

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÖNKOŞULLANMA VE NİKOTİNAMİDİN BİLATERAL
KAROTİS OKLÜZYONU İLE İSKEMİ OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA SEREBRAL İSKEMİ-REPERFÜZYONUNDA
BEYİN HASARINA KARŞI KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ruhat ARSLAN

Enstitü Anabilim Dalı: Fizyoloji

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Songül DOĞANAY

HAZİRAN - 2021

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÖNKOŞULLANMA VE NİKOTİNAMİDİN BİLATERAL
KAROTİS OKLÜZYONU İLE İSKEMİ OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA SEREBRAL İSKEMİ-REPERFÜZYONUNDA
BEYİN HASARINA KARŞI KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ruhat ARSLAN

Enstitü Anabilim Dalı: Fizyoloji

“Bu tez 21/06/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.”

JÜRİ ÜYESİ	KANAATİ	İMZA

BEYAN

Bu alışma T.C. Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 07/10/2020 tarihinde 53 sayılı karar ile onay alınarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

21/06/2021

Ruhat ARSLAN

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince bilgi ve birikimlerinden faydalandığım, tezimin her aşamasında yanımda olan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam, tez yöneticisi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Songül DOĞANAY' a saygı ve şükranlarımı sunarım. Lisansüstü eğitimim süresince yetişmemde değerli katkıları bulunan Fizyoloji Anabilim Dalı Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Cahit BAĞCI'ya, ve eğitimimde katkıları bulunan Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine, tez çalışmamın biyokimyasal analizleri aşamalarında yardım ve katkılarını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Nurten BAHTİYAR'a ve histopatolojik değerlendirmeleri yapan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Özcan BUDAK'a, deneysel çalışmaların yürütülmesi ve numunelerin toplanması aşamasında yardımcı olan SÜDATEM çalışanı Sayın İbrahim ULUSOY'a ve eğitimim boyunca desteklerini her zaman hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamızı maddi açıdan destekleyen (Proje No: 2020-7-24-94) Sakarya Üniversitesi Bilimler Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER	vi
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
RESİMLER	xii
ÖZET	xiii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. BEYİN ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ	4
2.1.1. Beyin Anatomisi	5
2.1.2. Beynin Kanlanması	6
2.2. İSKEMİ VE REPERFÜZYON	8
2.3. SEREBRAL İSKEMİ VE REPERFÜZYON	9
2.4. İNMENİN EPİDEMİYOLOJİ	10
2.5. İNMENİN SINIFLANDIRILMASI	11
2.6. RİSK FAKTÖRLERİ	12
2.7. SEREBRAL İSKEMİ REPERFÜZYON FİZYOPATOLOJİSİ	13
2.7.1. İskemik Penumbra	14
2.7.2. Enerji Eksikliği ve Asidoz	14
2.7.3. Eksitotoksosite	15

2.7.4. Glutamat Eksitotoksisitesi	15
2.7.5. Kalsiyum Sitotoksisitesi	16
2.7.6. Oksidatif Stress ve Serbest Radikal Oluşumu	17
2.7.7. İnflamasyon	18
2.7.8. Kan Beyin Bariyerinin Bozulması	19
2.7.9. DNA Hasarı	20
2.7.10. Apoptoz ve Nekroz	21
2.7.11. Reperfüzyon Hasarı	22
2.8. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR)	23
2.9. ANTİOKSİDANLAR	24
2.9.1. Enzimatik Endojen Antioksidanlar	25
2.10. OKSİDATİF STRES	26
2.10.1. Malondialdehit (MDA)	27
2.11. NİKOTİNAMİD	28
2.11.1. Nikotinamidin Etkileri	29
2.12. İSKEMİK ÖNKOŞULLANMA(İÖK)	31
2.12.1. Önkoşullanmanın Nöroprotektif Etkileri	34
2.12.1.1. İÖK ve Hücrel Enerji Metabolizmasındaki Değişiklikler	34
2.12.1.2. İÖK ve Eksitotoksisitenin Azaltılması	34
2.12.1.3. İÖK ve Ca^{2+} İyonu	35
2.12.1.4. İÖK ve Oksidatif Stress Azaltılması ve Antioksidanlar	35
2.12.1.5. İÖK' de Nitrik Oksit (NO)	35
2.12.1.6. İÖK ve Mitokondriyal Değişimler	36
2.12.1.7. İÖK ve İnflamasyonun Azaltılması	36
2.12.1.8. İÖK ve KBB Geçirgenliğinin Düzenlenmesi	36
2.12.1.9. İÖK' nin Epigenetik Değişiklikleri	37

2.12.1.10. İÖK ve DNA Onarımı	37
2.12.1.11. İÖK ve Hücre Ölümünün Azaltılması.....	37
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	38
3.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN CİHAZLAR	38
3.2. DENEY HAYVANLARI.....	39
3.3. DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI.....	39
3.4. CERRAHİ PROSEDÜRLER	40
3.5. NÖROLOJİK DEĞERLENDİRME.....	42
3.6. DİKEY ÇUBUK TESTİ.....	43
3.7. KAN VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI	44
3.8. KAN VE DOKU ANALİZLERİ.....	45
3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	50
4. BULGULAR	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	72
KAYNAKLAR	79
EKLER.....	112
Ek.1: Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Onay Belgesi	112
ÖZGEÇMİŞ	113

KISALTMALAR VE SİMGELER

A1R	: Adenozin 1 reseptörü
ADP	: Adenozin difosfat
Akt	: Aktive edilmiş kinazlar
ASA	: Anterior serebral arter
ATP	: Adenozin trifosfat
Bax	: Bcl-2 ile ilişkili X proteini
Bcl-2	: B hücreli lenfoma-2
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DNAaz	: Deoksiribo nükleaz
EAA	: Eksitator amino asitler
EKA	: Eksternal karotis arter
ePKC	: e-Protein Kinaz-C
ER	: Endoplazmik retikulum
ERK	: Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar
g	: Gram
GA	: Glutamat
GABA	: Gama aminobütirik asit
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz

GSH	: İndirgenmiş glutatyon
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HIF-1	: Hipoksi ile indüklenabilir faktör-1
ICAM-1	: Hücre içi adezyon molekülü-1
IL-10	: İnterlökin-10
IL-1B	: İnterlökin-1 Beta
IL-6	: İnterlökin-6
IL-8	: İnterlökin-8
İASA	: İnferior anterior serebellar arter
İKA	: İnternal karotis arter
iNOS	: Nitrik oksit sentetaz
İÖK	: İskemik önkoşullanma
İR	: İskemi reperfüzyon
K_{ATP}	: ATP'ye duyarlı K ⁺ kanalları
KAT	: Katalaz
KBB	: Kan beyin bariyeri
KCI	: Potasyum klorür
KKA	: Kommon karotis arter
L	: Litre
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein-1
MDA	: Malondialdehit

mg	: Miligram
MHC-II	: Majör doku uygunluk kompleksi-II
ml	: Mililitre
MMP	: Matriks metalloprotein
MPT	: Mitokondriyal geçiş gözenekleri
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NaCl	: Sodyum klorür
NAD⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NFκB	: Nükleer faktör kappa B
NMDA	: N-metil-D-aspartik asit
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NOX	: Azot oksitler
Nrf-2	: Nükleer faktör eritroid ile ilişkili faktör 2
O₂	: Oksijen
·O₂⁻	: Süperoksit radikalleri
·OH	: Hidroksil radikalleri
°C	: Santigrat
OSA	: Orta serebral arter
PARP	: Poli (ADP-Riboz) Polimeraz
PKA	: Posterior kommunikan arter
PSA	: Posterior serebral arter

PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
RAT	: Reaktif azot türleri
ROO·	: Peroksit radikalleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SIÖK	: Serebral iskemik önkoşullanma
SİR	: Serebral iskemi reperfüzyon
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SVA	: Serebrovasküler anevrizma
SVH	: Serebrovasküler hastalıklar
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TBARs	: Tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri
TGF-1B	: Tümör büyüme faktörü 1 beta
TLR	: Toll benzeri reseptörler
TNF	: Tümör nekroz faktör
TNF-a	: Tümör nekroz faktör-alfa
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü-1
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
µl	: Mikrolitre

ŞEKİLLER

Şekil 1: Deney gruplarının vücut ağırlıkları sonuçları.....	51
Şekil 2: Gruplara göre sıçanların nörolojik skor sonuçları.....	53
Şekil 3: Gruplara göre sıçanların dikey çubuk testi sonuçları.....	54
Şekil 4: Gruplara göre sıçanların beyin dokusu MDA sonuçları.....	56
Şekil 5: Gruplara göre sıçanların beyin dokusu GSH sonuçları.....	57
Şekil 6: Gruplara göre sıçanların beyin dokusu KAT aktivitesi sonuçlar.....	58
Şekil 7: Gruplara göre sıçanların serum MDA sonuçları.....	60
Şekil 8: Gruplara göre sıçanların serum GSH sonuçları.....	61
Şekil 9: Gruplara göre sıçanların serum KAT aktivitesi sonuçları.....	62
Şekil 10: Prefrontal korteks alanlarında kırmızı nöron sayılarının gruplara göre dağılımı.....	64
Şekil 11: Prefrontal korteks alanlarında sateliosis sonuçlarının gruplara göre dağılımı.....	65
Şekil 12: Prefrontal korteks alanlarında spongiosis oranlarının gruplara göre dağılımı.....	66

TABLÖLAR

Tablo 1: İnmenin sınıflandırılması.....	11
Tablo 2: İnmenin risk faktörleri.....	12
Tablo 3: Doku takip basamakları.....	48
Tablo 4: Hematoksilen Eozin boyama.....	49
Tablo 5: Çalışma gruplarında nörolojik skörlama ve dikey çubuk testi sonuçları.....	52
Tablo 6: Beyin dokusunda MDA, GSH düzeyleri ve KAT aktivitesi sonuçları.....	55
Tablo 7: Serum MDA, GSH düzeyleri ve KAT aktivitesi sonuçları.....	59
Tablo 8: Gruplara göre beyin dokusu prefrontal korteks alanlarının kırmızı nöron, sateliosis ve spongiosis değörlendirme sonuçları.....	63

RESİMLER

Resim 1: Beynin lobları ve bölgeleri	6
Resim 2: İzole edilmiş kommon karotis arter.....	41
Resim 3: Cerrahi işlemler sonrası cilt ve cilt altı dokuların kapatılması.....	42
Resim 4: Nörolojik değerlendirme.....	43
Resim 5: Dikey çubuk testi.....	44
Resim 6: Çıkarılan beyin dokusu.....	45
Resim 7: Kontrol grubu prefrontal korteks alanlarına ait ışık mikroskopi görüntüsü.....	67
Resim 8: İskemi sonrası prefrontal korteks alanlarında oluşan spongiosis yapılanma (nöropilde süngerimsi ayrışma) ışık mikroskopi görüntüsü.....	68
Resim 9: İskemi sonrası prefrontal korteks alanlarına ait ışık mikroskopi görüntüsü.....	69
Resim 10: İÖ+İR+N grubu prefrontal korteks alanlarına ait ışık mikroskopi görüntüsü.....	70
Resim 11: İÖ+İR grubu prefrontal korteks alanlarına ait ışık mikroskopi görüntüsü.....	71

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Bu çalışmada serebral iskemi ve reperfüzyon beyin hasarına karşı nikotinamid ve iskemik önkoşullanmanın koruyucu etkilerini araştırmak amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM: Otuz beş adet sıçan rastgele kontrol, önkoşullanmalı iskemi/reperfüzyon (İÖ+İR), iskemi/reperfüzyon (İR), önkoşullanmalı iskemi/reperfüzyon+nikotinamid (İÖ+İR+N) ve iskemi/reperfüzyon+nikotinamid (İR+N) olarak beş gruba ayrıldı. Serebral iskemi/reperfüzyon (SİR) bilateral kommon karotis arter (KKA) oklüzyonu ile sağlandı. İÖ+İR ve İÖ+İR+N gruplarına iskemiden 30 dk önce, 3 siklus 10 sn iskemi/30 sn reperfüzyon şeklinde iskemik önkoşullanma (İÖ) sonrasında 20 dk KKA oklüzyonu uygulandı. İR grubuna 20 dk iskemi, İÖ+İR+N ve İR+N gruplarına 500 mg/kg dozunda nikotinamid intraperitoneal verildi. 24 saatlik reperfüzyon periyodunun ardından hayvanlara nörolojik değerlendirme ve dikey çubuk testi uygulandı. Alınan kan ve beyin doku örneklerinde biyokimyasal olarak Malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) düzeyleri ve katalaz (KAT) aktivitesi ölçüldü. Histopatolojik değerlendirmelerde prefrontal korteks alanlarında kırmızı nöron, sateliosis ve spongiosis oranları belirlendi.

BULGULAR: SİR sonrası MDA düzeyleri hem serumda hem de beyin dokusunda İR grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artarken ($p<0,05$), beyin dokusunda GSH ve KAT aktivitesinin azaldığı görüldü ($p<0,05$). İR grubuna göre İR+N grubunda beyin ve serumda MDA düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p<0,05$). İÖ ile beraber nikotinamid uygulaması beyin dokusunda MDA düzeylerini anlamlı olarak azaltırken, GSH ve KAT aktivitesini artırdığı bulundu ($p<0,05$). İR grubuna kıyasla İÖ+İR, İÖ+İR+N, İR+N gruplarında prefrontal korteks alanlarının morfolojik ve nörolojik hasar boyutunun azaldığı bulundu ($p<0,05$).

SONUÇ: Çalışma sonuçları, iskemik önkoşullanma ile beraber nikotinamid uygulamasının serebral iskemi/reperfüzyon hasarını hafiflettiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Nikotinamid, Oksidatif stres, Önkoşullanma, Serebral iskemi/reperfüzyon

SUMMARY

Investigation of the Protective Effects of the Preconditioning and Nicotinamide Against Brain Damage in with Rats Cerebral Ischemia-Reperfusion by Bilateral Carotid Occlusion

INTRODUCTION AND AIM: The aim of this study was to investigate the protective effects of nicotinamide and ischemic preconditioning against cerebral ischemia and reperfusion brain damage.

MATERIALS AND METHODS: Thirty-five rats were randomly divided into five groups (n=7) as control, preconditioning ischemia/reperfusion (IO+IR), ischemia/reperfusion (IR), preconditioning ischemia/reperfusion+nicotinamide (IO+IR+N) and ischemia/reperfusion+nicotinamide (IR+N). Cerebral ischemia/reperfusion (CIR) was achieved by bilateral common carotid artery (CCA) occlusion. CCA occlusion was applied to the IO+IR and IO+IR+N groups 30 minutes before ischemia in the period of 10 seconds of ischemia and 30 seconds of reperfusion for 3 cycles, 20 minutes after ischemic preconditioning. Ischemia was given to the IR group for 20 minutes, and the IO+IR+N and IR+N groups were given nicotinamide at a dose of 500 mg/kg intraperitoneally. After the 24-hour reperfusion period, the animals were subjected to neurological evaluation and vertical rod test. Malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) levels and catalase (CAT) activity were measured in blood and brain tissue samples. In histopathological evaluations, the rates of red neuron, satelliosis and spongiosis were determined in the prefrontal cortex areas.

RESULTS: After CIR, MDA levels in both serum and brain tissue increased significantly in the IR group compared to the control group ($p < 0.05$), while GSH and CAT activity in brain tissue decreased ($p < 0.05$). MDA levels in the brain and serum were found to be significantly decreased in the IR+N group compared to the IR group ($p < 0.05$). Nicotinamide administration together with IO significantly decreased MDA levels in brain tissue, while increasing GSH and CAT activity ($p < 0.05$). Compared to the IR group, it was found that the morphological and neurological damage size of the

prefrontal cortex areas decreased in the in the IO+IR, IO+IR+N, and IR+N groups ($p < 0.05$).

CONCLUSION: Study results show that nicotinamide administration with ischemic preconditioning attenuates cerebral ischemia / reperfusion injury.

Keywords: Cerebral ischemia / reperfusion, Nicotinamide, Oxidative stress, Preconditioning



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bir organa sağlanan kan akımının büyük ölçüde azalması veya kesilmesine iskemi, bunu takiben kan akışının yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir (DeGracia 2017). İskemik inme, dünya çapında hem ölümün hem de engelliliğin en büyük nedenlerinden biridir (Yaidikar, Byna and Thakur 2014).

Serebral iskemiyi takiben kan dolaşımının azalması sonucunda birçok immünolojik ve biyokimyasal reaksiyon meydana gelir (Özdemir et al 2013). İskemik beyin hasarının mekanizması karmaşık olup, çok sayıda çalışmada enerji tükenmesi, asidoz, serbest oksijen radikallerinin oluşması ve Ca^{2+} nin aşırı yüklenmesini içerdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte inflamatuvar sitokin hasarı, kan beyin bariyerinin (KBB) bozulması, eksitator aminoasitlerin (EAA) toksik etkilerinin süreçte rol oynadığı gösterilmiştir (Li et al 2019a, Guo et al 2012, Kumar et al 2019, Thong-Asa and Bullangpoti 2020, Xie, Wang, Li, Yang and Liang 2017). İskemiyi takiben reperfüzyon, dokularda daha ciddi hasara neden olabilir. Reperfüzyon, başlangıçta hastaların durumlarını iyileştirip enfarktüs hacmini de azaltabilir, ancak uzun bir iskemi periyodundan sonra meydana gelen reperfüzyon, enfarktüs hacminin artmasına neden olabilir ve iskemiden kaynaklı hasarı daha da arttırabilir (Shu et al 2018). Dokuda iskemi-reperfüzyon (İR) hasarı reperfüzyondan sonra meydana gelir. Birçok çalışma, İR hasarının enerji metabolizma eksikliğine, glutamat/nörotoksin salınımına, inflamasyona, oksidatif strese ve apoptoza neden olabileceğini bildirmektedir (Li et al 2019a, Shen et al 2004, Kumar et al 2019). Bu durumların yanında serebral iskemi reperfüzyon (SİR) hasarının altında yatan mekanizma hala tam olarak açıklanamamıştır (Guo et al 2019).

SİR hasarı ile ilgili olarak yapılan çoğu klinik ve deneysel çalışmalarda reaktif oksijen türevleri (ROT) düzeylerinin arttığı ve antioksidan enzim kapasitelerinin azaldığı tespit edilmiştir (Della-Morte et al 2012, Zhai et al 2017). SİR uygulanan hayvanların beyin dokusunda hücresel antioksidanlardan glutatyon (GSH) (Shi, Yang, Tu, Chen and Wang 2013) süperoksit dismutaz (SOD) (Ungerstedt, Blömbäck and Söderström 2003) ve katalazın (KAT) önemli ölçüde azaldığı ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan ve oksidatif hasar belirteci olarak kullanılan malondialdehit (MDA)'i

arttığı gösterilmiştir (Yang, Weian, Susu and Hanmin 2016, Tang et al 2011, Sharma et al 2014, Thong-Asa and Bullangpoti 2020, Caliskan, Mogulkoc, Baltaci ve Menevse 2016). İskemik önkoşullanma da bu durumların tersine, KAT, SOD gibi bazı antioksidan enzimleri korumaktadır (Cuomo et al 2015).

Nikotinamid vücutta depolanmayan önemli bir vitamin olan Vitamin B₃'ün amid türevidir (Chen and Damian 2014). Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺)'in biyokimyasal öncüsü olup bir Poli (ADP- Riboz) Polimeraz (PARP) inhibitörüdür (Alenzi 2009). Nikotinamidin hem iskemik hem de travmatik beyin hasarında meydana gelen patofizyolojik süreçlere karşı koruyucu etkileri olduğu bildirilmektedir (Hoane, Kaplan and Ellis 2006). Antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri var olduğu ve iskemik dokuda enerji statüsünü iyileştirebileceği gösterilmiştir (Alenzi 2009, Villeda-González et al 2020). Ayrıca yapılan çalışmalarda nöroprotektif etkilerinin var olduğu gösterilmiştir (Fricker, Green, Jenkins and Griffin 2018). Nikotinamidin kullanıldığı bir hipoksik iskemik beyin hasarı çalışmasında, nikotinamidin muhtemelen oksidatif stresi hafifleterek beyin hasarını azalttığı bildirilmiştir (Bogan and Brenner 2008). Başka bir çalışmada, serebral iskemi hasarında nöronal hücre ölümünün önlenmesine katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir (Koh 2013). Nikotinamidin serebral iskemi uygulanan hayvanlarda MDA düzeylerini, Nitrik Oksit (NO) üretimini azalttığı ve beyin infarktını hafiflettiği, SIR hasarı sonrası azalan GSH'nin önemli düzeyde arttığı gösterilmiştir (Chen et al 2012, Chang et al 2002).

İskemik önkoşullanma (İÖK), kısa süreli ölümcül olmayan iskemiyi takiben reperfüzyonun gelişmesi ve sonrasında da olabilecek ölümcül iskemik olaylara karşı dokunun direncini arttırdığı öne sürülen bir fenomendir (McDonough and Weinstein 2016, Pérez-Pinzón 2004). Bu fenomenin iskemik tolerans oluşturduğu ve nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Kim et al 2017). Koruyucu mekanizmasının, oluşan inflamasyonu azaltmasını ve antiinflamatuvar sitokinleri arttırmasını içerdiği bildirilmiştir (Koch, Della-Morte, Dave, Sacco and Perez-Pinzon 2014). Ayrıca İÖK uygulaması sırasında süperoksit anyonlarının oluşumu daha sonra meydana gelecek iskemik tolerans için gerekli olduğu bildirilmiştir. Bu duruma karşı iskemik toleransın reaktif oksijen türevlerine (Della-Morte et al 2012) karşı savunma mekanizmalarını harekete geçirmesi ve özellikle antioksidan enzim aktivitelerini up-

regüle ettiği yapılan bazı çalışmalarla varsayılmaktadır (Obrenovitch 2008). Ayrıca serebral İÖK'nin total antioksidan seviyesini önemli ölçüde yükselttiği bildirilmiştir (Altintas, Kumas ve Altintas 2016).

Klinik ve deneysel alışmalar, İÖK'nin hedef dokuya uygulanmasıyla beraber, hedef dokuya uzak organlara da uygulanmasının, ilerleyen dönemlerde hedef dokunun sonradan maruz kalacağı iskemik hasarlara karşı direnç geliştirebileceği de gösterilmiştir. Bu bulgu klinik açıdan oldukça önemlidir. Uzak İÖK, başta kalp dokusu olmak üzere, beyin, böbrek, karaciğer, bağırsaklar gibi İR'ye maruz kalan organlarda oluşabilecek hasarı ve birçok yan etkiye sahip ilaç kullanım gerekliliğini ortadan kaldırma potansiyeline sahip basit ucuz ve etkin bir metot olarak gibi görölmektedir. Ancak literatürde yapılan deneysel hayvan çalışmalar da İÖK'nin etkili olduğu gösterilmesine rağmen, sınırlı sayıda hasta ile yapılan klinik çalışmada böbrek ve akciğerlerde koruyucu etkiye sahip olmadığı ileri sürölmektedir. Klinik çalışmaların az olmasına karşın, İÖK'nin iskemi reperfüzyon hasarını azaltma konusunda umut veren deneysel alışmalar, İÖK'nin organ transplantasyonunda uygulanabileceğini düşöndürmektedir (Umuroglu, Cormal and Cinel 2012).

Serebral iskemide nöroprotektif tedavinin amacı, iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı fizyopatolojik süreçlere etki göstererek hücre hasarını azaltması hedeflenmektedir. Bu nedenle bu çalışmada, serebral iskemi reperfüzyon hasarına karşı daha önceki bazı çalışmalarda antioksidan ve nöroprotektif etkilerinin var olabileceği gösterilen nikotinamid ve iskemik önkoşullanmanın birlikte kullanımının etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BEYİN ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Kafa boşluğu içerisinde yer alan beyin, vücutta bulunan yaklaşık 100 trilyon hücrenin hemen hemen 100 milyara sahip olan en önemli organlardan biridir. Ağırlığı yaklaşık 1400 gramdır. Beyin, anatomik olarak ön beyin, orta beyin ve arka beyin bölümlerinden oluşur. Ön beyinde, serebrum, diensefalon, talamus, hipotalamus ve limbik sistem yer alır. Arka beyin, medulla spinalisin uzantısı gibi olup beyin sapı olarak anılan orta beyin, pons ve medulla oblongatadan oluşur. Ön ve arka beyin arasında yer alan orta beyin görme ve işitme sistemlerinin ara durağıdır. Bu duyular ile ilgili refleks hareketlerin merkezlerini içerir. Omurilikle kesintisiz devam eden ensefalon, meninksler, beyin omurilik sıvısı ve kafatası ile çevrelenerek korunmuştur. Beyin ve omurilik meninks olarak bilinen dıştan içe dura mater, araknoid mater ve pia mater olmak üzere 3 zarla korunmuş halidir. Dura mater, kafatası kemiklerinin iç yüzeyine tutunur; araknoid mater bağ dokusundan meydana gelmiştir ve pia mater ise en ince zardır (Yıldırım 2015, Zıylan 2019, Aktümsek 2015).

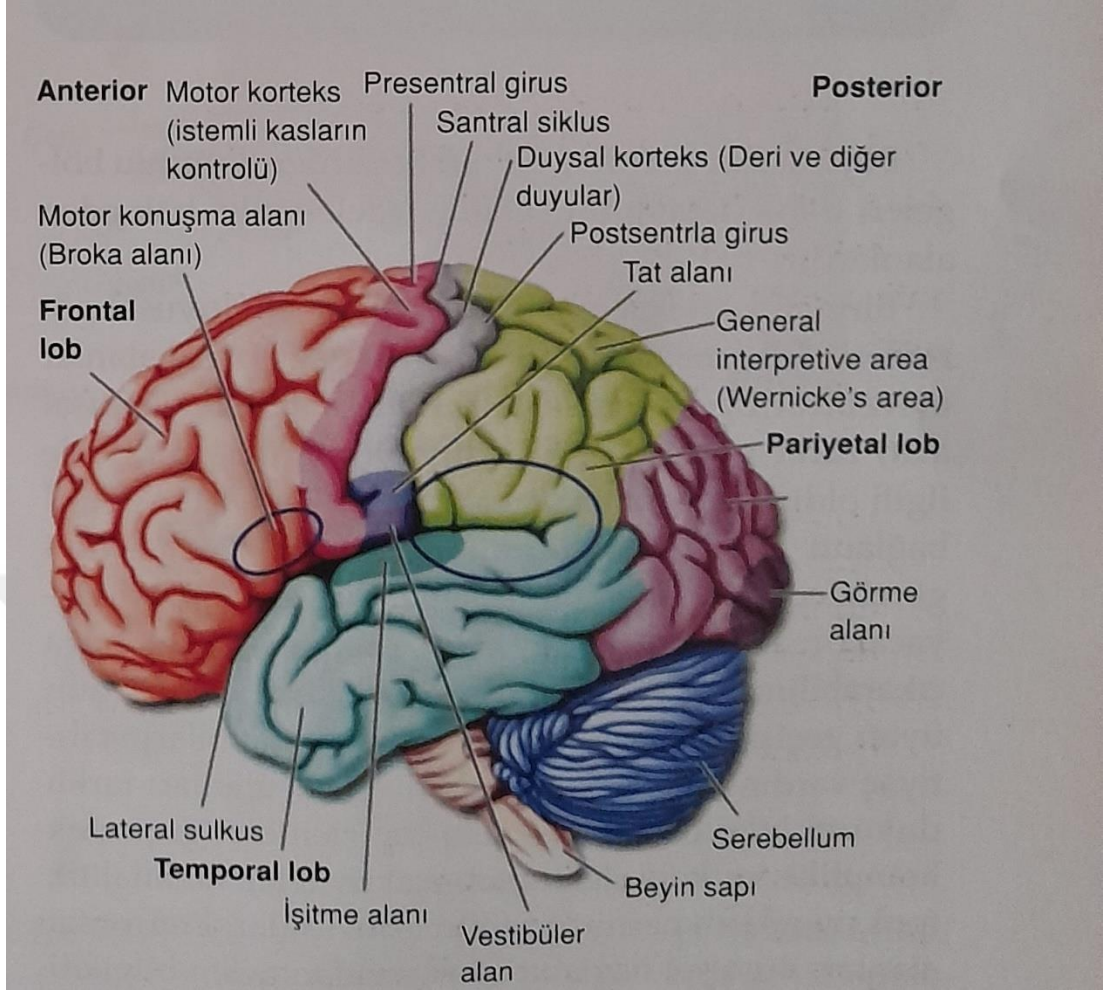
Metabolik atıkların uzaklaştırılması ve sinir dokusunun beslenmesi için merkezi sinir sisteminin (MSS) kanlanması çok önemlidir. Beyin aerobik glikoz metabolizmasıyla beslenir ve beyinde glikoz deposu olmadığı için zengin damar yapısıyla beslenmenin devamı sağlanır. Metabolik olarak vücutta en aktif organ olan beyin, kalp debisinin yaklaşık %15'i ile tüm vücudun kullandığı oksijenin %20'sini alır. Tüm beyinde 10-20 saniye boyunca kanlanmanın durmasına müteakip bilinç kaybolur. Sistemik kan basıncındaki dalgalanmalar, beyindeki otonöregülasyon mekanizması tarafından düzeltilerek beyin beslenmesinin kan basıncındaki bu dalgalanmalardan etkilenmesinin önüne geçilir. Beynin herhangi bir nedenle oksijen/glikozdan mahrum kaldığı durumlarda faaliyetleri engellenir. Herhangi bir nedenden ötürü beyni besleyen arterlerde bir tıkanma meydana gelirse bu durum serebral iskemiyeye yol açar ve inme durumu oluşur (Gould and Fix 2018, Yıldırım 2015, Yıldırım 2014, Aktümsek 2015, Zıylan 2019).

2.1.1. Beyin Anatomisi

Beyni oluşturan sağ ve sol yarım kürelere beyin hemisferleri denir. Her bir beyin hemisferinde gri cevher ve beyaz cevher tabakası yer alır. Gri cevher tabakası (pallidum) iki alana yerleşmiş olarak bulunur. Beyaz cevher tabakası, gri cevherdeki nöronların uzantılarından oluşmuş olup substantia alba olarak isimlendirilir (Kiray 2014). Beyin, yüzeyindeki bazı büyük oluklarla hemisferler temporal, paryetal, frontal ve oksipital loblara ayrılmıştır (Resim 1) (Snell 2004).

Frontal lobda, vücudun her bölümündeki kasları innerve eden farklı sinir hücrelerini bulunduran primer motor korteks, farklı merkezlerden gelen uyarıları toplayarak hareketin planlanmasını gerçekleştiren sekonder motor alan (premotor), gözlerin istemli hareketini sağlayan ve kortikal görme merkezi ile bağlantılı frontal göz alanı ve kişilik merkezini bulunduran prefrontal korteks yer alır (Arifoğlu 2019, Ziylan 2019, Köylü 2019).

Paryetal lobda, primer somatik duyu merkezi, duyu hafıza merkezi olarak da adlandırılan yardımcı (assosiasyon) somatik duyu merkezi ve tat, okuma-yazma, konuşulanı anlama merkezleri bulunur. Oksipital lobda, primer görme merkezi ve buranın çevresine yerleşmiş ve görünen objelerin hatırlanmasının sağlayan sekonder görme alanları bulunur. Temporal lobda, primer işitme merkezi ve bu merkezin hemen arkasında işitileni anlama merkezi olan seconder işitme merkezi, okunulan ve konuşulan şeylerin anlanmasını sağlayan dominant hemisferde var olan seconder konuşma merkezi (wernicke alanı=sensorial konuşma merkezi), koku, hafıza ve limbik sistem ile ilgili merkezler bulunur (Arifoğlu 2019, Ziylan 2019, Köylü 2019).



(Premkumar 2015)

Resim 1: Beynin lobları ve bölgeleri

2.1.2. Beynin Kanlanması

Beyin ileri derecede dallanmaya sahip arterlerle oldukça yoğun şekilde beslenen bir organımızdır. Beynin beslenmesi, aralarında kompleks bir anastamoz (Willis poligonu) meydana gelen, internal karotis arter (İKA) ve iki vertebral arter tarafından sağlanır (Yıldırım 2016).

Baş ve boyun kanlanması karotis magistrali ile sağlanır. Karotis magistralinin başlangıcı kommon karotis arter (KKA)'dır. KKA, tiroid kıkırdağının üst kenarı hizasında (C4 düzeyi) eksternal karotis arter (EKA) ve İKA olarak iki uç dala ayrılır. EKA boyun ile başın kafatası dışında kalan yapılarını kanlandıran 9 dala ayrılır. İKA,

temporal kemikteki karotis kanaldan geçerek kafa boşluğuna girer. Kafa boşluğunda birçok küçük dallar yanında orta serebral arter (OSA) ve anterior serebral arter (ASA) uç dallarını verir. OSA ve ASA, baziler arterin iki dalı (posterior serebral arter (PSA) sağ ve sol) ile birleşerek beyin kanlanmasında büyük öneme sahip olan Willis poligonunu (sirkulus arteryozus serebri) oluştururlar. ASA, paryetal ve frontal lobların iç yan yüzünün, OSA ise beynin dış yüzünün büyük bir bölümü ile bazal gangliyonlar, talamus ve kapsula internanın kanlanmasını sağlar. İKA arkusunun konveks ön kenarından çıkan oftalmik arter orbitaya gider (Yıldırım 2015).

İnternal Karotid Sistem: Beyne 350 ml/dak kan sağlar. Önemli dalları olan posterior kommunikan arter (PKA), willis poligonu oluşumuna katılır. ASA, esas olarak serebral hemisferin iç yüzünü besler, lezyonlarında alt ekstremité hemiparezisi ve mesane disfonksiyonu ortaya çıkar. OSA, en büyük terminal dal olup hemisferin dış yüzünü besler, serebrovasküler anevrizma (SVA-inme) olgularının %90'ından sorumlu arterdir. Lezyonlarında hemiparezi ve afazi ortaya çıkar (Yıldırım 2015, Hayran ve Ilgaz 2014).

Vertebrabaziler Sistem: Beyne 50-100 ml/dak kan sağlar. Vertebral arter, pontomedüller birleşekte karşı eşi ile birleşerek bazilar arteri oluşturur. Seyri boyunca inferior anterior serebellar arter (İASA), süperior serebellar arter ve arteri pontis dallarını veren bazilar arter, sağ ve sol PSA'yı vererek sonlanır. Her bir PSA, oksipital lobun iç yan ve alt yüzü ile temporal lobun alt yüzünü besleyen dallar verir. Lezyonlarında hemianopsi ve hemihipoestezi ortaya çıkar (Yıldırım 2014, Yıldırım 2015).

Sirkulus Arteryozus Serebri: Beyin ve omuriliği besleyen atardamarlar "end arter" özelliğindedir ve bu nedenle tıkanıklarında ilgili bölüm ölür (infarkt). Bununla beraber internal karotid ve vertebrobaziler sistemler arasında Willis poligonu olarak adlandırılan (sirkulus arteryozus serebri) bir bağlantı halkası mevcuttur. İki sistem arasındaki bağlantıyı PKA, sağ ve sol karotid sistem arasındaki bağlantıyı ise anterior kommunikan arter ile sağlanır. Bu iki sistem ile beyne gelen kan Willis poligonu sayesinde sağ ve sol beyin hemisferlerine eşit basınçlı olarak dağılır. Kortikal ve santral dallar buradan çıkarak beyni beslerler (Yıldırım 2015, Hayran ve Ilgaz 2014).

Beyin Venleri: Beyin, diğer organlardan farklı bir venöz drenaja sahiptir. Arterlerin yandaş venleri bulunmaz. Yüzeyel ve derin venler şeklinde seyrederek. Bu venlerde kapakçık bulunmaz ve subaraknoid aralıkta seyrederek. Venöz kan önce sinüslere açılır ve internal jugular ven ile kalbe ulaşır (Arifoğlu 2019).

2.2. İSKEMİ VE REPERFÜZYON

Dokuya ulaşan kan akımının mekanik bir nedenle veya damarda oluşan bir pıhtı ile engellenmesi sonucu dokunun kan akımı ihtiyacının karşılanmaması iske mi olarak tanımlanır (Herbert et al 2001). Bu durum meydana geldiğinde hücre sel disfonksiyonla başlayıp hücre ölümüne kadar neden olan birçok kimyasal olay indüklenir. Hücre nin yaşamı için gerekli olan homeostazın bozulma durumu ve hücre ölümüne sebep olabilecek kimyasal süreçler hız kazanır. Oksidatif fosforilasyonda kayıp ve adenosin trifostat (ATP) azalmasıyla beraberinde asidoz, kromatin kümeleşmesi gibi olaylar plazma membranında değişimlere yol açar ve bu değişimler hücre sel iyon dengesini bozar. Hücre içine Na^+ iyonu ile beraber su girerken K^+ iyonunun interstisyuma geçişi gerçekleşir. Hücre içerisinde, artan Ca^{2+} iyon konsantrasyonu mitokondri fonksiyonlarını bozar. Hücre sel kompartmanların dağılması, endoplazmik retikulum (ER) veziküllenmesi, enzim ve protein kayıpları, lizozomların patlaması, membran bütünlüğünün bozulması sonucunda otoliz ve hücre ölümü meydana gelir (Liao, Chen, Raung, Kuo and Chen 2001, Sugawara et al 2004).

Dokuya kan akımının ulaşmasına engel ortadan kalktıktan sonra kan akımının yeniden sağlanmasına ise reperfüzyon denir. Reperfüzyon, iskemiden sonra tedavinin birincil amacı olup iske mi durumunda ortaya çıkan toksik maddelerin uzaklaştırılmasını ve enerji gereksiniminin tekrar karşılanmasını sağlar. Ancak reperfüzyonla beraber kan akımının yeniden sağlanması sonucu, dokudaki hasar daha fazla artabilir (Slegtenhorst, Dor, Rodriguez, Voskuil and Tullius 2014, Yang et al 2016). Dokuya tekrar oksijen desteğinin sağlanmasıyla sisteme aniden aşırı miktarda giren oksijen, ROT oluşumuna neden olmaktadır. Hücre lere serbest radikallerin birikimi sonucu, lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA birikmektedir. MDA hücre

membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (Wang, Ren, Zhang, Lu and Chen 2018, Mercan 2004).

İskemi ve reperfüzyon boyunca ROT'ların ve reaktif azot türevlerinin (RAT) aşırı üretimi, EAA toksisitesi ve inflammatuar reaksiyonlar, inmenin neden olduğu nöronal hasarın sebeplerindendir. Reperfüzyon, deoksiribo nükleik asit (DNA), lipitler ve proteinlerin oksidasyonuna neden olan hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest oksijen radikallerinin aşırı üretilmesinde bir uyarıcı olduğu gibi oksidatif stres için de öncü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca iskemi ve reperfüzyon apoptoz, nekroz, büyümenin durması ve hücre çoğalmasını da tetikleyebilir. Bunun için ROT'un SİR'de nöron hasarının ana nedeni olduğuna inanılmaktadır (Li et al 2019b).

2.3. SEREBRAL İSKEMİ VE REPERFÜZYON

Beyin damarlarının, herhangi bir nedenle tıkanması, daralması veya kanın damar dışına çıkacak şekilde yırtılmasını takiben meydana gelen klinik tabloya serebrovasküler hastalıklar (SVH) adı verilir. Bu duruma stroke veya inme de denir. Beyin, kişinin günlük yaşantısı için hayati fonksiyonları üstlendiğinden dolayı serebrovasküler olaylar, felç, bilinç bozukluğu, afazi ve denge bozukluğu gibi sağlık problemlerinin oluşmasına neden olabilmektedir (Cai et al 2016, Oğul 2002).

Beyne giden arterlerden biri veya birkaçının tıkanması veya daralması sonucunda hücrel metabolizma için gerekli olan oksijen ve glukozdan beynin mahrum kalmasıyla meydana gelen duruma serebral iskemi, daha sonra bu blokaja neden olan sebep ortadan kalkmasıyla beynin tekrar kanlanması ile oluşan tüm duruma serebral iskemi ve reperfüzyon denir (Wanchao, Chen, Zhiguo, Futang and Mengmeng 2018). Serebral iskemi sonrası tedavi için sıklıkla reperfüzyon kullanılsa da bu durumun beyin bölgelerinde daha fazla hasara neden olabildiği de düşünülmektedir (Li and Liu 2017).

Nöronlar glikojen depolayamadığından ve enerji eksikliği hızlı geliştiğinden dolayı nörolojik belirtiler saniyeler içinde oluşur. Kan akımı hızlıca düzeltilirse beyin dokusu tamamen düzelebilir ya da geçici olarak belirtiler oluşabilir. Beyin anatomisi ve damar yapısının karmaşık olması nedeniyle inmenin klinik bulguları çok fazla değişkenlik gösterebilir. Beyne ulaşan kan akımının birkaç saniyeden daha uzun süre azalması durumunda serebral iske mi gelişir. Kan akımı birkaç dakikadan daha uzun süreyle bloke olmaya devam ederse infark veya ölüm ortaya çıkar. Nörolojik bulgu ve belirtilerin 24 saati aşkın süre devam etmesi durumunda inme meydana gelir (Smith, Johnston and Easton 2009).

2.4. İNMENİN EPİDEMİYOLOJİ

İnme, beyin infarktı, intraserebral kanama ve subaraknoid kanama gibi alt tiplere sahip klinik olarak tanımlanmış sendromdur. İnmenin bu alt tipleri arasında beyin infarktı %80, intraserebral kanama %15 ve subaraknoid kanama %5 oranında görülür. İnme prevalansı tüm dünyada %0,6'dır (Çoban 2015). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde kalp hastalıkları ve kanserden sonra ölümün en önde gelen üçüncü nedenidir. ABD'de her yıl yaklaşık olarak 700,000 vaka meydana gelir ve bunların 600,000'e yakını iskemik lezyon, 100,000'e yakını ise hemorajik (intraserebral ve subaraknoid kanama) kaynaklıdır (Ropper, Samuels and Klein 2014).

İnme yalnızca gelişmiş ülkelerde değil aynı zamanda tüm dünyada ölümün en önde gelen üçüncü nedeni ve engelliliğin ise en önde gelen nedenidir. Nörolojik hastalıklar içerisinde en sık rastlanan hastalıktır. Özellikle gelişmiş olan ülkelerde ortalama yaşam süresinin uzaması inme görülme sıklığını da arttırmıştır. Çünkü yaşla beraber inme riski artmaktadır. Ancak son yıllarda hipertansiyon gibi risk faktörleri ile savaşmak, gelişen teknoloji ile görüntüleme yöntemlerinin kullanımı nedeni ile erken ve doğru tanı koyma avantajlarının yanı sıra yeni inme ünitelerinin oluşmasıyla ve gelişen yeni tedavi imkanları sayesinde inme kaynaklı ölüm oranlarında azalma görülmüştür. Ülkemizde kapsamlı bir çalışma olmamasının yanında 1996 yılında Türk Çok Merkezli Strok Çalışmasının sonuçları Türkiye'de nüfusa oranlandığında her yıl 125,000 yeni inme vakası olduğu öngörülmekte ve ölüm oranının ise %24 olduğu düşünülmektedir. Türk Çok Merkezli Strok Çalışmasının sonuçlarında olguların

%71,2'si iskemik, %28,8'i hemorajik nedenli bulunmuştur. Bu oran batılı ülkelerde %85 iskemik ve %15 hemorajiktir nedenlidir. Ülkemizde SVH'lerin önde gelen risk faktörü ise hipertansiyondur (Oğul 2002).

2019'da yayımlanan 2016 Global Hastalık Yüğü (GBD) verileri tüm yaşam boyunca insanların %25'inin inme geçireceğı bildirilmiştir. Her yıl 9.6 milyon iskemik inme ve 4.1 milyon hemorajik inme vakası olabileceğı tahmin edilmektedir. Bununla beraber yüksek gelirli ülkelerde yaşa göre oranın sabit kalacağı ama orta ve az gelirli ülkelerde bu insidansın artacağı öngörülmektedir (Campbell and Khatri 2020).

2.5. İNMENİN SINIFLANDIRILMASI

İnmenin patolojik alt tipleri vardır ve bunlar arasında olan iskemik inmenin de etiyolojik alt tipleri mevcuttur (Tablo 1) (Hankey 2017).

Tablo 1: İnmenin Sınıflandırılması

A. İnmenin Patolojik Alt Tipleri 1.İskemik İnme 2.Hemorajik İnme 2.1.Subaraknoid Kanama 2.2.İntrakranial Kanama
B. İskemik İnmenin Etiyolojik Sınıflandırması 1.TOAST Sınıflandırması 1.1.Büyük Arter Ateroksklerozu (Emboli ve Tromboz) 1.2.Kardiyoembolizm (Yüksek Risk/Orta Risk) 1.3.Küçük Damar Oklüzyonu(Lakün) 1.4.Belirlenmiş Diğer Etiyolojili İnme 1.5.Etiyolojisi Belirlenmemiş İnme 2.ASCOD Sınıflandırması 2.1.Aterokskleroz 2.2.Küçük Damar Hastalıkları 2.3.Kardiyak Patolojiler 2.4.Diğer Nedenler 2.5.Diseksiyon

(Hankey 2017, Adams et al 1993, Amarenco et al 2013)

2.6. RİSK FAKTÖRLERİ

İskemik inme için risk faktörleri üç başlıkta incelenir. Bu faktörler arasında inmenin en önemli risk faktörü yaştır (Tablo 2) (Çoban 2015).

Tablo 2: İnmenin Risk Faktörleri

1.Değiştirilemeyen Risk Faktörleri • Yaş • Irk • Cinsiyet • Soy Geçmiş
2.İnme ile İlişkisi Kesin ve Değiştirilebilen Risk Faktörleri • Hipertansiyon • Kalp hastalıkları • Diyabet • Sigara • Yüksek kan kolesterolü • Orak hücreli anemi • Obezite • Atrial fibrilasyon • Diyet • Fiziksel inaktivite • Menapoz sonrası hormon tedavisi
3.İnme ile İlişkisi ve Değiştirilmesinin Etkisi Kesin Olmayan Risk Faktörleri • Lipoprotein(a) yüksekliği • Migren • Alkol tüketimi • Hiperkoagülabilite • Uyku apnesi • İnflamatuvar süreçler • Hiperhomosistinemi

(Çoban 2015)

2.7. SEREBRAL İSKEMİ REPERFÜZYON FİZYOPATOLOJİSİ

Normal fizyolojik koşullarda serebral kan akımı, sağlıklı bir erkek için dakikada 54 ml/100 gramdır (Bambakidis, Wilson, Hu and Selman 2011). İntrakraniyal damarların akut tıkanması o damarın beslediği beyin bölgelerinin kan akımında azalmaya neden olur. Dakikada serebral kan akımı seviyesinin yaklaşık olarak 20 ml/100 g altına düşmesi, oksijenin serebral metabolizma oranında azalma başlatır ve bu değer eğer ki birkaç saate kadar düzeltilirse serebral hücrelerde iskemik doku nekrozu olmaksızın iskemi gelişir. Eğer dakikada 16-18 ml/100 g değerinin altında düşerse 1 saat içinde serebral hücrelerde iskemik doku nekrozu gelişir. Bu seviye, dakikada 10 ml/100 g altına düşerse hücre metabolizması ve fonksiyonları ciddi şekilde etkilenir. Serebral kan akımı, dakikada 5 ml/100 g altına düşerse nöronlar uzun süre yaşayamaz. Serebral kan akımındaki azalma sifıra ulaşınca 4-10 dk içerisinde beyin dokularında ölüme neden olur (Caplan and Liebeskind 2016, Smith, English and Johnston 2013).

Arteryel kan akımının engellenmesi sonucu oluşan hipoksi, mitokondri elektron taşıma zincirinin disfonksiyonuna neden olur. Mitokondride azalmış olan ATP üretimi anaerobik metabolizmayı, Na^+/K^+ pompasının disfonksiyonunu ve ribozomların ayrılmasını indükler. Anaerobik metabolizma sonucu laktik asit birikimi metabolik asidoza neden olur. Ek olarak, hücre zarında Ca^{2+} pompası (Ca^{2+} ATPaz pompası) ve Na^+/K^+ pompası (Na^+/K^+ ATPaz pompası) bozulabilir. Na^+/K^+ ATPaz pompasının bozulması hücre dışında K^+ ve hücre içinde Na^+ tutulmasına neden olur. Hücre içi Na^+ seviyesinin artması Na^+/H^+ pompasının aktivitesini azaltır. Ayrıca ER üzerinde Ca^{2+} pompası (Ca^{2+} ATPaz pompası) Ca^{2+} geri alımını sınırlandırır. Hücrede Na^+ , H^+ ve Ca^{2+} iyon birikimi sitoplazmaya su akışına ve hücre şişmesine yol açan hiperosmolariteye neden olur. H^+ birikimi çekirdek kromatinlerinin kümeleşmesine ve enzim aktivitesinin bozulmasına neden olan sellüler pH'yi düşürür. Ribozomların ayrışması sonucunda da protein sentezini azaltır (Wu et al 2018). Yani iskeminin akut fizyopatolojisinde enerji eksikliği, ekstrasellüler Ca^{2+} artışı, eksitotoksisite, serbest radikallerin üretilmesi, inflamasyon, kan beyin bariyerinin bozulması ve hücre ölümü hakimdir (Durukan ve Tatlisumak 2007).

Daha sonra reperfüzyon evresi kırmızı kan hücreleriyle oksijen sağlar. Buna paralel olarak, ROT üretimi iskemik dokuda antioksidan ajanların konsantrasyonlarında azalma olduğu için aşırı artar. ROT endotelyal disfonksiyon, DNA hasarı ve lokal inflamasyona neden olan oksidatif stresi oluşturur. İnflamatuar kaskadlar ve oksidatif stres sonuç olarak hücresel yapılara verilen hasarın neden olduğu hücre ölümü ile sonuçlanan bir sitokin fırtınasını indükler. Reperfüzyon aşaması dinamik olup birkaç gün boyunca sürebilir (Wu et al 2018).

2.7.1. İskemik Penumbra

Laboratuvar ve klinik çalışmalar, serebral kan akımı kesildiğinde nöron hasarlanmasının bir spektrumunu açıklamışlardır. Etkilenen bölgede, iskemik penumbra olarak bilinen elektriksel olarak sessiz ancak yaşayabilir nöronların bir alanı tarafından çevrelenen geri dönüşümsüz hasarlanmış nöronların bir çekirdeği vardır. Penumbra alanda serebral kan akımı dakikada 10-20 ml/100 g olarak belirlenmiştir. Buradaki nöronların net olmamakla beraber 4 saate kadar yaşayabildikleri düşünülmektedir. 1-2 °C vücut ısısının düşmesi veya hiperglisemi bu durumu hızlandıran etmenlerdendir. Belirtilen kritik saatler içerisinde serebral kan akımının tekrar sağlanması, nöronal defisiti minimize edip nöron yaşamının devam etmesini sağlayabilmektedir (Bambakidis et al 2011).

2.7.2. Enerji Eksikliği ve Asidoz

Beyin, enerji üretmek için oksidatif fosforilasyon gerçekleştirir ve oksijen ve glikozun sürekli olarak istikrarlı şekilde akımına ihtiyaç duyar. Çünkü enerji depolamaya sahip değildir ve sadece dakikadaki azalma bile yoksunluk oluşturur. Beyin kan akımının azalmasının ilk sonucu özellikle oksijen ve glikoz substratlarının tükenmesidir ve bu anaerobik glikoliz tarafından laktat artmasına neden olur (Durukan ve Tatlisumak 2007). İskemi boyunca artan anaerobik glikolizinin sonucunda artan laktat, ekstrasellüler ve intrasellüler pH düşmesine neden olur ve asidoz oluşur. İskemi boyunca asidotik durum endojenez antioksidan seviyesinde azalmaya yol açar (Tan, Khurana, Benarroch and Meyer 2011). Asidoz hücre içi protein sentezini olumsuz etkileyen serbest radikal türlerini arttırabilir ve iskemik beyin hasarını daha da

kötüleştirebilir. Ama asidozun zararlı etkilerinin tam mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Enerji noksanlığı, Na^+/K^+ ATPaz ve $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ ATPaz pompalarının pertübasyonuna neden olur ve ek olarak $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ transportunu tersi yönde bozar. Bunu takiben oluşan iyon dishomeostazisi (intraseküller Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- artışı ve ekstrasellüler K^+ artışı) sitotoksik ödeme neden olur ve hücre içi Ca^{2+} aşırılığının tetiklediği olaylar meydana gelir (Durukan ve Tatlisumak 2007).

2.7.3. Eksitotoksisite

Beynin vücut ağırlığına göre oksijen tüketimi oldukça yüksektir ve mitokondriyal elektron taşıma zincirini koruma yoluyla yeterli ATP üretilmeli ve iyonik dalgalanmalar restore etmelidir. Hücresele düzeyde iskemi, 2 dakika içerisinde ATP sentezi ve oksidatif fosforilasyonun bozulmasına neden olur. Bu durum hücreye Na^+ girişi, ekstrasellüler boşluğa K^+ 'nin salınması plazmada membran depolarizasyonuna neden olan Na^+/K^+ ATPaz pompasını olumsuz yönde etkiler. Buna ek olarak, ayrıca iskemi boyunca Ca^{2+} pompası bozulur ve hücre içinde aşırı derecede Ca^{2+} konsantrasyonu artar. Bu durum, iskemik çekirdekte hücre ölümüne neden olan kalsiyum bağımlı proteazlar, lipaz ve deoksiribo nükleaz (DNAaz) gibi ölüm sinyal proteinlerini etkinleştirir (Khoshnam, Winlow, Farzaneh, Farbood and Moghaddam 2017).

2.7.4. Glutamat Eksitotoksitesisi

Glutamat (GA) insan da dahil memeli beyinlerinde başlıca uyarıcı nörotransmitterdir ve hücre içi iletişim, büyüme, plastisite ve farklılaşmanın ana aracısıdır (Mehta et al 2007). GA ve inme arasında ilk bağlantı Van Harreveld'in çalışmasında GA'nın topikal uygulanmasının tavşan beyinde yayılan hasarı uyardığı keşfettiğinde bildirilmiştir. Önceleri GA'nın inme sonrası kortikal değişikliklere dahil olabileceği bir olasılık olarak öne sürülmesine karşın sonraki zamanlarda GA aracılı eksitotoksitenin iskemik nöronal ölüme katkıda bulunduğuna dair kesin kanıtlar saptanmıştır (Lai, Zhang and Wang 2014). GA, iyonotropik (N-metil-D-aspartik asit (NMDA) ve alfa-amino-3-hidroksi-5-metilisokzasole-propionik asit (AMPA)) ve metabotropik (mGlu1-mGlu8) reseptörler üzerine etki eder. GA eksitatör

nörotransmisyonunda merkezi bir rol oynaması nedeniyle GA homeostazisindeki değişiklikler nörotoksik ve eksitotoksik kaskadların oluşumu yoluyla nöronlar üzerinde önemli yansımalara sahip olurlar. Bu kaskadlar esas olarak NMDA, AMPA ve voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının aktivasyonu sonucunda oluşmaya başlar ve büyük bir hücre dışı Ca^{2+} akışı ile sonuçlanır. Buna ek olarak, hücre içi Ca^{2+} depoları ER'den serbest bırakılır. Eksitotoksitenin artmış hücre dışı GA salınımının bir sonucu olarak NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılması yoluyla nöronlara doğrudan zarar verebileceğine veya bunun sinaptik yarıktan çıkarılmasındaki bir azalmaya ve böylece Ca^{2+} akışını yayabileceğine inanılmaktadır (Caudle and Zhang 2009). İskemik beyin hasarında GA'nın neden olduğu nörotoksositeye dair önemli kanıtlar mevcuttur (Brassai, Suvanjev, Ban and Lakatos 2015). NMDA ve AMPA reseptörlerinin uyarılması hücrenin Na^+ ve Ca^{2+} geçirgenliğini artırır ve hücre içi Na^+ ve Ca^{2+} konsantrasyonu artar (Kurul ve Gülmez 2007). İyonotropik glutamat reseptörleri ile GA'nın indüklediği Ca^{2+} ve Na^+ girişi, postsinaptik nöronlara büyük bir iş yükü yükleyerek ATP tüketiminin artmasına neden olur (Rueda et al 2016). Serebral iskeminin fizyopatolojisinde, EAA aşırı salınımı ve özellikle NMDA reseptörlerinin fazla aktive olmasına neden olur ve hücre içine Ca^{2+} girişini ve hücre ölümüne yol açarak olayların başladığı düşünülür (Kırış ve Görgülü, 2005). Eksitotoksik GA uyarımı üzerine, sırasıyla ROT üretiminde artış, mitokondriyal depolarizasyon, Ca^{2+} deregülasyonunun indüksiyonu ve nöronal ölümün indüksiyonu ile sonuçlanan geçicilik gözeneginin açılmasıyla sonuçlanır (Lai et al 2014).

2.7.5. Kalsiyum Sitotoksitesi

Ca^{2+} iyonu hücre biyolojisindeki en önemli sinyal moleküllerinden olup hücre fonksiyonları için çok önemlidir ve intrasellüler Ca^{2+} 'nin seviyesinde düzenleme mekanizması çok önemlidir (Lai et al 2014). Bu fonksiyonlar arasında nöronal hücrelerin yaşamlarını ve fonksiyonlarını uygun şekilde sürdürebilmesi de vardır. Anacak beyin iskemisi de dahil çoğu patolojik süreçte Ca^{2+} iyonları hücre hasarı veya ölümüne neden olan çok yüksek seviyelere ulaşır (Szydlowska and Tymianski 2010). Normal şartlarda ekstrasellüler Ca^{2+} konsantrasyonu intrasellüler Ca^{2+} konsantrasyonundan oldukça yüksektir (Oğul 2002). Hücre içine Ca^{2+} iyon girişinin birkaç yolu vardır ve bunların çoğu beyin iskemisi, anoksi ve eksitotoksiteden sonra

düzensizleşir (Kostandy 2012). İskemide oluşan ATP kaybı ile hızla intrasellüler Ca^{2+} artışı durumunda normal fizyolojik süreçlerin aşırı uyarılmasıyla nöronal harabiyet oluşur. Hücre içinde Ca^{2+} konsantrasyon artışı;

1. Hücre içinden dışarıya fazla Ca^{2+} 'yı pompalayan voltaj bağımlı Ca^{2+} pompasının fonksiyonunu bozulması membranda Ca^{2+} geçirgenliğini artırır.

2. Hücre dışı Ca^{2+} artışı ile nöronal hücre içine Ca^{2+} girişi artar.

3. Başlangıçta bu intrasellüler Ca^{2+} artışı bir miktar mitokondri tarafından sekestre edilmesine rağmen mitokondride Ca^{2+} birikimi, artan serbest oksijen radikalleri ile birleşince mitokondri membranındaki porların açılmasına ve Ca^{2+} 'nın mitokondriden hücre içine göç etmesine neden olur. Böylece intrasellüler Ca^{2+} daha da artar. İnasellüler Ca^{2+} artışı nöron içinde kalsiyum bağımlı birçok enzimi aktive edilmesine yol açar. Bu aktivasyon genel olarak serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu ve protein yıkımına neden olarak nöron harabiyetine yol açar (Oğul 2002).

2.7.6. Oksidatif Stress ve Serbest Radikal Oluşumu

İskemi, endojen antioksidan enzimler ve faktörler tarafından dengelenemeyen RAT ve ROT seviyelerinin üretiminde artışla sonuçlanır. Süreç, mitokondriyi de aşırı süperoksit üretilmesinde güçlü şekilde içine almaktadır. Mitokondriyal serbest radikal üretimi iskemik hücrede yüksek adenosin difosfat (ADP), Na^+ ve Ca^{2+} un etkisi altındadır (Tan et al 2011). İskemik hücrelerde yüksek Ca^{2+} , Na^+ ve ADP seviyeleri aşırı mitokondriyal oksijen radikali üretimini uyarır. Ayrıca iskemi sonrası gelişen inflamatuvar cevap boyunca da üretilir. Reaktif oksijen radikalleri, beyin dahil birçok organda iskemi dışında reperfüzyon sonrasında da aşırı üretilir ve doku hasarına neden olur. Elektron transportu esnasında çok fazla miktarda süperoksit üretilmesinden ve mitokondriyal elektron taşıma mekanizmalarının serbest radikaller aracılığıyla engellenmesinden ve hatta daha fazla oksijen radikalının üretilmesine neden olmasından kaynaklı olabilecek mitokondri ile güçlü şekilde ilişkilidir. Meydana gelen oksidatif stres, İR fizyopatolojisinde yer alan eksitotoksisite, enerji noksanlığı ve iskemik hücre ölümünün de nedenlerindendir (Lo, Dalkara and Moskowitz 2003).

Hipoksi ve ek olarak hücre içi Ca^{2+} ve aşırı miktarda serbest radikal varlığı nöronal mitokondrinin işlevini bozar. Sonuçta mitokondri membranında mitokondriyal geçiş gözenağı (MPT) oluşabilir. Mitokondriyal işlevselliğın kaybı nedeniyle ATP üretimi engellenmekle birlikte, MPT mitokondriyal şişmeye, ROT’larda patlayıcı tarzda artışa ve pro-apoptotik moleküllerin serbestlenmesine yol açar (Mergenthaler, Dirnagl and Meisel 2004). Özellikle hasarlı beyinde endojen antioksidan enzimler ve antioksidan vitaminler yeterli düzeyde olmadığı için oksidatif stres zararlıdır. İskemiden ve özellikle reperfüzyondan sonra reaktif oksijen türlerinin oluşumu endojen temizleme mekanizmalarını sekteye uğratar (Lo et al 2003).

Oksidatif stres karbonhidrat, protein ve lipidler dahil olmak üzere neredeyse her hücrenel bileşene zarar verecek reaksiyonlar oluşturur (Mergenthaler et al 2004). ROT protein, fosfolipitler, DNA gibi çoğı hücrenel bileşenle geri dönüşümsüz reaksiyona girer. Serbest radikaller membran hasarına, lipid peroksidasyonuna, hücrenel süreçlerin düzensizliğine ve genom mutasyonuna neden olur. Yani ROT neredeyse tüm hücrenel bileşene zarar verebilir. Bu durumda oluşan hücre hasarı iyon homeostazında, hücre sinyallemede ve genom ekspresyonunda bozukluklar ortaya çıkarır. Oksijen radikalleri inflamatuvar cevap ve apoptozu indükleyen önemli moleküllerdir (Durukan ve Tatlisumak 2007).

2.7.7. İnflamasyon

İnflamasyon, iskemik beyinde oldukça zararlı potansiyel etkilere sahiptir. Tümör nekroz faktör alfa (TNF-a), interlökin-6 (IL-6), interlökin-1-beta (IL-1b), transkripsiyon faktör hipoksi ile indüklenebilir faktör-1(HIF-1), nükleer faktör kappa B(NF κ B) ve interferon düzenleyici faktör-1 (IRF-1)’i de içeren çok sayıda proinflamatuvar genler serebral iske mi sonrası Ca^{2+} akışı, süperoksit radikalleri (O_2^-) oluşumu ve hipoksiye cevaben aktive edilir. Bunlar hücre içi adezyon molekölü-1 (ICAM-1), P-selektin ve E-selektin gibi adezyon proteinlerinin ekspresyonunu etkiler ve bu da vasküler sistemde nötrofillerin toplanmasına neden olur. İskeminin başlamasından birkaç saat sonra başlayan inflamasyonun erken evresi, dolaşımdaki lökositlerin yanı sıra adezyon moleküllerinin ekspresyonu ile karakterize edilir.

Böylece lökositler endotele yapışır ve kandan beyin parankimasına geçer (Tan et al 2011).

Endotelyum ve dolaşımdaki lökositler arasındaki etkileşim inmenin indüklediği beyin inflamasyonu için belirleyici öneme sahiptir. İskemiden birkaç saat sonra endotel hücreleri ICAM-1 veya vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi yapışma moleküllerini eksprese eder. Hücre içi yapışma molekülleri, yüzeylerinde olan lökositlerle etkileşime aracılık eder. Nötrofil granülositleri, penumbranın serebral mikro damarlarında birikir ve bu da mikro dolaşımda ek bir bozulmaya yol açar (Mergenthaler et al 2004). Ek olarak, monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) gibi kemokinler iskemik beyinde monositler ve lökositlerin göçünü indükler. Bu monositlerin yaklaşık olarak 1/3'ü yerel olarak mevcut mikrogliadan ayırt edilemeyen hücreye farklılaşır (Tan et al 2011). Nötrofillerden salınan çözünür faktörler matriks metalloproteinleri (MMP) aktive edebilir. Bunlar çözünebilir proteinler ve bazı hücre proteinlerin süreçlerinin yanı sıra ekstrasellüler matriksin protein bileşenlerini de yıkar (Tan et al 2011). Proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun yanı sıra dönüştürücü büyüme faktörü beta-1 (TGF- β 1) ve interlekin-10 (IL-10) gibi antiinflamatuvar sitokinler de iskemi de indüklenir. Bu sitokinler inflamasyonu azalttığı için serebral iskemide yararlı rol oynar (Mergenthaler et al 2004).

2.7.8. Kan Beyin Bariyerinin Bozulması

Kan beyin bariyeri (KBB) beyin bütünlüğünü korumada oldukça önemlidir. Bu bariyer beyin normal fonksiyonlarını devam ettirmesi için de oldukça önemlidir (Gültürk, İmir ve Tuncer 2007). KBB MSS'deki homeostazı devam ettirmek için gereklidir. KBB büyük molekülleri ve toksinleri hassas bir ortama sahip olan beyinden uzak tutan ve beyin hücrelerinin normal fonksiyonlarını devam ettirmesi için gerekli besinlerin geçişine izin veren hücresel bir sistemdir (Gültürk ve ark 2007, Sorby-Adams, Marcoionni, Dempsey, Woenig and Turner 2017). KBB perisitler, astrositler, bazal membranın yanında KBB'yi çoğu molekül için geçirimsiz hale getiren tight junction bağlantıları içerir (Sorby-Adams et al 2017). Herhangi bir nedenden dolayı KBB bozulursa, nöronal inflamasyon ve beyin hasarı meydana gelir (Gültürk ve ark 2007). KBB'nin bütünlüğünü bozan nedenlerden biri SİR hasarıdır ve bu durum

KBB'yi çok ciddi şekilde bozar. Bunun sonucunda beyinde kanama ve ödem oluşur. Bu durum, aktif mikrogliya, infiltrate lökositler ve endotel hücreleri aracılığıyla inflamatuvar mediyatörlerin ve proteazların salınmasına aracılık eder (Leech, Chattipakorn and Chattipakorn 2019). Yerleşik mikrogliyalara, endotel hücreleri ve istilacı lökositler arasındaki karmaşık etkileşimi içeren nörovasküler inflamasyon SİR'i takiben gelişen KBB bozulmasında önemli rol oynar. SİR endotel hücreleri ve immün hücrelerden proteazlar ve inflamatuvar mediyatörlerin salınmasını ve ekspresyonunu uyarır ve KBB bozulmasına neden olur (Hu, De Silva, Chen and Faraci 2017).

2.7.9. DNA Hasarı

Serebral iskemide DNA hasarı serbest radikaller tarafından tetiklenir (Tan et al 2011). Beyin enerji için oksidatif metabolizma kullanan ve tüm organlar arasında en yüksek metabolizma hızına sahip organdır. Oksijen metabolizması ROT üretilmesine yol açar. ROT zarlara, DNA ve ribonükleik asit (RNA)'ya zarar verir ve enzimleri ve transkripsiyon aktivatörünü inaktif hale getirir. Serebral oksidatif stres meydana getiren ROT, nükleik asitlerle etkileşime girerek oksidatif DNA ve RNA hasarları oluşmasına neden olur. Oksidatif DNA hasarlarının ve RNA hasarlarının arttığı, hasarlanma sonrası süre, uyarıcı aminoasitlerin salındığı ve Ca^{2+} akışının meydana geldiği zamana denk gelmektedir. Oksidatif DNA hasarı, RNA ve DNA sentezi esnasında (sırasıyla replikasyon ve transkripsiyon) kodlama özelliğinde değişimlere neden olur ve translasyon sırasında zincir uzamasını sonlandırır (Liu and Arora 2002). Süperoksit ve NO olduğu ortamda NO'dan meydana gelen peroksinitrit iskemik hücre ölümüne neden olur. NO varlığında iskemi DNA parçalanmasına yol açar. PARP aktivasyonu meydana gelir ve bu da ADP ve NAD^{+} 'ı DNA'yı onarmak için tüketir. Bunların sonucunda enerji depoları boşalır ve enerji noksanlığı aracılığıyla hücre ölümüne katkı sağlar (Şahan, Satar, Koç ve Sebe 2010).

DNA hasarı apoptozla genellikle ilişkilidir ama DNA fragmentasyonu olmadan da apoptoz meydana geldiğinden dolayı bu durum her zaman geçerli değildir (Zacko, Hawryluk and Bullock 2011).

2.7.10. Apoptoz ve Nekroz

İskemik alanlardaki birçok nöronda inmeden sonra nekrotik ve apoptotik hücre ölümü oluşur (Liu et al 2014). Apoptotik hücre morfolojisi, nekrotik hücre morfolojisinden büyük ölçüde farklıdır. Nekrotik hücreler ödemli hale gelir ve hücre iskeletinin bozulmasıyla hücresel yapılarını kaybederler. Apoptotik hücre, sitoplazmanın büzülmesi, kromatinlerin belirgin yoğunlaşması, zar kalınlaşması ve apoptotik cisimler ile karakterizedir. Apoptotik hücreler, bir inflamatuvar reaksiyon tetiklemeden fagositoz yoluyla hızla uzaklaştırılır (Durukan ve Tatlisumak 2007).

Hücrelerin aşırı dış strese maruz kaldığı durumlarda, hücre şişmesi ve erken plazma membran geçirgenliğiyle karakterize bir ölüm şekli olan nekroz meydana gelir. Nekrozun temel özellikleri olan hücre parçalanması, organ şişmesi ve mitokondriyal işlev bozuklukları, iskemik dokuda çok sayıda inflamatuvar yanıtı tetikler. Yapılan çok sayıda çalışma İR hasarında nekroptoz varlığını doğrulamıştır. İskemi sonra enerji noksanlığı ve besin eksikliği ile bozulan enerji metabolizması hücre ölümünün tetikleyicisidir. Reperfüzyon fazında ROT üretiminin şiddetlenmesi bu hücre ölüm tablosunu daha da derinleştirir (Wu et al 2018).

Apoptoz, iskemik beyin hasarında önemli rol oynar. Serebral iskemide apoptozunu aktivasyonu iki genel sinyal silsilesi, mitokondriyal apoptoz yolu ve hücre ölümü reseptör aracılı yol tanımlanmıştır. B hücreli lenfoma-2 (Bcl-2) protein ailesinin bu karmaşık apoptotik sinyal yollarına katıldığı bulunmuştur. Mitokondri genellikle apoptozun başlamasında rol oynar (Liu et al 2014). İskemiyi takiben oluşan değişikliklerle nöroinflamasyon ve özellikle penumbra apoptoz tetiklenir (Kuşçu ve Özcengiz 2016). Mitokondride oksidatif strese cevaben, mitokondri dış zarı geçirgen hale gelir ve sonrasında Bcl-2 ile ilişkili X proteininin (Bax) sitozolden mitokondriye translokasyonu oluşur (Xing et al 2008). Bunu takiben mitokondriyal inter membran boşluktan sitozole sitokrom-c salınımı olur (Liu et al 2014). Proapoptotik faktörlerin translokasyonu sonrasında aktifleşen kaspazlar hem DNA'ya zarar verir hem de hücre ölümüne neden olarak iskemik infarkt oluşum sürecine katkı sağlar (Liu et al 2014, Xing et al 2008). Bu proapoptotik proteinlerin translokasyonu Bcl-2 ailesi tarafından kontrol edilir (Xing et al 2008). Zaten Bax Bcl-2 ailesinin proapoptotik bir üyesidir. Bax iskemiye bağlı olarak aktive olur. Bax'a bağlı yolların aktivasyonu ve bunu

takip eden apoptotik yolların aktivasyonu iskemik beyin hasarında oldukça önemli rol oynadığı bilinmektedir (Liu et al 2014).

2.7.11. Reperfüzyon Hasarı

Akut iskemik inmeden sonra tedavi olarak yapılan, kan akımının restorasyonu (reperfüzyon), dokunun geri dönüştürülebilir penumbra hasarını kurtararak daha geniş beyin dokusu hasarlanmasını azaltabilir. Ancak reperfüzyon sağlanması durumunda klinik tablo daha da derinleşebilir (Pan, Konstas, Bateman, Ortolano and Pile-Spellman 2007). Bu olaya reperfüzyon hasarı olarak bahsedilmektedir. Serebral iskemi sonrası revaskülarizasyonun geciktirilmesi sonucunda reperfüzyon hasarı meydana gelir ve oksijenli kanın beyine tekrar sağlanmasına rağmen klinik tabloyu daha da kötüleştirdiği görülür (Mizuma and Yenari 2017). Yapılan çalışmalarda, reperfüzyon sonrası beyin dokusunun daha fazla infarkt alanına sahip olabileceği de görülmüştür. Yani, bazı hastalarda reperfüzyon sonrası infarkt alanı azalabileceği ama bazılarında da bu durumun tersi olarak SİR hasarı denilen daha büyük infarkt alanlarının oluştuğu klinik tablolara rastlanmaktadır (Pan et al 2007).

Reperfüzyon inflamatuvar tepkilere yol açarak doku hasarını paradoksal olarak derinleştirir (Yuan et al 2019). Serebral reperfüzyon sırasında aktifleşen lökositler endotel hücreleri ile etkileşime girer ve proteolitik enzimlerin salınması yoluyla KBB'yi bozar, kılcal damarlardan beyne kan sızar ve doku iltihabına aracılık eden sitokinler salgılanır. Bu süreç kurtarılabılır penumbranın bozulmasına yol açan kaskad oluşturur. Kırmızı kan hücreleri ve trombositlerle birlikte lökosit birikimi, kılcal damarları tıkayabilir, bu durumda reperfüzyon önlenir ve “(no-reflow)” fenomeni ile ikincil serebral iskemi oluşabilir. Bunlara ek olarak aktive edilmiş trombositler doku hasarını çeşitli biyokimyasal araçlarını serbest bırakır (Pan et al 2007).

Reperfüzyonda, oksidatif patlama oluşur. İskemik kaynaklı enzimatik değişiklikler ve metabolik sonuçlar, reperfüzyon başlangıcında oksidatif patlamayı destekler. Reperfüzyonun başlangıcında oksijenin yeniden sağlanması, bir paradoksa yol açar ve aşırı bir ROT üretimine yol açar. Reperfüzyonu takiben, biriken indirgeyici metabolitler, mitokondriyal solunum zincirinde ROT üretimi için elektron verici olarak görev alırlar. Oksijen varlığında ksantin oksidaz, hipoksantini ksantine

dönüştürür ve bununla beraber süperoksit anyonu ve H_2O_2 açığa çıkarır. Bağlanmamış nitrik oksit sentaz(NOS) ve azot oksitler(NOX) enzimleri de reperfüzyon boyunca süperoksit anyonu üretir. Sonunda, prooksidan ve antioksidan sistemleri arasındaki dengesiz durum, oksidatif strese neden olan ve hücre ölüm yollarını indükleyen yüksek ROT/RAT oluşumuna neden olur (Szabo, Pipicz, Csont and Csonka 2020).

2.8. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR)

Oksijen gen transkripsiyonu, sinyal iletimi ve diğer hücrel aktiviter için çok hayati öneme sahip olmasına rağmen reaktif oksijen radikalleri ve serbest radikal formlarında biyomoleküller üzerinde yıkıcı etkiye sahip olmaktadır (Singh, Kukreti, Saso and Kukreti 2019). ROT oksijen metabolizmasıyla doğal olarak üretilir ve oksijen iyonları, serbest radikaller ve peroksitleri içerir (Allen and Bayraktutan 2009). ROT oksijenden daha yüksek bir reaktiviteye sahiptir (Jakubczyk et al 2020). Bu radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran moleküller olup en önemliler; hidroksil radikalleri ($\cdot OH$), süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\cdot -}$), nitrik oksit($NO\cdot$) ve peroksit radikalleri ($ROO\cdot$) olmasının yanında H_2O_2 , hipokloröz asit (HOCl) gibi non-radikal türevleri de vardır (Poprac et al 2017). Fizyolojik koşullar altında vücutta serbest radikallerin oluşması ve vücuttan atılması arasında bir denge vardır. Serbest radikallerin aşırı üretilmesi oksidatif stres oluşturur ve bu da moleküler ve hücrel düzeyde yıkıma neden olabilir (Jakubczyk et al 2020). SOR aşırı üretilmesi proteinler, lipitler, membran yapısı, DNA yapısı, karbonhidratlar üzerinde yıkıcı etkiye sahiptir (Jakubczyk et al 2020). Serbest oksijen türlerinin birikmesiyle oluşan oksidatif stres hipertansiyon, diyabet, iskemik hastalıklar, alzheimer gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol alır (Czerska, Mikolajewska, Zielinski, Gromadzinska and Wasowicz 2015). Tüm bunların yanında düşük serbest oksijen türleri ve serbest nitrojen türleri vücutta düşük yoğunlukta üretildiğinde enfeksiyonlarla savaşta vücut savunmasına yardımcı olmak, kanser hücrelerinin yok edilmesi, hücre büyümesi, apoptozis, toksik maddelerin yok edilmesi gibi bazı yararlı etkilerinde bulunmaktadır (Allen and Bayraktutan 2009, Karabulut ve Gülay 2016b).

2.9. ANTIOKSİDANLAR

Antioksidanlar vücuttaki moleküllerin oksidasyonunu geciktiren veya inhibe eden kimyasal bileşiklerdir (Bazinet and Doyen 2017). Serbest radikallerin artmasını baskılar, fazla üretilmiş olan serbest radikalleri etkisizleştirerek ve bunların vücuda vereceği zararlı etkilerinin baskılanmasını sağlar. Ayrıca reaktif oksijen türevleri ve serbest radikalleri indirgemesiyle bunların toksik etkilerini ya düşürür ya da tamamen baskılayarak ve bunları toksik olmayan ürünlere dönüştürür (Döğer 2010). Bu yollarla oksidatif stresle ilgili birçok hastalıkla savaşırlar (Neha, Haider, Pathak and Yar 2019). Patolojik süreçlerinde serbest oksijen türevleri olan kalp hastalıkları, inme ve kanser gibi hastalıklarda antioksidanların reaktif oksijen türevlerini reaksiyon zincirlerinden ayırarak koruma sağlarlar (Ginter, Simko and Panakova 2014).

İnsanda endojen ve eksojen antioksidanlar olmak üzere iki tip antioksidan sistem mevcuttur. Endojen antioksidanlar da kendi aralarında enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere ikiye ayrılır. Endojen antioksidanlar yaşamsal sistemlerde oksidanlar ve antioksidanlar arasında dengede çok önemli rol oynarlar. Eksojen antioksidan savunma sistemimiz yaşayan organizmalarda çoğu antioksidan mekanizmada önemli rol oynayan vitamin E, vitamin C, karotenoidler gibi eksojen orijinli indirgeme bileşikleri olmadan eksik kalır (Bouayed and Bohn 2010).

Endojen antioksidanlardan KAT, glutatyon peroksidaz (GPx), SOD, glutatyon redüktaz (GR) enzimatik endojen antioksidanlardan sıklıkla görülenler (Pandya et al 2013), GSH, melatonin, transferrin, seruloplazmin, albümin, bilirubin, koenzim Q10, alfa lipoik asitler ise non-enzimatik endojen antioksidanlardan bazılarıdır (Kasnak ve Palamutoglu 2015, Hamamcioğlu 2017).

Eksojen kaynaklı olan antioksidanlar ise Vitamin E (Tokoferoller) ve Vitamin C (Askorbik Asit) gibi antioksidan vitaminler, bakır ve çinko gibi antioksidan mineraller, B-Karoten ve Lutein gibi Karotenoidler, Fenolik asit ve Flavanoidler gibi Polifenolleridir (Kasnak ve Palamutoglu 2015).

2.9.1. Enzimatik Endojen Antioksidanlar

2.9.1.1. Katalaz (KAT)

H₂O₂ oluştuğunda hidroksil radikallerini meydana getirmesini önlemek amacıyla suya indirgenmesi gerekmektedir (Doğanay 2014). KAT bunun oluşumunu sağlayacak önemli bir antioksidan enzimdir (Nandi, Yan, Jana and Das 2019). H₂O₂'yi H₂O ve O₂'ye dönüştürüp ROT süpürücüsü olarak fonksiyon görür ve bunların oluşturacağı oksidatif stres sonucunda hücre ve dokuların hasar görmesini engeller (Xiao et al 2015). Doku, organ ve hücrelerin çoğunda sentezlenmesinin yanı sıra eritrosit, böbrek ve karaciğerde yoğun konsantrasyona sahiptir (Pisoschi and Pop 2015, Doğanay 2014).

2.9.1.2. Glutasyon (GSH)

Glutasyon gamma-glutamilsistein sentetaz ve glutasyon sentetaz tarafından glutamat, sistin ve glisinden sentezlenen bir tripeptittir (Ginter et al 2014). Düşük molekül ağırlığına sahip GSH hücre içinde sentez edilen en önemli antioksidandır (Forman, Zhang and Rinna 2009). Özellikle karaciğerde bulunmasının yanı sıra birçok dokuda büyük konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Doğanay 2014). Hücrelerde redox homeostazisinin korunması (Forman et al 2009), hücre proliferasyonunun düzenlenmesi, proteinlerin tiyol statüsünün korunması, serbest radikallerin süpürülmesiyle antioksidan savunma, elektrofillerin detoksifikasyonu ve bağışıklık sistemi, DNA sentezi gibi önemli hücresel süreçlerin düzenlenmesinde hayati rol oynar (Lu 2009). Redox homeostazisi, yüksek oksijen tüketimi ile zararlı serbest radikallerin (ROT gibi) oldukça fazla üretildiği beyinde çok önemlidir. GSH'nin beyindeki konsantrasyonu korteksin glial hücrelerinde oldukça yüksektir (Gu, Chauhan and Chauhan 2015).

H₂O₂ ve süperoksit (O₂⁻) gibi ROT'lar hücre hasarına ve lipid peroksidasyonuna neden olur. Bunu önlemek için GSH, selenyum bağımlı GSH peroksidaz tarafından katalizlenen bir reaksiyon ile H₂O₂ seviyesini düşürür (Fraternale, Brundu and Magnani 2017). GSH fonksiyonları enzimin katalitik aktivitesi ile ilişkilidir. GSH tükenmesi kanser, nöroinflamasyon, nörodejenerasyonu içeren bir çok hastalığın oluşmasına neden olabilir (Berndt and Lillig 2017). Yaşa bağlı ve kronik hastalıklar da hücrede GSH seviyesinin azalmasıyla ilişkilidir (Braidı et al 2019).

2.9.1.3. Süperoksit Dismutaz(SOD)

ROT'lara karşı korumayı başlatır (Karabulut ve Gülay 2016a). Aerobik metabolik reaksiyonlar sırasında meydana gelen süperoksit anyonunun, H_2O_2 ve O_2 'ye dönüşümünü katalizler. Meydana gelen H_2O_2 'yi KAT ve GPx H_2O 'ya indirger. Hücrelerde süperoksit seviyelerini kontrol etmede, direkt oksidatif hasara karşı hücreleri korumada çok önemli bir role sahiptir (Kasnak ve Palamutoglu 2015, Adam ve Yiğitoğlu 2012, Yöntem ve Ünalı 2018).

SOD'un, sitozolik (Cu^{2+} - Zn^{2+} içeren) ve mitokondriyal (Mn^{2+} içeren) ve ekstrasellüler SOD (EC SOD) formları mevcuttur. SOD, tüm temel aerobik dokularda bulunur. Bunlardan Cu^{2+} - Zn^{2+} SOD'lar sitozolde, Mn^{2+} SOD mitokondride ve EC SOD ise hücre dışı sıvıda bulunur (Karabulut ve Gülay 2016a, Adam ve Yiğitoğlu 2012).

2.10. OKSİDATİF STRES

Aerobik metabolizmaya sahip hücreler her zaman belirli miktarlarda reaktif oksijen türlerini üretebilir. Yani aerobik metabolizma ve ROT üretilmesi her zaman birbiriyle ilişkilidir (Rivera et al 2017). Protein fosforilasyonu, çeşitli transkripsiyonel faktörlerin aktivasyonu, apoptoz, bağışıklık ve farklılaşma gibi biyolojik süreçlerin tümü uygun bir oranda ROT üretimine ve hücre içinde düşük miktarlarda bulunmasına bağlıdır (Pizzino et al 2017). Antioksidan savunma sistemi ve prooksidanlar arasındaki denge olması ROT'un bu biyolojik etkilerinde önemlidir (Chainy and Sahoo 2020). Bu dengeyi bozacak şekilde ROT miktarındaki artış olduğunda lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi önemli hücresel yapılar üzerinde yıkıcı etkiler oluşmaya başlar (Pizzino et al 2017). Yani prooksidanlar ve antioksidanlar arasında yukarıda bahsettiğimiz denge prooksidanlar lehine bozulduğunda oksidatif stres meydana gelir (Sabuncuoğlu ve Özgüneş 2011, Chen and Hsieh 2020). Bu durum yaşayan hücreler için her zaman tehdit oluşturup hastalıklar ortaya çıkarabilir (Filomeni, De Zio and Cecconi 2015).

Oksidatif stres inflamasyonla sıkı sıkıya bağılı olup hipertansiyon, diyabet, kronik böbrek hastalıklarının, nörodejeneratif hastalıklar ve nöroinflamasyonun, yaşlanmanın, aterosklerozun, obezitenin, DNA hasarının, İR hasarının ve psikiyatrik hastalıkların fizyopatolojisinde önemli rol oynar (Martínez Leo and Segura Campos 2019, Macit ve Akbulut 2015, Aslan ve Karahalil 2019, Rani et al 2016, Salim 2017, Chen and Hsieh 2020, Rivera et al 2017).

2.10.1. Malondialdehit (MDA)

MDA, lipid peroksidasyonu esnasında çok fazla üretilir ve bundan dolayı oksidatif stresin bir ölçüsü olarak yaygın kullanılır. MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonundan kaynaklanır (Barrera et al 2018).

Hücre ve organel membranları, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) nedeniyle, lipid peroksidasyonuna karşı oldukça hassastır. Lipid peroksidasyonu, fosfolipidlere doğrudan zarar verir ve ayrıca programlanmış hücre ölümünü indükleyen hücre ölümü sinyali olarak da işlev görebilir (Su et al 2019).

Lipid peroksitler toksik etkilerini iki genel mekanizmayla gösterirler. Lipidler, hücresel yapıyı koruyan ve hücresel işlevi kontrol eden hücre zarlarının temel bileşenlerindendir ve ROT'ların saldırılarının birincil hedefindedir. Lipid peroksidasyonu bu zarların yapısını, birleşimini ve dinamiklerini değiştirir. Lipid peroksitler oldukça reaktif bileşikler olduğundan ROT'un daha fazla türlerine neden olabilir veya proteinleri ve DNA'yı çapraz bağlayabilen reaktif bileşiklere indirgeyebilir. Fosfolipidlerin oksidasyonu çoğu inflamatuvar hastalıkta önemli bir rol oynayabilir ve çoğunlukla proinflamatuvar değişime aracılık edebilir (Pena-Bautista et al 2019, Yin et al 2011, Gaschler and Stockwell 2017, Busch and Binder 2017, Su et al 2019).

2.11. NİKOTİNAMİD

Hücre metabolizması için hayati önem taşıyan eksojenez kofaktörler ve birkaç vitamin arasında, Vitamin B3'ün amid formu olan nikotinamid önemli bir yer almaktadır (Slomka, Zieminska, Salinska and Lazarewicz 2008). Niasinamid ve nikotinik asit olarak da bilinir (Lappas and Permezel 2011). Kimyasal formülü $C_6H_6N_2O$ olup 122,12 g/mol molekül ağırlığına sahiptir ve 128-131°C erime sıcaklığına sahiptir. Bu bileşiğin Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) ismi 3-piridin karboksiamid'dir. 20 °C suda 100 g/100 ml olarak çözünür. Eterde çözünmesi yavaş olup yağda çözünmez. Kendine özgü kokusu ve tadı bulunur ve renksiz kristal bir maddedir. Piridin halkasına sahip olması dolayısıyla piridinin karakteristik reaksiyonlarını verir (Yurdakul 2013).

Hücre onarım ve büyüme fonksiyonlarına katılım sağlayan nikotinamid günümüzde yaygın olarak tahıl ve hayvansal gıda ürünlerinden temin edilebilir. Buna ek olarak, ticari olarak temin edilebilen bazı besin takviyeleri de nikotinamid sağlayabilir. Temel fizyolojik ihtiyaçlar için gereklidir (Lin, Chong and Maise et al 2001). Etler, baklagiller, süt ürünleri, zenginleştirilmiş ekmekler, kuruyemişler, tahıllar, kahve, çay ve niasin takviyeli tahıllar bunlara örnektir (Rennie, Chen, Dhillon, Vardy and Damian 2015, Lappas and Permezel 2011). Bunlara ek olarak insanlar da dahil memelilerde, esansiyel aminoasit olan triptofandan nikotinamid sentezlenebilir. Bu triptofan-nikotinamid yolu, dalak, böbrek, beyin ve karaciğer gibi birçok dokuda bulunur ve özellikle karaciğer, karaciğer harici dokulara nikotinamid sağlamaya katkıda bulunur. 60 mg triptofan insanda 1 mg nikotinamide eşdeğer olduğu öngörülmektedir, ama bu dönüşümün oranı yüksek protein alımı, vitamin eksikliği, gıda kısıtlaması, egzersiz, hormonlar ve kimyasallar gibi birçok faktöre de bağlıdır (Fukuwatari and Shibata 2007). Besin olarak alınmasının yanında 60 yıldan uzun süredir birçok hastalık için farmakolojik bir ilaç olarak da kullanılıyor (Rennie et al 2015). Hatta günümüzde besinsel kimliğinden daha çok farmakolojik ajan kimliğine dönüşmüştür (Lappas and Permezel 2011). Oral nikotinamidin biyoyararlanımı sağlık açısından yararlı olup, vücuttaki tüm dokulara dağılır ve karaciğerde metabolize edilerek böbreklerden atılır (Rennie et al 2015).

Nikotinamid takviyesinin, antiinflamatuvar, antioksidan, nöroprotektif, immüno-regulator ve antilipidemik etkileri ile hastalıklarda yararlı olabileceği ve takviye olarak kullanımından sonra fonksiyonel iyileşmeyi hızlandırmaktadır (Siegel and McCullough 2013, Villeda-Gonzalez et al 2020, Peterson, Anderson, Kantor and Hoane 2012). Nikotinamid, ilk olarak pellegraya karşı koruyucu bir ajan olarak keşfedilmesiyle bunu takip eden yıllarda diyabet ve şizofreni gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaya başlamıştır (Shi et al 2012, Ungerstedt et al 2003).

Nikotinamid diyabet tipleri, şizofreni, psöriasis ve pellegra gibi çeşitli hastalıklarda günlük 1-2 doz kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada nikotinamidin iskemi başlangıcını takiben 2 saate kadar uygulanması ile SİR hasarına karşı nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Mokudai et al 2000). Nikotinamid beyin iskemisinde uyarıcı amino asitler salındığında ve enerji deposu tükendiğinde 6 saate kadar beyni koruyabilir (Chen et al 2012).

2.11.1. Nikotinamidin Etkileri

Nikotinamid, NAD^{+} 'ın öncüsü ve bir PARP inhibitörüdür (Fania et al 2019). NAD^{+} enerji metabolizmasına ve ATP oluşumuna aracılık eder (Koh 2011). PARP, DNA onarımı için önemli bir nükleer enzimdir (Ieraci and Herrera 2018).

PARP aktivasyonu, intrasellüler NAD^{+} 'ı tüketerek ve ATP üretimini yavaşlatır. Nikotinamid, NAD^{+} seviyelerini ciddi şekilde yükseltir ve PARP'ı inhibe eder ve bu etkisiyle nöroprotektif koruma sağlar. Hücreleri oksidatif stres, apoptoz ve nekrozdan korur (Fricker et al 2018).

İskemide bilindiği üzere enerji noksanlığı mevcuttur ve serebral iskemide NAD^{+} 'ın artışı yararlı terapötik etkileri olabileceği düşünülmektedir (Lee et al 2018b, Siegel and McCullough 2013). Nikotinamid, nöronların enerji kapasitesini arttırabilir ve bu sayede risk altındaki dokuda nöronal enerji rezervini arttırarak serebral iskemi kaynaklı enerji yetersizliğine karşı koruma sağlayabilir. Bu durum laktat artışına engel olur ve nöroprotektif koruma sağlayabilir (Mokudai et al 2000). Nikotinamid, iskemi sonrası Ca^{2+} 'nın hücre içi ve sitoplazmadaki aşırı artışının inhibe edilmesini sağlayarak bu durumun ortaya çıkaracağı nöral ölümler karşısında nöroprotektif etki

sağlar. Ayrıca GA'ya bağlı aşırı Ca^{2+} yüklenmesini de hafifletebilir ve indüklenmiş olan nörotoksositeye karşı nöronları korur. Bu durumlar çalışmalarla gösterilmesine rağmen, nikotinamidin sağladığı nöroprotektif mekanizma hala gizemini korumaktadır (Koh 2013).

Oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Ama bu etkilerinin de altında yatan mekanizma hala aydınlatılamamıştır (Kwak, Ham, Kim and Hwang 2015).

Nikotinamid, TNF-a, IL-1 gibi proinflamatuvar sitokin cevabı baskılayarak antiinflamatuvar etki gösterebilir (Shi et al 2012, Song et al 2019). Nikotinamidin endotel ve nöron hücrelerin hasarlanmasını önlediği de bildirilmiştir (Fricker et al 2018). Antiinflamatuvar etkisini PARP inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülürken PARP inhibisyonu, indüklenebilir NO sentetazın (iNOS) inhibisyonu, majör doku uygunluk kompleksi-II (MHC-II) ekspresyonunun önlenmesi, endotelyal hücrelerde ICAM-1 ekspresyonunun bastırılması ve TNF-a inhibisyonuna neden olur (Rennie et al 2015). Ayrıca, son çalışmalar nikotinamidin NF- κ B yoluyla proinflamatuvar mediyatörleri inhibe ettiğini göstermiştir (Lappas and Permezel 2011). Bu etkileriyle de nikotinamid, güçlü bir antiinflamatuvar olarak bilinmektedir (Mierzejewska et al 2018).

Nikotinamid, beyne kolayca geçebilir (Feng, Paul and LeBlanc 2006). Nikotinamidin iskemi reperfüzyonun hayvan modellerinde nöronal ölümü azaltarak beyin hasarını önlediği ve işlevlerin iyileştirilmesini arttırabileceğini gösteren birçok çalışma mevcuttur (Fricker et al 2018, Song, Park, Chung, Lee and Hwang 2019). Pek çok çalışmada nikotinamid tedavisinin KBB bozulmasını azalttığı, motor performansı geliştirdiği ve akut ödem oluşumunu azalttığını göstermiştir (Peterson et al 2012).

İR hasarı sonrası oluşan oksidatif stres DNA ipliğinin kırılmasına neden olur ve PARP'ın akut aktivasyonu meydana gelir. PARP ATP ve NAD^+ hücrel havuzunu tüketip sitotoksositeye neden olur (Kwak et al 2015). Nikotinamid, NAD^+ 'a hızlıca dönüştürülür ve PARP aktivitesinin inhibisyonunu, İR sonrası hasarın etkilerini zayıflatır (Kwak et al 2015). Nikotinamidin enerji metabolizmasına verdiği bu katkı, DNA fragmantasyonunun azalmasını sağlar ve DNA onarımının hızlanmasına yardım

eder. DNA fragmentasyonunun inhibisyonu beyinde apoptozu önleyebildiği gösterilmiştir (Yang et al 2002).

Nikotinamid, apoptotik kaskadda ana efektör kaspaz olan kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivitesini önlemek ve ayrıca sitokrom-c salınımını engellemek amacıyla mitokondriyal membran potansiyelini ve mitokondriyal membranda gözenek oluşumunu modüle eder. Beyinde hem çekirdekte erken nekrotik hücre ölümünde hem de inme modellerinde penumbra hücre ölümü gibi gecikmiş apoptoza karşı koruma sağlar (Feng et al 2006). Nöronal hücrelerde proapoptotik ve antiapoptotik proteinlerin regülasyonu ile apoptozu zayıflatır (Koh 2011). Hücrelerde infark hacminin azalmasına katkı sağlar (Fricker et al 2018).

2.12. İSKEMİK ÖNKOŞULLANMA(İÖK)

Serebral iskemi takiben vasküler hücrelerin, glial hücrelerin ve nöronların karmaşık ve dinamik olan etkileşimi meydana gelen hasarın boyutunda belirleyicidir. Genellikle serebral iskemi hasarına yaklaşımda hasarın mekanizması ve ciddiyetine odaklanılırken, son yıllarda yapılan çalışmalar endojenez koruma mekanizmalarının serebral iskemi takiben oluşacak hasar için hasarın mekanizması ve ciddiyetine denk öneme sahip olduğunu göstermiştir (Alkan 2009).

Adaptasyon, Darwin' in ileri sürdüğü gibi yalnızca türler düzeyinde değil ayrıca hücre, molekül, doku ve hatta olasılıkla genler düzeyinde de etkisi olabilen ana fizyolojik ilkelerdendir. Son yıllarda inme çalışmalarında bulunan bilim insanları, memeli beyinde laboratuvar ortamında deneysel olarak gerçekleştirilen önkoşullanmayla bundan sonraki dönemde olacak yaralanmaya karşı hücrenin yaşamını devam ettirmesi için serebral iskemi gibi durumlara adaptasyon geliştirebileceğini destekleyen sonuçlar ortaya koymuş ve bunları kanıtlarla desteklemişlerdir. Stere karşı cevap olarak gelişen bu koruyucu fenotipin meydana gelmesi moleküler, genomik, doku ve hücresel düzeyde koordineli bir cevaba bağlıdır (Gidday 2006).

İÖK, kan akışındaki ölümcül olmayan kısa süreli kesintiyi takiben daha sonraki dönemde beyin için ölümcül hasara neden olabilecek ölümcül iskemik olaya karşı koruma sağlayan bir fenomendir (Thompson et al 2013). İÖK'nin endojen mekanizması bir veya birkaç geçici iskemik olaydan sonra iskemiye karşı artan hücrel direnci meydana getirir (Kim et al 2017). İskeminin altında yatan nedenler ve semptomlar çok çeşitli olsa bile İÖK, tedavi yaklaşımında kullanılabilir. İskemik beyni önkoşullandırmanın yolları çok çeşitli olabilir (Thushara Vijayakumar, Sangwan, Sharma, Majid and Rajanikant 2016). İÖK'yi harekete geçirmek için iskemi, hipotermi/ hipertermi, hipoksi, metabolik inhibitörler ve hiperbarik oksijenasyon önkoşullandırıcı uyaranlar olabilir (Alkan 2009). Beynin koruyucu mekanizmalarını harekete geçirebilen aneztezükler gibi ilaçlar da uyarıcı olabilir ve böyle yapılan önkoşullanmaya farmakolojik önkoşullanma denir (Thushara Vijayakumar et al 2016). Ayrıca önkoşullandırma yapılmış yaralanma türünün dışındaki diğer yaralanmalara karşı da koruma sağlayabilir. Nöral travmaya neden olabilecek herhangi bir uyarının iskemi veya travmaya karşı duyarlılığı arttıracak endojen koruma mekanizmalarını regüle etmesiyle MSS'yi koruması buna bir örnektir (Alkan 2009).

İlk olarak kalpte tanımlanmış olan İÖK daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarla beyin dahil birçok dokuda gösterilmiştir (Schaller and Graf 2002). 1990'ların sonlarında yapılan birçok araştırma, farklı hayvanların global ve fokal serebral iskemide ölümcül iskemik hasara karşı SİÖK kaynaklı nöroproteksiyon oluşturabileceğini göstermiştir (Hao et al 2020).

Klinik çalışmalarda da İÖK' nin iskemiye direnç oluşturarak hayati organlarda (kalp, böbrek vb) oluşabilecek ölümcül iskemik olaylara koruyuculuk oluşturabileceği gösterilmiştir. Ancak klinikte geçici bir ölümcül olmayan SİÖK ve serebral iskemi oluşturmak güvenli ve etik değildir (Chen et al 2018). Söz konusu beyin dokusu iken özellikle güvenilirliği sorgulanan ve yararlı etkilerinin de dar bir pencerede olması nedeniyle klinik çalışmalar deneysel çalışmalar gibi yapılmamaktadır (Umuroglu ve ark 2012). Bunun yanında zaten İÖK oluşturmanın göz ardı edilemeyecek dezavantajlarından biri iskeminin zamanlamasında, süresinde ve konumunda yalnızca küçük değişikliklerle ciddi hasara yol açabilmektedir (Hao et al 2020).

Serebral iskemi sonrası fizyopatolojik yanıtları iyileştirerek daha küçük enfarktüs hacmi ve daha iyi inme sonrası iyileşme sağlamasına rağmen İÖK'nin iskemik inme insidansını azaltmadığı da bilinmektedir (McDonough and Weinstein 2016). İÖK, birkaç saat devam eden bir erken tolerans evresine ve ardından başlayıp 2-3 gün devam eden gecikmiş bir tolerans evresine bölünmüştür (Lee et al 2018b). Erken tolerans evresi olarak da adlandırılan akut tolerans evresi, önkoşullanma uyaranlarına maruz kalmaktan birkaç dakika sonra oluşur ve oluşma penceresi oldukça küçük olup birkaç saat sonra azalır (Thushara Vijayakumar et al 2016). Bu fazda iyon kanalları geçirgenliği ve mevcut proteinlerin post-translasyonel modifikasyonu etkilenir (Lee et al 2018b). Gecikmiş veya diğer adıyla klasik önkoşullanmada, protein sentezi ve genetik değişikliklerin olduğu için hakim önkoşullanma evresidir. Bu yönüyle iskemik bölgede daha önemli olan evredir. Birkaç günden bir haftaya kadar etkili olabilir ama etkisi bir haftayı geçmez (Thushara Vijayakumar et al 2016). İskemik toleransa önkoşullanmanın getirdiği bu iki aşama beynin farklı dokularında muhtemelen farklı mekanizmalarla ve çeşitli zaman dilimlerinde çalışır (Thushara Vijayakumar et al 2016). Ayrıca bu iki pencere arasındaki bir fark ilk aşamadaki nöroproteksiyonun geçici olmasıdır (Pérez-Pinzón 2004).

İÖK altında yatan mekanizma ve moleküller tam olarak aydınlığa kavuşamazsa da bazı önkoşullanma tipleri Adenozin A1 reseptörleri (A1R), ATP' ye duyarlı K⁺ kanalları (K_{ATP}), NF-κB, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), EPO, NOS, HIF, NMDA, manganez bağımlı süperoksit dismutaz (MnSOD), TNF, glikojen ve laktat içerir (Sharp et al 2004).

İskemik toleransın moleküler mekanizmasında gen ekspresyonunun yeniden düzenlenmesi çok önemli rol oynadığı, bu durumun da önkoşullanmanın hücrelerin gen düzeyinde yeniden düzenlemeyi indükleyebileceği ve bunun da dokular da İÖK'nin sağladığı sitoproteksiyon ve hücre hayatta kalmadan sorumlu olduğu düşünülmektedir. SİÖK sonrasında hücre genomundaki etkiler, çoklu sinyal yollarının karmaşık etkilerini göstermektedir. SİÖK'ye yanıt olarak yüzlerce genin up-regülasyonu veya down-regülasyonu meydana gelmekte ve bu durumun normal ölümcül iskemi ile farklılık göstermekte olduğu bildirilmiştir. SİÖK'nin ölümcül iskemiyeye olan hücresel cevabı azalttığı görülmüş ve tolerans metabolik yolların

baskılanmasında, immün yanıt kontrolünde, iyon kanalı aktivasyonunun modülasyonunda ve kan pıhtılaşma parametrelerinin değiştirilmesinde yer alan genlerin ekspresyonunu değiştirilmesi ile kurulduğu görülmüştür (Sisalli, Annunziato and Scorziello 2015).

2.12.1. Önkoşullanmanın Nöroprotektif Etkileri

2.12.1.1. İÖK ve Hücrel Enerji Metabolizmasındaki Değişiklikler

İÖK ile hücrel enerji tüketimi optimize edilir ve daha verimli hale gelir ve bu durum hücreleri iskemiye karşı daha dirençli hale getirir. Mitokondriyal işlevi korur ve enerji metabolizmasında rol oynayan genlerin ekspresyonunda bir artışa neden olur. Enerji metabolizması, glikolizin geliştirilmesi; solunum zinciri fonksiyonlarının geliştirilmesi ve mitokondriyal membranların stabilizasyonu yoluyla korunur. İÖK, ayrıca iskemi boyunca tüketilen ATP üretiminin iyileştirilmesinde adenilat kinaz denge reaksiyonlarında bir değişim içerir (Koch and Gonzalez 2013, Cuomo et al 2015).

2.12.1.2. İÖK ve Eksitotoksitenin Azaltılması

Çeşitli iskemik tolerans mekanizması, GA reseptörüne ve Ca^{2+} ya bağlıdır. İÖK'nin birçok modelinde NMDA reseptör aktivasyonu gerekmektedir (Dirnagl, Simon and Hallenbeck 2003). İskemik tolerans, nörotransmitter reseptörlerinin alt birimlerini etkileyip inhibe edici nörotransmitterleri up-regüle edebilir. İÖK, GA salınımını inhibe edecek bir inhibe edici nörotransmitter olan gamma-aminobütirik asit (GABA) salınımını artırarak ve GABA presinaptik ve postsinaptik aktiviteleri artırarak eksitotoksiteyi iyileştirdiği ve böylece nöronları eksitotoksik hasara karşı daha dirençli hale getirdiği bilinmektedir (Narayanan, Dave and Perez-Pinzon 2013). Bu durum, İÖK' nin serebral iskemiye takiben sinaptik fonksiyonu ve fonksiyonel iyileşmeyi koruyabilen sinaptik modifikasyonları desteklediği görülmektedir (Narayanan et al 2013). Özellikle ATP'nin parçalanma ürünleri(özellikle adenozin), $A1R$ ve K_{ATP} kanalları, iskemik hücre ölümüne neden olan kaskadın erken olaylarının önüne geçilmesinde önemli rol oynayabilir (Dirnagl et al 2003).

2.12.1.3. İÖK ve Ca²⁺ İyonu

Önkoşullanmayı araştıran nörobilimciler, serebral iskeminin eksitotoksik ortamında nöronal hücre ölümünün bir ajanı olarak görülen Ca²⁺'yı İÖK'nin bir anahtarı olarak görmektedir. İÖK'deki rolü karmaşık olup, deneylerde İÖK yapılma esnasında ve sonrasında uyarıcı bir rol üstlendiği, ama ölümcül iskemi uygulaması sırasında ve sonrasında inhibe edici veya düzenleyici rol üstlendiği gözlemlenmiştir. İnhibe edici özelliği, özellikle eksitotoksik bileşen açısından Ca²⁺ bağımlı nörotoksik sinyallerinin kesilmesine yöneliktir (Tauskela and Morley 2004).

2.12.1.4. İÖK ve Oksidatif Stress Azaltılması ve Antioksidanlar

İÖK uygulanması esnasında salınan ROT'un oksidatif strese karşı savunma mekanizmalarını harekete geçirdiği ileri sürülmektedir (Glantz et al 2005). İÖK ile artan, antioksidan üretimi, DNA onarım kapasitesi ve inflamasyonun baskılanmasıyla serebral iskemiye takiben gelişen oksidatif stresi iyileştirebilir ve bu da nöroproteksiyon sağlar (Narayanan et al 2013, Meng, Zhang and Sui 2019).

Hücrede oksidatif stres nükleer faktör eritroid ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) tarafından algılanmaktadır. Sıçan astrositlerinin geçici iskemiye maruz bırakılmasıyla, hücrenin redox durumunun, yani GSH ve GSH ile ilişkili enzimlerin korunmasında rol alan Nrf2 hedefli genlerin ekspresyonunun artmasıyla sonuçlanmıştır. Ayrıca İÖK'yi takiben antioksidanlarda artış olduğu ve bunun da nöroproteksiyon sağladığı görülmüştür. Bu nedenle, antioksidan ekspresyonu yoluyla oksidatif stresin iyileştirilmesi, İÖK'nin güçlü bir nöroproteksiyon mekanizmasını temsil eder (Narayanan et al 2013).

2.12.1.5. İÖK' de Nitrik Oksit (NO)

NO birkaç yol ile SİÖK'de rol alabilir. Bunlardan biri NO, SİÖK'nin indükleyicisi olarak görev alabilir, burada nNOS'dan türetilen NO, serebral İÖK mekanizmalarında yer alan downstream akımlarını stimüle etmek için gereklidir. Bir diğeri, NO, iskemik fenomenlere nöronal direnci etkileyerek bir koruma aracı olarak görev alabilir. Bir başka yol ise NO, perfüzyonu iyileştirebilir ve endotel ile dolaşımdaki trombosit ve lökositlerin arasındaki etkileşimi azaltabilir ve böylece iskeminin fonksiyonel etkilerini azaltabilir (Huang 2004).

2.12.1.6. İÖK ve Mitokondriyal Değişimler

İÖK, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun korunması ve antioksidan enzimlerin korunması gibi yollarla mitokondriyal membran potansiyelini korur (Lehotský et al 2009). İÖK, mitokondriyal şişmeyi önler ve ATP tüketim oranını azaltarak serebral iskemide mitokondriyal enerji metabolizmasını korur. Bunun altında yatan mekanizma belirsizliğini korusa da yapılan çalışmalarda E -protein kinaz C' nin (E PKC) aktivasyonu ile İÖK' den sonra mitokondriyi koruduğu ve E PKC sinyal yolunun İÖK' de nöroprotektif mekanizmada rol alabileceği gösterilmiştir (Fairbanks and Brambrink 2010).

2.12.1.7. İÖK ve İnflamasyonun Azaltılması

İÖK ile toll benzeri reseptörler (TLR) aktivasyonunun uyarılmasının, normalde proinflamatuvar olan TLR'nin, İÖK sonrası ölümcül iskemide inflamasyonu azaltıcı davrandığı görülmüş ve bunun da güçlü bir nöroproteksiyon sağladığı belirtilmiştir (Narayanan et al 2013). Önkoşullandırma, sitokin ve kemokin ekspresyonunu da dahil inflamatuvar sistem üzerinde birçok etkiye sahiptir. İÖK'nin koruyucu etkileri, inflamasyonun down-regülasyonunu ve nötrofillerin aktivasyonunda ve lökosit-endotelial etkileşimlerinde azalmayı içerir. İmmün cevabın modülasyonu, IL-1 ve IL-6 proinflamatuvar sitokinlerin azaltılması ve IL-10 antiinflamatuvar sitokinler up-regülasyonunu içerir. İskemik tolerans oluşumuna katkıda bulunan TNF-a ile birçok önemli sinyal yolları oluşabilir. NF- κ B'nin TNF-a aktivasyonu, hem çok sayıda proinflamatuvar ve sitotoksik etkiye hem de antiinflamatuvar ve sitoprotektif etkiye sahiptir (Koch et al 2014, Koch and Gonzalez 2013).

2.12.1.8. İÖK ve KBB Geçirgenliğinin Düzenlenmesi

Transmembran tight junctionlar ve adhezen junctionlar esas olarak kladin-5 ve kadherin-5'den meydana gelmiş olup bunlar parasellüler geçirgenliğin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. İÖK, tight junction protein kladin-5'i ve adhezen junction protein kadherin-5'i doğrudan up-regüle edebilir ve bu yönüyle KBB'yi koruyabilir ve KBB geçirgenliğini etkileyebilir. İÖK, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar 1 ve 2 ($ERK^{1/2}$)'yi aktive ederek tight junctionlar ve anjiyojenik faktörler seviyelerine aracılık edebilir, bu durum $ERK^{1/2}$ 'nin İÖK'de parasellüler geçirgenlik düzenlenmesinde önemli rol oynadığını gösterir. Ayrıca VEGF, Nrf2 ve inflamatuvar

yollar da İÖK kaynaklı KBB korumasının altında yatan mekanizmalardandır (Hao et al 2020).

2.12.1.9. İÖK' nin Epigenetik Değişiklikleri

İÖK'nin sağladığı uzun süreli iskemik toleransı açıklayacak potansiyel epigenetik değişiklikler mevcuttur. Histon işaretleri ve posttranslasyonel modifikasyonlar, uzun ve kısa süreli iskemik nöroproteksiyonu sağladığı öngörülen yaygın epigenetik değişimlerdir. Sırasıyla sirtuin proteinleri, SIRT1 ve SIRT5 tarafından katalizlenen deasetilasyon ve desüksinilasyon, İÖK ile ilişkilendirilmiştir. Sirtuin aktivitesinin, mitokondriyal fonksiyonunun ve hücrel metabolizmasının artmasıyla İÖK'de iskemik hasara karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (Jackson, Escobar, Xu and Perez-Pinzon 2018).

2.12.1.10. İÖK ve DNA Onarımı

İÖK'nin indüksiyonunun beta-polimeraz aracılı apuridik/apimidinik endonukleaz aracılı baz eksizyon onarımı arttırdığı gösterilmiş ve yapılan fokal serebral iskemi modelinde iskemik toleransın gelişmesiyle sonuçlanmıştır (Narayanan et al 2013). DNA onarım aracılı mekanizmaların, sinir büyüme faktörü ve beyin türevli nörotrofik faktörler gibi nörotrofik/büyüme faktörlerinin artan aktivasyonu ile aktiveleştirildiği görülmüştür (Lehotský et al 2009). İÖK ile DNA onarımının geliştirilmesi, nöroproteksiyon için potansiyel bir terapötik hedef olabilir (Narayanan et al 2013).

2.12.1.11. İÖK ve Hücre Ölümünün Azaltılması

Sitokrom-c salınımının azaltılması, kaspazlar ve proapoptotik genlerin inhibisyonu ve serin/treonin aktive edilmiş kinazlar (Akt) ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar(ERK) ve trofik faktörler gibi hayatta kalma yollarının aktivasyonu gibi mekanizmalarla hücre ölümü ve apoptotik mekanizmalar baskılanır (Lehotský et al 2009). İÖK ile tuberoskleroz tip-1 (TSC1)-mTor yolağının aracılığıyla otofajinin aktive edildiği ve otofajinin ölümcül İR hasarındaki apoptozu zayıflattığı görülmüştür (Xia et al 2013).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Mevcut tez çalışması, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırmaları Merkezi (SÜDETAM) laboratuvarlarında yapıldı. Yapılan çalışmanın tüm aşamaları Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 07.10.2020 tarih ve 53 sayılı karar ile onaylandı. Araştırmanın deneysel kısımları Sakarya Üniversitesi Hayvan Laboratuvarı'nda uluslararası yönergelerle uygun olarak gerçekleştirildi.

3.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN CİHAZLAR

- Atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Shimadzu – AA680)
- Derin dondurucu (-20 °C) (Uğur)
- Manyetik karıştırıcı (Nüve)
- Santrifüj (Nüve-Universal 30 RF)
- Spektrofotometre (Shimadzu UV-160A)
- Sonifikatör (Ultrasonic-Cleaner, Bersonic)
- Hassas Terazî (Danver –TP-214)
- Homojenizatör (Witeg-HG-15D)
- Su banyosu (Elektro-mag)
- Otomatik mikro pipetler (Capp)
- Distile su cihazı (Nüve)
- Işık Mikroskop (Nikon)
- Mikrotom (Leica RM 2255)
- Etüv (Nüve)

3.2. DENEY HAYVANLARI

Çalışmamız, SÜDETAM'dan temin edilen yaklaşık 300-400 gram ağırlığında 12-14 haftalık, 35 adet Wistar-albino ırkı erkek sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Deney süresince sıçanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ışık döngüsünde sabit sıcaklığı 22°C, %50-60 nem oranına sahip kontrollü odalarda ve özel tel kafeslerde standartlara uygun olarak tutuldu ve beslenmeleri standart pelet (ad libitum) yem ve musluk suyu ile sağlandı.

3.3. DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Kontrol Grubu (K; n=7): Bu gruptaki sıçanlara cerrahi işlemden 30 dk önce 0,1 mL/kg dozunda %0,9 sodyum klorür (NaCl) çözeltisi intraperitoneal (i.p.) uygulandı. Bu gruptaki sıçanlarda kommon karotis arter (KKA) bilateral olarak ortaya çıkarıldıktan sonra cerrahi alan kapatıldı.

Önkoşullu İskemi/Reperfüzyon Grubu (İÖ+İR; n=7): Bu gruptaki sıçanlara cerrahi işlemden 30 dk önce 0,1 mL/kg %0,9 NaCl i.p. uygulandı ve ardından önkoşullu iskemi/reperfüzyon (İR) prosedürü uygulandı.

Önkoşulsuz İR Grubu (İR; n=7): Bu grup sıçanlara cerrahi işlemden 30 dk önce 0,1 mL/kg %0,9 NaCl i.p. uygulandıktan sonra direk iskemi/reperfüzyon prosedürü uygulandı.

Önkoşullu İR + Nikotinamid Grubu (İÖ+İR+N; n=7): Bu gruptaki sıçanlara cerrahi işlemlerden 30 dk önce 500 mg/kg dozunda nikotinamid (Sigma, ürün kodu; N0636, USA) %0,9 NaCl içerisinde çözülerek i.p. uygulandıktan sonra önkoşullu iskemi/reperfüzyon prosedürü uygulandı.

Önkoşulsuz İR + Nikotinamid Grubu (İR+N; n=7): Bu gruptaki sıçanlara 500 mg/kg dozunda nikotinamid %0,9 NaCl içerisinde olarak çözülerek i.p. uygulandıktan sonra direk iskemi/reperfüzyon prosedürü uygulandı.

3.4. CERRAHİ PROSEDÜRLER

Tüm sıçanlara 12 saatlik açlık periyodunun ardından cerrahi operasyon öncesi serbestçe su alımı sağlandı. Hayvanlarda genel anestezi 10 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul/Türkiye) ve 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer, İstanbul) i.p. yolla uygulanarak sağlandı. Anestezi derinliği cerrahi işlemler boyunca her 15 dakika aralıklarla ayak parmaklarına ağrı verilerek kontrol edildi. Tüm cerrahi uygulamalar mikroskop altında gerçekleştirildi.

Sıçanlar anesteziden sonra supin pozisyonda operasyon masasına sabitlenen sıçanların servikal orta hat bölgesi tıraşlandı. Operasyon bölgesinin %10 povidon iyot ile cilt temizliğini takiben vertikal insizyon yapıldı. Yüzeysel mikrodiseksiyon ile deri altı ve yumuşak dokular geçilerek derin mikrodiseksiyon ile kommon karotis artere doğru ilerlendi. Trakea ve özafagus görülüp, paratrakeal kaslar disseke edilerek kommon karotis artere ulaşıldı. Sağ ve sol KKA nervus vagustan izole edilip açığa çıkarıldıktan (Resim 2) sonra karotis bifurkasyonun 1 cm proksimalinden bilateral klemplenip 20 dk boyunca oklüze edilerek iskemi sağlandı. 20 dk'lık oklüzyon sonrası klempler açılarak 24 saat reperfüzyon sağlandı. İskemik önkoşullanma uygulanan gruplara ilk önce 10 sn iskemiye takiben 30 sn reperfüzyon 3 siklus uygulandı. 20 dk reperfüzyon sonrası KKA tekrar klemplenerek 20 dk boyunca oklüzyon ile iskemi oluşturuldu.



Resim 2: İzole Edilmiş Kommon Karotis Arter

Cerrahi işlemler boyunca hayvanların vücut ısını sabit tutmak amacıyla ısıtıcıli operasyon masasının ısısı 37 °C'ye sabitlenerek korundu. Cerrahi işlemler sonunda cilt ve cilt altı dokular 3/0 ipek iplik ile kapatıldıktan (Resim 3) sonra tüm sıçanlara sıvı kaybını önlemek ve dolaşımı uyarmak amacıyla 4 ml %0,9 NaCl subkutan olarak uygulandı. Ayrıca operasyon sonrası ağrı stresini azaltmak amacıyla sıçanların insizyon bölgelerine analjezik olarak %10 lidokain solüsyon lokal uygulandı. 24 saat reperfüzyonu takiben hayvanların nörolojik muayenesi yapıldıktan sonra dikey çubuk testi uygulandı.



Resim 3: Cerrahi İşlemler Sonrası Cilt ve Cilt Altı Dokuların Kapatılması

3.5. NÖROLOJİK DEĞERLENDİRME

24 saatlik reperfüzyon periyodunun ardından hayvanların nörolojik muayenesi 0-4 arasında toplam 5 puanlık skor ile belirlenen nörolojik skarlama ile yapıldı (Resim 4) (Abe et al 2009).

0: Normal fonksiyon

1: Hayvanın kuyruktan tutulup kaldırılması ile kontralateral fleksiyon

2: Kontralateral fleksiyon ile dinlenme halinde normal duruş

3: İstirahat halinde kontralateral tarafa yaslanma

4: Spontan motor aktivitesinin olmaması



Resim 4: Nörolojik Değerlendirme

3.6. D KEY ÇUBUK TEST 

Hayvanlar, 24 saatlik reperfüzyon sonrası 150 cm uzunluğunda 3 cm çapında silindirik dikey bir çubuğun üzerine yerleştirildi ve kaç sn çubuğun üzerinde dengede kalabildikleri kaydedildi (Resim 5) (Yun et al 2014).



Resim 5: Dikey Çubuk Testi

3.7. KAN VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Sıçanlara 100 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg xylazine i.p. verildikten sonra intrakardiyak kan örnekleri alınarak dekapite edildi. Ardından beyin dokuları kraniyektomi ile hızlıca çıkarıldı (Resim 6) ve prefrontal korteks alanları ayrıldı. Kırmızı kapaklı jelli kuru biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri 4°C 10 dakika 2500 RPM’de santrifüj edildikten sonra ependorf tüplere bölündü. Biyokimyasal parametreler için alınan beyin dokusu ve serum örnekleri laboratuvar analizleri yapılmaya kadar -20 °C’de saklandı. Histopatolojik incelemeler için alınan beyin dokusu prefrontal korteks alan örnekleri %10 neutral buffered formaldehide içine alındı.



Resim 6: Çıkarılan Beyin Dokusu

3.8. KAN VE DOKU ANALİZLERİ

3.9.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Dokular tartıldıktan sonra %0,9 NaCl çözeltisi ile yıkandı. Yıkama işleminin ardından santrifüj edildi (+4 °C, 3000 RPM, 10 dk). Sonra soğuk %1,15 KCl, 0,01 M sodyum potasyum fosfat (pH=7.4) çözeltisinde homojenize edildi. %10'luk doku homojenatları hazırlandı. Bu homojenatlar 10.000g' de 20 dk +4 °C'de santrifüj edildi. Süpernatant alınıp dokularda MDA, GSH ve KAT parametrelerinin belirlenmesinde kullanıldı. Lowry yöntemi kullanılarak örneklerle ait protein ölçümü yapıldı (Lowry, Rosebrough, Farr and Randall 1951).

3.9.2. Dokuda Malondialdehit (MDA) Ölçümü

Dokuda lipid peroksidasyonu ölçümü için %10'luk doku homojenatından 1 ml alındı. Üzerine 2 ml %20'lik trikloroasetik asit (TCA) ilave edilerek santrifüj edildi. Üst fazdan 1,5 ml alınıp üzerine 1,5 ml %0,67'lik tiyobarbitürik asit (TBA) solüsyonu

eklenerek karıştırıldı ve 15 dk. 100 °C'lik su banyosunda kaynatıldı. Oda sıcaklığında soğutulduktan sonra absorbanslar homojenat içermeyen bir ayıraç körüne karşı 532 nm' de spektrofotometrede okundu. Sonuçlar nmol MDA/g protein olarak verildi (Buege and Aust 1978).

3.9.3. Dokuda Glutasyon (GSH) Ölçümü

Glutasyon ölçümünde, 0,1 ml doku homojenatı örneği 0,9 ml soguk distile su ile muamele edildi, 1,5 ml presipitasyon (Presipite edici solüsyon:1,67 g MPA+0,2 g EDTA+30 g NaCl 100 ml suda çözöldü) çözeltisi eklendikten sonra 5 dakika beklendi. Santrifüj edilerek üst faz alındı, fosfat tamponu ve renk reaksiyonu için 5' 5' dinitrobenzoik asit (DTNB) eklenerek 412 nm' de absorbansı ölçöldü Sonuçlar $(\text{Absorbans} \times 310,4)/2$ formölü ile hesaplandı ve $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein olarak verildi olarak verildi (Beutler, Duron and Kelly 1963).

3.9.4. Dokuda Katalaz (KAT) Aktivitesi Ölçümü

Hidrojen peroksitin katalaz tarafından parçalanması temeline dayanan UV spektrofotometrik yöntem ile aktivite belirlendi. Bunun için 1 ml substrat + 50 μl doku hemolizat vortekslendikten sonra hidrojen peroksit eklendi. Katalaz-peroksit reaksiyonunda zamanın bir fonksiyonu olarak azalan absorbans degerleri 30 sn aralıklarla, 3 dk boyunca 240 nm' de ölçöldü. Absorbans farkı alınarak hesaplama yapıldı. Sonuçlar, $\text{Absorbans farkı} \times 2500 = \text{U}/\text{ml}$ formölü ile belirlendi. Dokuların protein içeriği Lowry yöntemi ile saptandı. Sonuçlar U/mg protein olarak hesaplandı (Beers and Sizer 1952).

3.9.5. Serum Malondialdehit (MDA) Ölçümü

Lipit peroksidasyonu malondialdehit (MDA) oluşumunun ölçülmesi ile saptandı. Bir hacim örnek, iki hacim %15 trikloroasetik asit (TCA), %0.375 tiobarbitürik asit (TBA) ve 0.25 N hidroklorik asitten oluşan stok çözelti karıştırılarak 30 dk. 100 °C’de su banyosunda tutuldu. Oda sıcaklığında soğutulduktan sonra santrifüj sonucu elde edilen berrak süpernatanın absorbansı, 532 nm’de spektrofotometrik olarak saptandı. MDA konsantrasyonu $1,56 \times 10^5$ molar absorpsiyon koefisiyenti ile hesaplandı. Sonuçlar nmol MDA/ml olarak verildi (Buege and Aust 1978).

3.9.6. Serum Glutasyon (GSH) Ölçümü

Glutasyon ölçümünde, 0,1 ml serum örneği 0,9 ml soğuk distile su ile muamele edildi, 1,5 ml presipitasyon (Presipite edici solüsyon: 1,67 g MPA+0,2 g EDTA+30 g NaCl 100 ml suda çözöldü) çözeltisi eklendikten sonra 5 dakika beklendi. Santrifüj edilerek üst faz alındı, fosfat tamponu ve renk reaksiyonu için 5’ 5’ dinitrobenzoik asit (DTNB) eklenerek 412 nm’ de absorbansı ölçöldü. Sonuçlar : $(\text{Absorbans} \times 310,4)/2 = \% \text{ mg}$ olarak verildi (Beutler et al 1963).

3.9.7. Serum Katalaz (KAT) Aktivitesi Ölçümü

Hidrojen peroksitin katalaz tarafından parçalanması temeline dayanan UV spektrofotometrik yöntem ile eritrosit katalaz aktivitesi belirlendi. Bunun için 50 µl serum öneğine 1 ml substrat (% 30 H₂O₂, fosfat tamponu) eklendi. Katalaz-peroksit reaksiyonunda, zamanın bir fonksiyonu olarak azalan absorbans değeri, 30 saniye aralıklarla, 3 dakika boyunca 240 nm’ de ölçöldü. Absorbans farkı alınarak hesaplama yapıldı. Sonuçlar, Absorbans farkı x 2500= U/ml formölü ile belirlendi (Beers and Sizer 1952).

3.9.8. Histopatolojik Değerlendirmeler

Alınan tüm doku örnekleri ışık mikroskopik incelemeler için %10'luk tamponlanmış nötral formaldehit solüsyonuna konuldu ve 72 saat tespit için bekletildi. Tamponlanmış nötral formaldehit ile tespit edilen doku örnekleri 72 saat sonunda trimleme işlemini takiben çeşme suyunda yıkandıktan sonra MTP yarı kapalı sistem otomatik doku takip cihazında aşağıdaki doku takip basamaklarından geçirildi (Tablo 3).

Tablo 3: Doku takip basamakları

Sıra	Yapılan İşlem	Süre (saat)
1	%70 alkol	1
2	%80 alkol	1
3	%96 alkol	1
4	%96 alkol	1
5	%96 alkol	1
6	Absolü alkol	1
7	Absolu alkol	1
8	Absolu alkol	1
9	Ksilen	1
10	Ksilen	1
11	Parafin I	2
12	Parafin II	2

Doku takip işlemleri tamamlanan doku örnekleri parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan her bir parafin bloktan değerlendirmeyi kolaylaştırmak amacıyla mikrotom yardımıyla 4 µm kalınlığında kesitler en az 3 kesit alındı ve Hematoksilen-eozin (H&E) ile boyama işlemine kadar kurumak üzere oda sıcaklığında bekletildi. Alınan preperatların H&E boyama basamakları tamamlandıktan sonra, lamaların üzeri entellan ile kapatılarak mikroskopta incelenecek duruma hazır hale getirildi.

Tablo 4: Hematoksilen eozin boyama

İşlem	Süre (dk ve/veya sn)
Deparafinizasyon	30 dk(Etüvde)
Ksilol-I	2 dk
Ksilol--II	2 dk
%100 Alkol-I	1 dk
%100 Alkol-II	1 dk
%96 Alkol-I	1 dk
%96 Alkol-II	1 dk
Akan Su	3 dk
Hematoksilen	3 dk
Akan Su	3 dk
Asit Alkol	2 dk 2 sn
Akan Su	3 dk
%80 Alkol	1.5 dk
Eozin	20 sn
%96 Alkol	2 dk
%96 Alkol	2 dk
%100 Alkol	2 dk
%100 Alkol	2 dk
Ksilol	2 dk
Ksilol	2 dk

Hazırlanan preparatlarda serebral iskemi sonrası prefrontal korteks bölgelerinde oluşan nöral hasar alanları incelendi. Hasar alan nöronların asidofilik karakterde nöronal sitoplazma ile dikkat çeken kırmızı nöronlar (karyoreksis) ile karakterize histmorfolojik olarak değerlendirildi. Kırmızı nöronların etrafında görülen oligodendrositlerle karakterize edilen sateliosis bölgeleri ve nöropilde görülen spongiosis (süngerimsi) ayrışma alanları hasarlı bölgeler olarak değerlendirildi. Hasarlanma değerlendirilirken ışık mikroskobunda 5 farklı alanda hasarlı nöronlar sayıldı ve 40X büyütme alanına düşen hasarlı nöronların sayısı belirlendi

(Mărgăritescu et al 2009, Vasconcelos, Guimaraes, Campelo, Vasconcelos and Guimaraes 2015, Pires et al 2011). Preparatlar (sony marka) kamera ataçmanlı ışık mikroskopi altında incelenerek fotoğraflar çekildi.

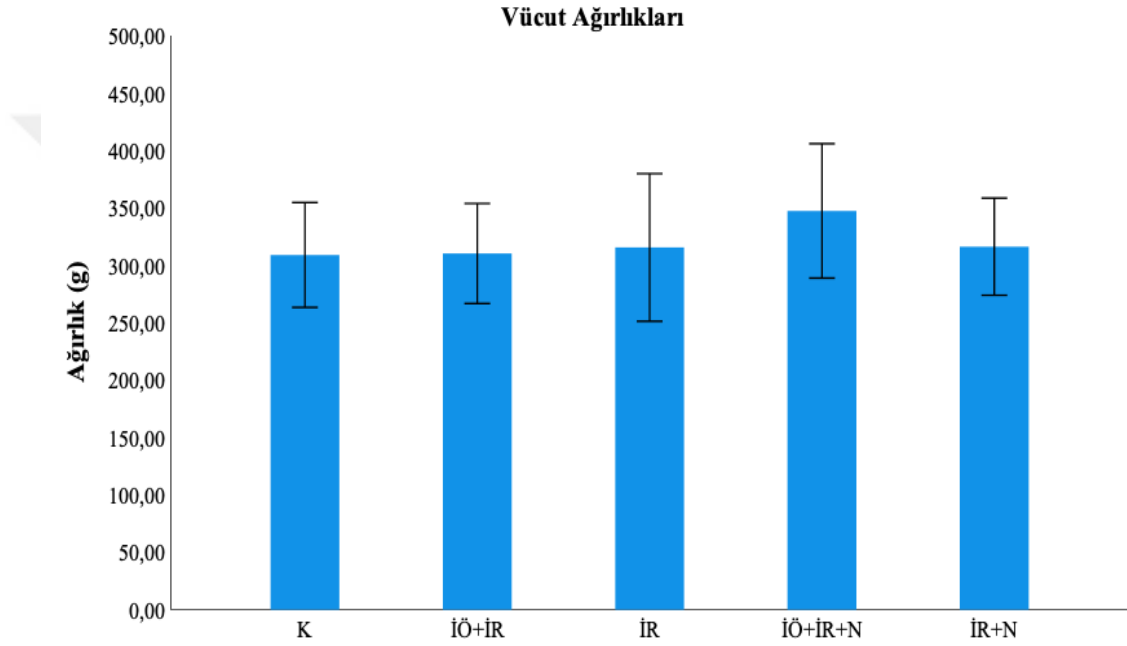
3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel analizler SPSS 24.0 paket programı (SPSS Inc. ve Lead Tech. Inc. Chicago. ABD) kullanılarak yapıldı. Verilerin normallik dağılımı için Kolmogorov Smirnov testi kullanıldı. Grup sayısı, normallik dağılımı ve homojenlik durumuna göre parametrik veya nonparametrik test seçimi yapıldı. Normal dağılıma uyan verilerin analizinde One-way ANOVA testi kullanıldı. ANOVA sonucu anlamlı olan verilerde gruplar arası ikili karşılaştırmalarda homojen dağılım gösteren verilere Tukey, homojen dağılım göstermeyen verilere Tamhane's T2 testi yapıldı. Normal dağılıma uymayan verilerin analizinde ise Kruskal Wallis testi uygulandı ve gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann Whitney-U testi kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma, minimum, maksimum ve medyan olarak verildi. $P < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. VÜCUT AĞIRLIKLARI

Deney gruplarına ait vücut ağırlıkları Şekil 1’de gösterilmiştir. Deney öncesi vücut ağırlıklarının karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda gruplar arası anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$)



Şekil 1: Deney gruplarının vücut ağırlıkları sonuçları. Sonuçlar Ort±SS olarak verildi. $p>0,05$

4.2. NÖROLOJİK DEĞERLENDİRME VE DİKEY ÇUBUK TESTİ SONUÇLARI

Çalışma gruplarına ait nörolojik değerlendirme skorları ve dikey çubuk üzerinde kalma sürelerine ait değerlendirme sonuçları Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5: Çalışma gruplarında nörolojik skora ve dikey çubuk testi sonuçları.

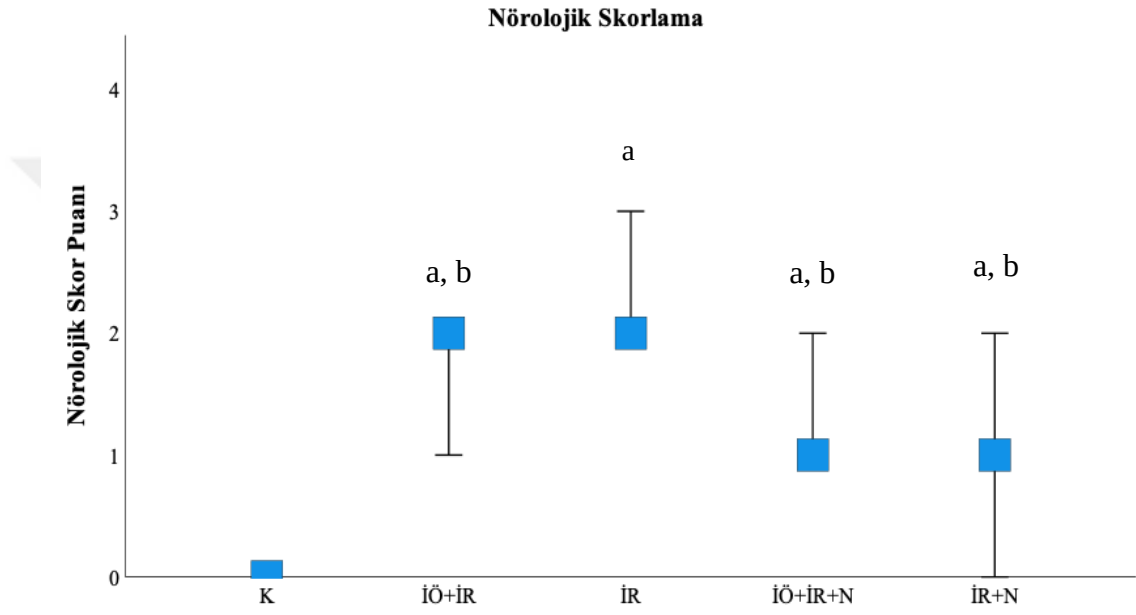
Parametre	Gruplar	Minimum	Maksimum	Medyan	Ort±SS
	Her grup(n=7)	Değer	Değer		
Nörolojik Skor	K	0	0	0	0
	İÖ+İR	1	2	2 ^{a,b}	1,57±0,53
	İR	2	3	2 ^a	2,42±0,53
	İÖ+İR+N	1	2	1 ^{a,b}	1,14±0,37
	İR+N	0	2	1 ^{a,b}	1,14±0,69
Dikey Çubuk Testi	K	15	80	16	26,71±23,77
	İÖ+İR	2	12	3 ^a	4,42±3,50
	İR	1	4	3 ^a	2,57±0,97
	İÖ+İR+N	4	18	8 ^{a,b,c}	9,28±4,64
	İR+N	7	20	8 ^{a,b,c}	10,14±4,48

K: Kontrol, İÖ+İR: İskemik önkoşullanma ve iskemi/reperfüzyon grubu, İR: Sadece iskemi /reperfüzyon grubu, İÖ+İR+N: İskemik önkoşullanma, iskemi/reperfüzyon ve nikotinamid grubu, İR+N: İskemi/reperfüzyon ve Nikotinamid grubu. Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05).

4.2.1. Nörolojik Değerlendirme Sonuçları

Çalışma gruplarına ait nörolojik değerlendirme sonuçları Tablo 5 ve Şekil 2’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan istatistiksel karşılaştırma sonucunda nörolojik skor medyan değerlerinin kontrol grubuna kıyasla tüm deney gruplarında yüksek olduğu bulundu (p=0,000). Yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda İÖ+İR, İR, İÖ+İR+N ve İR+N gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış

belirlendi (İÖ+İR ve İR için, $p=0,001$; İÖ+İR+N için $p=0,000$; İR+N için $p=0,003$). İR grubuna göre İÖ+İR, İR+N, İÖ+İR+N gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu belirlenirken (sırasıyla $p=0,018$, $p=0,006$, $p=0,002$), İÖ+İR, İÖ+İR+N ve İR+N grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

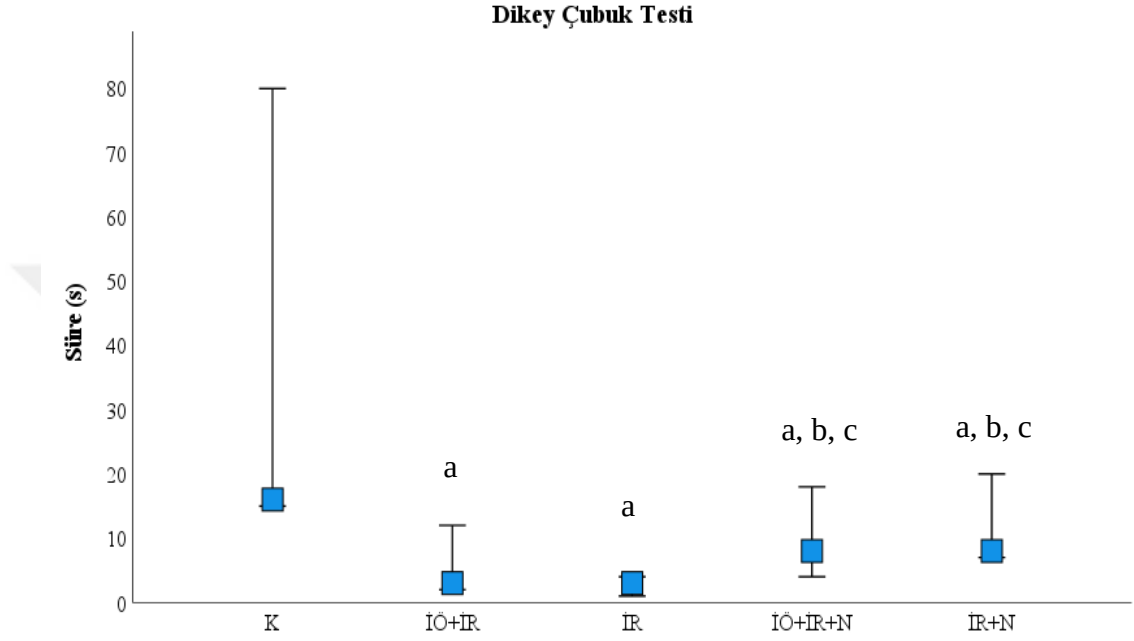


Şekil 2: Gruplara göre sıçanların nörolojik skor sonuçları. Sonuçlar minimum, maksimum ve medyan olarak verildi. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim($p<0,05$), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim($p<0,05$).

4.2.2. Dikey Çubuk Testi Sonuçları

Çalışma gruplarına ait dikey çubuk testi sonuçları Tablo 5 ve Şekil 3’de gösterilmiştir. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırma sonucunda dikey çubukta kalma süresinin İR gruplarının tamamında kontrol grubuna kıyasla azalmış olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (İÖ+İR ve İR için $p=0,002$; $p=0,009$, $p=0,010$). İÖ+İR grubunda çubuk üzerinde kalma süresi İR grubuna kıyasla daha uzun

sürelî olsa da bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi($p>0,05$). İÖ+İR ve İR gruplarına göre İÖ+İR+N ve İR+N gruplarında çubuk üzerinde kalma süresinin istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği belirlendi (İÖ+İR için sırasıyla $p=0,025$, $p=0,017$; İR için her iki grupta $p=0,002$). İÖ+İR+N grubu ve İR+N grupları arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$).



Şekil 3: Gruplara göre sıçanların dikey çubuk testi sonuçları. Sonuçlar minimum, maksimum ve medyan olarak verildi. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$).

4.3.BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI

4.3.1. Beyin Dokusu Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Çalışma gruplarına ait beyin dokusu MDA, GSH düzeyleri ve KAT aktivitesi Ort±SS değerleri Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6: Beyin dokusunda MDA, GSH düzeyleri ve KAT aktivitesi sonuçları.

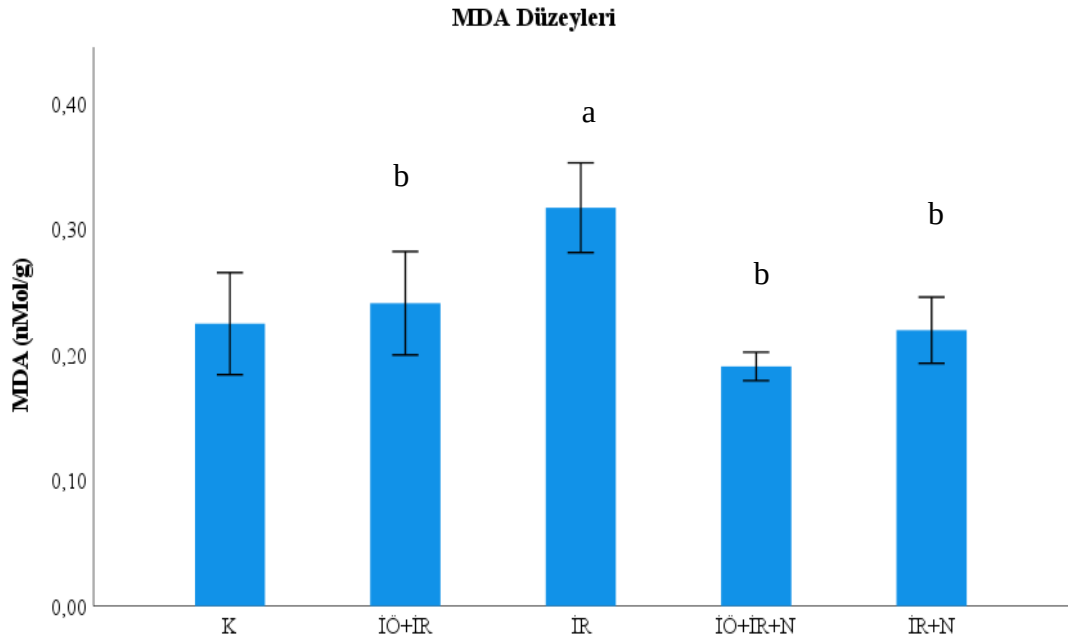
Gruplar	MDA(nMol/g)	GSH(μ Mol/g)	KAT(U/mg)
Her grup(n=7)	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS
K	0,22 $\pm$ 0,05	0,97 $\pm$ 0,19	5,34 $\pm$ 1,52
İÖ+İR	0,24 $\pm$ 0,05 ^b	0,83 $\pm$ 0,18	3,93 $\pm$ 0,91 ^c
İR	0,31 $\pm$ 0,04 ^a	0,73 $\pm$ 0,05 ^a	3,04 $\pm$ 0,86 ^a
İÖ+İR+N	0,19 $\pm$ 0,01 ^b	0,96 $\pm$ 0,13 ^b	7,85 $\pm$ 0,93 ^b
İR+N	0,21 $\pm$ 0,03 ^b	0,87 $\pm$ 0,12	4,67 $\pm$ 1,11 ^c
P değeri	0,000	0,026	0,000
(One-Way ANOVA)			

MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, KAT: Katalaz. K: Kontrol, İÖ+İR: İskemik önkoşullanma ve iskemi/reperfüzyon grubu, İR: İskemi /reperfüzyon grubu, İÖ+İR+N: İskemik önkoşullanma, iskemi/reperfüzyon ve nikotinamid grubu, İR+N: İskemi/reperfüzyon ve nikotinamid grubu. Ort: Ortalama, SS: Standart sapma. ^ap: Kontrol grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05).

4.3.1.1. Beyin dokusu MDA Düzeyleri

Çalışma gruplarına ait beyin dokusu MDA düzeyleri Tablo 6 ve Şekil 4’de gösterilmiştir. Çalışmamız sonucunda kontrol grubunda 0,22 $\pm$ 0,05, İÖ+İR grubunda 0,24 $\pm$ 0,05 İR grubunda 0,31 $\pm$ 0,04, İÖ+İR+N grubunda 0,19 $\pm$ 0,01 İR+N grubunda 0,21 $\pm$ 0,03 olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede beyin dokusu MDA düzeyleri İR grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdi (p=0,04). İR grubu ile karşılaştırıldığında İÖ+İR, İÖ+İR+N ve İR+N grupları MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdi (İÖ+İR için p=0,022, İÖ+İR+N için p=0,000, İR+N için p=0,002).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında İÖ+İR, İÖ+İR+N, İR+N grupları arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05). Ayrıca İÖ+İR grubu ile karşılaştırıldığında İÖ+İR+N, İR+N grupları arasında, İÖ+İR+N grubu ile karşılaştırıldığında İR+N grubuyla istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi (p>0,05).



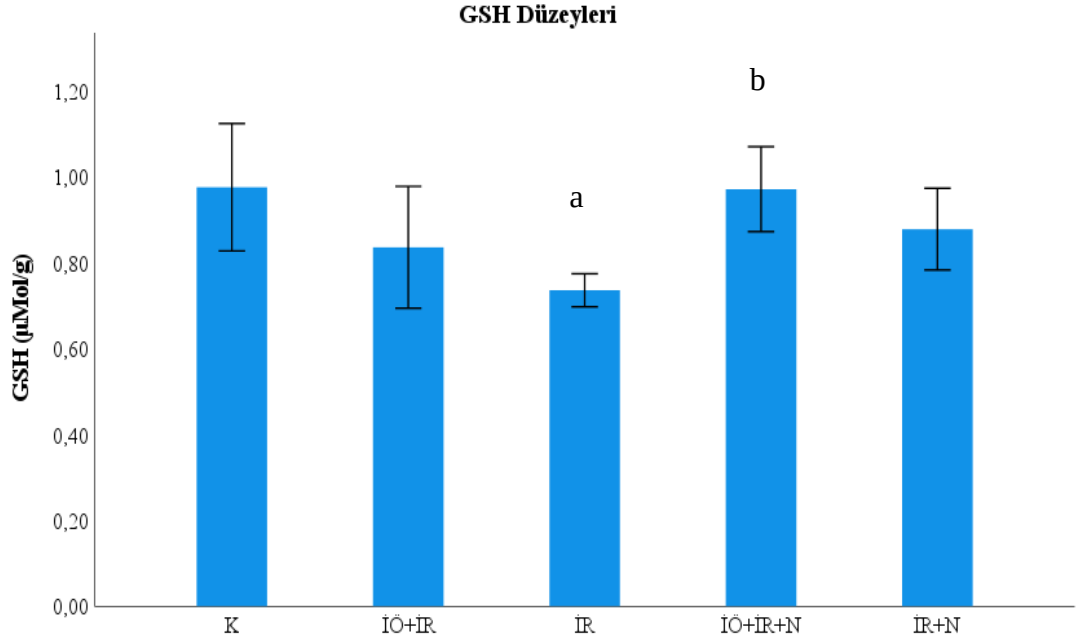
Şekil 4: Gruplara göre sıçanların beyin dokusu MDA sonuçları. Sonuçlar Ort±SS olarak verildi. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim(p<0,05), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim(p<0,05).

4.3.1.2. Beyin Dokusu GSH Düzeyleri

Çalışma gruplarına ait beyin dokusu GSH düzeyleri Tablo 6 ve Şekil 5’de gösterilmiştir. Gruplara ait beyin dokusu GSH düzeyleri kontrol grubunda $0,97 \pm 0,19$ İÖ+İR grubunda $0,83 \pm 0,18$, İR grubunda $0,73 \pm 0,05$, İÖ+İR+N grubunda $0,96 \pm 0,13$ İR+N grubunda $0,87 \pm 0,12$ olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarında beyin dokusu GSH düzeylerinde gruplar arası anlamlı farklılıklar olduğu belirlendi ($p=0,026$). Gruplar arası karşılaştırmalarda İR grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdi ($p=0,037$). İÖ+İR+N grubunda İR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdi ($p=0,042$). İÖ+İR ve İR+N gruplarında İR grubuna göre artış gösterse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Kontrol grubu ile İÖ+İR, İÖ+İR+N, İR+N grupları arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). İÖ+İR grubu ile

karşılaştırıldığında İÖ+İR+N İR+N grupları, İÖ+İR+N grubu ile İR+N grubu karşılaştırıldığında gruplar arası anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).



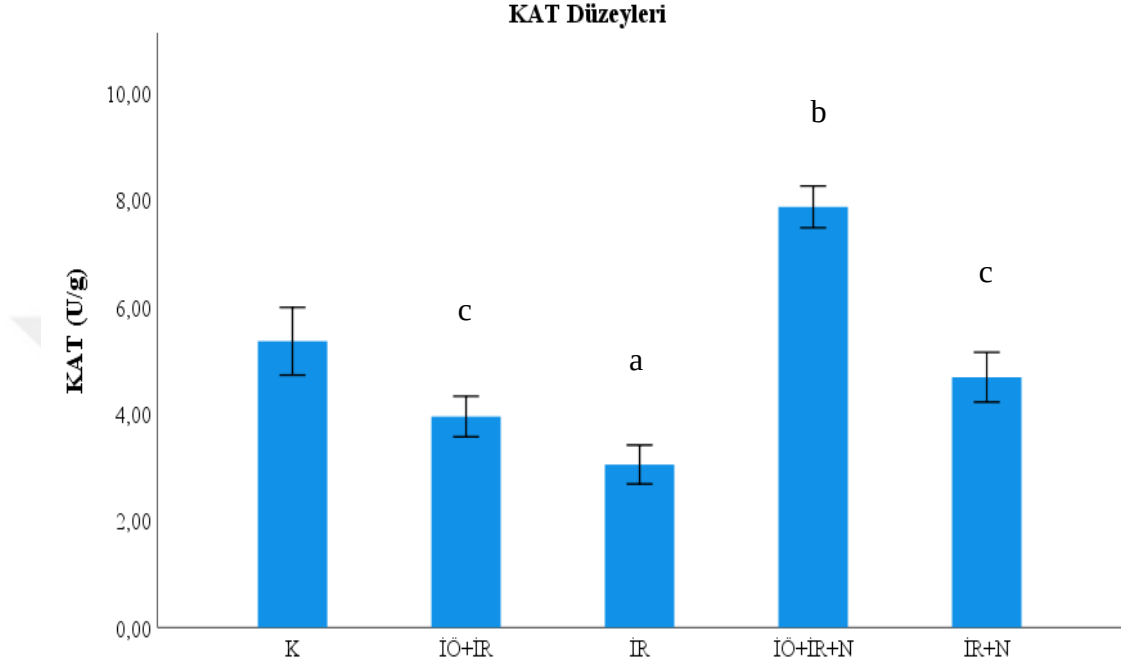
Şekil 5: Gruplara göre sıçanların beyin dokusu GSH sonuçları. Sonuçlar Ort±SS olarak verildi. ^ap: Kontrol grubuna göre anlamlı değişim($p<0,05$), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim($p<0,05$).

4.3.1.3. Beyin Dokusu KAT Aktivitesi

Çalışma gruplarına ait beyin dokusu KAT aktivitesi Tablo 6 ve Şekil 6'da gösterilmiştir. Çalışma grupları beyin dokusu KAT aktiviteleri kontrol grubunda $5,34\pm1,52$ İÖ+İR grubunda $3,93\pm0,91$, İR grubunda $3,04\pm0,86$, İÖ+İR+N grubunda $7,85\pm0,93$, İR+N grubunda $4,67\pm1$ olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında beyin dokusu KAT aktivitesinde anlamlı farklılık olduğu saptandı ($p=0,000$).

Gruplar arası karşılaştırmalarda, İR grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma bulundu ($p=0,004$). Kontrol grubu ile İÖ+İR, İR+N grupları ile karşılaştırıldığında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). İR grubuna ile karşılaştırıldığında İÖ+İR+N gruplarında istatistiksel olarak

anlamli artişın olduğu (her ikisi için $p=0,000$), İÖ+İR ve İR+N gruplarındaki artişın istatistiksel olarak anlamli olmadığı saptandı ($p>0,05$). İÖ+İR+N, İÖ+İR ve İR+N grupları arasında istatistiksel açıdan anlamli farklılık olduğu bulundu (her ikisi için $p=0,000$).



Şekil 6: Gruplara göre sıçanların beyin dokusu KAT aktivitesi sonuçları. Sonuçlar Ort±SS olarak verildi. ^ap: kontrol grubuna göre anlamli değişim ($p<0,05$), ^bp: İR grubuna göre anlamli değişim ($p<0,05$), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamli değişim ($p<0,05$).

4.3.2.Serum Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Çalışma gruplarına ait serum MDA, GSH düzeyleri ve KAT aktivitesi Ort±SS değerleri Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7: Serum MDA, GSH düzeyleri ve KAT aktivitesi sonuçları.

Gruplar	MDA(nMol/L)	GSH(μ Mol/L)	KAT(U/ml)
Her grup(n=7)	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS
K	7,32 $\pm$ 0,69	52,81 $\pm$ 11,61	331,31 $\pm$ 48,50
İÖ+İR	11,34 $\pm$ 1,38 ^{a,c}	44,13 $\pm$ 5,60	322,54 $\pm$ 56,22
İR	15,10 $\pm$ 2,62 ^a	42,59 $\pm$ 6,00	269,28 $\pm$ 46,54
İÖ+İR+N	8,53 $\pm$ 0,67 ^b	51,01 $\pm$ 4,71	381,18 $\pm$ 57,12 ^b
İR+N	10,07 $\pm$ 2,26 ^b	48,80 $\pm$ 5,20	335,22 $\pm$ 65,69
P değeri	0,000	0,051	0,015
(One-Way ANOVA)			

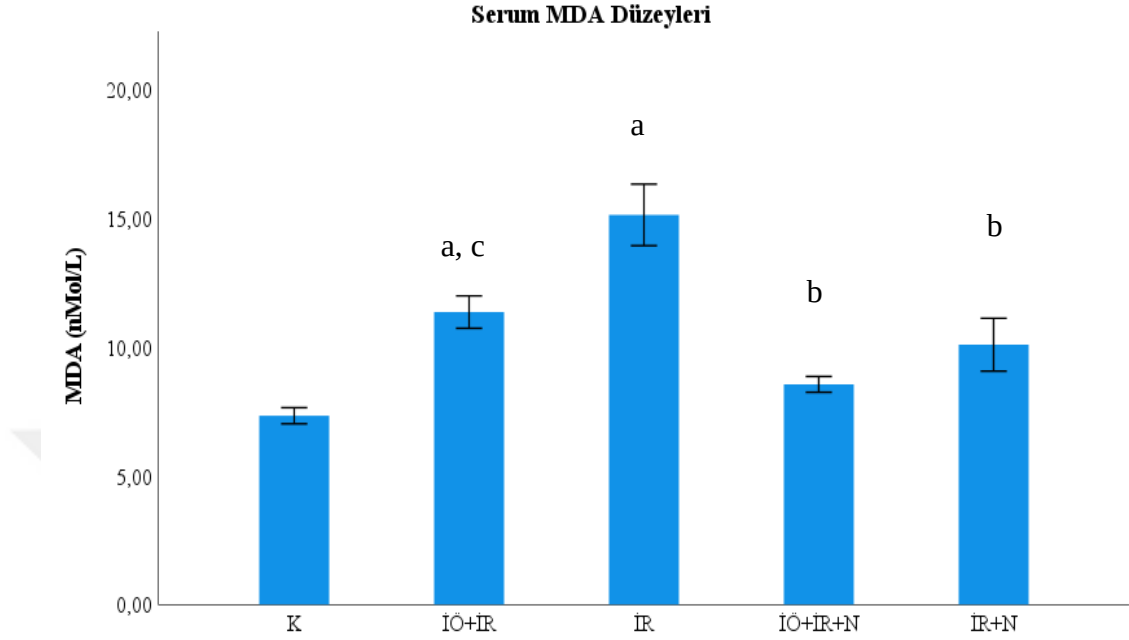
MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, KAT: Katalaz. K: Kontrol, İÖ+İR: İskemik önkoşullanma ve iskemi/reperfüzyon grubu, İR: İskemi /reperfüzyon grubu, İÖ+İR+N: İskemik önkoşullanma, iskemi/reperfüzyon ve nikotinamid grubu, İR+N: İskemi/reperfüzyon ve Nikotinamid grubu. Ort: Ortalama, SS: Sdandart Sapma. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05).

4.3.2.1. Serum MDA Düzeyleri

Çalışma gruplarına ait serum MDA düzeyleri Tablo 7 ve Şekil 7’de gösterilmiştir. Çalışma grupları serum MDA düzeyleri, kontrol grubunda 7,32 $\pm$ 0,69 İÖ+İR grubunda 11,34 $\pm$ 138, İR grubunda 15,10 $\pm$ 2,62, İÖ+İR+N grubunda 8,53 $\pm$ 0,67, İR+N grubunda 10,07 $\pm$ 2,26 olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arası serum MDA düzeyleri anlamlı farklılık gösterdi (p=0,000).

Yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda serum MDA düzeyleri, kontrol grubuna göre İR ve İÖ+İR gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artış gösterirken (sırasıyla p=0,001, p=0,000), İÖ+İR+N ve İR+N gruplarında anlamlılık gözlenmedi (p>0,05). İR grubuna göre İÖ+İR+N ve İR+N gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu saptandı (İÖ+İR+N için p=0,004, İR+N için p=0,024). İÖ+İR grubunda İR grubuna göre azalma gösterse de bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05). İÖ+ İR grubu ile İÖ+İR+N grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı

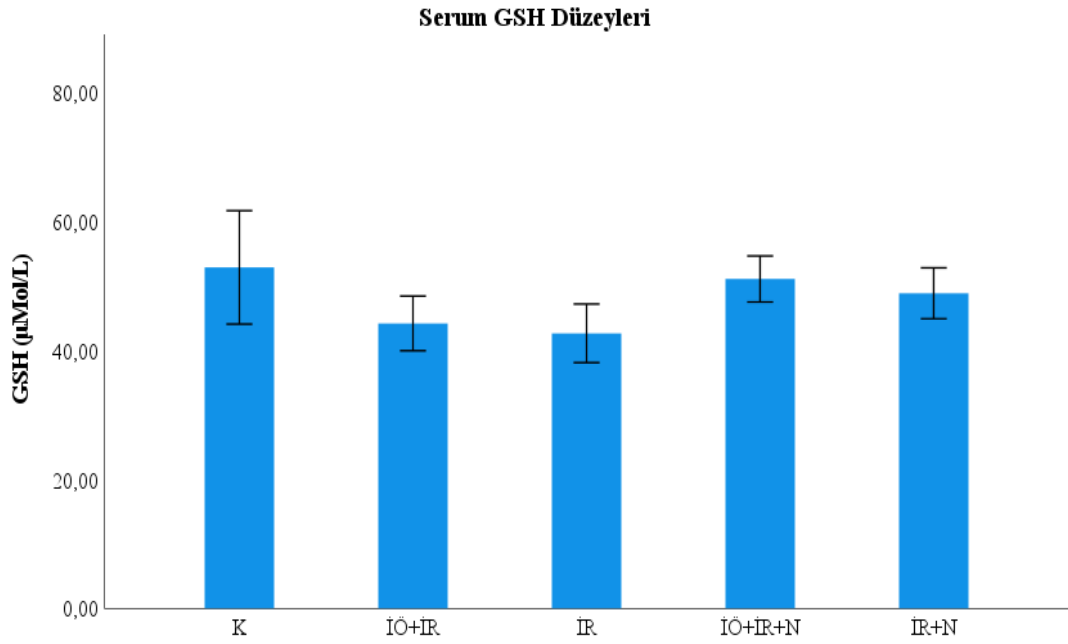
azalma gözlemlendi ($p=0,010$). İR+N grubu ile karşılaştırıldığında İÖ+İR+N grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 7: Gruplara göre sıçanların serum MDA sonuçları. Sonuçlar Ort±SS olarak verildi. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$).

4.3.2.2. Serum GSH Düzeyleri

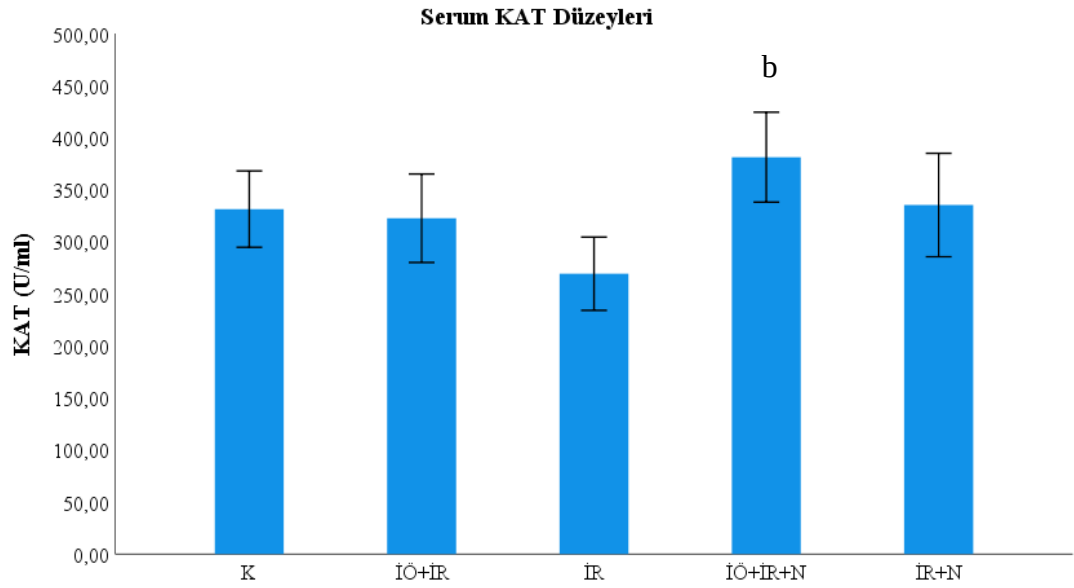
Çalışma gruplarına ait serum GSH düzeyleri Tablo 7 ve Şekil 8’de gösterilmiştir. Çalışma grupları serum GSH düzeyleri kontrol grubunda $52,81\pm11,61$, İÖ+İR grubunda $44,13\pm0,56$, İR grubunda $42,59\pm6,00$, İÖ+İR+N grubunda $51,01\pm4,71$, İR+N grubunda $48,80\pm5,20$ olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel analizlerde GSH seviyesi kontrol grubu ile kıyaslandığında en düşük İR grubunda iken, İÖ+İR+N grubunda ise kontrol grubuna yakın bir artış olduğu belirlendi. Ancak gruplar arası karşılaştırmalarda serum GSH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($p>0,05$).



Şekil 8: Gruplara göre sıçanların serum GSH sonuçları. Sonuçlar Ort±SS olarak verildi. $p>0,05$.

4.3.2.3. Serum KAT Aktivitesi

Çalışma gruplarına ait serum KAT düzeyleri Tablo 7 ve Şekil 9’da gösterilmiştir. Çalışma grupları serum KAT aktiviteleri, kontrol grubunda $331,31\pm48,50$ İÖ+İR grubunda $322,54\pm56,22$, İR grubunda $269,28\pm46,54$, İÖ+İR+N grubunda $381,18\pm57,12$, İR+N grubunda $335,22\pm65,69$ olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında serum KAT aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ($p=0,015$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında İR, İÖ+İR, İÖ+İR+N, İR+N gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma belirlendi($p>0,05$). İR grubu ile karşılaştırıldığında İÖ+İR+N grubunda anlamlı artış olduğu belirlenirken ($p=0,006$), İÖ+ İR, İÖ+ İR+N, İR+N grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).



Şekil 9: Gruplara göre sıçanların serum KAT aktivitesi sonuçları. Sonuçlar Ort±SS olarak verildi. ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$).

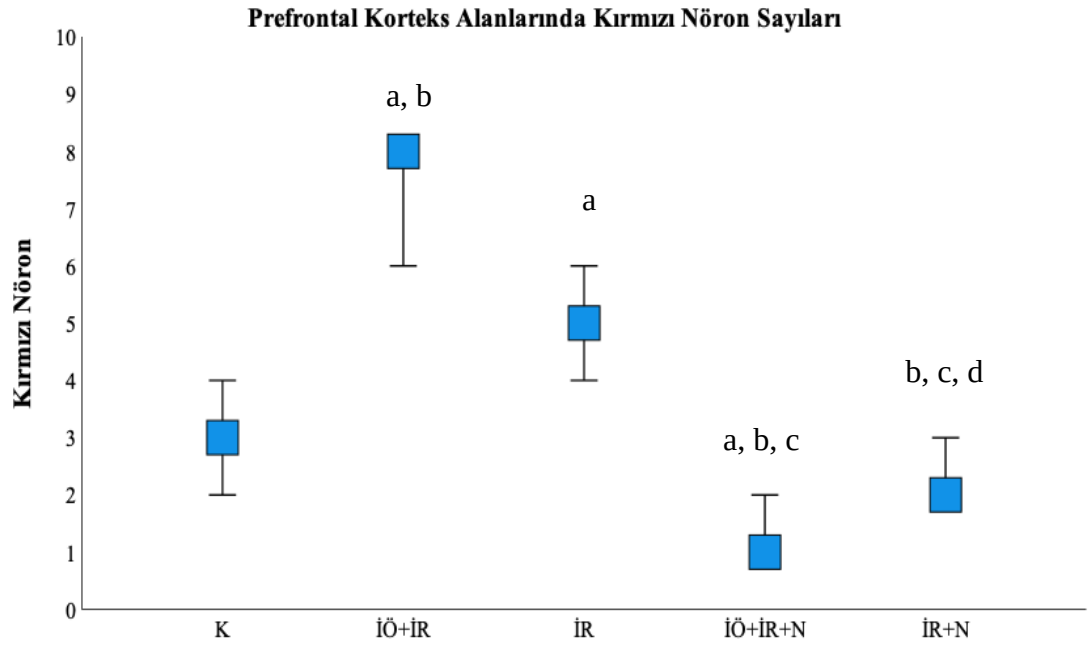
4.4. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Çalışma gruplarına ait prefrontal korteks alanlarının histopatolojik değerlendirme sonuçları Tablo 8 ve Şekil 10, 11, 12, Resim 7, 8, 9, 10 11’de gösterilmiştir. SİR sonrası prefrontal korteks alanlarının histopatolojik olarak değerlendirilmesinde İR ve İÖ+İR gruplarında nöral hasarın göstergesi olan kırmızı nöron sayısı, sateliosis ve spongiosis oranları diğer gruplara göre daha yüksekti. Gruplar arası karşılaştırmalarda; İR grubunda kırmızı nöron, sateliosis ve spongiosis oranlarındaki artış kontrol, İÖ+İR+N, İR+N gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (hepsi için $p<0,001$). İÖ+İR+N grubunda İR+N grubuna kıyasla kırmızı nöron sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunurken ($p=0,002$), sateliosis ve spongiosis düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

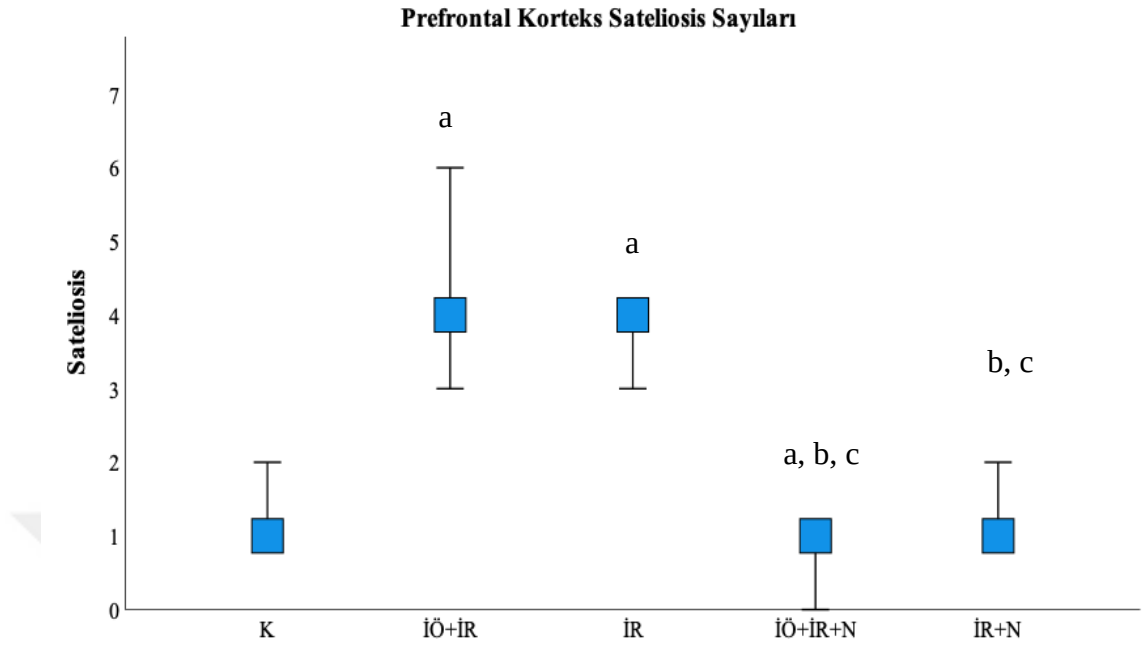
Tablo 8: Gruplara göre beyin dokusu prefrontal korteks alanlarının kırmızı nöron, sateliosis ve spongiosis değerlendirme sonuçları.

Parametre	Gruplar	Minimum	Maksimum	Medyan	Ort±SS
	Her grup(n=7)	Değer	Değer		
Kırmızı Nöron	K	2	4	3	1,14±0,37
	İÖ+İR	6	8	8 ^{a, b}	7,42±0,78
	İR	4	6	5 ^a	5,28±0,75
	İÖ+İR+N	1	2	1 ^{a, b, c}	2,71±0,75
	İR+N	2	3	2 ^{b, c, d}	2,42±0,53
Sateliosis	K	1	2	1	1,42±0,53
	İÖ+İR	3	6	4 ^a	4,42±0,97
	İR	3	4	4 ^a	3,71±0,48
	İÖ+İR+N	0	1	1 ^{a, b, c}	0,71±0,48
	İR+N	1	2	1 ^{b, c}	1,14±0,37
Spongiosis	K	1	3	1	1,71±0,75
	İÖ+İR	4	6	5 ^a	4,71±0,75
	İR	3	4	4 ^{a, c}	3,71±0,48
	İÖ+İR+N	0	1	1 ^{a, b, c}	0,71±0,48
	İR+N	1	2	1 ^{b, c}	1,14±0,37

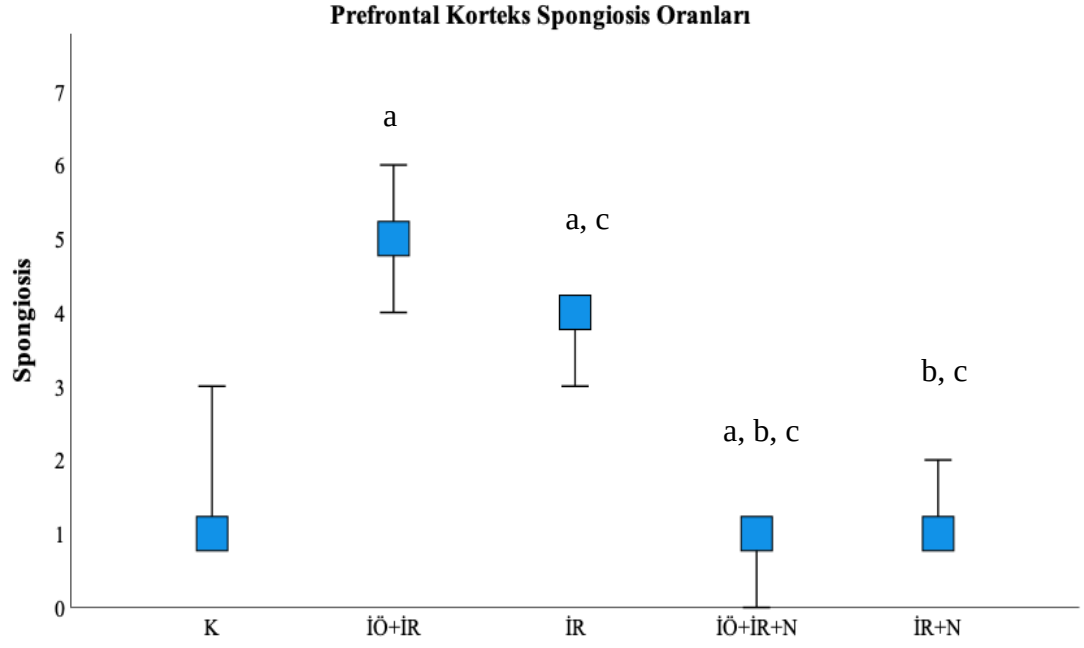
K: Kontrol, İÖ+İR: İskemik önkoşullanma ve iskemi/reperfüzyon grubu, İR: Sadece iskemi /reperfüzyon grubu, İÖ+İR+N: İskemik önkoşullanma, iskemi/reperfüzyon ve nikotinamid grubu, İR+N: İskemi/reperfüzyon ve nikotinamid grubu. Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05), ^dp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim (p<0,05).



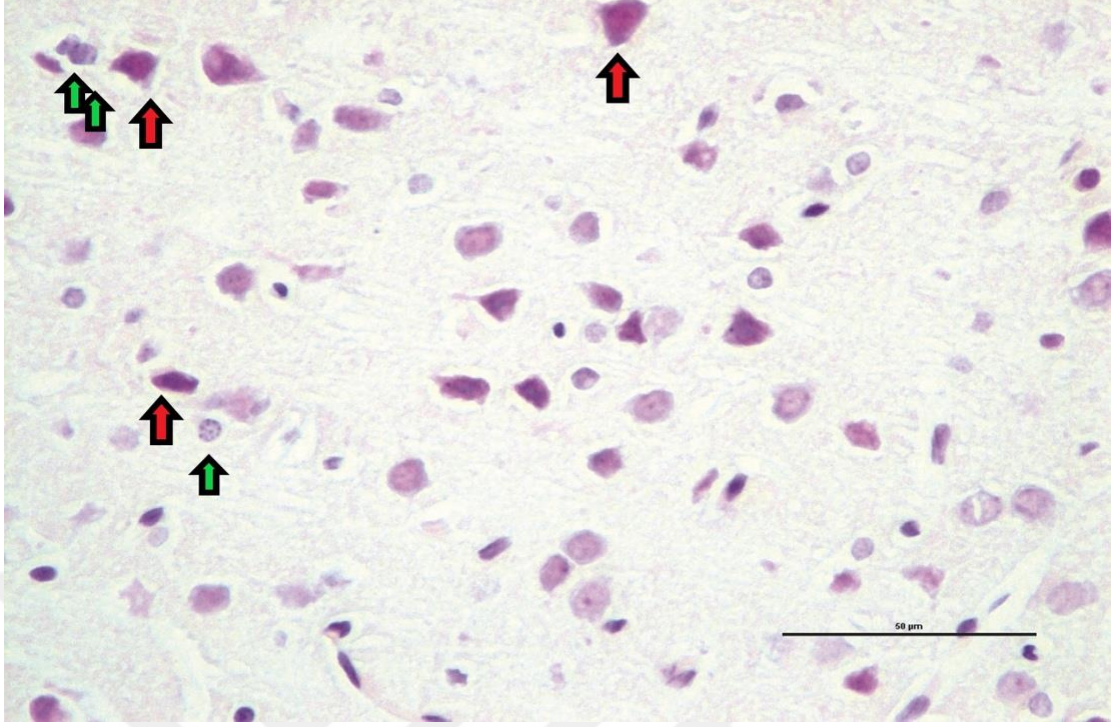
Şekil 10: Prefrontal korteks alanlarında kırmızı nöron sayılarının gruplara göre dağılımı. Sonuçlar minimum, maksimum, medyan olarak verildi. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim ($p < 0,05$), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim ($p < 0,05$), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim ($p < 0,05$), ^dp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim ($p < 0,05$).



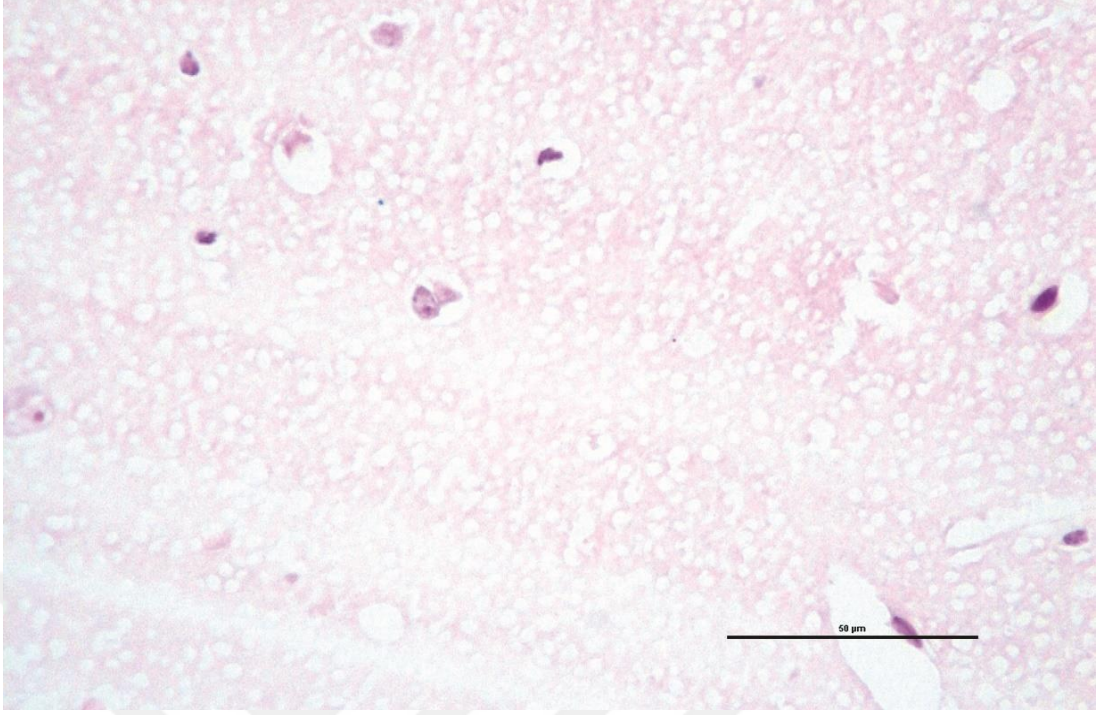
Şekil 11: Prefrontal korteks alanlarında sateliosis sonuçlarının gruplara göre dağılımı. Sonuçlar minimum, maksimum, medyan olarak verildi. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$)



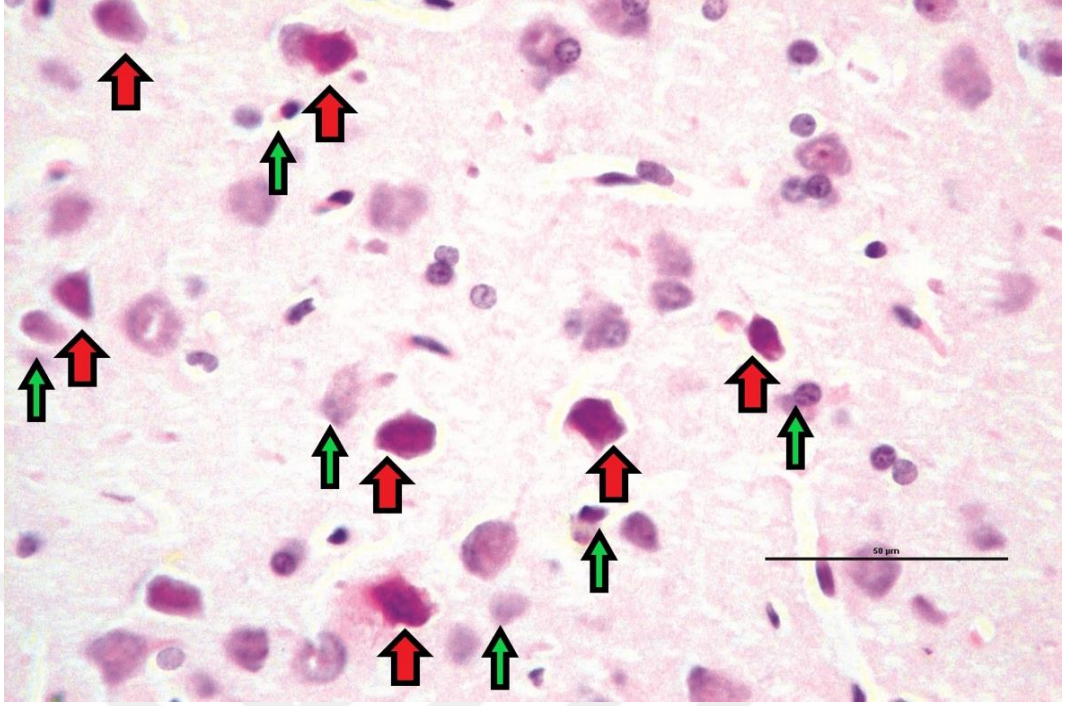
Şekil 12: Prefrontal korteks alanlarında spongiosis oranlarının gruplara göre dağılımı. Sonuçlar minimum, maksimum, medyan olarak verildi. ^ap: kontrol grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$), ^bp: İR grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$), ^cp: İÖ+İR+N grubuna göre anlamlı değişim ($p<0,05$).



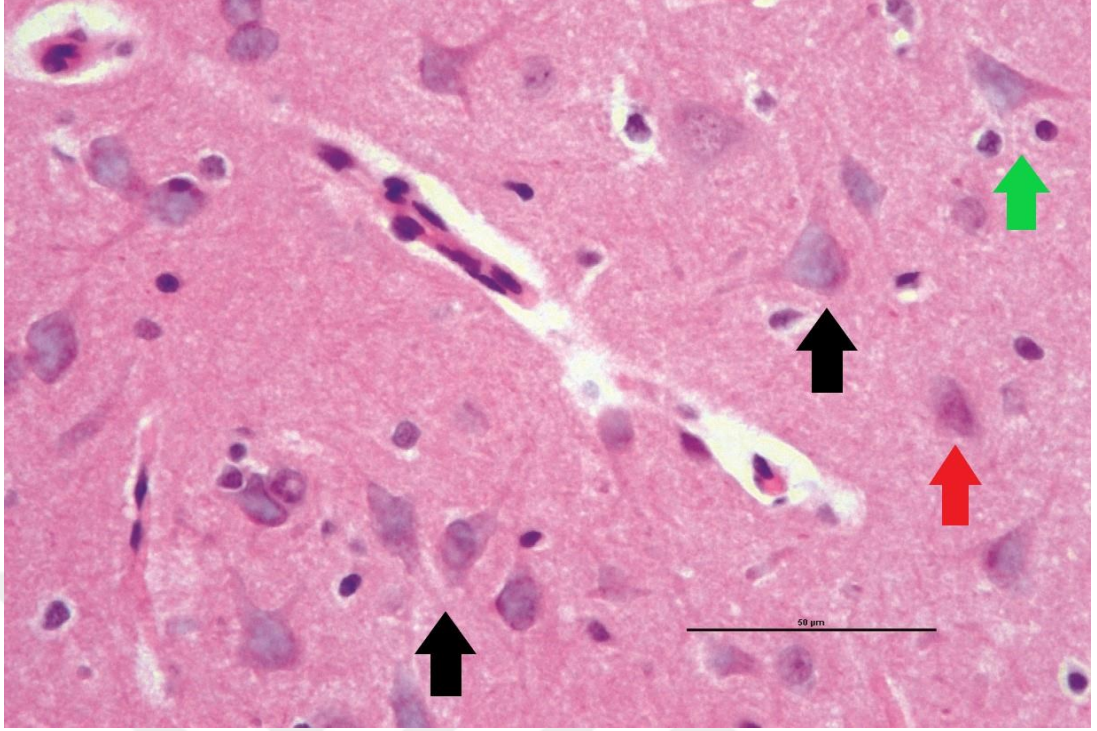
Resim 7: Kontrol grubu prefrontal korteks alanlarına ait ışık mikroskopi görüntüsü. H&E X 40, 50 scala bar. Hasar gören nöronlar “kırmızı nöronlar”(kırmızı ok), hasar gören nöronların etrafında toplanan nöroglial hücreler “sateliosis”(yeşil ok).



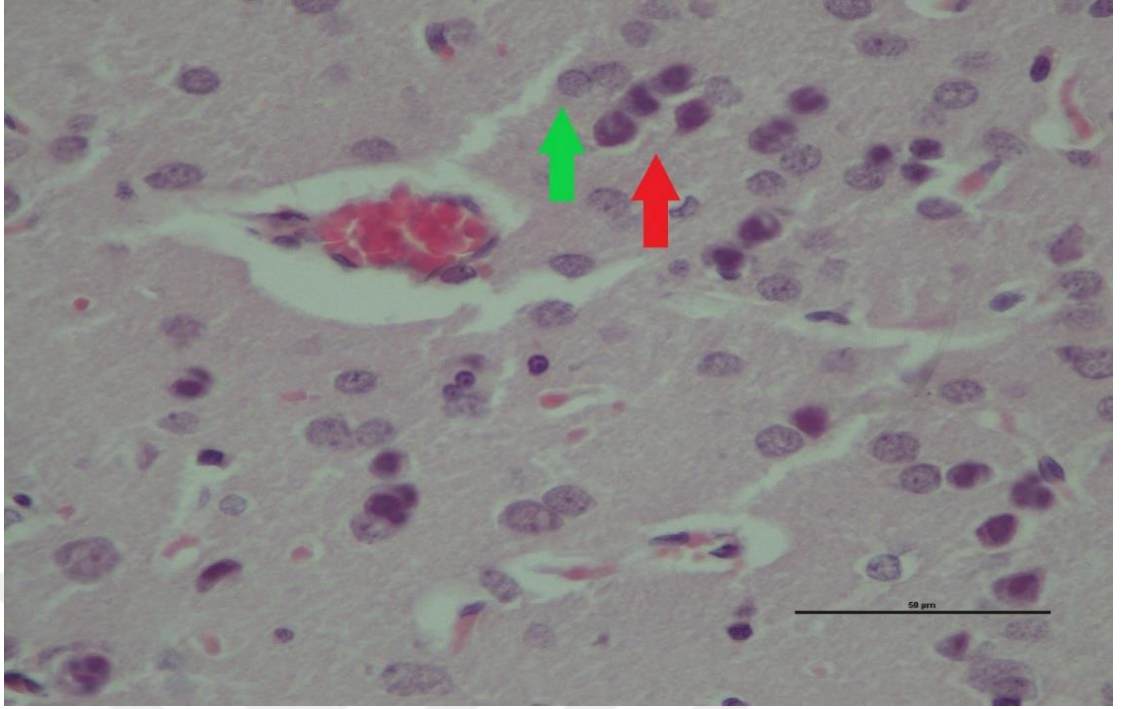
Resim 8: İskemi sonrası prefrontal korteks alanlarında oluşan spongiosis yapılanma (nöropilde süngerimsi ayrışma) ışık mikroskopi görüntüsü. H&E X 400, 50 scalabar.



Resim 9: İskemi sonrası prefrontal korteks alanlarına ait ışık mikroskopi görüntüsü. Hasar gören nöronlar “kırmızı nöronlar”(kırmızı ok), hasar gören nöronların etrafında toplanan nöroglial hücreler “sateliosis alanları”(yeşil ok). H&E X 40, 50 scala bar.



Resim 10: İÖ+İR+N grubu prefrontal korteks alanlarına ait ışık mikroskopi görüntüsü. Hasar görmeyen nöronlar (siyah ok), hasar gören nöronlar “kırmızı nöronlar” (kırmızı ok), hasar gören nöronların etrafında toplanan nöroglial hücreler “sateliosis alanları” (yeşil ok). H&E X 40, 50 scala bar.



Resim 11: İÖ+İR grubu prefrontal korteks alanlarına ait ışık mikroskopi görüntüsü. Hasar gören nöronlar “kırmızı nöronlar”(kırmızı ok), hasar gören nöronların etrafında toplanan nöroglial hücreler “sateliosis alanları”(yeşil ok). H&E X 40, 50 scala bar.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İskemi ve ardından reperfüzyon lokal hasara neden olur ve bu hasarın şiddeti iskeminin süresi ve etkilenen organın duyarlılığına bağlıdır (Kovacs et al 2010). SİR hasarı oldukça kompleks bir olaydır. İskemi sonrası glukoz ve oksijen substratlarının eksikliği iskemik hasarda çok önemlidir ve bu olay sonucunda nöronal ölüm gerçekleşir. SİR hasarında serbest radikallerin aşırı üretilmesi rol oynar (Mohamed, Ahmed, Elmorsy and Nofal 2019). Zaten beyin de oksijen tüketim oranının yüksekliği, endojen antioksidan sistem kapasitesinin yetersizliği, yoğun ROT üretilmesi, çok fazla doymamış yağ asidinin içermesi nedeniyle oksidatif stres hasarına karşı oldukça savunmasızdır (Bora, Shri and Monga 2011).

Vitamin B3'ün amid türevi olan nikotinamid, ROT seviyelerini azaltabilir. Lipit peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu inhibe edebilir. Bundan dolayı antioksidan etki gösterebildiği düşünülür (Yuan et al 2020). Bu nedenle çalışmamızda bilateral KKA oklüzyonu aracılığıyla oluşturulan SİR hasarına karşı sıçan beyin dokusunda iskemik önkoşullanma ve nikotinamidin olası antioksidan koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışma sonuçlarımız nikotinamidin ve iskemik önkoşullanmanın serebral iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu olabileceğini literatürle uyumlu şekilde gösterdi. Bu doğrultuda lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeylerini azaltarak oksidatif stresi hafiflettiği, antioksidan savunma sisteminin etkisini artırdığı, beyin ödemi azaltabileceği ve dolayısıyla nörolojik olarak iyileşme sağlayabileceği görüldü. Aynı ayrı uygulanmasından ziyade iskemik önkoşullanmayla beraber uygulamanın daha etkili olduğu görüldü.

Çalışma sonuçlarımız tedavisiz İR ve İÖ+İR gruplarında MDA seviyelerinin hem beyin dokusunda hem de serumda istatistiksel olarak anlamlı artış olduğunu göstermiştir. Çalışma sonuçlarımızla çok sayıda araştırma sonuçları ile paralellik göstermektedir. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, bilateral KKA oklüzyonu ile serebral iskemi oluşturulmuş ve daha sonra reperfüzyona izin verilmiştir. Reperfüzyon periyodunun ardından beyin dokularında MDA miktarı ölçülmüş ve SİR hasarı oluşturulan grupta sham grubuna göre MDA miktarlarının istatistiksel olarak anlamlı

arttığı bildirilmiştir (de Sales et al 2019). Bir başka bir çalışmada, OSA'nın oklüzyonu ile SİR oluşturulmuş ve çalışma sonucunda beyin dokusunda MDA miktarlarının, İR grubunda sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir (Li et al 2019b). Yine sıçanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada, serumda ölçülen MDA seviyelerinin SİR oluşturulan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir (Chen and Damian 2014).

Antioksidanlar, ROT'ların zararlı etkilerine karşı hücreleri koruyarak oksidatif stresle ilgili hastalıkları önler. Serbest radikallere karşı bu koruyucu etkisi hücresel işlevlerin korunmasında çok önemlidir (Neha et al 2019). Proteinlerdeki hem grubu ile tepkimeye giren H_2O_2 hücre zarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimelerin oluşmasına öncülük edebilir. Bu etkisinden dolayı, oluşan H_2O_2 'nin oluşur oluşmaz ortamdan yok edilmesi gerekmektedir. Bu görevi de antioksidan enzim olan KAT yerine getirir (Gözükara 2011). Endojen antioksidan olan GSH, ROT'a karşı vücudu korur, bunu da serbest oksijen radikallerini nötralize ederek sağlar ve ROT ve serbest radikalleri etkin şekilde temizler (Kasnak ve Palamutoglu 2015, Ginter et al 2014).

Nikotinamid, mitokondriyal elektron taşıma zincirinde ATP oluşumu yoluyla vücut tarafından kullanılır (Lin et al 2001). Mitokondriyal membranda depolarizasyon ve burada gözenek oluşumunu önler (Feng, Paul and LeBlanc 2006). ROT seviyesinin artışını baskılayan nikotinamid, güçlü bir serbest radikal temizleyicisidir (Kwak et al 2015, Peterson et al 2012). Yani antioksidan özellik göstermektedir ve oksidatif stresi azaltır (Shen et al 2004, Villeda-Gonzalez et al 2020). Oksidatif stresin neden olduğu nöronal hasara karşı geniş ölçüde nöroprotektif etki gösterir (Koh 2013). Serebral iskemideki oksidatif stresin neden olduğu nöronal dejenerasyonu bu etkisiyle hafifletebilir (Koh 2011). Bu nikotinamid tedavisinin oksidatif strese karşı etkileri nörolojik cevabı iyileştirerek iskemik infarktı azaltabilir (Alenzi 2009). Tüm bunların yanında bu etkisinin altında yatan mekanizma da hala aydınlatılamamıştır (Shen et al 2004).

Çalışmamızda hem beyin dokusunda hem de serumda MDA düzeyleri İR+N grubunda İR grubuna göre çalışmalara paralel sonuçlar vererek istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdi. Literatürde iskemi reperfüzyon dahil olmak üzere pek çok patolojik durumda nikotinamid uygulamasının antioksidan kapasiteyi artırarak oksidatif stresi

azalttığını göstermektedir. Sağ OSA oklüzyonu ile fokal serebral iskemi ve ardından reperfüzyona maruz bırakılan sıçanlara reperfüzyon başlangıcında intravenöz olarak 500 mg/kg nikotinamid enjekte edilmiş ve reperfüzyon periyodunun ardından beyin dokusunda MDA düzeyleri ölçülmüştür. MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma meydana geldiği bildirilmiştir (Chen et al 2012). Diyabetik sıçanlara 2 hafta boyunca 100 mg/kg ve 200 mg/kg nikotinamid uygulanmasının sıçan beyin dokusunda MDA düzeylerini anlamlı şekilde azaltıldığı bildirilmiştir (Kuchmerovska et al 2004). Yine metabolik sendromlu sıçanlarda nikotinamid uygulamasının serum GSH düzeylerinde anlamlı bir değişim olmazken karaciğer dokusunda istatistiksel olarak anlamlı yükselme olduğu bildirilmiştir (Villeda-Gonzalez et al 2020).

Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, hem bilateral KKA hem de OSA oklüzyonuyla oluşturulan SİR modellerinde beyin dokusunda ölçülen GSH ve KAT miktarlarının İR grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı bildirilmiştir (Shalavadi, Chandrashekhar, Ramkishan, Nidavani and Biradar 2013, Yang et al 2016, Jia, Han, Yang and Zhao 2014, Kakkar, Muppu, Chopra and Kaur 2013). OSA'nın oklüzyonu ile oluşturulan fokal serebral iskemi ve sonrasında reperfüzyona maruz bırakılan sıçanların serumlarında GSH seviyelerinde OSA oklüzyonu yapılan grupta kontrol grubuna göre azalma meydana gelmiş ama bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır (Hu et al 2012). Yaptığımız mevcut çalışmada da bu çalışmalara paralel sonuçlar çıkmış olup IR grubunda beyin dokusu GSH ve KAT seviyelerinde anlamlı azalma oluşurken serumda GSH seviyelerinin azalması istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Çalışmamızda, İR grubunda azalan GSH düzeyleri İR+N grubunda hem beyin hem de serumda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış göstermiştir. KAT düzeylerinde ise İR+N grubunda İR grubuna göre hem beyin dokusunda hem de serumda artış göstermesine rağmen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi. Literatürdeki diğer çalışmaların sonuçlarımızı desteklediği görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada sağ OSA oklüzyonu ile fokal serebral iskemi ve reperfüzyona maruz bırakılan sıçanlara reperfüzyon başlangıcında intravenöz olarak 500 mg/kg nikotinamid uygulamasının sıçan beyin dokusunda nötrofil, aktive mikrogliya/makrofajların ve infark volümlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde

azalttığı bildirilmiştir (Chen et al 2012). OSA oklüzyonu ile SİR oluşturulan çalışmalarda 500 mg/kg nikotinamid uygulanmasının serebral korteks infarkt hacminde önemli değişim oluşturmadığı bildirilmiştir (Chang et al 2002, Koh 2013). Başka bir çalışmada 2 saat OSA oklüzyonuna maruz bırakılan sıçanlara daha sonra farklı gruplara 3 ve 7 gün reperfüzyon uygulanmıştır. Reperfüzyon periyodunun başlangıcında 500 mg/kg nikotinamid ip olarak enjekte edilmiştir. Nitotinamid ile tedavi edilen grupta 3 günlük reperfüzyondan sonra ölçülen beyin infarkt hacminde anlamlı azalma meydana gelirken, 7 günlük reperfüzyon sonundaki ölçümlerde azalmanın anlamlı olmadığı bildirilmiştir (Mokudai et al 2000).

Çalışmamızda sıçanların beyin dokusunda SİR hasarının motor koordinasyona etkisini belirlemek için yapılan nörolojik değerlendirmede İR grubunda nörolojik skorun arttığını ve dikey çubuk üzerinde kalma sürelerinin ise anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. Yine beyin dokularında yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda İR uygulanan grupta kontrol grubuna göre kırmızı nöron, sateliosis ve spongiosis seviyelerinin önemli düzeyde arttı. Ayrıca sonuçlarımız iskemik önkoşullamanın tek başına ve nikotinamid ile beraber uygulanmasının beyin dokusunda histopatolojik hasarı azalttığını böylece nöronal hasarın azalmasına katkı sağladığını göstermektedir. Sonuçlarımız literatürdeki diğer çalışma sonuçları ile uyumluluk sağladığını göstermektedir. SİR sonrası motor koordinasyonu değerlendirmek için yapılan nörolojik skora ve dikey çubuk testi yapılan çalışmalarda İR uygulanan gruplarda nörolojik skor ve dikey çubuk üzerinde kalma sürelerinin anlamlı şekilde azaldığı bildirilmiştir (Linden, Fassotte, Tirelli, Plumier and Ferrara 2014, Aslan 2020, Wu, Yin, Kong and Peng 2019, Wu et al 2017). Bilateral KKA ve OSA oklüzyonu ile SİR oluşturulan çalışmalarda yapılan histopatolojik değerlendirmelerde, sıçan serebral korteksinde kırmızı nöron, sateliosis ve spongiosis oranlarının ve beyin ödeminin İR grubunda arttığı istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir (Bahşeliyev 2019, Sarami Foroshani, Sobhani, Mohammadi and Aryafar 2018). OSA oklüzyonunda nikotinamidin etkisini araştıran birkaç çalışmada sonucunda 500 mg/kg nikotinamid tedavisinin nörolojik skoru istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltarak nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Yang et al 2002, Mokudai et al 2000). Bizim çalışmamızda olduğu literatürdeki diğer araştırmalarda da iskemik önkoşullamanın nörolojik skorlamayı anlamlı bir şekilde azalttığı görülmektedir (Shi

et al 2013, Venna, Li, Benashski, Tarabishy and McCullough 2012). Ayrıca yapılan çalışmalarda serebral iskemik önkoşullanmanın iskemi reperfüzyon nedeni ile beyin ödeminin gelişimini ve serebral infarkt hacmini azalttığı bildirilmiştir (Kim et al 2017, Rehni and Singh 2012, Masada et al 2001).

Serebral önkoşullanma geçicidir ve ölümcül hasar eşiğinin altında hipoksi, iskemi, anestezikler ve düşük endotoksin dozlar gibi yollarla indüklenen ve ölümcül hasara karşı beyinde tolerans oluşturabilen bir prosedürdür (Zhou et al 2016). Beynin iskemik önkoşullanmasının, ölümcül hasar oluşturacak iskemiye karşı tolerans oluşturan etkili bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir. Ancak ne kadar süre koruma sağladığı hala tartışma konusudur. Bu konuda, koruyucu etkinin dakikalar içinde olduğu ve birkaç saat sürdüğü hızlı periyot ve koruyucu etkinin saatler veya günler içinde olduğu ve etkisinin yedi günden fazla sürebileceği gecikmiş periyot literatürde mevcuttur (Yang et al 2020). Oluşan bu iskemik toleransın serebral iskemiye karşı nöroprotektif etki sağlayabileceği araştırmacılar tarafından öne sürülmektedir (Sharma, Kalkami and Sharma 2020).

Literatürde farklı yöntemlerle iskemik önkoşullanmanın yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Kısa süreli bilateral KKA oklüzyonu ile kısa süreli serebral iskemik önkoşullanmanın uzun süreli OSA oklüzyonu ile SİR oluşturulan bir çalışmada, önkoşullanma ve OSA oklüzyonu uygulanan grupta MDA düzeyinin sadece OSA oklüzyonu uygulanan gruba göre anlamlı şekilde azalma gösterdiği bildirilmiştir (Shi et al 2013). Hiperhomosistinemi oluşturulmuş sıçanlarda bilateral KKA oklüzyonuyla kısa süreli iskemik önkoşullanmanın ardından uzun süreli SİR oluşturulmuş sıçan beyin korteksinde MDA, tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddelerin (TBARs) düzeyi ile ölçülmüştür. Çalışma sonucunda TBARs düzeylerinin iskemik önkoşullanmanın uygulandığı grupta uygulanmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma gösterdiği bildirilmiştir (Petras et al 2017). Yaptığımız mevcut çalışmada, literatüre paralel olarak beyin dokusunda MDA seviyeleri İÖ+İR grubunda İR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma gösterdi. Ancak serum MDA düzeylerinde azalma meydana gelmesine rağmen bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.

Farelerde KKA oklüzyonu ile önce iskemik önkoşullanma ve ardında iskemi reperfüzyon uygulanmasının sadece iskemi reperfüzyon uygulanmasına kıyasla beyinde antioksidan enzimlerden GSH ve KAT düzeylerini anlamlı düzeyde artırdığı rapor edilmiştir (Sharma et al 2020). Başka bir çalışmada da bilateral KKA oklüzyonu ile kısa süreli iskemik önkoşullanma ve iskemi reperfüzyonun beraber uygulanmasının sıçanların hipokampusunda KAT aktivitesi ciddi oranda arttığı bildirilmiştir (Choi et al 2007). Park ve ark. (2016), Petras ve ark. (2017) da araştırmalarında önkoşullanma ile beraber iskemi reperfüzyon uygulanmasının KAT aktivitesini artırdığını ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını rapor etmişlerdir. Sıçanlarda OSA oklüzyonu ile iskemik önkoşullanma uygulanmış olan bir çalışmada korteks ve striatumda ölçülen antioksidan düzeylerinin (SOD ve GPx) önkoşullanma uygulanan hemisferlerde önkoşullanma uygulanmayan hemisferlerine göre artmış olsa da bu artışın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı bildirilmiştir (Puisieux et al 2004). Bizim çalışmamızda da hem serumda hem de beyin dokusunda GSH ve KAT seviyeleri İÖ+İR grubunda İR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayacak şekilde artış gösterdi.

Bilateral KKA oklüzyonu ile SİR hasarı oluşturulan sıçan beyin ve kan dokusunda önkoşullanma ve nikotinamidin etkilerinin araştırıldığı bu çalışmadan elde edilen sonuçlar;

- Bilateral olarak KKA oklüzyonunun hem beyin dokusunda hem de kanda MDA düzeylerini artırıp antioksidan enzimlerden KAT ve GSH düzeylerini azaltarak oksidatif stresi tetiklediği ve SİR hasarına neden olduğu,
- İskemik önkoşullanma ile beraber İR'nin, önkoşullanmasız İR'ye kıyasla MDA düzeylerinde daha az oranda artma görülse de istatistiksel olarak bu azalmanın anlamlılık oluşturmadığı,
- İskemik önkoşullanmanın beyin dokusunda histopatolojik hasarı azalttığı,
- İR sonrası hem serumda hem de beyin dokusunda GSH ve KAT seviyelerinin azaldığı,

- İskemik önkoşullanma ile beraber nikotinamid uygulamasının serum ve beyin dokusunda MDA düzeylerini azaltıp, KAT aktivitesi ve GSH seviyelerini artırarak oksidatif stres hasarını engelleyerek nöronal hasarı hafiflettiği,
- İskemik önkoşullanmanın bir antioksidan ajan ile beraber uygulanmasının daha etkili olduğu bulunmuştur.

Bu sonuçlar doğrultusunda, nikotinamid ve iskemik önkoşullanmanın serebral iskemi ve reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştıran çalışmaların artırılması ve literatüre daha fazla bilgi sunulması, yeterli sayıda çalışmanın sonucunun bizim çalışmamızın sonuçlarını desteklerse iskemik inme tedavisi için klinikte de deneyler yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Abe T, Kunz A, Shimamura M, Zhou P, Anrather J, Iadecola C. (2009). The neuroprotective effect of prostaglandin E2 EP1 receptor inhibition has a wide therapeutic window, is sustained in time and is not sexually dimorphic. *J Cereb Blood Flow Metab*, 29(1): 66-72.

Adam B, Yiğitoğlu R. (2012). *Tıbbi Biyokimya Ders Kitabı* (1. Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.

Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE 3rd. (1993). Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*, 24(1): 35-41.

Aktümsek A. (2015). Aktümsek A. (Ed) *Anatomi ve Fizyoloji - İnsan Biyolojisi* (9. Baskı). Nobel Akademik Yayıncılık. Ankara.

Alenzi FQ. (2009). Effect of nicotinamide on experimental induced diabetes. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 8(1): 11-18.

Alkan T. (2009). Neuroprotective effects of ischemic tolerance (preconditioning) and postconditioning. *Turk Neurosurg*, 19(4): 406-412.

Allen CL, Bayraktutan U. (2009). Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke. *Int J Stroke*, 4(6): 461-470.

Altintas O, Kumas M, Altintas MO. (2016). Neuroprotective effect of ischemic preconditioning via modulating the expression of adropin and oxidative markers against transient cerebral ischemia in diabetic rats. *Peptides*, 79: 31-38.

Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, Donnan GA, Wolf ME, Hennerici MG. (2013). The ASCOD phenotyping of ischemic stroke (Updated ASCO Phenotyping). *Cerebrovasc Dis*, 36(1): 1-5.

Arifoğlu Y. (2019). Her Yönüyle Anatomi (2. Baskı.). İstanbul Tıp Kitabevleri. İstanbul.

Aslan G. (2020). Ardkoşullanma ve Melatoninin Serebral İskemi-Reperfüzyon Hasarında Mitofaji Aracılı Etkileri. FÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Elazığ, (Danışman: Prof.Dr. Engin)

Aslan S, Karahalil B. (2019). Oksidatif stres ve parkinson hastalığı. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 43(1): 94-116.

Bahşeliyev Ş. (2019). Glutaminin Bilateral Karotis Oklüzyonu ile İskemi Oluşturulan Sıçanlarda Serebral İskemiye Karşı Koruyucu Etkisinin Araştırılması. İÜ, İstanbul Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof.Dr. Nilgün).

Bambakidis NC, Wilson J, Hu YC, Selman WR. (2011). Intraoperative Cerebral Protection. In Winn HR (Ed.), *Youmans Neurological Surgery*. Elsevier Saunders. Philadelphia. Vol. 4: p. 3571-3580

Barrera G, Pizzimenti S, Daga M, Dianzani C, Arcaro A, Cetrangolo GP, Giordano G, Cucci MA, Graf M, Gentile F. (2018). Lipid peroxidation-derived aldehydes, 4-hydroxynonenal and malondialdehyde in aging-related disorders. *Antioxidants (Basel)*, 7(8).

Bazinet L, Doyen A. (2017). Antioxidants, mechanisms, and recovery by membrane processes. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57(4): 677-700.

Beers RF Jr, Sizer IW. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem*, 195(1): 133-140.

Berndt C, Lillig CH. (2017). Glutathione, Glutaredoxins, and Iron. *Antioxid Redox Signal*, 27(15): 1235-1251.

Beutler E, Duron O, Kelly BM. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, 61: 882-888.

Bogan KL., Brenner C. (2008). Nicotinic acid, nicotinamide, and nicotinamide riboside: a molecular evaluation of NAD⁺ precursor vitamins in human nutrition. *Annu Rev Nutr*, 28: 115-130.

- Bora KS, Shri R, Monga J. (2011). Cerebroprotective effect of *Ocimum gratissimum* against focal ischemia and reperfusion-induced cerebral injury. *Pharm Biol*, 49(2): 175-181.
- Bouayed J, Bohn T. (2010). Exogenous antioxidants--Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid Med Cell Longev*, 3(4): 228-237.
- Braidy N, Zarka M, Jugder BE, Welch J, Jayasena T, Chan DKY, Sachdev P, Bridge, W. (2019). The Precursor to Glutathione (GSH), gamma-Glutamylcysteine (GGC), Can Ameliorate Oxidative Damage and Neuroinflammation Induced by Abeta40 Oligomers in Human Astrocytes. *Front Aging Neurosci*, 11:177.
- Brassai A, Suvanjev RG, Ban EG, Lakatos M. (2015). Role of synaptic and nonsynaptic glutamate receptors in ischaemia induced neurotoxicity. *Brain Res Bull*, 112: 1-6.
- Buege JA, Aust SD. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52: 302-310.
- Busch CJ, Binder CJ. (2017). Malondialdehyde epitopes as mediators of sterile inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 1862(4): 398-406.
- Cai Z, Zhao B, Deng Y, Shangguan S, Zhou F, Zhou W, Li X, Li Y, Chen, G. (2016). Notch signaling in cerebrovascular diseases (Review). *Molecular Medicine Reports*, 14.

Caliskan M, Mogulkoc R, Baltaci AK, Menevse E. (2016). The Effect of 3',4'-Dihydroxyflavonol on Lipid Peroxidation in Rats with Cerebral Ischemia Reperfusion Injury. *Neurochem Res*, 41(7): 1732-1740.

Campbell BCV, Khatri P. (2020). Stroke. *Lancet*, 396(10244), 129-142.

Caplan LR, Liebeskind DS. (2016). Pathology, anatomy, and pathophysiology of stroke. In L. R. Caplan (Ed.), *Caplan's Stroke: A Clinical Approach* (5 ed., pp. 19-54). Cambridge: Cambridge University Press.

Caudle WM, Zhang J. (2009). Glutamate, excitotoxicity, and programmed cell death in Parkinson disease. *Exp Neurol*, 220(2): 230-233.

Chainy GBN, Sahoo DK. (2020). Hormones and oxidative stress: an overview. *Free Radic Res*, 54(1): 1-26.

Chang ML, Yang J, Kem S, Klaidman L, Sugawara T, Chan PH, Adams JD Jr. (2002). Nicotinamide and ketamine reduce infarct volume and DNA fragmentation in rats after brain ischemia and reperfusion. *Neurosci Lett*, 322(3): 137-140.

Chen AC, Damian DL. (2014). Nicotinamide and the skin. *Australas J Dermatol*, 55(3): 169-175.

- Chen CH, Hsieh CL. (2020). Effect of acupuncture on oxidative stress induced by cerebral ischemia-reperfusion injury. *Antioxidants (Basel)*, 9(3).
- Chen L, Huang K, Wang R, Jiang Q, Wu Z, Liang W, Guo R, Wang L. (2018). Neuroprotective Effects of Cerebral Ischemic Preconditioning in a Rat Middle Cerebral Artery Occlusion Model: The Role of the Notch Signaling Pathway. *Biomed Res Int*, 2018: 8168720.
- Chen L, Zhao Y, Zhang T, Dang X, Xie R, Li Z, Li Y, Li Y, Zhao W, Song H. (2014). Protective effect of Sheng-Nao-Kang decoction on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *J Ethnopharmacol*, 151(1): 228-236.
- Chen TY, Lin MH, Lee WT, Huang SY, Chen YH, Lee AC, Lin HW, Lee EJ. (2012). Nicotinamide inhibits nuclear factor-kappa B translocation after transient focal cerebral ischemia. *Crit Care Med*, 40(2): 532-537.
- Choi YS, Cho KO, Kim EJ, Sung KW, Kim SY. (2007). Ischemic preconditioning in the rat hippocampus increases antioxidant activities but does not affect the level of hydroxyl radicals during subsequent severe ischemia. *Exp Mol Med*, 39(4): 556-563.
- Cuomo O, Vinciguerra A, Cerullo P, Anzilotti S, Brancaccio P, Bilo L, Scorziello A, Molinaro P, Di Renzo G, Pignataro G. (2015). Ionic homeostasis in brain conditioning. *Front Neurosci*, 9: 277.

Czerska M, Mikolajewska K, Zielinski M, Gromadzinska J, Wasowicz W. (2015). Today's oxidative stress markers. *Med Pr*, 66(3): 393-405.

Çoban O. (2015). Serebrovasküler Hastalıklar. İçinde Öge AE, Baykan B (Eds.), *Nöroloji* (2. Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. s. 235-238

de Sales KPF, Pinto BAS, Ribeiro NLX, Melo TM, Galvao-Moreira LV, de Brito Filho SB, Nigri F. (2019). Effects of vitamin c on the prevention of ischemia-reperfusion brain injury: experimental study in rats. *Int J Vasc Med*, 2019: 4090549.

DeGracia DJ. (2017). Regulation of mRNA following brain ischemia and reperfusion. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 8(4).

Della-Morte D, Guadagni F, Palmirotta R, Ferroni P, Testa G, Cacciatore F, Abete P, Rengo F, Perez-PinZon MA, Sacco RL, Rundek T. (2012). Genetics and genomics of ischemic tolerance: focus on cardiac and cerebral ischemic preconditioning. *Pharmacogenomics*, 13(15): 1741-1757.

Dirnagl U, Simon RP, Hallenbeck JM. (2003). Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci*, 26(5): 248-254.

Doğanay S. (2014). Akut Yorucu Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Kan ve Karaciğer Oksidan /Antioksidan Sistemler Üzerine Bilberry'nin (Yaban Mersini) Etkileri. AÜ. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, (Doç.Dr. Serap)

Döger MM. (2010). Ispit'in (Trachystemon orientalis (L.) G. Don) Antioksidan Aktivitesi. İÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof.Dr. Refiye).

Durukan A, Tatlisumak T. (2007). Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. *Pharmacol Biochem Behav*, 87(1): 179-197.

Fairbanks SL, Brambrink AM. (2010). Preconditioning and postconditioning for neuroprotection: the most recent evidence. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 24(4): 521-534.

Fania L, Mazzanti C, Campione E, Candi E, Abeni D, Dellambra E. (2019). Role of Nicotinamide in Genomic Stability and Skin Cancer Chemoprevention. *Int J Mol Sci*, 20(23).

Feng Y, Paul IA, LeBlanc MH. (2006). Nicotinamide reduces hypoxic ischemic brain injury in the newborn rat. *Brain Res Bull*, 69(2): 117-122.

Filomeni G, De Zio D, Cecconi F. (2015). Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs. *Cell Death Differ*, 22(3): 377-388.

Forman HJ, Zhang H, Rinna A. (2009). Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol Aspects Med*, 30(1-2): 1-12.

Fraternale A, Brundu S, Magnani M. (2017). Glutathione and glutathione derivatives in immunotherapy. *Biol Chem*, 398(2): 261-275.

Fricker RA, Green EL, Jenkins SI, Griffin SM. (2018). The Influence of Nicotinamide on Health and Disease in the Central Nervous System. *Int J Tryptophan Res*, 11: 1-11.

Fukuwatari T, Shibata K. (2007). Effect of nicotinamide administration on the tryptophan-nicotinamide pathway in humans. *Int J Vitam Nutr Res*, 77(4): 255-262.

Gaschler MM, Stockwell BR. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*, 482(3): 419-425.

Gidday JM. (2006). Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance. *Nat Rev Neurosci*, 7(6): 437-448.

Ginter E, Simko V, Panakova V. (2014). Antioxidants in health and disease. *Bratisl Lek Listy*, 115(10): 603-606.

Glantz L, Avramovich A, Trembovler V, Gurvitz V, Kohen R, Eidelman LA, Shohami E. (2005). Ischemic preconditioning increases antioxidants in the brain and peripheral organs after cerebral ischemia. *Exp Neurol*, 192(1): 117-124.

Gould DJ, Fix JD. (2018). *BRS: Neuroanatomy* (5 ed.). Arifoğlu Y (Ed), Çeviren: Arifoğlu Y. İstanbul Tıp Kitabevleri. İstanbul.

Gözükara EM. (2011). *Biyokimya* (5. Baskı). Nobel Tıp Kitabeveri. İstanbul.

Gu F, Chauhan V, Chauhan A. (2015). Glutathione redox imbalance in brain disorders. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 18(1): 89-95.

Guo C, Tong L, Xi M, Yang H, Dong H, Wen A. (2012). Neuroprotective effect of calycosin on cerebral ischemia and reperfusion injury in rats. *J Ethnopharmacol*, 144(3), 768-774.

Guo P, Jin Z, Wu H, Li X, Ke J, Zhang Z, Zhao Q. (2019). Effects of irisin on the dysfunction of blood-brain barrier in rats after focal cerebral ischemia/reperfusion. *Brain Behav*, 9(10), e01425.

Gültürk S, İmir G, Tuncer E. (2007). Kan-Beyin Bariyeri. *Erciyes Tıp Dergisi*, 29(2): 147-154.

Hamamcioğlu A. (2017). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus. *Turkish Journal of Diabetes and Obesity*, 1: 7-13.

Hankey GJ. (2017). Stroke. *Lancet*, 389(10069): 641-654.

Hao Y, Xin M, Feng L, Wang X, Wang X, Ma D, Feng J. (2020). Review Cerebral Ischemic Tolerance and Preconditioning: Methods, Mechanisms, Clinical Applications, and Challenges. *Front Neurol*, 11: 812.

Hayran M, Ilgaz HB. (2014). Merkezi Sinir Sisteminin Damarları. İçinde Ergun KM, Hayran M (Eds.), *Anatomi*. MN Medikal & Nobel Tıp Kitabevi. Ankara. p. 651-659

Herbert KJ, Hickey MJ, Lepore DA, Knight KR, Morrison WA, Stewart AG. (2001). Effects of the endothelin receptor antagonist Bosentan on ischaemia/reperfusion injury in rat skeletal muscle. *Eur J Pharmacol*, 424(1): 59-67.

Hoane MR, Kaplan SA, Ellis AL. (2006). The effects of nicotinamide on apoptosis and blood-brain barrier breakdown following traumatic brain injury. *Brain Res*, 1125(1): 185-193.

Hu S, Dong H, Zhang H, Wang S, Hou L, Chen S, Zhang J, Xiong, L. (2012). Noninvasive limb remote ischemic preconditioning contributes neuroprotective effects via activation of adenosine A1 receptor and redox status after transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res*, 1459: 81-90.

Hu X, De Silva TM, Chen J, Faraci FM. (2017). Cerebral Vascular Disease and Neurovascular Injury in Ischemic Stroke. *Circ Res*, 120(3): 449-471.

Huang PL. (2004). Nitric oxide and cerebral ischemic preconditioning. *Cell Calcium*, 36(3-4): 323-329.

Ieraci A, Herrera DG. (2018). Nicotinamide Inhibits Ethanol-Induced Caspase-3 and PARP-1 Over-activation and Subsequent Neurodegeneration in the Developing Mouse Cerebellum. *Cerebellum*, 17(3): 326-335.

Jackson CW, Escobar I, Xu J, Perez-Pinzon MA. (2018). Effects of ischemic preconditioning on mitochondrial and metabolic neuroprotection: 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase and sirtuins. *Brain Circ*, 4(2): 54-61.

Jakubczyk K, Dec K, Kałduńska J, Kawczuga D, Kochman J, Janda K. (2020). Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. *Pol Merkur Lekarski*, 48(284): 124-127.

Jia D, Han B, Yang S, Zhao J. (2014). Anemonin alleviates nerve injury after cerebral ischemia and reperfusion (i/r) in rats by improving antioxidant activities and inhibiting apoptosis pathway. *J Mol Neurosci*, 53(2): 271-279.

Kakkar V, Muppu SK, Chopra K, Kaur IP. (2013). Curcumin loaded solid lipid nanoparticles: an efficient formulation approach for cerebral ischemic reperfusion injury in rats. *Eur J Pharm Biopharm*, 85(3 Pt A): 339-345.

Karabulut H, Gülay MŞ. (2016a). Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg*, 1(1), 65-76.

Karabulut H, Gülay MŞ. (2016b). Serbest radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg*, 4(1): 50-59.

Kasnak C, Palamutoglu R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5): 226-234.

Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF. (2017). Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci*, 38(7): 1167-1186.

Kim JH, Kim JY, Jung JY, Lee YW, Lee WT, Huh SK, Lee JE. (2017). Endogenous Agmatine induced by ischemic preconditioning regulates ischemic tolerance following cerebral ischemia. *Exp Neurobiol*, 26(6): 380-389.

Kiray A. (2014). Telencephalon. İçinde Ergun KM, Hayran M (Eds.), *Anatomi . MN Medikal & Nobel Tıp Kitabevi*. Ankara. (p. 641-650)

Kırış T, Görgülü A. (2005). Eksitator Aminoasidler ve Eksitotoksisite. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 15(1): 39-44.

Koch S, Della-Morte D, Dave KR, Sacco RL, Perez-Pinzon MA. (2014). Biomarkers for ischemic preconditioning: finding the responders. *J Cereb Blood Flow Metab*, 34(6): 933-941.

Koch S, Gonzalez N. (2013). Preconditioning the human brain: proving the principle in subarachnoid hemorrhage. *Stroke*, 44(6): 1748-1753.

Koh PO. (2011). Nicotinamide attenuates the ischemic brain injury-induced decrease of Akt activation and Bad phosphorylation. *Neurosci Lett*, 498(2): 105-109.

Koh PO. (2013). Nicotinamide attenuates the injury-induced decrease of hippocalcin in ischemic brain injury. *Neurosci Lett*, 545: 6-10.

Kostandy BB. (2012). The role of glutamate in neuronal ischemic injury: the role of spark in fire. *Neurol Sci*, 33(2): 223-237.

Kovacs A, Moricz K, Albert M, Benedek A, Harsing LG Jr, Szenasi G. (2010). Decreased vasoconstrictor responses in remote cerebral arteries after focal brain ischemia and reperfusion in the rat, in vitro. *Eur J Pharmacol*, 644(1-3): 154-159.

Köylü H. (2019). *Klinik Anlatımlı Tıbbi Fizyoloji* (3. Baskı). İstanbul Tıp Kitabevi. İstanbul.

Kuchmerovska T, Shymanskyi I, Donchenko G, Kuchmerovskyy M, Pakirbaieva L, Klimenko A. (2004). Poly(ADP-ribosyl)ation enhancement in brain cell nuclei is associated with diabetic neuropathy. *J Diabetes Complications*, 18(4): 198-204.

Kumar G, Mukherjee S, Paliwal P, Singh SS, Birla H, Singh SP, Krishnamurthy S, Patnaik R. (2019). Neuroprotective effect of chlorogenic acid in global cerebral ischemia-reperfusion rat model. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 392(10): 1293-1309.

Kurul S, Gülmez Ö. (2007). Nöroproteksiyon Ve Nöron Koruyucu Ajanlar. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 21(2): 119-129.

Kuşçu ÖÖ, Özcengiz D. (2016). İnme ve Terapötik Hipotermi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(3): 351-368.

Kwak JY, Ham HJ, Kim CM, Hwang ES. (2015). Nicotinamide exerts antioxidative effects on senescent cells. *Mol Cells*, 38(3): 229-235.

Lai TW, Zhang S, Wang YT. (2014). Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection. *Prog Neurobiol*, 115: 157-188.

Lappas M, Permezel M. (2011). The anti-inflammatory and antioxidative effects of nicotinamide, a vitamin B(3) derivative, are elicited by FoxO3 in human gestational tissues: implications for preterm birth. *J Nutr Biochem*, 22(12): 1195-1201.

Lee JC, Shin BN, Cho JH, Lee TK, Kim IH, Noh Y, Kim SS, Lee HA, Kim YM, Kim H, Cho JH, Park JH, Ahn JH, Kang IJ, Hwang IK, Won MH, Shin MC. (2018a). Brain ischemic preconditioning protects against moderate, not severe, transient global cerebral ischemic injury. *Metab Brain Dis*, 33(4): 1193-1201.

Lee RHC, Lee MHH., Wu CYC, Couto ESA, Possoit HE, Hsieh TH, Minagar A, Lin HW. (2018b). Cerebral ischemia and neuroregeneration. *Neural Regen Res*, 13(3): 373-385.

Leech T, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. (2019). The beneficial roles of metformin on the brain with cerebral ischaemia/reperfusion injury. *Pharmacol Res*, 146: 104261.

Lehotský J, Burda J, Danielisová V, Gottlieb M, Kaplán P, Saniová B. (2009). Ischemic tolerance: the mechanisms of neuroprotective strategy. *Anat Rec (Hoboken)*, 292(12): 2002-2012.

Li S, Bian L, Fu X, Ai Q, Sui Y, Zhang A, Gao H, Zhong L, Lu D. (2019). Gastrodin pretreatment alleviates rat brain injury caused by cerebral ischemic-reperfusion. *Brain Research*, 1712: 207-216.

Li Y, Liu S. (2017). The Effect of Dexmedetomidine on Oxidative Stress Response Following Cerebral Ischemia-Reperfusion in Rats and the Expression of Intracellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) and S100B. *Med Sci Monit*, 23: 867-873.

Li Z, Yulei J, Yaqing J, Jinmin Z, Xinyong L, Jing G, Min L. (2019). Protective effects of tetramethylpyrazine analogue Z-11 on cerebral ischemia reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*, 844: 156-164.

Liao S-L, Chen W-Y, Raung S-L, Kuo J-S, Chen C-J. (2001). Association of immune responses and ischemic brain infarction in rat. *NeuroReport*, 12(9).

Lin SH, Chong ZZ, Maiese K. (2001). Nicotinamide: a nutritional supplement that provides protection against neuronal and vascular injury. *J Med Food*, 4(1): 27-38.

Linden J, Fassotte L, Tirelli E, Plumier JC, Ferrara A. (2014). Assessment of behavioral flexibility after middle cerebral artery occlusion in mice. *Behav Brain Res*, 258: 127-137.

Liu J, Li J, Yang Y, Wang X, Zhang Z, Zhang L. (2014). Neuronal apoptosis in cerebral ischemia/reperfusion area following electrical stimulation of fastigial nucleus. *Neural Regen Res*, 9(7): 727-734.

Liu PK, Arora, T. (2002). Transcripts of damaged genes in the brain during cerebral oxidative stress. *J Neurosci Res*, 70(6): 713-720.

Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. (2003). Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat Rev Neurosci*, 4(5): 399-415.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1): 265-275.

Lu SC. (2009). Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med*, 30(1-2): 42-59.

Macit S, Akbulut G. (2015). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Bes Diy Derg*, 43(1): 59-65.

Mărgăritescu O, Mogoantă L, Pirici I, Pirici D, Cernea D, Mărgăritescu C. (2009). Histopathological changes in acute ischemic stroke. *Rom J Morphol Embryol*, 50(3): 327-339.

Martínez Leo EE, Segura Campos MR. (2019). Systemic oxidative stress: a key point in neurodegeneration — A Review. *The journal of nutrition, health & aging*, 23(8): 694-699.

Masada T, Hua Y, Xi G, Ennis SR, Keep RF. (2001). Attenuation of ischemic brain edema and cerebrovascular injury after ischemic preconditioning in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab*, 21(1): 22-33.

McDonough A, Weinstein JR. (2016). Neuroimmune Response in Ischemic Preconditioning. *Neurotherapeutics*, 13(4): 748-761.

Mehta SL, Manhas N, Raghubir R. (2007). Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics. *Brain Res Rev*, 54(1): 34-66.

Meng XL, Zhang DL, Sui SH. (2019). Acute remote ischemic preconditioning alleviates free radical injury and inflammatory response in cerebral ischemia/reperfusion rats. *Exp Ther Med*, 18(3): 1953-1960.

Mercan U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1-2), 91-96.

Mergenthaler P, Dirnagl U, Meisel A. (2004). Pathophysiology of stroke: lessons from animal models. *Metab Brain Dis*, 19(3-4): 151-167.

Mierzejewska P, Gawlik-Jakubczak T, Jablonska P, Czajkowski M, Kutryb-Zajac B, Smolenski RT, Matuszewski M, Slominska EM. (2018). Nicotinamide metabolism alterations in bladder cancer: Preliminary studies. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 37(12): 687-695.

Mizuma A, Yenari MA. (2017). Anti-inflammatory targets for the treatment of reperfusion injury in stroke. *Front Neurol*, 8: 467.

Mohamed SK, Ahmed AAE, Elmorsy EM, Nofal S. (2019). ERK activation by zeranol has neuroprotective effect in cerebral ischemia reperfusion. *Life Sci*, 227: 137-144.

Mokudai T, Ayoub IA, Sakakibara Y, Lee EJ, Ogilvy CS, Maynard KI. (2000). Delayed treatment with nicotinamide (Vitamin B(3)) improves neurological outcome and reduces infarct volume after transient focal cerebral ischemia in Wistar rats. *Stroke*, 31(7): 1679-1685.

Nandi A, Yan LJ, Jana CK, Das N. (2019). Role of catalase in oxidative stress- and age-associated degenerative diseases. *Oxid Med Cell Longev*, 2019: 9613090.

Narayanan SV, Dave KR, Perez-Pinzon MA. (2013). Ischemic preconditioning and clinical scenarios. *Curr Opin Neurol*, 26(1): 1-7.

Neha K, Haider MR, Pathak A, Yar MS. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *Eur J Med Chem*, 178: 687-704.

Obrenovitch TP. (2008). Molecular physiology of preconditioning-induced brain tolerance to ischemia. *Physiol Rev*, 88(1): 211-247.

Oğul E. (2002). Oğul E (Ed.), *Klinik Nöroloji* (1. Baskı.). Nobel & Güneş Tıp Kitabevleri. Bursa.

Özdemir HH, Demir CF, Berilgen MS, Akgün B, Kuloğlu T, Kapan O, İlhan S, Balduz M. (2013). Protective effects of memantine induced by cerebral ischemia and reperfusion injury in rats. *Turkish Journal of Neurology*, 19(3): 85-89.

Pan J, Konstas AA, Bateman B, Ortolano GA, Pile-Spellman J. (2007). Reperfusion injury following cerebral ischemia: pathophysiology, MR imaging, and potential therapies. *Neuroradiology*, 49(2): 93-102.

Pandya CD, Howell KR, Pillai A. (2013). Antioxidants as potential therapeutics for neuropsychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 46: 214-223.

Park SM, Park CW, Lee TK, Cho JH, Park JH, Lee JC, Chen BH, Shin BN, Ahn JN, Shin MC, Ohk TG, Cho JH, Won MH, Choi SY, Kim IH. (2016). Effect of ischemic preconditioning on antioxidant status in the gerbil hippocampal CA1 region after transient forebrain ischemia. *Neural Regen Res*, 11(7): 1081-1089.

Pena-Bautista C, Vento M, Baquero M, Chafer-Pericas C. (2019). Lipid peroxidation in neurodegeneration. *Clin Chim Acta*, 497: 178-188.

Pérez-Pinzón MA. (2004). Neuroprotective effects of ischemic preconditioning in brain mitochondria following cerebral ischemia. *J Bioenerg Biomembr*, 36(4): 323-327.

Peterson TC, Anderson GD, Kantor ED, Hoane MR. (2012). A comparison of the effects of nicotinamide and progesterone on functional recovery of cognitive behavior following cortical contusion injury in the rat. *J Neurotrauma*, 29(18): 2823-2830.

Petras M, Drgova A, Kovalska M, Tatarkova Z, Tothova B, Krizanova O, Lehotsky J. (2017). Effect of hyperhomocysteinemia on redox balance and redox defence enzymes in ischemia-reperfusion injury and/or after ischemic preconditioning in rats. *Cell Mol Neurobiol*, 37(8): 1417-1431.

Pires VL, Souza JR, Guimarães SB, Silva Filho AR, Garcia JH, Vasconcelos PR. (2011). Preconditioning with L-alanyl-L-glutamine in a Mongolian gerbil model of acute cerebral ischemia/reperfusion injury. *Acta Cir Bras*, 26 Suppl 1: 14-20.

Pisoschi AM, Pop A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*, 97: 55-74.

Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci , Squadrito F, Altavilla D, Bitto A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxid Med Cell Longev*, 2017: 8416763.

Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M. (2017). Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends Pharmacol Sci*, 38(7): 592-607.

Premkumar K. (2015). Anatomy and Physiology. Anatomi ve Fizyoloji: Masaj Bağlantısı. 1st ed, Razak Özdiñler A. (Çeviri Editörü), İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul.

Puisieux F, Deplanque D, Bulckaen H, Maboudou P, Gele P, Lhermitte M, Lebuffe G, Bordet R. (2004). Brain ischemic preconditioning is abolished by antioxidant drugs but does not up-regulate superoxide dismutase and glutathion peroxidase. *Brain Res*, 1027(1-2): 30-37.

Rani V, Deep G, Singh RK, Palle K, Yadav UC. (2016). Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sci*, 148: 183-193.

Rehni AK, Singh TG. (2012). Involvement of CCR-2 chemokine receptor activation in ischemic preconditioning and postconditioning of brain in mice. *Cytokine*, 60(1): 83-89.

Rennie G, Chen AC, Dhillon H, Vardy J, Damian DL. (2015). Nicotinamide and neurocognitive function. *Nutr Neurosci*, 18(5): 193-200.

Rivera JC, Dabouz R, Noueihed B, Omri S, Tahiri H, Chemtob S. (2017). Ischemic retinopathies: oxidative stress and inflammation. *Oxid Med Cell Longev*, 2017: 3940241.

Ropper AH, Samuels MA, Klein JP. (2014). *Adams and Victor's Principles of Neurology* (10 ed.): McGraw Hill Education.

Rueda CB, Llorente-Folch I, Traba J, Amigo I, Gonzalez-Sanchez P, Contreras L, Jauristi I, Martinez-Valero P, Pardo B, Del Arco A, Satrustegui J. (2016). Glutamate excitotoxicity and Ca²⁺-regulation of respiration: Role of the Ca²⁺ activated mitochondrial transporters (CaMCs). *Biochim Biophys Acta*, 1857(8): 1158-1166.

Sabuncuoğlu S, Özgüneş H. (2011). Kemoterapi, serbest radikaller ve oksidatif stres. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 31(2): 137-150.

Salim S. (2017). Oxidative stress and the central nervous system. *J Pharmacol Exp Ther*, 360(1): 201-205.

Sarami Foroshani M, Sobhani ZS, Mohammadi MT, Aryafar M. (2018). Fullerenol nanoparticles decrease blood-brain barrier interruption and brain edema during cerebral ischemia-reperfusion injury probably by reduction of interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 transcription. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 27(11): 3053-3065.

Schaller B, Graf R. (2002). Cerebral ischemic preconditioning. An experimental phenomenon or a clinically important entity of stroke prevention?. *J Neurol*, 249(11): 1503-1511.

Shalavadi MH, Chandrashekhar VM, Ramkishan A, Nidavani RB, Biradar BS. (2013). Neuroprotective activity of *Stereospermum suaveolens* against global cerebral ischemia rat model. *Pharm Biol*, 51(8): 955-960.

Sharma P, Kulkarni GT, Sharma B. (2020). Possible involvement of D2/D3 receptor activation in ischemic preconditioning mediated protection of the brain. *Brain Res*, 1748: 147116.

Sharma T, Airao V, Panara N, Vaishnav D, Ranpariya V, Sheth N, Parmar S. (2014). Solasodine protects rat brain against ischemia/reperfusion injury through its antioxidant activity. *Eur J Pharmacol*, 725: 40-46.

Sharp FR, Ran R, Lu A, Tang Y, Strauss KI, Glass T, Ardizzone T, Bernaudin M. (2004). Hypoxic preconditioning protects against ischemic brain injury. *NeuroRx : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 1(1): 26-35.

- Shen CC, Huang HM, Ou HC, Chen HL., Chen WC, Jeng KC. (2004). Protective effect of nicotinamide on neuronal cells under oxygen and glucose deprivation and hypoxia/reoxygenation. *J Biomed Sci*, 11(4): 472-481.
- Shi S, Yang W, Tu X, Chen C, Wang C. (2013). Ischemic preconditioning reduces ischemic brain injury by suppressing nuclear factor kappa B expression and neuronal apoptosis. *Neural regeneration research*, 8(7): 633-638.
- Shi Y, Zhang L, Jiang R, Chen W, Zheng W, Chen L, Tang L, Li L, Li L, Tang W, Wang Y, Yu Y. (2012). Protective effects of nicotinamide against acetaminophen-induced acute liver injury. *Int Immunopharmacol*, 14(4): 530-537.
- Shu Q, Fan H, Li SJ, Zhou D, Ma W, Zhao XY, Yan JQ, Wu G. (2018). Protective effects of Progranulin against focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by suppressing endoplasmic reticulum stress and NF-kappaB activation in reactive astrocytes. *J Cell Biochem*, 119(8): 6584-6597.
- Siegel CS, McCullough LD. (2013). NAD⁺ and nicotinamide: sex differences in cerebral ischemia. *Neuroscience*, 237: 223-231.
- Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. (2019). Oxidative Stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*, 24(8).

Sisalli MJ, Annunziato L, Scorziello A. (2015). Novel cellular mechanisms for neuroprotection in ischemic preconditioning: A view from inside organelles. *Front Neurol*, 6: 115.

Slegtenhorst BR, Dor FJ, Rodriguez H, Voskuil FJ, Tullius SG. (2014). Ischemia/reperfusion injury and its consequences on immunity and inflammation. *Current transplantation reports*, 1(3): 147-154.

Slomka M, Zieminska E, Salinska E, Lazarewicz JW. (2008). Neuroprotective effects of nicotinamide and 1-methylnicotinamide in acute excitotoxicity in vitro. *Folia Neuropathol*, 46(1): 69-80.

Smith WS, English JD, Johnston SC. (2013). Cerebrovascular Diseases. In Hauser SL (Ed.), *Harrison's Neurology in Clinical Medicine* (3 ed.). McGraw Hill Education. p. 256-293

Smith WS, Johnston SC, Easton JD. (2009). Serebrovaküler Hastalıklar (Çevirenler Çelik M, Kurşun O.). In Hauser SL (Ed.), *Harrison Nöroloji*. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. p. 233-272

Snell RS. (2004). Baş ve Boyun (Çeviri: Şahinoğlu K, Özkuş K, Öztürk A.). İçinde Yıldırım M (Ed.), *Klinik Anatomi* (6 ed.). Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. p. 633-816

Song SB, Park JS, Chung GJ, Lee IH, Hwang ES. (2019). Diverse therapeutic efficacies and more diverse mechanisms of nicotinamide. *Metabolomics*, 15(10): 137.

Sorby-Adams AJ, Marcoionni AM, Dempsey ER, Woenig JA, Turner RJ. (2017). The role of neurogenic inflammation in blood-brain barrier disruption and development of cerebral oedema following acute central nervous system (CNS) injury. *Int J Mol Sci*, 18(8).

Su LJ, Zhang JH, Gomez H, Murugan R, Hong X, Xu D, Jiang F, Peng ZY. (2019). Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxid Med Cell Longev*, 2019: 5080843.

Sugawara T, Fujimura M, Noshita N, Kim GW, Saito A, Hayashi T, Narasimhan P, Maier CM, Chan PH. (2004). Neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia. *NeuroRx : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 1(1): 17-25.

Szabo MR, Pipicz M, Csont T, Csonka C. (2020). Modulatory effect of myokines on reactive oxygen species in ischemia/reperfusion. *Int J Mol Sci*, 21(24).

Szydlowska K, Tymianski M. (2010). Calcium, ischemia and excitotoxicity. *Cell Calcium*, 47(2): 122-129.

Şahan M, Satar S, Koç A, Sebe A. (2010). İskemik inme ve akut faz reaktanları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 19(2): 85-140.

Tan CC, Khurana VG, Benarroch EE, Meyer FB. (2011). Cerebral Blood Flow and Metabolism and Cerebral Ischemia. In Winn HR (Ed.), *Youmans Neurological Surgery* (Vol. 4, pp. 3537-3562). Philadelphia: Elsevier Saunders.

Tang LH, Xia ZY, Zhao B, Wei XD, Luo T, Meng QT. (2011). Phosphocreatine preconditioning attenuates apoptosis in ischemia-reperfusion injury of rat brain. *J Biomed Biotechnol*, 2011: 107091.

Tauskela JS, Morley P. (2004). On the role of Ca^{2+} in cerebral ischemic preconditioning. *Cell Calcium*, 36(3-4): 313-322.

Thompson JW, Dave KR, Young JI, Perez-Pinzon MA. (2013). Ischemic preconditioning alters the epigenetic profile of the brain from ischemic intolerance to ischemic tolerance. *Neurotherapeutics*, 10(4): 789-797.

Thong-Asa W, Bullangpoti V. (2020). Neuroprotective effects of *Tiliacora triandra* leaf extract in a mice model of cerebral ischemia reperfusion. *Avicenna J Phytomed*, 10(2): 202-212.

Thushara Vijayakumar N, Sangwan A, Sharma B, Majid A, Rajanikant GK. (2016). cerebral ischemic preconditioning: the road so far. *Mol Neurobiol*, 53(4): 2579-2593.

Umuroglu T, Corman P, Cinel İ. (2012). Clinical importance of ischemic preconditioning. *Gogus-Kalp-Damar Anestezi ve Yogun Bakim Dernegi Dergisi*, 18: 1-10.

Ungerstedt JS, Blömbäck M, Söderström T. (2003). Nicotinamide is a potent inhibitor of proinflammatory cytokines. *Clin Exp Immunol*, 131(1): 48-52.

Vasconcelos PR, Guimaraes AB, Campelo MW, Vasconcelos PR, Guimaraes SB. (2015). Preconditioning with L-alanyl-glutamine upon cerebral edema and hippocampus red neurons counting in rats subjected to brain ischemia/reperfusion injury. *Acta Cir Bras*, 30(3): 199-203.

Venna VR, Li J, Benashski SE, Tarabishy S, McCullough LD. (2012). Preconditioning induces sustained neuroprotection by downregulation of adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase. *Neuroscience*, 201: 280-287.

Villeda-González JD, Gómez-Olivares JL, Baiza-Gutman, LA, Manuel-Apolinar L, Damasio-Santana L, Millán-Pacheco C, Angeles-Mejia S, Cortes-Ginez MC, Cruz-Lopez M, Vidal-Moreno CJ, Díaz-Flores M. (2020). Nicotinamide reduces inflammation and oxidative stress via the cholinergic system in fructose-induced metabolic syndrome in rats. *Life Sciences*, 250: 117585.

Wanchao S, Chen M, Zhiguo S, Futang X, Mengmeng S. (2018). Protective effect and mechanism of Lactobacillus on cerebral ischemia reperfusion injury in rats. *Braz J Med Biol Res*, 51(7): e7172.

Wang Y, Ren Q, Zhang X, Lu H, Chen J. (2018). Neuroprotective mechanisms of calycosin against focal cerebral ischemia and reperfusion injury in rats. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 45(2): 537-546.

Wu J, Chen Y, Yu S, Li L, Zhao X, Li Q, Zhao J, Zhao Y. (2017). Neuroprotective effects of sulfiredoxin-1 during cerebral ischemia/reperfusion oxidative stress injury in rats. *Brain Res Bull*, 132: 99-108.

Wu MY, Yiang GT, Liao WT, Tsai AP, Cheng YL, Cheng PW, Li CY, Li CJ. (2018). Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury. *Cell Physiol Biochem*, 46(4): 1650-1667.

Wu T, Yin F, Kong H, Peng J. (2019). Germacrone attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats via antioxidative and antiapoptotic mechanisms. *J Cell Biochem*, 120(11): 18901-18909.

Xia DY, Li W, Qian HR, Yao S, Liu JG, Qi XK. (2013). Ischemia preconditioning is neuroprotective in a rat cerebral ischemic injury model through autophagy activation and apoptosis inhibition. *Braz J Med Biol Res*, 46(7): 580-588.

Xiao X, Luo H, Vanek KN, LaRue AC, Schulte BA, Wang GY. (2015). Catalase inhibits ionizing radiation-induced apoptosis in hematopoietic stem and progenitor cells. *Stem Cells Dev*, 24(11): 1342-1351.

Xie L, Wang Z, Li C, Yang K, Liang Y. (2017). Protective effect of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD(+)) against spinal cord ischemia-reperfusion injury via reducing oxidative stress-induced neuronal apoptosis. *J Clin Neurosci*, 36: 114-119.

Xing B, Chen H, Zhang M, Zhao D, Jiang R, Liu X, Zhang S. (2008). Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after focal cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat. *Stroke*, 39(8): 2362-2369.

Yaidikar L, Byna B, Thakur SR. (2014). Neuroprotective effect of punicalagin against cerebral ischemia reperfusion-induced oxidative brain injury in rats. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 23(10): 2869-2878.

Yang J, Klaidman LK, Chang ML, Kem S, Sugawara T, Chan P, Adams JD. (2002). Nicotinamide therapy protects against both necrosis and apoptosis in a stroke model. *Pharmacol Biochem Behav*, 73(4): 901-910.

Yang T, Sun Y, Li Q, Li S, Shi Y, Leak RK, Chen J, Zhang, F. (2020). Ischemic preconditioning provides long-lasting neuroprotection against ischemic stroke: The role of Nrf2. *Exp Neurol*, 325: 113142.

Yang Z, Weian C, Susu H, Hanmin W. (2016). Protective effects of mangiferin on cerebral ischemia-reperfusion injury and its mechanisms. *Eur J Pharmacol*, 771: 145-151.

Yıldırım M. (2014). *Topografik Anatomi* (2.Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.

Yıldırım M. (2015). *İnsan Anatomisi* (7. Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.

Yıldırım M. (2016). *Temel Nöroanatomi* (3. Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.

Yin H, Xu L, Porter NA. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem Rev*, 111(10), 5944-5972.

Yöntem M, Ünal M. (2018). *Biyokimya* (1. Baskı). İstanbul Tıp Kitabevleri. İstanbul.

Yuan R, Wang Y, Li Q, Zhen F, Li X, Lai Q, Hu P, Wang X, Zhu Y, Fan H, Yao, R. (2019). Metformin reduces neuronal damage and promotes neuroblast proliferation and differentiation in a cerebral ischemia/reperfusion rat model. *NeuroReport*, 30(3): 232-240.

Yuan YG, Mesalam A, Song SH, Lee KL, Xu L, Joo MD, Kong IK. (2020). Effect of nicotinamide supplementation in in vitro fertilization medium on bovine embryo development. *Mol Reprod Dev*, 87(10): 1070-1081.

Yun HS, Park MS, Ji ES, Kim TW, Ko IG, Kim HB, Kim H. (2014). Treadmill exercise ameliorates symptoms of attention deficit/hyperactivity disorder through reducing Purkinje cell loss and astrocytic reaction in spontaneous hypertensive rats. *J Exerc Rehabil*, 10(1): 22-30.

Yurdakul Ö. (2013). Toprak Alkali Metallerin Asesülfam ve Asesülfam-Nikotinamid Karışık Ligand Komplekslerinin Sentezi, Yapısal Karakterizasyonu ve Çeşitli Biyolojik Uygulamaları. HİTÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi , Çorum, (Danışman: Doç.Dr. Dursun Ali).

Zacko JC, Hawryluk GWJ, Bullock MR. (2011). Nuerochemical Pathomechanisms in Traumatic Brain Injury. In Winn HR (Ed.), *Youmans Neurological Surgery*. Elseiver Saunders. Philadelphia.p. Vol. 4: 3305-3324

Zhai L, Liu M, Wang T, Zhang H, Li S, Guo Y. (2017). Picroside II protects the blood-brain barrier by inhibiting the oxidative signaling pathway in cerebral ischemia-reperfusion injury. *PLoS One*, 12(4).

Zhang Y, Zhang FG, Meng C, Tian SY, Wang YX, Zhao W, Chen J, Zhang XS, Liang Y, Zhang SD, Xing YJ. (2011). Inhibition of sevoflurane postconditioning against cerebral ischemia reperfusion-induced oxidative injury in rats. *Molecules*, 17(1): 341-354.

Zhou JH, Zhang TT, Song DD, Xia YF, Qin ZH, Sheng R. (2016). TIGAR contributes to ischemic tolerance induced by cerebral preconditioning through scavenging of reactive oxygen species and inhibition of apoptosis. *Sci Rep*, 6: 27096.

Ziylan Z. (2019). Sinir Sistemi Fizyolojisi. İçinde Ziylan Z (Ed.), *Özet Fizyoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. s.253-325.

EKLER

Ek.1: Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Onay Belgesi



ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Ruhat ARSLAN

Doğum yeri ve tarihi :

Uyruğu : T.C.

Medeni Durumu : Bekar

e-mail adresi :

Yabancı dil : İngilizce

II-Eğitim Bilgileri

Sakarya Üniversitesi-Fizyoloji Yüksek Lisans (2019-...)

Trakya Üniversitesi-Fizyoterapi ve Rehabilitasyon (2013-2017)

Orhan Cemal Fersoy Lisesi

Zühtü Şenyuva İlköğretim Okulu

Mehmet Yaren Gümeli İlköğretim Okulu

III-Ünvanları

Fizyoterapist (2017-2020)

Araştırma Görevlisi (2020-...)

IV-Mesleki Deneyim

Gülşeker Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi - Fizyoterapist

İstinye Üniversitesi – Tıp Fakültesi – Fizyoloji – Araştırma Görevlisi

V-Bilimsel İlgi Alanları

Yayınlar:

Arslan Ruhat, Doğanay Songül (2020). Egzersizin Bir Peptit Hormon Olan İrisin Üzerine Etkileri. INSAC - Natural and Health Sciences 2020 (INHS-2020), 25-31. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:6309441).