



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL SEREBRAL İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARI MODELİNDE VİSNAGİN İN FARKLI DOZLARDAKİ
NÖROPROTEKTİF POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. MEHMET SALİH ATAMA
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2023



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL SEREBRAL İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARI MODELİNDE VİSNAGİN İN FARKLI DOZLARDAKİ
NÖROPROTEKTİF POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. MEHMET SALİH ATAMA
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Dr.Öğr. Üyesi İBRAHİM BAŞAR

DİYARBAKIR-2023

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında desteğini gördüğüm ve asistanlık eğitimim boyunca yeri geldiğinde abim yeri geldiğinde hocam olan tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi İbrahim BAŞAR hocama teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Asistanlık eğitimim süresince tecrübelerini bizden esirgemeyen ve hayatımız boyunca karşılaşılabileceğimiz zorluklarla başatmenin püf noktalarını aşıl原因 sayın Prof.Dr.Adnan CEVİZ ve sayın Prof.Dr.Tevfik YILMAZ hocalarıma teşekkürü borç bilirim. Beraber çalıştığım cerrahi teknik, beceri ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocalarım Doç.Dr.Yahya TURAN, Doç.Dr.Hüseyin ÖZEVREN ve Dr.Öğr.Üyesi Abdurrahim TAŞ'a, ayrıca tezimin hazırlanmasında değerli zamanını ayırarak desteğini esirgemeyen Doç.Dr.Sinan BAHADIR hocama teşekkür ederim

Birlikte çalışma imkanı bulduğum, ekibin bir parçası olmaktan onur duyduğum Op. Dr. Kamuran AYDIN'a, Op. Dr. Barış ASLANOĞLU, Op.Dr.Sezer Onur GÜNARA, Op.Dr. Burak ATLAS, Op.Dr.Rıdvan ÇETİN'e, Birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım eş kıdemim Dr. Aziz ÇEVİK, değerli asistan arkadaşlarım Dr. Abdullah YİĞİT, Dr.Abdulkadir KANKILIÇ, Dr.Bariş ALTUN, Dr.Muhammed Mazlum KILIÇ, Dr.İsmail Behçet BAZ, Dr.Ahmet CEBE, Dr.Mehmet Akif ÇELİK, Dr.Volkan MİROĞLU, Dr.Tacettin KAYA, Dr.Ali Fırat YEL ve adını sayamadığım bütün hemşire ve personellere;

Tezimin histolojik incelemesini değerli zamanını ayırarak yapan ilgi ve özverisini esirgemeyen Dr.Öğretim Üyesi Uğur ŞEKER'e;

Bugünlere gelmemi sağlayan her zaman maddi manevi desteklerini sunan, dualarını esirgemeyen değerli anneme, rahmetli babama ve kardeşlerime;

Yıpratıcı ve yorucu asistanlık eğitimim boyunca yanımda olan yol arkadaşım sevgili eşime, biricik kızım Hatice Kübra'ya ve minik bebeğim Zeynep'e tüm kalbimle teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Mehmet Salih ATAMA, DİYARBAKIR 2023

Bu tez Dicle Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

(Projeno:TIP.22.024)

ÖZET

Ratlarda Deneysel Serebral İskemi Reperfüzyon Hasarı Modelinde Visnagin'in Farklı Dozlardaki Nöroprotektif Potansiyelinin İncelenmesi.

Mehmet Salih ATAMA, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Diyarbakır

Giriş ve Amaç: Serabral iskemi, beynin kan akışının azalmasına sekonder olarak nöral dokular için gerekli olan oksijenasyonun kesintiye uğramasıdır. Morbidite ve mortalitenin en önemli nedenleri arasında iskemik inme yer alır. İnme; hemorajik inme ve iskemik inme olarak ikiye ayrılır. Yaklaşık olarak inmelerin %88'ini iskemik inme oluşturur. İskemik inmelerin çoğunluğunu MCA'dan beslenen alanlarda görülür. İskemik inmede günümüzde 2 tip tedavi yaklaşımı öne pılandadır. Bunlar rekanalizasyon ve nöroproteksiyondur. Rekanalizasyonda kabul edilen tek medikal tedavi seçeneği rtPA'dır. rtPA'nın iskemik inmede ilk 4,5 saatte kullanılabilmesi sebebiyle kullanımı sınırlıdır. Bu nedenle kullanımı daha geniş tedavi protokolleri üzerinde çalışılmaktadır.

İskemik inmede bir dizi farklı mekanizmalar rol oynamaktadır. Nöroproteksiyon, bu biyokimyasal ve moleküler olayların önlenip veya yavaşlatılmasıyla ilgili beyni iskemiye karşı koruma gayretidir. Bu amaca uygun birçok antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik ve antisitotoksik ajanlar kullanılmıştır.

Kromon ve furan'ın bir bileşik türevi olan visnagin furanokromonu halk arasında kürdan otu olarak ta bilinen hıltan bitkisinde yoğun miktarda bulunmaktadır. Latince adı Ammi visnaga olan hıltan bitkisi yenilebilir yabani bitkiler arasında yer almakta ve Türkiye ve Fas gibi ülkelerde bulunmakta ve toplumda geleneksel tıpta yoğun şekilde kullanılmaktadır. Yapılan toksikolojik incelemelerde visnagin'in majör kaynağı olan kürdanotu'nun deney hayvanlarında yüksek dozlarda dahi toksikolojik bir etki göstermedi bildirilmiştir.

Bu bitkisel ürün ile yakın dönemde yapılmış olan araştırmalarda visnagin'in anti-inflamatuvar potansiyele sahip olduğu ve vazodilatör etki gösterdiği bildirilmiştir.

Yaptığımız çalışmada visnagin'in nöroprotektif etkisinin literatür göz önünde bulundurularak belirlenen düşük, orta ve yüksek doz uygulamalarında serebral iskemi reperfüzyon sonrası koruyucu etkisini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmamızda rastgele seçilmiş $328,53 \pm 47,20$ gr ağırlıkları olan 35 adet Sprague Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. 10 mg/kg ksilazin ve 80 mg/kg ketamin ile anestezi uygulandıktan sonra sağ common karotid arterden girerek internal karotid artere doğru yönlendirilen suture internal karotid arterden ilerletilerek MCA oklüde edildi. 90 dakika bekletip iskemi oluşturulduktan sonra suture geri çekilip reperfüzyon sağlandı. Sıçanlar 7'li 5 gruba ayrıldı. 1. Grup: işlem yapılmayan grup, 2. Grup: iskemi oluşturulan grup, 3. Grup: iskemi sonrası düşük doz olan 10mg/kg Visnagin verilen grup, 4. Grup: iskemi sonrası orta doz kabul edilen 30mg/kg visnagin verilen grup ve 5. Grup: iskemi sonrası yüksek doz kabul ettiğimiz 60mg/kg Visnagin verilen grup olarak belirlendi. İlk dozlar reperfüzyon sağlandıktan sonra diğer dozlar 24 saat arayla toplam 3 doz visnagin tedavisi verildi. Tüm visnagin tedavi dozları yapıldıktan sonra yeniden anestezi uygulanan sıçanlar önce torakotomi ile intrakardiyak kanları alındı. Sonra sıçanlar sakrifiye edilip beyin dokuları steril şartlarda çıkarıldı. Çıkarılan dokular oda sıcaklığında %10'luk formaldehit içerisinde fikse edildi.

Elde edilen kesitler hemtatoxilen&eosin ile boyandı. Kesitlerde konjesyon, perinöral ve perivasküler ödem, hücre çekirdeklerinde piknozis ve reperfüzyon sonrası kanama odakları değerlendirildi. Alınan kesitler ayrıca parafin bloklarına gömülerek üzerlerine Bax, TNF- α , CD86 ve CD163 antikorları damlatılıp oluşan sinyaller gözlendi.

Bulgular: Deneyimizde beyin dokusunda hemorajik alanlar, perinöral ödem, vasküler yataklarda konjesyon, nöron ve glial hücre çekirdeklerinde piknozis, İmmünohistokimya olarak Bax, TNF- α CD86 ve CD163 ekspresyonları incelendi. İskemi grubunda diffüz ve fokal ve hemorajik alanlar, nöron ve glialarda piknotik çekirdek miktarında artış, vasküler lümende konjesyon, perinöral ödem, Bax düzeyinde artış, CD163 immünopozitivitesinde azalma, TNF- α ve CD86 düzeyinde artış saptandı. İskemiden sonra 10mg/kg visnagin verilen grupta hemoraji alanlarının kısmen kaybolduğu, nöron ve glial hücrelerde piknotik çekirdekli hücrelerin oldukça

ABSTRACT

Investigation of the Neuroprotective Potential of Visnagin at Different Doses in an Experimental Cerebral Ischemia Reperfusion Injury Model in Rats.

Mehmet Salih ATAMA, Dicle University Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Diyarbakir

Introduction and Aim: Cerebral ischemia is the interruption of oxygenation required for neural tissues secondary to decreased blood flow to the brain. Ischemic stroke is among the most important causes of morbidity and mortality. Stroke; It is divided into hemorrhagic stroke and ischemic stroke. Ischemic stroke accounts for approximately 88% of strokes. The majority of ischemic strokes occur in areas fed MCA.

Currently, two types of treatment approaches are prominent in ischemic stroke. These are recanalization and neuroprotection. The only accepted medical treatment option in recanalization is rtPA. Since rtPA can be used in the first 4.5 hours in ischemic stroke, its use is limited. Therefore, its use is being studied on wider treatment protocols.

A number of different mechanisms play a role in ischemic stroke. Neuroprotection is the effort to protect the brain against ischemia by preventing or slowing down these biochemical and molecular events. Many antioxidant, anti-inflammatory, antiapoptotic and anticytotoxic agents have been used for this purpose.

Visnagin furanochromone, which is a compound derivative of cromon and furan, is found in high amounts in the hiltan plant, also known as toothpick grass among the people. The hiltan plant, whose Latin name is *Ammi visnaga*, is among the edible wild plants and is found in countries such as Turkey and Morocco and is used extensively in traditional medicine in the society. In the toxicological studies, it was reported that toothpick, which is the major source of visnagin, did not show a toxicological effect in experimental animals even at high doses.

In recent studies with this herbal product, it has been reported that visnagin has anti-inflammatory potential and has a vasodilator effect. In our study, we investigated the protective effect of visnagin's neuroprotective effect after cerebral ischemia

reperfusion in low, medium and high dose applications determined by considering the literature.

Materials and Methods: In this study, randomly selected 35 female Sprague Dawley rats weighing 328.53 ± 47.20 gr were used. After anesthesia with 10 mg/kg xylazine and 80 mg/kg ketamine, the suture directed towards the internal carotid artery by entering from the right common carotid artery was advanced from the internal carotid artery to occlude the MCA. After 90 minutes of ischemia, the suture was withdrawn and reperfusion was achieved. Rats were divided into 5 groups of 7.

1st Group: no treatment group, 2nd Group: ischemia-induced group, 3rd Group: 10mg/kg Visnagin group given as low dose after ischemia, 4th Group: 30mg/kg visnagin group which is considered medium dose after ischemia, and 5 Group: 60mg/kg Visnagin, which we accepted as high dose after ischemia, was determined as the group. After the first dose of reperfusion was achieved, other doses of visnagin were given 24 hours apart, in total, 3 doses. After all visnagin treatment doses were administered, the rats were re-anesthetized and their intracardiac blood was taken first by thoracotomy. Then the rats were sacrificed and the brain tissues were removed under sterile conditions. The excised tissues were fixed in 10% formaldehyde at room temperature.

The obtained sections were stained with hematoxylin&eosin. Congestion, perineural and perivascular edema, pycnosis in the cell nuclei, and bleeding foci after reperfusion were evaluated in the sections. The sections taken were also embedded in paraffin blocks, and Bax, TNF- α , CD86 and CD163 antibodies were dripped on them and the resulting signals were observed.

Results: In our experiment, hemorrhagic areas in brain tissue, perineural edema, congestion in vascular beds, pycnosis in neuron and glial cell nuclei, Bax, TNF- α CD86 and CD163 expressions as immunohistochemistry were examined. Diffuse and focal and hemorrhagic areas, increase in the amount of pycnotic nuclei in neurons and glia, congestion in the vascular lumen, perineural edema, increase in Bax level, decrease in CD163 immunopositivity, increase in TNF- α and CD86 levels were found in the ischemia group.

In the group given 10mg/kg visnagin after ischemia, the hemorrhage areas partially disappeared, the cells with pycnotic nuclei in neuron and glial cells were considerably reduced, the perineural edema was partially reduced, the Bax level, CD86, CD163 immunopositivity and TNF- α expression were similar to the ischemia group.

In the group given 30mg/kg visnagin after ischemia, the areas of hemorrhage were significantly reduced, and although perineural edema, pycnosis in neurons and glial cells were observed, this rate was considerably reduced compared to the ischemia group. It was observed that Bax level decreased, CD86 immunopositivity decreased compared to the group given 10mg visnagin, CD163 immunopositivity increased partially, and TNF- α expression decreased.

In the group given 60mg/kg visnagin after ischemia, it was observed that the subarachnoid hemorrhage traces were almost completely eliminated, the blood tissue cells transferred to the brain tissue were largely eliminated, the perineural edema disappeared, and the pycnotic nucleated cells in the neurons and glial cells were decreased. In the group given 60mg/kg visnagin treatment, Bax level was very close to the control group, CD163 immunopositivity was increased especially in edematous and hemorrhagic brain tissue areas, and it was similar to the control group, and there was a significant decrease in CD86 immunopositivity. It was observed that TNF- α level was expressed very low.

Conclusion: It has been observed that visnagin treatment is neuroprotective, reduces post-reperfusion bleeding and prevents apoptosis in cerebral ischemic stroke reperfusion injury. Therefore, it was concluded that it can be used in ischemic stroke reperfusion injury treatment protocols.

Key words: ischemia, reperfusion, apoptosis, visnagin, neuroprotective

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ.....	xii
KISALTMA LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İskemik İnmenin Tanımı	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. İnme Patofizyolojisi	4
2.1.3. Risk faktörler	5
2.1.4. İnmenin sınıflaması.....	7
2.1.5. Klinik Bulgular ve Glasgow Koma Skalası	10
2.1.6. Tanı	11
2.1.7. Komplikasyonlar.....	12
2.1.8. İskemik İnmenin Tedavisi.....	15
Trombolitik Tedavi	15
İntraarteryel Tromboliz ve Trombektomi	18
Diğer Tedaviler	20
2.2. Serebrovasküler Anatomi.....	20
2.3. Serebral Arteriyel Dolaşım ve Otoregülasyon	35
a) Otoregülasyon Mekanizmaları.....	37
b) Kan akışı ve serebral metabolizma ilişkisi	38
c) Serebral kan akımının düzenlenmesi	38
d) Endotel.....	39
e) Astrositler.....	39
2.4. İskemik İnmede Patofizyoloji Mekanizmaları	40
2.4.1. İskemik çekirdek ve penumbra	40
2.4.2. Hipoperfüzyona bağlı enerji yetersizliği	41
2.4.3. Oksidatif stres	41
2.4.4. Eksitotoksisite	42

2.4.5.	Kan Beyin Bariyer Fonksiyon Bozukluğu	42
2.4.6.	Hiperkoagülasyon ve trombosit aktivasyonu	43
2.4.7.	Mikrovasküler hasar.....	43
2.4.8.	İnflamasyon.....	44
2.4.9.	Hücre ölümü.....	44
2.4.10.	Reperfüzyon hasarı	45
2.5.	Deneyisel Serebral İskemi Modelleri.....	47
2.5.1.	Fokal Serebral İskemik İnme Modelleri	48
2.5.2.	Global Serebral İskemik İnme Modelleri.....	49
2.6.	Deneyimizde kullandığımız ilaç	51
3.	MATERYAL VE METOD	57
3.1.	Deney Grupları.....	58
3.2.	Pre op Anestezi	59
3.3.	Cerrahi İşlem.....	61
3.4.	Sakrifikasyon	74
3.5.	Rutin Histolojik Takip	77
3.6.	Hematoksilen ve Eozin boyama Protokolü	78
3.7.	İmmunohistokimya Protokolü.....	78
4.	BULGULAR.....	80
4.1.	Histopatolojik Değerlendirmeler.....	80
5.	TARTIŞMA	106
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	116
7.	KAYNAKLAR	117

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 İnmenin Sınıflaması.....	7
Şekil 2 Serebral arterler	21
Şekil 3. Willis poligonu	23
Şekil 4. İnsan (A) ve Sıçanda (B) Willis Poligonunun karşılaştırılması (59).	24
Şekil 5. Anterior serebral arterin segmentleri	25
Şekil 6. Orta serebral arterin segmentleri.....	26
Şekil 7. internal carotid arterin segmentleri. Source: Handbook of Neurosurgery. 9th ed.14	29
Şekil 8. Anterior serebral arterin dalları	30
Şekil 9. Otoregülasyonun basınç akım ilişkisi	37
Şekil 10. Serebrovasküler kontrolde değişik mekanizmaar (80)	39
Şekil 11. Ammi visnaga bitkisi	51
Şekil 12. Visnagin kimyasal yapısı	52
Şekil 13 Kontrol grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.	82
Şekil 14 Kontrol grubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.	83
Şekil 15 Kontrol grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.	83
Şekil 16 İskemi grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.	84
Şekil 17 İskemi grubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.....	85
Şekil 18 İskemi grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.....	85
Şekil 19 İskemi + 10 mg grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.	86
Şekil 20 İskemi + 10 mg grubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.	87
Şekil 21 İskemi + 10 mg grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.	88
Şekil 22 İskemi + 30 mg grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.	89
Şekil 23 İskemi + 30 mg grubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.	90
Şekil 24 İskemi + 30 mg grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.	91
Şekil 25 İskemi + 60 mg grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.	92
Şekil 26 İskemi + 60mg grubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.	93
Şekil 27 İskemi + 60 mg grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.	93
Şekil 28 Kontrol grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.	94
Şekil 29 İskemi grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.	95
Şekil 30 İskemi + 10 mg grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.	95
Şekil 31 İskemi + 30 mg grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.	96
Şekil 32 İskemi + 60 mg grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.	96
Şekil 33 Kontrol grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.	97
Şekil 34 İskemi grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.	98
Şekil 35 İskemi + 10 mg grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.	98
Şekil 36 İskemi + 30 mg grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.	99
Şekil 37 İskemi + 60 mg grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.	99
Şekil 38 Kontrol grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.	100
Şekil 39 İskemi grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.	100
Şekil 40 İskemi + 10 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.	101
Şekil 41 İskemi + 30 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.	101

Şekil 42 İskemi + 60 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.....	102
Şekil 43 Kontrol grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya.....	102
Şekil 44 İskemi grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya.....	103
Şekil 45 İskemi + 10 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya.....	104
Şekil 46 İskemi + 30 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya.....	104
Şekil 47 İskemi + 60 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya.....	105
Şekil 48 İmmünohistokimya analizlerinin istatistik sonuçlarının grafiksel görüntüsü.....	106

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1 Glasgow Koma Skalası (GKS) (25)	11
Tablo 2 Trombolitik Tedavi Endikasyonları ve Kontrendikasyonları	17
Tablo 3. Ammi visnaga türünün farklı ülkelerdeki geleneksel kullanımı.....	53
Tablo 4. İmmünohistokimyasal bulguların istatistiksel karşılaştırılması.....	105

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Cerrahi işlemden önce i.m. ketamin ve ksilazin uygulandı	59
Resim 2:Deneyimizde kullandığımız cerrahi aletler.....	60
Resim 3:Deneyimizde kullandığımız mikroskop.....	61
Resim 4:Cerrahialanın batikonla sterilizasyon sağlandıktan sonra izotonikle yıkanması ve steril yeşille örtünmesi	62
Resim 5:Boyun orta hat transvers cilt kesisi	63
Resim 6:Submandibüler glandüler doku, sternohyoid kas ve sternomastoid kasın görünümü	64
Resim 7:Lateralde: nervus vagus,medialde: karotis kommunis görünümü	65
Resim 8:External ve internal arterlerin görünümü.....	66
Resim 9:Nervus vagusun görünümü	67
Resim 10:Common carotid arterin proximalde sıkıca bağlanması	68
Resim 11 Kommon karotid arterin bifurkasyona yakın yerden geçici kliplenmesi	69
Resim 12:Common carotid artterin bifurkasyona yakın yerden gevşek bağlanması	69
Resim 13:Common carotid arterve carotid internanın klipsle geçici olarak kapatılması	70
Resim 14:Arteriotomi yapılan common carotid arterden süturu ilerletilmesi.....	71
Resim 15: Common karotid arter, external karotid arter, internal karotid arterin görünümü: sütürün internal karotide doğru yönlendirilmesi	72
Resim 16:Cilt ipek sütur ile kapatıldı	73
Resim 17:Çalışmamızda kullandığımız visnagin.....	74
Resim 18:Sagital planda rat beyninin görünümü.....	76
Resim 19: Alttan rat beyninin görünümü.....	76
Resim:20Üstten Rat beyninin görünümü	77

KISALTMA LİSTESİ

(AHA) American Heart Association

(ACA) Anterior serebral arter

(BA) Baziller arter

(VA) Vertebral arter

(ASA) American Stroke Association

(ATP) Adenozin trifosfat

(ACA) Anterior serebral arter

(BAA) Büyük arter ateroskleroza

(BNP) Brain natriüretik peptit

(BTA) Beyin bt anjiyografi

(DNA) Deoksiribo nükleik asit

(DSÖ) Dünya sağlık örgütü

(NO) Nitrik oksit

(NG) Nazogastrik sonda

(cGMP) Siklik Guanozin monofosfat

(GİS) Gastrointestinal kanama

(MI) Miyokard enfarktüsü

(İYE) İdrar yolu enfeksiyonları

(TNF) Tümör nekroz faktörü

(DVT) Derin ven trombozu

(TOAST) Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment

(CRP) C reaktif protein

(HDL) Yüksek yoğunluklu lipoprotein

(LDL) Düşük yoğunluklu lipoprotein

(TİA) Geçici iskemik atak
(HT) Hipertansiyon
(CO) Karbonmonooksit
(BT) Bilgisayarlı tomografi
(MRG) Manyetik rezonans görüntüleme
(DWI) Diffusion-weighted imaging
(FLAIR) Fluid-attenuated inversion recovery
(ADC) Apparent diffusion coefficient
(PET) Pozitron emisyon tomografisi
(SPECT) Single-photon emission computerized tomography
(LGE- MRI) Late Gadolinium Enhancement - manyetik rezonans imajine
(DMAH) Düşük molekül ağırlıklı heparin
(SH) Standart heparin
(İCA) İnternal karotid arter
(IU) İnternational unit
(İNR) İnternational normalized ratio
(aPTT) Activated partial thromboplastin time
(MCA) Middle cerebral arter
(NAD) Nikotinamid adenin dinükleotid
(NMDA) N-metil-D-aspartat
(NH₄Cl) Amonyum klorür
(KBB) Kan beyin bariyeri
(MMP) Matrix metalloproteinaz
(AİCA) Anterior inferior serebellar arter
(BAX) Bcl-2-associated X protein
(BCL-2) B-cell lymphoma 2
(PİCA) Posterior inferior serebellar arter

(SOD) Superoksid dismutaz
(NOX) NADPH oksidaz
(BDNF)Brain Derived Neurotrophic Factor
(IGF-1) Insulin Like Growth Factor-1
(CAM) Cell adhesion molecules
(MCAo) MCA oklüzyon
(KCL) Potasyum klorür
(PEG) Perkütan endoskopik gastrostomi
(CPR) Cardiopulmonary resustasyon
(DMSO)Dimetil sülfoksit
(JAK) Janus kinase
(ROS) Reaktif oksijen radikaller

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serebral iskemi, çeşitli nedenlere bağlı serebral arterlerin tıkanması veya arter çapının daralmasına bağlı beyne gelen kan akışının azalması ve nöral dokular için gerekli oksijenasyonun kesintiye uğramasıdır(1).

İnme, yıllık olarak yaklaşık 5.5milyon ölüm oranıyla dünya çapında ikinci en büyük ölüm sebebidir. Aynı zamanda, yaşayanların %50'sinin kronik bir engelli olmasıyla dünya çapında engelliliğin önde gelen nedenidir(2). İnme iskemik ve hemorajik olarak kategorize edilebilir. Bunların yaklaşık olarak %88'ini iskemik inme oluşturur. İskemik inmelerin de hemen hemen %70'i orta serebral arter(MCA) tıkanıklığına bağlı meydana gelir. Tıkanıklık sonucunda arterin suladığı alanın beslenememesi sonucu serebral iskemi ortaya çıkar. Serebral iskeminin risk faktörleri değiştirilemeyen(yaş, cinsiyet, genetik ve etnik köken) ve değiştirilebilen(sigara, alkol, hipertansiyon, obezite, diyabet ve diyet) risk faktörleri olarak ayrılır.

İskemik inme sürecinin karmaşık bir patogenezi olup serebral arterin tıkanmasıyla arterin beslediği bölgedeki hücrelerin yeterli miktarda oksijen ve beslenme ürünlerini alamamasıyla başlar. Beyin hemen hemen enerjisinin tamamını oksidatif fosforilasyonla sağlar, bu yüzden yetersiz beslenme durumunda hücrelerde aerobik solunum baskılanır. Böylece yeterli miktarda ATP üretilmez ve yetersiz ATP durumunda ise hücreler anaerobik solunuma geçer. ATP azalması sonucunda hücrelerde bulunan iyon pompaları bozulur. İyon pompalarının bozulması sonucunda hücre içine sodyum, klor, kalsiyum girişi artar; potasyum ise hücre dışına çıkar. Buna bağlı nöron ve glial hücreler depolarize olur. Enerji yetersizliğinde eksitator nörotransmitterler özellikle de glutamat salınır. Hücre dışında artan glutamatın, reseptörlerine bağlanmasıyla hücre içine daha fazla sodyum, klor ve kalsiyum girişine neden olur. Depolarizasyon böylece daha da artar. Hücre içinde kalsiyumun artması, birçok enzim sistemini aktifleyerek serbest oksijen radikali oluşmasına, mitokondriyal ve endoplazmik retikulum hasarına, DNA hasarına, hücre membran hasarına, hücrenin şişmesine ve sonuç olarak hücre ölümü gerçekleşir. Hücrenin ölümü ise nekroz ve apoptozis olmak üzere 2 mekanizma ile gerçekleşir.

İskemik serebral inmede nekrotik dokulara yönelik inflamatuvar bir süreç başlar. Bilhassa ilk 24 saatte penumbra(kurtarılması mümkün alan) çevresinde immun hücreler toplanır.

Hücrelerin iskemik hasarla sonuçlanabilecek olayların önlenip ve/veya yavaşlatılmasıyla iskemik hasardan etkilenmemesi durumuna nöroproteksiyon denir. Nöroproteksiyonun ana hedefi penumbradır. Nöroprotektif ajanlar deney hayvanlarında etkili sonuçlar vermesine karşın insanlarda aynı etkiyi gösterememiştir. Bundan dolayı standart bir nöroprotektif ajan ortaya konamamıştır. Hücre ölüm mekanizması basamakları nöroprotektif ajanların asıl hedefidir.

Visnagin, Kromon ve furan'ın bir bileşik türevi olan ve halk arasında kürdan otu olarak ta bilinen hıltan bitkisinde yoğun miktarda bulunmaktadır. Latince adı Ammi visnaga olan hıltan bitkisi yenilebilir yabani bitkiler arasında yer almakta ve Türkiye ve Fas gibi ülkelerde bulunmakta ve toplumda geleneksel tıpta yoğun şekilde kullanılmaktadır (3).

Yapılan toksikolojik incelemelerde visnagin'in majör kaynağı olan kürdanotu'nun deney hayvanlarında yüksek dozlarda dahi toksikolojik bir özellik göstermediğini bildirmiştir (4). Bu bitkisel ürün ile yakın dönemde yapılmış olan araştırmalarda visnagin'in anti-inflamatuvar potansiyele sahip olduğu ve vazodilatör etki gösterdiği bildirilmiştir (5). Zebrafishler üzerinde yakın dönemde yapılmış bir araştırmada doksorubisin kaynaklı kardiyomiyopatinin önlenmesinde visnagin'in güçlü bir ajan olduğuna yönelik sonuçlar gösterilmiştir (6). Ammi visnaga'nın ekstraktının ratlarda böbrek taşı oluşumunu önlediği ve renal kristal birikimini engellediği bildirilmiştir (7). Söz konusu bitkisel molekülün üzerinde yapılan daha detaylı araştırmalar ile visnagin'in farelerde akut pankreatitisi hafiflettiği ve bu aktivite esnasında antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterdiği rapor edilmiştir (8).

Planladığımız araştırmada visnagin'in nöroprotektif etkisinin literatür göz önünde bulundurularak belirlenen düşük, orta ve yüksek doz uygulamalarında koruyucu etkisinin olabileceğini düşünmekteyiz. Söz konusu hipotezimiz visnagin'in damar genişletici, anti-inflamatuvar özelliklerini beyinde oluşturulacak iskemi reperfüzyon hasar modeli yönünden inceleyerek ortaya koymayı amaçlamaktayız. Ayrıca söz konusu

çalışmamızda visnagin'in deneysel iskemi reperfüzyon hasar modelindeki anti-apoptotik ve anti-oksidan gücünün de araştırılması planlanmaktadır.

Bu deneysel çalışmamızda visnagin in düşük orta ve yüksek doz tedavisinin ratlarda deneysel serebral iskemi üzerindeki etkisinin immunohistokimyasal ve histopatolojik açıdan değerlendirme amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.İskemik İnmenin Tanımı

Serebral iskemi, beyin kan akışının yetersizliğine bağlı nöral dokular için ihtiyaç duyulan oksijenasyonun kesintiye uğramasıdır(1).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) inmeyi ansızın ortaya çıkan, 1 gün veya daha uzun süren, ölümle sonuçlanabilen, görünürde başka bir neden olmaksızın vasküler orijinli, fokal veya global serebral işlev bozukluğu ile ortaya çıkan klinik bulgular şeklinde tanımlamıştır (9).

İnme, yıllık yaklaşık 5.5 milyon ölüm oranıyla dünya çapında ikinci en büyük ölüm nedenidir. Aynı zamanda, hayatta kalanların %50'sinin kronik engelli olmasıyla dünya çapında engelliliğin önde gelen nedenlerinden biridir(2). İnme iskemik ve hemorajik olarak kategorize edilebilir. Bunların yaklaşık olarak %88'i iskemik inme kaynaklıdır. İskemik inmelerin de hemen hemen %70'i orta serebral arterin tıkanıklığına bağlı gelişir.

2.1.1. Epidemiyoloji

Epidemiyolojik verilerin çoğu, iskemik ve hemorajik (hem parankimal hemorajiler, hem de subaraknoid hemorajiler dahil) serebrovasküler hastalık inme çatısı altında birleştirse de, inmelerin büyük çoğunluğu neredeyse %87'si iskemik inmelerdir(10). Hipertansiyon, diabetes mellitus, atriyal fibrilasyon, yüksek kolesterol ve lipid seviyeleri, sigara/tütün kullanımı, fiziksel hareketsizlik, kötü beslenme, böbrek hastalığı ve aile sağılar. İnme için rapor edilen risk faktörleri genel kardiyovasküler hastalık öyküsü/genetik yatkınlığı içerir(10). Kadınlar, ırksal/etnik azınlıklar ve düşük eğitim geçmişine sahip olanlar da felçlerden orantısız olarak daha fazla etkilenir(10,11).

ABD'de, inme prevalansı 20 yaş ve üzeri kişilerde (toplam 7.2 milyon kişi) yaklaşık %2,7'dir ve yaşla birlikte 60 ve 80 yaş üstü kişilerde sırasıyla %6 ve %13'e yükselir(10). Teşhis ve tedavideki ilerlemeler sayesinde son birkaç on yılda felç ölüm oranları düşmüş olsa da, dünyada hala yılda 140.000'den fazla insan ölmektedir. Küresel olarak, inme prevalansı ve yıllık insidansı sırasıyla 42 milyon ve 16 milyondan fazladır. İnme, yıllık 6,3 milyon ölümden sorumlu olan ikinci önde gelen ölüm sebebidir(10).

2.1.2. İnme Patofizyolojisi

İskemik inme patofizyolojisinde temel neden nöronal yapılara kan akımının kesilmesinden kaynaklanır. Serebral otonöregülasyon, serebral kan akımının, perfüzyon basıncındaki orta seviye farklılığına rağmen kısmen sabit bir seviyede kalmasını sağlar. Serebral damarlardaki düz kaslar, perfüzyon basıncındaki değişikliklere direkt yanıt oluşturabilir, basınç arttığında kasılır ve basınç azaldığında gevşer.

İnme sırasında serebral otonöregülasyon bozulmaktadır. Otonöregülasyon ile serebral kan akımının devamı, tipik olarak 60 ile 150mmHg'lik ortalama arteriyel basınç aralığında meydana gelir. Üst ve alt sınırlar kişiye göre değişkenlik gösterir. Bu aralık dışında, beyin perfüzyon basıncındaki değişiklikler tolere edilemez ve beyin kan akımı artar yada azalır. Bu durumda basınç yüksek olduğunda beyin ödemi, basınç düşük olduğunda ise iskemi meydana gelir.

Beyin ve nöral dokular iskemiye kısa süreli bile olsa duyarlıdır, beyin vücut ağırlığının toplamda, yalnızca yüzde 2'si olmasına karşın, kalp debisinin ortalama yüzde 20'sini ister(12). İnme esnasında kan akımının beyin bir bölümünde veya tamamında kesintiye uğraması, beyin oksijenden ve glikozdan yoksun olmasına sebebiyet verir.

İnme çoğu zaman beyin sadece bir kısmını etkileyen, karakteristik bir biçimde tek bir damarı ve o damarın uzak segmentlerini içeren fokal iskemiden kaynaklanır. Bu damarı içeren beyin kısımları ve çevreleyen bölgeler daha sık etkilenir. Bu alanlar içerisinde, merkezi bir doku çekirdeğindeki hücreler, iskeminin zamanına bağlı olarak geri dönüşümsüz biçimde hasar alır ve nekroza gider. Bu alan infarktüs olarak isimlendirilir. Etkilenen damara yakın olmayan biraz uzak mesafedeki bir kısım hücreler, başka

damarlar aracılığıyla difüzyon ile azda olsa oksijen ve glikoz alması mümkündür. İşte kurtarılması mümkün olan bu doku bölgesi penumbra diye tanımlanır.

Penumbra alanında nöral yapılarda elektriksel bir sessizlik mevcut olup ancak henüz iskemik depolarizasyon oluşmamıştır. Bu bölgedeki nöral yapıların birkaç saat daha yaşaması mümkün olup eğer tekrar reperfüzyon sağlanırsa kurtarılabilirler. Akut iskemik inmenin tedavisinde bizim temel hedefimiz ve kurtarmaya çalıştığımız alan penumbra bölgesidir(12).

2.1.3. Risk faktörler

İnmenin risk faktörlerini değiştirilemez faktörler ve değiştirilebilir faktörler şeklinde iki gruba ayırabiliriz.

Değiştirilemez risk faktörleri:

Yaş: Yaş inme de en önemli risk faktörüdür. Yaş ile beraber atış göstermekte ve 55 yaşından sonra her 10 yılda bir risk 2 kat artar(13,14).

Cinsiyet: Erkeklerde inme insidansı daha yüksektir (E/K:1.25) fakat kadınların ileri yaş popülasyonu daha fazla olduğu için kadınlarda mortalite daha yüksektir.(15)

Etnik köken: Farklı etnik kökene sahip insanlarda inme insidansı da farklılık gösterir.

Genetik: Hem değiştirilemeyen hem de değiştirilebilir risk faktörlerini etkilemesi mümkün olup, kişinin aile bireylerinde geçirilmiş inme öyküsü varlığı inme riskini artırır. Ayrıca tek gen mutasyonları da inme patofizyolojisini etkiler. Bazı genetik hastalıkların (orak hücreli anemi) gibi klinik seyirlerin de inme görüldüğü bildirilmiştir. Genetik bir kısım polimorfizmler(9p21) de inmenin risk faktörü olabilir(16).

Değiştirilebilir risk faktörleri;

Hipertansiyon: İskemik inmede etkili ve önemli modifiye edilebilir risk faktörü hipertansiyondur. İskemik inmenin bütün çeşitlerinde riski arttırmaktadır.

Hipertansiyon aynı zamanda sistematik multi organ hasarı yaparak sekonder biçimde iskemik inmeye neden olabilir (17,18).

Diyabet: İnme riskini 2-6 kat yükseltir, mortalite oranını da yaklaşık %20 artırır (15)(12). Yapılan postmortem çalışmalarda diyabetli hastaların beyin dokuları incelendiğinde özellikle bazal ganglionlarda ve talamusta küçük serebral enfarktlar görülmüş. Diyabetli hastalarda laküner inme riski 2-3 kat daha fazla; geçici iskemik atak riski ise 3 kat daha fazla görülmektedir.

Sigara: İnme ile sigara arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. Sigara içenlerde inme riski 1,6 kat daha fazla görülür(19). Sigara kandaki karbonmonoksit (CO)'in artmasına neden olur. Artan bu CO endotel hasarı yapar. Ayrıca sigara kandaki fibrinojen miktarını ve trombosit fonksiyonlarına da etki eder. Bunların hepsi bir araya geldiğinde sigara içen kişilerde koagülasyona yatkınlık olur.

Atriyal fibrilasyon: İnmenin önemli risk faktörü olup yaşla birlikte inme riskini 2-5 kat artırır. İnmelerin yaklaşık olarak %24,6'sında atriyal fibrilasyon gelişir. Genellikle kardiyembolik inmeler atriyal fibrilasyon ile birliktelik gösterir. Kardiyembolik inmeler geniş ve yaygın enfarktlara sebep olur.

Koroner kalp hastalığı: Ateroskleroz ile inme arasında doğru orantılı bir ilişki mevcuttur. Aterom plak kalınlığı arttıkça inme riskini de artırır. Aorttaki aterom plaklarının kalınlığı 4 mm' den fazla olduğunda tekrarlayan inmeler açısından bağımsız bir risk faktörü oluşur.

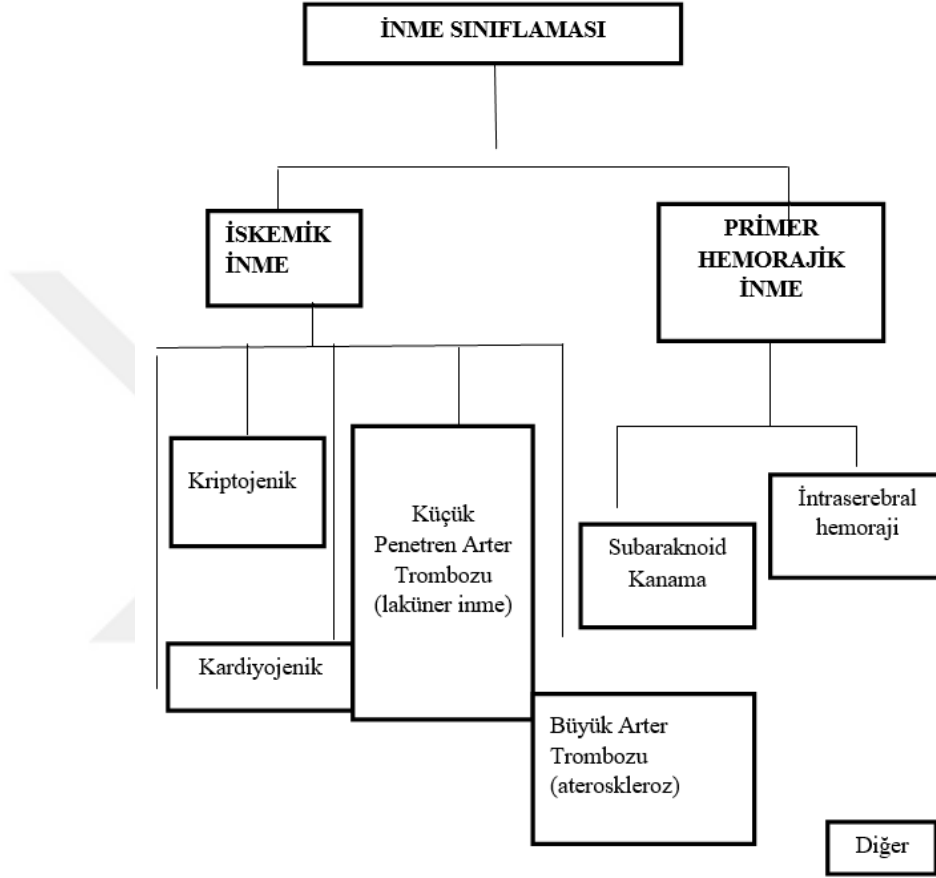
Dislipidemi: Düşük LDL kolesterol düzeyi büyük arterlerde ateroskleroz gelişiminde koruyucu iken küçük damarlardaki ateroskleroza ve kardiyembolik inme gelişiminde koruyucu değildir. Düşük trigliserid oranı da inmede koruyucu olmayabilir. Yüksek HDL düzeyi ise küçük damarlarda ateroskleroz gelişiminde koruyucudur, ancak büyük arterlerde ateroskleroz gelişiminde ve kardiyembolik inmede koruyucu değildir (20).

Alkol: İnme ve alkol ilişkisi tüketilen alkol miktarına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Alkol tüketimi az ve orta miktarda (haftada 150-300 mg) inmeye karşı koruma sağlarken aşırı miktarda alkol tüketimi (haftada 300 mg'dan fazla) inme için risk faktörü

olmaya başlar(21). Günde 40 mg'dan daha fazla alkol tüketenlerde inme riskinin arttığını gösteren çalışmalar kaydedilmiştir(22).

Fiziksel aktivite yetersizliği: Fiziksel aktivite yetersizliği inme riskini artırır. Beslenme alışkanlığında değişikliklerle beraber fiziksel aktivite inme riskini azaltır.

2.1.4. İnmenin sınıflaması



Şekil 1 İnmenin Sınıflaması

İnmeyi temelinde 2'ye ayırabiliriz: Hemorajik ve iskemik inme. Diğer sınıflandırmalar ise bu ana sınıflama baz alınarak yapılmaktadır.

Subaraknoid hemoraji sebebiyle oluşan inme, tüm inmelerin % 5'ine denk gelirken intraserebral hemoraji sebebiyle oluşan inme ise tüm inmelerin %10'nunu teşkil etmektedir.

Şu anda, uluslararası alanda en yaygın olarak kabul edilen iskemik inme alt tiplendirme sistemi TOAST (Trial of ORG 10172 in akut inme tedavisinde) sınıflandırma şemasıdır[23].

TOAST sınıflaması 5 gruba sahiptir:

1. Büyük arter ateroskleroza
2. Kardiyoembolizm
3. Küçük damar hastalığı
4. Bilinen bir başka sebepten kaynaklanan inme
5. Kriptojenik (Sebebi bilinmeyen) inme

Büyük arter ateroskleroza (BAA);

Bu tarz hastalarda; beyin ve/veya boyun damarlarının, büyük ihtimalle ateroskleroza bağlı ciddi (>%50) darlığı veya tıkanıklığına dair ya klinik yada radyolojik bulguları vardır. Bu vasküler bölge de geçici iskemik atak yada karotis üfürümü klinik olarak tanıyı destekler. BT veya MRG'de 1,5 cm'in üzerindeki serebellar yada kortikal lezyonların olması ayrıca beyin sapı yada subkortikal hemisferik infarktların olması, yüksek ihtimalle büyük arterlerin ateroskleroza işaret eder. Ekstrakraniyal yada intrakraniyal arterlerin radyolojik olarak uygun bir görüntüleme metoduyla %50'den fazla bir oranda darlığı olduğunun kanıtlanmış olması zaruridir. Ayrıca olası kardiyak emboli sebepleri de dışlanmalıdır.

Kardiyoembolizm;

Kalpten kaynaklı olduğu düşünülen bir emboli nedeniyle gelişen arteriyel oklüzyon hastalarını kapsar. Kardiyak emboli teşhisi koymak için, asgari bir tane kardiyak emboli

kaynağı belirlenmiş olmalıdır. Klinik ve radyolojik özellikleri BAA görülen hastalara benzerlik gösterir. Birden fazla vasküler alanda geçirilmiş geçici iskemik atak yada istemik emboli veya inme bulgusu, kardiyak inme teşhisini destek niteliğindedir. Tromboz yada embolinin BAA bağlı potansiyel nedenleri dışlanmış olması gerekir.

Küçük damar hastalığı;

Bu etiyolojik alt tip, laküner enfarkt şeklinde tanımlanmış hastaları kapsar. Hastalarda klinik olarak laküner sendromlardan birisi olmalı ve serebral kortikal fonksiyon bozukluğu olmamalıdır. DM(Diabetes mellitus) ve/veya HT(hipertansiyon) gibi serebrovasküler risk faktörlerinin olması tanıyı destekler. Hastada ayrıca çapı 1,5 cm'i geçmeyen beyin sapı veya subkortikal hemisferik lezyon bulunmalıdır. İhtimal dahilinde bir kardiyak emboli kaynağı ve ekstrakraniyal büyük arterler incelendiğinde enfarkt ile aynı tarafta bir arterde %50'den daha fazla darlık olmamalıdır.

Bilinen bir başka sebepten kaynaklanan akut inme:

Bu etyolojik faktör, aterosklerotik olmayan vaskülopati, diseksiyon, hiperkoagülabilité veya hematolojik bozukluklar gibi az görülen inme sebeplerini kapsar. Bu kategorideki hastaların klinik ve görüntüleme olarak BT/MRG ile değerlendirildiğinde, büyüklük ve lokalizasyondan bağımsız olarak akut iskemik inme bulguları olması gerekir.

Hematolojik ve romatolojik testler veya damarların görüntülenmesi gibi tanı amaçlı yapılan testler, bu sebeplerden birini ortaya koymalıdır. Ayrıca olası kardiyak emboli ve büyük arter ateroskleroza da dışlanmış olmalıdır.

Kriptojenik (Sebebi bilinmeyen inme);

Ne yaparsak yapalım bazen, inmeye sebep olan etyolojik etken güvenilir bir şekilde tesbit edilmez. Bazı hastalarda, geniş çaplı araştırma yapılmasına rağmen neden bulunmaz; bazılarında da araştırma daha az kapsamlıdır ve neden saptanamaz. Bu kategori, aynı anda birden fazla etyolojik faktörün bulunduğu ve hekimin net olarak teşhis edemediği durumları kapsar(24).

2.1.5. Klinik Bulgular ve Glasgow Koma Skalası

İskemik inme de klinik bulgular etkilenen vasküler yapıya göre değişir.

Anterior Serebral Arter(ACA) Enfarktlarında

Ayakta ve uyluk proksimalinde belirgin güç kaybı, Akinetik mutism, Anterograd amnezi, Yakalama refleksi, Taktil anomi ve İnkontinans şeklinde karşımıza çıkabilir.

Orta Serebral Arter(MCA) Enfarktlarında

Lezyonun olduğu tarafa konjüge bakış deviyasyonu(vulpian belirtisi), karşı tarafta ise motor ve duysal kayıp, hemianopsi, yüksek kortikal fonksiyon kaybı, dominant hemisfer lezyonlarında global afazi, dominant olmayan hemisfer lezyonlarında anozognozi(ihmal).

Vertebrobaziller Sistem Enfarktlarında

Vertigo,bulantı,kusma,homonim hemianopsi,ipsi lateral horner sendromu(pitozis-miyozis-anhidrozis), ipsilataeral yüz yarısında ve kontralateral vücut yarısında ağrı ve ısı duysunda kayıp, yutmada güçlük, çatallanmış ses, dizatri, serebellar bulgular, otonomik fonksiyon bozukluğu (kardiyo-respiratuvar bozukluklar) görülebilir.

Glasgow Koma Skalası

Bilinç düzeyinin belirlenmesinde 1974' ten beri genel olarak tüm dünyada, kullanılan Glasgow Koma Skalası (GKS) beyin işlevlerinin ve koma şiddetinin belirlenmesinde geçerli bir skrolama sistemidir ve 3 reaksiyonun sonucuna göre değerlendirilir (Tablo I) (25).

Tablo 1Glasgow Koma Skalası (GKS) (25)

GlasgowKomaSkalası(GKS)		
GözYanıtı(E)	MotorYanıt(M)	SözelYanıt(V)
- Spontan (4)	- KomutlaraUyuyor (6)	- Oryante (5)
- Sözeluyaranla (3)	- UyaranıLokalizeEdiyor (5)	- Konfüzyonel (4)
- Ağrılıuyaranla (2)	- Ağrılıuyarandankaçınma((4)	- Kelimeler (3)
- Yanıt yok (1)	normalfleksiyon)	- Sesler (2)
- Testedilemez (NT)*	- Ağrılıuyaranaglobalfleksöryanıt (3)	- Yanıtyok (1)
	- Ağrılıuyaranaglobalekstansöryanıt (2)	- Testedilemez/entübe(NT)*
	- YanıtYok (1)	
	- Testedilemez (NT)*	
*Lokalyaralanma,ödemya da değerlendirelemeyenduru mlariçin‘TestEdilemez (NT)’ işaretlenmelidir.	*Sedasyon/paraliziya değerlendirelemeyenduru mlariçin‘TestEdilemez(NT)’işaretlenmelidir.	*Entübasyon ya da değerlendirelemeyenduru mlariçin ‘TestEdilemez (NT)’ işaretlenmelidir.

2.1.6. Tanı

BilgisayarlıTomografi(BT): Kısa sürede çekimin yapılabilir olması, ayrıca kolay ulaşılabilir radyolojik görüntüleme olmasınedeniyle hem tanı hemde tedavide zaman kaybına yol açmadan işimizi büyük ölçüde kolaylaştırır. BT inmenin tanısında esas ve öncelikli radyolojik tetkik kabul edilir. Kontrastsız BT, hemorajik inmeyi ve diğer intrakraniyal yer işgal eden lezyonları hızlı bir şekilde ekarte etmek için gerekli ve en yaygın kullanılan görüntüleme tekniğidir. Ayrıca BT erken iskemik inme bulgularını da gösterebilir ancak bunların sensivitesi düşük olup spesifitesi yüksektir. Beyin iskemisi, erken BT bulguları; hipodansite(sitotoksik ödemden dolayı), gri-beyaz cevher farklı görünmesi, damardaki trombüs nedeniyle hiperdens damar bulgusu ve ödemden kaynaklı sulkusların silinmesidir.(26).

BT Angio: BT angiografi(BTA) Vasküler tıkanıklıkları saptamak için büyük değere sahip olup endovasküler tedavi için adayları seçmek amacıyla kapsamlı inme merkezlerinde giderek daha fazla kullanılmaktadır. Enfarkt alanını göstermesinin yanında vasküler yapılarda disseksiyonu, anevrizmayı ve kollateral dolaşımı gösterebilir. Akut beyin enfarktüsünü saptamak için azalmış parankimal kontrast

artışını(hipoattenüe alanlar) değerlendirir. Erken iskemik değişiklikler için duyarlılığı %65'e kadar artırabilir (27).

MRG: İnme teşhisi için altın standart olarak kabul edilir. MR'da DWI sekansı erken dönemde iskemik inmeyi saptamada daha sensitiv (%91-100) ve dahaspesifiktir(%86-100). MR'da bazı sekanslar beraber değerlendirildiğinde (DWI/ADC/GRE/FLAIR) inmemin şiddeti ve kronikliği hakkında daha iyi ve daha net bilgi verir. DWI moleküler harekete bağlı olarak dokudaki su miktarını ölçer ve ADC'nin azalmasına bağlı arteriyel oklüzyonu bir kaç dk ve saat içinde iskemik dokudaki farklılığı hiperintens olarak gösterir. ADC'nin azalması temel olarak iyonik membran hemostazının fonksiyon bozukluğu ve sitotoksik ödemle ilişkili intraselüler bölgede kendini gösterir. Radyolojik olarak DWI'de sinyal artışını ADC'de ise sinyal azalması şeklinde takip edilmesi halindebu irreversibil iskemi bulgusudur. DWI'de lezyonun boyutu ve görünümü önemli bir prognostik ve terapötikbelirteçtir. DWI'nin görünümü inme etyolojisi hakkında fikir verir. (28,29).

2.1.7. Komplikasyonlar

İskemik inme sonrası birçok komplikasyon görülebilir. Hemorajik transformasyon, epileptik nöbetler, üriner istem enfeksiyonları, aspirasyon pnömonisi, pulmoner emboli, beyin ödemi ve dekübit yaraları bunlardan sadece birkaçıdır. Komplikasyonları önlemek adına hastaların yakından izlemi çok önemlidir (30).

□ **Pulmoner komplikasyonlar:** İskemik enfarkt sonrası en çok görülen komplikasyonlarından biri pnömonidir. Enfarkt sonrası 2 gün içinde görülen ateşin en sık sebebi pnömonidir. Pnömoni, inme olduktan sonra gelişen komplikasyonlar içinde en yüksek mortaliteye sahip olup mortalite riskini 3 kat artırmaktadır(31). İnmeden sonra gelişen pnömoninin en sık sebebi aspirasyonken, risk faktörü ise 65 yaşından büyük olmak. (32). Beyin sapı gibi yaşamsal fonksiyonların bulunduğu önemli lokalizasyondaki enfarktlar mekanik ventilasyon bağımlılığını artırdığı için bu durum pnömoni sıklığında artış meydana getirir. Enfarkt sonrası gelişen diğer pulmoner komplikasyon desatürasyon ve apnedir. Enfarkttan sonraki ilk 48 saatte her 3 hastanın 2 sinde oksijen saturasyon düşüklüğü görülmektedir. Bu saturasyon düşüklüğü penumbra bölgesindeki hücrelerin beslenmesi için ihtiyaç duyulan kandaki oksijenizasyonu

olumsuz etkilemektedir. İnfarkt sonrası beyindeki solunum düzenleyici sistemlerin fonksiyon bozukluğuna bağlı uyku apnesine yada kas güçsüzlüğüne sebep olup buda hipoksiye neden olur. Akciğerleri etkileyen ve normal fonksiyonlarını bozan her durum oksijenizasyonun düşmesine buda kurtarılmayı bekleyen beynin penumbra bölgesini olumsuz yönde etkilemektedir.

□ **Kardiyak komplikasyonlar:** İskemik inme ile iskemik kalp hastalığının benzer risk faktörleri bulunur. Çoğu zaman iskemik inme yaşlılarda görüldüğü için ve onlarda da kardiyak problemler fazla görüldüğünden patofiziyojiiyi ayırt etmek güçtür. (33). Kalp kapak hastalıkları, Konjesif kalp yetmezliği, atriyal fibrilasyon iskemik inme riskini yükseltirken; iskemik inme de kalbin otonom kontrolünü bozarak kardiyak patolojilere sebep olur. Otonomik kontrol bozulunca ve fizyolojik stresle birlikte iskemik inmede MI ile ilişkili bakılan tetkikler dedeğerler yüksek bulunabilir (34,35). İskemik inmede nöral sistemlerce indüklenen myokard hasarı meydana gelir (myositolozis). Yapılan araştırmalar sağ insulada gelişen enfarktlarda myokardiyal iskemiye özgü enzim artışı olduğu tesbit edilmiştir. Troponin yüksekliği mortalite ve morbiditeyle ilişkili olduğu görülmüştür (36).

İskemik inme sonrası gelişen bir diğer kardiyak komplikasyon aritmilerdir. Bu aritmiler; supraventriküler taşikadi, atriyal fibrilasyon, ventriküler taşikardi ve ventriküler extra sistollerdir. Limbik sistem ve diğer otonom sistemlerle ilişkili olan insulada gelişen enfarktlar anormal kardiyak repolarizasyona sebep olur. Bilhassa sağ insuladaki enfarktlar, QT uzunluğu ve sol dal bloğunun birlikte görülmesi kötü prognozla ilişkilendirilir (37).

İskemik inmede mortalitenin en önemli sebeplerinden bir tanesi de konjesif kalp yetmezliğidir. HT, preload yük artışı. MI ve aritmi konjesif kalp yetmezliğine katkıda bulunur. İskemik inmede geçici ST yüksekliği ve T negatifliği görülür. BNP ise MI'dan farklı olarak iskemik inmede artar.

□ **Gastrointestinal komplikasyonlar:** İskemi sonrası gelişen disfaji %37 ile %78 sıklığında görülmektedir (38). Disfaji aynı zamanda iskemi sonrası meydana gelen aspirasyon pnomonisinin de en önemli risk etkenidir. Yutmanın merkezi beyin sapının alt yarımında olmasına rağmen disfaji daha çok tek taraflı hemisferi etkileyen iskemik

inmelerde görülür. Bu tür hastaların beslenmesi nazogastrik sondayla (NG) yada perkütan endoskopik gastrostomi (PEG) yardımıyla yapılır. İskemik inme sonrası gastrointestinal sistem(GİS) de kanama %1,5 oranında bulunmuştur (39). H2 reseptör antagonisti, sukralfat ve antiasid kullanımı gastrointestinal sistem (GİS) kanamalarında kullanılması uygun görülmüştür. Fakat H2 antagonist pnomoni riskinde artış meydana getirmektedir. Başka bir GİS komplikasyonunda fekal inkontinanstır. Akut iskemi sonrası fekal inkontinans görülme sıklığı %30-%56 civarındadır. Yüksek yaş, şuur değişiklikleri, büyük enfarkt alanı fekal inkontinans için predispozan etkenlerdir. Ayrıca antikolinergik ilaç alınması fekal inkontinans riskini artırır (40).

□ **Genitoüriner Sistemkomplikasyonları:** enfarkt sonrası idrar yolları enfeksiyonu(İYE) sık görülen bir komplikasyondur. İleri yaş, kadın cinsiyet ve enfarktın genişliği İYE eğilimini artırır. Antimikrobiyal kateterlerin kullanılması ve idrar kültür sonuçlarına uygun şekilde antibiyotik başlanması İYE riskini düşürür. Enfarkt sonrası ayrıca idrar inkontinansı da gelişebilir. Bu durum kortikospinal yolların etkilendiğini böylece detrusor kasların tonusunun artmış olduğu ve sonuç itibarıyla enfarkt sonrası idrar inkontinansı gelişebildiği bildirilmiştir(41).

□ **Venöz tromboemboli:** Enfarkt sonrası özellikle alt ekstremitelerde güçsüzlük bulunan hastalarda sıklıkla derin venöz tromboz (DVT) görülebilir. Enfarkt sonrası ilk hafta içinde görülme oranı yüksektir(42). İleri yaş, enfarktın genişliği emboli riskini artıran etkenlerdir. DVT, semptom vermeyeceği gibi alt ekstremitelerde ödem, ağrı, hassasiyet, ateş ve pulmoner embolinin klinik bulguları görülebilir.

Enfarkt sonrası erken mortalitenin en önemli sebeplerinden biri pulmoner embolidir. Pulmoner emboli riski, enfarkt sonrası 2. ve 4. hafta arasında sıklığı artar. Düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) ve standart heparin (SH) profilaksisi DVT ve pulmoner emboliye karşı koruma sağlarken kanama riskini artırabilir. Yüksek doz SH (günlük 15000 iu) pulmoner emboliye karşı koruma sağlarken intrakranial kanama ihtimalini artırır. Ancak düşük doz SH (günlük 15000 iu altı) DVT için koruma sağlarken pulmoner emboli ve intrakranial kanama üzerine etkisi bulunmamaktadır.

Yüksek doz DMAH (>6000 iu günlük) pulmoner emboli ve DVT için koruma sağlarken intrakranial kanama riskini yükseltir. Düşük doz DMAH (<6000 iu günlük)

pulmoner emboliye ve DVT için koruma sağlarken intrakranial kanama riskini değiştirmez(43).

□ **Kas iskelet sistemi komplikasyonları:** Kemik yapısı osteopenik tipte olan hastalarda yüksek mortalite ve morbiditeye sahip kalça fraktürleri, iskemik inmede gelişebilen komplikasyonlardır. İskemik inmenin ilk yılında normal popülasyonla kıyaslandığında kalça fraktürü görülme sıklığı 7 kat daha fazladır. Hastalarda antikoagulan kullanılması kemik kalitesini olumsuz etkiler. Fraktürler çoğu zaman güçsüz olan ekstremitelerde görülür. Enfarkt sonrası ortaya çıkabilen denge kaybı, konvülsiyon, motor disfonksiyonu gibi nedenlerden kaynaklı düşme atakları görülebilir. Bu yüzden de kalça kırıkları en sık görülen kırık tiplerindendir.

□ **Depresyon:** Depresyon derecesiyle ilgili veriler net değilken enfarkt sonrası depresif belirgin olmayan semptomlar çoğu hastada görülebilir. (44).

□ **Yorgunluk:** Anemi, hipotiroidi, enfeksiyon, adrenal yetmezlik ve depresyon da yorgunluğa zemin hazırlar. Ayrıca İskemik enfarkt sonrası yorgunluk genel bir komplikasyon olarak görülebilir.

□ **Ateş:** İskemik enfarkt sonrası ilk 3 günde %60 oranında görülür(45). Geniş enfarktlarda ateş daha sık görülebilir.

□ **Dekübit yaraları:** Özellikle yatalak olan hastalarda dekübit yaraları sık gelişir. Hastanın erken mobilizasyonu, 2 saatte bir pozisyon değişikliği, havalı yatak kullanılması, topuk altına yastık bırakılması dekübit yaralarını önlemek için yapılabilecek önemli etmenlerdir.

2.1.8. İskemik İnmenin Tedavisi

Akut iskemik inmenin iki tedavi şekli bulunur bunlar intravenöz trombolizis ve mekanik trombektomidir. İlk 6 saat içinde hastaneye ulaşabilen hastalara vakit kaybetmeden Beyin BT ve Beyin BT Anjiyografi beraber çekilmelidir.

Trombolitik Tedavi

Akut iskemik inmede vasküler yapı içinde kan akımını engelleyen fibrinin, plazmin ile

eritilmesi trombolitik tedavinin esasını teşkileder. Trombolitik tedavide kullanılan plazminojen aktivatörleri plazminojeni plazmine çevirerek fibrinin parçalanmasını sağlar. Böylece yeniden kan akımı sağlanıp, dokunun reperfüze olması sağlanır ve daha çok penumbra dokusu kurtulmuş olur. Fibrinolitik tedavide kullanılan ajanlar olan streptokinaz ve ürokinaz birinci kuşak plazminojen aktivatörleridir ve nonselektif çalışırlar. Tedavide kullanılan rekombinant doku plazminojen aktivatörü(r-tPA) ise fibrine bağlı durumdaki plazminojene selektiftir(46).

ASA/AHA(AmericanStrokeAssociation/AmericanHeartAssociation)aracılığıyla iv r-tPA tedavisinin, iskemik inme semptomları oluşuktan sonraki ilk 3 saat içinde hastaneye başvuran hastalara verilmesi önerilmektedir.Seçilecek uygun hastalar için bu süre 4,5 saate kadar uzatılabilir.İskemik inme ile başvuran hastaların en az yarısının zamanı olan ilk 60 dakika içerisinde bu tedaviden faydalanması hedeflenmelidir.

İntravenöz r-tPA tedavisi dozu 0,9 mg/kg (maksimum doz 90 mg) olup,dozun %10' u 1 dakika boyunca bolus şeklinde verildikten sonra geri kalan kısmı 60 dakika içerisinde hastaya verilir. İv rtPA tedavisinin başlıca komplikasyonları, intrakraniyal kanama(%6), anjiyoödem (%5) ve majör sistemik kanamadır (%2).

Tedavi sonrasında hasta en az 24 saat inme ünitesinde vital bulguları ve nörolojik muayenesi ilk 2 saatte 15 dakikada bir, sonraki altıncı saate kadar 30 dakikada bir ve sonraki dönemde saatte bir olmak üzere kontrol edilecek şekilde takip edilmelidir. Trombolitik tedavi endikasyonları ve kontrendikasyonları tabloda verilmiştir (47).

Tablo 2 Trombolitik Tedavi Endikasyonları ve Kontrendikasyonları

Trombolitik tedavi uygulama kriterleri

- Ölçülebilir nörolojik defisite neden olan iskemik inme tanısı
- Semptomların tedavinin başından en fazla 3 saat önce başlamış olması
- 18 yaşından büyük olması
- r-TPA uygulamasından 3 ile 4,5 saat önce semptomların başlamış olması (yaş $\leq$ 80, stroke ve DM öyküsü olmaması, NIHSSskoru $\leq$ 25, oral antikoagülan kullanılmaması, orta serebral arter bölgesinin üçte birinden daha fazlasını içeren iskemik hasarın beyin görüntüleme kanıtının olmaması)

Mutlak dışlama kriterleri

- Son iyilik hali zamanının 3 veya 4,5 saatten uzun olması
- Görüntülemelerde herhangi bir tip akut kanama (intracerebral, subaraknoid, subdural) veya öyküsü
- BT’de demarke ve büyük alanda hipodansite
- 3 ay içinde önceki iskemik inme veya şiddetli kafa travması
- Son 3 ayda intrakraniyal/ intraspinal cerrahi
- 21 gün içinde GI malignitesi veya GI kanaması
- Akut hastane içi dönemde ortaya çıkan akut travma sonrası beyin enfarktüsü
- Tedaviye rağmen sistolik kan basıncı >185 mmHg veya diyastolik kan basıncı >110 mmHg olması
- Trombositopeni (<100.000)
- INR $>1,7$, aPTT >40 sn veya Protrombin zamanı >15 sn
- Önceki 48 saat içinde düşük molekül ağırlıklı heparin kullanımı
- Glikoprotein IIb/IIIa reseptör inhibitörlerinin kullanımı
- Güncel enfektif endokardit
- Bilinen veya şüphelenilen aortik ark diseksiyonu
- İntra aksiyal, intrakraniyal neoplazm
- Kang likoz <50 mg/dL (öncesinde düzeltilmeli)

Göreceli dışılamakriterleri

- Komprese edilemeyen arterlerin son 7 gün içinde ponksiyonu
 - Arteriovenöz malformasyon
 - Dural ponksiyon
 - Göz kanaması
 - Önceki 14 gün içinde majör cerrahi veya majör travma(baş dahil değil)
 - Malignite
 - Menstrüasyon
 - Miyokardiyal enfarktüs
 - Diğer kardiyak durumlar
 - Gebelik
 - Başlangıçta nöbet
 - Kanamasız intrakraniyal anevrizma
-

İntraarteryel Tromboliz ve Trombektomi

İntraarteryel trombolizin genellikle kanama riski bulunduğu için iv-rtPA uygulanamayan hastalarda ikinci seçenek olarak düşük doz trombolitik ajanın trombüs içine veya yakınına lokal infüzyon şeklinde verilmesi işlemine denir. Tekbaşına intravenöz r-tPA'nın başarı riskinin düşük olduğu ve girişimsel olarak lezyona ulaşmanın kolay olduğu (MCA veya baziler arter gibi intrakranial arter lezyonu olan veya carotis internanın distal tıkanıklıklarında) hastalarda r-tPA tedavisine eklenerek pozitif sonuçlar elde edilmektedir(48).

Mekanik tedavi yaklaşımları ise trombüsün parçalanıp çıkartılması ve r-tPA'nın penetrasyonunun artırılması prensiplerine dayanır. Farklı yöntemlerle trombüsün tutulup çıkartılması, aspire edilmesi ile veya stentle müdahale edilerek, revaskülarizasyon yeniden sağlanabilir. Akut anterior dolaşım iskemik inmesi olup, son iyilik hali 6-24 saat öncesi olan hastalar mekanik trombektomiden fayda görebilir(49). Endovasküler girişim yapılması düşünülen hastaların kontrendike bir durumu yoksa iv r-tPA almasında sakınca bulunmamaktadır(50).



Diğer Tedaviler

Antikoagülan ilaçlar (düşük molekül ağırlıklı heparin veya heparin gibi antikoagülan ajanlar) akut inme tedavisinde özellikle atriyal fibrilasyon kaynaklı iskemik olayların erken evrede tekrarlamasının önüne geçmek amacıyla kullanılmaktadır ancak ortaya çıkan komplikasyonlar sebebiyle kullanımı giderek azalmaktadır. Düşük molekül ağırlıklı heparin(DMAH) tedavisi çalışmalarının genelinde erken kanama riskini artırmıştır(51).

Antiagregan tedavide kullanılan ajanlar, aspirin(ASA), tiklopidin, klopidoğrel, dipiridamol ve glikoprotein IIb/IIIa antagonistleri olup, akut iskemik inmede üzerinde en çok araştırma yapılmakta olan antiagregan ajanlardan biri aspirindir. Bu hastalarda kontrendikasyon yoksa ve BT ile hemorajik inme dışlanmış ise, ASA' nın bütün hastalarda kullanılması önerilmektedir. Çalışmalarda ASA başlangıç dozunun 160 ve 326 mg aralığında olacak şekilde aynı sonuçlar elde ettiği gösterilmiştir(52)(53). İvr-tPA verildikten sonraki ilk 24 saatlik dönemde ASA verilmesi kontrendikedir (54). Klopidoğrel ve ASA' nın birlikte verilmesi görece olarak tekli verilmelerinden daha etkili bulunmuş ancak kanama riskin artırdığı saptanmıştır (55).

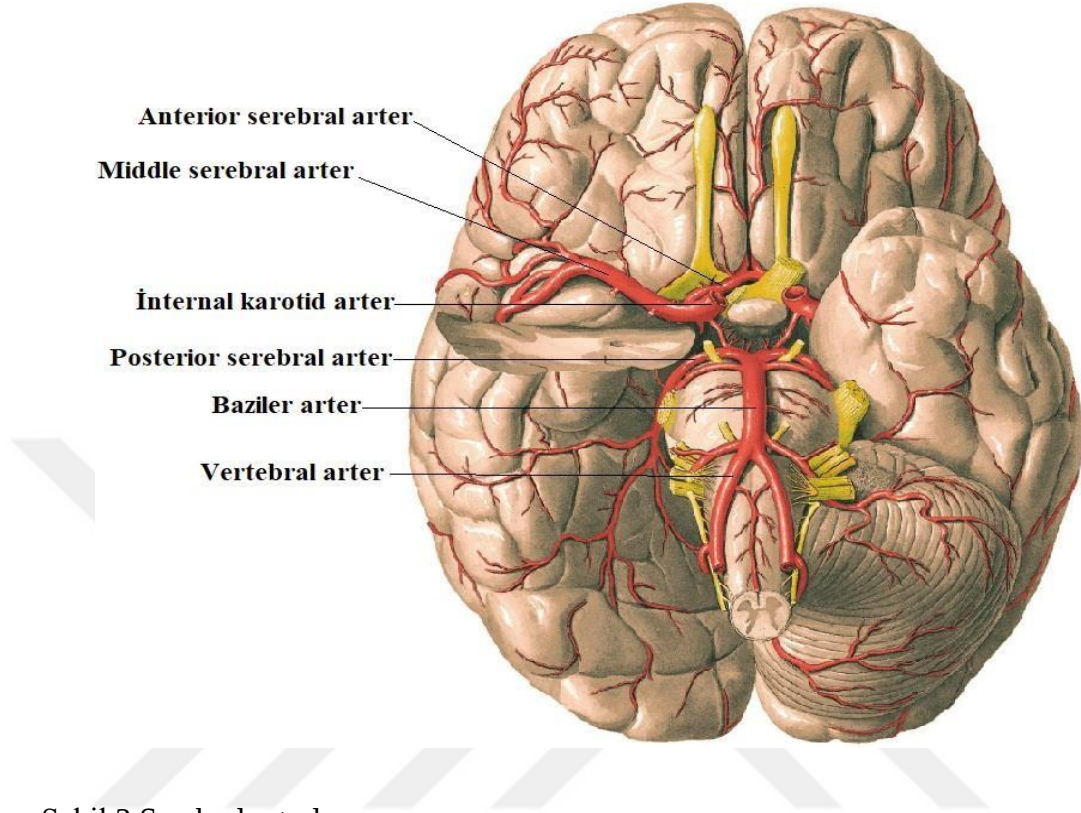
Fransa Nörovasküler Topluluğu orta serebral arter(MCA) ve internal karotid arter(İCA) oklüzyon gibi proksimal oklüzyonlar da mekanik trombektomi, intravenöz trombektomi ile birlikte tamamlayıcı bir tedavi olarak tavsiye eder. Büyük damar tıkanıklığı olup İntravenöz tPA kontraendikasyonu olan hastalara mekanik trombektomi önerilmelidir(56).

2.2.Serebrovasküler Anatomi

Beynin arteriyel kan akımı, arkus aortadan köken alan dört ana arter aracılığıyla sağlanır. Bu arterler, beynin anterior bölgesinde sağ ve sol internal karotid arter olarak internal karotid sistemini, posterior bölgesinde ise sağ ve sol vertebral arter olarak vertebrobasiller sistemi oluştururlar.

Hemisferlerin kanlanması anterior serebral arter, middle serebral arter ve posterior serebral arterler aracılığıyla sağlanmaktadır (Şekil 2). Serebellumun kanlanması ise

posteriyor inferiyor serebellar arter(PİCA), süperiyor serebellar arter ve anterior inferiyor serebellar arterler(AİCA) aracılığıyla sağlanmaktadır (57, 58).



Şekil 2 Serebral arterler

2.2.1. Willis Poligonu

Willis poligonu (Circulus arteriosus cerebri) Thomas Willis tarafından 1664 yılında tanımlanmış olup kendi adı ile de anılmaktadır. Willis poligonu arterlerden oluşan çokgen olup, beynin tabanında interpedunculer cistern de, infundibulum ile optik kiazma etrafında yer alır internal karotid arter ve baziler arterin dalları ve bu dallar arasındaki anastomozlardan oluşan arter halkasıdır

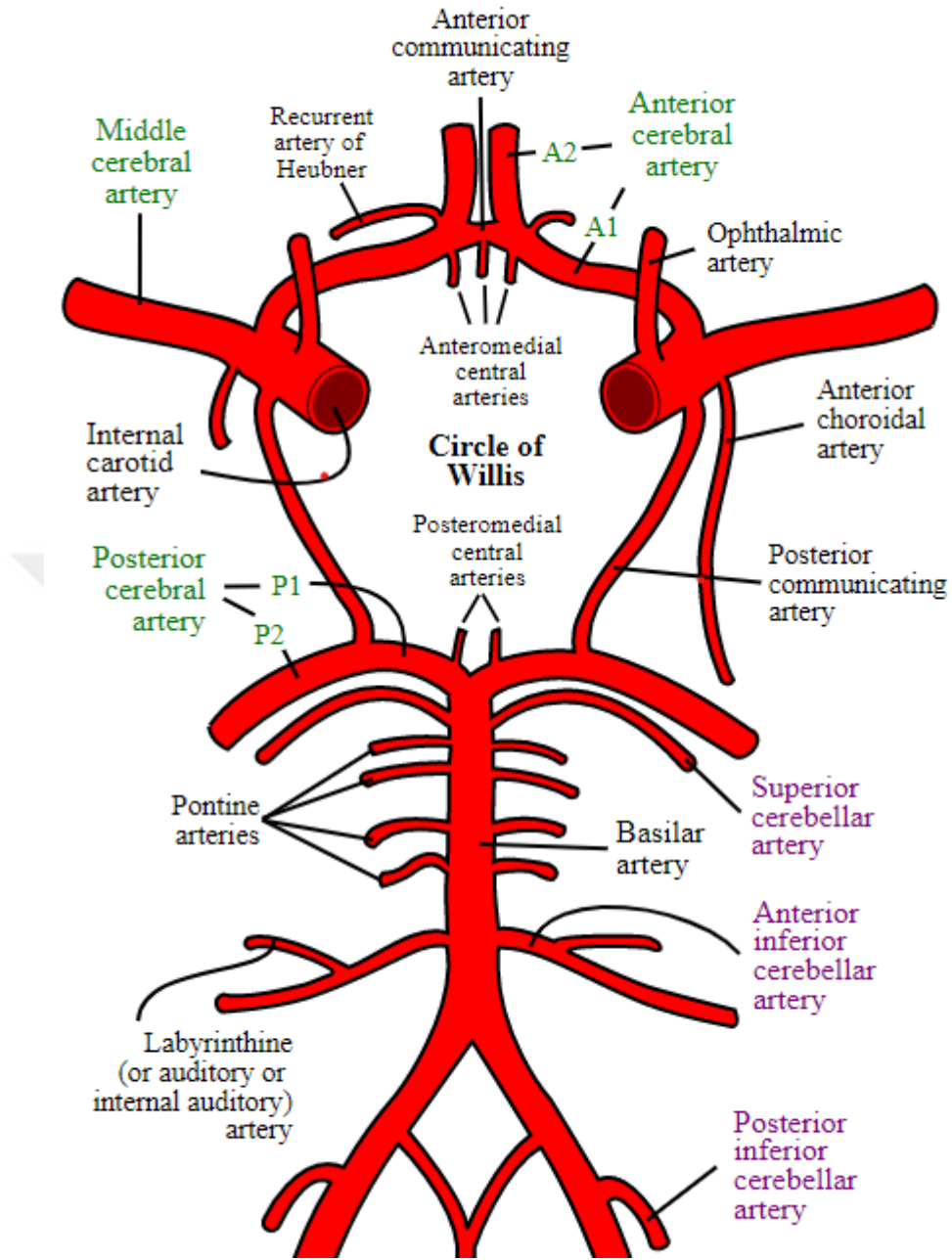
İnternal karotid arterden çıkan anterior serebral arter, frontal lobun ve paryetal lobun medial kısmını, anterior internal kapsülü ve bazal gangliyonların anterior kısmını beslemektedir.

Karotid sistemde yer alan middle serebral arter, kortikal olarak frontal lobun ve paryetal lobun lateral bölümlerini, temporal lobun anteriorunu ve lateralini, putamen, globus pallidus ve internal kapsülün kan akımını sağlar.

. Bu arterlerden ayrılan perforan dallar ise diensefalon, internal kapsül ve bazal gangliyonlar gibi beynin derin bölümlerinin beslenmesini sağlar.

Baziler arterden çıkan posteriyor serebral arter, temporallobun posterioer ve medialini, oksipital lobu ve talamusun dolaşımını sağlar. Vertebrobaziler sistemden ayrılan diğer dallar da, beyin sapı, serebellum, spinal kord, talamus, internal kapsül ve bazal gangliyonların dolaşımını gerçekleştirir. Willis poligonunun temel fonksiyonu kan akımının kesintisiz olmasını sağlayarak beyni iskemiye karşı korumaktır. Willis poligonu her iki sistemden gelen kanın beynin tüm bölümlerine mütemadiyen dağıtılmasını sağlar. Bu sistem sayesinde beyinde herhangi bir arterin tıkanması halinde bu willis poligonu aracılığıyla gerekli kan dolaşımı sağlanmaktadır.

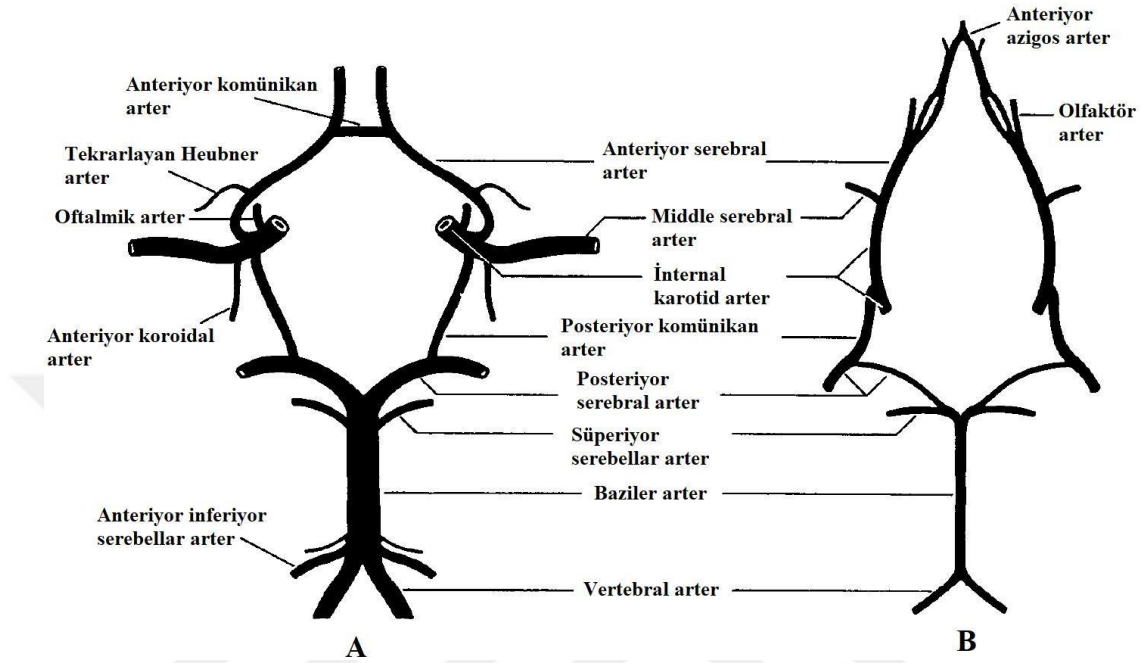
İnternal karotid sistemde oklüzyon olması durumunda vertebral arter aracılığıyla vertebrobaziller sistemde oklüzyon gelişmesi halinde internal karotid arter aracılığıyla Willis poligonu ile dolasım sağlanır. Böylece beyin kan akımı kesintisiz devam eder. Bazı insanlarda posterior komunikan arter çok ince olabilir, böyle bir durumda ana arterlerden biri tıkanıldığında o bölge yeterli kanı alamaz. İnternal karotid arteri tek taraflı klemlemek zorunda kaldığımızda bu durumugöz önünde bulundurmalıyız.



Şekil 3. Willis poligonu

İnsanlarda Willis poligonu temelde anterior serebral arterler, posterior serebral arterler ve posterior kommünikan arterlerden oluşurken, sıçanlarda ise farklı olarak internal karotid arterler de Willis poligonunun yapısına katılmaktadır (Şekil 4,B) (59). Ayrıca Anterior kommünikan arterler insanda varken sıçanlarda yoktur. olfaktör arterler de sıçanlarda belirgin iken insanlardayoktur. Ortak olarak hem

insanlarda hemde sıçanlarda middle serebral arterler talamus ve bazal gangliyonları beslemektedir (60).

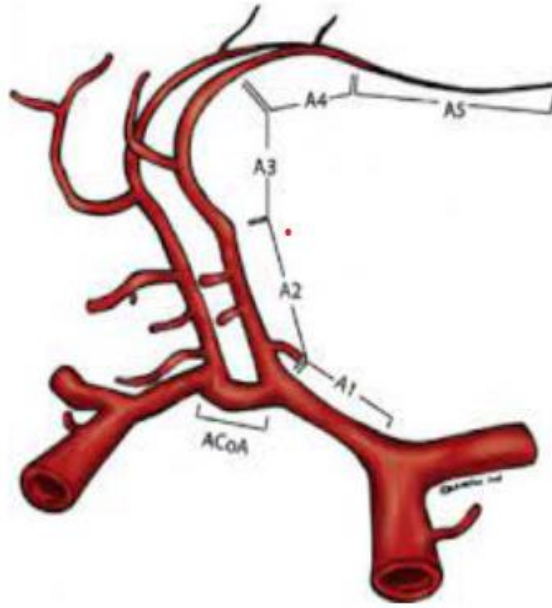


Şekil 4. İnsan (A) ve Sıçanda (B) Willis Poligonunun karşılaştırılması (59).

2.2.2. İntrakraniyal serebral arterierin anatomik segmentleri

Anterior serebral arter (ACA): 5 Segmentten oluşur

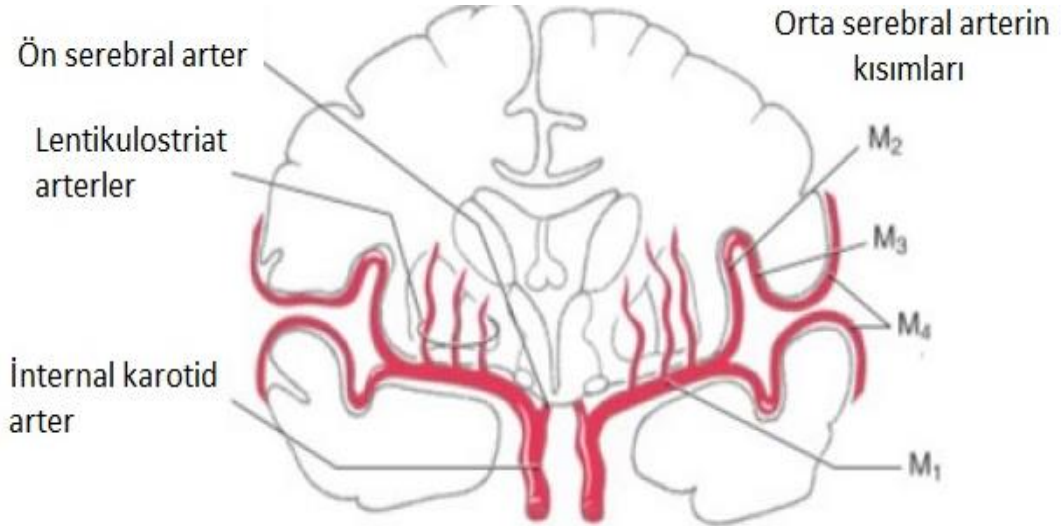
- + A1: bu segment internal karotid arterden başlayıp her iki ACA'yı birbirine kavuşturan anterior komünikan arter bileşkesine kadar olan kısımdır.
- + A2: AcomA'dan kallozomarginal arterin dalanma noktasına kadar olan ACA segmenti. Burdan çıkan en önemli yapı heubner in rekürren arteridir. Bu segmentten 2 önemli arter daha çıkar. Bunlar *orbitofrontal* ve *frontopolar* arterlerdir.
- + A3: kallozomarginal arterin dalanma noktasından korpus kallozumun üst yüzeyine ve genu'nun 3 cm posterioruna dek uzanan segment
- + A4: perikallozal
- + A5: terminal dal (61).



Şekil 5. Anterior serebral arterin segmentleri

Orta serebra arter(MCA= middle cerebral artery):

- + M1 (sfenoidal) başlangıç noktasından bifurkasyona kadar olan MCA (orta serebral arter) (horizontal segment) segmenti
- + M2 (insular)bifurkasyondan silvian fissürden çıkışa kadar olan MCA segmenti
- + M3(operkuler) segmenti insulanın sirküler sulkusundan başlar ve silviyan fissür operkulumda sonlanırlar
- + M4 (kortikal) lateral konveksitedeki dallar oluşturur (61).



Şekil 6. Orta serebral arterin segmentleri

Posrerior serebral arter (PCA)

- + P1: başlangıç noktasından posterior komünikan artere (PcomA) kadar olan segment (mezensefalik, prekomünikan, sirküler, pedünküler, baziler isimleri de verilir). Uzun ve kısa sirkumfleks ve talamoperforan arterler P 1 'den çıkar
- + P2: PcomA başlangıcından inferior temporal arterlerin başlangıcına kadar olan segment (ambient, postkomünikan, perimezensef alik olarak da adlandırılır), P2 ambient sisterni çaprazlar.

Hipokampal, anterior temporal, pedünküler perforan ve medial posterior koroideal arterler P2 kısmından köken alır.

- + P3: inferior temporal dalların çıkışından terminal dalların başlangıcına kadar olan segment (kuadrigeminal segment olarak da bilinir). P3 kuadrigeminal sistern'den geçer.
- + P4: parietooksipital ve kalkarin arterlerin başlangıcından sonraki segmenttir. PCA'ın kortikal dalları bu segmentde yer alır (62,63).

2.2.3. Anterior Dolaşım

Internal Karotid Arter(ICA)

Tek taraflı karotid arterin ani kapatılması insanların % 15-20'sinde i inmeye (stroke) yol açar.

ICA'nın segmentleri ve dalları(64).

C1 (servikal): karotid bifurkasyonundan başlar. Karotid kılıf içinde internal juguler ven (IJV) ve vagus siniri ile birlikte seyreder. Çevresi postgangliyonik sempatik sinirler (PGSS) ile sarılıdır. Eksternal karotid arterin posterior ve medialinde yer alır. Dalı yoktur.

C2 (petröz): hala PGSS ile çevrilidir. Foramen laserumun (f-las) arka köşesinde sonlanır (Meckel oluğunda bulunan Gasser ganglionunun inferomedialinde)

C3 (laserum): foramen laserumun üstünden (içinden değil) geçerken Lateral yayı oluşur. Foramen laserumun kanaliküler parçasında jukstasellar pozisyona yükselir, petrolingual ligamenti geçerken durayı deler ve kavernöz segmente dönüşür. Buradaki dalları (genellikle anjiyografide görülmezler):

A. karotikotimpanik (her zaman görülmez) = timpanik kaviteye

B. pterigoid (vidian) dal: foramen laserumdan geçer, %30 oranında görülür, pterigoid kanal arteri olarak devam edebilir

.

C4 (kavernöz): sinüsü döşeyen vasküler membran ile örtülüdür ve çevresinde hala PGSS ağı bulunur. Önce öne, sonra süperomediale doğru ilerler, arkaya kıvrılır (medial loop), horizontal olarak seyreder ve anterior klinoid proses'e doğru öne kıvrılır (anterior loop). Petrolingual ligamentten başlar Proksimal dural halkada sonlanır (ICA'ı çevresel olarak kısmen sarar). Pek çok dalı vardır. Ana dalları;

A. meningohipofiziyal trunkus (en büyük ve en proksimalde)

1. tentoryal arter (Bernasconi ve Cassinari arteri)

2. dorsal meningeal arter

3. inferior hipofiziyal arter (= hipofizin posterior lobu): tıkanması doğum sonrası gelişen Sheehan nekrozuna neden olur, ancak stalk korunduğu için diabetes insipidus (DI) nadirdir.

B. anterior meningeal arter.

C. kavernöz sinüsün inferior parçasına giden arter (%80 oranında bulunur)

D. kapsüller arter (McConnel'in- %30 oranında bulunur): hipofiz kapsülünü besler(65).

C5 (klinoid): Proksimal ve distal dural halka arasında seyreden kısımdır. ICA'nın tamamen intradural kompartmana geçtiği distal dural halkada sonlanır(ICA'nın çevresini tamamen sarar)

C6 (oftalmik): distal dural halkada başlar, PcomA çıkışından hemen önce sonlanır

A. oftalmik arter: ICA'dan çıkışı %89 oranında kavernöz sinüs distalindendir (%8 intrakavernöz çıkışlıdır ve %3 oranında bulunmaz). Optik kanaldan geçerek orbitaya ilerler. Lateral anjiyografide tipik bayonete benzeyen "kıvrım" görünümü vardır.

B. süperior hipofiziyal arter: dalları = hipofizin ön lobunu ve stalkı besler (supraklinoid ICA'nın ilk dalıdır).

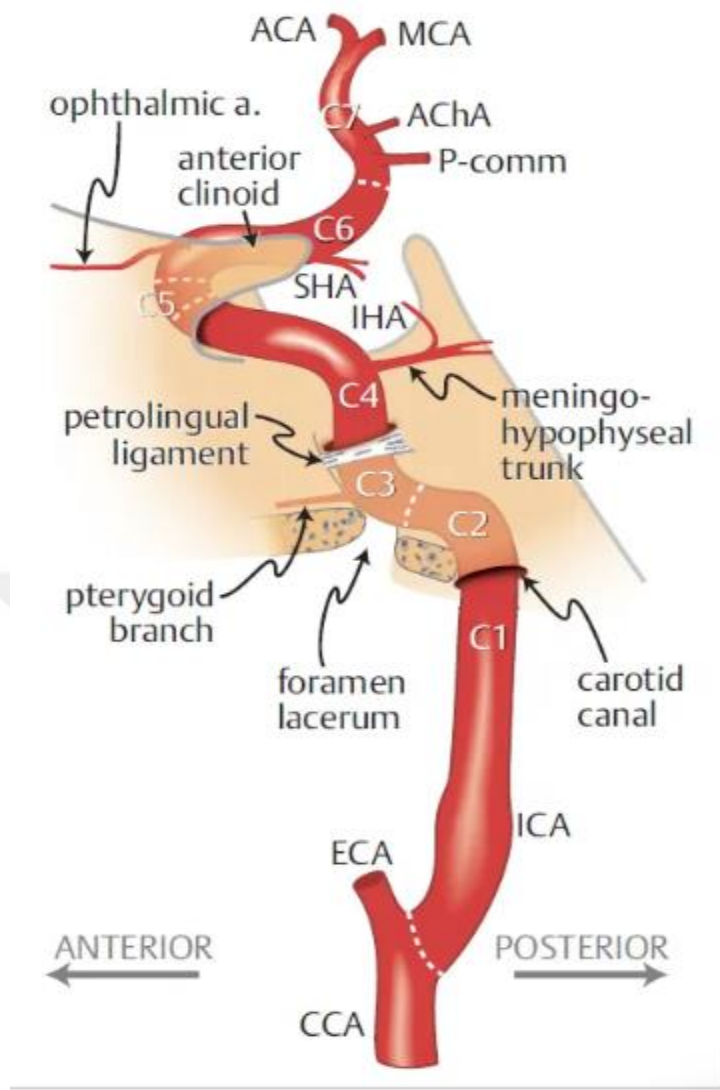
C. posterior komünikan arter (PcomA)

D. anterior koroideal arter: PcomA'nın 2-4 mm distalinden ayrılır (değişkenlik gösterir)= optik traktüsün bir kısmını, globus pallidusun medialini, internal kapsülün (İK) genususunu (%50 oranında), İK'nun arka bacağının alt yarısını, unkusu, retrolenriküler lifleri (optik radyasyon), lateral genikulat cismi (66).

1. pleksal segment: temporal hornun suprakornual resesine girer, = koroid pleksusun yalnızca buradaki kısmını besler

2. sisternal segment: krural (crural) sistemden geçer

C7 (komünikan): PcomA çıkışının hemen proksimalinden başlar, II. ve III. kranial sinirlerin arasında seyreder, ACA ve MCA'ya ayrıldığı yer olan anterior perforan bölgenin (anterior perforated substance) hemen altında sonlanır.



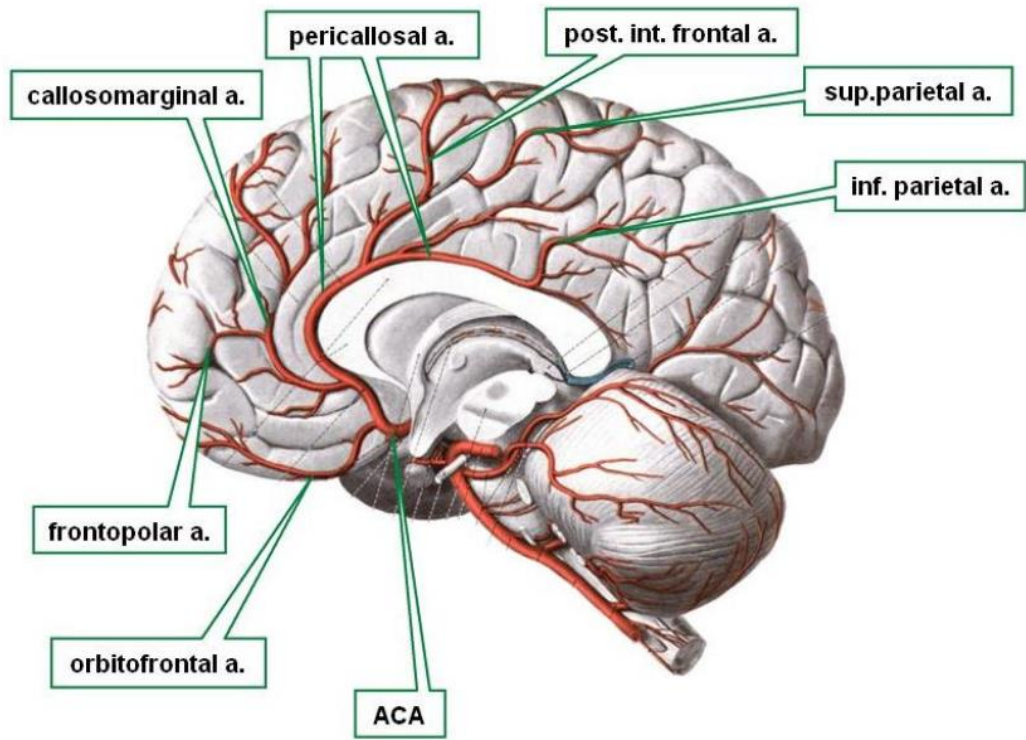
Şekil 7. internal carotid arterin segmentleri. Source: Handbook of Neurosurgery. 9th ed.14

Anterior Serebral Arter (ACA)

Dalları:

1. rekürren arter (Heubner'in rekürren arceri): %80 A1 'den köken alır (kaudat başı, putamen ve internal kapsül)
2. mediyal orbitofrontal arter
3. frentopolar arter
4. kallozomarjinal arter

- A. internal frontal dallar
 - 1. anterior
 - 2. orta
 - 3. posterior
- B. parasantral arter
 - 5. perikallosal arter (ACA'in devamıdır)
- A. superior internal parietal (prekuneus) arter
- B. inferior internal parietal arter



Şekil 8. Anterior serebral arterin dalları

Orta Serebral Arter(MCA)

Dalları kişiden kişiye oldukça değişkenlik gösterir. En sık karşılaşılan 10 tanesi şunlardır:

- 1. medial (her bir tarafta 3-6 tane) ve lateral lentikülostriat arteder

2. anterior temporal
3. posterior temporal
4. lateral orbitofrontal
5. asendan frontal (mum alevi)
6. presantral (prerolandik)
7. santral (rolandik)
8. anterior parieral (postrolandik)
9. posterior parietal
10. angüler

2.2.4. Posterior (Arka) Dolaşım

Vertebral Arter (VA)

VA subklavian arterin ilk ve genellikle de en büyük dalıdır. Varyasyonu: sol VA %4 olguda arkus aortadan çıkar. Çapı 3mm. Ortalama kan akımı 150 ml/dk. Sol VA %60 oranında dominanttır. Sağ VA %10, sol VA %5 hipoplastik. VA atrezisi ve baziler arter (BA) ile bağlantısının olmaması durumu solda %3, sağda %2 oranında görülür.

Dört kısmı:

ilk segment: süperior ve posterior doğrultuda ilerler ve genellikle 6. vertebra korpusunun gövdesinin transvers foramenine girer

ikinci segment: servikal vertebraların Transvers foramenlerinin içinde vertikal olarak yükselir, bu sırada çevresinde sempatik lif ağı (stellat gangliyon) ve venöz pleksus vardır. Aksisin transvers çıkıntısı içinde laterale döner.

üçüncü segment: aksisin forameninden çıkar ve atlasın üst yüzeyinde bulunan olukta posterior ve mediale kıvrıldıktan sonra foramen magnuma girer.

dördüncü segment: durayı deler ve subaraknoid mesafeye girer. Ponsun alt sınırında yerleşen vertebral konfluens'de karşı taraf VA ile birleşir ve baziler arteri (BA) oluşturur.

Dalları:

1. anterior meningeal: C2 verrebra korpusu bızasında çıkar, kordoma veya foramen magnum menenjiyomlarını besleyebilir, damar tıkanmalarında kollateral olarak işlev görebilir

2. posterior meningeal

3. meduller (bulber) areerler

4. posterior spinal

5. PICA (en büyük dalı): (bkz. Şekil 3-1 I) VA'in inrradural mesafeye girdiği noktanın "10 mm distalinden ve verteobaziler bileşkenin "15 mm proksimalinden çıkar (%5-8 oranında PICA çıkışı ekstraduraldır)

A. 5 segmente ayrılır(67,149). (bazı sistemler yalnızca 4 segment tanımlar). Cerrahi sırasında ilk 3 segment mutlaka korunmalıdır. Son 2 segment minimal nörolojik kayıpla kapatılabilir(68,149).

1. anterior meduller: PICA orjininden inferior olivar çıkıntıya kadar olan segment. 1 veya 2 kısa meduller sirkumfleks dal = ventral medullayı besler

2. lateral meduller: IX. X. ve XI. KS'lerin çıkış noktalarına kadar olan segment. Beyin sapını besleyen ve sayıları 5' e ulaşan dalları verir.

3. tonsillomeduller: tonsillerin orta kısmına kadar (anjiyografideki kaudal !oop (kıvrım) bu segmentredir)

4. telovelotonsiller (supratonsiller): tonsillomeduller fissürde yükselen segment (anjiyografide kraniyal !oop (kıvrım) bu segmenttedir)

5. kortikal segmentler

B. 3 dala ayrılır

1. koroideal arter (DAL 1) kraniyal loop'dan çıkar (koroideal nokta), = 4. ventrikülün koroid pleksusunu besler

2. terminal dallar:

a. tonsillohemisferik (DAL 2)

b. inferior vermian (DAL 3) inferiora bükülme = anjiyografide kopular (copular) nokta

6. anterior spinal

Baziler Arter (BA)

İki verrebral areerin birleşimi sonucu oluşur. Dalları:

1. AICA (anterior inferior serebellar arter): BA'in alt kısmından çıkar, VI., VII. ve VIII.: KS'lerin önünden

posterolaterale doğru ilerler. Sıklıkla internal akustik kanal içine uzanan bir yay oluşturur ve bu yayda

labirintin arteri verir. Serebellum anteroinferior yüzünü besler ve ardından PICA ile anastomoz yapar.

2. internal odituar arter (labirintin)

3. pontin dallar

4. SCA (süperior serebellar arter)

A. süperior vermian arter

5. posterior serebral (PCA): dallanmalarından "1 cm sonra posrerior komünikan arterler aracılığı ile birleşiler (PcomA %15 oranında PCA'nın esas kaynağıdır ve bu duruma "fötal dolaşım" adı verilir, bu durum %2 bilareral görülür). Çevresindeki sisterne göre adlandırılan 3 kısmı vardır. Segmentleri ve dalları:

A. pedinküler segment (P1)

1. mezensef alik perforan arterler (= rekrum, serebral pedinküller ve bunların

Çekirdeklerinibesler: Edinger-Wesrphal, okülomoror ve rroklear)

2. inrerpedinküler talamoperforanlar (2 grup posrerior talarnoperforan arterlerin 1. grubu)

3. medial post. koroideal (çoğu P1 veya P2'den çıkar)

B. ambient segment (P2)

1. lateral post. koroideal (çoğu P2'den)

2. talamogeniküler talamoperforanlar (2 grup posrerior ralamoperforan anerlerin 2. grubu)= genikülat cisimler + pulvinar'ı besler

3. anterior temporal (MCA'in anterior temporal dalı ile anasromoz yapar)

4. posterior temporal

5. parieto-oksipital

6. kalkarın

C. kuadrigeminal segment (P3)

1. kuadrigeminal ve genikülat dallar = kuadrigeminal plak (plate)

2. post. perikallozal (splenial) (ACA'in perikallozal dalı ile anastomoz yapar) (149).

2.2.5. Eksternal Karotid (ECA)

1. süperior tiroid: ilk ön dalıdır

2. asendan faringeal

3. lingual

4. fasiyal: dalları oftalmik arter ile anastamoz yapar (kollareral akım için önemli)
5. aksipiral
6. posteri or auriküler
7. süperfisiyal temporal
 - A. frontal dal
 - B. parietal dal
8. maksiller- başlangıçta parorid bez içinde seyreder
 - A. orta meningeal
 - B. aksesuar meningeal
 - C. inferior alveolar
 - D. inf ra-orbiral
 - E. diğer: orbira içinde ofralmik areerin dalları ile anastomoz yapabilen distal dallar(149).

2.3.Serebral Arteriyel Dolaşım ve Otoregülasyon

Beyin vücut ağırlığının hemen hemen % 2-3'ünü oluşturur. Ancak metabolik olarak en aktif çalışan organlardandır. Nöron ve glia hücreleri,aksoplazma oluşturmak, nörotransmittersentezlemek membranpotansiyellerinin devamlılığını sağlamak, nörotransmitter depolamak ve zarar görmüş yapıları sürekli bir şekilde yenilemek mecburiyetindedir. Bu yüzden beyin, vücudumuzdaki diğer organlarla kıyaslandığında daha fazla oksijen ve enerjiye ihtiyaç duymaktadır(69). Bu yüksek metabolikaktivitenin devamlılığı için optimal bir kan akışına ihtiyaç duyan beyin beslenmesi çok önemlidir. Kalp debisinin neredeyse % 15'ini alan beyin, vücuda gönderilen oksijenin de hemen hemen % 20'sini işlemektedir (70).

Beyne giden kan akım miktarı, 100 gr beyin dokusu şeklinde ifade edilmiştir. Beyin kan akımı miktarı yüz gr beyin dokusu için dakikada yaklaşık olarak 50 ml'dir.Beyaz

cevherde serebral kan akımı 20 ml/100 gr/dakikaiken gri cevherde kan akımı yaklaşık 70-80 ml/100 gr/dakikadır (71). Aynı zamanda 100 gram beyin dokusu 3.5ml/dakikada oksijen tüketir.

Beynin ana enerji kaynağı glukozdur. Beyin, hemen hemen enerjisinin %90'ını glukozdan karşılar. 100 gr beyin dokusu dakikada 5.5 mg glukoz harcar. Bu oran vücudun toplam glukoz tüketiminin %25'ine karşılık bulur.

Glukoz glikoliz sistemi ile piruvata parçalanır, piruvattan da oksijen varlığında Asetil CoA meydana gelir. Asetil CoA, Krebs siklusuna girer ve yeterli oksijen varlığında 1 mol glukozdan 38 mol ATP üretilir. Oksijen yetersiz kaldığında ise glikoliz olayı aksar bozulur ve piruvattan laktat oluşur(72).

Oksijen olmadığında Anaerobik glikoliz ile 1 mol glukozdan 2 mol ATP elde edilir. Hipokside enerji ihtiyacı artar bundan dolayı daha fazla glukoz ihtiyacı duyulur. Hipokside enerji ihtiyacı arttığı için glukoz tüketimi de artar. Yetersiz oksijen varlığında nöronlarda anaerobik glikoliz gerçekleşir bunun sonucunda toksik olan laktik asit üretimi artar. Bu yüzden serebral fonksiyonların korunması için yeterli serebral kan akışının olması çok önemlidir.

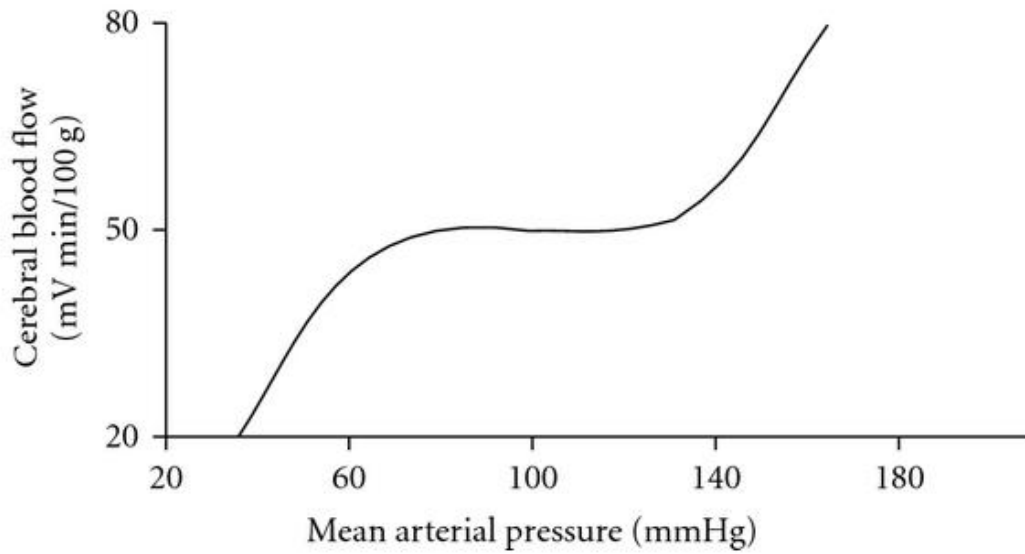
Beyne giden kan akışının basıncı belirli bir aralıkta tutulmaya çalışılır bu mekanizmaya serebral otoregülasyon denilmektedir. Serebral kan akımının otoregülasyonu ortalama arteriyel basınç 70-160 mmHg aralığında olması durumunda fonksiyoneldir (73).

Serebral kan akımı serebral otoregülasyon mekanizmalarıyla dengelenmeye çalışılmaktadır. İnsan beynindeki kan akışı ve otoregülasyon çok farklı mekanizmalarla düzenlenmektedir. Son yıllarda bu alanda yapılan araştırmalarda büyük bir ilerleme kaydedildi. Ancak mikrosirkülasyon düzeyindeki çalışmalar devam etmektedir(70).

Serebral kan akışında 3 ana düzenleyici mekanizma rol alır. Bunlar; otoregülasyon mekanizmaları, nörojenik kontrol ve kan akımı-serebral metabolizma ilişkisidir. Endotel ve astrositler bu mekanizmalarda görev yapan ana hücrelerdir.

a) Otoregölasyon Mekanizmaları

Serebral arterlerin(özellikle arteriollerin) değışkenlik gösteren serebral perfüzyon basıncı karşısında beyin kan akımının kontrol edilmesi olayına serebral otoregölasyon denilmektedir. Serebral perfüzyon basıncı 50-150mmHg'lik aralığında seyretmesi halinde beyne olan kan akışı sabit kalır. Bu aralıktaki basınçlarda serebral otoregölasyon koruma altındadır. Bu aralık dışındaki perfüzyon basınç değeriinde serebral kan akımında ciddi anlamda değışiklikler saptanır (Şekil 9).



Şekil 9. Otoregölasyonun basınç akım ilişkisi

Serebral basınç otoregölasyon mekanizmasında vasküler düz kas, endotel ve perivasküler sinirlerle ilişkilendirilse de halen tam aydınlatılamamıştır. Artan kan akış hızının transmural basıttan bağımsız olarak vazokonstrüksiyonu tetiklediğı bildirilmiştir. Endotel bu fizyolojinin temelini oluşturur. Endotel vazomodölütör birçok molekülünün dinamik kaynağını oluşturup mekanoreseptörlre sahiptir. Yapılan araştırmalarda damarın endoteli çıkarıldığında kan akış hızına karşı vazokonstrüksiyon cevabının zayıf kaldığı ortaya konuldu. Yapılan başka bir çalışmada ise vazokonstrüksiyonda vasküler kaslardaki depolarizasyonun önemli rol oynadığı ortaya koydu(74).

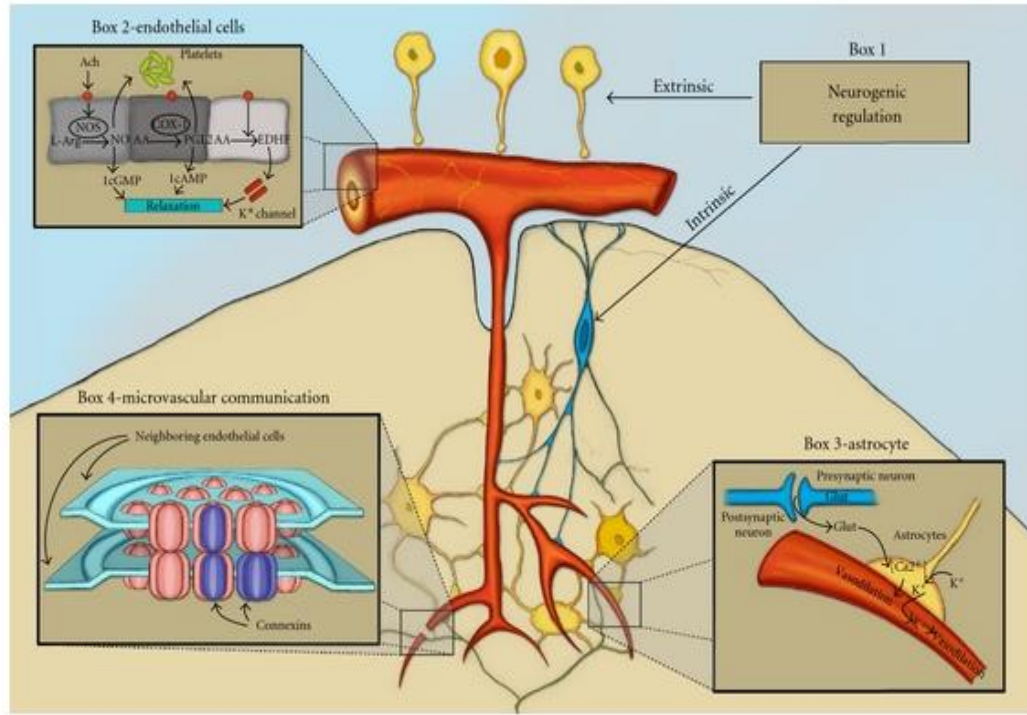
b) Kan akışı ve serebral metabolizma ilişkisi

Serebral kan akımı ile serebral metabolizma arasında anlamlı bir ilişki vardır. Yapılan çalışmalarda daha çok serebral kan akışı ile serebral metabolizma arasında rol alan moleküller incelenmiştir. Bu moleküllerden olan hidrojen ile potasyum iyonlarının vazodilatasyonu tetikledikleri(75) ve böylece kan akımı ile serebral metabolizma arasındaki ilişkide rol oynadıkları ortaya konmuştur. Vasküler düz kaslarda ATP' ye duyarlı potasyum kanallarının bulunması kan akımı ile nöral aktivite arasında bir bağlantı bulunduğunu anlamına gelir(76).

c) Serebral kan akımının düzenlenmesi

Yapılan pekçok çalışmada perivasküler sinirlerin serebral kan akışının kontrolünde rol aldığı gösterilmiştir. Perivasküler sinirler, endotel hücreleri ve astrositler karmaşık bir ilişki içerisinde bulunup serebral kan akımının kontrolünde görev yapan başlıca nörovasküler bir ünedir. Perivasküler sinirler değişik köken ve değişik nörotransmitterlere sahiptir. Perivasküler sinirler ekstrasik ve intrinsik olarak iki tür yapıda bulunur. Ekstrasik olanlar, parankimin dışındaki perivasküler innervasyon anlamına gelir. Ekstrasik perivasküler innervasyonun üç ana kaynağı mevcuttur. Bunlar trigeminal ganglion, süperior servikal ganglion ve sfenopalatin ganglionudur. Bu ganglionlar sırasıyla duyuşal, sempatik ve parasempatik lifler taşıır. Sempatik sistemin görevi kan basıncını serebral otoregölasyon mekanizmasının üst sınırının altında tutmaktır, parasempatik sistem ise patoloji varlığında daha çok görev alır. Trigemino vasküler sistem ise temel olarak ağrıda rol alır aynı zamanda kuvvetli bir vazodilatör ajan olan calcitonin gene related peptide (CGRP) kaynağı olduğu bildirilmiştir(77).

Vasküler yapılar parankime girip virchow-robins boşluklarını geçtikten sonra ekstrasik innervasyonlarını yitirir ve intrinsik innervasyonları başlar(78,79). İntrinsik perivasküler sinirler vasküler yapılarla direk temasta bulunmayıp astrosit ayakçılarıyla bağlantı halindedir. innervasyona bağı serebral kan akımını azaltıp arttırabilirler(80). (Şekil 10).



Şekil 10. Serebrovasküler kontrolde değişik mekanizmalar (80)

d)Endotel

Serebrovasküler endotel Serebral kan akışının kontrolünde temel rol alır. Endotelin günümüzde vasküler düz kaslarla vasküler lümen arasında köprü görevi gören dinamik bir yapı olarak kabul görmektedir . Endotel serebral kan akımını NO, endotelin, eikosanoidler ve endotelden türetilmiş hiperpolarizasyon faktörü (EDHF) sayesinde düzenler.

e)Astrositler

Serebral kan akışının düzenlenmesinde astrositler oldukça hayati bir göreve sahiptirler. Vasküler yapılara ayakçılarıyla tutunur ve serebral mikrovasküler yapılar arasında bağlantı sağlar. Astrositlerin hücre dışı potasyumu tamponladıkları düşünülüyordu; ancak yapılan son in vitro çalışmalarda ayrıca vasküler yapılar ile nöronlar arasındaki iletişimde rol aldıkları görüldü. Astrositlerin serebral kan akışının düzenleme mekanizmasıyla ilgili eski çalışmalar bunun potasyuma bağlı olduğu üzerine odaklanmışlar. Ancak Zonta ve ark. yaptığı çalışmada astrositlerin hücre içi Ca⁺⁺ artışı ile sonuçlanan bir glutamat reseptör alt tipini eksprese

ettiğini ve bu nedenle astrosit ayakçıklarının sinaptik uyarıları algıladığı ve temas ettiği vasküler yapılarda vazodilatasyon meydana getirerek cevap oluşturduğu ortaya konuldu(80).

2.4.İskemik İnmede Patofizyoloji Mekanizmaları

İskemik inme bir çok farklı mekanizmanın disfonksiyonu nedeniyle ortaya çıkar. Bu patolojiler başlıca;

- İskemik çekirdek ve Penumbra
- Hipoperfüzyona bağlı enerji yetersizliği
- Oksidatif stres
- Eksitotoksisite
- Kan beyin bariyer bozukluğu
- Mikrovasküler bozukluklar
- Hiperkoagülasyon ve trombosit aktivasyonu
- İnflamasyon
- Hücre ölümü
- Reperfüzyon hasarıdır(81).

2.4.1. İskemik çekirdek ve penumbra

İskemik inmede kan miktarı 10 mL/ 100 gr doku /dakika'dan daha az kan akımı olan bölgelere iskemik çekirdek (core) denir. Buradaki hücreler inmenin başlayışından birkaç dakika sonra aktivitelerini kaybeder. Gelen kan miktarı 100gr doku için <25ml/dakika ise bu durum iyon kanallarının fonksiyonlarını korumak için yeterli olup fakat elektriksel aktiviteyi devam ettirmek için yetersiz olup bu bölgeye penumbra denir. Penumbra bölgesi yapısal olarak sağlam görünse de işlevsel olarak disfonksiyoneldir. Bu bölgenin kan akımı ve perfüzyonu düzeltilirse penumbradaki hücreler fonksiyonlarına tekrardan kavuşarak hücre ölümünden kurtulurlar. Bundan dolayı iskemik inmede tedavinin asıl hedefi penumbradır. Eğer hipoperfüzyon düzeltilmezse enfarkt alanı iskemik çekirdekten penumbraya doğru ilerler ve

kurtarılmayı bekleyen hücreler de kaybedilir. İskemik çekirdek ve penumbra ayrımı perfüzyon MRG, Diffüzyon MRG, PET, SPECT ve perfüzyon CT gibi radyolojik tetkikler ile yapılabilir (82).

2.4.2. Hipoperfüzyona bağlı enerji yetersizliği

Serebral İskemik inme, beyne giden kan miktarının azalması sonucunda meydana gelen nörolojik hasardır. Tromboz veya embolidir en sık nedeni. Bunların dışında arterit, hematolojik bozukluklar, küçük damarların ani oklüzyonu(laküner enfart), arteriyel diseksiyon ve çeşitli genetik hastalıklar hipoperfüzyona sebep olabilir. Beyin enerjisinin tamamına yakını oksidatif fosforilasyonla sağlar. Bu yüzden ATP'nin azalması halinde iyon pompalarının fonksiyonları bozulur ve nöronlarda ve glial hücrelerde depolarizasyon gelişir. Oksidatif fosforilasyonun yeterli olmaması sonucu anaerobik solunum ve laktat artar. Laktatın artması ise enfarkt genişlemesi ve kötü sağkalımla ilişkilidir(83).

2.4.3. Oksidatif stres

İnsan beyni, total vücut ağırlığının %2'si olmasına karşın tüm oksijenin hemen hemen %20'sini tüketmektedir. Nöronlar bu yüzden oksijene oldukça duyalıdır(84,85).Beyindeki antioksidan miktarı diğer dokularla karşılaştırıldığında daha düşüktür. Glutamatın artması hücre içinde kalsiyum artışına neden olur bu da ADPH oksidaz sentazı, ksantin oksidazı ve NO sentazı aktifleyerek serbest oksijen radikalleri meydana gelir. Oksidan-antioksidan arasındaki dengenin bozulması hücre hasarına yol açar. Aşırı miktarda üretilen serbest oksijen radikallerinin antioksidan savunma sisteminin kapasitesini geçerse oksidatif stres gelişir. Bu serbest oksijen radikalleri; nitrik oksit, hidroksil, süperoksid anyonu ve lipid radikalidir. Normalde bu radikaller hücrelerde düşük seviyelerde bulunur ve önemli birçok fonksiyonları bulunur. Fazla miktarda üretilen bu radikaller toksik etki oluşturarak DNA'ya, proteinlere, yağ asitlerine, lipitlere zarar verirler(86). Aynı zaman da metalloproteazları aktive edip endotel hasarı yaparak kan beyin bariyerini(KBB) bozarlar.

2.4.4. Eksitotoksisite

Ölmekte olan hücrelerden anormal olarak eksitator nörotransmitter salgılanması ve bu nörotransmitterlerin sebep olduğu sekonder harabiyete eksitotoksisite denilmektedir. ATP'nin azalmasıyla Na/K ATPaz pompası bozulur ve hücrelerde depolarizasyon gelişir. Na/K ATPaz pompasının bozulunca hücre içine sodyum, klor girişi olur; hücre dışına potasyum çıkışı olur. Ayrıca kalsiyum transportunda rol alan pompaların bozulması sonucu hücre içinde kalsiyum artışı olur(87). Enerji yetersizliği olan hücrelerde eksitator özellikle nörotransmitterler olan glutamat artışı olur. Hücre dışında glutamat birikmeye başlar. Hücre dışında artan glutamat AMPA NMDA ve kainat reseptörlerine bağlanıp kalsiyum, klor ve sodyum taşınmasında görev yapar. Böylece nöronların daha fazla depolarize olması sağlanmış olur. Hücre içi kalsiyum artışı fosfolipaz, endonükleaz, siklooksijenaz, kalpain, adenosin trifosfataz ve nitrik oksit sentetaz gibi enzimleri aktive eder. Bu mekanizmalarla hücre membran hasarına, mitokondri ve endoplazmik retikulum hasarına, DNA hasarına, serbest radikal oluşumuna, NO üretimine, hücre şişmesine ve hücre ölümüne neden olur. Ekzotoksisite iskemik sonrası inflamasyona eğilimi artırır.

2.4.5. Kan Beyin Bariyer Fonksiyon Bozukluğu

Kan beyin bariyeri (KBB); Nöronlar, bazal lamina, astrositler, endotelial hücreler, hücre dışı matrix ve perisitlerden oluşur(88). İskeminin başlamasından 2 saat sonra endotelial bazal membranın fonksiyonu kaybolmaya başlar(88). Bu olayın ardından KBB geçirgenliğinde artış olur. Erken reperfüzyon KBB değişikliklerini geçici olarak hafifletebilir, ancak trombolitik tedavi ve geç reperfüzyon kullanımı tersine endotel hasarını şiddetlendirebilir. KBB; matriks metalloproteinaz trombin, VEGF(vasküler endotelial büyüme faktörü) ve bradikinin birikmesi sonucu bozulur. Oksidatif stres de aynı zamanda kan beyin bariyeri fonksiyon bozukluğu yapabilir. Oksidatif stres nöronlardan, endotelial ve glial hücrelerden matriks metalloproteinaz salınımını indükler. infarktten 24-72 saat sonra KBB'nin bozulmasının ikinci aşaması başlar ve lökosit infiltrasyonu meydana gelir. Dolayısıyla bu süreçte daha fazla doku kaybı meydana gelir. KBB' bozukluğundan sonra beyin parankim

dokusuna sızıntılar olur. Sızan büyük moleküllü bileşenler beraberlerinde suyu da ekstrasvasküler alana çekerler. Böylece vazojenik ödeme meydana gelir(89).

2.4.6. Hiperkoagülasyon ve trombosit aktivasyonu

Trombozis ve trombosit aktivasyonu İskeminin patofizyolojisinde önemli bir yere sahiptir. Endotel hasarında ortaya çıkan Doku faktörü, faktör VIIa ve fosfolipitlerle beraber faktör IX ve faktör X'u aktifler. Faktör X, protombinaz kompleksi desteğiyle protrombinden trombin oluşumunu indükler. Trombin, fibrinojenden fibrin oluşumunu sağlarken fXIII'ü de aktifler(90). Fibrin molekülleri bir araya gelerek pıhtıyı oluşturmak için eritrositleri, pıhtılaşma faktörlerini, trombositleri yakalar. Fibrin, integrin reseptörü $\alpha\text{IIb}\beta 3$ yoluyla trombositlere yapışır. İskemide trombositler aktive olur. Aktive trombositler 120 dakika içinde hasarlı vasküler yapılarda toplanmaya başlar. Trombositlerden çeşitli biyokimyasal mediyatörler ortama salınır. Hasarlı bölgeye salınan serbest oksijen radikalleri ve tromboksan A2 geçici vazospazma neden olur. Bu serbest oksijen radikalleri ve tromboksan A2 lökosit migrasyonu için salınan bazı kemotaktik mediyatörlerle birlikte inflamasyonu daha da şiddetlendirir(91).

2.4.7. Mikrovasküler hasar

İskemi hem endotel hücrelerin fonksiyonlarını hemde otoregülasyonu bozarak mikrovasküler hasara sebep olur. Serebral otoregülasyon, kan basıncı değişikliklerine karşı serebral perfüzyon basıncını belli aralıklarda tutabilme durumudur. İskemide serebralperfüzyon basıncı düşer, bu yüzden serebral kan akımı arteriolar genişleme sayesinde korunur. Burada damarların genişlemesinden sorumlu mekanizmalar(hipoksi, karbonmonoksit, asidoz ve adenozin), myojenik faktörler ve endotelial faktörler (endotelin 1, nitrik oksit ve prostasiklin)rol oynar. İskemide endotel hasarı meydana gelir. Endotel hasarı meydana geldiğinde ise nitrik oksit ve prostasiklin salınımı azalır, endotelin 1 üretimi artar. Bunlar vasküler tonusu artırarak iskemik enfart ve kollateral damarlar alandaki kan akışını daha da bozarak penumbranın beslenmesini daha fazla bozarlar.

2.4.8. İnflamasyon

İskemik inmede nekrotik hücelere yönelik inflamatuvar bir cevap gelişir. İskemik endotelial hücelerden salgılanan sitokinler ve kemokinler mikrogliaları harekete geçirir. Harekete geçen mikroglialar, adhezyon moleküllerinin salınımını sağlayan proinflamatuvar sitokinleri salgırlar. Bu olaylar zinciri enfarkt başlangıcından sonraki ilk 24saatte gelişir. Kemokinler, immun sistem destekleyici hücelerin özellikle penumbra çevresinde bir araya gelmesini sağlar. Adhezyon molekülleri (selektinler, integrinler, immünoglobulin süper ailesi) lökosit-endotel adhezyonuna neden olup mikrovasküler tıkanıklığa sebep olurlar. Bu durum hipoperfüzyona ve no reflow fenomenine sebep olur. Ayrıca lökositlerin iskemik beyin parankimine geçişine sebep olur. Bu İnflamasyon hüceleri kan beyin bariyerini de bozup hasarı daha da alevlendirirler. İnflamatuvar hücelerden olan bu lökositler, hem endotel duvarına yapışarak hem de proteaz, jelatinaz, kollajenaz gibi serbest oksijen radikalleri üreterek kurtarılabılır vasküler yapılara ve parankim hücelerine hasar verir. Lökositler aynı zaman da trombosit agregasyonuna ve vazokonstriksiyon yapan PAF, prostoglandinler, lökötirenler ve eikozanoidleri salgırlar. İskemik bölgeye en erken ulaşan lökosit nötrofillerdir. Geçici iskemide 4-6 saat içinde hasarlı hüceler de nötrofiller görülürken kalıcı iskemiden 12 saat sonra hasarlı hücelere ulaşmış olurlar.

İskemik inmede inflamasyonda rol alan diğler bir hücre lenfositlerdir. Lenfositler nötrofillerden yaklaşık 3-6 gün sonra iskemik hüceler de görülürler. Lenfositler proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesinde katkı sunarlar.

İnflamatuvar hücelere destek olarak astrositler de inflamasyonda rol alan molekülleri salgırlar. Astroglial cevap iskemiden 4-24 saat sonra başlar. 4 haftaya kadar uzayabilir. Astrositler, endotel hüceleri tarafından üretilen ve TNF süper ailesi üyesi olan TWEAK, astrositlerdeki Fn14 reseptörüne bağlandığında proinflamatuvar moleküller üreilmeye başlanır ve bu şekilde süreç devam eder.

2.4.9. Hücre ölümü

İskemik inmeden sonra onarıcı mekanizmalar ile hasar verici sistemler arasında bir denge vardır. Hasar verici sistemler daha etkin ve baskın olduklarında ‘hücreye ölüm’ mekanizmaları devreye girer. Beyin hüceleri, daha sık ölüm şekli olan

hücrelerin minimal inflamasyon ile programlanıp apoptoza uğrar. Eğer hücreler nekroz yoluyla ölürse, çevreye daha fazla glutamat ve toksin salınarak diğer nöronal hücreler de etkilenmiş olur. Sürecin apoptoza mı nekroza mı gideceğini belirleyen faktörler; lokal iskemi derecesi, hücre olgunluğu, hücre içi serbest Ca^{++} konsantrasyonudur. Glutamat reseptörlerinin aktivasyonu, reaktif oksijen radikallerinin artışı, hücre içi potasyumun azalması ve toksik çinko akışının artması apoptoza tetikler.

Apoptozis: Ekzositozla hücre içi kalsiyum artar ve mitokondrilerde birikmesiyle mitokondrilerin normal fonksiyonları bozulmaya başlar ardından sitokrom c salınır. Sitokrom c hücre ölümünde etkili olan kaspazları harekete geçirir. Bu kaspazlar apoptozun temel elemanlarıdır. Apoptoz enerji kullanarak öldürme görevini yerine getirir ve enerji üretimi devam eden penumbra bölgesinde etkindir. Mitokondrideki apoptoz, esas olarak antiapoptotik (bcl-2, bcl-2) olan b hücreli lenfoma-2 yada proapoptotik (bax, bak) yardımıyla kontrol edilir(92). Proapoptotik proteinler sitoplazmaya salındıktan sonra kaspazları aktive ederler. Kaspaz 3 apoptozu yöneten ana yıkıcı kaspazdır. Apoptozda hücre zarı son ana kadar korunur ancak nekroz da hücre sel şişme ve hücre zarı hasarıyla başlar.

Endoplazmik retikulum da mitokondriye benzer şekilde kaspazları aktifleyerek hücre ölümüne sebep olur(93).

Nekrozda İskemik çekirdekte kan akımının azalması sonucu hücrelerin ATP ihtiyacı karşılanamaz. ATP yetersizliğinde Na/K ATPaz pompasının fonksiyonu bozulmaya başlar. Böylece hücre içi sodyum artar. Sodyum hücre içine su çeker ve hücre şişmeye başlar. Zamanla hücre zarı bu şişmeyi tolere edemez hale gelir hasara uğrar parçalanır. Bu hücre içeriğinin hücre dışına geçmesine neden olur ve inflamasyon tetiklenmiş olur.

2.4.10. Reperfüzyon hasarı

İskemiye son verip reperfüzyon ile bu bölgeye yeniden kan akışının sağlanması, iskemik bölgenin mevcut var olan hasarı derinleşir. Bu hasara “Reperfüzyon Hasarı” denilmektedir. Reperfüzyon hasarının şiddeti iskeminin süresi ile orantılıdır (94). Enfarkt alanına yeniden kan akışının sağlanması penumbra(kurtarılabılır alan)

bölgesi için çok kritik olup klinik sağkalımı da etkiler. iskemisi olan hastalarda erken rekanalizasyon mikrovasküler hasarnedeniyle hemoraji riskini artırır. Reperfüzyon hasarında lökositler; endotel hasarı, kan beyin bariyerinin bozulması, mikrosirkülasyonda obstrüksiyon ve beyin hücrelerine nüfuz ederek önemli rol oynar. Trombositler no-reflow fenomeni aracılığıyla reperfüzyon hasarında lökositlerle sinerjistik rol oynar ve çeşitli biyokimyasal mediyatörler salgılayarak reperfüzyon hasarını artırır. Ayrıca iskemi sonrası hiperperfüzyon ödeme ve kanamaya neden olur.

iskemi reperfüzyon hasarının mekanizması

Perfüzyonun yeniden sağlanması hücre içine moleküler oksijen girişi olup serbest radikallerin salgılanmasına sebep olmaktadır (94). Normal şartlarda antioksidan mekanizmalar ile serbest radikaller arasında denge vardır. Ancak hipoksi ve iskemi gibi durumlarda serbest radikaller hızlı bir şekilde arttığından antioksidanlar tarafından dengelenemez durum gelişir (95). Hızla biriken serbest radikaller protein, lipid, ve nükleik asitlerin yapısını etkileyerek, direk nöron hasarı yaptığı gibi beyinde nekrotik ve apoptotik eksitotoksik yolları aktifleştirerek de hücre ölümüne sebep olmaktadır (96, 97). Sivenius ve ark. (98) gecikmiş reperfüzyonun beyin dokusunda iskemiden daha fazla hasara yol açtığını raporlamışlar. İskemi/reperfüzyon hasarının, iskeminin 2. ve 6. saatinde başlayıp, reperfüzyonun 24. saatinde tepe yaptığı bilinmektedir(99).

İskemi esnasında oksijen ve glukoz yetersizliği nedeniyle nöronlarda ATP üretimi anlamlı bir şekilde azalır ve iyonik denge bozulur. İlk kez 1981 yılında Granger ve ark.(100).tarafından iskemi sonrası perfüzyonun yeniden oluşması serbest radikallerin oluştuğuna dair görüş bildirmişlerdir. Perfüzyondan sonra biriken serbest radikallerin doku hasarı yaptığı ve bunun yanında, hücrel kalsiyum homeostazisini bozarak sitozolik ve mitokondriyal kalsiyum artışına sebebiyet verdiği anlaşılmıştır. Bu durum mitokondri hasarı yaparak, hücreyi ölüme götüren enzim yollarını da aktifleştirip irreversibl hücre hasarı ve hücrenin ölümü ile noktalanmaktadır(101, 102).

2.5.Deneysel Serebral İskemi Modelleri

İnme morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden biridir. İnmelerin yaklaşık %88'i iskemik inmeler şeklinde tanımlanmıştır. İnsanlarda gelişen serebral iskemiye en iyi şekilde taklit etmek için çeşitli deneysel modeller oluşturulmuştur. Bu modeller iskemik beyin hasarında oluşan patofizyolojik değişiklikleri öğrenmemize imkan sağladığı gibi yeni nöroprotektif tedavi stratejilerinin de gelişmesine katkı sağlayabilir. Bu deneysel çalışmalarda seçilecek iskemi modelleri, insanlarda meydana gelen serebral iskemi patofizyolojisini, kliniğini ve biyokimyasal belirteçlerini en iyi şekilde yansıtacak en uygun model olmalıdır.

Bu deneylerde karşılaşılan en büyük zorluk, sonuçlardaki değişkenlik düzeyinin kontrolündeki sıkıntılardır. Bu zorluklar; değişken parametrelerin çokluğu ve bu değişken parametrelerin sıkı kontrol edilmediğinde değişkenliğin artması durumunda deneysel modelin kabul görmesi ortadan kalkabilir(103.) Deneysel iskemi modelinin sonucunu birçok faktöretkiler. Bunlar cinsiyet, cinsiyet, ırk, kullanılan anestezipler ve kan şekeri düzeyi deneysel modeli etkileyebilir. Hiperglisemi iskemi gelişen beyinde var olan hasarı derinleştirebildiği için deney hayvanlarının kan şekeri düzeyleri takip altın olmalıdır. Ayrıca deney hayvanlarının vücut sıcaklıkları da deneyin başarı oranını etkilediği içinyakın takip edilmelidir (104).

Transgenik hayvanlar, spesifik gen delesyonlarının iskemik beyin hasarındaki etkilerini görmemize yardımcı olur. Bu sebeple deneylerde genellikle fareler kullanılır. İskemiye en eğilimli fare ırkı C57BL/6 ırkıdır (105). Hayvanlardaki deneysel serebral iskeminin modelleri hem iskemi tedavisinde hem de iskemi patofizyolojisinde yol gösterici olmalıdır. Bu modelle yeni ilaçların denenmesine olanak sağlanabilmelidir. Deneysel iskemi modellerinde ratlar en sık kullanılan hayvanlardır. Bunun en önemli nedeni çalışmaların tekrarlanabilir olmasının yanı sıra ratlar da vasküler anatomi ve fizyolojisinin insana benzerlik göstermesi, türleri içinde homojenlik olması, parametrelerin kolayca izlenebilmesi ve beyin dokularının ratlar da kolayca fikse edilebilmesidir(106).

Fokal ve global iskemi modelleri olarak 2 gruba ye ayrılır.

2.5.1. Fokal Serebral İskemik İnme Modelleri

İntraluminal suture MCAo modeli

İskemik inmelerin neredeyse %70'i MCA oklüzyonu nedeniyle gelişir. Bu yüzden deneysel çalışmalarda daha çok MCA oklüzyonu yaparak iskemi oluşturulmaktadır. Bu model kemik dokusuna ve parankime zarar vermediği için iskemi en iyi şekilde taklit eder. Bu nedenle deneysel çalışmalarda daha çok bu model tercih edilir(107).

MCAo modellerinde yaygın olarak 2 teknik kullanılmaktadır. Birinci teknik; geçici olarak karotis komünis bağlanır arteriotomi yapıldıktan sonra suture buradan internal karotise yönlendirilerek MCA tıkanıklığına kadar ilerletilir. İkinci teknik ise external karotid arter kesilir ve suture buradan internal karotid artere doğru ilerletilerek MCA bifurkasyonuna kadar gönderilir ve MCA'ya kan akışı kesilmiş olur. External karotid arterin kesilmesi anatomik bütünlüğü bozmaz ve reperfüzyon için anlamlı bir kan akımının yetersizliği gelişmez(108).

MCAo tekniğinin hem avantajları hem de dezavantajları vardır. Avantajları; bu modelde insanlardaki serebral iskemiye benzer bir penumbra alanı gelişir, iskeminin süresi ve reperfüzyonun kontrol edilmesi kolaydır. Dezavantajları ise kullanılan suture çapına bağlı olarak yeterli oklüzyon sağlanmayabilir ve subaraknoid hemorajiye sebep olabilir.

Endotelin -1 modeli

Güçlü ve uzun etkili bir vazokonstriktör olan ET-1, doğrudan beyne enjekte edilerek beyinin kan akımını iskemik inme gelişecek şekilde düşürür. ET-1, korteks topikal, intraserebral enjeksiyon ve MCA yakın enjeksiyon gibi yöntemlerle uygulanarak fokal iskemi geliştirilebilir.

ET-1 modelinin avantajları; işlemin basit ve hızlı olması, mortalite ve morbiditenin düşük olması, vazokonstriksiyonun boyutu uygulanan ilaç dozuyla ayarlanabilir olması, ekstrakraniyal damarların manüplasyonuna ihtiyaç

duyulmaması. Dezavantajları ise iskemi süresinin kontrol edilememesi ve işlemin tekrar edilebilmesinin güç olmasıdır(109).

Kraniektomi modeli

Bu modelde MCA'yı tam anlamıyla ortaya koymak için kraniektominin yapılması gerekmektedir. Burada MCAo için 2 teknik geliştirilmiştir. Birinci teknik temporal kas, parotis, zygomatic ark ve MCA'yı örten kafatası kemiğinin çıkarılması gerekmektedir. Daha sonra ortaya konulan MCA da elektrokoagülasyon, fotokimyasal, mikroanevrizma klipsleri gibi yöntemlerle oklüzyon sağlanır. İkinci teknikte ise 3 damar oklüzyon (3VO) modeli denilen ve ek olarak kollateral dolaşımı da en aza indirmek için her iki karotis kommunis de tam veya kısmi olarak oklüde edilir. Bu yöntemde parietal, frontal, temporal ve oksipital loblarda kısaca korteksin büyük çoğunluğunda iskemi oluşturulur.

Bu modelin avantajı; MCA'nın doğrudan gözle görülebilir olması. Dezavantajları arasında yüksek cerrahi teknik bilgi gerektirmesi, vasküler hasar, parankim hasarı, kafa içi basıncını etkilemesi olarak sayılabilir.

2.5.2. Global Serebral İskemik İnme Modelleri

Ventriküler fibrilasyon modeli

Kardiyak arresti taklit etmek için sık kullanılan bir teknik olup bazı araştırmacılar bu tekniğe CPR da ilave etmişlerdir. Büyük deney hayvanlarında daha sık kullanılan bu teknik ideal olmasına karşın oldukça meşakkatli ve pahalıdır. Köfler ve ark. bu tekniği farelere modifiye etmiştir. KCL desteğiyle kardiyak arrest oluşturulup CPR protokolü uygulandıktan sonra hippokampal ve kaudoputamen hasarı izlenmiştir (110).

Boyun turnike modeli

Bu teknikte venöz oklüzyon ve nervus vagus sıkıştığından yapılmak istenen iskemi karmaşık bir hal alabilir. Bu tekniğin başka bir dezavantajı ise a.vertebralisler

foramen vertebrale içinde obulunduğundan vertebral arterlerin kleplenmesi sonucu istenilen global iskemi elde edilemez. Modifiye edilen bu teknikte daha çok kedi, köpek ve maymunlar kullanılır.

2 damar oklüzyon modeli (2VO)

Bu iskemi tekniğinde hipotansiyon ile karotis komminislerde geçici darlık oluşturulur. Farmakolojik ilaçlar kullanılarak da deney hayvanından kan alınarak tansiyon sistolik 35-50 mmHg seviyelerine düşürülür. Yaklaşık 5-15 dakikalık iskemi sonrası serebral kan akımı %5'e kadar düşmektedir. İskemi sonrasında neokorteks, hipokampus, kaudoputamen'de değişiklikler oluşur. 2VO modeli 4VO modeline göre avantajları; cerrahi olarak basit bir işlem olması, reperfüzyonun sağlanabilmesi, mortalitenin düşük olması. dezavantajı çeşitli farmakolojik ajanlarla hipotansiyon yapıldığında bulgulara karışıklığa sebep olma riski vardır(111).

4 damar oklüzyon modeli (4VO)

Bu modelde her iki vertebral arterler foramen'de elektrokoagülasyonla oklüde edilir, daha sonrasında her iki karotis komminis geçici klipslerle oklüde edilir. İskemiden sonra klipsler çekilerek reperfüzyonun rahatlıkla sağlanabilmesi bu modeli üstün kılmaktadır(112).

Ancak modelin başarısı ratlar arasında farklılık gösterir. Bu farklılık ratlardaki kollateral dolaşıma bağlanmaktadır. Bu tekniğin kullanımının güç olması, çalışmalar arasında farklılık bulunması, dezavantajıdır.

Kafa içi basıncı yükseltilmesi modeli

Bu modelde sisterna mandan BOS'a sıvı verilerek kafa içi basıncı yükseltilir ve ortalama arteriyel basıncın 25-50 mmHg üzerine çıkarılması sağlanır. Böylece beyin kan akımı azalmış olur geçici iskemi meydana gelir. Ancak ortaya çıkan patoloji sadece iskemiden kaynaklanmayıp beyin parakiminin daha çok kafa içi

basınçartışından etkilenmesinden kaynaklı olduğundan istenilen sonuçlar elde edilememiş olup pratikte kullanımı da sınırlı kalmıştır (113).

2.6. Deneyimizde kullandığımız ilaç

2.6.1. Visnagin

Dünyada, özellikle rastgele yayılış gösteren ve ülkemizde de yetişebilen *A. Visnaga* ile *A. majus* türleri daha yaygın olup (114), özellikle içeriğinde bulunan uçucu yağ ve furanokumarin bileşikleri sayesinde tedavi amacıyla kullanılabilmektedir. Halk arasında “hıltan” ve “kürdanotu” adları ile bilinen bu bitkilerin *Ammi visnaga* çiçekli iken açık bir şemsiye şeklinde olup, bitkinin meyveleri olgunlaştıktan sonra çiçek sapları birbirine yaklaşır ve şemsiye kapanır. Sapları, dişleri temizlemek için kürdan olarak kullanılıyor (115). “Visnaga” epiteti “iki kat akut (sivri) anlamın da “bis acutum” sözcüklerinde geldiği düşünülmektedir. İspanyolca da “visnaga” kürdan anlamına gelmektedir. Umbella çiçek sapları (pedinkülleri) Uzak Doğu ve Orta Doğu pazarlarında satılmaktadır (115).

Türkiye dahil, çoğu ülkelerde doğal olarak yetişen visnaga bitkisinin Arjantin, Meksika ve Kuzey Amerika’da kültürü yapılabilmektedir (116).



Şekil 11. *Ammi visnaga* bitkisi

Gövdesi dik ve güçlü, 90-150 cm boyunda, bir ya da iki yıllık bitkilerdir. Yaprakları üçgene benzer veya ovat şeklinde olup yeşil, çıplak ve 2-pennat parçalıdır. Umbellalar uzun pedinkullu, 1-10 cm, yayılmış 30-150 ışıklı, çiçekli döneminde zarif, meyveli döneminde dik ve dolgundur. Çiçeklenme dönemi Mayıs-Ağustos arası aylara da olmaktadır. Nadas alanları, ovalar, deniz seviyesinden 700 metre yüksekliğe kadar olan alanda yetişebilmektedir(117). Genel olarak yayılışına baktığımızda Ammi visnaga Akdeniz'in ılık ikliminde yetiştiği görülür. Doğu Asya, Kuzey Afrikave Akdeniz ikliminin bulunduğu Avrupa'da doğal olarak yetişebilmektedir. Kuzey Amerika, Arjantin, Tunus, Meksika, Rusya, İran, Mısır ve Şili'de kültüre yapılmaktadır(118,136). Ülkemizde ise başlıca kıyılarda olmak üzere, Güneydoğu Anadolu, Trakya ve Adalar'da doğal olarak yetişmektedir.

Kimyasal bileşimi

Visnagin, C₁₃H₁₀O₄ moleküler formülüne sahip organik bir kimyasal bileşiktir. Kromon (1,4-benzopiron) ve furan bileşik türevi olan bir furanokromondur. Dimetilsülfoksit (DMSO) gibi organik çözücüler de çözünebilir. . Visnagin erime noktasının sıcaklığı 143-145°C olarak tesbit edildi. (Günaydın ve Beyazit, 2004).

Ammi visnaga flavonoidler, furanokromonlar ve uçucu yağ içermektedir. Temel bileşikler, furanokromon türevi olan pironlardır (%2-4). Pironlar içeriğindeki baskın olan bileşenler kelin (%0.3-1.2) ve visnagin (%0.05-0.30) bileşikleridir(118).



Şekil 12. Visnagin kimyasal yapısı

Halk arasında kullanım alanları

A. visnagagenellikle nefrolitiazise bağı kolik ağrı ve menstrüasyon ağrılarında, hafif anjina pectoris tedavisinde, astım, boğmaca,öksürük gibi solunumsal şikayetlerde asıl tedaviye ek olarak kullanılabilmektedir. Tansiyon yüksekliğinde, kardiyak ritim bozukluklarında, konjestif kalp yetmezliğinde, aterosklerotik damar hastalıklarında, kolesterol yüksekliğinde, karaciger ve safra kesesi hastalıklarında kullanılmakta olup aynı zamanda diüretik etkisi de mevcuttur.Vitiligo, psöriazis, deri yaraları ve deri iltihabı gibi deri hastalılarında topikal olarak kullanılabilmekte ve faydasının görüldüğü belirtilmektedir(118,136).

Türkiye de yapılan etnobotanik çalışmalarda meyvesinden yapılan infüzyonunun solunum yolu hastalıklarında, nefrolitiaziste, bağırsak rahatsızlığında, dental hastalıklarda ve aterosklerozda kullanıldığı bilinmektedir(119). Toprağın üstündeki bölümlerinden yapılan infüzyonun Kayseri'nin Yahyalı ilçesinde damar açıcı olarak kullanıldığı raporlandırılmıştır(120,136).

Tablo 3. Ammi visnaga türünün farklı ülkelerdeki geleneksel kullanımı

Bölge	Kullanılan Kısım	Kullanım Amacı	Kaynak
Mısır	Meyve	İdrar yollarındaki taşları düşürmek amacıyla kullanılmakta	(121)
İtalya, Tunus, Libya, Peru, Pakistan, Filistin, Sudan ve Mısır	Meyve	İdrar yolu iltihabı tedavisi için 250 gr'ı 500 mL su içerisinde kaynatılarak yapılan dekoksionun 100 mL'si günde 3-5 defa olacak şekilde ağızdan alınmaktadır	(122)
Eski Mısır	Meyve	Böbrek taşları kolik ağrı	(123)
Fas	Meyve	Diyabetes mellitus, cilt hastalıkları, astım hastalığında ve kürdan olarak	(124)
İsrail	Meyve	Diyabetes mellitus hastalığı için yararlanılmaktadır	(125)

Orta Doğu	Meyve	Ezilip toz olarak kullanılan çaylarırenal taşla bağlı kolik ağrıları azaltmak ve renal taşın kanaldan geçişini kolaylaştırmak için	(123)]
Pakistan	Meyve	İnfüzyonuyadatozu,kolon iltihabı,tifo,içorganağrıları,hipertermi, farejit için yararlanılmaktadır. İnfüzyonu ve tozugalaktagog,stomaşik,tonik,ağrıyı kesmek, gaz rahatsızlığı, kusmayı gidermek, öksürükrahatsızlıkları için yararlanılmaktadır	(126)
Pakistan	Meyve	Karın ağrısı, gribal enfeksiyon, hipertermi, soğuk algınlığı, gaz, toraks ağrısı, tifo, kusma ve hazımsızlık gibi rahatsızlıklarda kullanılabilmektedir.. Meyveleri inek yağınakonularaktonikşeklinde çocuklara verilmektedir	(126)
İran	Topraküstü bölümleri	tozlu suyu veya çok küçük kuru tozları veya yağıburundan alınarak amnezide kullanılmakta.	(127)

Tıpta kullanımı

Ammi visnaga meyvesinin asıl parçası olan visnagin ve kellin, enflamasyona, diyabete, spazma,bakteriyel ve viral enfeksiyonlara karşı etkili olup aynı zamanda nöroprotektiftirler. Bu parçalar ayrıca düz kasları gevşetir,koroner vazodilatasyon sağlar, bronşları, üriner damarları genişletir, kan basıncını değiştirmeden kan damarlarını genişlettiği belirtilmiştir.Ayrıca nefrolitiazis tedavisinde faydalanılmaktadır(128).

Visnadin, visnagin ve kellin bileşenlerininCa⁺ kanalını bloke edici etkileri sebebiyle kalp ve vasküler yapılarda etkiyesebep oldukları düşünülmektedir. Visnadinin in vitro araştırmalarında periferik ve kardiyak vaskülerleri genişlettiği, kalp dolaşımını arttırdığı ve damar düz kaslarının kasılmasını engellediği belirtilmiştir. Visnagin,

periferik ve kardiyakdamarları genişleterek ve damar düz kaslarının kasılmalarını nonspesifik olarak engelleyerek anjina pektoris tedavide kullanılmaktadır. Visnagin, aynı zamanda negatif inotropik ve kronotropik etkiye sahiptir ve periferik damar direncini azaltmaya yardımcı olur. Kellin ve visnagin spazm inhibisyonu yaparken, kalsiyum kanal bloke etme etkisini artırır. Kellin etken bileşeninin normal lipid seviyesi olan gönüllülerde HDL-kolesterolu yükselttiği belirtilmiştir(118,136).

İlgili çalışma ve araştırmalar

İn vitro çalışmalar

Hatay'daki *A.visnaga* meyvelerinden ayrıştırılan visnagin etkeninin, insan malign melanom hücrelerinde (HT144) sitotoksik etkinin araştırıldığı bir incelemede 12.5, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlar standart ve görünür ışık uygulamalarında araştırılmıştır. Görünür ışık ile tedavide 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda hücrelerin %50'nin üstünde inhibe olduğu kayda geçirilmiştir. Visnagin'in malign melanomdaki proliferasyonu hücre içindeki oksidatif stresi çoğaltarak ve proapoptotik yolağın aktivasyonunu sağlayarak inhibasyonu sağladığı kayıt altına alınmıştır(129).

Bitkiden yapılan sulu ekstrenin, sistin taşlarına olan etkileri, içinde sistin taşları olan şişelere koyulmasıyla araştırılmıştır. Sonuçta sistin taşlarının dissolüsyon oranına olumlu tesir ettiği kayıt altına alınmıştır(121,136).

A. visnaga bitki ekstresinin glikojen ve total proteini azalttığı ve hemolenflerde toplam lipid miktarını ve glukozu düzeyini düşürdüğü kayıt altına alınmıştır(130).

Bitkiden yapılan uçucu yağın *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerinde antibakteriyel etkisi belirtilmiştir(131).

Komple bitki ve meyvesinden yapılan sulu ekstrenin insan idrarındaki okzalik asit kristalizasyonuna inhibitör etkisi araştırıldığında, meyvesinden yapılan sulu ekstrenin aktif bir şekilde kalsiyum okalat kristalizasyonunu inhibe edici etkisi olduğu gözlemlenmiştir(118,136).

İn vivo çalışmalar

Çalışmanın birinde 1 ay süresince %3 glikolik asit hayvanlara verilerek arttırılmış olan oksalat nefrolitiazis tedavisinde günlük olarak A. visnaga 500 mg/kg ağızdan verildiğinde renal kalsiyum birikmesini azaltıp renal taş oluşmasına karşı koruyucu etkisi kayıt altına alınmıştır. A. visnaga bitkisindeki bu profilaktik etki diürez etkisine dayandırılmıştır(118).

Farklı bir incelemede su ile %1 NH₄Cl ve %0.75 etilen glikol verilmesiyle arttırılan hiperokzalüri Sprague-Dawley cinsinden erkek ratlarda 2 hafta boyunca A. visnaga sulu ekstresi 125, 250, 500 mg/kg dozlarında ağızdan uygulanmış. İdrar pH değerindeki artış ve kristal birikmesi arasındaki bağlantı incelenerek bitkinin renal taş oluşumunu engellediği görülmüştür(118).

Farmakokinetik analiz incelemesinde erkek ratlara iv bolus olarak %25 visnagin bileşiği 1.25 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg şekilde 3 farklı dozdayapılmıştır. Visnagin eliminasyonunun gözlemlenen değerlerinin ışığında iki kompartmanlı Michaelis-Menten modeline en uygun olduğu saptanmıştır. Sonuçta visnagin eliminasyonunun sağlanmasında enzim veya transport sisteminin etkisi olduğu düşünülmüştür(132).

Başka bir araştırmada serulein verilerek indüklenmiş akut pankreatitli erkek albino fareler 6 gruba bölünerek bitkideki koruyucu etki incelenmiştir. Bu araştırmada visnagin bileşiğinin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi sebebiyle serulein verilerek indüklenmiş akut pankreatit de önemli derecede koruma sağladığı kayıt altına alınmıştır(133,136).

Etilen glikol ve alimünyum klorit verilerek renal taşı arttırılan ratlarda, meyvelerin sulu ekstresi uygulanmıştır. Sonuçta kalsiyum okzalat kristallerinin birikiminin düştüğü, üriner sistemden sitrat atımının yükseldiği ve okzalat atımının düştüğü kayıt altına alınmıştır(121).

Klinik araştırmalar

Bir klinik araştırmaya, katılım sağlayan 60 kişiye A. visnaga verilip güneş ışımına maruz bırakılmasından sonra ciltte %76.6 yeniden pigmentasyon olduğu kayıt altına alınmıştır(118). Aynı araştırmada vitiligo hastalığından muzdarip 28 gönüllüye A.

visnaga ve ultraviyole A ışınının kombine uygulanmasından sonra tedavi alan katılımcıların %41'inde %70 oranı üzerinde repigmentasyon saptanmıştır (118).

Plasebo kontrollü bir araştırmada da vitiligo hastalığı olan 36 katılımcıya topikal A. visnaga jel ve UVA yapılmasından sonra plasebo gruba oranla %66.6 tedavi başarısı sağlanarak %86.1 ile yeniden pigmentasyon saptanmıştır(118).

Yapılan bir vaka çalışmasında 52 yaş bir erkek hasta Kellagon adında preparatı 3 gün boyunca aldıktan sonra sağ yanında ağrı başlaması sebebiyle acile gelmiş. Hasta sorgulandığında 16 sene önce renal taş sıkıntıları yaşadığı ve üroloji takiplerine düzenli başvurduğu raporlandırılmış. Hasta sağ böbreğinde 5-16 mm büyüklüğü aralığında değişen çok sayıda taşı bulunduğu kellin içerikli preparatı 3 gün önce taşlarını düşürmek amacıyla almaya başladığı iddiasında bulunmuştur. Muayenesinde kostavertebral açıda hassasiyet ve idrar tetkikinde hematuri saptanmıştır, böbrek fonksiyonları normal olduğu belirtilmiştir. Hastanın kontrast helikal bilgisayarlı tomografisinde sağ üreterinde 3-5 mm boyut aralığında 5 adet taş not edilmiştir. Hastanın ağrısı rahatlatıldıktan sonra 3 gün içinde taşların spontan düştüğü belirtilmiştir. Sonuç olarak, kellin etken maddeli ürünün diürez etkisi dolayısıyla taşların düştüğü kaydedilmiştir(134,136).

Yapılan başka prospektif ve randomize bir çalışmada, premenopozal dönemdeki seksüel uyarılma bozukluğu yaşayan kadınlarda vulvar visnadin spreyn etkinliğine bakılmıştır. Katılımcılar eşit gruplara ayrıldıktan sonra spreyi kullanmaya başlamadan 1 ay önce yaşadıkları cinsel ilişki durumunu ve spreyi kullanmaya başladıktan 1 ay boyunca yaşadıkları cinsel ilişki durumunu kayıt altına almaları istenmiştir. Sonuç olarak spreyn kullanılmasından ziyade ne sıklıkta kullanıldığı kanısına varılmıştır. Gereklik halinde kullanılmasından çok günlük kullanımının daha etkil olduğu çıkarımına varılmıştır(135,136).

3. MATERYAL VE METOD

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayını aldıktan sonra deneysel çalışmamızı Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma Ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında gerçekleştirdik.

Yaptığımız deneysel çalışmamızda yaklaşık olarak 250-300 gr ağırlığında rasgele seçilmiş 35 adet Sprague Dawley cinsi dişiratlari kullandık. Deneyi yaptığımız süre boyunca ratlar ideal ve uygun laboratuvar şartlarında (sessiz ortam, havalandırma imkanı olan ve güneş alabilen, %50-60 nem ortamında, 22-24 derece sıcaklıkta) düzenli olarak takip edildi.12 saat karanlık 12 saat gündüz döngüsü uygulandı ve standart yem ile beslenmeleri sağlandı. Ratlar İdeal ölçü ve boyutlardaki kafeslerde tek başlarına takip edilerek kafesleri düzenli ve belli aralıklarla temizlendi.

Ratlar 1 haftalık grup içi adaptasyonları sağlandıktan sonra rastgele seçilerek 7'li 5 gruba ayrıldı.

3.1.Deney Grupları

Grup 1 (Kontrol grubu, n=7) : Herhangi bir işlem uygulamadığımız grup

Grup 2 (İskemi grubu, n=7) : Sadece iskemi yapılan ilaç vermediğimiz grup

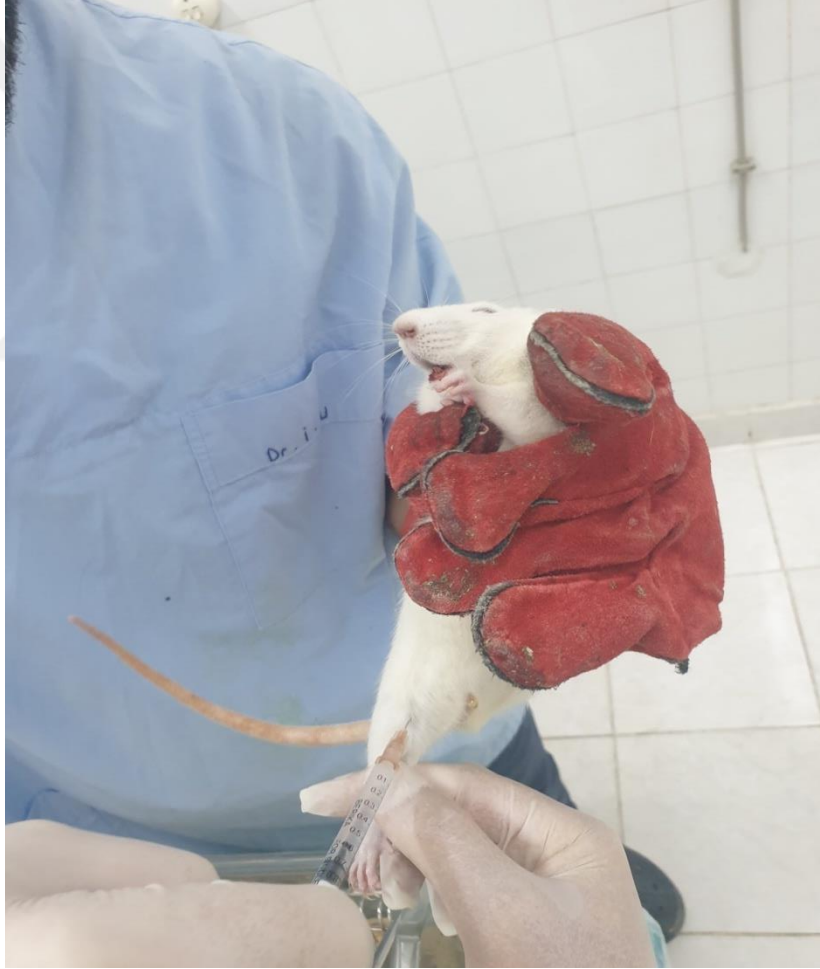
Grup 3 (İskemi + visnagin 10mg, n=7) : İskemi oluşturulup 90 dakika sonra reperfüzyon sağlandı ardından ilk doz 10mg/kg/gün (i.p.) visnagin verildi.24. Saatte ve 48. Saatte doz tekrarı 10mg/kg/gün (i.p.) visnagin verdiğimiz grup.

Grup 4 (İskemi + visnagin 30mg, n=7) : İskemi oluşturulup 90 dakika sonra reperfüzyon sağlandı ardından ilk doz 30mg/kg/gün visnagin(i.p.) verildi.24. Saatte ve 48. Saatte doz tekrarı 30mg/kg/gün(i.p.) visnagin verdiğimiz grup

Grup 5 (İskemi + visnagin60mg grubu, n=7) : İskemi oluşturulup 90 dakika sonra reperfüzyo sağlandıardından ilk doz 60mg/kg/gün visnagin (i.p.) verildi. 24.saate ve 48. saatte doz tekrarı 60mg/kg/gün (i.p.) visnagin verilerek toplam 3 doz 60mg/kg/gün dozunda visnagin (i.p.) tedavi verdik.

3.2.Pre op Anestezi

Cerrahi işleme başlamadan önce aspirasyona yönelik bir komplikasyon gelişmemesi için ratların en az 4 saat oral alımları kesildi. Ratlara 80 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®; Pfizer, İstanbul, Türkiye) + 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun®; Bayer Healthcare, Leverkusen, Almanya) ile kombine anestezi uygulandı (Resim 1). Anesteziden sonra deney hayvanını enfeksiyondan korumak için 50 mg/kg dozunda sefazolin (i.m.) yapıldı. Ayrıca 5 cc salin intraperitoneal olarak deney hayvanına yapıldı.



Resim 1: Cerrahi işlemden önce i.m. ketamin ve ksilazin uygulandı



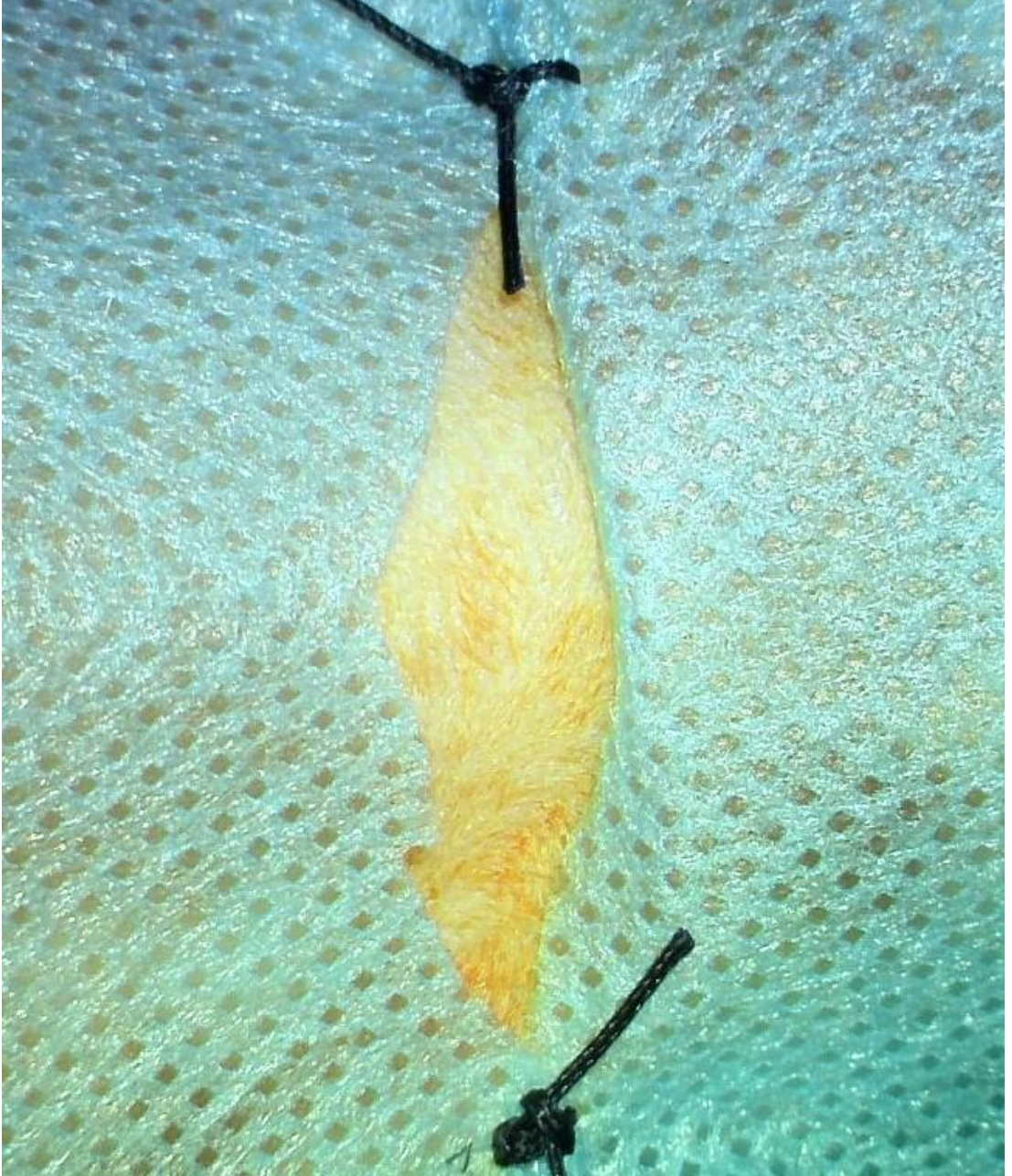
Resim 2:Deneyimizde kullandığımız cerrahi aletler



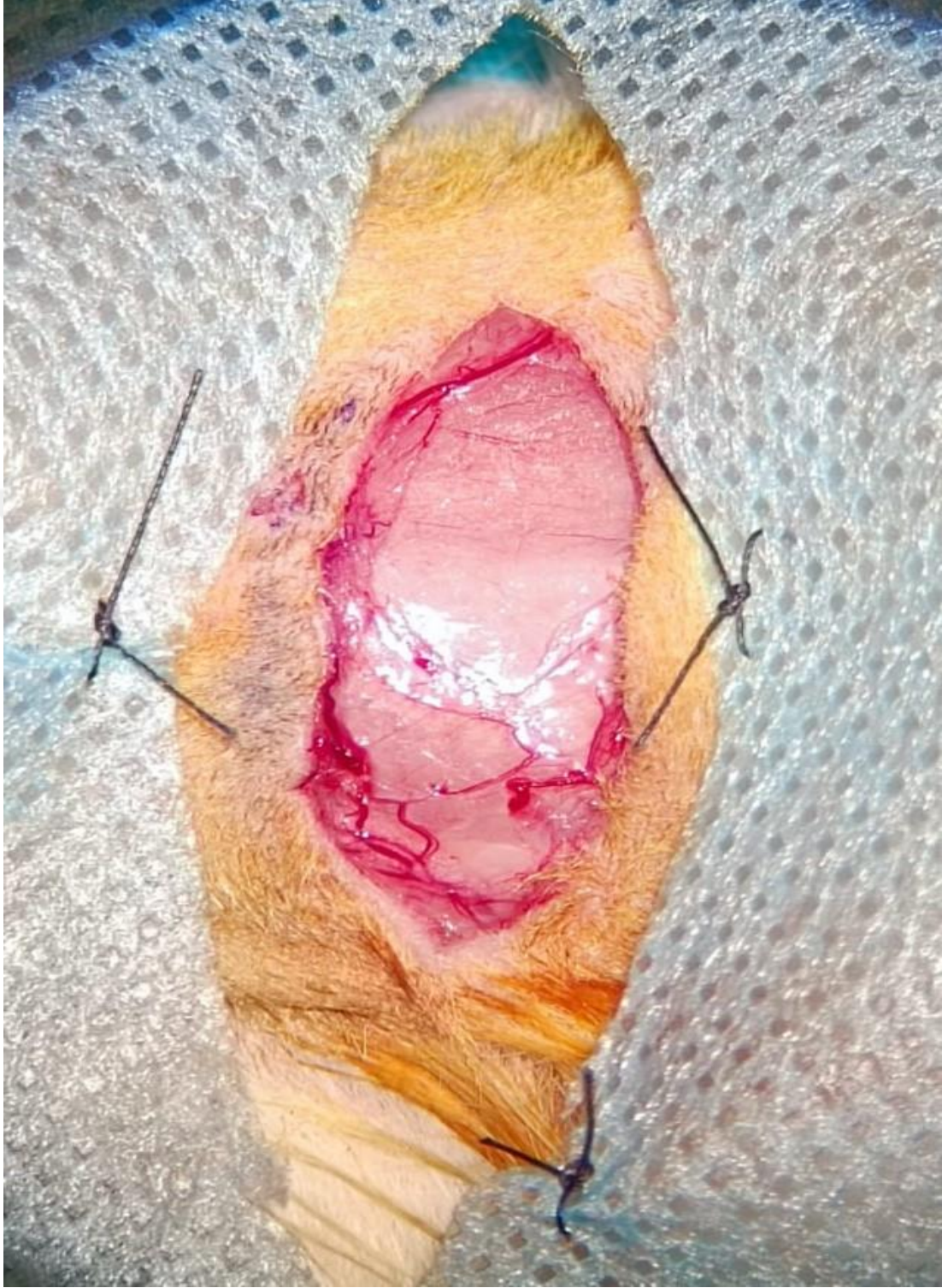
Resim 3:Deneyimizde kullandığımız mikroskop

3.3.Cerrahi İşlem

Cerrahi işleme başlamadan önce cerrahi alanı kapsayacak şekilde ratlarınboyun kısmı traş edildi. Pre op ve ameliyat sonrası cerrahi alan %10'luk povidone iodine (Batticon®; Adeka, Samsun, Türkiye) ile silindikten sonra sterilgazlı bezle cerrahi alan temizlendi. Cerrahi alan steril bir şekilde boyandıktan sonra steril delikli yeşille örtüldü (Resim 4).



Resim 4:Cerrahialanın batikonla sterilizasyon sağlandıktan sonra izotonikle yıkanması ve steril yeşille örtünmesi



Resim 5:Boyun orta hat transvers cilt kesisi

Transvers kesi yapılarak cilt, cilt altı dokusu keskin disseksiyon ile geçildi sonra yüzeysel fasya dokusu kesildi. Yüzeysel fasya disseke edildikten sonra submandibüler glandüler doku, sternohyoid, digastrik ve sternomastoid kaslar ortaya konuldu. (Resim 6).



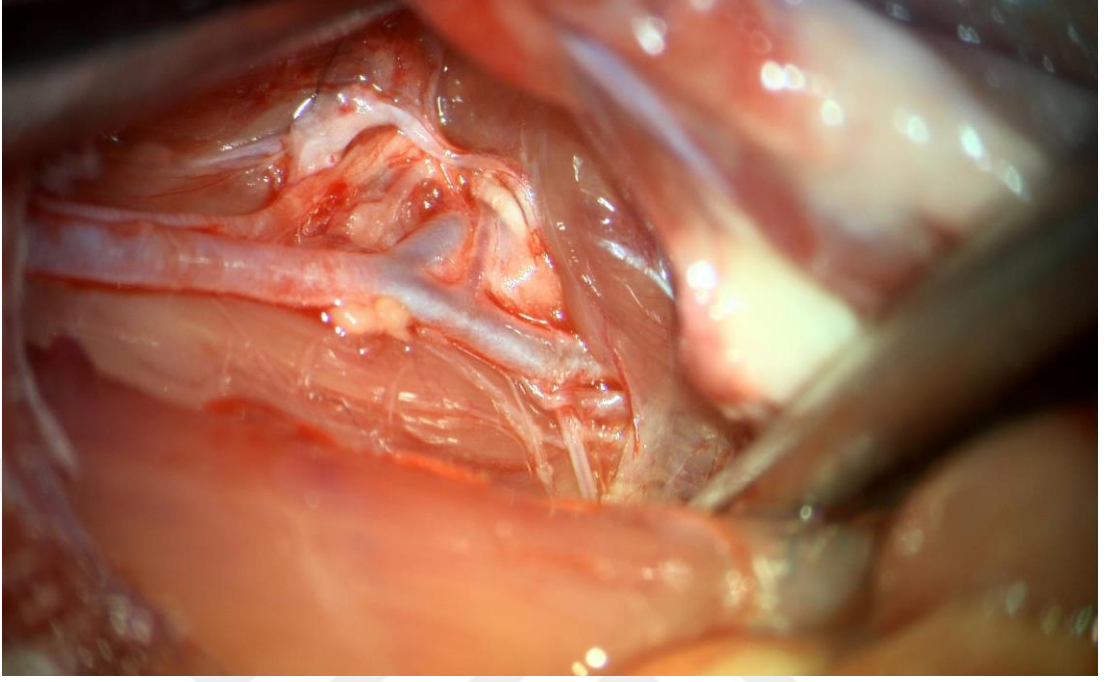
Resim 6:Submandibüler glandüler doku, sternohyoid kas ve sternomastoid kasın görünümü

Künt disseksiyon yardımıyla damar-sinir paketi görüldü. Daha sonra bu aşamada karotis komminis ve nervus vagus ortaya çıkarıldı (Resim 7).



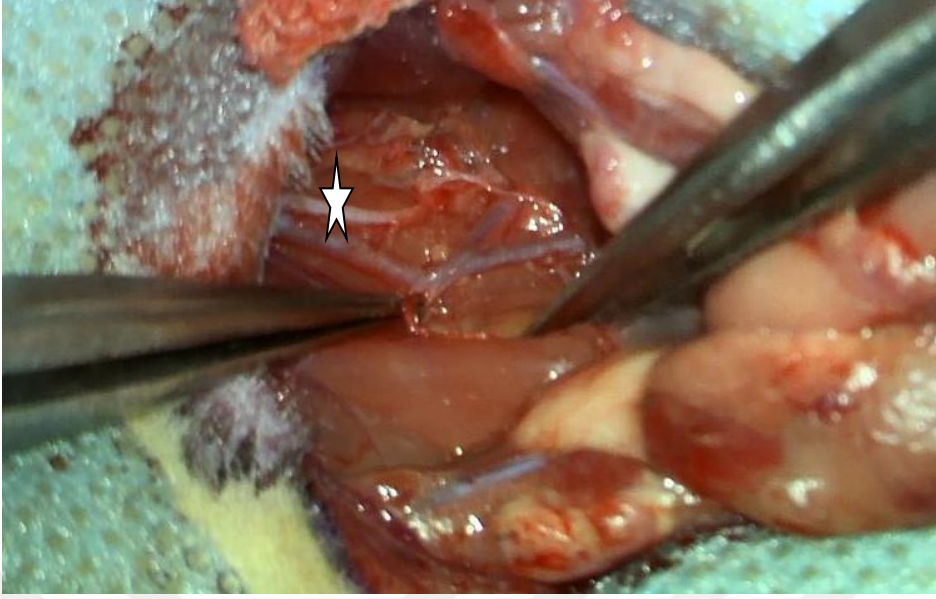
Resim 7: Lateralde: nervus vagus, medialde: karotis kommunis görünümü

Arteria karotis kommunis takip edilip bifurkasyona ulaşıldı ardından internal ve external karotid arterler ortaya çıkarıldı (Resim 8).



Resim 8: External ve internal arterlerin görünümü

Nervus vagus keskin disseksiyon yapılarak karotis kommunisten disseke edilerek güvenli alan oluşturuldu (Resim 9).



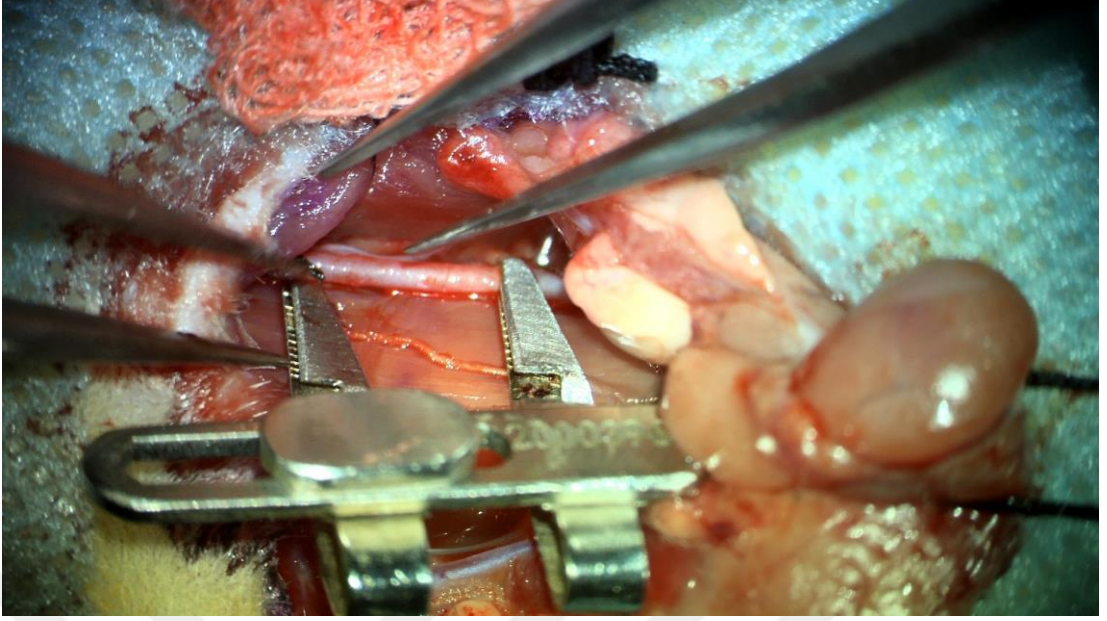
Resim 9:Nervus vagusun görünümü

Common carotid arter proximalde 5-0 ipek suturela sıkı bir şekilde bağlandı (Resim 10).



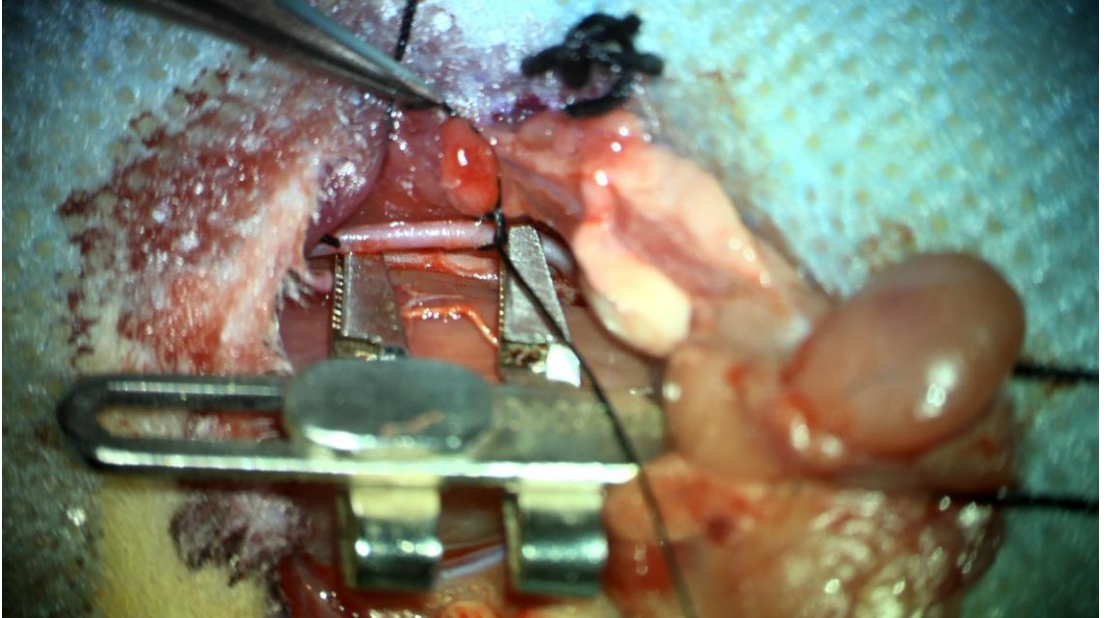
Resim 10: Common carotid arterin proximalde sıkıca bağlanması

Kommon karotid arterin bifurkasyona yakın yerden geçişi olarak kliplenmesi (Resim 11).



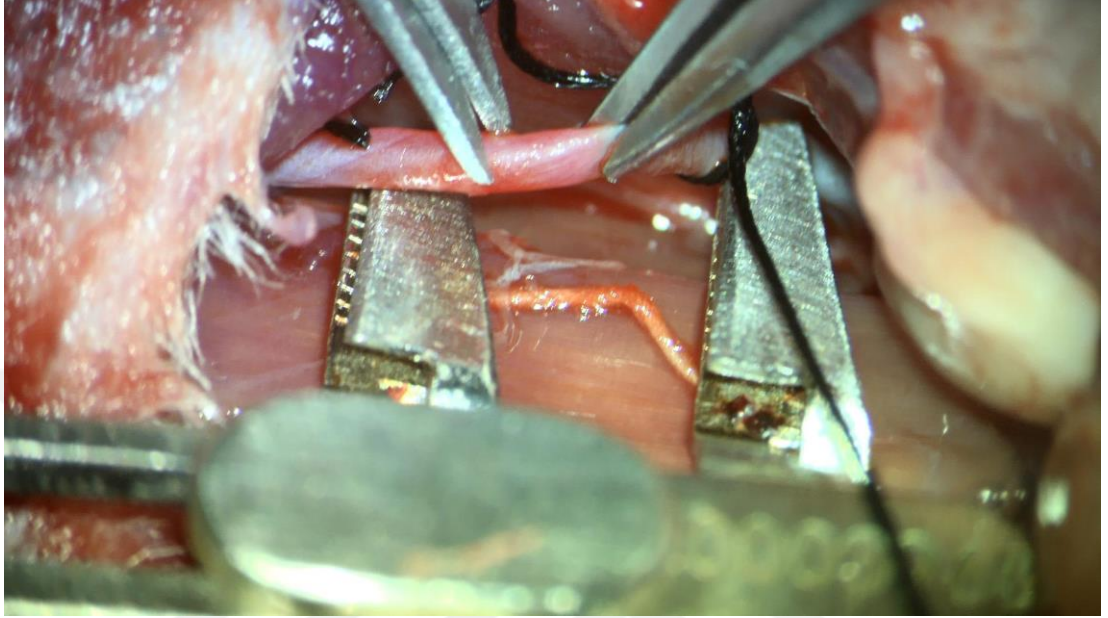
Resim 11 Kommon karotid arterin bifurkasyona yakın yerden geii kliplenmesi

Common carotid arterin distalden de 5/0 ipek sütur ile bifurkasyona yakın ve carotid interna görülecek bir şekilde gevşek olarak bağlandı (Resim 12).



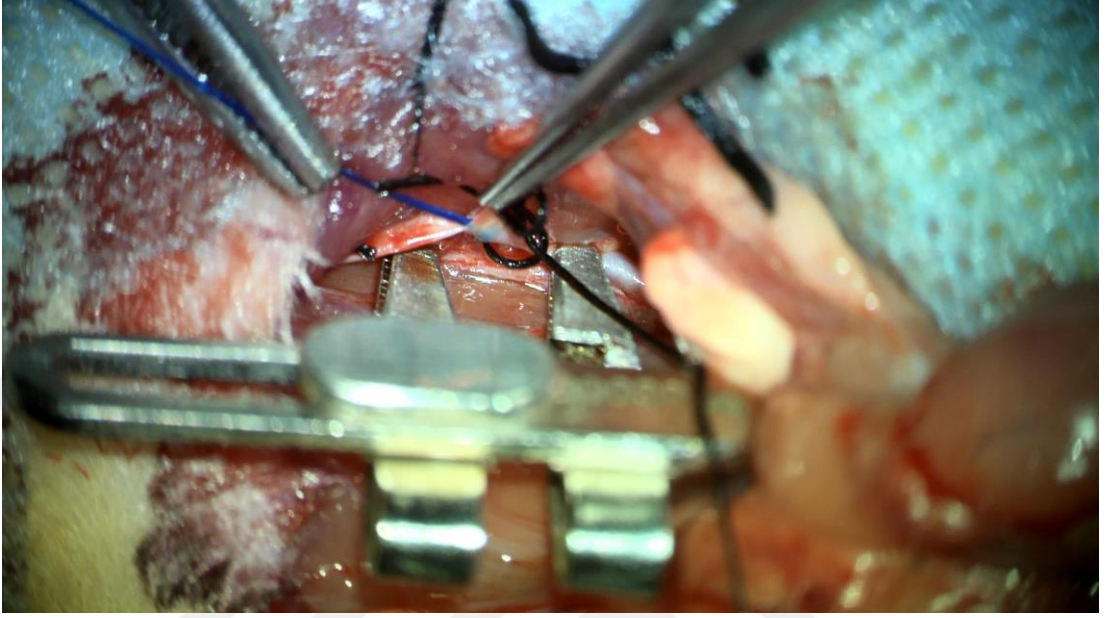
Resim 12: Common carotid arterin bifurkasyona yakın yerden gevşek bağlanması.

Common carotid arter ve internal karotid arter klips yardımıyla geçici olarak kapatıldı (Resim 13).



Resim 13:Common carotid arterve carotid internanın klipsle geçici olarak kapatılması

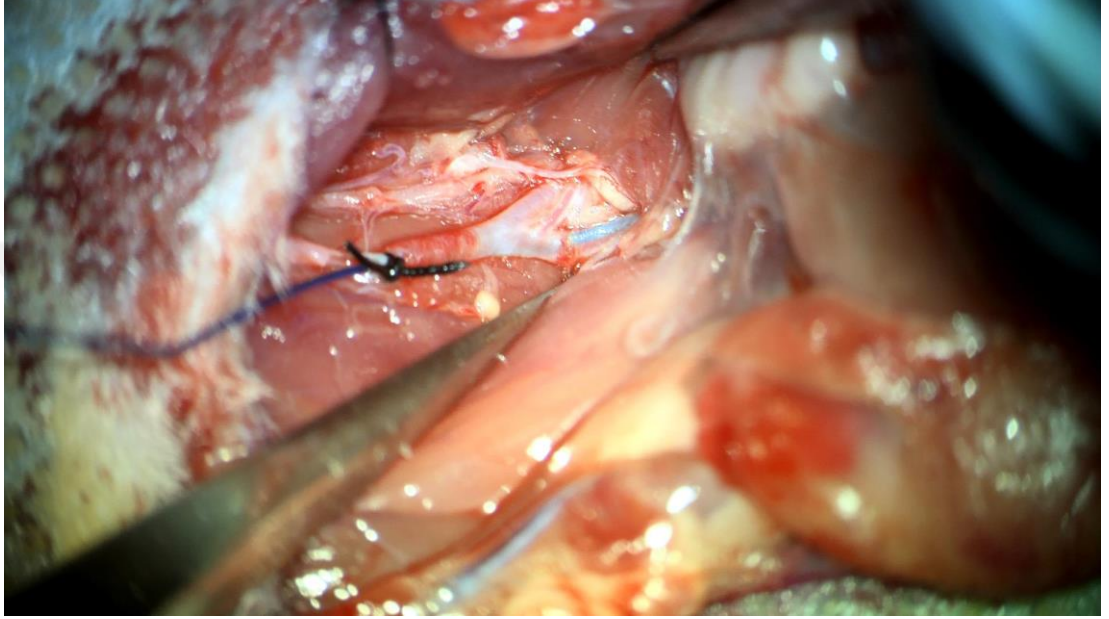
Common karotid arterdeki süturlar arasında yaylı makas yardımıyla arteriotomi yapıldı. Buradan 3-0 monoprolenucu genişletilmiş sütur geçirildi ve sütür internal karotid artere doğru yönlendirildi(Resim14).



Resim 14:Arteriotomi yapılan common carotid arterden süturu ilerletilmesi

3/0 monoproten sütur common carotid arterin içerisinden ilerletildikten sonra gevşek bırakılan sütur sıkı bir şekilde düğümlendi.

Common carotid artere ilerletilen sütur manevrayla yn verilerek internal karotid artere doğru ilerletildi ve klipsler çıkarıldıktan sonra sütur da direnç oluşuncaya kadar middle cerebral artere doğru ilerletildi(Resim 15).



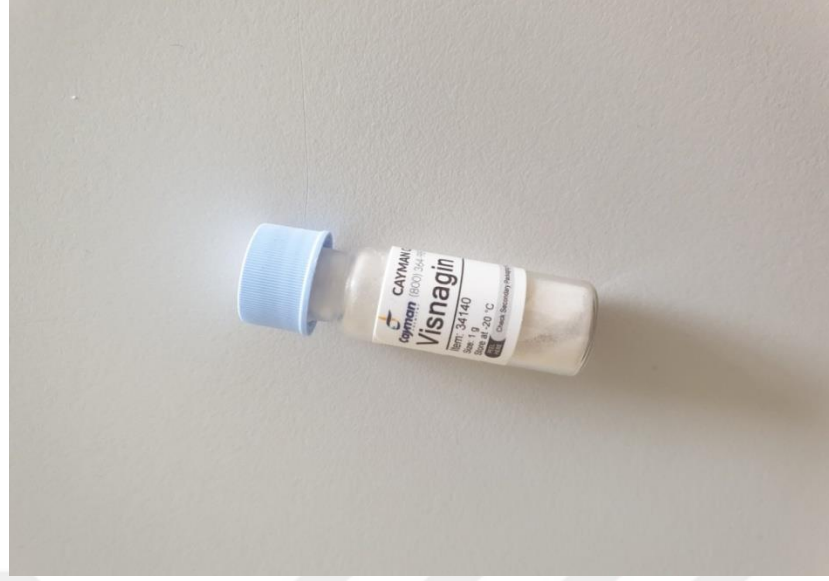
Resim 15: Common karotid arter, external karotid arter, internal karotid arterin görünümü: sturn internal karotide doğru yönlendirilmesi

90 dakika boyunca sütür internal karotid arterde bekletilip MCA oklüzyonunu sağlamış olduk. Tabakalar usulüne uygun bir şekilde 3-0 ipek sturla kapatıldı (Resim16).



Resim 16:Cilt ipek sütur ile kapatıldı

Cerrahi işleme son verildikten sonra alan batikonla temizlendi pansuman yapıldı. 90 dakika sonunda sütur geri çekilip reperfüzyon sağlandı veVisnagin in ilk dozları uygulandı. Çalışmamızda kullandığımız visnagin (Resim 17).



Resim 17:Çalışmamızda kullandığımız visnagin

3.4.Sakrifikasyon

Ameliyattan 48 sonra tedavilerini tamamladığımız gruplarla (grup 3,4,5) kontrol (grup 1) ve iskemi (grup 2) gruplarının sakrifikasyon işlemine başlandı. Gruplara sırasıyla Genel anestezi uygulanarak (80 mg/kg ketamin hidroklorid + 10 mg/kg ksilazin hidroklorid) sakrifikasyon işleminden önce beyin dokularının sağlıklı bir şekilde ortaya konulması için önce torakotomi yapılarak sol ventriküllerinden kan alındı. Daha sonra ratların boyun kasları disseke edilerek foramen magnuma ulaşıldı.

Buradan keskin makasla ratların kafatası kemiği orta hattan oksipitalden frontale doğru kraniyektomi yapıldı. Mikrodissektör ve mikromakas yardımıyla beyin dokusuna zarar vermeden kraniyumdan bir bütün olarak çıkarıldı. Çıkarılan beyin dokusu orta hattan ikiye bölündü. İskemi oluşturduğumuz sağ hemisferler %10 'luk formaldehit içerisinde oda sıcaklığında fikse edildi.





Resim 18:Sagital planda rat beyninin görünümü



Resim 19: Altan rat beyninin görünümü



Resim:20Üstten Rat beyninin görünümü

3.5. Rutin Histolojik Takip

Tedavisi biten deney grupları ile kontrol ve iskemi grubu ratlar Sakrifiye edilip beyin doku örnekleri eşit iki hemisfere ayrıldıktan sonra %10'luk formaldehit solüsyonuna konularak 48 saat süre boyunca fiksasyon gerçekleştirildi. Bu süre sonunda fiks edilen beyin doku örnekleri bir gece boyunca akar çeşme suyu altında yıkanarak formaldehit den arındırıldı. Bu işlem tamamlandıktan sonra alınan doku örnekleri artan alkol serilerine (%70, %80, %90, %96, %100) konulup birer saat süreyle bekletilerek dehidratasyon gerçekleştirildi. Daha sonra beyin doku örnekleri iki seri ksilende bekletilip şeffaflandırma yapıldı. Şeffaflandırma işlemi esnasında ksilenin dokuya geçişi gözle görülür biçimde izlendi. Ksilen ile şeffaflandırmadan sonra örnekler %50 ksilen bulunan erimiş parafin içerisinde inkübatörde 1 saat boyuncabekletildi. Ardından Kirli parafin uzaklaştırılıp doku örnekleri 2 saat süreyle daha temiz erimiş parafinde bekletildi böylece parafin infiltrasyonu sağlandı. Daha

sonra doku örnekleri parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan mikrotom bıçağı kullanarak 5 µm kalınlığında kesitler alınıp 56 °C sıcaklığa ayarlanmış su banyosuna konuldu ve pozitif şarjlı lamlara alındı. Doku örnekleri daha sonra suyun uzaklaştırılması ve parafin depolimerizasyonu için 56 °C sıcaklığa ayarlanmış inkübatörde iki saat boyunca bekletildi. Bu işlemlerin ardından doku kesitleri boyamalar yapmak amacıyla uygun ortamlara bırakılıp muhafaza edildi.

3.6.Hematoksilen ve Eozin boyama Protokolü

Gruplardan alınan beyin dokuları rutin histopatolojik çalışmaları için alınan serebrum kesitleri hematoksilin ve eozin (H&E) ile boyama gerçekleştirildi. Daha sonra ksilen içerisine konulup 15'er dakika bekletilen kesitler azalan alkol serilerinde (%100, %96, %90, %80, %70) 5'er dakika süreyle bekletildi ardından bu kesitler distile su içerisine konuldu. Bu işlemin ardından Mayer Hematoksilin yardımıyla doku örnekleri 6 dakika süreyle boyandı. Boyama işlemi ve süresi bitince doku örnekleri çeşme altında 5 dakika boyunca yıkandı. Ardından örnekler %1'lik asit alkole daldırıp çıkartıldı ve çeşme suyunda yeniden yıkamaya geçildi. Hematoksilin boyanan doku örnekleri alkolik eozin solüsyonuna alındı ve 3 dakika boyunca boyama gerçekleştirildi. Eozin boyama işlemi süresi dolduktan sonra örnekler artan düşük alkol serilerine (%70, %80, %90, %96) daldırılıp çıkartılarak fazla olan eozin boyasından arındırıldı. Absolu ethanole alınan doku kesitler 1 dakika süreyle bekletildi. Bu Doku kesitleri sonrasında iki seri ksilen içerisinde 15'er dakika bekletilip entellan ile kapatılarak incelenmek üzere kaldırıldı.

3.7.İmmunohistokimya Protokolü

Parafin bloklara gömülüp kesit alınan gruplara ait beyin örneklerinde Bax, TNF α , CD86 ve CD163 immunohistokimya gerçekleştirildi. Bu hedef doğrultusunda pozitif şarjlarda bulunan beyin dokusu kesitleri iki seri ksilende 15'er dakika ve azalan alkol serilerinde (%100, %96, %90, %80, %70) 5'er dakika bekletildikten sonra distile suda yıkamaya alındı. İmmunohistokimya için doku örnekleri üç seri tamponlanmış fosfat buffer (PBS) içerisinde 5'er dakika süreyle yıkama yapıldı. Kesitler daha sonra citrat buffer içerisine alındı ve kaynama derecesine kadar ısıya maruz bırakıldı. Isınan citrat buffer içerisindeki örnekler oda ısısı seviyesine gelinceye kadar

bekletildi. Daha sonra üç seri PBS içerisinde 5'er dakika yıkama yapıldı. Peroksidaz aktivasyon inhibisyonu için doku örnekleri %3'lük H₂O₂ çözeltisinde 15 dakika süreyle bekletildi. Ardından üç seri PBS te yıkanan kesitlerin etrafı hidrofobik Pap-Pen ile sınırlandırıldı ve nonspesifik bağlanmayı engellemek için örneklerin üzerine Ultra V Block (TA-125-UB, Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) damlatılarak 7 dakika süreyle oda sıcaklığında inkübasyon yapıldı. Bloklama solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra PBS içerisinde 1:250 sulandırılan Bax (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, ABD. cat no: sc-7480)ve TNF α (sc-1348, Santa cruz Dallas, TX, ABD) CD86 (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, ABD. cat no: sc-28347) ve CD163 (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, ABD. cat no: sc-58965) antikoları damlatılarak gece boyunca + 4 °C'de inkübasyon sağlandı. Sonraki gün antikoları uzaklaştırılan kesitler iki seri PBS'te 5'er dakika süreyle yıkandıktan sonra kesitlerin üzerine geniş spektrumlu sekonder antikor Biotinylated Goat Anti-Polyvalent (TP-060-BN, Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) damlatıldı ve 15dakika süreyle oda ısısında inkübasyon gerçekleştirildi. Daha sonra örnekler tekrar iki seri PBS içerisinde 5'er dakika süreyle yıkanıp üzerine Streptavidin Peroksidaz (TS-125-HR, Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) damlatılarak 15 dakika süreyle oda ısısında inkübasyon sağlandı. Antikorların tespiti için iki seri PBS'te 5'er dakika yıkanan örneklerin üzerine sinyal oluşması için DAB kromojen(12683957, Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) damlatılarak reaksiyon gelişmesi ışık mikroskobunda gözlemlendi. Pozitiflik elde edildiğinde PBS'te yıkanarak reaksiyon durduruldu. Daha sonra çeşme suyunda yıkanan örnekler 1 dakika süreyle hematoksilin ile zıt boyama yapıp artan alkol serilerinde (%70, %80, %90, %96, %100) 5'er dakika bekletilip iki seri ksilende 15'er dakika süreyle şeffaflandırıldı. Ardından entellan ile kapatılıp hazırlanan immünohistokimya örnekleri ışık mikroskobunda incelendi ve mikrografları alındı.

4. BULGULAR

4.1.Histopatolojik Değerlendirmeler

4.1.1. Hematoksilen&Eosin Bulguları

Kontrol grubunda serebral kortekste yoğun nöron ve nöroglia hücre mevcudiyeti ile sinir dokusundan oluşan rutin sinir sistemi organizasyonu izlendi. Beynin etrafında meningeslerin serebral parankime direkt komşu ve piamater'in doğrudan beyin ile temas halinde olduğu görüldü. Piramidal nöronlar başta olmak üzere sinir hücrelerinde ve kapiller düzeyindeki serebral damarlarda perinöral ve perivasküler kaviterin mevcudiyeti normal morfolojik yapıda oldukları tespit edildi. Piramidal nöronlarda akson tepe ucu ve yer yer dendritik uzantıların normal yapıda olduğu, nöron hücre tiplerinin oldukça fazla alt grup barındırdığı ve dokunun tamamının yoğun miktarda irili ufaklı glial hücrelerden oluştuğu izlendi. Ayrıca Kontrol grubu ventriküler kavitenin normal morfolojide olduğu, hem ventrikül hem de koroidpleksusların tek katlı kübik/prizmatik epitel özelliğindeki ependim hücreleri ile yoğun bir şekilde örtülü olduğu tespit edildi (Şekil 13,14,15).

İskemi grubunda beyin dokusunda diffüz ve fokal hemoraji alanlarının bulunduğu ve kan-beyin bariyerinin ortadan kalktığı görüldü. Bu grupta beyin dokusunda geniş yıkım alanlarının yanı sıra, nöronlarda piknotik çekirdeklerin yoğun miktarda varlığı tespit edildi. Nöroglialarda nöronlara benzer şekilde piknozise uğramaktaydı ve bazı sinir hücrelerinde perinöral ödem varlığı izlendi. Damarların çok büyük bir kısmının kontraktıl durumda olduğu ve lümenlerinde konjesyonun varlığı tespit edildi. İskemi grubu ventriküler kavitede piamater perforasyonuna bağlı olarak yoğun hemorajik alanlar ve ödemli bir kavite varlığı izlendi. Ependim hücrelerinin kavite duvarında ve pleksus yapısında piknotik çekirdekli görüntüsü yaygın bir durumdaydı. Pleksusta interselüler alanların açık renkli izlenmesi buralarda ödemli bir durumun mevcudiyetine işaret etmekteydi. (Şekil 16,17,18).

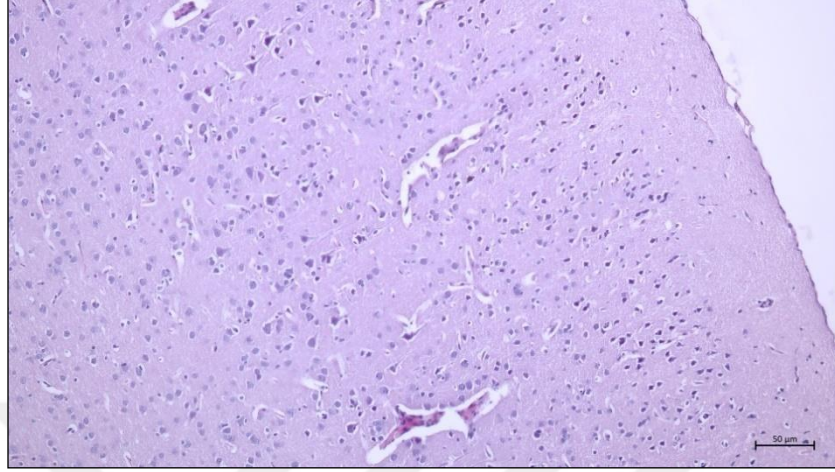
İskemi+10mg/kg Visnagin grubunda Bu grubun serebral korteks substansiya albasında tıpkı iskemi grubunda olduğu gibi nöronlarda ve glial hücrelerde piknotik çekirdekli hücre görüntüsü izlendi. Bu grubun araknoid bölgedeki vasküler

yapılarında iyileşme gözlenmesine rağmen dejeneratif durumun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında iskemi grubuna daha yakın bir morfolojide olduğu görüldü. Substansiya grisea'da bulunan vasküler yapılarda yer yer konjesyonun azaldığı görülse de damarların büyük bir kısmında perfore olgusu ile beraber seyreden hemoraji ve hem perivasküler hem de perinöral kavitede genişleme ve ödemli görünüm saptadık. . Bu grubun glia hücrelerinde yine iskemi grubuna benzer şekilde yoğun miktarda nöroglia dejenerasyonu ve piknotik hücre mevcudiyeti (ok başı) tespit edildi. Bu grubun serebralparantima arterlerinde vaskülerperforasyon ve kanın şekilli elemanlarının doku parankimasına hemorajik dağılımı patolojinin iskemi grubuna benzer nitelikte olduğunu kanıtlar nitelikteydi. Ayrıca pleksus koroideus'ta ödemli ve hemorajik yapı iskemi grubuna benzer nitelikteydi (Şekil19,20,21).

İskemi+30mg/kg Visnagin grubundaserebral nöronlarda piknotik çekirdekli hücre görüntüsü ve glial hücrelerde dejeneratif değişiklikler z varlığına rağmen iskemi ve iskemi + 10 mg/kg grupları ile karşılaştırıldığında hafif düzeyde beyin dokusu hasarının hafiflediği görüldü. Araknoidal damarların perforasyonu ve hemorajik olgunun bu grupta ciddi düzeyde azaldığı tespit edildi. Serebral arter dallarında perivasküler kavitenin kontrol grubuna daha yakın bir görüntüde olduğu buna karşın vasküler konjesyon durumunun mevcudiyetini sürdürdüğü tespit edildi. pelksus koroideus ve ventriküler kavitesinde iskemi ve iskemi + 10 mg gruplarında bahsedilen dejeneratif etkilerin kayda değer düzeyde azaldığı tespit edildi(Şekil22,23,24).

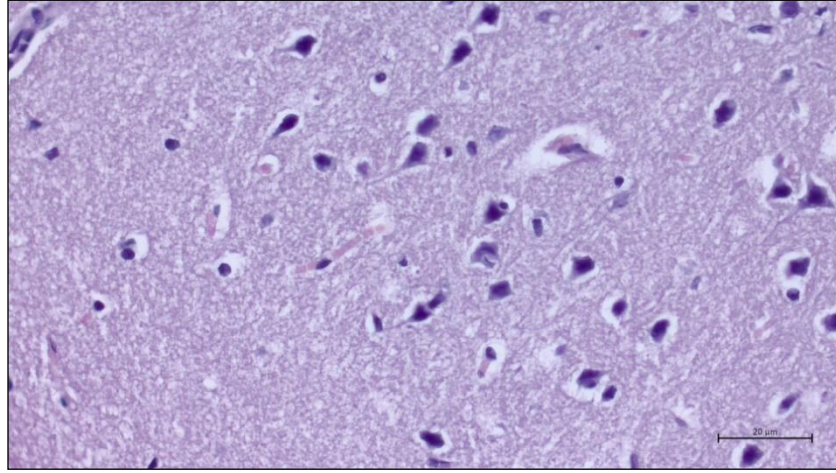
İskemi+60mg/kg Visnagin grubunda total beyin alanlarında nöronların ve glia hücrelerinin kontrol grubuna oldukça benzer görüntüde oldukları, peri vasküler kavitenin kontrol gruna oldukça yakın olduğu ancak yer yer ödemin ve hem perinöral hem de perivasküler kaviteletin genişlemiş görüntüsünün varlığını sürdürdüğü görüldü. Subaraknoid alanda vasküler perforasyonun ortadan kalktığı, damarlardaki hemoraji ve konjesyonun silindiği izlendi. Diğer gruplar ile karşılaştırıldığında 60 mg/kg Visnagin tedavisi uygulanan hayvanların beyin morfolojisinin daha iyi durumda olduğu tespit edildi koroid pleksus yapısının kontrol grubuna oldukça yakın olduğu, yer yer izlenen kapiller konjesyonun dışında deskuamasyon, hemoraji gibi

patolojik durumların çok büyük oranda ortadan kalktığı ve kontrol grubuna benzer bir görüntü oluştğı görüldü(Şekil25,26,27).



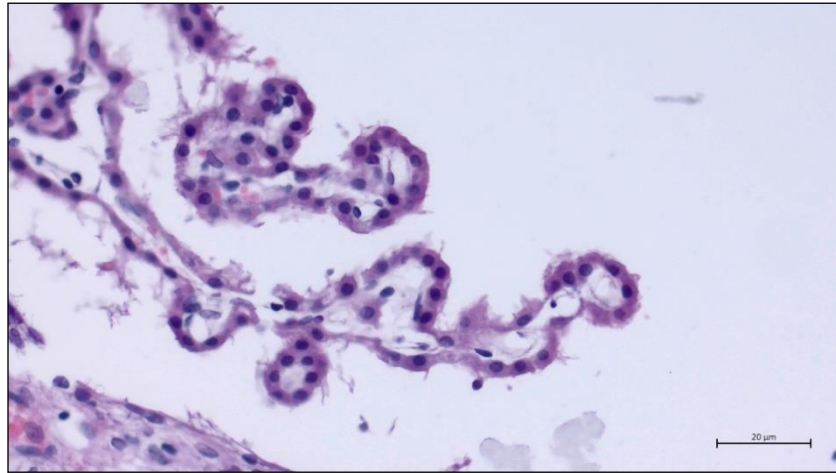
Şekil 13. Kontrol grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.

Kontrol grubu serebral kortekste yoğun nöron ve nöroglia hücre mevcudiyeti ile sinir dokusundan oluşan rutin sinir sistemi organizasyonu izlendi. Beyinin etrafında meningeslerin serebral parankime direkt komşu ve piamater'in doğrudan beyin ile temas halinde olduğu görüldü. Piramidal nöronlar başta olmak üzere sinir hücrelerinde ve kapiller düzeyindeki serebral damarlarda perinöral ve perivasküler kavitelerin mevcudiyeti normal morfolojik yapıda oldukları tespit edildi. Piramidal nöronlarda akson tepe ucu ve yer yer dendritik uzantıların normal yapıda olduğu, nöron hücre tiplerinin oldukça fazla alt grup barındırdığı ve dokunun tamamının yoğun miktarda irili ufaklı glial hücrelerden oluştuğu izlendi. Boyama: Hematoksilen & eozin. Bar: 50 µm.



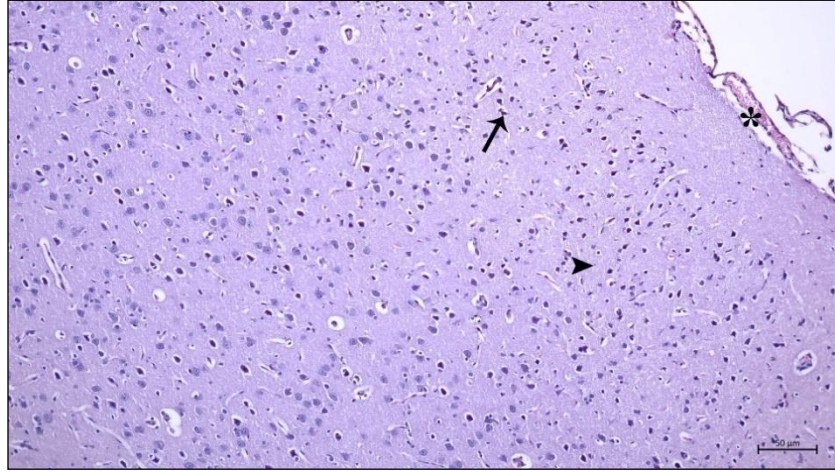
Şekil 14.Kontrol grubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.

Kontrol grubu serebral kortekste piramidal ve diğer nöron tiplerinin normal morfolojide olduğu ayrıca doku glial hücrelerin normal yapıda oldukları tespit edildi. Araknoid bölgesinde, ventriküllerde ve beyin tabanında gözlenen büyük damarların yanı sıra serebral parankimin iç kısımlarında çok küçük çaplı normal morfolojide damar dallarının mevcudiyeti görüldü.**Boyama:**Hematoksilen&eozin. **Bar:** 20 µm.



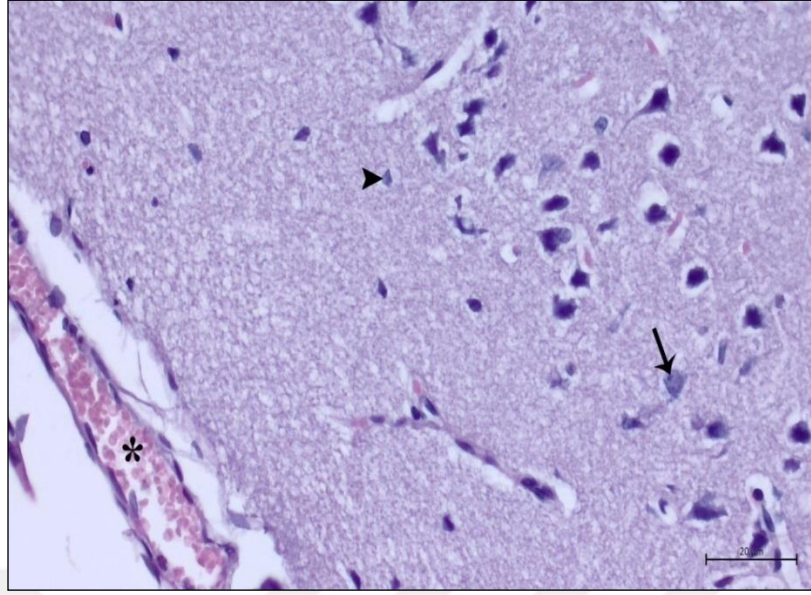
Şekil 15. Kontrol grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.

Kontrol grubu ventriküler kavitenin normal morfolojide olduğu, hem ventrikül hem de koroidpleksusların tek katlı kübik/prizmatik epitel özelliğindeki ependim hücreleri ile yoğun bir şekilde örtülü olduğu tespit edildi.**Boyama:**Hematoksilen&eozin. **Bar:** 20 µm.



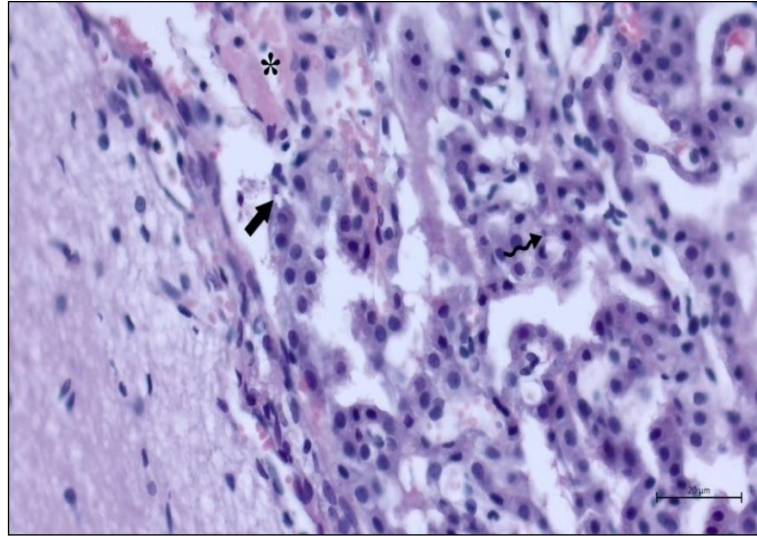
Şekil 16.İskemi grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.

İskemi grubu beyin kesitlerinde reperfüzyona bağlı olarak araknoid bölgede yer alan büyük çaplı damarlarda (*), serebralparenkimada bulunan daha küçük çaplı arteriyol ve kapillerlerdeperforasyon ve kan dokusu elemanlarının yer yer beyin dokusuna göç ettiği görüldü. Serebral kortekste bulunan nöronlarda karyolizis ve yer yer sitolitik aktivitenin bulunduğu nöron hücre dejenerasyonunun bu dokuda yoğun yer kapladığı tespit edildi. Serebral korteks stritumpiramidalede bulunan piramit şekilli nöronların çok kutuplu görüntüsünün ortadan kalktığı tespit edildi. Dokuda yer yer ödemli ve hemorajik görüntü izlenmekteydi. **Boyama:**Hematoksilen&eozin. **Bar:** 50 µm.



Şekil 17.İskemi grubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.

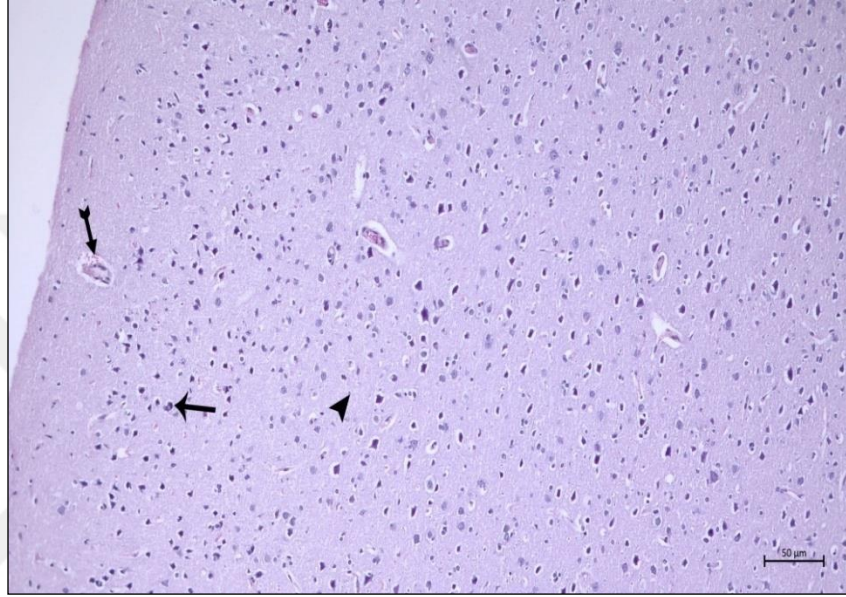
İskemi grubu serebral kortekste piramidal nöronlar başta olmak üzere, bütün nöron tiplerinde karyolizis (ok), glial hücrelerindedejenerasyon (ok başı) ve subaraknoid bölge ile piamater alanlarında vaskülerperforasyon ile kan beyin bariyerinin yıkımı ile sonuçlanan kan dokusunun beyin dokusuna göçü (*) izlendi. **Boyama:**Hematoksilen&eoizin. **Bar:** 20 μm.



Şekil 18. İskemi grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.

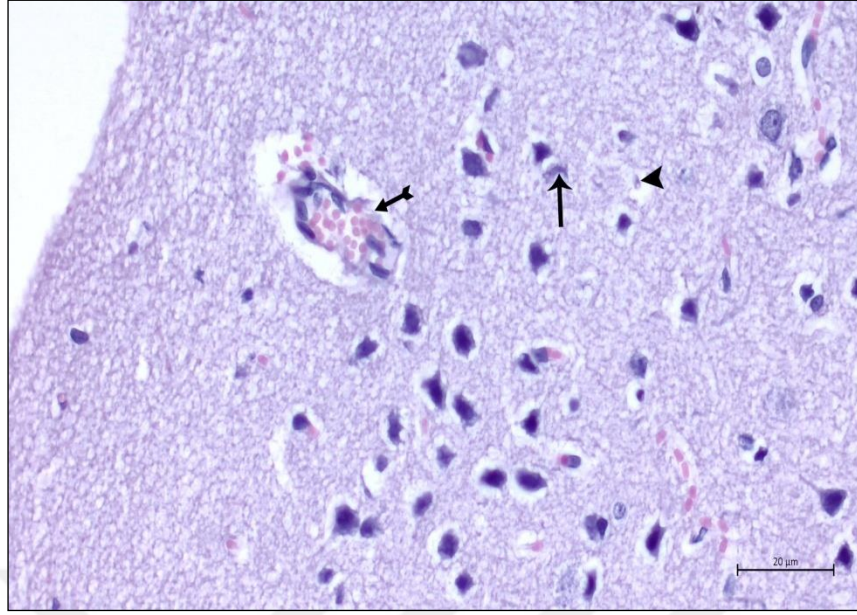
İskemigrubu ventrikülerkavitedepiamaterperforasyonuna (kalın ok) bağlı olarak yoğun hemorojik alanlar ve ödemli bir kavite varlığı (*) izlendi. Ependim

hücrelerinin kavite duvarında ve plexus yapısında piknotik çekirdekli görüntüsü (kıvrımlı ok) yaygın bir durumdaydı. Plexustainterselüler alanların açık renkli izlenmesi buralarda ödemli bir durumun mevcudiyetine işaret etmekteydi. **Boyama:**Hematoksilen&eoizin. **Bar:** 20 µm.



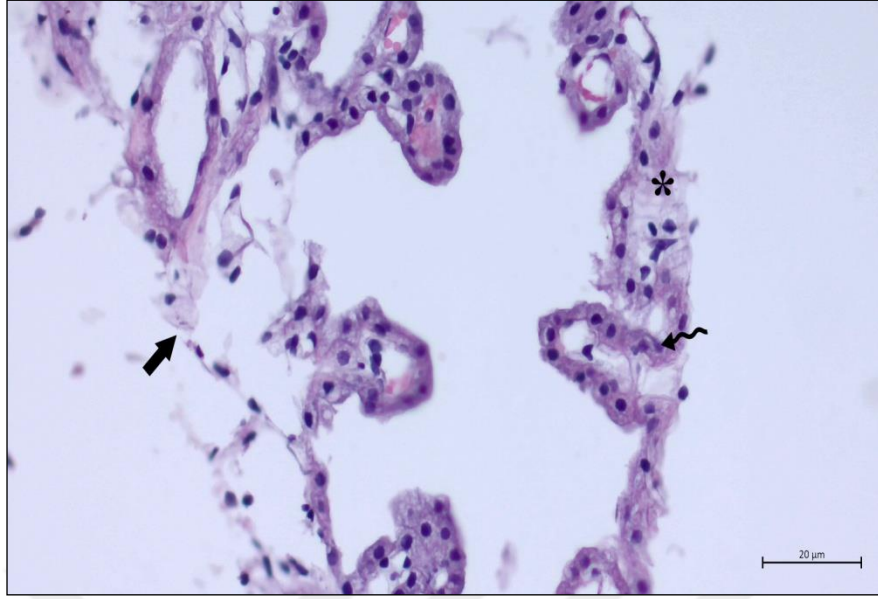
Şekil 19. İskemi + 10 mg grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.

Bu grubun serebral korteks substansiyaalbasında tıpkı iskemi grubunda olduğu gibi nöronlarda (ok) ve glial hücrelerde (ok başı) piknotik çekirdekli hücre görüntüsü izlendi. Bu grubun araknoid bölgedeki vasküler yapılarında iyileşme gözlenmesine rağmen dejeneratif durumun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında iskemi grubuna daha yakın bir morfolojide olduğu görüldü. Substansiya grisea'da bulunan vasküler yapılarda yer yer konjesyonun azaldığı görülse de damarların büyük bir kısmında perfore olgusu ile beraber seyreden hemoraji ve hem perivasküler hem de perinöralkavitede genişleme ve ödemli görüntünün izlendi. **Boyama:**Hematoksilen&eoizin. **Bar:** 50 µm.



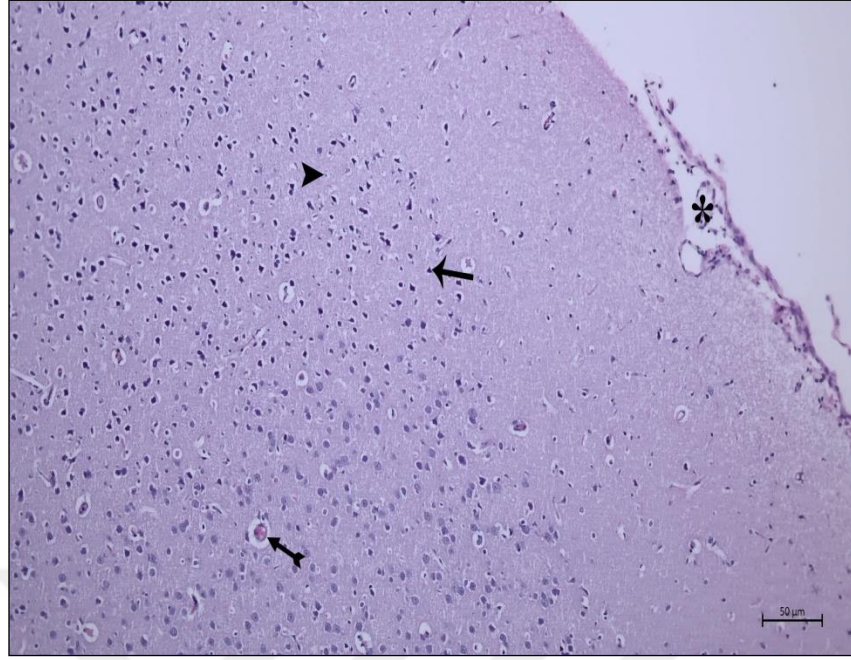
Şekil 20. İskemi + 10 mggrubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.

10 mg/kg Visnagin tedavisi uygulanan hayvanların korteksi nöral dejenerasyonu ve karyolitik hücre görüntüsü (ok) iskemi grubuna benzer şekilde yoğun şekilde izlendi. Bu grubun glia hücrelerinde yine iskemi grubuna benzer şekilde yoğun miktarda nöroglia dejenerasyonu ve piknotik hücre mevcudiyeti (ok başı) tespit edildi. Bu grubun serebralparantima arterlerinde vaskülerperforasyon ve kanın şekilli elemanlarının doku parankimasına hemorajik dağılımı patolojinin iskemi grubuna benzer nitelikte olduğunu kanıtlar nitelikteydi. **Boyama:**Hematoksilen&eozin. **Bar:** 20 μm.



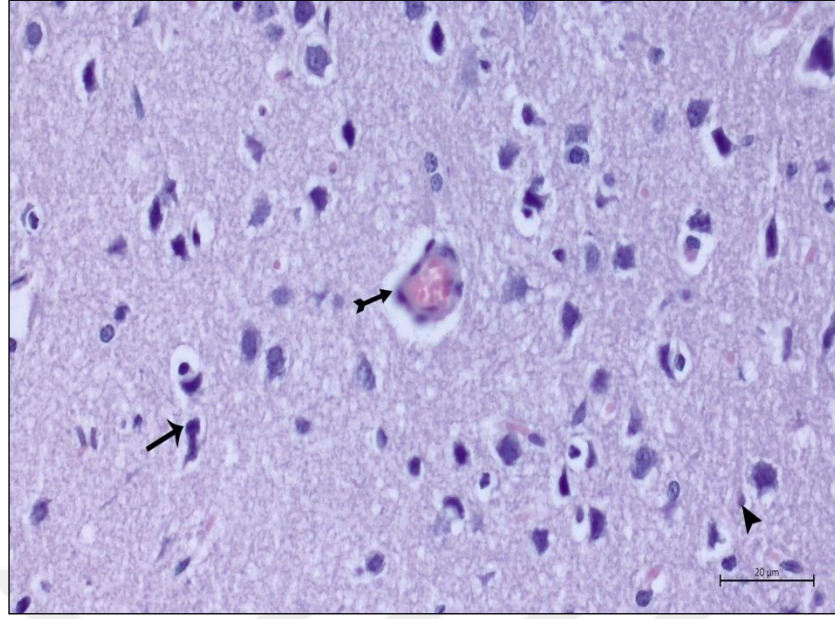
Şekil 21. İskemi + 10 mg grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.

İskemi + 10 mg grubu ventriküler yapı ve koroidpleksus görüntüsü iskemi grubuna benzer şekildeydi. Piamaterperforasyonuna bağlı olarak (kalın ok) eritrosit ve lökositlerin ventrikülkavitesine göçü ve interependimal alanlarda eritrosit varlığı izlenmekteydi. Bu grubun ependimal hücrelerinde piknotik çekirdekli hücreler yoğun şekilde izleniyordu (kıvrımlı ok). Ayrıca pleksuskoroideus'ta ödemli ve hemorajin yapı (*) iskemi grubuna benzer nitelikteydi .**Boyama:**Hematoksilen&eozin. **Bar:** 20 µm.



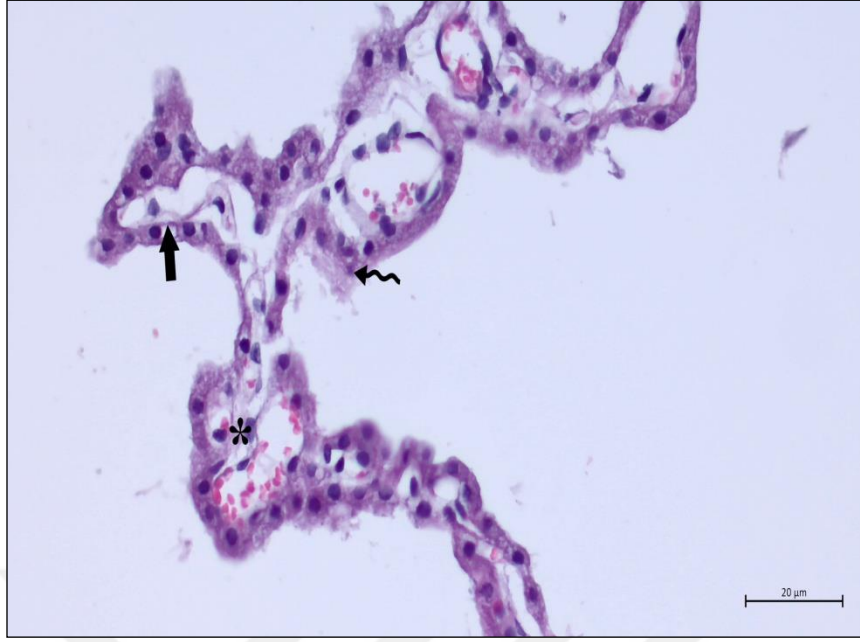
Şekil 22. İskemi + 30 mg grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.

30 mg/kg Visnagin tedavisi uygulanan grupta serebral nöronlarda piknotik çekirdekli hücre görüntüsü (ok) ve glial hücrelerde dejeneratif değişiklikler (ok başı) varlığına rağmen iskemi ve iskemi + 10 mg/kg grupları ile karşılaştırıldığında hafif düzeyde beyin dokusu hasarının hafiflediği görüldü. Araknoidal damarların perforasyonu ve hemorajik olgunun bu grupta ciddi düzeyde azaldığı tespit edildi. Serebral arter dallarında perivasküler kavitenin kontrol grubuna daha yakın bir görüntüde olduğu buna karşın vasküler konjesyon durumunun mevcudiyetini sürdürdüğü tespit edildi. **Boyama:** Hematoksilen & eozin. **Bar:** 50 µm.



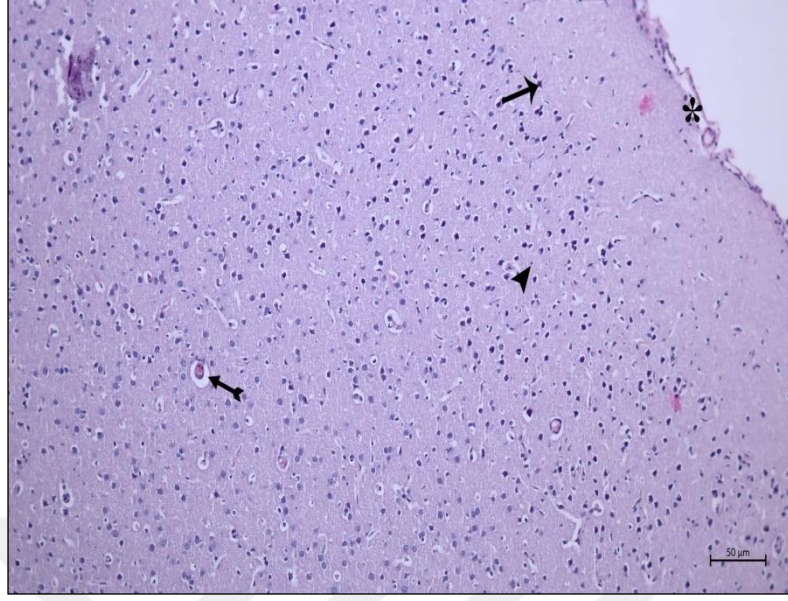
Şekil 23. İskemi + 30 mggrubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.

30 mg/kgvisnagin tedavisi uygulanan ratların nöronlarında (ok) ve glial hücrelerinde (ok başı) gözlenen piknotik çekirdekli dejeneratif görüntü bu grupta kayda değer düzeyde azalma eğilimindeydi. Patoloji şekillenen nöronların yanı sıra normal morfolojik görüntüye sahip, çekirdek ve nöroplazma ile perikaryon kolaylıkla birbirinden ayırt edilebilir görüntüdeydi ve bu durum hücresel korunmuşluğa önemli bir kanıt olarak ortaya çıkmaktaydı. Bu gruptaki vaskülerperforasyon çok büyük oranda ortadan kalkmış ve vasküler morfoloji iskemi ve iskemi + 10 mg grubuyla kıyaslandığında kontrol grubuna daha yakın bir görüntü oluşturmaktaydı. **Boyama:**Hematoksilen&eosin. **Bar:** 20 μm.



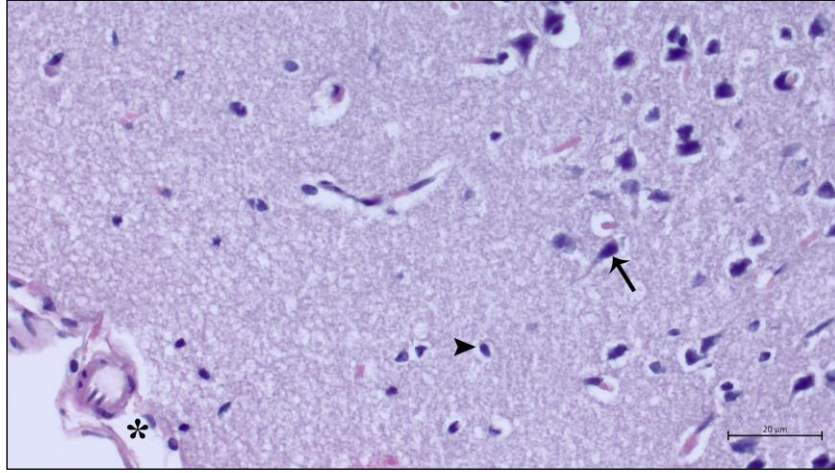
Şekil 24. İskemi + 30 mg grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.

İskemi+30mg/kg visnagin grubunun pelksuskoroideus ve ventrikülerkavitesindeiskemi ve iskemi + 10 mg gruplarında bahsedilen dejeneratif etkilerin kayda değer düzeyde azaldığı tespit edildi. Piamater dejenerasyonu (kalın ok) yer yer mevcudiyetini sürdürmekteydi, buna bağlı olarak hemoraji ve ödemli alanların (*) varlığı izlenmesine ve ependim hücrelerinde karyolitik görüntüye rağmen genel patolojik durumun kontrol grubuna daha benzer olduğu görüldü. **Boyama:**Hematoksilen&eozin. **Bar:** 20 µm.



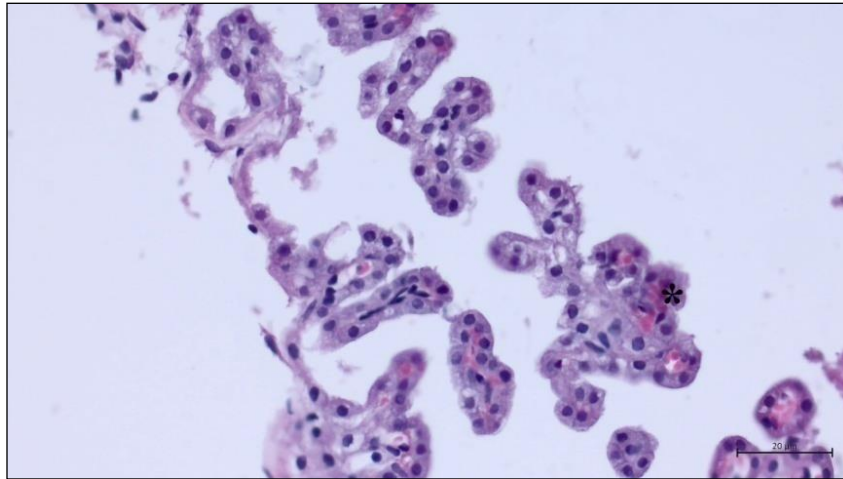
Şekil 25. İskemi + 60 mg grubu beyin kesitlerinin küçük büyütmedeki görünümü.

Bu grubun total beyin alanlarında nöronların (ok) ve glia hücrelerinin (ok başı) kontrol grubuna oldukça benzer görüntüde oldukları, peri vasküler kavitenin (kuyruklu ok) kontrol grubuna oldukça yakın olduğu ancak yer yer ödemin ve hem perinöral hem de perivasküler kavitelerin genişlemiş görüntüsünün varlığını sürdürdüğü görüldü. Diğer gruplar ile karşılaştırıldığında 60 mg/kg Visnagin tedavisi uygulanan hayvanların beyin morfolojisinin daha iyi durumda olduğu tespit edildi. **Boyama:**Hematoksilen&eozin. **Bar:** 50 µm.



Şekil 26.İskemi + 60mggrubu serebral korteksin büyük büyütmedeki görünümü.

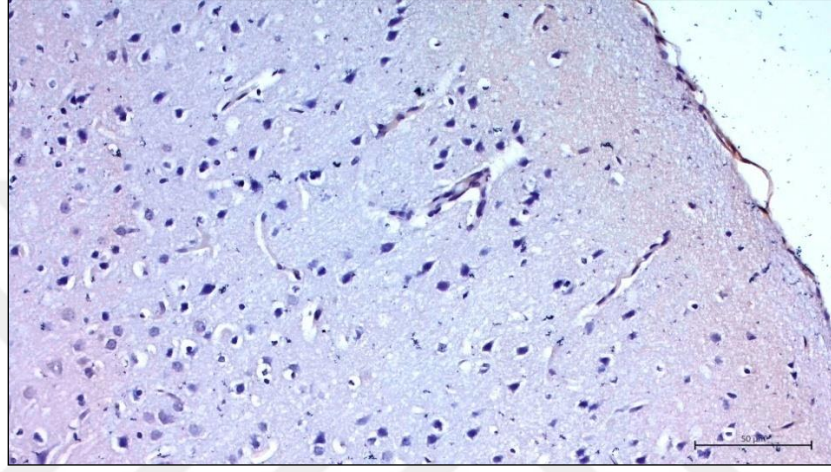
Büyük büyütme incelemelerinde bu grubun nöronlarında akson ve dendritik uzantıların kolaylıkla seçilebildiği alanların varlığı, perikaryon'un ayırt edilebilir düzeyde olduğu, hücresel morfoloji ve nöronların genel durumunun kontrol grubuna oldukça yakın olduğu, glia hücrelerinin sağlıklı hücre görüntüsü sergilediği (ok başı), subaraknoid alanda vaskülerperforasyonun ortadan kalktığı (*), damarlardaki hemoraji ve konjesyonun silindiği izlendi. **Boyama:**Hematoksilen&ezin. **Bar:**20 µm.



Şekil 27. İskemi + 60 mg grubu ventrikül ve koroidpleksusların büyük büyütmedeki görüntüsü.

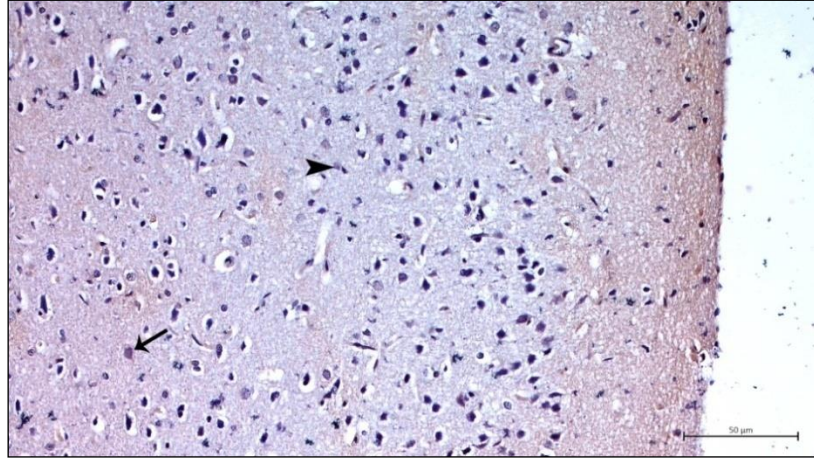
İskemi + 60 mg/kg grubunun koroidpleksus yapısının kontrol grubuna oldukça yakın olduğu, yer yer izlenen kapillerkonjesyonun (*) dışında deskuamasyon, hemorajigibi patolojik durumların çok büyük oranda ortadan kalktığı ve kontrol grubuna benzer bir görüntü oluştğı görüldü. **Boyama:**Hematoksilen&eozin. **Bar:**20 µm.

4.1.2. İmmunohistokimya Bulguları



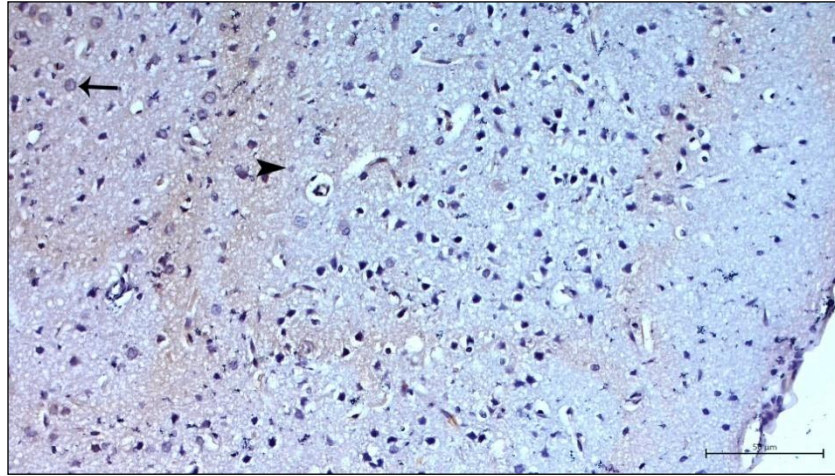
Şekil 28. Kontrol grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.

Kontrol grubunda nöronlarda ve glial hücrelerinde düşük düzeyde Bax immunopozitivitesinin varlığı izlendi. Kromojenik reaksiyon bu grubun kesitlerinde çoğunlukla sinir liflerinde ve çok düşük düzeyde nöron hücre sitoplazmasında izlendi. **Boyama:** Bax immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



Şekil 29. İskemi grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.

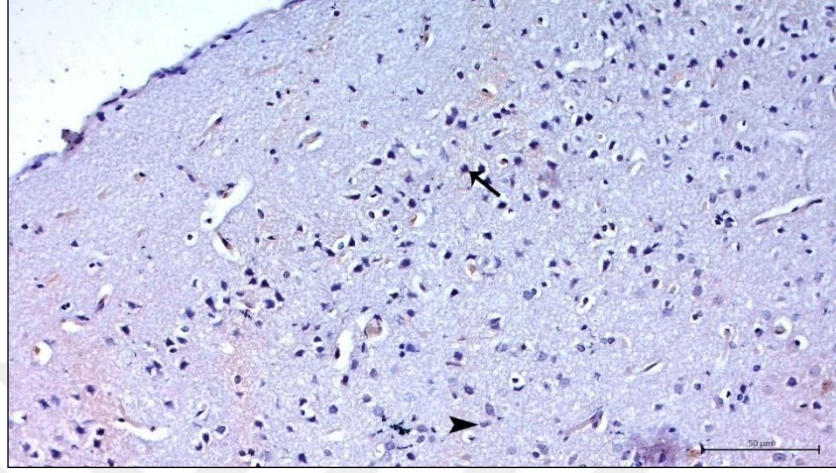
Bu grubun beyin kesitlerinde nöronlarda (ok) ve glia hücrelerinde (ok başı) Bax immunointensite kayda değer düzeyde artmış olduğu izlendi. İmmünopozitifliğin özellikle piknotik çekirdeklerin olduğu, karyoliz veya sitoliz gibi selüler patolojik olguların izlendiği hücrelerde gözle görülür düzeyde arttığı izlendi. Bu grubun sinir liflerinin kapladığı nöropiler beyin dokusu alanında da yoğun immunopozitifliğin varlığı görüldü. **Boyama:** Bax immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



Şekil 30.İskemi + 10 mg grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.

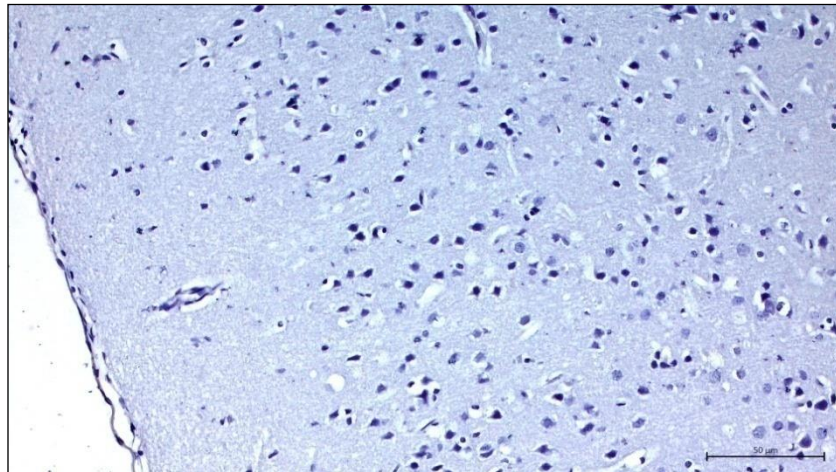
Bu grubun beyin kesitlerinde Bax immunopozitiflik iskemi grubuna azalmış gözlene de nöronlarda (ok) ve glia hücrelerinde (ok başı) yer yer yoğun immunopozitiflik tespit edildi. Ayrıca nöropil dokusunda yer yer fokal immunopozitivitede yoğunlaşma alanlarının varlığı görüldü. Genel olarak değerlendirildiğinde bu grubun Bax immunopozitiflik düzeyinin

iskemi grubuna oranla azalma eğiliminde olduğu ancak kontrol grubuna nazaran yoğun pozitifliğe sahip olduğu tespit edildi. **Boyama:** Bax immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



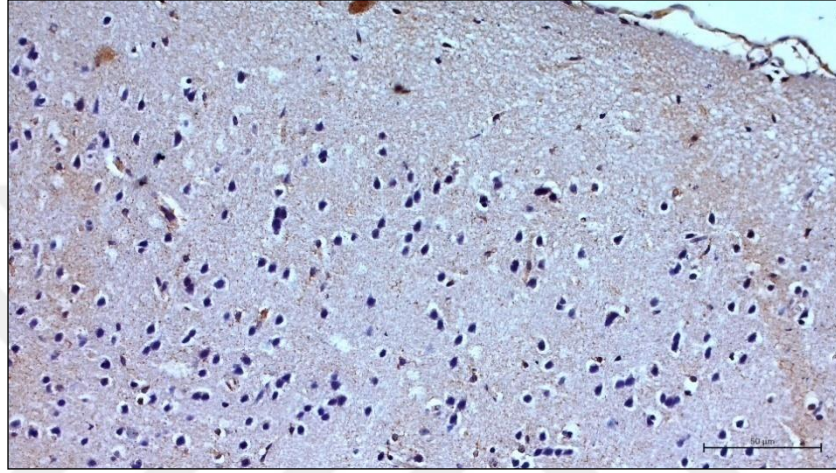
Şekil 31. İskemi + 30 mg grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.

Bu grubun beyin kesitlerinde Bax immunopozitifliğin kontrol grubuna göre yüksek olduğu görüldü. Her ne kadar fokal immunopozitiflik alanlarında gözle görülür bir azalma izlense de yer yer sinir hücrelerinde ve özellikle piknotik çekirdekli hücrelerde (ok) ayrıca nöroglia hücrelerinin bir kısmında çekirdek disregülasyonuna eşlik eden Bax immunopozitifliğinin varlığı görüldü. **Boyama:** Bax immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



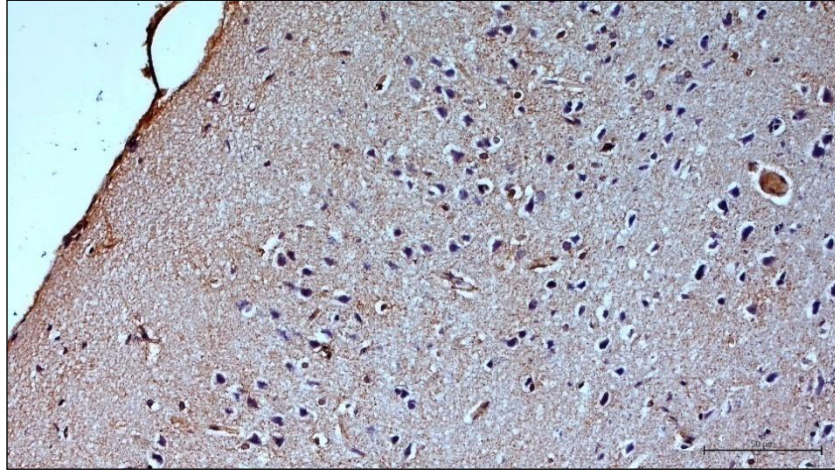
Şekil 32İskemi + 60 mg grubu beyin kesitlerinde Bax immunohistokimya.

İskemi ve 60 mg/kg tedavisi uygulanan grupta beyin dokusunda Bax yoğunluğunda kayda değer azalma olduğu tespit edildi. Beyin kesitlerindeki Bax immunintensitesi hem hücrel yapılarda hem de sinir lifleri düzleminde kontrol grubuna benzer yapıdaydı. **Boyama:** Bax immunohistokimya. **Bar:** 50 μ m.



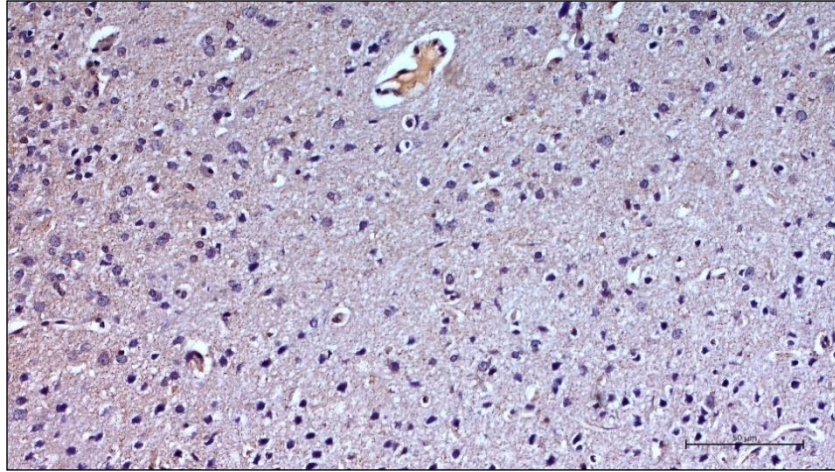
Şekil 33.Kontrol grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.

Kontrol grubunda beyin dokusunun tamamında belirli bir düzeyde TNF- α immunoekspresyon varlığı izlendi. Sinir lif bölgelerinin yanı sıra yer yer glia hücrelerinde akümüle olmuş sitokin varlığı immunopozitiflik yaratmaktaydı. **Boyama:** TNF- α immunohistokimya. **Bar:** 50 μ m.



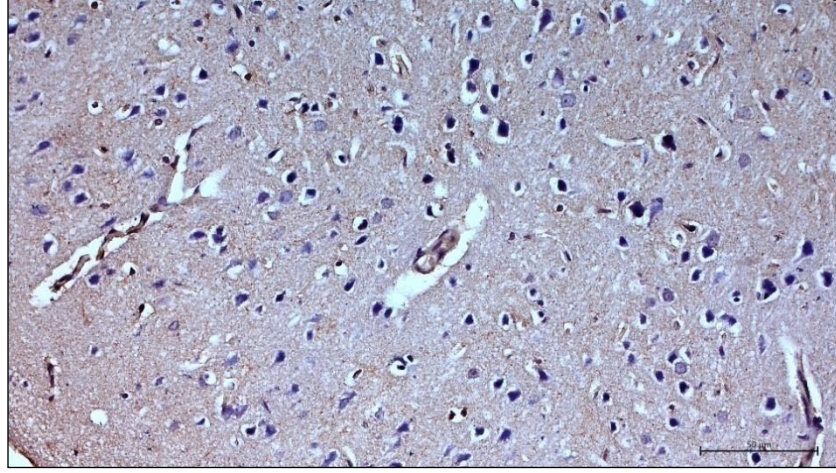
Şekil 34. İskemi grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.

İskemi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında beyin dokusunda inflamatuvar sitokin TNF- α düzeyinde anlamlı düzeyde artış olduğu izlendi. Yer yer sitoplazmik yapılarda da yoğun izlenen immunopozitivitenin yanı sıra sinir dokusu yoğun düzeyde DAB kromojenik reaksiyon göstermişti. **Boyama:** TNF- α immunohistokimya. **Bar:** 50 μ m.



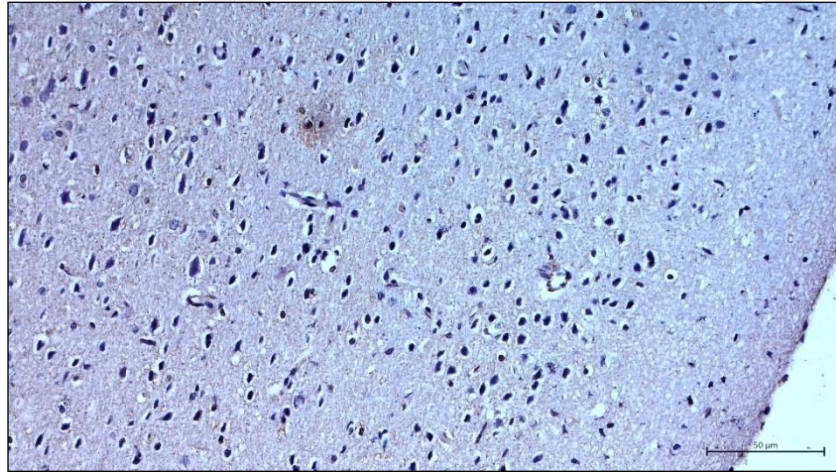
Şekil 35. İskemi + 10 mg grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.

İskemi + 10 mg grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunopozitivite yoğunluğunun iskemi grubuna benzer olduğu izlendi. Sinir lifleri alanının, nöron ve gliaların yoğun boyama aldığı görüldü. **Boyama:** TNF- α immunohistokimya. **Bar:** 50 μ m.



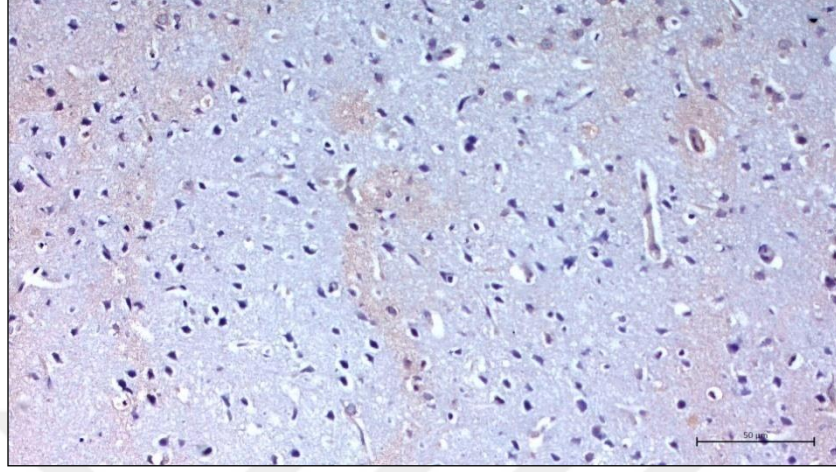
Şekil 36. İskemi + 30 mg grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.

İskemi + 30 mg grubunun beyin kesitlerinde TNF- α immunopozitivite düzeyi kısmi bir azalma olduğu gözlemlense de genel yoğunluğun kontrol grubuna kıyasla iskemi ve iskemi + 10 mg/kg gruplarına benzer olduğu izlendi. **Boyama:** TNF- α immunohistokimya. **Bar:** 50 μ m.



Şekil 37. İskemi + 60 mg grubu beyin kesitlerinde TNF- α immunohistokimya.

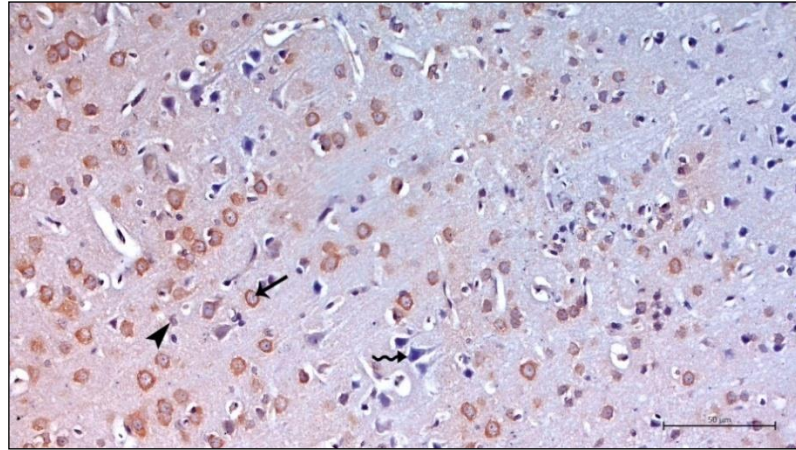
Bu grubun beyin kesitlerinde TNF- α immunointensite düzeyinde gözle görülür azalma olduğu görüldü. Immunopozitivitenin hem sinir lifleri hem de hücreler düzeyinde kontrol grubuna daha yakın bir görüntüde olduğu görüldü. **Boyama:** TNF- α immunohistokimya. **Bar:** 50 μ m.



Şekil 38. Kontrol grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.

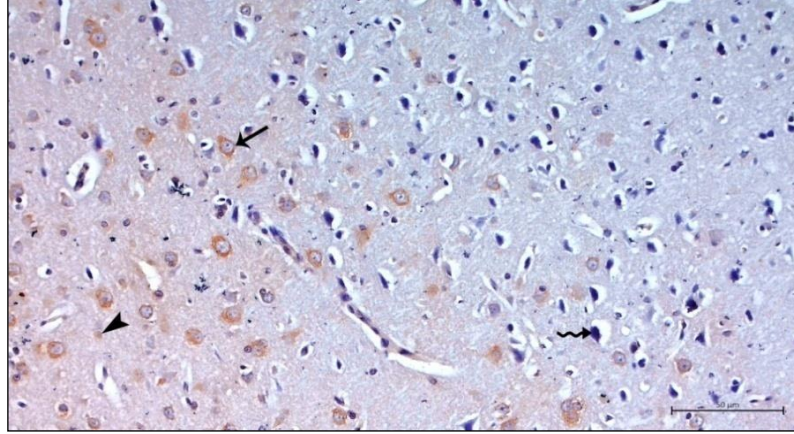
CD86 immunopozitivitenin kontrol grubunda oldukça düşük düzeyde olduğu izlendi.

Boyama: CD86 immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



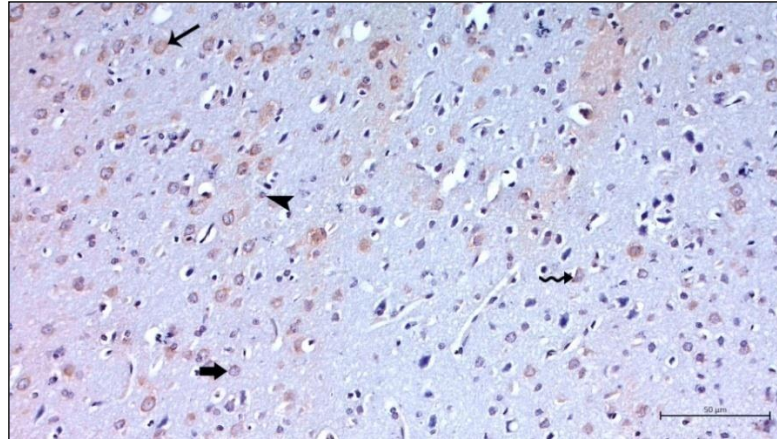
Şekil 39.İskemi grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.

Bu grubun beyin kesitleri CD86 immunopozitiflik yönünden incelendiğinde piramidal nöronlarda (kıvrımlı ok) boyamanın negatif olduğu, piramidal dışı oval nükleuslu nöronlarda (ok) ise oldukça yoğun CD86 pozitifliğinin olduğu yine nöroglia hücrelerinde CD86 immunointensitenin oldukça yoğun düzeyde olduğu tespit edildi. **Boyama:** CD86 immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



Şekil 40. İskemi + 10 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.

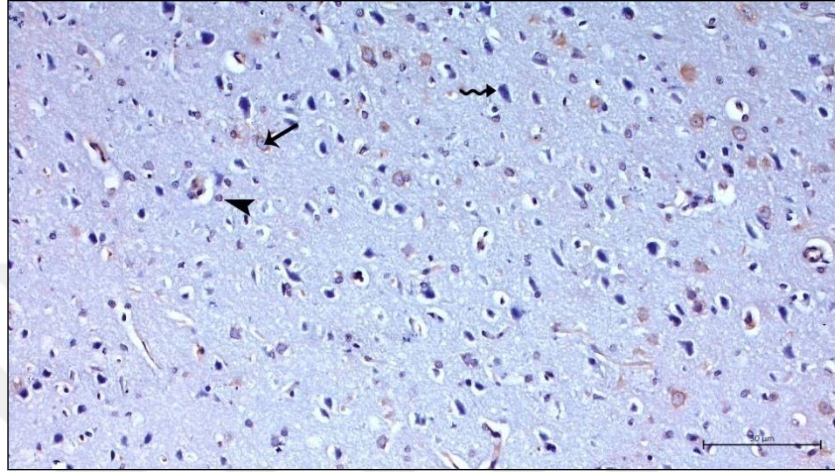
10 mg/kg Visnagin tedavisi uygulanan iskemi grubunun beyin kesitleri CD86 immunointensite yönünden incelendiğinde piramidal nöronların (kıvrımlı ok) iskemi grubunda olduğu gibi negatif olduğu, oval nükleuslu nöronlarda (ok) yer yer CD86 pozitifliğinin azaldığı, glia hücrelerinde (ok başı) yine pozitifitenin iskemi grubu ile karşılaştırıldığında azalma eğiliminde olduğu ancak genel doku pozitivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi grubuna daha yakın olduğu izlendi. **Boyama:** CD86 immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



Şekil 41. İskemi + 30 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.

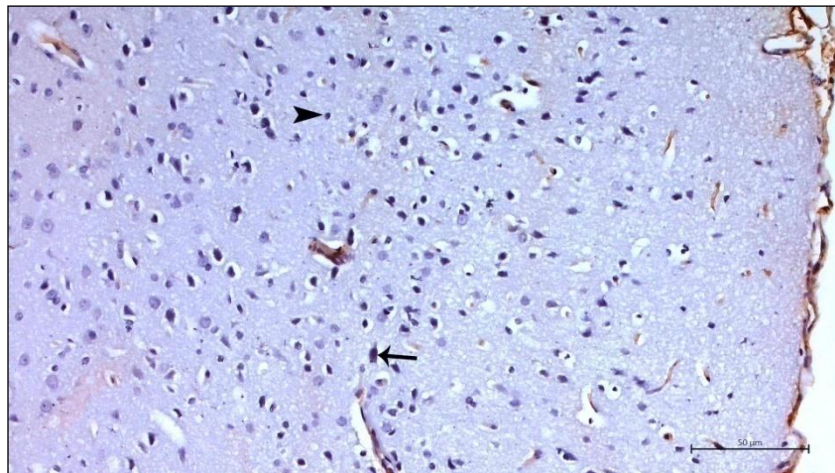
Bu grubun beyin kesitleri incelendiğinde CD86 immunopozitivite düzeyinin 10 mg/kg grubuna benzer düzeyde olduğu görüldü. Oval nükleuslu nöronlarda (kalın ok) izlenen immunopozitivite azalmasına rağmen yuvarlak çekirdekli nöronlarda (ok) yoğun

immunopozitivitenin görüldüğü alanlar izlendi. Glia hücrelerinin CD86 immunintensitesinin iskemi + 30 mg/kg grubuna benzer olduğu görüldü. Piramidal nöronların çoğunluğu CD86 yönünden negatif olmasına rağmen bazı piramidal hücrelerde (kıvrımlı ok) immunpozitivite görüldü. **Boyama:** CD86 immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



Şekil 42. İskemi + 60 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD86 immunohistokimya.

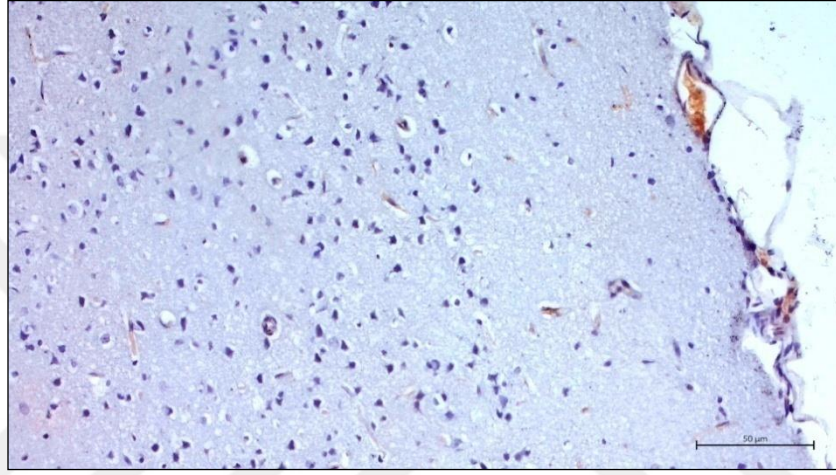
60 mg/kg Visnagin tedavisi uygulanan hayvanların beyin dokusunda diğer gruplarda izlenen CD86 pozitifliğin hem nöronlarda (ok) hem glia hücrelerinde (ok başı) azaldığı ve genel immunointensitenin ve piramidal nöronlardaki CD86 durumunun kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi. **Boyama:** CD86 immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



Şekil 43. Kontrol grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya.

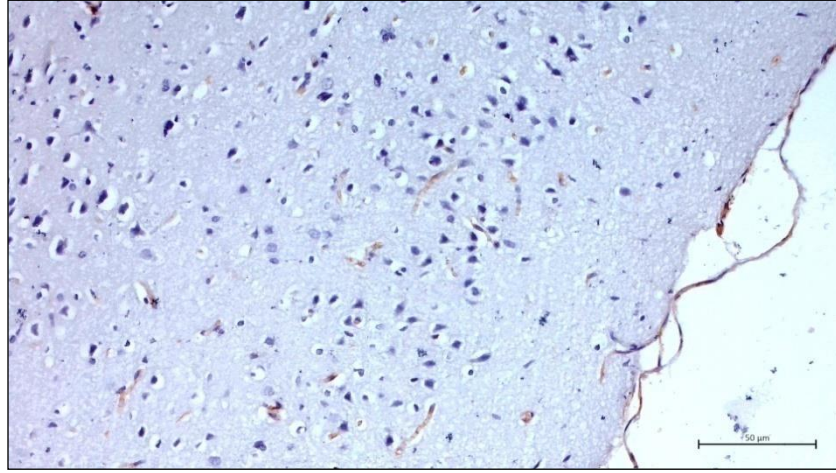
Kontrol grubu CD163 immunohistokimya incelemesinde piramidal ve yuvarlak nukleuslu nöronlarda düşük düzeyde CD163 immunopozitivitesi (ok) olduğu buna karşın glial hücrelerde (ok başı) immunopozitivitenin daha yoğun olduğu izlendi. Sinir liflerinin bulunduğu alanların CD163 yönünden oldukça zayıf reaksiyon oluşturduğu tespit edildi

Boyama: CD163 immunohistokimya. **Bar:** 50 μ m.



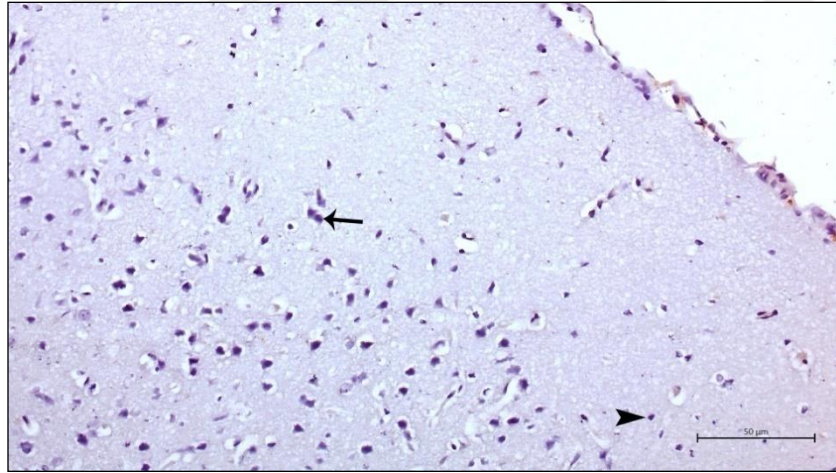
Şekil 44. İskemi grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya.

İskemi grubuna ait beyin kesitleri incelendiğinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hem glial hücrelerde hemde nöronlarda immunopozitivitenin negatif düzeye oldukça yakın olduğu görüldü. **Boyama:** CD163 immunohistokimya. **Bar:** 50 μ m.



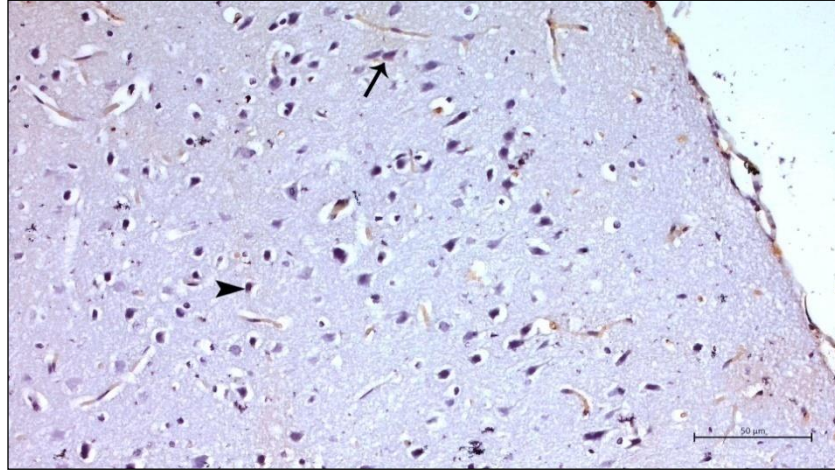
Şekil 45. İskemi + 10 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya.

Bu grubun kesitleri incelendiğinde immünopozitivitenin kontrol grubuna kıyasla iskemi grubuna daha benzer bir immunointensiteye sahip olduğu görüldü **Boyama:** CD163 immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



Şekil 46. İskemi + 30 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya.

30 mg/kg visnagin tedavisi uygulanan hayvanların beyin kesitlerinde iskemi ve iskemi + 10 mg/kg gruplarına kıyasla nöronlarda (ok) ve glial hücrelerde (ok başı) pozitiflikte kısmi bir artış olduğu görüldü. **Boyama:** CD163 immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.



Şekil 47. İskemi + 60 mg/kg grubu beyin kesitlerinde CD163 immunohistokimya

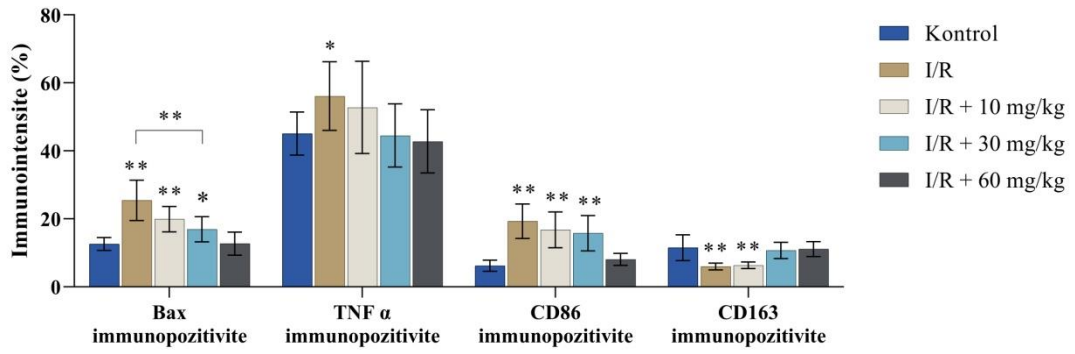
İskemi + 60 mg/kg grubunun beyin kesitlerinde CD163 immunopozitivite yoğunluğunun kontrol grubuna benzer olduğu, pattern'in genel olarak kontrol grubunda olduğu şekilde glial hücrelerde (ok başı) ağırlıklı olmak üzere özellikle piramidal hücrelerde olmak üzere nöronlarda da kısmi pozitivite oluşturduğu tespit edildi. **Boyama:** CD163 immunohistokimya. **Bar:** 50 µm.

4.2.Bulguların istatistiksel analizi

Tablo 4. İmmünohistokimyasal bulguların istatistiksel karşılaştırılması

	Bax İmmunopozitivite (%)	TNF α İmmunopozitivite (%)	CD86 İmmunopozitivite (%)	CD163 İmmunopozitivite (%)
Kontrol	12,57 $\pm$ 1,9 ^a	45,09 $\pm$ 6,31 ^a	6,19 $\pm$ 1,61 ^a	11,52 $\pm$ 3,8 ^a
İskemi	25,44 $\pm$ 5,93 ^{c,d}	56,13 $\pm$ 10,11 ^b	19,28 $\pm$ 5,08 ^c	5,97 $\pm$ 0,99 ^c
İskemi + 10 mg/kg	19,88 $\pm$ 3,74 ^{b,c}	52,79 $\pm$ 13,56 ^{a,b}	16,76 $\pm$ 5,28 ^c	6,32 $\pm$ 0,98 ^c
İskemi + 30 mg/kg	16,93 $\pm$ 3,67 ^b	44,53 $\pm$ 9,27 ^a	15,77 $\pm$ 5,19 ^c	10,7 $\pm$ 2,39 ^a
İskemi + 60 mg/kg	12,71 $\pm$ 3,38 ^a	42,78 $\pm$ 9,29 ^a	8,05 $\pm$ 1,76 ^a	11,13 $\pm$ 2,2 ^a

^{a-b}P<0.05, ^{a-c}P<0.01, ^{a-d}P<0.01, ^{b-c}P<0.01, ^{b-d}P<0.01



Şekil 48. İmmunohistokimya analizlerinin istatistik sonuçlarının grafiksel görüntüsü.

Bar çubuklarının üstünde bulunan semboller ilgili grup ile kontrol ve I/R + 30 mg/kg arasındaki anlamlı farka işaret eder. Aynı sembolleri barındıran gruplar istatistiksel yönden benzerdir. *P<0.05, **P<0.01.

5. TARTIŞMA

İnme, tüm dünyada iskemik kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci en önemli mortalite nedenidir. Serebral inmelerin neredeyse %87'si iskemik inmelerden kaynaklanmaktadır (137).

Dünya Sağlık Örgütü, serebral iskemideye bağlı oluşan inmeyi; vasküler patoloji dışında başka bir neden olmadan meydana gelen serebral fonksiyon bozukluğu olarak tanımlar.

İskemi sonucu azalan kan akımı nedeniyle aerobik mekanizma bozulur ve hücrelerdeki ATP miktarı azalır dolayısıyla Na / K ATPaz pompası bozulur. İskemi sonucu iyon dengesizliği, nörotransmitter salınımı, ve nörotransmitterleri hücre içine almak için gerekli olan ATP miktarı azaldığı için geri alım bozukluğu ortaya çıkmaktadır. Özellikle glutamat AMPA, NMDA reseptörlerine bağlanarak hücre içine kalsiyum girişi olmakta ve hücre içine su ve sodyum girişini de artırarak hücre içi ve dokuda ödeme neden olmaktadır. Hücre içinde kalsiyum , laktik asit, oksijen radikalleri artmaya başlar. Hücre içindeki kalsiyum; fofolipazları ve proteazları aktifler ve katabolik süreç başlar (138). Hücre içinde artan kalsiyum, sodyum, ADP seviyeleri serbest oksijen radikal seviyesini de artırır. Bu artan serbest oksijen

radikalleri de proteinlere, lipitlere, karbonhidratlara, nükleik asitlere zarar verir (139).

Beyin iskemisi dünya genelinde yüksek mortalite ve morbiditenin yanısıra bireysel, ailesel, toplumsal psikososyal etkileri ve ciddi bir ekonomik yükü bulunmaktadır. İnme etkilenen beyin bölgesine ve etkilenme derecesine göre kol ve bacaklarda kuvvet kaybından koma,ölüme kadar geniş bir klinik tablo oluşturabilir. Bu bakımdan kan akışındaki aksama veya tamamen ortadan kalkmaya bağlı oluşacak sinir hücrelerinin hasara uğrayışının minimuma indirilmesi veya tamamen ortadan kaldırılması oldukça önemlidir. İskemik inme tedavisinde amaç primer hasarı en aza indirmek sekonder hasarı önlemek veya en aza indirmek ve fonksiyonel iyileşmeyi sağlamaktır. İskemik inmede hücrel disfonksiyon enfarktın santralinden başlar. Hasarlı dokunun çevresinde ATP miktarı tamamen bitmemiş hala minimal fonksiyon gösterebilen alan bulunmaktadır. Buna “penumbra “ denir. Tedavide temel amacımız penumbra denilen bu alanı kurtarmaktır.

İskemik inmelerin yaklaşık % 70-80 i orta serebral arter (MCA) tıkanıklığına bağlı gelişmektedir. Bu nedenle çalışmalar daha çok MCA oklüzyonu üzerinde yapılmaktadır. Deneylerde daha çok sıçan kullanılmasının nedeni ise insan anatomisine benzerliği ve maliyetinin düşük olmasıdır (140). Biz de çalışmamızı orta serebral arter oklüzyonu (MCAo) modeli üzerinde gerçekleştirdik.

Serebral iskemi çeşitli klinik yaklaşımlarla tedavi edilse dahi iskemi sonrası kan akışıyla şekillenen reperfüzyon, beyin dokusunda sekonder hasar olarak tanımlanan bir süreci başlatır. Bu sekonder hasar genel tabiriyle hipoksiye bağlı dokuda raktif oksijen bileşenleri’nin (ROS) ve reaktif nitrojen bileşenlerinin (RNS) birikmesi ve reperfüzyonla beraber lokal olan oksidant stres elemanlarının dokunun tamamına perfüze olması ile gerçekleşir. Söz konusu sekonder hasar lokal olan inmenin etkilerinin organın diğer kısımlarında da patolojik olgulara ve nörodejenerasyona neden olduğu bilinmektedir (141). Söz konusu sekonder hasarın ortaya çıkmasında apoptotik ve inflamatuvar yanıtın ortaya çıkması önemli rol oynar (142).

Merkezi sinir sistemi normal koşullarda kan-beyin bariyeri vasıtasıyla vücudun genel immün sisteminden izoledir. Beyin içerisindeki metabolitlerin ve fonksiyonunu tamamlayıp ölen hücrelerin ortamdaki uzaklaştırılması ve dokunun kontrollü bir

şekilde re-modeling gerçekleştirilmeden stabilitesinin sağlanması mikrogia olarak adlandırılan bir nörogia alt tipi tarafından düzenlenir (143).

Vasküler yapılarda ortaya çıkan iskemi ve bunun tedavisine yönelik gerçekleştirilen reperfüzyon girişimleri kan beyin bariyerinin ortadan kalkmasına, sistemik dolaşıma ait immün hücrelerin söz konusu hasarlı bölgeye ulaşmasına ve doku remodeling mekanizmalarının devreye sokularak diğer doku ve organlarda olduğu gibi düşük düzeyde kontrollü bir yeniden onarım mekanizmasının devreye sokulmasına neden olur (144). Bu düşük kontrollü yeniden düzenlenme makrofaj gibi savunma hücrelerinin dokudaki hasarlı bölgeyi ortamdaki uzaklaştırırken sağlıklı nöronlara ve nöral dokulara hasar verebilir. Bu amaçla serebral iskemi reperfüzyon hasarına bağlı olarak beyinde oluşacak potansiyel nörodejenerasyonun ve sinir doku bütünlüğünün korunması amacıyla sayısız araştırma yapılmaktadır. Sekonder hasarın ortaya çıkmasında önemli bir araç olan ROS bileşenleriyle mücadele edilmesi literatürde yer alan araştırmalarda önemli bir yer tutmaktadır (145). Bu tedavi stratejisinin yanı sıra son dönemlerde yapılan araştırmalar anti-inflamatuvar destek tedavi stratejisinin serebral iskemi reperfüzyon hasarına bağlı dejenerasyonu immün hücre aktivitesini baskılamak koşuluyla baskılayabileceğini öne sürmektedir (146). Ancak bu tedavi stratejisi ile ilgili mevcut literatür ve olumlu deneysel çalışma sonuçlarının altında yatan mekanizma henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Serebral iskemide makrofajların iki formu olan pr-oinflamatuvar M1 ve anti-inflamatuvar M2 görev alır (147). Bugüne kadar beyin iskemisine klinik tedavi sonrası reperfüzyonun sağlanması sonrasında oluşan sekonder hasarın hafifletilmesine yönelik kabul edilmiş ve rutin klinik uygulamalarda başvuru keskin bir destek tedavisi bulunmamaktadır.

Ancak literatür taraması yaptığımızda bilim insanlarının antioksidan karakterdeki bileşenleri beyin iskemi/reperfüzyon hasarına karşı destekleyici koruyucu potansiyelde olan ajanlar olarak kullanılabileceğine yönelik önemli bulgular rapor etmiştir (148). Bu araştırmaların çok büyük bir kısmı bitkisel antioksidanlar ve endojenik hormonların sentetik formlarını incelemiş ve söz konusu antioksidanların klinikte kullanılabileceğine yönelik ciddi sonuçlar sunmuşlardır.

Klinikte inme geçiren hastaların tedavisi için çeşitli stratejiler geliştirilmesine rağmen hızlı ve kesin çözüm sunabilen bir tedavi yöntemi henüz mevcut değildir.

Daha önce yapılmış çalışmalarda çeşitli ilaçlar ve tedavi protokolleri denenmiş olup henüz kesin bir sonuca ulaşamamıştır. Yapmayı planladığımız mevcut çalışma ile damar genişletici özelliği bilinen bitkisel bir bileşen ile beyne kan akışının azalması/kesilmesine bağlı oksijen azlığı durumunda aktioksidan uygulamaları ile en minimum düzeyde hasar oluşması ve hastalık modeli oluşturulacak deney hayvanlarında beyin ve özellikle beyinin fonksiyonel hücreleri üzerindeki koruyucu etkisi araştırılarak destekleyici tedavi yönteminin geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Buna karşın yine yaptığımız literatür incelemesinde bir furanokromon türü olan visnagin'in beyin iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu potansiyeline yönelik sadece bir araştırmaya rastladık. Kromon ve furan'ın bir bileşik türevi olan visnagin furanokromonu halk arasında kürdan otu olarak ta bilinen hıltan bitkisinde yoğun miktarda bulunmaktadır.Latince adı Ammi visnaga olan hıltan bitkisi yenilebilir yabani bitkiler arasında yer almakta olup Türkiye ve Fas gibi ülkelerde bulunmakta ve toplumda geleneksel tıpta yoğun şekilde kullanılmaktadır (3,). Yapılan toksikolojik incelemelerde visnagin'in majör kaynağı olan kürdanotu'nun deney hayvanlarında yüksek dozlarda dahi toksikolojik bir özellik göstermediğini bildirmiştir (4).

Bu bitkisel ürün ile yakın dönemde yapılmış olan araştırmalarda visnagin'in anti-inflamatuvar potansiyele sahip olduğu ve vazodilatör etki gösterdiği bildirilmiştir (5). Zebrafishler üzerinde yakın dönemde yapılmış bir araştırmada doksوروبisin kaynaklı kardiyomiyopatinin önlenmesinde visnagin'in güçlü bir ajan olduğuna yönelik sonuçlar gösterilmiştir (6). Ammi visnaga'nın ekstraktının ratlarda böbrek taşı oluşumunu önlediği ve renal kristal birikimini engellediği bildirilmiştir (7). Planladığımız araştırmada visnagin'in nöroprotektif etkisinin literatür göz önünde bulundurularak belirlenen düşük, orta ve yüksek doz uygulamalarında koruyucu etkisinin olabileceğini düşündük. Söz konusu hipotezimizi visnagin'in damar genişletici, anti-inflamatuvar özelliklerini beyinde oluşturulacak iskemi reperfüzyon hasar modeli yönünden inceleyerek ortaya koymayı amaçladık. Ayrıca söz konusu çalışmamızda visnagin'in deneysel iskemi reperfüzyon hasar modelindeki anti-apoptotik ve anti-oksidan gücünün de araştırılması planlandı. Bu amaçla visnagin'in doz bağımlı nöroprotektif etkisi antienflamatuvar M2 makrofaj polarizasyonu markırı CD163 ve proenflamatuvar M1 makrofaj polarizasyon markırı CD86 yönünden

incelenerek inflamatuvar yanıt değerlendirildi. Doza bağımlı anti-apoptotik özelliği ise pro-apoptotik Bax ve TNF-a düzeyleri incelenerek değerlendirilecektir. Visnagin'in antioksidan özelliğinin de daha sonra dokuda incelenmesi tarafımızca planlanmaktadır. Literatürde bulunan damar gevşetici özelliği beyni besleyen vaküler yapılardaki Ca²⁺ transport proteinleri olan Stim1 ve Orai1 düzeyleri tez çalışmamıza yetişmediği için daha sonra çalışılması planlanmaktadır.

Visnagin ile ilgili daha önce yapılmış bazı çalışmalar; Constanza ve ark. 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada A.visnaganın ana etken maddesi olan khellinin peroksit ve süperoksit süpürücü bir etki göstererek antioksidan özelliği olduğu gözlemlenmiştir(150).

Jawad ve ark. 1988 yılında yaptıkları bir çalışmada visnagin in antibakteriyel etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Santrani ve ark. 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada visnagin in antifungal etkisinin olduğu kaydedilmiştir.

Khan ve ark. 2002 yılında Wistar albino sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada A.visnaga tohumunun böbrek taşı oluşumunu önleyici etkisi araştırılmış ve 4 hafta boyunca diyetlerine %3 glikolik asit eklenerek okzalat taşı oluşumu sağlanmıştır. Ardından 500 mg/kg/gün dozda gastrik gavaj yoluyla A.visnaga tohum ekstresi verilmiş ve sonuç olarak hem anlamlı diüretik etki geliştiği hem de böbrek taşı oluşumunda azalma olduğu kaydedilmiştir.

Jouad ve ark. 2002 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada visnagin in hipoglisemik aktivitesinin olduğu gösterilmiş olup antidiyabetik olarak klinikte kullanımı önerilmiştir.

Sabry ve ark. Tarafından 2014 yılında yapılan bir çalışmada, Hatay da toplanan A. visnaga meyvelerinden izole edilen visnagin bileşiğinin, insan malign melanom hücre hattında (HT 144) sitotoksik etkisi incelenmiş olup 12.5, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlar standart ve görünür ışık uygulamalarında değerlendirilmiştir. Görünür ışık tedavisinde 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda hücrelerin %50'den fazlasının inhibe olduğu kaydedilmiştir. Visnagin reaktif oksijen türlerinin intraselüler çoğalmasından dolayı apoptozisi artırmaktadır ve apoptotik etkisi HT 144 hücre hattına karşı %25.88 olarak kaydedilmiştir. Doza bağımlı olarak visnagin bu hücre hattı üzerine antiproliferatif aktivitesi olduğu gözlemlenmiştir.

TNF-a sekresyonuna etki etmediği saptandığı bu çalışma neticesinde visnaginın malign melanom proliferasyonunu hücre içi oksidatif stresi artırarak ve proapoptotik yolağı aktive ederek inhibe ettiği kaydedilmiştir(132).

Hashım ve ark. Tarafından 2014 yılında yapılan klinik bir çalışmada, 60 katılımcıya Ammi visnaga ve güneşe maruziyetin kombine uygulanmasının ardından deri üzerinde %76,6 repigmentasyon olduğu kaydedilmiştir. Benzer çalışmada 28 vitiligo hastası olan gönüllüler Ammi visnaga ve ultraviyole A radyasyonunun beraber kullanmasının ardından 100-200 tedavi alan katılımcıların %41’de %70 oranından daha fazla yeniden pigmentasyon belirlenmiştir(118).

Rauwald ve ark. Tarafından 1994 yılında yapılan furanokromon yapısındaki visnagin ve khellin piranokumarin yapısındaki visnadin gibi spazm giderici etkisi araştırılmış spazm giderici etkiye sahip olduğu kaydedilmiştir(151).

Saltoğlu tarafından 2014 yılında yapılan bir çalışmada visnadin, visnagin ve khellin etken bileşenlerinin kalsiyum kanal bloke edici olduğundan kardiyovasküler sistemde etkileri araştırılmıştır. Visnadin in-vitro çalışmalarda periferik ve koroner damarları dilate ettiği, koroner sirkülasyonu artırdığı ve damar düz kaslarının kasılmasını inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Visnagin periferik ve koroner vazodilatasyon aktivitesi göstermektedir ve damar düz kaslarının kontraktilesini nonspesifik olarak inhibe ettiğinden anjina pectoris tedavisinde kullanılabileceği ifade edilmiştir. Visnagin negatif inotropik ve kronotropik etkili olduğundan periferik vasküler direnci azaltmaya yardımcı olmaktadır. Khellin ve visnagin spazmı inhibe ederken, kalsiyum kanal bloke edici etkisini artırdığı tespit edilmiştir(152).

Pasari ve ark. 2019 yılında yaptıkları deneysel bir çalışma da Visnagin, Nrf2’nin antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitelerine aracılık etmedeki rolünü farelerde akut pankreatit de Nrf2’nin etkili bir şekilde yukarı yönlü regülasyonu ile antioksidan savunmayı desteklediği kayıt edilmiştir. Söz konusu bitkisel molekülün üzerinde yapılan daha detaylı araştırmalar ile visnagin’in farelerde akut pankreatiti hafiflettiği ve bu aktivite esnasında antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterdiği rapor edilmiştir (8).

Rao ve ark. Tarafından 2022 yılında yaptıkları deneysel çalışma literatürde visnagin ile ilgili en güncel çalışma olup ilk kez Visnagin’in ratlarda serebral iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı gözlemlendi. Visnagin'in nöroprotektife yönelik

potansiyel mekanizmaları, anti-oksidatif, anti-inflamasyon ve anti-apoptotik etkiler ortaya koyarak gösterebileceğini kaydetmişlerdir(153).

Tüm bu yayınlar ve çalışmalar göz önüne alındığında iskemi sonrası meydana gelen beyin hasarını en aza indirebilmek amacıyla visnagin in iskemi sonrası olası nöroprotektif potansiyelini ve koruyucu etkisini araştırmaya karar verdik. literatür araştırması göz önünde bulundurularak belirlenen düşük, orta ve yüksek doz uygulamalarında visnagin in serebral iskemi reperfüzyon sonrası koruyucu ve nöroprotektif potansiyelini hem histolojik hem de immünohistokimyasalden inceleyip karşılaştırdık. Çalışmamızda rastgele seçilmiş $328,53 \pm 47,20$ gr ağırlıkları olan 35 adet Sprague Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. 10 mg/kg ksilazin ve 80 mg/kg ketamin ile anestezi uygulandıktan sonra sağ external karotid arterden girerek internal karotid artere doğru yönlendirilen sütür internal karotit arterden ilerletilerek MCA oklüde edildi. 90 dakika bekletip iskemi oluşturulduktan sonra sütür geri çekilip reperfüzyon sağlandı. Sıçanlar 7'li 5 gruba ayrıldı. 1. Grup: işlem yapılmayan kontrol grubu, 2. Grup: iskemi oluşturulan grup, 3. Grup: iskemi sonrası düşük doz olan 10mg/kg Visnagin verilen grup, 4. Grup: iskemi sonrası orta doz kabul edilen 30mg/kg visnagin verilen grup ve 5. Grup: iskemi sonrası yüksek doz kabul ettiğimiz 60mg/kg Visnagin verilen grup olarak belirlendi. İlk dozlar reperfüzyon sağlandıktan sonra diğer dozlar 24 saat arayla toplam 3 doz visnagin tedavisi verildi. Tüm visnagin tedavi dozları yapıldıktan sonra yeniden anestezi uygulanan sıçanlar önce torakotomi ile intrakardiyak kanları alındı. Sıçanlar sakrifiye edilip beyin dokuları steril şartlarda çıkarıldı. Çıkarılan dokular oda sıcaklığında %10'luk formaldehit içerisinde fikse edildi.

Elde edilen kesitler hemtatoksilen&eosin ile boyandı. Kontrol grubu, iskemi grubu ve iskemi sonrası düşük, orta ve yüksek doz visnagin tedavisi verilen rat beynine ait kesitlerde konjesyon, perinöral ve perivasküler ödem, hücre çekirdeklerinde piknozis, reperfüzyon sonrası kanama odakları, koroid plexus ve ventrikül yapısı karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Alınan kesitler ayrıca parafin bloklarına gömülerek üzerlerine Bax, TNF- α , CD86 ve CD163 antikorları damlatılıp oluşan sinyaller gözlemlendi.

TNF- α , enflamatuvar cevapların başlatılmasında rol oynayan kritik bir sitokindir endotel hücrelerinde apoptozun oluşumunda merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir. İskemik inme sırasında, iskemik çekirdekten penumbra alanına doğru doku hasarına neden olabilen ve pro-inflamatuvar yanıtı tetikleyen, hasarla ilişkili birtakım moleküller salınmaktadır(154).

Proenflamatuvar yanıtla ilişkili olan bu moleküllerden biri Tümör nekroz faktör α (TNF- α) dır. Çeşitli immun sistem ile bağlantılı hücreler tarafından üretilen bir sitokindir. Düşük TNF düzeylerinin, metabolik ekzitotoksik hasarları takiben gerçekleşen nöronal hasarları önlediği, astrositlerin ve nöronal progenitör hücrelerin proliferasyonunu indükleyerek, MSS'de hasar gören dokunun rejenerasyonunda rol oynadığı belirtilmektedir (155).

TNF ekspresyonu sıkı kontrol altındadır ancak çeşitli sistemik inflamatuvar hastalıklarda kontrolsüz düzeyde sentezlendiği belirtilmektedir. Yüksek TNF düzeylerinin hasarı alevlendirdiği; hipotansiyona, diffüz koagülasyona ve doku hasarına aracılık ettiği bildirilmektedir (155).

Beyindeki TNF- α düzeylerinin, iskemi sonrasında yada beyin hasarı durumunda, ayrıca nörodejeneratif hastalıkları olan kişilerde artış gösterdiği ve bu artışın büyük ölçüde aktive edilmiş mikrogliyalardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Farelerde beyin mikrovasküler endotelial hücrelerinin mikroglialar ile ko-kültüre edildiği bir in vitro çalışmada, beyin hasarına ya da nöroinflamasyona yanıt olarak, aktive mikrogliyalardan salınan TNF- α düzeylerindeki artışın, KBB bozduğu ileri sürülmüştür (156).

Bax mitokondri zarı yanısıra çekirdek ve edoplazmik retikulum zarları üzerinde bulunur. İskemik inmede meydana gelen bir dizi olaylar sonucu hücreler apoptoza ve nekroza uğrarlar. Apoptoz süreci başlayınca sitozolde de bulunan Bax proteinleri mitokondri zarına bağlanırlar. Mitokondri zarına bağlanmasıyla mitokondri zarında bulunan sitokrom c ve Apoptozis İndükleyici Faktör (AIF) sitozole geçer. Sitokrom c, Apaf -1'e bağlanıp prokaspaz 9'u aktive eder ve apoptozom kompleksi oluşur. Apoptozom prokaspaz 3'ü aktive eder. Kaspaz 3 nükleotidleri ve enzimleri keserek hücre ölümüne neden olur(157).

Beynin yerleşik makrofajları olarak mikroglia, mikroçevreyi izleyebilir ve bağışıklık tepkilerini başlatabilir. İskemik inme gibi çeşitli beyin yaralanmalarına yanıt olarak

mikroglia aktive olur ve proinflamatuvar M1 fenotipine veya antiinflamatuvar M2 fenotipine polarize olur. Bu mikroglia tarafından üretilen sitokinler ve kemokinler gibi immünomodülatör moleküller, sırasıyla iskemik inmeyi takiben ikincil beyin hasarı veya onarımı ile yakından ilişkilidir. M1 mikroglia'nın ikincil beyin hasarını desteklediği, M2 mikroglia'nın ise felç sonrası iyileşmeyi kolaylaştırdığı gösterilmiştir(158).

Literatürden elde edilen diğer sonuçlar, M1 mikroglia aktivasyonunun diğer nörolojik hastalık türlerinde de beyin hasarını şiddetlendirebileceğini göstermiştir(159).

M1 mikroglia'nın aktivasyonu, yüzeysel markırların tespit edilmesiyle belirlenebilir. Bu klasik markırlar, integrin alfa-M (CD11b) (160), CD16 (161), CD32 (162) ve CD86'yı (163) içerir.

M2 mikroglia:M2 mikroglia, anti-enflamatuvar bir durumda bulunur ve beyin onarımını desteklemek için anti-enflamatuvar sitokinler ve nörotrofik faktörler salgılar (154). M2 mikroglia aktive edilir ve iskemik inmeyi takiben faydalı bir role hizmet ettiği rapor edilir(164). Bu, inme sonucunu iyileştiren anti-inflamatuvar sitokinleri serbest bırakan M2 mikroglia'nın aktivasyonuna yol açar. Ek olarak mikroglia tarafından toplanan makrofajların M2 mikroglia polarizasyonunu arttırdığı ve inme sonucunu iyileştirdiği belirlendi(165,166).

Önceki çalışmalar, M2 mikroglia aktivasyonunun diğer nörolojik hastalıklarda beyin dokusu onarımını da destekleyebileceğini göstermiştir(167,168).

Batı ilaçlarına ek olarak, bazı geleneksel Çin ilaçları da mikroglia polarizasyonunu düzenlemek için kullanılabilir (169); Yang ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırma, baicaleinin M1 belirteçleri CD16 ve CD86'nın ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde azalttığını ve M2 belirteçleri CD163 ve CD206'nın ekspresyon seviyelerini arttırdığını göstermiştir(170).

Çalışmamızda Hematoksilen & eozin ile boyanan İskemi grubunda,nöronlarda ve glial hücrelerde piknotik çekirdeklerin yoğun miktarda olduğu, yoğun bir şekilde perinöral ödem görüldüğü, kan beyin bariyerinin yıkıldığı, fokal ve diffuz kanama alanları da tespit edildi. Ayrıca ventriküler kavitede piamater perforasyonuna bağlı olarak yoğun hemorajik alanlar ve ödemli bir kavite varlığı izlendi. Pleksus yapısında piknotik çekirdekli görünüm yaygındı.

Visnagin 10mg/kg verilen grupta serebral korteks substansiya albasında tıpkı iskemi grubunda olduğu gibi nöronlarda ve glial hücrelerde piknotik çekirdekli hücre görüntüsü izledik. Bu grubun araknoid bölgedeki vasküler yapılarında iyileşme gözlenmesine rağmen dejeneratif durumun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında iskemi grubuna daha yakın bir morfolojide olduğu görüldü. Substansiya grisea'da bulunan vasküler yapılarda yer yer konjesyonun azaldığı görülse de KBB nin yıkıldığı, hemoraji izlendiği, hem perivasküler hem de perinöral kavitede genişleme ve ödemli görünüm saptadık. Bu grubun glia hücrelerinde yine iskemi grubuna benzer şekilde yoğun miktarda nöroglia dejenerasyonu ve piknotik hücre mevcudiyeti görüldü. Ayrıca pleksus koroideus'ta ödem ve hemorajik yapı iskemi grubuna benzer nitelikteydi.

Visnagin 30mg/kg verilen grupta nöronlarda ve glial hücrelerde dejeneratif değişiklikler varlığına rağmen iskemi ve iskemi + 10 mg/kg grupları ile karşılaştırıldığında hafif düzeyde beyin dokusunda hasarın hafiflediği görüldü. Araknoid vasküler yapılarda KBB kısmen korunduğu ve hemorajik olgunun bu grupta ciddi düzeyde azaldığı tespit edildi. Serebral arter dallarında perivasküler kavitenin kontrol grubuna daha yakın bir görüntüde olduğu buna karşın vasküler konjesyon durumunun mevcudiyetini sürdürdüğü tespit edildi. pleksus koroideus ve ventriküler kavitesinde iskemi ve iskemi + 10 mg gruplarında bahsedilen dejeneratif etkilerin kayda değer düzeyde azaldığı tespit edildi.

Visnagin 60mg/kg verilen grupta beyin hemisferinin tüm alanlarında nöronların ve glia hücrelerinin kontrol grubuna oldukça benzer görüntüde olduğu, perivasküler kavitenin kontrol grubuna oldukça yakın olduğu ancak yer yer ödemin olduğu ve hem perinöral hem de perivasküler kavitelerin genişlemiş görüntüsünün varlığını sürdürdüğü görüldü. Subaraknoid alanda vasküler perforasyonun ortadan kalktığı, KBB nin korunduğu, damarlardaki hemoraji ve konjesyonun silindiği izlendi diğer gruplar ile karşılaştırıldığında 60 mg/kg Visnagin tedavisi uygulanan ratların beyin morfolojisinin daha iyi durumda olduğu tespit edildi koroid pleksus yapısının kontrol grubuna oldukça yakın olduğu, yer yer izlenen kapiller konjesyonun dışında deskuamasyon, hemoraji gibi patolojik durumların çok büyük oranda ortadan kalktığı ve kontrol grubuna benzer bir görüntü oluştuğu görüldü.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Serebral iskeminin neden olduğu nörolojik disfonksiyon ve beyin dokusu hasarı, dünya genelinde yüksek mortalite ve morbiditenin yanısıra bireysel, ailesel, toplumsal psikososyal etkileri ve ciddi bir ekonomik yükü bulunmaktadır. Hem hastaya hemde topluma faydalı olmak ve bu etkileri en aza indirmek amacıyla bilim adamları tarafından sayısız araştırmalar ve deneysel çalışmalarlar yapılmaktadır.

Klinik ve deneysel çalışmaların nihai hedefi medikal, girişimsel ve cerrahi müdahale ile hastaların nörolojik fonksiyonlarını iyileştirmek, mortalite ve morbiditeyi azaltmaktır. Bu bakımdan iskekiye bağlı nörodejenerasyonu ortadan kaldırmaya yönelik geliştirilmiş bir etkin tedavi metodu bulunmamaktadır.

Serebral iskemi en sık MCA oklüzyonuna bağlı geliştiği için bizde deneysel çalışmamızda ratlarda MCA oklüzyonu oluşturarak ve literatür göz önüne alınarak belirlediğimiz Visnagin'in düşük, orta ve yüksek dozlarda koruyucu etkisini araştırdık.

Elde ettiğimiz histopatolojik ve immünohistokimyasal bulguları deney gruplarına göre kıyasladığımızda Visnagin in nöronal hasarı koruyabileceği sonucuna ulaştık. Visnagin in bu koruyucu ve iyileştirici etkisi doz arttıkça daha etkin olabileceğini gözlemledik. Yüksek doz olarak kabul ettiğimiz 60mg/kg Visnagin verdiğimiz grupta, kontrol grubuna benzer şekilde nöronal hasarı iyileştirebileceği gibi olumlu sonuçlarla karşılaştık.

Bütün bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde Visnagin'in serebral iskemi de kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Ancak her ne kadar serebral iskemi de Visnagin'in, gözle görülür koruyucu bir etkinlik sağladığı görülse de nöroprotektif tedaviyi mümkün kılacak kesin sonuçlara ulaşmak için, farklı veriler elde edilmesi amacıyla daha fazla deney gruplarında ve çok sayıda dozun değişik parametreler kullanılarak test edilmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- [1] Brouns R, De Deyn PP. The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009;111(6):483-495.doi:10.1016/j.clineuro.2009.04.001
- [2] Donkor ES, 2018. 21(st) Yüzyılda İnme: Yükün, Epidemiyolojinin ve Yaşam Kalitesinin Anlık Görüntüsü. *Stroke Res Treat* 2018, 3238165.
- [3] Adımcılar, V., Beyazit, N., & Erim, F. B. (2021). Khellin and visnagin in different organs of *Ammi visnaga* and *Ammi majus*. *Natural Product Research*, 1-3.
- [4] Koriem, K. M., Arbid, M. S., & El-Attar, M. A. (2019). Acute and subacute toxicity of *Ammi visnaga* on rats. *Interdisciplinary toxicology*, 12(1), 26.
- [5] Anti-inflammatory effect of visnagin in lipopolysaccharide-stimulated BV-2 microglial cells
- [6] Liu, Y., Asnani, A., Zou, L., Bentley, V. L., Yu, M., Wang, Y., ... & Peterson, R. T. (2014). Visnagin protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy through modulation of mitochondrial malate dehydrogenase. *Science translational medicine*, 6(266), 266ra170-266ra170.
- [7] Vanachayangkul, P., Chow, N., Khan, S. R., & Butterweck, V. (2011). Prevention of renal crystal deposition by an extract of *Ammi visnaga* L. and its constituents khellin and visnagin in hyperoxaluric rats. *Urological research*, 39(3), 189-195.
- [8] Pasari, L. P., Khurana, A., Anchi, P., Saifi, M. A., Annaldas, S., & Godugu, C. (2019). Visnagin attenuates acute pancreatitis via Nrf2/NFκB pathway and abrogates associated multiple organ dysfunction. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108629.
- [9] Weinberger J. *Stroke*. 2nd, Pennsylvania; Handbooks in Health Care Co., 2002.
- [10] Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW ve ark. . Kalp hastalığı ve inme İstatistikleri-2018 güncellemesi: Amerikan Kalp Derneği'nden bir rapor. *Sirkülasyon*_ 2018; 137 (12):e67-e492.
- [11] Gooch CL, Pracht E, Borenstein AR. Amerika Birleşik Devletleri'nde nörolojik hastalığın yükü: bir özet rapor ve harekete geçirme çağrısı. *Ann Neurol*. 2017; 81 (4): 479-484.
- [12] Markus HS. Cerebral perfusion and stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 353-61. [Crossref]
- [13] Brown RD, Whisnant JP, Sicks RD, et al. Stroke incidence, prevalence, and survival: secular trends in Rochester, Minnesota, through 1989. *Stroke* 1996;27:373-380
- [14] Wolf PA, D'Agostino RB, O'Neal MA, et al. Secular trends in stroke incidence and mortality: the Framingham Study. *Stroke* 1992;23: 1551-1555

- [15]Kapral MK, Fang J, Hill MD, et al. Sex differences in stroke care and outcomes: results from the Registry of the Canadian Stroke Network. *Stroke*. 2005;36(4):809-814.
- [16]Matarin M, Brown WM, Singleton A, Hardy JA, Meschia JF; ISGS investigators. Whole genome analyses suggest ischemic stroke and heart disease share an association with polymorphisms on chromosome 9p21. *Stroke*. 2008;39(5):1586-1589.
- [17] Elkind MS, Sacco RL. Stroke risk factors and stroke prevention. *Semin Neurol*. 1998;18(4):429-440. doi:10.1055/s-2008-1040896
- [18] Allen CL, Bayraktutan U. Risk factors for ischaemic stroke. *Int J Stroke*. 2008;3(2):105-116. doi:10.1111/j.1747-4949.2008.00187.
- [19] Love BB, Biller J, Jones MP, Adams HP Jr, Bruno A. Cigarette smoking. A risk factor for cerebral infarction in young adults. *Arch Neurol*. 1990;47(6):693-698
- [20] Hindy G, Engström G, Larsson SC, et al. Role of Blood Lipids in the Development of Ischemic Stroke and its Subtypes: A Mendelian Randomization Study. *Stroke*. 2018;49(4):820-827.
- [21] Palomäki H, Kaste M. Regular light-to-moderate intake of alcohol and the risk of ischemic stroke. Is there a beneficial effect?. *Stroke*. 1993;24(12):1828-1832.
- [22] Hillbom M, Numminen H, Juvela S. Recent heavy drinking of alcohol and embolic stroke. *Stroke*. 1999;30(11):2307-2312.
- [23] Adams HP Jr. Bendixen BH, Kappelle LJ, et al Akut iskemik inmenin alt tipinin sınıflandırılması. Çok merkezli bir klinik çalışmada kullanım için tanımlar. Akut İnme Tedavisinde Org 10172 Denemesi. *İnme* 1993; 24:35-41
- [24] Balkan S: Serebrovasküler Hastalıklar, Güneş Kitabevi Yayınları 2002;5:51-52
- [25] JAIN, S.; IVERSON, L. M. Glasgow Coma Scale.[Updated 2020 Jun 23]. *StatPearls.TreasureIsland (FL):StatPearls Publishing*, 2020.
- [26] Kamalian S, Lev MH. Stroke Imaging. *Radiol Clin North Am*. 2019;57(4):717-732.
- [27] Puetz V, Sylaja PN, Coutts SB, Hill MD, Dzialowski I, Mueller P, Becker U, Urban G, O'Reilly C, Barber PA, Sharma P, Goyal M, Gahn G, von Kummer R, Demchuk AM (2008) BT anjiyografi kaynak görüntülerindeki hipoatenüasyonun boyutu, baziler arter oklüzyonu olan hastalarda fonksiyonel sonucu tahmin eder. *Strok* 39:2485–2490
- [28] Rymer MM, Summers D. Ischemic stroke: prevention of complications and secondary prevention. *Mo Med*. 2010;107(6):396-400.

- [29] Lin MP, Liebeskind DS. Imaging of Ischemic Stroke. *Continuum (Minneapolis)*. 2016;22(5, Neuroimaging):1399-1423. doi:10.1212/CON.0000000000000376
- [30] Kumar S, Selim MH, Caplan LR. Medical complications after stroke. *Lancet Neurol*. 2010;9(1):105-118.
- [31] Katzan IL, Cebul RD, Husak SH, Dawson NV, Baker DW. The effect of pneumonia on mortality among patients hospitalized for acute stroke. *Neurology*. 2003;60(4):620-625.
- [32] Sellars C, Bowie L, Bagg J, et al. Risk factors for chest infection in acute stroke: a prospective cohort study. *Stroke*. 2007;38(8):2284-2291
- [33] Ay H, Koroshetz WJ, Benner T, et al. Neuroanatomic correlates of stroke-related myocardial injury. *Neurology*. 2006;66(9):1325-1329.
- [34] Kumar S, Selim MH, Caplan LR. Medical complications after stroke. *Lancet Neurol*. 2010;9(1):105-118.
- [35] Jensen JK, Atar D, Mickley H. Mechanism of troponin elevations in patients with acute ischemic stroke. *Am J Cardiol*. 2007;99(6):867-870.
- [36] Nolte CH, Scheitz JF, Endres M. Troponinerhöhung nach ischämischem Schlaganfall [Troponin elevation in ischemic stroke patients]. *Med Klin Intensivmed Notfmed*. 2017;112(3):222-226.
- [37] Abboud H, Berroir S, Labreuche J, Orjuela K, Amarenco P; GENIC Investigators. Insular involvement in brain infarction increases risk for cardiac arrhythmia and death. *Ann Neurol*. 2006;59(4):691-699.
- [38] Martino R, Foley N, Bhogal S, Diamant N, Speechley M, Teasell R. Dysphagia after stroke: incidence, diagnosis, and pulmonary complications. *Stroke*. 2005;36(12):2756-2763.
- [39] O'Donnell MJ, Kapral MK, Fang J, et al. Gastrointestinal bleeding after acute ischemic stroke. *Neurology*. 2008;71(9):650-655.
- [40] Harari D, Coshall C, Rudd AG, Wolfe CD. New-onset fecal incontinence after stroke: prevalence, natural history, risk factors, and impact. *Stroke*. 2003;34(1):144-150.
- [41] Khan Z, Starer P, Yang WC, Bhola A. Analysis of voiding disorders in patients with cerebrovascular accidents. *Urology*. 1990;35(3):265-270.
- [42] Brandstater ME, Roth EJ, Siebens HC. Venous thromboembolism in stroke: literature review and implications for clinical practice. *Arch Phys Med Rehabil*. 1992;73(5-S):S379-S391.
- [43] Kamphuisen PW, Agnelli G. What is the optimal pharmacological prophylaxis for the prevention of deep-vein thrombosis and pulmonary embolism in patients with acute ischemic stroke?. *Thromb Res*. 2007;119(3):265-274.

- [44] Morris PL, Shields RB, Hopwood MJ, Robinson RG, Raphael B. Are there two depressive syndromes after stroke?. *J Nerv Ment Dis.* 1994;182(4):230-234.
- [45] Castillo J, Dávalos A, Marrugat J, Noya M. Timing for fever-related brain damage in acute ischemic stroke. *Stroke.* 1998;29(12):2455-2460.
- [46] NINDS, TPA. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke RT-PA stroke study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med,* 1995;333.24: 15817.
- [47] POWERS WJ, et al. Guidelines For The Early Management Of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline For Healthcare Professionals From The American Heart Association/American Stroke Association. 2018;49(3):e46-99, s.l. : 2018
- [48] MARNAT, G., et al. (2016). Endovascular Management of Tandem Occlusion Stroke Related to Internal Carotid Artery Dissection Using a Distal to Proximal Approach: Insight from the RECAST Study. *AJNR. American journal of neuroradiology,* 37(7),1281–1288.
- [49] ALBERS G. W., et al. DEFUSE 3 Investigators (2018). Thrombectomy for Stroke at 6 to 16 Hours with Selection by Perfusion Imaging. *The New England journal of medicine,* 378(8),708–718.
- [50] HACKEW, et al. Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke: the European Cooperative Acute Stroke Study (ECASS). *Jama,* 1995, 274.13: 1017-1025.
- [51] JAUCH EC, S.J., et al. *Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke.* s.l. : American Heart Association/American Stroke Association, 2013.
- [52] LANSBERG MG., et al. Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest,* 2012,141.2: e601S-e636S.
- [53] ANTITHROMBOTIC TRIALISTS' COLLABORATION. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *Bmj,* 2002, 324.7329: 71-86.
- [54] ÖZDEMİR AÖ, et al. Özel İskemik İnme Tedavisi: Türk Beyin Damar Hastalıkları Derneği İnme Tanı Ve Tedavi Kılavuzu–2015. *Türk Beyin Damar Hastalıkları Dergisi,* 2015,21.2: 93-98.
- [55] DIENER H, et al. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet,* 2004, 364.9431:331-337.
- [56] DEREX L, CHO TH. Mechanical thrombectomy in acute ischemic stroke. *Rev Neurol (Paris).* 2017;173(3):106-113
- [57] Balkan S. Serebrovasküler hastalıklar. 3. baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri;

- [58] Oğul E. Klinik nöroloji. İstanbul: Nobel&Güneş Tıp Kitabevleri; 2002.
- [59]. Lee RM. Morphology of cerebral arteries. Pharmacol Ther 1995;66(1):149-73.
- [60] Wang-Fischer Y. Manual of stroke models in rats: CRC press; 2008.
- [61] Krayenbühl H, Yasargil M G: Röntgenanatomie und topographie der hirngefäße. In Zerebrale angiographie für klinik und praxis, Huber P, (ed.). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1979: pp 38-246.
- [62] Ecker A, Riemenschneider P A: In Angiographic localization of intracranial masses. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1955: pp 433.
- [63] Krayenbühl HA, Yasargil MG: In Cerebral angiography. Butterworths, London, 2nd ed., 1968:pp80-1.
- [64] Bouthillier A, van Loveren H R, Keller J T: Segments of the internal carotid artery: A new classification. Neurosurgery 38: 425-33, 1996.
- [65] Gijn H, Lenkey C, Rhoton A L: Microsurgical anatomy of the supratentorial portion of the internal carotid artery. J Neurosurg 55: 560-74, 1981.
- [66] Rhoton A L, Jr.: The supratentorial arteries. Neurosurgery 51 (4 Suppl): 553-120, 2002.
- [67] Liscer JR, Rhoton AL, Macintosh T, et al.: Microsurgical anatomy of the posterior inferior cerebellar artery. Neurosurgery 10: 170-99, 1982.
- [68] Gerch C C, O'Shaughnessy B A, Bendok B R, et al.: Surgical management of intracranial aneurysms involving the posterior inferior cerebellar artery. Contemp Neurosurg 26(9): 1-7, 2004.
- [69] Atkins ER, Brodie FG, Rafelt SE, Panerai RB, Robinson TG. Dynamic cerebral autoregulation is compromised acutely following mild ischaemic stroke but not transient ischaemic attack. Cerebrovasc Dis 2010; 29: 228-35.
- [70] Peterson EC, Wang Z, Britz G. Regulation of cerebral blood flow. Int J Vasc Med. 2011;2011:823525.
- [71] Edvinsson L, MacKenzie E, McCulloch J. *Cerebral Kan Akışı ve Metabolizma*. New York, NY, ABD: Raven Press; 1993.
- [72] Nielsen AN, Lauritzen M. Sıçan somatosensör korteksinde nöronal aktivite ve kan akışının aktiviteye bağlı artışlarının birleştirilmesi ve ayrılması. *Fizyoloji Dergisi*. 2001; 533 (3):773-785.
- [73] Dhar R, Diringer M. Neurocritical care: Cerebral Blood Flow Physiology and Metabolism in the Neurocritical Care Unit. Cambridge: Cambridge University Press; 2019. 11.

- [74] Daha sert DR. Kedi serebral arterlerinin basınca bağıli miyogenik aktivasyonu, sağılam endotelyuma bağılidir. *Dolaşım Araştırması*. 1987; 60 (1):102–107.
- [75] Paulson OB, Newman EA. Astrosit uę ayaklarından potasyum salınımı beyin kan akışını düzenler mi? *bilim* _ 1987; 237 (4817):896-898.
- [76] Quayle JM, Nelson MT, Standen NB. Düz kasta ATP'ye duyarlı ve iğe doğıru rektifiye edici potasyum kanalları. *Fizyolojik İncelemeler*. 1997; 77 (4):1165-1232.
- [77] Waeber C, Moskowitz MA. İnflamatuar bir hastalık olarak migren. *Nöroloji*. 2005; 64 (10):S9–S15.
- [78] Cohen Z, Bonvento G, Lacombe P, Hamel E. Beyin mikrosirkülasyonunun düzenlenmesinde Serotonin. *Nörobiyolojide İlerleme*. 1996; 50 (4):335–362.
- [79] Iadecola C. Normal beyinde ve Alzheimer hastalığında nörovasküler düzenleme. *Doğıra İncelemeleri Sinirbilim*. 2004; 5 (5):347–360.
- [80] Iliff JJ, D'Ambrosio R, Ngai AC, Winn HR. Adenozin reseptörleri, sıçan serebral korteksinde glutamatla uyarılmış arteriolar genişlemeye aracılık eder. *Amerikan Fizyoloji Dergisi*. 2003; 284 (5):H1631–H1637.
- [81] Brouns R, De Deyn PP. The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009;111(6):483-495.
- [82] Paciaroni M, Caso V, Agnelli G. The concept of ischemic penumbra in acute stroke and therapeutic opportunities. *Eur Neurol*. 2009;61(6):321-330.
- [83] Brouns R, Sheorajpanday R, Wauters A, De Surgeloose D, Mariën P, De Deyn PP. Evaluation of lactate as a marker of metabolic stress and cause of secondary damage in acute ischemic stroke or TIA. *Clin Chim Acta*. 2008;397(1-2):27-31.
- [84] Pradeep H, Diya JB, Shashikumar S, Rajanikant GK. Oxidative stress--assassin behind the ischemic stroke. *Folia Neuropathol*. 2012;50(3):219-230.
- [85] Che Y, Wang JF, Shao L, Young T. Oxidative damage to RNA but not DNA in the hippocampus of patients with major mental illness. *J Psychiatry Neurosci*. 2010;35(5):296-302.
- [86] Love S. Oxidative stress in brain ischemia. *Brain Pathol*. 1999;9(1):119-131.
- [87] Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci*. 2017;38(7):1167- 1186.
- [88] Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol Rev*. 2005;57(2):173-185.

- [89] Hamann GF, Okada Y, Fitridge R, del Zoppo GJ. Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke*. 1995;26(11):2120-2126.
- [90] Dohmen C, Bosche B, Graf R, et al. Identification and clinical impact of impaired cerebrovascular autoregulation in patients with malignant middle cerebral artery infarction. *Stroke*. 2007;38(1):56-61.
- [91] Green D. Coagulation cascade. *Hemodial Int*. 2006;10 Suppl2:S2-S4.
- [92] Harshfield EL, Sims MC, Traylor M, Ouwehand WH, Markus HS. The role of haematological traits in risk of ischaemic stroke and its subtypes [published correction appears in *Brain*. 2020 Mar 1;143(3):e24]. *Brain*. 2020;143(1):210-221.
- [93] D'Orsi B, Mateyka J, Prehn JHM. Control of mitochondrial physiology and cell death by the Bcl-2 family proteins Bax and Bok. *Neurochem Int*. 2017;109:162-170.
- [94] Zhang Y, Chen Z, Girwin M, Wong T. Remifentanyl mimics cardioprotective effect of ischemic preconditioning via protein kinase C activation in open chest of rats. *Acta Pharmacol Sin*, 2005; 26 (5); 546-50
- [95] Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*, 2005; 12(10); 1161-208.
- [96] Ward JD, Becker DP, Miller JD, Choi SC, Marmarou A, Wood C. Failure of prophylactic barbiturate coma in the treatment of severe head injury. *J Neurosurg*, 1985; 62(3); 383-8.
- [97] Xiong L. Neuroanesthesia and neuroprotection: where are we now? *Chinese Medical Journal*, 2006; 119(11);. 883-886.
- [98] Sivenius J, Tuomilehto J, Immonen-Räihä P, Kaarisalo M, Sarti C, Torppa J, et al. Continuous 15-year decrease in incidence and mortality of stroke in Finland: the Finstroke study. *Stroke*, 2004; 35(2); 420-5.
- [99] Gasche Y, Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Copin JC, Kawase M, Massengale J, et al. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 after focal cerebral ischemia in mice: a possible role in blood-brain barrier dysfunction. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999; 19(9); 1020-8
- [100] Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology*, 1981; 81(1); 22-9.
- [101] Perlman JM. Intervention strategies for neonatal hypoxic-ischemic cerebral injury. *Clin Ther*, 2006; 28(9); 1353-65.
- [102] Wyatt J. Applied physiology: brain metabolism following perinatal asphyxia. *Current Paediatrics*, 2002; 12(3);227-231.

- [103] Mhairi Macrae I. New models of focal cerebral ischaemia. *Br J Clin Pharmacol*.1992;34(4):302-308. doi:10.1111/j.1365-2125.1992.tb05634.x
- [104] Mehta SL, Manhas N, Raghubir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics. *Brain Res Rev*.2007;54(1):34-66. doi:10.1016/j.brainresrev.2006.11.003
- [105] Ito U. , Fieschi C. , Orzi F., Kuroiwa T., Klatzo I. Maturation phenomenon in cerebral ischemia 3: defense mechanisms versus apoptosis neuronal recovery and protection in cerebral infarction. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 1999
- [106] Ginsberg MD, Busto R. Rodent models of cerebral ischemia. *Stroke*. 1989;20(12):1627-1642. doi:10.1161/01.str.20.12.1627
- [107] LONGA, E. Zea, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *stroke*, 1989, 20.1: 84-91.
- [108] Longa Z., Weinstein P.R., Carlson S. and Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1989;20: 84-91
- [109] Windle V, Szymanska A, Granter-Button S, et al. An analysis of four different methods of producing focal cerebral ischemia with endothelin-1 in the rat. *Exp Neurol*.2006;201(2):324-334.
- [110] Kofler J, Hattori K, Sawada M, et al. Histopathological and behavioral characterization of a novel model of cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation in mice. *J Neurosci Methods*.2004;136(1):33-44.
- [111] Traystman RJ. Animal models of focal and global cerebral ischemia. *ILAR J*. 2003;44(2):85-95.
- [112] Pulsinelli W, Buchan AM. The four-vessel occlusion rat model. Method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation. *Stroke* 1988;19: 913-4.)
- [113] Ross DT, Duhaime AC. Degeneration of neurons in the thalamic reticular nucleus following transient ischemia due to raised intracranial pressure: excitotoxic degeneration mediated via non-NMDA receptors?. *Brain Res*.1989;501(1):129-143.
- [114] Menemen Y, Ammi L. In: Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M & Babaç M T et al. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, 2012:48.
- [115] Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. II. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1999:199.

- [116] Peşmen H, Ammi L. In: Davis PH (ed). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. 4. Cilt. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1972:426-427.
- [117] Kuruüzüm Uz A. Ammi visnaga (Diş otu) In: Demirezer Ö (ed). FFD Monografıları Tedavide Kullanılan Bitkiler. II. Baskı. MN Medikal & Nobel Tıp Kitabevi, 2011:65-72.
- [118] Hashim S, Jan A, Marwat KB, Khan MA. Phytochemistry and Medicinal Properties of *Ammi visnaga* (Apiaceae). Pakistan Journal. Botany 2014; 46 (3): 861-867.
- [119] Bulut G, Tuzlacı E, Doğan A, Şenkardış İ. An ethnopharmacological review on the Turkish Apiaceae species. Journal of Faculty Pharmacy of Istanbul University 2014; 44(2):163-179.
- [120] Sağiroğlu M, Topuz T, Ceylan K, Turna M. An Ethnobotanical survey from Yahyalı (Kayseri) and Tarsus (Mersin). SAÜ Fen Edebiyat Dergisi 2013; 2:13-37.
- [121] Kerkhof M, Hayes K. Complementary Nursing in End of Life Care: Integrative Care in Palliative Care. II. Edition. The Netherlands: Kicozo-Knowledge Institute for Complementary Nursing, 2015: 51-52, 68-70, 135, 151-152, 248
- [122] Jaradat NA, Zaid AN, Al-Ramahi R, Alqub MA, Hussein F, Hamdan Z, Mustafa M, Qneibi M, Ali I. Ethnopharmacological survey of medicinal plants practiced by traditional healers and herbalists for treatment of some urological diseases in the Bishr M, El-Degwy M, Hady MA, Amin M, Salama O. Supercritical fluid extraction of Pyrones from *Ammi visnaga* L. fruits. Future Journal of Pharmaceutical Sciences 2018; 4: 57-62.
- [123] Aydoğmuş-Öztürk F, Jahan H, Beyazit N, Günaydin K, Choudhary MI. The anticancer activity of visnagin, isolated from *Ammi visnaga* L., against the human malignant melanoma cell lines, HT 144. Molecular Biology Reports 2019; 46(2):1709-1714.
- [124] Wang HF, Yih KH, Yang CH, Huang KF. Anti-oxidant activity and major chemical component analyses of twenty-six commercially available essential oils. Journal of Food and Drug Analysis 2017; 25:881-889.
- [125] Hilmi Y, Abushama MF, Abdalgadir H, Khalid A, Khalid H. A study of antioxidant activity, enzymatic inhibition and in vitro toxicity of selected traditional sudanese plants with anti-diabetic potential. BMC Complementary and Alternative Medicine 2014; 14 149: 1-5.

- [126] Maoz M, Neeman I. Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. Letters in Applied Microbiology 1998; 26:61–63.
- [127] Bakry FA, Eleiwa ME, Taha SA, Ismil SM. Comparative toxicity of Paraquat herbicide and some plant extracts in *Lymnaea natalensis* snails. Toxicology and Industrial Health 2016; 32 (1):143-153.
- [128] Mahmoud ALE. Inhibition of growth and aflatoxin biosynthesis of *Aspergillus flavus* by extracts of some Egyptian plants. Letters in Applied Microbiology 1999; 29: 334–336.
- [129] Pavela R. Acaricidal properties of extracts and major furanochromones from the seeds of *Ammi visnaga* Linn. against *Tetranychus urticae* Koch. Industrial Crops and Products 2015; 67: 108–113.
- [130] Lamiri A, Lhaloui S, Benjilali B, Berrada M. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). Field Crops Research 2001; 71:9-15.
- [131] Khalfallah A, Labed A, Semra Z, Kaki BA, Kabouche A, Touzani R, Kabouche Z. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Ammi visnaga* L. (Apiaceae) from Constantine, Algeria. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2011; 1 (3):302-305.
- [132] Sabry A, El-Said AHM, El-Zayat SA, Abdel-Motaal FF, Magraby TA. Fungal contamination of *Ammi visnaga* seeds, antimicrobial activity of the plant seeds secondary metabolites and detection of alkaloids and non-alkaloids compounds. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 2014; 3 (2): 901- 914.
- [133] Pavela R, Vrchotova N, Triska J. Larvicidal activity of extracts from *Ammi visnaga* Linn. (Apiaceae) seeds against *Culex quinquefasciatus* Say. (Diptera: Culicidae). Experimental Parasitology 2016; 165:51-57.
- [134] Kilicarslan I, Coskun S. Spontaneous stone passage: is it *Ammi visnaga* effect? Urological Research 2012; 40:799–800.
- [135] Caruso S, Mauro D, Cariola M, Fava V, Rapisarda AMC, Cianci A. Randomized crossover study investigating daily versus on-demand vulvar Visnadine spray in women affected by female sexual arousal disorder. Gynecological Endocrinology 2018; 34 (2):110-114.
- [136] Elif ÖZBİR , Aslı YAZICIOĞLU , Emine AKALIN; İstanbul Üniversitesi, Eczacılık

Fakültesi, Farmasötik Botanik ABD, İstanbul Liv Hospital, Klinik Aromaterapi Departmanı, Ammı visnaga, Türk Farmakope Dergisi 2019, 4(2): 95-111.

[137] Virani, S.S., Alonso, A., Benjamin, E.J., Bittencourt, M.S., Callaway, C.W., Carson, A.P., Chamberlain, A.M., Chang, A.R., Cheng, S., Delling, F.N., Djousse, L., Elkind, M.S.V., Ferguson, J.F., Fornage, M., Khan, S.S., Kissela, B.M., Knutson, K.L., Kwan, T.W., Lackland, D.T., ... Tsao, C.W. (2020). Heart Disease and Stroke Statistics—2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 141(9). <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000757>

[138] Xing C, Arai K, Lo EH, Hommel M. Pathophysiologic cascades in ischemic stroke. *Int J Stroke*. 2012 Jul;7(5):378-85

[139] Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4:399–415

[140] Uluc K, Miranpuri A, Kujoth GC, Aktüre E, Baskaya MK. Focal Cerebral Ischemia Model by Endovascular Suture Occlusion of the Middle Cerebral Artery in the Rat. doi: 10.3791/1978 Published: February 5, 2011

[141] Martin, L. J., Al-Abdulla, N. A., Brambrink, A. M., Kirsch, J. R., Sieber, F. E., & Portera-Cailliau, C. (1998). Neurodegeneration in excitotoxicity, global cerebral ischemia, and target deprivation: a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *Brain research bulletin*, 46(4), 281-309.

[142] Radak, D., Katsiki, N., Resanovic, I., Jovanovic, A., Sudar-Milovanovic, E., Zafirovic, S., ... & R Isenovic, E. (2017). Apoptosis and acute brain ischemia in ischemic stroke. *Current vascular pharmacology*, 15(2), 115-122.

[143]) Aloisi, F. (2001). Immune function of microglia. *Glia*, 36(2), 165-179.

[144] Colonna, M., & Butovsky, O. (2017). Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration. *Annual review of immunology*, 35, 441-468.

[145] Wu, P. F., Zhang, Z., Wang, F., & Chen, J. G. (2010). Natural compounds from traditional medicinal herbs in the treatment of cerebral ischemia/reperfusion injury. *Acta Pharmacologica Sinica*, 31(12), 1523-1531.

[146] Tang, N. Y., Liu, C. H., Hsieh, C. T., & Hsieh, C. L. (2010). The anti-inflammatory effect of paeoniflorin on cerebral infarction induced by ischemia-reperfusion injury in Sprague-Dawley rats. *The American journal of Chinese medicine*, 38(01), 51-64.

[147] Subedi, L., & Gaire, B. P. (2021). Phytochemicals as regulators of microglia/macrophages activation in cerebral ischemia. *Pharmacological Research*, 165, 105419.

[148] Rabiei, Z., Bigdeli, M. R., & Lorigooini, Z. (2015). A review of medicinal herbs with antioxidant properties in the treatment of cerebral ischemia and reperfusion. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 17(12), 47-56.

[149] Mark S. Greenberg den çeviri Dr.H.Hakan ORUÇKAPTAN,NöroşirurjiEl Kitab 2013,altıncı baskı

ISBN: 978-975-277-360-8.

[150] CONSTANZA PB, LUIS FOG, JAIRO CA, ROBERTO PS (1998) Evaluation of the scavenger activity for superoxide, peroxide and hydroxyl radicals of some compounds isolated from Colombian medicinal plants, Rev. Colomb. Ciencias Quim-Farmaceuticas, 27, 41-47.

[151] RAUWALD HW, BREHM O, ODENTHAL KP (1993) The Involvement of a Ca Channel Blocking Mode of Action in the Pharmacology of Ammi visnaga Fruits, PlantaMed, 60, 101105.

[152] SALTOĞLU N (2014) Yeni Antimikrobiyaller. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, İstanbul.

[153] Rao, X. L., Liu, L. L., Huang, J., & Chen, J. (2022). Neuroprotective effects of visnagin on cerebral ischemia-reperfusion injury rats and the underlying mechanisms. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 26(12), 4371-4379.

[154] Zhao, X., Wang, H., Sun, G., Zhang, J., Edwards, N.J., Aronowski, J. (2015a). Neuronal Interleukin-4 as a Modulator of Microglial Pathways and Ischemic Brain Damage, The Journal of Neuroscience, 35(32), 11281–91.

[155] Wang, H., Czura, C. J., Tracey, K. J. (2003). The Cytokine Handbook. (4. Basım). Thomson, A. W., Lotze, M. T. (Ed.). Londra: Elsevier.

[156] Nishioku, T., Matsumoto, J., Dohgu, S., Sumi, N., Miyao, K., Takata, F., Shuto, H., Yamauchi, A. & Kataoka, Y. (2010). Tumor necrosis factor α mediates the blood-brain barrier dysfunction induced by activated microglia in mouse brain microvascular endothelial cells. *J Pharmacol Sci*, 112(2), 251-254.

[157] Zhao H, Yenari MA, Cheng D, Sapolsky RM, Steinberg GK. Bcl-2 overexpression protects against neuron loss within the ischemic margin following experimental stroke and inhibits cytochrome c translocation and caspase-3 activity. *J Neurochem*. 2003;85(4):1026-1036.

[158] Jiang, C. T., Wu, W. F., Deng, Y. H., & Ge, J. W. (2020). Modulators of microglia activation and polarization in ischemic stroke. *Molecular medicine reports*, 21(5), 2006-2018.

[159] Zhou T, Huang Z, Sun X, Zhu X, Zhou L, Li M, Cheng B, Liu X and He C: Microglia polarization with M1/M2 phenotype changes in rd1 mouse model of retinal degeneration. *Front Neuroanat*. 11:772017.

[160] Liu LQ, Liu XR, Zhao JY, Yan F, Wang RL, Wen SH, Wang L, Luo YM and Ji XM: Brain-selective mild hypothermia promotes long-term white matter integrity after ischemic stroke in mice. *CNS Neurosci Ther*. 24:1275–1285. 2018.

- [161] Jiang M, Liu X, Zhang D, Wang Y, Hu X, Xu F, Jin M, Cao F and Xu L: Celastrol treatment protects against acute ischemic stroke-induced brain injury by promoting an IL-33/ST2 axis-mediated microglia/macrophage M2 polarization. *J Neuroinflammation*. 15:782018.
- [162] Jin Q, Cheng J, Liu Y, Wu J, Wang X, Wei S, Zhou X, Qin Z, Jia J and Zhen X: Improvement of functional recovery by chronic metformin treatment is associated with enhanced alternative activation of microglia/macrophages and increased angiogenesis and neurogenesis following experimental stroke. *Brain Behav Immun*. 40:131–142. 2014.
- [163] Li R, Liu WC, Yin J, Chen YC, Guo SQ, Fan HY, Li XF, Zhang X, He XY and Duan CZ: TSG-6 attenuates inflammation-induced brain injury via modulation of microglial polarization in SAH rats through the SOCS3/STAT3 pathway. *J Neuroinflammation*. 15:2312018.
- [164] Liu R, Diao J, He S, Li B, Fei Y, Li Y and Fang W: XQ-1H protects against ischemic stroke by regulating microglia polarization through PPARgamma pathway in mice. *Int Immunopharmacol*. 57:72–81. 2018.
- [165] Perego C, Fumagalli S, Zanier ER, Carlino E, Panini N, Erba E and De Simoni MG: Macrophages are essential for maintaining a M2 protective response early after ischemic brain injury. *Neurobiol Dis*. 96:284–293. 2016
- [166] Zheng Y, He RY, Wang P, Shi YJ, Zhao L and Liang J: Exosomes from LPS-stimulated macrophages induce neuroprotection and functional improvement after ischemic stroke by modulating microglial polarization. *Biomater Sci*. 7:2037–2049. 2019.
- [167] Zhang Q, Bian G, Chen P, Liu L, Yu C, Liu F, Xue Q, Chung SK, Song B, Ju G and Wang J: Aldose reductase regulates microglia/macrophages polarization through the cAMP response element-binding protein after spinal cord injury in mice. *Mol Neurobiol*. 53:662–676. 2016
- [168] Li L, Yihao T, Zhou F, Yin N, Qiang T, Haowen Z, Qianwei C, Jun T, Yuan Z, Gang Z, et al: Inflammatory regulation by driving microglial M2 polarization: Neuroprotective effects of cannabinoid receptor-2 activation in intracerebral hemorrhage. *Front Immunol*. 8:1122017.
- [169] Liu X, Wen S, Yan F, Liu K, Liu L, Wang L, Zhao S and Ji X: Salidroside provides neuroprotection by modulating microglial polarization after cerebral ischemia. *J Neuroinflammation*. 15:392018.
- [170] Yang S, Wang H, Yang Y, Wang R, Wang Y, Wu C and Du G: Baicalein administered in the subacute phase ameliorates ischemia-reperfusion-induced brain injury by reducing neuroinflammation and neuronal damage. *Biomed Pharmacother*. 117:1091022019.