında kavernöz sinüs ile çevrilidir, etrafında sempatik plexus vardır ve dış tarafından nervus abducens geçer. Arteria karotis interna bu bölgede meningohipofizeal trunkus ve inferolateral trunkus dallarını verir.

C5 (Klinoid segment): Proksimal ve distal dural halka arasında kalan kısımdır kısa bir segmenttir, distal dural halkadan sonraki seyri esnasında subaraknoid aralığa girerek intradural hale gelir herhangi bir dal vermez.

C6 (Oftalmik segment): Distal dural halkadan çıkan arteria karotis interna burada subaraknoid aralığa girer ve intradural hale gelir. Buradan itibaren posterior kommunikan arter ayrılana kadar olan kısma oftalmik segment ismi verilir. Bu segmentten oftalmik arter ve superior hipofizeal arter çıkar.

C7 (Komünikan segment): Optik sinir ve okülomotor sinir arasında seyreden bu segment posterior kommunikan arter ile arteria karotis internanın bifurkasyon bölgesi arasında kalır. Bu segmentten posterior kommunikan arter ve anterior koroidal arter çıkar.

Arteria karotis interna kafa kaidesinde arteria serebri anterior ve arteria serebri media olmak üzere iki dala ayrılır. Bilateral arteria serebri anteriorlar arteria

komunikans anterior vasıtasıyla birbirleri ile birleşirler. Arteria karotis interna ile iki uç dalı (arteria serebri anterior ve arteria serebri media) ve arteria komunikans anteriorun hepsine birden karotis sistemi ya da ön sistem adı verilir (29, 30).

2.4.2. Arteria Vertebralis

Arteria subklaviadan çıktıktan sonra 6. servikal vertebradaki foramen transversiumlarından ilerleyerek atlasdan çıkar. Sonrasında atlanto-oksipital membranı delerek foramen magnumdan kranial boşluğa girerler. Lateral serebellomeduller sistemden geçerek hipoglossal lifçiklerden anteromediale doğru ilerleyerek ponto-meduller sulkusa ulaşır ve karşı vertebral arter ile birleşerek baziller arteri oluştururlar. Arteria basilaris ponsun ön yüzünde sulkus basilaris içinde yukarıya doğru çıkar ve aa.pontis, a.labirenti, a.inferior serebelli, arteria serebri posterior dallarını verir. Arteria vertebralis'ler, a.basilaris ve uç dallarına (arteria serebri posterior) vertebro-basiler sistem ya da arka sistem adı verilir (29-30).

Arteria Vertebralis dört segmentte incelenir.

V1 (Pre-foraminal segment): Vertebral arterin subklaviyan arterden köken aldığı yer ile 6. servikal vertebradaki transvers foramene girdiği yer arasında kalan bölümüdür.

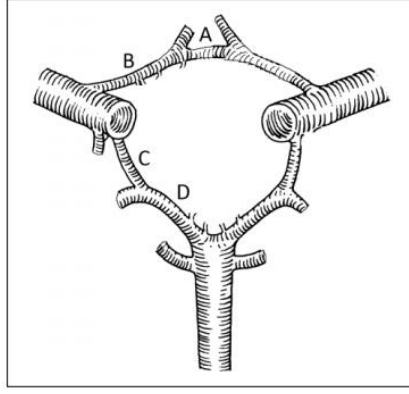
V2 (Foraminal segment): Vertebral arterin, C2-C6 vertebralar arasındaki transvers foramenler içerisinde seyreden kısmıdır.

V3 (Ekstradural segment): C2 vertebradan foramen magnuma kadar olan bölümüdür.

V4 (İntradural segment): Vertebral arterin foramen magnum durasından vertebrobaziler bileşkeye kadar uzanan kısmıdır (31, 32).

2.4.3. Willis Poligonu

Anterior ve Posterior dolaşım kafa tabanında birleşerek Willis poligonunu oluşturur. Bu poligon intraserebral dolaşımdaki en önemli kolleteral yollardan biridir. Poligon, önde anterior kommunikan arter aracılığı ile birleşen anterior serebral arterler, arkada ise posterior serebral arterler ve bu iki grubu birleştiren posterior kommunikan arterlerin hegzagonal şekilde bir anastomozundan oluşur (33).



Şekil 2.2. Willis Polygonunun şematik gösterimi, Arteria Komunikans Anterior (A), Arteria Serebri Anterior'un proksimal A1 segmenti (B), Arteria Komunikans Posterior (C), Arteria Serebri Posterior'un proksimal P1 segmenti (D) (34)

2.5. Kemirgenlerde Deneysel Serebral İskemi Modelleri

Ratlarda dört damar oklüzyon modeli: Posterior sirkülasyonu sağlayan vertebral arterlerin C1 seviyesinde bilateral olarak koterize edilip, her iki ana karotis arterlerin 10 - 30 dakika boyunca geçici olarak klipe kapatılması ile oluşturulur. İskemi oluşturulduktan sonra klipler çıkartılarak reperfüzyon yapılabilir (35).

Ratlarda iki damar oklüzyon ve hipotansiyon modeli: Bilateral ana karotis arterlerin geçici olarak kliplenerek, eş zamanlı olarak, kan alınması yoluyla 30-35 mm Hg düzeyinde hipotansiyon oluşturularak serebral iskemi yapılmasıdır. İskemi sonrasında klipler çıkartılarak reperfüzyon yapılabilir (35).

Ratlarda iki damar oklüzyon modeli: Bilateral ana karotis arterlerin 10 - 15 dakika süreyle geçici olarak kliplenmesi ile corpus striatum, hipokampusun CA1 ve neokorteksin 3-4- 5-6. alanlarında hücresel hasar geliştirilmesi esasına dayanır (36).

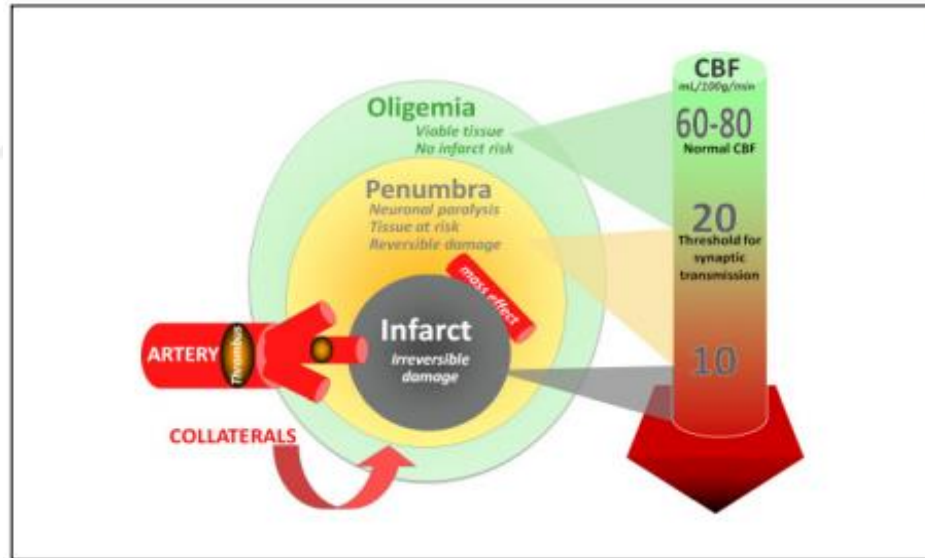
Ratlarda turnike yapılarak iskemi oluşturulması: Bu yöntemde hayvanın boyun bölgesine bir turnike yapılarak, turnike basıncı 600 - 700 mm Hg basınca ulaşıncaya kadar turnike şişirilir, serebral kan akımı % 1'in altına düşürülür ve iskemi oluşturulur (37).

2.6. İskemik İnmede Patofizyoloji

Serebral dokunun yapısal bütünlüğünü koruması ve fonksiyonlarını yerine getirebilmesi, ihtiyacı olan oksijenize kan akımının kesintisiz olarak sağlanmasına bağlıdır. Serebral kan akımı (SKA), dakikada 100 mg doku başına ortalama 50-54 ml

dir (50-54 ml/dk/100gr) ve gerektiğinde serebral otoregülasyon adı verilen bir sistem ile serebral perfüzyon basıncı değiştirilerek sabit tuultmaya çalışılır. Serebral otoregülasyon, esas olarak pre-kapiller rezistanstaki değişikliklerle sağlanır ve 60 - 150 mm/Hg arteriyel basınçlar arasında görülür. Bu aralığın dışındaki değerlere bağlı olarak serebral kan akımı artar ya da azalır. Kronik hipertansiyonda üst limit daha da arterken, subaraknoid kanama ve inmede serebral otoregülasyon kısmi olarak ya da tamamen bozulur (38, 39).

Serebrovasküler oklüzyonlar nedeniyle oluşan iskemide, iskemik bölgenin merkezindeki alan periferi göre daha fazla etkilenir. İskemik alanda üç ayrı bölge tanımlanmıştır. İskeminin merkezinde oluşan, hücre ölümünün ve geri dönüşümsüz hücre hasarının meydana geldiği bölgeye '**core**' bölgesi adı verilir. Bu bölgenin hemen dışında bulunan ve zamanında reperfüzyon sağlanabilirse kalıcı hasar oluşmadan kurtulabilen bölgeye '**penumbra**', penumbranın periferinde kalan alana ise '**oligemi**' bölgesi denilmektedir (40).



Şekil 2.3. İskemi Yaralanmasındaki Zonların Şematik Gösterimi (41)

Core (iskemik çekirdek) bölgesinde, enerji kesilmesine bağlı olarak iyon kanalı ve pompa sistemleri bozulmuştur, penumbrada ise elektrik aktivitenin bozukluğuna rağmen membran hemostazı devam eder. Dolayısıyla akut serebral iskeminin tedavisindeki ana prensip henüz nekroza gitmeyen ve iyileşebilir bölge olan penumbrayı kurtarabilmektir (42, 43).

Beyin kütlesi olarak vücudun % 2' sini oluşturmaya rağmen, vücuda alınan oksijenin % 20' sini, glukozun ise % 25' ini tek başına tüketmektedir. İstirahat durumunda bile beyin kan akımı, dakikada ortalama 800 ml olup bu miktar kalp debisinin yaklaşık olarak % 15- 20' sine karşılık gelir (44). Bu yüksek metabolik aktivitenin ve kan akımı ihtiyacının nedeni, hücre membranları arasındaki iyon gradiyentinin korunması ve elektriksel uyarıların iletilmesinde gereksinim duyulan enerjiyi üretebilmek için kullanılan substratların varlığını yeterince sağlayabilmektir (45).

Bazal nöronal aktivitenin sürdürülebilmesi için gerekli serebral kan akımı eşik değeri 20-25 ml/100gr/dk' dır ve bu akım 15-20 ml/100gr/dk olduğunda elektrokortikal aktivite ve kortikal uyarılmış potansiyaller kaybolurken, nöronlardaki aksonal transport hala devam eder ancak, daha fazla enerji gerektiren hücresel işlevler yapılamamaktadır. Bu alandaki hücrelerin reperfüzyon sağlandığında kurtarılabilmek ihtimali vardır (46). Serebral kan akımı 10- 15 ml /100gr /dk altına düştüğünde ise Na^+/K^+ ATPaz pompası bozularak, gri ve beyaz cevheri oluşturan dokunun ekstrasellüler alanında hidrojen ve potasyum konsantrasyonunda önemli bir artış gözlenir. Nöral hücreler etrafında artan potasyum konsantrasyonu nöronal membranda depolarizasyon meydana getirir. Bu durum eksitator nörotransmitterlerin salınımı ve kalsiyum kanallarının açılması sonucunda hücre içinde kalsiyum, hücre dışındaki potasyum konsantrasyonunda artışa neden olur. Hücresel asidoz gelişerek hücre ölümü başlar ve geri dönüşümsüz nöronal hasar meydana gelir. Ayrıca glial hücrelerin membranlarında oluşan depolarizasyon nedeniyle içerisinde glutamatin da olduğu nörotransmitter maddelerin geri alınımındaki azalma hücre içi sodyum, kalsiyum ve su artışı meydana getirir. Bu durum glial hücre içi sıvı basıncını artırarak hücre şişmesine neden olur (47, 48, 49).

Hücre dışı kalsiyum konsantrasyonu, hücre içine oranla 10000 kat daha fazladır. Bu farktan endoplazmik retikulum ve plazma membranında bulunan Ca-ATPaz pompası ve Na / Ca değiştiricisi sorumludur. Hücre enerjisindeki azalmaya bağlı Ca-ATP azalmanın inhibe olmasıyla, kalsiyumun hücre dışına çıkışı ve endoplazmik retikulumdan kalsiyum sekresyonunun bozulması sonucu hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar. İskemik durumda kalsiyum iyon gradiyentinin bozulmaması ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması sitoplazmada bulunan proteaz ve nükleaz enzimleri aktive ederek geri dönüşümsüz hücre hasarının oluşmasını tetikleyen en kritik olaydır. Bu enzimler hücre içinde bulunan DNA yapılarına ve proteinlere zarar vererek

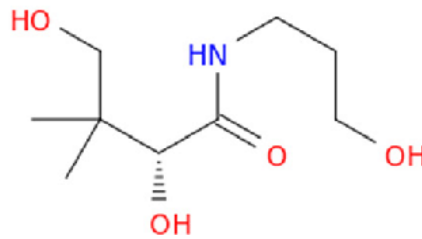
olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx), iskemi reperfüzyon sonrası ortamda biriken, süperoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) radikallerinin daha toksik olan hidroksil radikaline (OH^-) dönüşmeden detoksifikasyonunda görev alırlar. İskemi-reperfüzyon hasarında ayrıca serbest radikallerin hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerini oksidasyonu sonucu organellerde malonildialdehit (MDA) birikimi olur. İskemi-reperfüzyon hasarını önlemek için çok çeşitli antioksidan maddeler ve ajanlar ile çalışmalar yapılmıştır (55).

Hemorajik inmede, hematoma oluşturduğu kitle etkisi primer hasarın esas nedenidir. Hematom hacminin genişlemesi, kanın ventriküler sisteme girmesine neden olarak serebrospinal sıvı (BOS) dolaşımının bozulmasına yol açabilir. Hematom oluşturduğu kitle etkisiyle, serebral ödeme neden olarak intrakranial basınç artışına, damarlara baskı yaparak iskemi, apoptozis ve nekroza sebep olabilir (56).

2.7. Deneyde Kullanılan Temel Moleküller Hakkında Genel Bilgi

2.7.1. Dekspantenol

Pro-vitamin B5 olarak da bilinen Dekspantenol, B vitaminlerinin içinde yer alan Pantotenik asit (PA, Vitamin 5)' in sentetik bir alkol formudur. Kapalı formülü $C_9H_{19}NO_4$, kimyasal adı (D-pantenol;(+)-2,4-dihidroksi-N-(3-hidroksipropil)-3,3 dimetilbütiramid) ve molekül ağırlığı 205.251 g /mol dır. Dekspantenol dokularda pantotenik aside (PA) okside olarak etki eder (57, 58).



Şekil 2.5. Dekspantenol Şematik gösterimi (58)

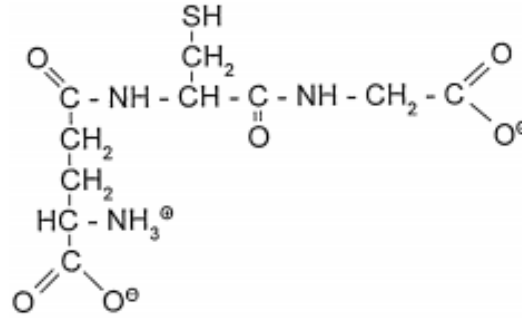
2.7.2. Pantotenik Asit (Vitamin B5)

Pantotenik asit (PA) 1933 yılında Williams ve arkadaşları tarafından mayalarda ve mikroorganizmalarda bir gelişim faktörü olarak gösterilmiş, daha sonra 1940 yılında izole edilerek moleküler yapısı tarif edilmiştir (59). Pantotenik asit ve türevlerinin, birçok enzimatik işlem için bir kofaktör ve açıl grubu taşıyıcı olan Ko-enzim A (CoA) nın, redükte glutatyon (GSH), Adenozin 5' - trifosfat miktarını artırdığı, yine kole-sterol

ve steroid hormon biyosentezini, yağ asitlerinin fosfolipidler ve kolesterol esterlerine dahil edilmesini uyarak artırdığı bilinmektedir (60, 61,62). Pantotenik asitin ayrıca granüositlerden miyeloperoksidaz salınımını baskılayarak, serbest oksijen radikallerinin çoğalmasını azalttığı ve antienflamatuvar etkisi olduğu gösterilmiştir (63). Bütün bunlar, hücre membranındaki oksidatif stres ve inflamatuvar süreçlere karşı var olan tamir sistemleri ve peroksidasyon ürünlerinin uzaklaştırılmasında rol oynamaktadır (64, 65).

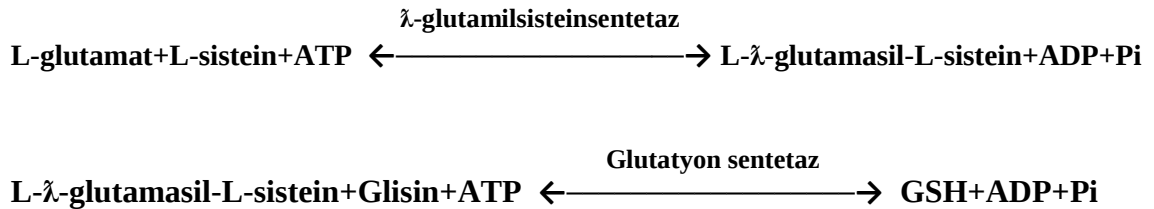
2.7.3. Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH), hücreleri oksidan hasara karşı koruyan, glutamik asit, glisin ve sistein aminoasitlerinden oluşan tripeptid yapılı, hücre içindeki en önemli endojen antioksidan moleküldür.



Şekil 2.6. Glutasyon (GSH) şematik gösterimi (66)

Glutasyon başta karaciğer olmak üzere diğer pek çok dokuda γ -glutamil sistein sentaz ve GSH sentaz enzimleri ile sentezlenir (66).



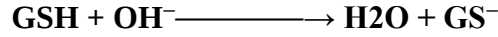
Glutasyon, serbest radikal hasarına karşı koyarken, antioksidan enzimlere substrat olarak görev yapar ve bir serbest radikal tutucusu gibi davranır (67, 68). Glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz enzimi (GPx) ile okside edilerek GSSG 'a

dönüştürölüp serbest radikalleri etkisiz hale getirir. Oksidatif stres durumunda redükte GSH seviyeleri düşer, okside GSSG seviyeleri artış gösterir.

Glutasyon peroksidaz



Ayrıca endojen glutasyon, proteinlerdeki tiyol gruplarını oksidasyondan korur ve reaktif oksijen türleri ile doğrudan tepkimeye girerek onları detoksifiye eder.



Glutasyon, DNA ve protein sentezi, birçok enzim aktivitelerinin düzenlenmesi, ksenobiyotiklerin konjugasyonu, kalsiyum homeoastazı, sistein depolanması ve transportu gibi diğer hücresel işlevlerde de koruyucu rol alır (69, 70, 71).

2.7.4. Malondialdehit (MDA)

Lipidler serbest radikal hasarına karşı en duyarlı olan moleküllerdendir. Serbest radikaller hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları ile rahatlıkla etkileşime girerek lipid peroksidasyon ürünlerini oluştururlar (72). Malondialdehit (MDA), okside olduktan sonra yapıları bozulan hücre lipidlerinin oluşturduğu en önemli son üründür (73, 74). MDA miktarı tiyobarbutirik asit ile ölçülür ve bu yöntem oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılır (75).

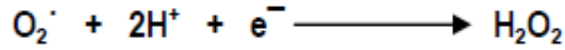


Şekil 2.7. Malondialdehit(MDA) Şematik gösterimi (75)

Malondialdehit (MDA), oldukça reaktif bir aldehit türüdür, proteinlerin serbest amino gruplarıyla, fosfolipidlerle ve nükleik asitlerle tepkimeye girerek yapısal değişikliklere yol açar. Hücre membranının yapısını bozarak, permeabilitesini değiştirir, iyon-kanal transportunu, enzimatik aktiviteleri ve sinyalizasyon komplekslerinin aktiviteleri gibi membran fonksiyonlarını olumsuz etkiler.

2.7.5. Superoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalının, hidrojen perokside indirgenmesini ve oksijen molekülüne yükseltgenmesini sağlayan dismutasyon reaksiyonunda görevli bir enzimdir.

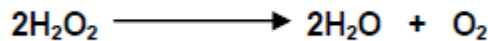


Oluşan hidrojen peroksit daha sonra katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile su ve oksijene indirgenmektedir. Organizmada serbest oksijen radikallerine karşı oluşan ilk savunma SOD enzimi ile gerçekleşir ve oksidan stresin arttığı durumlarda SOD aktivitesi artarak koruyucu etkinin devamının sağlanmasına çalışılır (76).

SOD bütün hücrelerin mitokondri ve sitozolünde bulunur ve metalloprotein yapısındadır. Sitozolde bakır ve çinko içeren Cu -Zn- SOD, mitokondride mangan içeren Mn-SOD ve plazmada ise bakır içeren Cu- SOD olarak adlandırılan 3 tip SOD vardır (68).

2.7.6. Katalaz (CAT)

Katalaz, tüm hücrelerde farklı konsantrasyonlarda bulunan ve yapısında dört adet hem grubu ihtiva eden bir hemoproteindir (77). Mukoz membranlarda, kemik iliği, kan, böbrekler ve karaciğerde yüksek miktarda bulunur, özellikle peroksizomlarda lokalizedir. Katalaz hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eder (78, 79).



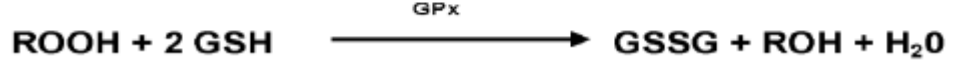
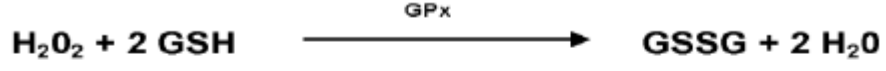
Katalaz ayrıca, alkoller ve fenoller gibi farklı substratların hidrojen peroksitin indirgenmesi üzerinden, detoksifikasyonunu sağlar (79).



2.7.7. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Dokuları hidrojen peroksid ve lipoperoksitlerin oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruyan başlıca enzim olan glutatyon peroksidaz (GPx) ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde gösterilmiştir (68). GPx, aktivitesi için koenzim olarak selenyuma (Se) ihtiyaç duymaktadır. GPx tarafından hidroperoksitlerin

redüksiyonu için düşünülen katalitik mekanizma, aynı zamanda aktif bölge selenolatın (Se^-), selenoik asite (SeOH) oksidasyonunu da kapsar (80).



Memelilerde hepsi selenosistein içeren en az 4 farklı GPx (GPx1-4) vardır. GPx1 ve GPx4 sitozolik enzimlerdir ve birçok dokuda bol miktarda bulunurlar (GPx4 sperm hücrelerinde, GPx2 gastrointestinal sistemde, GPx3 ise başlıca böbreklerde) (81).



3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi ve Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından değerlendirilmeye alındıktan sonra 09.01.2020 tarihinde 2020/01-3 protokol numarasıyla onaylanmış olup, Şubat 2020- Haziran 2020 tarihleri arasında yapılmıştır. Çalışmada öncesinde herhangi bir deneyde kullanılmayan ağırlıkları 200 - 250 gram arasında olan, 3-4 aylık 32 adet dişi Wistar-Albino rat kullanıldı. Ratlar İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi laboratuvarından edinildi. Araştırmada İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarındaki Akselere rota-rod cihazı kullanıldı. Biyokimyasal analizler, Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında; histopatolojik analizler, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında yapıldı.

Ratlar çalışma süresince her kafeste en fazla dört adet hayvan bulunacak şekilde polikarbon kafeslerde, sabit oda sıcaklığında ve nemde ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $60 \pm 7\%$ nem), günlük kafes temizliği ve beslenme (standart hayvan yemi ve yeterince su) gereksinimi sağlanmak şartı ile uygun şekilde ışık almaları sağlanan bir ortamda barındırıldı.

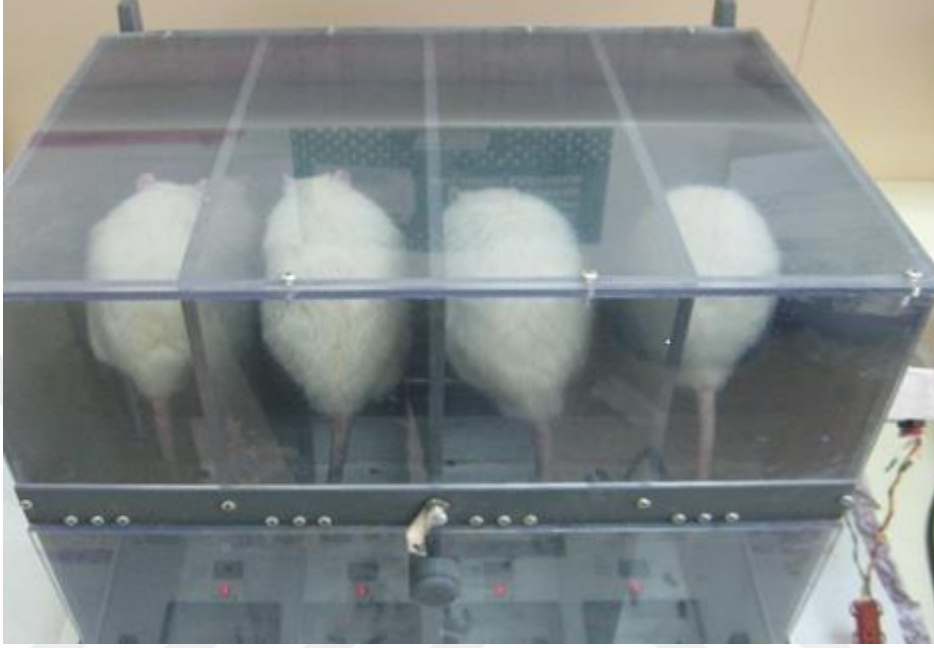
3.1. Anestezi

Cerrahi işlem öncesi tüm ratlara 10 mg/kg dozunda Xylazin (Bayer) ve 50 mg/kg dozunda Ketamin Hidroklorür (Parke Davis) intraperitoneal (İ.P.) yoldan uygulandı. İhtiyaç duyulması halinde başlangıçta uygulanan dozların %20'sini geçmeyecek şekilde ilaçlar aralıklı olarak tekrar verildi.

3.2. Rota-rot, Akselere-rot Testi

Deney hayvanlarında motor becerilerini ölçmek için yapılan bu test, içerisine yerleştirilen deney hayvanlarının (genellikle rat veya fare) üzerinde dengede kalmaya çalıştığı özel silindirik parkurlardan oluşur. Rat önceden belirli hızlarda dönmeye programlanmış sistem üzerinde yürümeye zorlanır. Ratın dönen sistemde dengesini sağlayamayıp düştüğü süre ölçülür. Sonuç olarak bu test bize, deneyde oluşturulan beyin hasarının, verilen tedavinin etkisinin veya rattaki tükenmişlik hissinin değerlendirilmesinde bir fikir verecektir (82). Cihaz, deneyin amacına uygun olarak

ayarlanır ve silindirler belli bir süre sabit bir hızda (rpm) veya artıp azalan hızlarda dönerler. Bu çalışmada Rotamex 4-8 sistemi (Columbus-Instruments) kullanılarak deneysel serebral iskemide oluşan denge ve kordinasyon kaybının maksimum 300 saniyede 5, 10, 20, 30, 40 rpm de, 4 dk ve 10 dk da, 1-79 akselere rpm de saptanması amaçlanmıştır.



Şekil 3.1. Ratlara rota-rot cihazında denge testi uygulanması

3.3. Serebral İskemi Modeli ve Uygulanması

Ratlar ameliyat öncesinde 24 saat süre ile sadece su verilerek aç bırakıldı ve anestezi sağlamak amacıyla; Xylazin Hidroklorid 10mg/kg'dan intraperitoneal (İ.P) ve Ketamin Hidroklorid 50 mg/kg dan intraperitoneal (İ.P) olarak yapıldı. Anestezi altındaki ratlar, sırtüstü pozisyona alındı ve cerrahi uygulanacak servikal bölge traş edildi ve % 10' luk povidon iyot solüsyonu ile boyanarak aseptisi sağlandı. Servikal orta hat cilt kesisi sonrası ekartör yerleştirilerek bilateral paratrakeal alanlar künt disseksiyon yapılarak ayrıldı. Arteria karotis kommunisler ortaya konuldu ve bilateral Arteria karotis kommunisler N. vagustan ayrıldıktan sonra her iki artere Yaşargil anevrizma klibi yerleştirildi. 30 dk sonunda klipler çıkarıldıktan sonra arterial kan akımı kontrol edildi ve kan akımının sürdüğü gözlenerek kesi yeri sütüre edilerek kapatıldı. Daha sonra tüm denekler gıda ve sıvı gereksinimi için serbest bırakıldı.



Şekil 3.2. Ratların bilateral karotis arterlerinin klemplenmesi.

3.4. Deney Grupları

Ratlar 4 ana gruba ayrıldı,

Grup 1-Sham Grubu (n=8): Serebral iskemi yapılmadan sadece servikal orta hat insizyonu ve paratrakeal diseksiyon yapılan ve ardından cerrahi kapatma işleminin uygulandığı grup.

Grup 2-İskemi-Reperfüzyon (IR) grubu (n= 8): Karotis arterler bilateral olarak klemplenerek 30 dk serebral iskemi yapılan, ardından cerrahi kapatma ile beraber 72 saat reperfüzyon oluşturulan, herhangi bir ilaç verilmeyen grup.

Grup 3-İskemi Sonrası Dekspantenol Uygulanan (IR+DXP) grup (n=8): Karotis arterler bilateral olarak klemplenerek 30 dk serebral iskemi yapıldıktan sonra 1. saat, 2. ve 3. günler intraperitoneal (İ.P) yolla 500 mg / kg Dekspantenol uygulanan ve 72 saat reperfüzyona bırakılan grup.

Grup 4-İskemi Öncesi Dekspantenol Uygulanan (DXP+IR) grup (n=8): Serebral iskemi yapılmadan 3 gün öncesinden başlayarak 1.2. ve 3. günler sabah 08-10.00 arasında intra peritoneal (İ.P) yolla, 500 mg/kg Dekspantenol uygulanan ve 3. gün karotis arterler bilateral olarak klemplenerek 30 dk serebral iskemi yapılan ve 72 saat reperfüzyona bırakılan grup.

Ratlar iskemi yapılmasını takiben 72 sonra, rota-rot, akselere-rot testleri yapılarak dekapite edildi ve deney sonlandırıldı.

Tablo 3.1. Grup numaraları ve 3 günlük reperfüzyonun ardından yaşayan rat sayısı

Gruplar	Yaşayan Rat Sayısı
Grup 1 (Sham)	8
Grup 2 (IR)	8
Grup 3 (IR+DXP)	8
Grup 4 (DXP+IR)	8

3.5. Histopatoloji ve Biyokimyasal Analizler için Doku Örneklerinin Alınması

Tüm gruplarda yer alan ratlarda, önceden belirlenen süreç sonrasında, Xylazine ve ketamin hidroklorür kullanılarak derin anestezi oluşturuldu. Derin anesteziyi takiben ratların beyin dokusu hasarsız bir şekilde çıkarıldı. Beyin dokusunun histolojik ve biyokimyasal analizi için beyin iki hemisferine ayrılıp hemisferlerden bir tanesi histolojik inceleme için % 10 luk formol çözeltisinin içine konuldu, diğer hemisfer daha önceden hazırlanmış ve her bir denek için numaralanmış kaplara alınarak biyokimyasal analiz yapılmak üzere -70 C’de beklemeye alındı.

3.5.1. Doku Redükte Glutasyon (GSH) Ölçümü

Doku örneklerinin GSH düzeylerinin ölçümü, Ellman’ın tarif ettiği metoda uygun olarak yapıldı (83). Doku örnekleri %50 triklorasetik asit (TCA) ile çökertildi ve 5 dakika 1000xg de santrifüje edildi. Çökertilen bu örneğin üst katmanından 0,5 ml analiz tüpüne alındı ve üzerine 2 ml Tris-EDTA tamponu (0,2 M, pH=8,9) ve 0,1 ml 0,01 M 5,5’-ditiyo-bis-2- nitrobenzoik asit eklenerek, bu karışım oda sıcaklığında 5 dakika kadar bekletildi. Analiz tüpü içerisinde bulunan glutasyonun 5,5’-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit ile reaksiyona girerek sarı-yeşil renk vermesi ile oluşan ışığın spektrofotometrede (UV-1700 Shimadzu) 412 nm dalga boyunda absorbansı ölçülerek redükte glutasyon miktarı tayin edildi. Sarı- yeşil rengin şiddeti ile dokudaki glutasyon konsantrasyonunun doğru orantılı olmasına dayanılarak yapılan bu analizde; sonuçlar nmol/g yaş doku olarak belirtilmiştir.

3.5.2. Doku Malondialdehid (MDA) Ölçümü

Doku örneklerinin MDA düzeylerinin ölçümü, Ohkawa'nın tarif ettiği metoda uygun olarak yapıldı (84). Analiz, MDA’nın asit ortamda tiyobarbutürik asit ile ısıtılarak reaksiyona girmesi sonucu pembe renkli bir kromojen oluşturması ve oluşan

bu rengin ışık şiddetinin spektrofotometrede (Microplat-reader, Bio-Tek Synergy H1) 532 nm dalga boyunda ölçülerek MDA miktarının tayin edilmesi prensibine dayanmaktadır. Pembe rengin şiddeti ile dokudaki MDA konsantrasyonu doğru orantılıdır; sonuçlar nmol/g yaş doku olarak belirtilmiştir.

3.5.3. Doku Superoksid Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü

Doku örneklerinin SOD enzim aktivitesi düzeylerinin ölçümü, Sun ve Oberley' in tarif ettiği metoda uygun olarak yapıldı (85). SOD enzim aktivitesi ölçümü, süperoksit radikallerinin Nitroblue tetrazolyum (NBT)' yi indirgeyerek ortamda renk oluşturması prensibine dayanır ve süperoksit radikallerinin kaynağı olarak ksantin-ksantin oksidaz sistemi kullanılır. Ksantin-ksantin oksidaz sisteminin ürettiği süperoksit radikalleri NBT' yi indirgeyerek mavi-mor renk oluşturur. Ortamda SOD enzimi olmadığı durumlarda bu indirgenme maksimum olup, koyu mavi-mor bir renk oluşurken, SOD varlığında ise enzim süperoksit anyonunu hidrojen peroksit'e çevirerek NBT indirgenmesini azaltmakta ve buna bağlı olarak daha açık bir renk oluşmaktadır. Absorbansta meydana gelen bu değişim, spektrofotometrede (Microplate-reader, Bio-Tek Synergy H 1) 560 nm dalga boyunda okunarak ölçülür. Mavi-mor rengin şiddeti ile doku SOD konsantrasyonu ters orantılıdır; sonuçlar Ü/g protein olarak belirtilmiştir.

3.5.4. Doku Katalaz (CAT) Aktivitesinin Ölçülmesi

Doku örneklerinde CAT enzim aktivitesi düzeylerinin ölçümü, Aebi'nin tarif ettiği analiz metoduna uygun olarak yapıldı (86). Hidrojen peroksit ultraviyole spektrumunda 240 nm'de maksimum absorpsiyon vermektedir. CAT enzimi varlığında deney ortamına ilave edilen hidrojen peroksidin katalaz tarafından su ve oksijene ayrışması nedeniyle 240 nm'de oluşan bu absorbandsa göreceli olarak azalma meydana gelir ve bu değişim, spektrofotometrede (Microplate-reader; Bio-ek Synergy H1) 240 nm dalga boyunda okunarak CAT enzim aktivite düzeyi ölçülür. Absorbanstaki bu azalma ile ortamdaki CAT enzim aktivitesi doğru orantılıdır; sonuçlar K/g protein olarak belirtilmiştir.

3.5.5. Doku Glutatyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesinin Ölçümü

Doku örneklerinde GPx enzim akitivitesi düzeylerinin ölçümü, Pagli ve arkadaşlarının tarif ettiği analiz metoduna uygun olarak yapıldı (87). GPx, hidrojen peroksidin suya dönüşümünü redükte glutatyonu (GSH) kullanarak katalize eder ve bu

reaksiyon sonucunda redükte glutatyon okside glutatyona (GSGG) dönüşür. Okside glutatyonun bir diğer hidrojen peroksitin suya katalizi için yeniden redükte forma dönüşmesi gerekir. Bu dönüşüm, ortamdaki NADPH ve glutatyon redüktaz enzimi sayesinde gerçekleştirilir. Bu durumda NADPH NADP'ye, okside glutatyon da redükte forma dönüşür. NADPH 340 nm'de maksimal absorbans gösterir ve glutatyon redüktaz katalizi devam ettikçe NADPH okside forma dönüşmesi ile 340 nm'de oluşan absorbansda azalma görülür. Meydana gelen bu değişim spektrofotometrede (Microplate-reader, Bi-Tek Synergy H 1) 340 nm dalga boyunda okunarak GPx aktivite düzeyi ölçülür. Absorbanstaki bu azalma, ortamdaki GPx enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır; sonuçlar Ü/g protein olarak belirtilmiştir.

3.6. İstatiksel Analizler

İstatistiksel analizler, SPSS paket programı versiyon 20.0 ile yapıldı. Tüm değişkenler açısından grupların genel karşılaştırılmasında parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi, gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise Mann-Whitney-U testi kullanıldı, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Gruplar Arasındaki Rota- Rot Testi Sonuçları

Tablo 4.1. Gruplar Arasındaki Rota- Rot Testi Sonuçları

Gruplar	5rpm	10rpm	20rpm	30rpm	40rpm
	Ortanca±SD (minimum- maksimum)	Ortanca±SD (minimum- maksimum)	Ortanca±SD (minimum- maksimum)	Ortanca±SD (minimum- maksimum)	Ortanca±SD (minimum- maksimum)
Sham	300±0 (300-300)	293.75±17,6 (250-300)	198.88±59,7 (123-300)	156.75±73,3 (85-300)	46±40,7 (15-140)
IR	300±0 (300-300)	131.63±30,8 (85-80)	45.75±25,3 (12-85)	11,75±4,9 (5-17)	6.25±2,3 (5-10)
IR+DXP	300±0 (300-300)	273.75±38,8 (200-300)	162,88±37,3 (122-240)	108,38±41,5 (62-180)	23,12±16,7 (10-58)
DXP+IR	300±0 (300-300)	246.25±68,2 (120-300)	78.38±25,6 (35-110)	51,12±29,9 (10-105)	13.13±4,5 (10-23)

Bütün gruplar 5 rpm hızda parkuru 300 sn boyunca dengede kalarak tamamladığı için istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması sebebiyle 5 rpm hızdaki dengede kalma süreleri karşılaştırmaya dahil edilmemiştir. Karşılaştırmalar; 10, 20, 30 ve 40 rpm hızlarındaki dengede kalabilme süreleri arasında yapılmıştır.

Sham grubu, IR grubu ile karşılaştırıldığında sırasıyla bütün dakika devir hızlarında (10, 20,30, 40 rpm) parkuru daha uzun süre dengede kalarak tamamlamış ve bütün rpm hızlardaki dengede kalma süreleri arası farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$)

Sham grubu, IR+DXP grubu ile karşılaştırıldığında bütün dakika devir hızlarında (10, 20, 30, 40 rpm) parkuru daha uzun süre dengede kalarak tamamladığı halde sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ($p=0.214$, $p=0.172$, $p=0.103$, $p=0.082$)

Sham grubu, DXP+IR grubu ile karşılaştırıldığında bütün dakika devir hızlarında (10, 20, 30, 40 rpm) parkuru daha uzun süre dengede kalarak tamamlamış ve 20, 30, 40 rpm hızlardaki dengede kalma süreleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p=0.084$, $p=0.001$, $p=0.002$, $p=0.003$)

IR grubu, IR+DXP grubu ile karşılaştırıldığında bütün dakika devir hızlarında (10, 20, 30, 40 rpm) parkuru daha kısa süre dengede kalarak tamamlamış ve bütün rpm hızlardaki süreler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0.001, p=0.001, p=0.001, p=0.001)

IR grubu, DXP+IR grubu ile karşılaştırıldığında bütün dakika devir hızlarında (10, 20, 30, 40 rpm) parkuru daha kısa süre dengede kalarak tamamlamış ve 10, 30, 40 rpm hızlardaki dengede kalma süreleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0.005, p=0.031, p=0.004, p=0.002)

IR+DXP grubu, DXP+IR grubu ile karşılaştırıldığında bütün dakika devir hızlarında (10, 20, 30, 40 rpm) parkuru daha uzun süre dengede kalarak tamamlamış ve 20, 30 rpm hızlardaki dengede kalma süreleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0.452, p=0.001, p=0.009, p=0.130)

4.2. Gruplar Arasındaki Akselere - Rot Testi Sonuçları

Tablo 4.2. Gruplar Arasındaki Akselere - Rot Testi Sonuçları

Gruplar	0-79 rpm (10 dk) Ortanca±SD (minimum-maksimum)	0-79 rpm (4 dk) Ortanca±SD (minimum-maksimum)
Sham	169.88±72,8 (94-274)	86.5±29,8 (65-140)
IR	66.87±19,4 (39-90)	34.25±9,2 (20-51)
IR+DXP	128.25±27,9 (84-162)	59.38±10,2 (45-73)
DXP+IR	116.50±58,3 (39-188)	57.50±14,5 (30-72)

Sham grubu, IR grubu ile karşılaştırıldığında, 10 dk ve 4 dk süren, 0'dan 79 rpm hıza olan akselerasyonun her ikisinde de parkuru daha uzun süre dengede kalarak tamamlamış ve her iki gruptaki akselerasyon boyunca dengede kalabilme süresi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0.001 ve p=0.001)

Sham grubu, IR+DXP grubu ile karşılaştırıldığında, 10 dk ve 4 dk süren, 0' dan 79 rpm hıza kadar olan akselerasyonun her ikisinde de parkuru daha uzun süre dengede kalarak tamamlamış ancak sadece 4 dk süren akselerasyon testi boyunca dengede

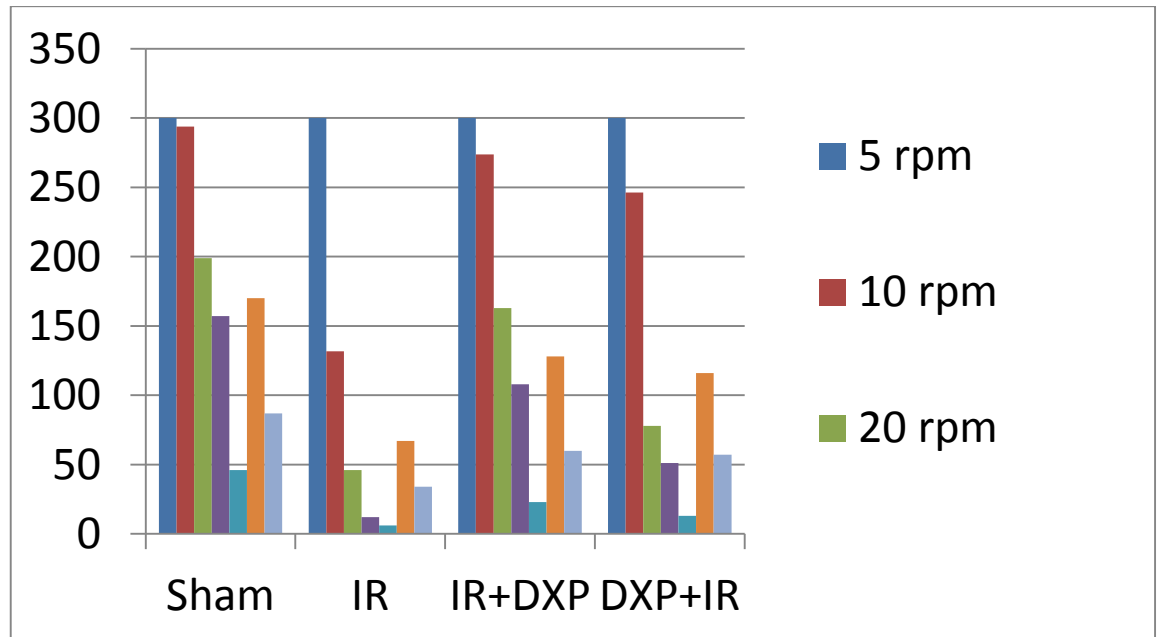
kalabilme süresi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p=0.462$ ve $p=0.011$)

Sham grubu, DXP+IR grubu ile karşılaştırıldığında, 10 dk ve 4 dk süren, 0'dan 79 rpm hıza kadar olan akselerasyon testinin her ikisinde de parkuru daha uzun süre dengede kalarak tamamlamış ancak sadece 4 dk süren akselerasyon testi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p=0.248$ ve $p=0.023$)

IR grubu, IR+DXP grubu ile karşılaştırıldığında, 10 dk ve 4 dk süren, 0'dan 79 rpm hıza kadar olan akselerasyon testinin her ikisinde de parkuru daha kısa süre dengede kalarak tamamlamış ve her iki akselerasyon testi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p=0.002$ ve $p=0.002$)

IR grubu, DXP+IR grubu ile karşılaştırıldığında, 10 dk ve 4 dk süren, 0'dan 79 rpm hıza kadar olan akselerasyon testinin her ikisinde de parkuru daha kısa süre dengede kalarak tamamlamış, ancak sadece 4 dk süren akselerasyon testi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p=0.128$ ve $p=0.010$)

IR+DXP grubu, DXP+IR grubu ile karşılaştırıldığında, 10 dk ve 4 dk süren, 0'dan 79 rpm hıza kadar olan akselerasyon testinin her ikisinde de parkuru daha uzun süre dengede kalarak tamamlamış, ancak her iki testte de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmamıştır. ($p=0.753$ ve $p=0.958$)



Şekil 4.1. Gruplar arasındaki rota- rot ve akselere- rot testi sonuçları

4.3. Gruplar arasındaki doku GSH, SOD,MDA,GPx ve CAT sonuçları

Tablo 4.3. Gruplar arasındaki doku GSH, SOD, MDA, GPx ve CAT sonuçları

Gruplar	CAT (K/g Protein) Ortanca±SD (minimum-maksimum)	GPx (U/g protein) Ortanca±SD (minimum-maksimum)	SOD (U/g protein) Ortanca±SD (minimum-maksimum)	GSH (nmol/g yaşıdoku) Ortanca±SD (minimum-maksimum)	MDA (nmol/g yaşıdoku) Ortanca±SD (minimum-maksimum)
Sham	56.7±16,8 (25.7-87.1)	33.43±9,6 (17.15-45.4)	250.2±33 (234.5-336.6)	744.6±60 (673-836)	135±33,9 (101,3-202,6)
IR	37.7±26,3 (27.3-90.6)	26.2±13,7 (19.1-60.2)	251.5±19,2 (221.5-280.4)	657.9±37,7 (622-734)	229.16±18,4 (206.7-269.2)
IR+DXP	54.8±18,9 (38.2-91.6)	32.4±27,4 (21.07-96.87)	246.9±45,2 (216.9-348.4)	724.2±83 (633-887)	159,2±51,4 (110-225)
DXP+IR	59.6±17,1 (36.5-86.08)	34.7±20,4 (22.5-86.2)	278.4±41,9 (224.3-362.2)	708.9±54,2 (622.2-775.2)	234.9±42,8 (206-327.7)

Gruplar arasında doku CAT, GPx ve SOD sonuçları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı, bu nedenle ikili karşılaştırmalar sadece GSH ve MDA arasında yapıldı.

Sham grubu, IR grubu ile karşılaştırıldığında GSH düzeyinin, Sham grubunda IR grubuna göre yüksek olduğu ($p=0.007$), MDA düzeyinin ise IR grubunda Sham grubuna göre yüksek olduğu ($p=0.001$) saptandı ve her iki sonuç arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sham grubu, IR+DXP grubu ile karşılaştırıldığında GSH düzeyinin, IR+DXP grubunda Sham grubuna göre düşük olduğu ($p=0.598$), MDA düzeyinin ise IR+DXP grubunda Sham grubuna göre yüksek olduğu ($p=0.527$) saptandı ancak her iki sonuç arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

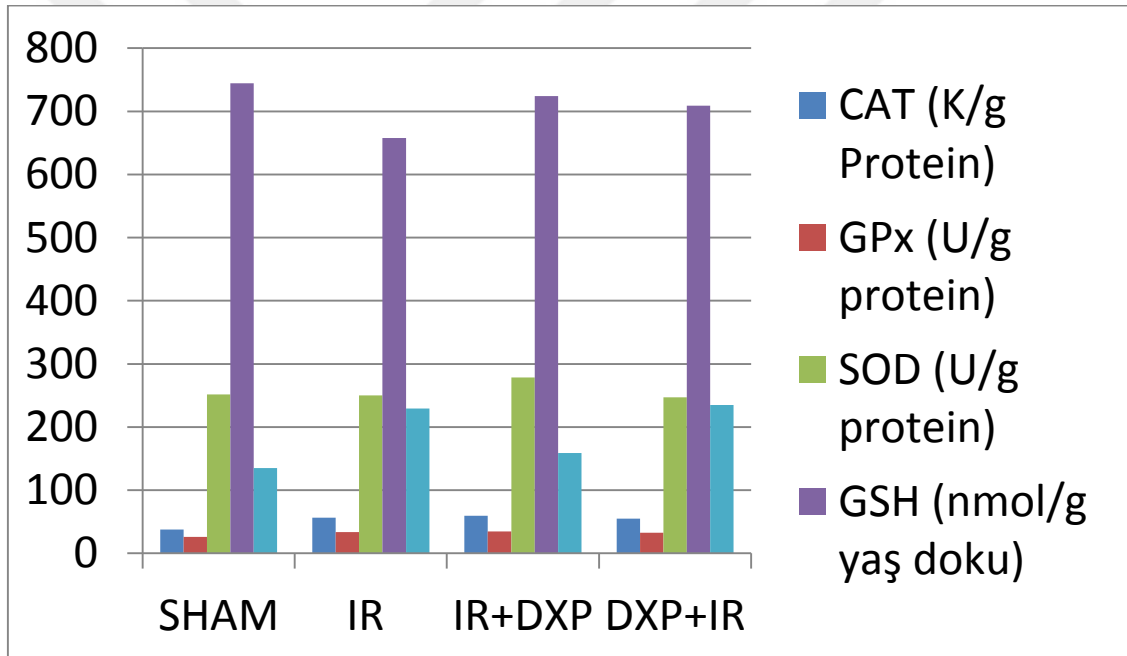
Sham grubu, DXP+IR grubu ile karşılaştırıldığında, GSH düzeyinin, DXP+IR grubunda Sham grubuna göre düşük olduğu saptandı ($p=0.156$) ancak sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı, MDA düzeyinin ise DXP+IR grubunda Sham grubuna göre yüksek olduğu ($p=0.001$) saptandı ve sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

IR grubu, IR+DXP grubu ile karşılaştırıldığında, GSH düzeyinin, IR+DXP grubunda IR grubuna göre yüksek olduğu ($p=0.031$), MDA düzeyinin ise IR+DXP

grubunda IR grubuna göre düşük olduğu ($p=0.015$) saptandı ve her iki sonuç arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

IR grubu, DXP+IR grubu ile karşılaştırıldığında, GSH düzeyinin, DXP+IR grubunda IR grubuna göre yüksek olduğu ($p=0.187$), MDA düzeyinin ise DXP+IR grubunda IR grubuna göre yüksek olduğu ($p=0.832$) saptandı fakat her iki sonuç arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

IR+DXP grubu, DXP+IR grubu ile karşılaştırıldığında, GSH düzeyinin, IR+DXP grubunda DXP+IR grubuna göre yüksek olduğu ($p=0.248$) ve bu değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, MDA düzeyinin ise IR+DXP grubunda DXP+IR grubuna göre daha düşük ($p=0.013$) olduğu saptandı ve sonuçlar arası farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu.



Şekil 4.2. Gruplar arasındaki biyokimyasal doku analiz sonuçları

4.4. Grupların beyin parankiminin histopatolojik incelemesi

Histopatolojik inceleme için alınan beyin dokusu örnekleri % 10'luk formaldehit ile 48 saat tespit edildi. Tespit işlemini sonrasında beyin dokusu örnekleri rutin histolojik doku takip prosedüründen geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 6 μ m kalınlığında kesitler hazırlandı. Lamlar üzerine alınan kesitler hematoxilen – eozin (H-E) ile boyandıktan sonra Leica DFC

280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz Sistemi (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) ile incelenerek fotoğraflar çekildi.

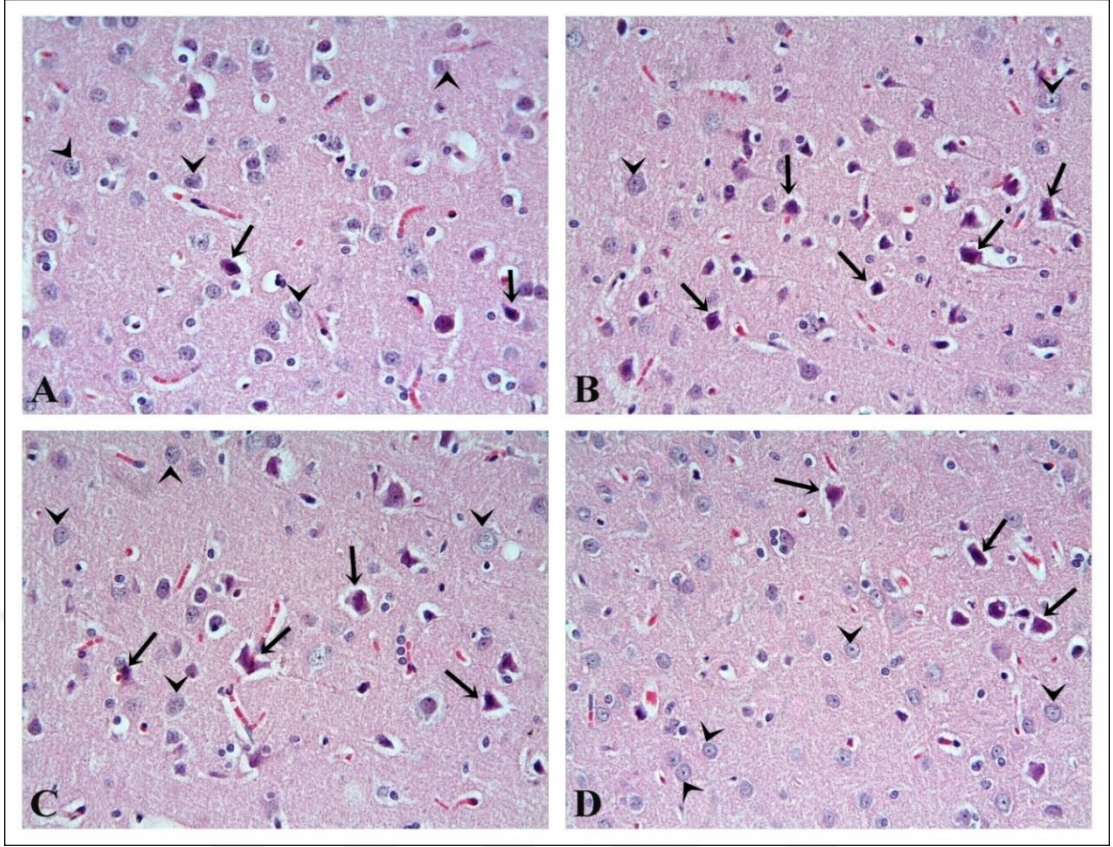
Deney sonunda çıkarılan serebrum dokuları, %10'luk formaldehit içerisinde alınarak tespit edildi. Doku takibi işlemlerinden sonra hazırlanan parafin bloklardan, 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, genel morfolojik yapının belirlenmesi için hematoksilin-eozin boyama metodu ile boyandı. Serebral korteks, nöronal dejenerasyon yönünden değerlendirildi.

Nöronal dejenerasyon şiddeti, x40 büyütme altında, rasgele seçilen 10 alanda, dejenere nöron sayısı (büzülmüş hipereozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleuslu nöronlar) belirlenerek elde edildi (88).

Tablo 4.5. Gruplar arasındaki dejenere nöron sayısı

Gruplar	Dejenere nöron
	Ortanca (minimum-maksimum)
Sham	1.5 (0.0-8.0)
IR	5.0 (0.0-31.0)
IR+DXP	2.0 (0.0-11.0)
DXP+IR	3.5 (0.0-19.0)

Sham grubuna ait kesitlerde, yuvarlak, büyük ve ökromatik nükleusları ile normal morfolojik özelliklere sahip nöronlar ile birlikte az sayıda dejenere nöronlara da rastlandı. (Resim 10-A). IR grubunda, büzülmüş, hipereozinofilik sitoplazma ve piknotik nükleusları ile dikkat çeken dejenere nöronların sayısında belirgin bir artışın olduğu ve bu artışın sham grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p=0.0006$) (Resim 10-B). IR öncesi ve sonrası DXP uygulaması ile dejenere nöron sayısında azalmanın olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte, DXP+IR grubunda dejenere nöron sayısındaki azalma, IR grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Resim 10-C). Diğer yandan, IR+ DXP grubunda dejenere nöron sayısındaki azalmanın, hem IR hem de DXP+IR grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p=0.0006$) (Resim 10-D). Her bir gruptaki dejenere nöron sayısı tablo 5’de verilmiştir.



Şekil 4.3. Sham (A), I R (B), DXP+IR (C) ve IR+DXP (D) gruplarında serebral korteksin görünümü. Uzun ok başları, büyük, yuvarlak ve ökromatik nükleusları ile ayırt edilen normal nöronlara; kısa ok başları büzülmüş, hipereozinofilik sitoplazma ve piknotik nükleusları ile dikkat çeken dejenere nöronlara işaret ediyor. H-E; x40.

5. TARTIŞMA

Dokularda bir miktar serbest oksijen radikali (SOR) devamlı olarak üretilmekte fakat bunlar CAT, SOD ve GPx gibi antioksidan enzim sistemleriyle etkisiz hale getirilebilmektedir (89). Serebral iskemide patofizyolojik olayları başlatan, azalan beyin kan akımı sonucunda ortaya çıkan enerji açığının harekete geçirdiği moleküllerdir. Glukoz metabolizmasının etkilenmesiyle ATP ve fosfokreatin düzeylerinin azaldığı, laktat düzeyinin arttığı bir metabolik dengesizlik durumu oluşur. Azalan ATP, membran geçirgenliğini ve depolarizyonunu bozarak hücre içi kalsiyum, sodyum ve klor; hücre dışı potasyum düzeyinde artışa neden olur (90). İskemi sonucu oluşan doku hasarında, iskeminin süresi ve derinliği en önemli belirleyici iki faktördür (91). Reperfüzyon sonucu iskemik dokunun yeniden oksijenasyonu durumunda, moleküler oksijenin hücre içinde oksidatif enzimler tarafından indirgenmesi ile yüksek miktarda serbest oksijen radikali (SOR) oluşur ve bu serbest oksijen radikalleri iskemi reperfüzyon hasarı oluşmasındaki en önemli rolü oynar. Süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil iyonu (OH^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) başlıca önemli serbest oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre membranında hasar oluştururlar, membran geçirgenliğinin bozulması hücre içinde aşırı kalsiyum (Ca^{+2}) birikmesine neden olur (92). Hücre içinde artan kalsiyum hücre ölümüyle sonuçlanan apoptozis yolağını aktive eder (93). Ayrıca artmış serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksitleri, nötrofiller üzerine kemotaktik etki yaparak, reperfüze dokuda inflamasyon ve hücre hasarı oluşturur (90).

Dekspantenol (Provitamin B5), pantotenik asidin sentetik bir alkol formudur. Dokularda pantotenik aside okside olarak etki eder ve antioksidan ve antienflamatuar etkiye sahiptir. (94) Pantotenik asit ve türevleri redükte glutatyon (GSH), koenzim A (CoA) ve hücredeki ATP sentezinde artışa neden olur (95). GSH ve glutatyon bağımlı peroksidazlar iskemi reperfüzyon hasarında görülen oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna karşı en önemli koruyucu sistemi oluşturmakta ve hepatotoksisite, yara iyileşmesi, nefropati gibi birçok hastalıkta ciddi yan etkileri olmadan kullanılmaktadır (64, 96). Bugüne kadar dekspantenolün oldukça ucuz ve kolay elde edilebilen bir madde olmasına karşın literatürde serebral iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine olan etkilerini gösteren çok fazla çalışma yoktur.

Bu çalışmada deneysel serebral iskemi-reperfüzyon hasarında dekspantenolün koruyucu etkisinin araştırılmasını amaçladık. İskemi-reperfüzyon süresi çeşitli organlar için değişmekle beraber, serebral iskemi için farklı çalışmalarda değişik süreleri uygulayan modeller bulunmaktadır. Literatürde beyinde iskemik hasarın oluşması için 10 dakika, reperfüzyon hasarı oluşumu için ise 15 dakikalık bir sürenin yeterli olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (97). Biz bu çalışmada her iki karotid arterin 30 dakika boyunca klemplenmesi ile oluşturulan iskeminin ardından klempleri çıkartarak 72 saat boyunca reperfüzyon ile serebral dokuda hasar oluşturduk. Çalışmamızda dekspantenolün serebral iskemi-reperfüzyon hasarındaki profilaktik ve terapötik etkisini incelemek için, dekspantenolü iskemi öncesi 3 gün ve 1x500 mg/kg (DXP+IR grubu) ve iskemiden hemen sonra reperfüzyon süresi boyunca 3 gün, 1x500mg/kg olmak üzere (IR+DXP grubu) iki farklı şekilde uygulayarak etkilerini inceledik.

Rota-rot testinde Sham grubu, bütün rpm hızlarında parkuru iskemi yapılan diğer gruplardan daha uzun süre dengede kalarak tamamlamıştır, IR grubu ise bütün rpm hızlarda parkurda en kısa süre dengede kalan gruptur. IR+DXP grubu; DXP+IR grubundan ve IR grubundan daha uzun, Sham grubundan ise daha kısa süre dengede kalabilmiş, DXP+IR grubu ise sadece IR grubundan daha uzun süre dengede kalırken, Sham grubu ve IR+DXP grubundan daha kısa süre dengede kalabilmiştir. (Karşılaştırmalar tüm rpm hızlarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur) Rota-rot ve Akselere-rot testlerinde parkurda farklı rpm hızlardaki dengede kalma süreleri deneyde oluşturulan beyin hasarı ve rattaki tükenmişlik hissi hakkında bilgi vermektedir (82). Rota-rot testi sonuçlarına göre beyin hasarı oluşturulmayan Sham grubunun ardından, IR+DXP grubu en uzun süre dengede kalmış grup olup, onu DXP+IR grubu ve son olarak IR grubu izlemektedir. Akselere-rot testinde de yine benzer sonuçlar alınmıştır. Parkur üzerinde dengede kalabilme süreleri sırasıyla en uzundan en kısaya doğru olacak şekilde Sham grubu, IR+DXP grubu, DXP+IR grubu ve IR grubu şeklindedir. (akselere 4 dk test istatistiksel olarak anlamlı iken akselere 10 dk test birçok karşılaştırmada anlamlı bulunmamıştır). M. Yamamoto ve S. Yamada iskemi modeli ile beyin hasarı geliştirilmiş ratlara kalsiyum kanal blokörü ile tedavi uygulamış ve tedavi edilmeyen grupta da rota-rot ve akselere rot sonuçlarının düzeldiğini ancak ilaç ve kontrol grubundaki düzelmenin daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir (98). Korkmaz ve arkadaşlarının, ratlarda deneysel olarak oluşturulan siyatik sinir hasarında dekspantenolün koruyucu etkinliğini araştırdığı bir çalışmada, dekspantenol ile tedavi

edilen grupta, tedavi almayan gruba göre rota-rot ve akselere-rot testi sonuçlarında belirgin bir düzelme olduğu gösterilmiştir (99). Deneyimizde serebral iskemi oluşumundan önce ve sonra verilen dekspantenolün, rota-rot ve akselere-rot testlerinde, ilaç verilmeyen iskemi grubuna göre hareketli parkur üzerinde dengede kalma sürelerinde belirgin olarak uzamaya neden olduğu bulunmuştur.

İskemi-reperfüzyon hasarında oluşan aşırı miktardaki serbest oksijen radikallerine karşı hücreler, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi hücre içi antioksidan enzimleri aktive ederek kendilerini korumaya çalışırlar (100, 101). Uçar ve arkadaşlarının dekspantenolün böbrek iskemi-reperfüzyon hasarındaki etkilerini araştırdıkları bir çalışmada SOD, iskemi-reperfüzyon yapılan grupta, Sham grubuyla kıyaslandığında belirgin olarak düşük bulunmuştur (102). Soylu ve arkadaşlarının dekspantenolün overyan iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştırdığı diğer bir çalışmada ise GPx ve CAT iskemi reperfüzyon yapılan grupta sham grubuna göre düşük bulunmuştur (103). Literatürde daha bir çok benzeri çalışmalarda alınan sonuçlar, iskemi reperfüzyon grubunda artmış serbest oksijen radikali düzeyinin endojen antioksidan enzimlerin tüketilmesine neden olduğunu göstermektedir. Her iki çalışmada iskemi-reperfüzyon sonrası dekspantenol ile tedavi uygulanan gruplarda bu üç endojen antioksidan enzimin (SOD, GPx ve CAT) iskemi reperfüzyon grubuyla kıyaslandığında arttığı bildirilmektedir. Yine Slyshenkov ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada dekspantenolün pantotenik asit ve pantotenole okside olarak karaciğer dokusunda antioksidan enzim (GPx, CAT, malik enzim vb.) sentezini arttırmak suretiyle serbest radikalleri süpürücü ve antioksidatif özellikleri olduğu gösterilmiştir (104). Çalışmamızda CAT ve GPx, IR grubunda Sham grubuna göre düşük; SOD ise her iki grupta birbirine yakın bulunmuştur. IR+DXP ve DXP+IR gruplarında ise her üç enzimin IR grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmış fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Malondialdehit (MDA), bir lipid peroksidasyon son ürünüdür ve dokulardaki oksidatif hasarın düzeyini gösteren bir indikatör olarak kullanılmaktadır. Ayrıca MDA'nın kendine özgü bir çapraz bağ yapısının bulunması ve membran lipidleriyle etkileşime girebilmesi nedeniyle ciddi hücre hasarına neden olduğu da bilinmektedir (105). Daha önce yapılan çalışmalarda gösterildiği gibi serum ve doku MDA seviyesi iskemi reperfüzyon hasarı sonucu artmaktadır (106). Bizim çalışmamızda da benzer bir sonuç alınmış ve IR grubunun doku MDA seviyesinin Sham grubu ile kıyaslandığında önemli

bir miktarda arttığı tespit edilmiştir. Dekspantenolün lipid peroksidasyonuna bağlı hücre hasarını, glutatyon (GSH) sentezini ve GPx enziminin aktivitesini arttırmak yoluyla azaltılabileceği düşünülmektedir (107). Ermiş ve arkadaşlarının bleomisin ile indük- lenen akciğer fibrozisinde dekspantenolün etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, oksidatif hasara bağlı lipid peroksidasyonunun dekspantenol tedavisi ile azaldığı ve doku MDA seviyesinin iskemi reperfüzyon grubuna göre belirgin olarak düştüğü gösterilmiştir (108). Tütün ve arkadaşlarının yaptığı, ratlarda deneysel olarak oluşturulan diabetik nefropati ve oksidatif strese karşı dekspantenolün koruyucu etkinliğini araştıran bir başka çalışmada, dekspantenol ile tedavi edilen grupta MDA seviyesinin tedavi almayan diabetik nefropati grubuna göre belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir (109). Bizim çalışmamızda IR+DXP grubunda MDA düzeyi IR grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuşken ($p<0,05$) DXP+IR, grubunda IR grubuna göre bir azalma olmamıştır.

Esansiyel bir tripeptid olan glutatyon serbest oksijen radikallerinin nihai detoksifikasyonunda görevli önemli bir endojen antioksidandır (110). Serbest oksijen radikalleri için bir süpürücü olarak çalışmasının yanında glutatyonun; DNA tamiri, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, hücre siklusunun, kalsiyum homeostazının ve enzimatik aktivitelerin düzenlenmesinde görev aldığı bilinmektedir. Oksidatif stres durumunda redükte glutatyon (GSH) serbest oksijen radikalleri için bir substrat olarak davranır ve dokudaki GSH seviyesi azalır (66). Mukherjee ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 24 saat süren serebral reperfüzyon sonucunda GSH' ın beyin dokusundaki düzeyinin belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir (111). Dekspantenol'ün GSH aktivitesini arttırarak, endojen antioksidanları dengelediği daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Uçar ve arkadaşlarının dekspantenolün böbrek iskemi-reperfüzyon hasarındaki etkilerini araştırdıkları bir çalışmada GSH' ın iskemi grubunda sham grubuna göre belirgin olarak düştüğü, dekspantenol tedavisi alan gruplarda ise GSH düzeyinde IR grubuna göre anlamlı bir yükselme olduğu bildirilmiştir (102). Slyshenkov ve arkadaşları pantotenik asit desteğinin hepatik GSH' ı yükselterek karaciğer hücrelerinin radyasyona karşı daha dirençli hale geldiğini göstermiştir (112). Çağın ve arkadaşlarının ratlarda deneysel olarak oluşturulan mezenter iskemi-reperfüzyon hasarında dekspantenolün koruyucu etkilerini araştırdığı bir çalışmada, dekspantenol ile tedavi edilen grupta GSH seviyelerinin belirgin olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir (113). Bizim çalışmamızda da literatürdeki çalışmalara paralel sonuçlar elde edilmiş olup, GSH; IR grubunda, Sham grubuna göre belirgin düzeyde

düşük bulunmuş ($p=0,007$), iskemi-reperfüzyon öncesinde dekspantenol uygulanan DXP+IR grubunda, IR grubuna göre GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir yükseklik saptanmış ($p=0.187$), iskemi-reperfüzyon sonrası dekspantenol uygulanan IR+DXP grubunda, GSH düzeyinin IR grubuna göre belirgin düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. ($p=0,031$)



6. SONUÇLAR

1. Rota-rod ve akselere-rod testlerinde IR grubuna göre, Sham grubunun ardından sırasıyla, IR+DXP ve DXP+IR gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir düzelme izlenmiştir ($p<0,05$).
2. CAT, SOD ve GPx enzimlerinde IR grubuna göre, Sham, IR+DXP ve DXP+IR gruplarında görece bir yükseliş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).
3. MDA, IR grubunda en yüksek, Sham grubunda ise en düşük bulunmuştur. IR+DXP grubunda MDA' da IR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş varken, ($p<0,05$) DXP+IR grubunda IR grubuna göre MDA seviyesinde bir azalma olmamıştır.
4. GSH, IR grubunda en düşük, Sham grubunda ise en yüksek bulunmuştur. IR+DXP grubunda, IR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme varken ($p<0,05$), DXP+IR grubunda GSH, IR grubundan yüksek olup bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).
5. Histopatolojik olarak serebral korteks nöronal dejenerasyon açısından değerlendirilmiştir. Sham grubunda en az sayıda dejenere nöron izlenirken, IR grubunda en yüksek sayıda bulunmuştur. ($p<0,05$) IR+DXP grubunda dejenere nöron sayısı, IR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gösterirken ($p<0,05$), DXP+IR grubundaki dejenere nöron sayısı, IR grubuna göre yine düşük bulunmuş ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir ($p>0,05$).

Daha önce yapılan çalışmalarda dekspantenolün iyi bir serbest oksijen radikali süpürücüsü olduğu ve antioksidan etkilerinin iyi bilindiği dikkate alınarak; çalışmamızda elde ettiğimiz histopatolojik, motor beceri testleri ve serebral dokunun biyokimyasal parametrelerinin sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, iskemi sonrası ve reperfüzyon boyunca dekspantenol tedavisi uygulanan IR+DXP grubunda dekspantenolün nöroprotektif bir etkisi olabileceği düşünülmüştür. Serebral iskemiden önce dekspantenol tedavisi uygulanan DXP+IR grubunun ise sonuçlarda her ne kadar göreceli bir iyileşmeye neden olsa da bu iyileşmenin istatistiksel olarak anlamlı

bulunmaması nedeniyle serebral iskemi öncesi verilen dekspantenolün nöroprotektif etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Dekspantenolün, serebral iskemik inme tedavisindeki rolünü açıklayan ek deneysel ve klinik çalışmlara ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

1. Liu XQ, Sheng R, Qin ZH. The neuro protective mechanism of brain ischemic preconditioning. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2009; 30 (8): 1071.
2. Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, Caplan LR, Connors J, Culebras A, et al. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2013; 44 (7): 2064-89.
3. Oğul E. Beyin Damar Hastalıkları. *Klinik Nöroloji*. 1. Baskı, İstanbul. 2002: 1-28.
4. Easton J.D. Current advances in the management of stroke. *Neurology*. 1998; 3: 1-2.
5. Rothwell PM. The high cost of not funding stroke research: a comparison with heart disease and cancer. *Lancet*. 2001; 357: 1612-16.
6. Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology. *J Neurosurg*. 1992; 77 (2): 169-84.
7. Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II: Mechanisms of damage and treatment. *J Neurosurg*. 1992; 77 (3): 337-54.
8. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Medica. Monographia*. 1990; 137: 1-53.
9. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med*. 2001; 31: 1287- 312.
10. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surgical Clinics of North America*. 1992; 72 (1): 65-83.
11. Kavaklı A, Acet A, Parlakpınar H, Akpolat N, Şahna E. Ratlarda beyin iskemi reperfüzyon hasarı sonucu oluşan morfolojik değişikliklere melatonin ve pinealektominin etkisi. *F.Ü. Sağ Bil Derg*. 2007; 21 (2): 63-66.
12. Ceylan H, Yapici S, Tutar E, Ceylan NO, Tarakcıoğlu M, Demiryurek AT. Protective effects of dexpanthenol and y-27632 on stricture formation in a rat model of caustic esophageal injury. *J Surg Res*. 2011; 171 (2): 517-23.
13. Bilgic, Y. Akbulut, S. Aksungur, Z., Erdemli, M., Ozhan, O., Parlakpınar, H. Turkoz, Y. Protective effect of dexpanthenol against cisplatin-induced hepatotoxicity. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2018; 16: 4049-57.

14. Turgut O, Ay AA, Turgut H, Ay A, Kafkas S, Dost T. Effects of melatonin and dexpanthenol on antioxidant parameters when combined with estrogen treatment in ovariectomized rats. *Age (Dordr)*. 2013; 35 (6): 2229-35.
15. Eklöf B, Siesjö BK. The effect of bilateral carotid artery ligation upon the blood flow and the energy state of the rat brain. *Acta Physiologica Scandinavica*, 1972; 86 (2): 155-65.
16. Vila N, Castillo J, Davalos A, Chamorro A. Proinflammatory Cytokines and Early Neurological Worsening in Ischemic Stroke. *Stroke*. 2000; 31: 2325-29.
17. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Blaha MJ, et al: *Heart Disease and Stroke Statistics*. 2014.
18. Feigin VL, Norrving B, Mensah GA. Global burden of stroke. *Circulation Research*. 2017; 120 (3): 439-48.
19. Üner S, Balcılar M, Ergüder T. Türkiye Hanehalkı Sağlık Araştırması: Bulaşıcı Olmayan Hastalıkların Risk Faktörleri Prevalansı 2017 (STEPS). Dünya Sağlık Örgütü Türkiye Ofisi, Ankara, 2018.
20. Beşkonaklı E. Aksoy K. (ed) Tıkayıcı damar hastalıkları ve tedavisi. *Temel Nöroşirurji*, Buluş Tasarım ve Matbacılık, 2005: 388-96.
21. McCullough LD, Beauchamp NB, Wityk R: Recent advances in the diagnosis and treatment of stroke. *Surv ophthalmol* .2001; 45 : 317-30.
22. Cerebrovascular disorders. Clinical and research classification: WHO ofset publ. No:43 Geneva, 1978: 82-83.
23. Özdemir G, Özkan S, Uzuner N, Özdemir Ö, Gücüyener D. Türkiye’de beyin damar hastalıkları için majör risk faktörleri. Türk çok merkezli stroke çalışması. *Türk Beyin Damar Hastalıkları Dergisi* 2000; 6: 31–35.
24. Kumral E. İnme Epidemiyolojisi. *Serebrovasküler Hastalıklar*. Ankara. Güneş Kitabevi. 2005: 39–56.
25. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, Appel LJ, Brass LM, Bushnell CD, et al: Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2006; 37 (6) : 1583-633.

26. Durlanık, G., İnmede Vasküler Anatomi ve Klinik Tablolarla İlişkisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Physical Medicine Rehabilitation Special Topics*, 2016; 9 (1) : 1-7.
27. İhsan Ökten, A. and A. Güzel, Beynin Arteryel Anatomisi. *Türk Nöroşirürji Dergisi*. 2012; 22 (3) : 171-88.
28. Osborn, A G. *Diagnostic Neuroradiology*. s.l.: Elsevier Health Sciences, 1994: 117-53.
29. Erbenği A. History and development of neurosurgery in Anatolia. *Turkish Neurosurg*. 1993; 3: 1-5.
30. Dere F. (ed). *Nöroanotomi*, Adana: Nobel. 2000: 32-42.
31. Yaşargil MG. *Microneurosurgery Volum I*. Stutgart, New York: Georg Thieme Verlag, 1984: 128-43.
32. Balkan Sevin, *Serebrovasküler Hastalıklar*. Serebrovasküler anatomi. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 289-313.
33. Greenberg MS. *Handbook of Neurosurgery*. Cerebral arterial anatomy. Sixth edition. USA: Thieme. 2006: 77-78.
34. Liebeskind, D. S., Caplan, L. R. *Intracranial Arteries - Anatomy and Collaterals. Intracranial Atherosclerosis: Pathophysiology, Diagnosis and Treatment*. USA; Karger; 2016: 1-20.
35. Pulsinelli WA, Buchan AM. The four-vessel occlusion rat model: method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation. *Stroke*, 1988; 19 (7) : 913-14.
36. Kuroiwa T, Bonnekoh P, Hossmann KA. Prevention of postischemichyperthermia prevents ischemic injury of CA1 neurons in gerbils. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1990; 10(4) : 550-56.
37. Siemkowicz, E. and A.J. Hansen, Clinical restitution following cerebral ischemia in hypo, normo-and hyperglycemic rats. *Acta Neurologica Scandinavica*. 1978; 58 (1): 1-8.
38. Fantini, S., Sassaroli, A., Tgavalekos, K. T., & Kornbluth, J. Cerebral blood flow and autoregulation: current measurement techniques and prospects for noninvasive optical methods. *Neurophotonics*. 2016; 3 (3): 031411.
39. Aaslid R, Lindegaard K.F, Sorteberg W, Nornes H. Cerebral autoregulation Dynamics in Humans. *Stroke*. 1989; 20(1): 45-52.

40. Baron JC, Mapping the ischaemic penumbra with PET: implications for acute stroke treatment. *Cerebrovasc Dis.* 1999; 9: 193-201.
41. El-Koussy M. Schroth G. Brekenfeld C. Arnold M. Imaging of Acute Ischemic Stroke. *Eur Neurol* 2014; 72:309-316.
42. Ay H, Dalkara T. İskemik penumbra ve terapötik zaman aralığını etkileyen faktörler. *Serebrovasküler Hastalıklar.* Ankara: Güneş Tıp Kitabevi 2009: 29-36.
43. Wintermark, M., et al., Perfusion-CT assessment of infarct core and penumbra: receiver operating characteristic curve analysis in 130 patients suspected of acute hemispheric stroke. *Stroke.* 2006; 37 (4): 979-85.
44. Nortje J, Menon DK. Applied Cerebrovascular Physiology. *Anesthesia & Intensive Care Medicine.* 2004: 325-331.
45. Dalkara T. *Nöroloji temel kitabı.* In: Emre M, editor. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2013: 685-92.
46. Back T. Pathophysiology of the ischemic penumbra--revision of a concept. *Cell Mol Neurobiol.* 1998; 18 (6): 621-38.
47. Ginsberg MD. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future. *Neuropharmacology.* 2008; 55 (3): 363-89.
48. Ransom BR, Walz W, Davis PK, Carlini WG. Anoxia-induced changes in extracellular K⁺ and pH in mammalian central white matter. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* 1992; 12 (4): 593-602.
49. Choi DW, Rothman SM. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Annual review of neuroscience,* 1990; 13 (1): 171-82.
50. Edelstein CL, Alkhunnaizi AA, Schrier RW: the role of calcium in the patogenesis of acute renal failure, *RenFail.* 1997; 19: 199-207.
51. Bettina Thauerer,Stephanie zur Nedden, Gabriele Baier-Bitterlich. Purine nucleosides endogenous neuroprotectants in hypoxic brain. *J. Neurochem.* 2012; 121(3): 329-42.
52. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol.* 1986; 250: 749-53.
53. Zhang Y, CHEN Z, Girwin M, Wong T. Remifentanyl mimics cardioprotective effects of ischemic preconditioning via protein kinase c activation in open chest of rats. *Acta Pharmacology.* 2005; 200: 446-500.
54. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br. Med Bull.* 2004; 70: 71-86.

55. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med*. 2001; 31: 1287-312.
56. Ramos-Cabrera P, Campos F, Sobrino T, Castillo J: Targeting the ischemic penumbra. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2011; 42: 7- 11.
57. Ebner F, Heller A, Rippke F, Tausch I. Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *American Journal of Clinical Dermatology* 2002; 3 (6): 427-33.
58. Arash Mahboubia,, Marjan Gholamreza Alviric, Minoo Afshar and Mahdieh Farhangid, Development and Validation of A Fast, Simple And Specific Stability Indicating RP-HPLC Method for Determination of Dexpanthenol in Eye Gel Formulation, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2019; 18(2): 670-76.
59. Tulum Y, B kompleks vitaminleri ve biyokimyası. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı, Dış Hekimliği Bitirme Tezi, İzmir 2007.
60. Tahiliani, A. G., & Beinlich, C. J. Pantothenic Acid in Health and Disease. *Vitamins & Hormones*, 1991: 165–228.
61. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak L: Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBS Lett*. 2004; 569: 169–172.
62. Slyshenkov VS, Omelyanchik SN, Moiseenok AG, Trebukhina RV, Wojtczak L: Pantothenol protects rats against some deleterious effects of gamma radiation. *Free Radic Biol Med*. 1998; 24: 894–899.
63. Bayrak O, Seckiner İ, Solakhan M, Karakok M, Erturhan S, Yagci F. Effects of Intravesical Dexpanthenol Use on Lipid Peroxidation and Bladder Histology in a Chemical Cystitis Animal Model. *Urology*. 2012; 79: 1023–26.
64. Slyshenkov VS, Rakowska M, Moiseenok AG, Wojtczak L: Pantothenic acid and its derivatives protect Ehrlich ascites tumor cells against lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med*. 1995; 19: 767–72.
65. Slyshenkov VS, Rakowska M, Wojtczak L: Protective effect of pantothenic acid and against permeabilization of Ehrlich ascites tumour cells by digitonin. *Acta Biochim Pol*. 1996; 43: 407-10.
66. Anderson, M.E. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chemico-Biological Interactions*. 1998; 111: 1-14.
67. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J*. 1995; 9: 26-33.

68. Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 1989; 8: 747-52.
69. Lushchak V.I: Free Radical Oxidation of Proteins and Its Relationship with Functional State of Organisms. *Biochemistry*. 2007; 72: 809-72.
70. Pena -Llopis, S., Ferrando, M.D., Pena, J.B. Impaired glutathione redox status is associated with decreased survival in two organophosphatepoisoned marine bivalves. *Chemosphere* 2002; 47: 485-97.
71. Bray, T. M., & Taylor, C. G. Enhancement of tissue glutathione for antioxidant and immune functions in malnutrition. *Biochemical Pharmacology*. 1994; 47(12): 2113-23.
72. Shi, G.-F., Wang, G.-Y., & Chen, X.-F. Screening of radical-scavenging natural neuroprotective antioxidants from *Swertia chirayita*. *Acta Biologica Hungarica*, 2013; 64 (3): 267–78.
73. Stevan Gawel et al. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci lekarskie* 1960; 57: 9-10.
74. Okutan H, Savas C, Delibas N. The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2004; 3: 519-22.
75. Draper H. H., Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods in enzymology*. 1990; 186: 421-31.
76. Fridovich I. Superoxide Dismutases. *Annual Review of Biochemistry*. 1975; 44: 147-59.
77. Sun, Z., Wang, X., Deng, X., Lasson, Å., Soltesz, V., Börjesson, A., & Andersson, R. Beneficial Effects of Lexipafant, a PAF Antagonist on Gut Barrier Dysfunction Caused by Intestinal Ischemia and Reperfusion in Rats. *Digestive Surgery*. 2000; 17 (1): 57–65.
78. Guzel, A., Er, U., Tatli, M., Aluclu, U., Ozkan, U., Duzenli, Y. Kaplan, A. Serum neuron-specific enolase as a predictor of short-term outcome and its correlation with Glasgow Coma Scale in traumatic brain injury. *Neurosurgical Review*. 2008; 31 (4): 439–45.
79. Kirkman HN, Rolfo M, Ferraris AM, Gaetani GF. Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry. *J Biol Chem*. 1999; 274: 13908-14.
80. Kelner MJ, Bagnell R. Alteration of endogenous glutathione peroxidase, manganese superoxide dismutase, and glutathione transferase activity in cells transfected with a copper-zinc superoxide dismutase expression vector. Explanation for variations in paraquat resistance. *J Biol Chem*. 1990; 265: 10872-5.

81. Rundlöf, A.-K., Carlsten, M., Giacobini, M. M. J., & Arner, E. S. J. Prominent expression of the selenoprotein thioredoxin reductase in the medullary rays of the rat kidney and thioredoxin reductase mRNA variants differing at the 5' untranslated region. *Biochemical Journal*. 2000: 347(3): 661–68.
82. Bogo V., Hill T. A., Young R. W: Comparison of accelerod and rotarod sensitivity in detecting ethanol-and acrylamide-induced performance decrement in rats: review of experimental considerations of rotating rod systems. *Neurotoxicology*. 1981: 2(4): 765-87.
83. Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1959: ,82(1): 70–77.
84. Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979: 95(2): 351–58.
85. Sun Y, Oberley LW, and Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem*. 1988: 34: 497-500.
86. Aebi H: In Bergmeyer HU (ed.): Methods in enzymatic analysis, Weinheim, *Verlag Chemie*. 1982: 3: 273-82.
87. Paglia D., and Valentine W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967: 70: 158-69.
88. Sarshoori, J. R., Asadi, M. H., & Mohammadi, M. T. Neuroprotective effects of crocin on the histopathological alterations following brain ischemia-reperfusion injury in rat. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2014: 17(11): 895.
89. Aguilar, A., Alvarez-Vijande, R., Capdevila, S., Alcobarro, J., & Alcaraz, A. Antioxidant Patterns (Superoxide Dismutase, Glutathione Reductase, and Glutathione Peroxidase) in Kidneys From Non-Heart-Beating-Donors: Experimental Study. *Transplantation Proceedings*. 2007: 39(1): 249–52.
90. Crack PJ, Taylor JM. Reactive oxygen species and the modulation of stroke. *Free Radical Biology & Medicine* 2005: 38: 1433–44.
91. Cho S, Park EM, Febbraio M, Anrather J, Park L, Racchumi G et al. The class B scavenger receptor CD36 mediates free radical production and tissue injury in cerebral ischemia. *J Neurosci*. 2005: 25(10): 2504-12.
92. Lunec J, Blake D. Oxygen Free Radicals: Their Relevance to Disease Processes. *Balliere*. 1990: 189-212.

93. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiological reviews*. 1999; 79(4): 1431-568.
94. S.Ozkısacık , M.Yazıcı , H. Gürsoy , M.Serter , N.Çulhacı. Does Dexpanthenol Protect the Kidney from Ischemia-Reperfusion Injury? *Türk Nefrolojisi* 2011; 20 (02): 146-49.
95. Doğan, E. E., Erkoç, R., Ekinci, İ., Hamdard, J., Döner, B., Çıkrıkçıoğlu, M. A. Kazancıoğlu, R. Protective effect of dexpanthenol against nephrotoxic effect of amikacin: An experimental study. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017; 89: 1409–14.
96. Kutlu, Ö. Dexpanthenol may be a novel treatment for male androgenetic alopecia: Analysis of nine cases. *Dermatologic Therapy*. 2020.
97. Islekel S, Islekel H, Guner G. Alterations in superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in experimental cerebral ischemia-reperfusion. *Res Exp Med* . 1999; 199: 167-76.
98. Akyuva Y. Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Aposininin Uzaysal Öğrenme, Denge ve Bellek Fonksiyonlarına Etkisinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Malatya İnönü Üniversitesi Nöroşirurji Bölümü 2015.
99. Korkmaz, M. F., Parlakpınar, H., Erdem, M. N., Ceylan, M. F., Ediz, L., Samdanci, E., & Kekilli, E. The therapeutic efficacy of dexpanthenol on sciatic nerve injury in a rat model. *British Journal of Neurosurgery*, 2020; 1–5.
100. Altıntaş R, Parlakpınar H, Beytur A, Vardi N, Polat A, SagırM, Odabas GP, Protective effect of dexpanthenol on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *Kidney Blood Press Res*. 2012; 36: 220–30.
101. Keskin R, Doğan AC, Doğan M, Albayrak A, Kurt SN, ErenF, Okyay AG, Karateke A, Duru M, Fadillioglu E, Delibasi, Protective effect of colchicine on ovarian ischemia–reperfusion injury: an experimental study. *Reprod Sci* 2015; 22(5): 545–50.
102. Ucar, M., Aydogan, M. S., Vardı, N., & Parlakpınar, H. Protective Effect of Dexpanthenol on Ischemia-Reperfusion-Induced Liver Injury. *Transplantation Proceedings*. 2018; 50 (10).
103. Soylu Karapınar, O., Pinar, N., Özcan, O., Atik Doğan, E., Bayraktar, S., Şahin, H., & Dolapçıoğlu, K. The effect of dexpanthenol on experimentally induced ovarian ischaemia/reperfusion injury: a biochemical and histopathological evaluation. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2017; 295(3): 777–84.

104. Slyshenkov VS, Omelyanchik SN, Moiseenok AG, Trebukhina RV, Wojtczak L. Pantothenol protects rats against some deleterious effects of gamma radiation. *Free Radic Biol Med*. 1998; 24: 894–99.
105. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002; 82: 47-95.
106. Celik O, Turkoz Y, Hascalik S, Hascalik M, Cigremis Y, Mizrak B, Yologlu S, The protective effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia–reperfusion injury in rat ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004; 117: 183–88.
107. Etensel, B., Özkısacık, S., Özkara, E., Karul, A., Öztan, O., Yazıcı, M., & Gürsoy, H. Dexpanthenol attenuates lipid peroxidation and testicular damage at experimental ischemia and reperfusion injury. *Pediatric Surgery International*. 2006; 23(2): 177–81.
108. Ermiş H, Parlakpınar H, Gulbas G, Vardi N, Polat A, Cetin A, Kilic T, Aytemur ZA Protective effect of dexpanthenol on bleomycin induced pulmoner fibrosis. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2013; 386: 1103–10.
109. Tutun, B., Elbe, H., Vardi, N., Parlakpınar, H., Polat, A., Gunaltılı, M., Yasar, E. N. Dexpanthenol reduces diabetic nephropathy and renal oxidative stress in rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 2018: 1–8.
110. Ross D. Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents. *Pharmacol Ther*. 1988; 37: 231-49.
111. Mukherjee PK, Ahamed KF, Kumar V, Mukherjee K, Houghton PJ. Protective effect of biflavones from *Araucaria bidwillii* Hook in rat cerebral ischemia/reperfusion induced oxidative stress. *Behav Brain Res*. 2007; 178(2): 221-8.
112. Slyshenkov VS, Piwocka K, Sikora E, Wojtczak L . Pantothenic acid protects jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 2001; 30: 1303-10.
113. Cagin, Y. F., Atayan, Y., Sahin, N., Parlakpınar, H., Polat, A., Vardi, N. Yildiz, A. Beneficial effects of dexpanthenol on mesenteric ischemia and reperfusion injury in experimental rat model. *Free Radical Research*, 2016; 50(3) : 354–65.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Kararı



T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL (HADYEK) BAŞKANLIĞI

TOPLANTI TARİHİ	KARAR SAYISI	HAYBİS KAYIT NO	BAŞVURU SAHİBİ
09.01.2020	2020/01-3	7726	Prof. Dr. Selami Çağatay ÖNAL

Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü	: Rat	Canlı Hayvan ile Çalışacak Araştırmacılar
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soy	: <i>Wistar Albino</i>	
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti	: Dişi	
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı	: 32 adet	
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı	: 3-4 aylık 200-250 gr.	
		1. Prof. Dr. Nigar VARDI
		2. Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
		3. Prof. Dr. Hakan PARLAKPINAR
		4. Dr. Öğr. Üyesi Azibe YILDIZ
		5. Dr. Öğr. Üyesi Nuray ÜREMİŞ
		6. Dr. Öğr. Üyesi Onural ÖZHAN
		7. Arş. Gör. Sarp ŞAHİN

KARAR:

"Deneyisel Global Serebral İskemi-Reperfüzyon Hasarında Dekspantenolün Beyin Dokusu Üzerine Etkilerinin Araştırılması" başlıklı çalışma kapsamında kullanılacak deney hayvanlarında yapılacak girişimlerde araştırmacılar tarafından "hayvan kullanım etiği ilkelerine" uyulacağı beyan edilmiştir. Bu çerçevede, söz konusu araştırmanın Orman ve Su İşleri Bakanlığının 15 Şubat 2014 tarih ve 28914 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" hükümleri göz önüne alındığında çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna; **oy birliği ile karar verildi.**

BAŞKAN	Doç. Dr. Suat TEKİN	
--------	---------------------	--

ÜYELER

Doç. Dr. Elif TAŞLIDERE			
Başkan Yardımcısı			
Dr. Öğr. Üyesi Onural ÖZHAN	Katılmadı	Prof. Dr. Başak KAYHAN	
Üye		Üye	
Veteriner Hekim ENGİN KORKMAZ		Prof. Dr. Şengül YÜKSEL	
Üye		Üye	
Avukat Mustafa Umut YALÇIN		Öğretmen Kaan Akın ÖZ	
Sivil Üye		Sivil Üye	Katılmadı