

T.C
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**İSKEMİK İNME İLE ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ
(eNOS) GEN G894T, İNTRON 4 VNTR VE T786C
POLİMORFİZMLERİNİN İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. SÜLEYMAN ÖMER ANLIAÇIK

UZMANLIK TEZİ

KONYA - 2017

T.C
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**İSKEMİK İNME İLE ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ
(eNOS) GEN G894T, İNTRON 4 VNTR VE T786C
POLİMORFİZMLERİNİN İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. SÜLEYMAN ÖMER ANLIAÇIK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: DOÇ. DR. OSMAN SERHAT TOKGÖZ

KONYA - 2017



ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince ve bu tezin hazırlanmasında değerli katkılarından dolayı tez danışman hocam Sn. Doç. Dr. Osman Serhat Tokgöz'e teşekkür ederim. Değerli bilgilerinden yararlandığım saygıdeğer hocalarım Sn. Prof. Dr. Orhan Demir'e, Sn. Prof. Dr. M. Betigül Yürüten Çorbacıoğlu'na, Sn. Prof. Dr. Bülent Oğuz Genç'e, Sn. Prof. Dr. Zehra Akpınar'a, Sn. Prof. Dr. Figen Güney'e, Sn. Prof. Dr. Emine Genç'e, Sn. Yard. Doç. Dr. Hasan Hüseyin Kozak'a ve Sn. Yard. Doç. Dr. Ali Ulvi Uca'ya içtenlikle teşekkür ederim.

Ayrıca bu günlere gelmemde en büyük paya sahip olan, destek, ilgi ve sevgilerini benden esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Dr. Süleyman Ömer ANLIAÇIK

Konya, 2017

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ VE AMAÇ	
2. GENEL	
BİLGİLER	
2.1. SEREBROVASKÜLER HASTALIKLAR.....	
2.1.1. Tanım.....	
2.1.2. Epidemiyoloji.....	
2.1.3. İnsidans.....	
2.1.4. Prevelans.....	
2.1.5. Serebrovasküler Anatomi	
2.1.6 İnme patofizyolojisi	
2.1.6.a İskemik İnme de Hasar Mekanizmaları	
2.1.7. İnmede Sınıflandırma	
2.1.7.A TOAST Sınıflaması (Klinik ve Etiyolojik Sınıflama)	
2.1.7.A.1. Büyük Arter Ateroskleroza	
2.1.7.A.2. Kardiyembolizm.....	
2.1.7.A.3. Küçük Damar Oklüzyonu (Laküner İnfarktlar).....	
2.1.7.A.4. Diğer Nedenlere Bağlı İnme.....	
2.1.7.A.5. Sebebi Belirlenemeyen İnme.....	
2.1.7.B Causative Classification System For Ischemic Stroke (CCS)	
sınıflandırması	
2.1.7.C Klinik Özelliklerine Göre Sınıflama (Bamford,1991).....	
2.1.7.C.1. Total anterior sirkülasyon infarktları (TACI)	
2.1.7.C.2. Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları (PACI).....	
2.1.7.C.3. Posterior sirkülasyon infarktları (POCI).....	
2.1.7.C.4. Laküner infarktlar (LACI).....	
2.1.8. İskemik inme risk Faktörleri	
2.1.8.A İnme ile ilişkisi veya değiştirilmesinin etkisi kesin olmayan risk	
faktörleri	
2.1.8.B İnme ile ilişkisi kesin ve değiştirilebilen risk faktörleri.....	
2.1.8.C İskemik inmede değiştirilemeyen risk faktörleri	
2.2. ENDOTEL	
2.3. NİTRİK OKSİT	

2.3.1. Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz	
3. MATERYAL VE METOD.....	
4. BULGULAR.....	
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	
6. KAYNAKLAR.....	



KISALTMALAR

AİCA	Anterior inferior serebellar arter
ASA:	Anterior Serebral Arter
ATP:	Adenozin trifosfat
BA:	Baziller Arter
BT:	Bilgisayarlı tomografi
CADASIL:	Cerebral Autosomal-Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy
CCS:	Causative Classification System For Ischemic Stroke sınıflandırması
cGMP:	Siklik guanozin monofosfat
CHADS2 :	C: Konjestif kalp yetmezliği, H: Hipertansiyon, A: Yaş≥75, D: Diyabetes Mellitus, S2: İnme/ Geçici İskemik Atak Öyküsü
DSÖ:	Dünya sağlık örgütü
EDFR:	Endotel kaynaklı gevşetici faktör
eNOS:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
GİA:	Geçici iskemik atak
HT:	Hipertansiyon
İCA:	İnternal karotid arter
İİ:	İskemik inme
KBB:	Kan beyin bariyeri
LACI:	Laküner infarktlar
MRG:	Manyetik rezonans görüntüleme
NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik oksit sentaz
NOS1:	Nöronal nitrik oksit sentaz
NOS2:	İndüklenebilen/uyarılabilen nitrik oksit sentaz
OSA:	Orta Serebral Arter
PACI:	Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları
PCR:	Polimeraze Chain Reaction
PGI2:	Prostosiklin
POCI:	Posterior sirkülasyon infarktları
PSA:	Posterior Serebral Arter
SVH:	Serebrovasküler hastalık

TACI: Total anterior sirkülasyon infarktları
TOAST: Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment
VA: Vertebral Arter



TABLULAR

Tablo 2.1.1. TOAST Sınıflaması.....	
Tablo 2.1.2. TOAST Sınıflamasına Göre Kardiyembolik Risk Faktörleri.....	
Tablo 2.1.3. İskemik İnme Neden Olan Diğer Nedenler.....	
Tablo 2.1.4. Causative Classification System For Ischemic Stroke (CCS) Sınıflandırması....	
Tablo 2.1.5. Klinik Özelliklerine Göre Sınıflama (Bamford,1991).....	
Tablo 2.1.6: İskemik İnme Risk Faktörleri.....	
Tablo 2.2.1 NO Salınımına Etki Eden Faktörler.....	
Tablo 3.1.1. Çalışma Dışı Tutulma Kriterleri.....	
Tablo 4.2. Vaka ve Kontrol Gruplarında eNOS G894T (rs1799983) Genotip Dağılımları.....	
Tablo 4.3. Vaka ve Kontrol Gruplarında eNOS G894T (rs1799983) Allel Frekansları.....	
Tablo 4.4. Vaka ve Kontrol Gruplarında eNOS intron 4 VNTR Genotip Dağılımları.....	
Tablo 4.5. Vaka ve Kontrol Gruplarında eNOS intron 4 (27-bpTR) VNTR Allel Frekanslar...	
Tablo 4.6. Vaka ve Kontrol Gruplarında eNOS T786C Genotip Dağılımları.....	
Tablo 4.7. Vaka ve kontrol Gruplarında eNOS T786C Allel Frekansları.....	
Tablo 5.1. eNOS T786C Polimorfizmi ile İlgili Yapılmış Çalışmaların İstatistiksel Sonuçları	
Tablo 5.2. eNOS G894T Polimorfizmi ile İlgili Yapılmış Çalışmaların İstatistiksel Sonuçları	
Tablo 5.3. eNOS intron 4 VNTR Polimorfizmi ile İlgili Yapılmış Çalışmaların İstatistiksel Sonuçları	

ŞEKİLLER

Şekil 2.2.1 : Nitrik Oksit Sentezi.....

Şekil 2.2.2: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz Aktivasyonu



ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

MERAM TIP FAKÜLTESİ

İskemik İnme ile Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) Gen G894T, İntron 4 VNTR ve T786C Polimorfizmlerinin İlişkisinin Araştırılması

Dr. Süleyman Ömer Anlaçık

Nöroloji Anabilim Dalı

UZMANLIK TEZİ / KONYA – 2017

Amaç: İskemik inme tüm dünyada önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Son yıllarda birçok çalışma inme riski açısından genetik faktörlerin önemli rolü olabileceğini göstermektedir. İskemik inmeye yatkınlık oluşturduğu düşünülen birçok genetik polimorfizm olduğu ileri sürülmüştür. Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz gen polimorfizminin de inme riski ile ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Farklı popülasyonlarda farklı polimorfizmler görülebilmektedir. Bu çalışmada İç Anadolu popülasyonunda eNOS gen polimorfizmlerinin (G894T (rs1799983), intron 4 (27-bp TR) VNTR ve T786C (rs2070744)) iskemik inme ile ilişkisi araştırılmıştır.

Metod: Bu vaka kontrol çalışmasına 112 hasta (62 erkek, 50 kadın) ve 160 kontrol (65 erkek, 95 kadın) dahil edildi. İskemik inme geçirmiş hastalar TOAST sınıflamasına göre sınıflandırıldı. “Sebebi bilinmeyen inme” olarak sınıflandırılan hastalar çalışmaya dahil edildi. Gruplardan 1 adet EDTA’lı tüpe kan örneği alındı. Genotipleme için polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanıldı. Gruplar arası oranların karşılaştırılmasında Ki-kare ve Fisher’in Exact testi kullanıldı. Bağımsız değişkenlerin gruplara etkilerinin kestirimi için Binary Logistic Regression analizi uygulandı. Regression analizi için wild tip referans alındı.

Bulgular: eNOS G894T (rs1799983) polimorfizmi için hem genotip dağılımları hemde allel frekansları açısından vaka ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). İntron 4 (27-bpTR) VNTR polimorfizmi genotip dağılımı açısından, hasta grubunda 4b/a ve 4a/a genotipleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı

derecede yüksek orana sahipti (sırasıyla $p:0.018$, $p<0.0001$). Allel dağılımı açısından da her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p:0.001$). T786C (rs2070744) polimorfizmi için ise CC genotipi açısından hasta grubunun kontrole göre anlamlı derecede yüksek CC oranına sahip olduğu görüldü ($p:0.037$). Her iki grup arasında allel frekansları açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Sonuç: Bu bulgular ışığında eNOS G894T (rs1799983) polimorfizminin iskemik inme riski ile ilişkili olmadığını, intron 4 (27-bpTR) VNTR polimorfizminde daha kuvvetli olmak üzere T786C (rs2070744) polimorfizmlerinin inme için risk faktörü olabileceğini göstermektedir. Bu çalışma ilgili polimorfizmlerin inmede kesinleşmiş risk faktörleri arasına girebilmesi için daha büyük kapsamlı popülasyon çalışmalarına ışık tutacaktır.

Anahtar kelimeler:

ABSTRACT

T.C. Necmettin Erbakan University Meram Faculty of Medicine

Investigation of Relationship Between Ischemic Stroke and Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Gene G894T, Intron 4 VNTR And T786C Polymorphisms

Dr. SüleymanÖmerAnlıaçık
Neurology Department

Medical SPECIALTY THESIS / KONYA – 2017

Background: Ischemic stroke is one of the leading causes of death worldwide. In recent years a lot of studies has shown that the important role of genetic factors in terms of stroke risk. Several genetic polymorphisms have been proposed to have a predisposition to ischemic stroke. There are studies showing that endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism might be related to the risk of stroke. It is possible to observe different polymorphism in different populations. In this study, we investigated the relationship between ischemic stroke and eNOS gene polymorphisms (G894T (rs1799983), intron 4 (27-bp TR) VNTR and 786C (rs2070744)) in Anatolia population.

Methods: 122 patients (62 male, 50 female) and 160 control (65 male, 95 female) were included in this case-control study. The patients who had an ischemic stroke were classified according to TOAST classification. Patients who are classified as " Stroke of unknown cause" were included into the study. One blood samples in EDTA tubes were collected from all groups. Polymerase Chain reaction method was used for genotyping. Chi-square and Fisher's Exact tests have been used to compare rate between groups. Binary Logistic Regression analysis was performed to estimate the impact of independent variables on groups. The wild type has been taken as a reference for regression analysis.

Results: No statistical significant difference was detected with respect to both genotypic distribution and allele frequencies for eNOS G894T (rs1799983) polymorphism between case and control group. In terms of Intron 4 (27-bp is) VNTR polymorphism genotype, the patient

group has statistically significantly higher 4b/a and 4 a/a genotype compared to control groups (p:0.018, p<0.0001, respectively). In addition, a statistically significant difference was detected in both groups regarding the distribution of allele (p=0.001). For T786C (rs2070744), a higher statistical significance of CC rate has been observed in the patient group compared to control group in CC genotype. No significant difference was detected in allele frequencies in between both groups (p> 0.05).

Conclusions: Given these findings, these results show that eNOS G894T (rs1799983) polymorphism is not associated with risk of ischemic stroke and intron 4 (27-bpTR) VNTR polymorphism and more likely T786C (rs2070744) polymorphisms might be a risk factor for stroke. This study is providing an insight for larger population studies for inclusion of related polymorphisms into the definite risk factors for stroke.

Keywords:



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgünün tanımına göre inme; vasküler nedenler dışında bir neden olmaksızın, fokal serebral fonksiyon kaybına bağlı bulguların hızla yerleşmesi ve 24 saatten uzun sürmesi veya ölümlle sonuçlanması ile karakterize klinik bir sendromdur (Sudlow ve ark 1996).

Akut inme tedavisindeki gelişmelere rağmen, inmeye bağlı ölümler birçok ülkede üçüncü sıradaki yerini korumaktadır (Çoban 2011). Bu durumda inme risk faktörlerinin epidemiyolojik çalışmalarla belirlenmesi ve önlenmesi önem kazanmaktadır. İskemik inmede (İİ) değiştirilemeyen risk faktörleri yaş, ırk, cinsiyet, bazı genetik özellikler olarak sıralanırken, kazanılmış risk faktörleri arasında sigara kullanımı, hipertansiyon, diabet, obezite, kalp hastalıkları, yüksek kan kolesterolü ve çevresel nedenler ön sıralarda yer almaktadır (Şahin ve ark 2015). İskemik inmede etiyolojide yaklaşık %70'ini oluşturan risk faktörlerinin tanımlandığı, geri kalan tanımlanamamış nedenler arasında genetik nedenlerin önemli bir rolünün olduğu vurgulanmaktadır (Demir ve ark 2014).

Son yıllarda genetik tekniklerdeki gelişmeler nedeniyle, anjiyotensin konverting enzim (ACE), thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) ve nitrik oksit sentaz (NOS) geni gibi bir çok geni etkileyen polimorfizmlerin iskemik inme insidansı ile ilişkili olduğu iddia edilmiştir (Hong-miao ve ark 2009, Munshi ve ark 2010, Rajeshwar ve ark 2010, Guo 2010, Tokgöz ve ark 2012, Demir ve ark 2014, Kang ve ark 2014)

Nitrik oksit hücre içi kalsiyum düzeylerini azaltarak, platelet agregasyonunu inhibe ederek, lökosit adezyonunu azaltarak ve vasküler düz kas hücresi proliferasyonunu inhibe ederek endotelyal mikroçevreyi düzenleyen bir enzimdir (Munshi ve ark 2010, Yao ve ark 2013). NO oluşum basamaklarında önemli bir rolü olan endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) geninin polimorfizmleri (G894T, VNTR, T786C gibi) ile iskemik inme riski arasında bazı toplumlarda anlamlı bir ilişki tespit edilmesine rağmen, risk faktörü olup olmayacağı konusunda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Farklı polimorfizmlere sahip olan farklı populasyon çalışmaları, o populasyonların inme riski haritasının çıkarılmasına yardımcı olacaktır. Bu nedenle çalışmamızda eNOS' ait G894T (rs1799983), intron 4 (27-bp TR) VNTR ve T786C (rs2070744) polimorfizmlerinin Anadolu populasyonundaki inme geçiren hastalar ile sağlıklı bireyler arasında anlamlı bir farkının olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SEREBROVASKÜLER HASTALIKLAR

2.1.1. Tanım

Serebrovasküler hastalıklar (SVH) tanımı beyin damarlarının patolojik olarak etkilenmesi ile ortaya çıkan iskemi veya kanama nedeniyle beynin bir bölgesinin veya tamamının geçici veya kalıcı olarak, etkilendiği hastalıkları kapsar. Dünya Sağlık Örgününün tanımına göre inme; vasküler nedenler dışında bir neden olmaksızın, fokal serebral fonksiyon kaybına bağlı bulguların hızla yerleşmesi ve 24 saatten uzun sürmesi veya ölümlerle sonuçlanması ile karakterize klinik bir sendromdur (Sudlow ve ark 1996, Şahin ve ark 2015).

2.1.2. Epidemiyoloji

İnme tüm dünyada kalp hastalıkları ve kanserden sonra ölüm nedenleri arasında üçüncü sıradadır. Sakatlığa yol açan hastalıklar arasında ise birinci sırada yer alır (Gören ve ark 1992, İlhan ve ark 2002, Çoban 2011).

Türkiye’de serebrovasküler hastalık epidemiyolojisi ile ilgili en güncel ve en kapsamlı verilere, Sağlık Bakanlığı ve Hıfzıssıhha Enstitüsünün 2004 yılında tamamladığı ‘‘Türkiye Hastalık Yüğü Çalışması’’ ile ulaşılabilir. Türkiye’de serebrovasküler hastalıklardan ölümler ülke genelinde erkeklerde %15.5, kadınlarda 15.7 olarak bulunmuştur. Kırsal alanlarda erkeklerde %14.5, kadınlarda %16.2 ölüm nedenidir. (Öztürk 2009).

2.1.3. İnsidans

İnme insidansı yılda; 55-64 yaşları arasında 1.7-3.6/1000, 65-74 yaşları arasında 4.9-8.9/1000, 75 yaş üzeri 13.5-17.9/1000 olarak bildirilmiştir (Bonitta R 1992). İskemik inme, tüm etnik gruplarda da farklılık göstermektedir. ABD’de inme riski siyahi erkeklerde, beyazlara göre 1.4 kat, siyahi kadınlarda, beyazlara göre 2.7 kat daha fazla tespit edilmiştir. Bunun yanında inme nedenli ölümlerin zencilerde beyazlara göre hem kadınlarda hem de erkeklerde 2.5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Kumral 2004).

2.1.4. Prevalans

İnme prevalansı herhangi bir toplumda inme geçirmiş olan insanların o topluma oranı olarak tanımlanır ve %0.6 civarındadır. İnme insidansına ve inme sonrası yaşayabilen hastalara bağlı olarak bu oran yaşla birlikte artmaktadır. Bu konuda ülkemizde yapılmış yeterli ve sağlıklı bir çalışma yoktur. İnme prevalansı batı ülkelerinde %0.8, Japonyada %0.20'dir (O'Brien ve ark 2003).

Yaşın ve cinsiyetin göz önüne alındığı çalışmalarda prevalans 65 yaş ve üzerinde 46.1-73.3/1000, erkeklerde inme prevalansı 58.8-92.6/1000, kadınlarda ise bu oran 32.2-61.2/1000 olarak bildirilmiştir (Balkan, 2009).

Tüm popülasyonda yapılan inme çalışmalarında iskemik infarktlar (İİ) %80, intraserebral kanamalar (İSK) %15 ve subaraknoid kanamalar (SAK) ise %5 oranında görülür (Utku ve ark 2005).

İİ etiyojisinde aterosklerozun(büyük damar hastalığı) sıklığı % 27-43, kardiyak kökenli inmelerin sıklığı %22-33, laküner inmelerin sıklığı ise %13-20 olarak bildirilmiştir (Bougusslavsky ve ark 1998).

2.1.5. Serebrovasküler Anatomi

Beyin metabolik olarak vücuttaki en aktif organlardan biri olduğundan bu aktiviteyi devam ettirebilmek için zengin bir kan akımına ihtiyacı vardır. Beyin arteriel kan akımını arkus aortadan köken alan 4 arteriyel trunkus sağlar. Bunlar internal karotid arterler ve vertebral arterlerdir. Bu arterler, beynin ön kısmında 'karotis sistemi'ni (ön sirkulasyon) arka kısmında ise 'vertebrobaziller sistem'i (arka sirkulasyon) oluşturur.

Tüm İİ'lerin yaklaşık %25'i posterior dolaşımı etkileyen patolojiler nedeniyle gelişmektedir. Bu lezyonların %59' u beyin sapı, %47'si serebellum infarktlarıdır. Miks tip (supra ve infratentoryal) multipl vertebrobaziller infarktlar ise %16 civarındadır (Bozkurt ve ark 2006).

İnternal karotid arterler solda arkus aortadan çıkan ana karotid arterden, sağda ise brakiosefalik trunkusdan çıkan ana karotid arterden köken alır. Her iki taraf arkus aortadan çıkan subklavian arterler ise vertebral arterleri oluşturur. Vertebral arterler foramen magnumdan geçtikten sonra birleşip baziller arteri oluşturur. Anterior serebral arterler anterior, internal karotid arter (ICA) ve posterior serebral arter ise posterior kommunikan

arterlerle birleşerek beyin tabanında ‘Willis poligonu’nu oluşturur. (Afifi ve ark 1998, Afifi ve ark 2000,).

Beynin ana arterleri internal karotid arterlerin ikiye ayrılması ile oluşan anterior ve orta serebral arterler ve baziller arterin ikiye ayrılması ile oluşan posterior serebral arterlerdir.

2.1.5.a. Internal Karotid Arter (ICA)

C4 düzeyinde ana karotid arterden çıkar ve karotid kanaldan geçerek kafa tabanında orta kranial fossaya girer. Kıvrımlar yapar ve karotis sifonunu oluşturur. Sonra kavernöz sinüs içinden geçer ve durayı delerek subaraknoid bölgeye ulaşır. ICA optik kiazmanın lateralinden beynin yüzeyine çıkar. Burada anterior ve orta serebral arter olmak üzere iki uç dalına ayrılır. Böylelikle internal karotid arter seyrini başlıca 4 segmentte tamamlamış olur; Servikal segment ana karotid arterden karotid kanala girişine kadar uzanır, Petrozal segment temporal kemiğin petroz kısmı içinde, Kavernöz segment ise kavernöz sinüs içinde uzanır. Supraklinoid (Serebral) segment kavernöz sinüs çıkışı ile optik kiazmanın lateralinde, anterior serebral arter ve orta serebral arter dallarına ayrıldığı bölgeye kadar olan segmenttir (Balkan 2013).

2.1.5.b. Anterior Serebral Arter (ASA)

Bu arterin kortikal dalları serebral hemisferlerin medial yüzünde frontal polusdan parieto oksipital fissürün 2-3 cm önüne kadar olan kısmının, frontobazal korteksin, ayrıca lateral yüzde de küçük bir kısmın arteriel dolaşımını sağlar. Perforan dalları ise korpus kallozumun ön bölgesinin büyük bir kısmının (4/5), anterior diensefalunun ve komşu derin yapıların dolaşımını sağlar. ASA willis poligonuna katılarak arka dolaşım sistemi ile bağlantı sağlar. Her iki ASA ise interhemisferik bölgede anterior kommunikan arter ile bağlantı kurar. Böylelikle her iki karotis sistemi arasında ilişki sağlanmış olur.

2.1.5.c. Orta Serebral Arter (OSA)

Orta serebral arter İKA'nın iki uç dalından en geniş olanıdır ve çapı ortalama 3,9 mm civarındadır. İlk segmenti silviyan fissürün medialinde, optik kiazmanın ise lateralinde bulunur. OSA silviyan fissürde dallarına ayrılır. İlk dalı M1 olarak isimlendirilir ve İCA çıkışından bifurkasyona kadar horizontal olarak uzar. M1 segmentinin dalları frontal, temporal ve parietal loblara dağılır. Kortikal bölgede bu dallar serebral hemisferlerin bazal ve lateral yüzeylerinin büyük bölümünü besler. M1 segmentinden temporal ve derin perforan (lentikulostriat) dallar olmak üzere 2 grup dal çıkar. OSA anatomik olarak dört bölüme ayrılmıştır.

M1 segmenti: OSA'nın ilk dalı olup ve Silviyan fissürü sular.

M2 segmenti: İnsulayı ve posterior kortikal bölgeleri besler.

M3 segmenti: İnsuladan başlayarak sylvian fissürde sonlanır. Frontal ve parietal lobların yan yüzeyini besler.

M4 segmenti: Serebral hemisferlerin kortikal yüzeylerine gider (Ökten ve Güzel 2012, Balkan 2013).

2.1.5.d. Vertebral Arter(VA)

Vertebral arterler a.subclavia'nın dalı olup arka sistem dolaşımını sağlar. Subklavian arterler sağda brakiosefalik trunkustan, solda ise direkt olarak arcus aorta'dan çıkar. Vertebral arter subklavian arterden ayrılıp C5 veya C6 vertebraların transvers foramenleri içinden girerek C1' e kadar yükselir. Vertebra foramenlerinin dışında kalan parça "V1", foramenler içindeki parça ise "V2 "segmenti olarak isimlendirilir. Arterin C1 transvers forameni çıkışından foramen magnum düzeyinde durayı delerek subaraknoid aralığa girene kadar olan kısmı ise "V3" segmenti olarak isimlendirilmiştir. Subaraknoid aralığa girdikten sonraki kısmı ise V4 segmenti olup bulbus ön yüzünde karşı VA ile birlikte baziler arteri (BA) oluşturur. Vertebral arterin V3 segmentinden a.cerebellaris posterior inferior (PICA) dal verir ve serebellumun alt bölümünü besler. Bulbus laterali ise PICA veya V4 segmentinden çıkan dallarla beslenir (Ökten ve Güzel 2012, Balkan 2013).

2.1.5.e. Baziller Arter(BA)

Ponsun ön yüzünde iki dala ayrılarak posterior serebral arterleri oluşturur. Baziler arterin anterior inferior serebellar arter (AICA), internal oditer arter (labirentin arter), pontin arterler, superior serebellar arter (SCA) ve posterior serebral arterler olmak üzere sirkumferensiyal ve perforan dalları vardır. AICA bulbus üst tarafı ile pons tabanına dallar verir ve ön alt serebellumun ile brachium pontisi besler. SCA baziler arterin üst tarafında iki dala ayrılmadan baziler arterden ayrılır. SCA üst serebellar pedinkül, mezensefalonun dorsolateral bölgesi ile serebellar hemisferlerin üst yarısını sular (Ökten ve Güzel 2012, Balkan 2013).

2.1.5.f. Posterior Serebral Arter (PSA)

Posterior serebellar arterin de perforan ve kortikal dalları vardır. Her iki vertebral arter, baziler arter ve dallarından oluşan sisteme vertebrobaziler sistem denir (Ökten ve Güzel 2012, Balkan 2013).

PCA çıkışı ile ACoP arasındaki parçası "P1" segmenti olarak isimlendirilmiştir. PCA perimezensefalik sisterna içinde arkaya yönelerek tentoryumun medyal kenarından

supratentoryel bölgeye geçer. Burada anterior ve posterior temporal, kalkarin ve pariyeto oksipital dallarını verir. PCA ve ACoP 'in perforan dalları mezensefalon ve talamusun sular.

PCA proksimalinden dal veren talamoperforan arterler, talamusun posteromedyal ile rostral mezensefalonu besler. Talamogenikulat arterler ise PCA distalinden ayrılıp talamusun ventralinin kanlanmasını sağlar. Posterior koroidal arterin dalları ise pulvinar, posterior talamus ile genikulat cisimlerin beslenmesini sağlar. ACoP'in dalı polar arterler ise talamusun anteromedyal ve anterolateral bölümünü sular. %30 olguda polar arterler bulunmayabilir. Bu olgularda talamoperforan arterler anterior talamusun kanlanmasını sağlar (Ökten ve Güzel 2012, Balkan 2013).

2.1.6 İnme Patofizyolojisi

İnme, çok sayıda mekanizmanın rol oynadığı, karmaşık patofizyolojiye sahip bir hastalıktır. Beyin yüksek metabolizma hızı ve hızlı glutamat döngüsü nedeniyle iskemik hasara çok duyarlıdır. Bölgesel kan akımı düşüklüğünün derecesi ve süresi iskemik hasarın şiddeti ile korelasyon gösterir. Bu hasara kan akımının tekrar sağlanması ile oluşan reperfüzyon hasarının da eklenmesi, kan beyin bariyeri (KBB) bozukluğu gibi birçok mekanizmanın tetiklenmesine yol açar (Zivin 1998).

Bu mekanizmalar protein sentezinde bozulma, sitotoksik ödem, mitokondriyal hasar, DNA ve endoplazmik retikulum hasarı, eksitotoksisite, oksidatif/nitratif stress, nekroz ve apoptoz yollarının aktivasyonu, mikrovasküler zedelenme, vazojenik ödem, inflamatuvar reaksiyon gibi durumlardır. Bu yolların ortak sonucu olarak beyindeki nöronal, glial ve vasküler elemanlar irreversibl hasara uğrar (Yemişçi ve ark 2013).

Beyin kan akımının azalması/kesilmesi ile serebral iskemi oluşur. 100 gr beyin dokusu ortalama 50-55 ml/dk kan almaktadır. Bu kanlanma 30 ml'ye indiğinde bile, otoregülasyon mekanizmalarının yardımıyla iskemik semptom oluşmaz. Dakikada kan akımının 20-30 ml'ye düşmesi geçici iskemik atağa (GİA) sebep olurken, 20 ml nin altına düşmesi ise iskemik infarkta sebebiyet verir (Warlov CP ve ark 2001). Serebral kan akımının beş dakikadan daha uzun süre durması geri dönüşümsüz hasara yol açar (Çoban ve ark 2011).

Otoregülasyon mekanizmalarıyla serebrovasküler damarlarda sabit perfüzyon sağlanır. Serebral perfüzyon basıncı düştüğünde arteriollerde vazodilatasyon olur ve vasküler rezistans düşer. İskemik bir hadise sonrasında serebral otoregülasyonun bozulmasının endotel hasarı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Normalde endotel antitrombotik ve anti inflamatuvar bir özelliğe sahiptir. Endotel hemostazı ve inflamasyonu kontrol eder. İskemi sonucu

endotelial hasar ile endotelden vazodilatator nitrik oksit (NO) ve prostosiklin (PGI₂) salinimini azalirken, vazokonstriktor endotelin-1 salinimini artar. Endotel hasari ile pihtilasma mekanizmalari aktive olur (Yemisçi ve ark 2009).

2.1.6.a. İskemik İnmede Hasar Mekanizmaları:

Serebral iskemi beyinin bir bölümünde, kan akımının herhangi bir nedenle kesilmesi sonrası oksijen ve glukoz yetersizliği ile sonuçlanan aşırı metabolik stres olarak tanımlanmaktadır (Cimarosti ve ark 2008). Serebral iskemi primer ve sekonder beyin iskemisi olarak iki tiptir. Fokal serebral iskemi (embolik veya fokal inme) veya yaygın hipoksi/iskemi (kardiyak arrest resüsitasyonu, karbonmonoksit zehirlenmesi yada masif hemoraji) nedeniyle primer beyin iskemisi gelişebilmektedir. Sekonder beyin iskemisi ise subaraknoid hemorajiye bağlı vasospazm, enfeksiyon, tümör veya travma ile oluşan beyin hasarı neticesinde oluşabilmektedir. Aşağıda serebral iskemiden dolayı oluşan hasara neden olan mekanizmalar maddeler halinde açıklanmıştır.

Hüresel Enerji Yetmezliği: Dokuda oksijen ve glukoz azalır, ATP yapımı bozulur. Enerji bağımlı iyon pompaları çalışmaz bunun sonucunda nöron ve gliyalar depolarize olur. Anaerobik glikoliz tetiklenir ve laktik asidoz gelişir.

Eksitotoksisite: Akut dönemde non-NMDA reseptörleri eksitator aminoasitler ile aşırı aktive olur, dendritlere fazla miktarda Na⁺, Cl⁻ ve su girer. NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılması ile NMDA reseptörleri çevresindeki kalsiyum artar ve fosfolipaz A₂, kalpain, siklooksijenaz ve nitrik oksit sentaz gibi enzimler aktive olur.

Kalsiyum Sitotoksisitesi: Serebral iskemi nedeniyle nöronlarda hücre içi serbest Ca⁺⁺ hızla artar. ATP azlığı nedeniyle pompalar ve hücre içi tamponlama mekanizmaları çalışmaz ve Ca⁺⁺ hücre içinde birikir. Lipaz, proteaz ve endonükleazlar gibi yıkıcı enzimler aktive olur. Mitokondride Ca⁺⁺ yükü artar enerji eksikliğini derinleşir, serbest radikal oluşumu artar.

Serbest Radikaller: Reaktif oksijen radikallerinin aşırı oluşumu hücre için 'oksidatif stres' oluşturur. Proteinler, lipidler, nükleik asitler ve karbonhidratlara direk veya indirek zarar verir. Kan beyin bariyeriyi (KBB)'yi bozar, vazojenik ödeme neden olur. Kapiller kan akımını bozar, lökositlerin iskemik dokuya geçmesini tetikler. NO, süperoksit ile hızla reaksiyona girer ve daha güçlü bir oksidan olan peroksinitrit oluşur. Peroksinitrit lipid peroksidasyonu, tirozin nitrasyonu, sülfidril oksidasyonu, nitrozilasyonu ve DNA hasarlanması gibi mekanizmalarla hücre hasarına neden olur. Mitokondride kalsiyum birikimi

ve oksidatif stres mitokondri "permeabilite transition pore"un açılmasına neden olur, mitokondri şişer ve çatlar.

Hücre Ölüm Yolları: Ağır zedelenen nöronlar şişme, ozmotik parçalanma ve nekroz ile hızla ölür, daha az hasarlanmış olanlar ise apoptotik mekanizmalarla daha yavaş ölür. Apoptotik ve nekrotik ölüm yolları birbirinden bağımsız değildir. Mitokondri zedelenmenin şiddetine göre apoptoz ve nekroz arasında karar verilmesinde rol oynar.

Ödem: Hemen gelişen sitotoksik ödem ve 4-6 saatten sonra başlayıp 24-72 saatte maksimum seviyeye erişen vazojenik ödem mutad olarak görülen iki ödem tipidir. Sitotoksik ödemde nöronlar şişer, beyin hacminde bir değişiklik olmaz, difüzyon ağırlıklı MRG'de difüzyon kısıtlanması olarak görülür, BT ise normaldir. Vazojenik ödemde beyinde su ve doku hacmi artar. T2 ağırlıklı MR'da artmış sinyal intensitesine ve BT'de hipodansiteye yol açar.

Mikrovasküler Hasar: Endotel geçirgenliği artar, bazal lamina ve hücreler arası matriks yıkılır. Mikrodolaşım, KBB'nin seçici geçirgenliği ve serebral otoregülasyon bozulur. Bazal laminanın yıkılmasına, KBB geçirgenliğinin bozulmasının neden olan yollar; endojen plazminojen aktivatörleri ile plazminojenin aktive olması, MMP (matriks metalloproteinaz) salınımı ve polimorfonükleer lökositlerden özel granüler enzimlerin salınmasıdır.

Reperfüzyon Hasarı: Eksitotoksisite reperfüzyon ile tekrar ortaya çıkar, aşırı serbest radikal oluşur, lökotrien ve prostoglandin seviyeleri artar, endotel adezyon moleküllerinin ifadesinin artması ile lökositler damarlara yapışır. Reperfüzyon sırasında mikrodamarlarda oluşan süperoksit, nitrik oksit ve peroksinitrit endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı proteinlerinin fonksiyonunu bozar ve MMP'leri aktive ederek KBB hasarına neden olur. Mikrodolaşım tam sağlanamayabilir.

İnflamasyon: İlk olarak hücreler mikroglia ve astrositler aktive olur. İskemiden 4-6 saat sonra dolaşımdaki lökositler, özellikle nötrofiller damar duvarına yapışır. Lökositlerin beyin parankimine infiltrasyonunda adezyon molekülleri rol oynar. Tümör nekroz faktör- α , interlokin-1 gibi sitokinler nötrofillerin birikmesine, migrasyonuna, KBB zedelenmesine, mikrodamarların tekrar yapılanmasına neden olur (Yemişçi ve ark 2013).

2.1.7. İnmede Sınıflandırma

Günümüzde 100'den fazla damarsal, kardiyak, hematolojik ve sistemik patoloji inmede etiyolojik faktör olarak ortaya konulmuştur. İnmeli her hastada, uygun sınıflandırma yapılarak bu nedenlerden herhangi birinin saptanması, prognoz tayini ve uygun tedavi seçimi için büyük bir önem taşımaktadır. Bunun yanında doğru bir sınıflandırma yapılması klinik,

genetik ve epidemiyolojik çalışmalar için uygun hasta topluluklarının seçilmesi ve inme patofizyolojisinin aydınlatılması bakımından da kritik bir öneme sahiptir.

A) TOAST Sınıflaması (Klinik ve Etyolojik Sınıflama)

İskemik inme sınıflandırmasında uzun yıllardır en sık kullanılan yöntem “Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment”(TOAST) sınıflaması olmuştur. Bu sınıflandırmaya göre iskemik inme 5 ana gruba ayrılmıştır:

Tablo 2.1.1:TOAST Sınıflaması

1-Büyük arter ateroskleroza
2-Kardiyoembolizm
3-Küçük arter oklüzyonu (Laküner İnfarktlar)
4- Diğer belirlenen nedenlere bağlı inme
5-Sebebi belirlenemeyen inme

1) Büyük Arter Ateroskleroza: İskemik inme hastalarının %15-40’lık bölümünü oluşturur. İskemi bölgesini sulayan intrakraniyal veya ekstrakraniyal damarlarda ateroskleroza bağlı %50’den fazla darlık varlığında veya darlık derecesinden bağımsız olarak plakta ülserasyon veya trombus varlığında etiyolojide büyük arter ateroskleroza düşünülmelidir. Aynı arter sulama sahasından daha önce geçirilmiş serebrovaslüler olay (inme veya geçici iskemik atak hikayesi) görüntülemelerde waterhseed alanlarda infarkt saptanması ve aynı arter sulama alanında temporal olarak farklı dönemlere ait infarkt bulguları (akut, subakut, kronik) inme etiyolojisinde aterosklerotik bir sürecin rol oynadığını akla getirmelidir.

2) Kardiyoembolizm: İskemik inmelerin %20-35’inden sorumludur. Transtorasik / transosafagial ekokardiyografinin ve uzun süreli ritim monitörlerinin sık kullanıma girmesi ile kardiyoembolik nedenler daha sık saptanabilmeye başlanmıştır. Embolizme neden olan kardiyak patolojiler, primer ve sekonder inme riskleri göz önüne alınarak yüksek riskli ve düşük riskli nedenler olarak iki grupta değerlendirilmektedir (Tablo 2.1.2). Farklı arter alanlarında multipl infarkt varlığı veya beraberinde sistemik embolizm varlığı kardiyo-aortik bir kaynağı düşündürmelidir.

Tablo 2.1.2: TOAST Sınıflamasına Göre Kardiyembolik Risk Faktörleri

Yüksek Riskli Nedenler	Düşük Riskli Nedenler
Mekanik Prostetik Kapak	Mitral Annulus Kalsifikasyonu
AF'li Mitral Stenoz	Mitral Stenoz
Atrial Miksoma	Patent Foramen Ovale
Yeni Geçirilmiş Koroner İskemi (<4 hafta)	Hipokinetik Sol Ventriküler Segment
Akinetik Sol Ventriküler Segment	Koroner İskemi (14 hafta, <6 ay)
İnfektif Endokardit	Mitral Valv Prolapsusu
Sol Ventrikül Trombüsü	Konjestif Kalp Yetmezliği
Dilate Kardiyomiyopati	Atrial Septal Anevrizma
Atrial Fibrilasyon	Sol Atrial Duman
Sol Atrial Trombüs	Çıkan aorta ve arcus aortada kompleks aterom plakları
Hasta Sinüs Sendromu	
Atrial Flutter	
Sistemik Embolizm ve Patent Foramen Ovale Birlikteliği	
Romatizmal Kapak Hastalığı	

3)Küçük Damar Oklüzyonu (Laküner İnfarktlar):

Laküner infarktlar iskemik inmelerin %15-30'nu oluşturmaktadır. Lipohyalinozis, mikroaterom plakları veya embolik nedenlere bağlı olarak özellikle bazal ganglionlar, beyin sapı ve internal kapsülün beslenmesinden sorumlu <800 µm çaplı penetran arterlerde tıkanma sonucu oluşur. Görüntülemelerde çapı 2 cm'den küçük infarktlar olarak görülürler. Çoğu zaman saf motor sendrom, saf duyuşal sendrom, sensori-motor sendrom, ataksik hemiparezi ve dizatri-beceriksiz el gibi klasik klinik tablolarla karşımıza çıkarlar. Tekrarlama riski en düşük ve en iyi prognoza sahip olan inme tipidir.

4)Diğer Nedenlere Bağlı İnme: 3 ana iskemik inme nedenine ilaveten birçok hastalık inme nedeni olabilir (Tablo 2.1.3). Aterosklerotik ve kardiyak risk faktörü olmayan genç inme vakalarından sorumlu olan bu nedenler iskemik inmelerin %5'lik kısmını oluşturmaktadır.

Tablo 2.1.3: İskemik inmeye neden olan diğer nedenler

İskemik inmeye neden olan diğer nedenler	
Antifosfolipid antikor sendromu	
Arteriyel diseksiyon	
CADASIL(Cerebral Autosomal-Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy)	5)
Damar duvarı hastalıkları	Seb
Dissemine intravasküler koagulyasyon	ebi
Fabry hastalığı	Beli
Heparin ilişkili trombositopeni	rl
Hiperviskozite sendromları	ne
Hipoperfüzyon sendromları	me
İlaç kullanımı ilişkili inmeler	yen
İyatrojenik nedenler	İN
Menenjit	me:
Migren ilişkili inme	İİ
Mitokondrial hastalıklar	vak
Moyamoya hastalığı	alar
Orak hücreli anemi	ının
Primer ve sekonder santral sinir sistemi vaskülitleri	%1
Sinüs ven trombozu	5-
Sneddon sendromu	40'ı
Trombotik trombositopenik purpura	nda
Tromboz ve hemostaz ile ilgili bozukluklar	bir
Vasokonstrüksiyon- vazospazm	inm

e nedeni bulunamaz. Bunun nedenlerinden biri yapılan tüm araştırmalara karşı inmeden sorumlu bir etiolojinin saptanamamasıdır. İkincisi etiyojik araştırmaların tam olarak yapılamamasıdır. Bir başka nedeni ise atriyal fibrilasyon ve internal karotid arter stenozu birlikteliği gibi birden fazla etiyojik faktör varlığıdır (Arsava 2013).

B) Causative Classification System For Ischemic Stroke (CCS) Sınıflandırması

TOAST sınıflandırmasında, birden çok etiyolojik neden saptanan hastalarda nasıl bir yol izlenmesi gerektiği ayrıntılı bir şekilde tarif edilmediğinden bir çok hasta nedeni aydınlatılamayan grubuna dahil edilmek zorunda kalınmaktadır. Bu dezavantaj esası TOAST sınıflandırmasına dayanan “Causative Classification System For Ischemic Stroke” (CCS) sınıflandırması ile ortadan kaldırılmıştır. Bu sınıflandırma ile birden çok etiyolojik nedeni olan hastalarda izlenecek yollar için kriterler getirilmekte ve altta yatan en olası etiyoloji ortaya konulmaktadır (Tablo 2.1.4). CCS sınıflandırması çok iyi düzeyde uygulayıcılar arası uyumluluğa sahiptir (K değeri: 0,76-0,90) (Arsava 2013).

Tablo 2.1.4: Causative Classification System For Ischemic Stroke (CCS) sınıflandırması

Ana Kategoriler	Alt Kategoriler
Büyük arter ateroskleroza	Kesin Muhtemel Mümkün
Kardiyo-aortik embolizm	Kesin Muhtemel Mümkün
Küçük damar oklüzyonu	Kesin Muhtemel Mümkün
Diğer nedenler	Kesin Muhtemel Mümkün
Nedeni aydınlatılamayanlar	Kriptojenik embolizm Diğer kriptojenik Yetersiz araştırma Sınıflandırılmayan

C)Klinik Özelliklerine Göre Sınıflama (Bamford,1991)

Bamford ve arkadaşları 1991 yılında klinik bulguları temel alarak bir sınıflandırma yapmışlardır (Tablo 2.1.5);

Tablo 2.1.5: Klinik Özelliklerine Göre Sınıflama (Bamford,1991)

-
1. Total anterior sirkülasyon infarktları (TACI)
 2. Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları (PACI)
 3. Posterior sirkülasyon infarktları (POCI)
 4. Laküner infarktlar (LACI)
-

1) TACI (Total anterior sirkülasyon infarktları): Akut hemiparezi (+/- duyu kusuru), kortikal defisit (afazi, ihmal gibi) ve beraberinde homonim hemianopsinin bir arada bulunduğu durumudur. İnfarkt proksimal OSA veya İKA'nın oklüzyonu sonucu gelişir.

2) PACI (Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları): Motor / duysal defisit, kortikal bulgular, hemianopsiden ikisinin varlığı veya motor-duysal bulguların sınırlı kalması (tek ekstremitede) veya izole kortikal bozukluk olması (izole afazi gibi) ile tanınır.

3) POCI (Posterior sirkülasyon infarktları): Arka dolaşım ile beslenen oksipital loblar, serebellum ve beyin sapı tutulumuna bağlı hemianopsi, beyin sapı ve serebellar bulgularının birlikte olduğu durumdur.

4) LACI (Laküner infarktlar): Küçük penetran arterlerin oklüzyonu nedeniyle meydana gelen klinik tablodur. Lakünler bilinç bozukluğu, kortikal bulgu, görme alanı defekti gibi bulgular olmadan sadece motor-duysal belirtiler şeklinde vücut parçalarının (yüz, kol, bacak) iki veya daha fazlasını tutabilir. Laküner infarktlar asemptomatikte olabilir. Kliniğe çoğu kez 'pür motor hemiparezi', 'pür duysal inme', 'sensorimotor inme' ve 'ataksik hemiparezi' olarak yansır. Laküner infarkt tanısı için diğer inme nedenlerinin dışlanmış olması gerekmektedir (Bamford ve ark 1991).

2.1.8. İskemik İnme Risk Faktörleri

Bir hastalığın meydana gelmesine yatkınlık oluşturan nedenler risk faktörü olarak tanımlanır. İskemik inmeler risk faktörleri, alt tipi, risk faktörünün değiştirilebilirliği ve inme ile ilişkisinin bilimsel kesinliği dikkate alınarak sınıflandırılabilir. Tablo 2.1.6'de iskemik inme ile ilişkili risk faktörleri gösterilmiştir (Çoban 2015).

Tablo 2.1.6:İskemik inme risk faktörleri

A- İnme ile ilişkisi veya değiştirilmesinin etkisi kesin olmayan risk faktörleri

Metabolik sendrom
Hiperhomosistinemi
Alkol kullanımı
Madde kullanımı
Oral kontraseptif kullanımı
Hiperkoagülabilitate (antikardiyolipin antikoru, lupus antikoagülanı, faktör V Leiden mutasyonu, protein C eksikliği, protein S eksikliği, antitrombin 3 eksikliği gibi)
Lipoprotein (a) yüksekliği
İnflamatuvar süreçler (periodontal hastalık, C pnömoni, sitomegalovirus, H. pylori CagA seropozitişığı, akut infeksiyonlar, yüksek hs-CRP)
Migren
Uyku apnesi

B- İnme ile ilişkisi kesin ve değiştirilebilen risk faktörleri

Hipertansiyon
Kalp hastalıkları (atriyal fibrilasyon, koroner arter hastalığı, kalp yetersizliği)
Sigara
Diyabet
Yüksek kan kolesterolü ve lipidler
Diyet, obezite, fizik inaktivite
Menopoz sonrası hormon tedavisi
Orak hücreli anemi
Asemptomatik karotis stenozu

C-Değiştirilemeyen risk faktörleri

Yaş, Cins, Irk
Genetik faktörler
Düşük doğum tartısı

Risk faktörlerinin bir toplumdaki prevalanslarının bilinmesi toplum sağlığı ve ülke ekonomisi açısından önemlidir. Herhangi bir profilaktik ve medikal yaklaşımla düzeltilemeyen risk faktörleri değiştirilemeyen risk faktörleri olarak adlandırılırken, tedavi ile inme insidasında belirgin düzelme gösteren risk faktörleri değiştirilebilir risk faktörleri olarak adlandırılmaktadır. Değiştirilebilir risk faktörleri ise kesinleşmiş ve kesinleşmemiş risk faktörleri olarak iki başlık altında incelenmektedir.

A-İnme ile ilişkisi veya değiştirilmesinin etkisi kesin olmayan risk faktörleri

1. Metabolik Sendrom: Adominal obezite, glukoz intoleransı/diabetes mellitus, dislipidemi, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı (KAH) gibi sistemik bozuklukların birbirine eklendiği bir endokrinopatidir. Bu bozukluklardan insülin direnci sorumlu tutulmaktadır. Metabolik sendrom iskemik inme riskini arttırmaktadır (Çoban EK ve ark 2011).

2. Migren: Genç kadınlarda ve özellikle auralı migrenlilerde inme için risk faktörü olduğu gösterilmiştir (Etminan ve ark 2005).

3. Alkol Kullanımı: Aşırı alkol tüketimi iskemik inme riskini arttırmaktadır (Onat ve ark 2008).

4. İlaç Bağımlılığı: Bağımlılık yapan maddelerin iskemik inmeye yol açtığı bilinmektedir. Bu maddeler kan basıncı yüksekliği, vaskülit ve hematolojik bozukluğa neden olarak inmeye sebebiyet vermektedir (Utku ve ark 2005).

5. Uykuda Solunum Bozukluğu: Obstrüktif uyku apneli kişilerde inme riskinin arttığı gösterilmiştir (Utku ve ark 2005).

6. Hiperhomosisteinemi: Hiperhomosisteinemi, aterosklerotik ve tromboembolik hastalıklara neden olan risk faktörüdür (Gezici ve ark 2008).

7. Lipoprotein-a Artışı: Apolipoprotein-a plazminojenin ile homologudur. Plazminojen normalde plazminojen aktive edici protein ve fibrin kompleksine bağlanarak fibrinoliz oluşmasına engel olur. Bundan dolayı tromboz gelişimine neden olduğu düşünülmektedir (Goldstein ve ark 2011).

8. Hiperkoagülabilité: Genelde artmış venöz tromboz riski olarak değerlendirilir ancak iskemik inmeye de sebep olabilir. Diğer risk faktörleri dışlandığında, iskemik inme için risk değerleri oldukça şüphelidir (Utku ve ark 2005).

9. Enflamasyon/Enfeksiyon: İnflamasyon inmede bir risk faktörüdür. Klamidya pnömoni aterosklerotik karotis plaklarda plak destabilizasyonu yaparak inme için bir risk oluşturmaktadır (Onat ve ark 2008).

B-İnme ile ilişkisi kesin ve değiştirilebilen risk faktörleri

1. Hipertansiyon: İnmede en önemli kesinleşmiş değiştirilebilir risk faktörü hipertansiyondur. Hipertansiyon hem serebrovasküler infarkt hem de intraserebral kanama için risk faktörüdür. Hipertansiyon ateroskleroza hızlandırdığından, büyük damarların tıkanmasını/embolisini kolaylaştırmaktadır. Laküner enfarklara yol açmaktadır. 60-79 yaşlarında sistolik kan basıncında her 10 birimlik azalma, inme riskinde 1/3 oranında azalmaya yol açmaktadır (Onat ve ark 2008).

2. Sigara: Sİskemik inme için bir risk faktörüdür ve inme görülme riskini 2 kat arttırmaktadır. Sigaranın kronik etkisi ile ateroskleroz gelişimi arttırırken, akut etkisi ile bu aterosklerotik damarlarda trombüs gelişimine neden olur (Sacco 1995).

3. Diyabet: Diyabetli hastalarda inme riski diğer faktörlerden bağımsız olarak artmıştır. Diyabet bu hastalarda azalmış insülin salınımına bağlı olarak ateroskleroz riski arttırmakta ve beynin küçük damarlarında tıkanmalara neden olmaktadır. Diyabetin kronik komplikasyonları sonucu gelişebilen inme ve iskemik kalp hastalıkları önlenabilir ölüm nedenlerindedir (World Health Organization Europe, International Diabetes Federation Europe, Türkiye Diyabet Vakfı, Türkiye’de diyabet profili, Diyabet bakım, izlem ve tedavisinde mevcut durum değerlendirilmesi Çalıştay Raporu 2009.) Hipertansiyonu olan diyabetik hastalarda kan basıncının etkin tedavisinin inme insidansını azalttığı gösterilmiştir. Amerikan Diyabet Derneği (American Diabetes Association, ADA), diyabetik (tip 2) hastalarda mikroanjiopatik komplikasyonların önlenmesi için HbA1c düzeyinin <%7 olmasını önermektedir (Goldstein ve ark 2011).

4. Dislipidemi: Çalışmalarda yüksek kolesterol düzeyinin iskemik inme ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Total kolesterol ve LDL yüksekliği ile karotis intima-media kalınlığının paralellik gösterdiği saptanmıştır (Amarengo ve ark 2004).

5. Atrial Fibrilasyon: Atrial fibrilasyon (AF) inmenin önemli tedavi edilebilir nedenlerindedir (Zerrin 2000). Non valvüler AF, embolik inmelerin yaklaşık %45’inden sorumludur (Karşıdağ ve ark 1988). Etkin doz warfarin tedavisi (non valvüler AF’de INR 2-3) hastalarda inme ve ölüm oranlarını azaltmada etkili bulunmuştur. İnme profilaksisinde risk sınıflamasına göre antikoagülan, antiplatelet gibi farklı tedavi stratejileri geliştirilmiştir.

İskemik inmede risk sınıflaması amacıyla kullanılan skorlamalardan birisi CHADS2 (C: Konjestif kalp yetmezliği, H: Hipertansiyon, A: Yaş \geq 75, D: Diyabetes Mellitus, S2: İnme/Geçici İskemik Atak Öyküsü)'dir. Hastanın inme ya da geçici iskemik atak öyküsü bulunması 2 puan ile, diğer risk faktörleri ise 1 puan ile değerlendirilmektedir. CHADS2 skoru düşük hastalara ASA, yüksek olanlara ise warfarin tedavisi verilmesi önerilmektedir (Connolly ve ark 1991).

6.Diğer Kalp Hastalıkları: Diğer bazı kalp hastalıkları ve cerrahi işlemler (Aritmiler, kardiyak trombüs, primer kalp tümörleri, vejetasyonlar, prostetik kalp kapakları, dilate kardiyomyopati, kalp kapak hastalığı, endokardit, kardiyak kateterizasyon, pacemaker implantasyonu, koroner arter bypass cerrahisi gibi) iskemik inme riskini arttırabilmektedir (Şengün ve ark 2004).

7.Asemptomatik Karotis Arter Stenozu: Karotis arterdeki aterosklerotik stenozun inmede artmış riskle ilişkisi gösterilmiştir (Utku ve ark 2005). Asemptomatik karotis arter darlığı olan hastalarda medikal tedavi ile inme oranlarındaki yıllık azalma %1 civarında bulunmuştur (Abbott 2009).

8.Orak Hücreli Anemi: Orak hücreli anemili hastalarda 20 yaşına kadar inme prevalansı %11 civarındadır (Utku ve ark 2005).

9.Postmenopozal Hormon Tedavisi: Hormonoterapinin post menopozal kadınlarda inme riskini arttırdığı gösterilmiştir (Utku ve ark 2005).

10.Oral Kontraseptif Kullanımı: Oral kontraseptifler, fibrinojen, F7- F10 ve F12 gibi pıhtılaşma faktörlerinin düzeylerini arttırarak hiperkoagülopatiyeye yol açmaktadır (Utku ve ark 2005).

11.Diyet ve Beslenme: Bir meta-analizde, fazla meyve ve sebze tüketiminin inme riskini azalttığı gösterilmiştir (He ve ark 2006).

12.Fiziksel İnaktivite ve Obezite: Fiziksel olarak aktif bireylerde; kan basıncı, vücut ağırlığı ve nabız hızı düşer, HDL kolesterol yükselir, LDL kolesterolü düşer, platelet agregasyonu azalır, glukoz toleransı düzelir. Obezite kan basıncını, kan glikozunu ve serum lipitlerini yüksektir. Bunlar inme için bağımsız birer risk faktörüdür (Jones ve ark 2004).

C-İskemik inmede değiştirilemeyen risk faktörleri

1.Yaş: Yaşlanma iskemik inme riskini arttırmaktadır (Goldstein LB ve ark 2011). Bir dekat artışıyla inmenin erkeklerde yaklaşık 1.5 kat, kadınlarda yaklaşık 2 kat arttığı bildirilmektedir (Wolfve ark 1992).

2.Cinsiyet: Erkeklerde inme kadınlara göre daha sık görülmektedir. Bunun yanında, kadınlarda mortalite daha yüksektir (Duman ve ark 2010).

3.Düşük Doğum Ağırlığı: Mortalite düşük doğum ağırlığına sahip bireylerde daha yüksektir (Adams ve ark 2006).

4.Irk: Siyahlarda, Japonlarda ve Çinlilerde inme insidansı beyaz ırka göre daha yüksektir.

5.Genetik Faktörler: Ailede bireylerinde inme anamnezinin olması inme geçirme riskini %30 oranında arttırmaktadır (Goldstein ve ark 2011). Faktör 5 leiden mutasyonu, protein C ve S eksiklikleri, ve bazı faktör eksiklikleri venöz tromboz riskini arttırmaktadır (Sanossian ve ark 2009). Yapılan çalışmalarda, yukarıda maddeler halinde bahsettiğimiz risk faktörlerinin inmelerin yaklaşık %70'inin etyolojik nedeni olduğu, geri kalan nedenler arasında genetik varyasyonların önemli rolü olduğu vurgulanmıştır (Çobanve ark 2015, Demir ve ark 2014). Son yıllarda, genetik tekniklerdeki gelişmeler nedeniyle, ACE I/D, AGT M235T(bu nedir???) ve nitrik oksit (NO) sentaz geni de içeren birçok genetik polimorfizmin iskemik inme insidansı ile ilişkili olduğu iddia edilmiştir (Hong-miao ve ark 2009, Djordjevic ve ark 2009, Munshi ve ark 2010, Song ve ark 2010, Yao ve ark 2013, Diakite ve ark 2014, Kang ve ark 2014, Guo 2014).

2.1.9. Endotel

Endotel birçok patofizyolojik süreçte çok önemli rolleri olan, mezodermden köken alan, tek katlı yassı epitel dokusu olup vücudumuzun en büyük organıdır. Normal erişkin bir insanda endotelin ortalama ağırlığı 1 kg civarında olup, 1-7 m² lik bir yüzey alanı oluşturmaktadır. Endotel yüzeyindeki glikoproteinler ile glikozaminoglikanlar negatif yük oluşturmaktadır. Çok farklı hücrel ve hormonal moleküllerle etkileşim içinde olduklarından çok sayıda reseptör taşımaktadırlar (Yaylalı ve ark 2011).

Trombosit agregasyon inhibisyonu, koagülasyon aktivasyon inhibisyonu, fibrinolizis fonksiyonları ile pıhtılaşmayı önleyici bir yüzey oluşturmak, ayrıca vasküler tonusun düzenlenmesi, lökosit ve trombosit adhezyonunun regülasyonu endotelin en önemli görevlerindendir (Bombeli ve ark 1997).

Endotelin hemostaz ve tromboz fizyopatolojisinde önemli büyüktür. Prostaglandin I₂ (PGI₂-prostasiklin) trombosit aktivasyonunu, sekresyonunu ve agregasyonunu inhibe eder.

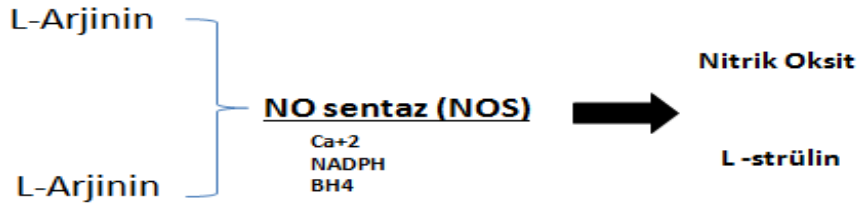
Nitrik oksit (NO) ise trombosit adhezyon, aktivasyon ve agregasyonunu inhibe eder (Marcus ve ark 1997).

Toksik, immünolojik, iskemik veya infeksiyöz faktörler endotel hasarına neden olarak endotel disfonksiyona yol açabilir. Endotelyal disfonksiyon, başta NO aracılı vazodilatasyon olmak üzere endotel kaynaklı vazodilatasyonda bozulma veya endotel kaynaklı vazokonstrüktör faktörlerin artması ile karakterizedir (Bonetti ve ark 2003).

2.2. Nitrik Oksit

Furchgott ve Zawadzki 1980'de endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak adlandırdıkları, endotel hücrelerinde asetilkolin uyarısı sonucu sentezlenen gevşemeye yol açan bir maddenin varlığını gösterdiler. 7 yıl sonra Palmer ve ekibi endotelyal hücrelerden nitrik oksit (NO) olarak isimlendirdikleri, EDRF gibi gevşemeye yol açan bir madde salındığını buldular. Sonraki yıllarda EDRF ve NO'nun aynı madde olduğu anlaşıldı. Önceleri sadece fizyolojik bir ileti molekülü olduğu düşünülen NO'nun daha sonraki yıllarda sinir sistemi, kardiovasküler sistem ve immün sistemde düzenleyici bir molekül olduğu bulundu. Fizyolojik bir ileti molekülü olmasının yanında septik şok, hipertansiyon, inme ve nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde rolü olduğu kanıtlanmıştır (Palmer ve ark1987, Beckman ve ark 1990).

Nitrik oksit yüksüz bir mesajcı moleküldür. Bu özelliğinden dolayı membrandan kolayca geçer ve eşleşmemiş bir elektrona sahip olduğundan hızla reaksiyona girebilme özelliği vardır. NO, L-argininin guanidin N-terminalinden, nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile sentezlenir (Şekil 2.2.1)(Bengü 2014). Bu şekilde üretilen NO nötralize edilir (hemogloblin, metilen mavisi ve süperoksit tarafından) veya nitrat/nitritlere dönüştürülür. Yarı ömrü 20-30 sn'dir (Buse ve ark 1995, Mustafa ve ark 2001).



Şekil 2.2.1.:Nitrik Oksit Sentezi

NOS'un inhibisyonu NO'nun yapılamamasına dolayısıyla vasküler yatakta vazokonstriksiyona ve sistemik kan basıncında artışa neden olur. NO, endotelde sentezlenip damar düz kas hücrelerine difüzyonla girerek gevşemeye neden olur. Endotelde sentezlenen NO damar lümenine de salgılanır. Endotel kaynaklı NO , “siklik guanozin monofosfat” (cGMP) bağımlı bir mekanizma ile trombosit adezyonu, aktivasyonu, sekresyonu ve agregasyonunu da inhibe eder (Diodati ve ark 1998). Bununla birlikte endotele lökosit adezyonunu, düz kas hücresi migrasyon ve proliferasyonunu da inhibe eder (Charlas et al 1994). Vasküler endotelde NO ateroskleroz gelişimini önleyici rol oynamaktadır. LDL oksidasyonunu azaltarak LDL den aterojenik LDL oluşumunu engeller. Bazal NO salınımı bazal vasküler tonusu sağlar ve kan basıncının düzenlenmesine yardımcı olur (Quyyumi ve ark 1995).

NO'nun salınımı fiziksel ve humoral uyarılarla kontrol edilir. Kan akımının hızlanması-yavaşlaması, pulsatil olması, çeşitli nörohumoral mediyatörler (özgül resptörleri ile) gibi faktörler NO salınımına etki ederler (Tablo 2.2) (Gümüsel 2008).

Tablo 2.2.1. NO Salınımına Etki Eden Faktörler

FİZİKSEL	KİMYASAL
Arter duvarında kan akımının oluşturduğu yüzey stres lokal olarak NO salınımına neden olur	Katekolaminler, vazopressin Bradikinin, histamin endotelin Serotonin, ADP Trombin

2.2.1. Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

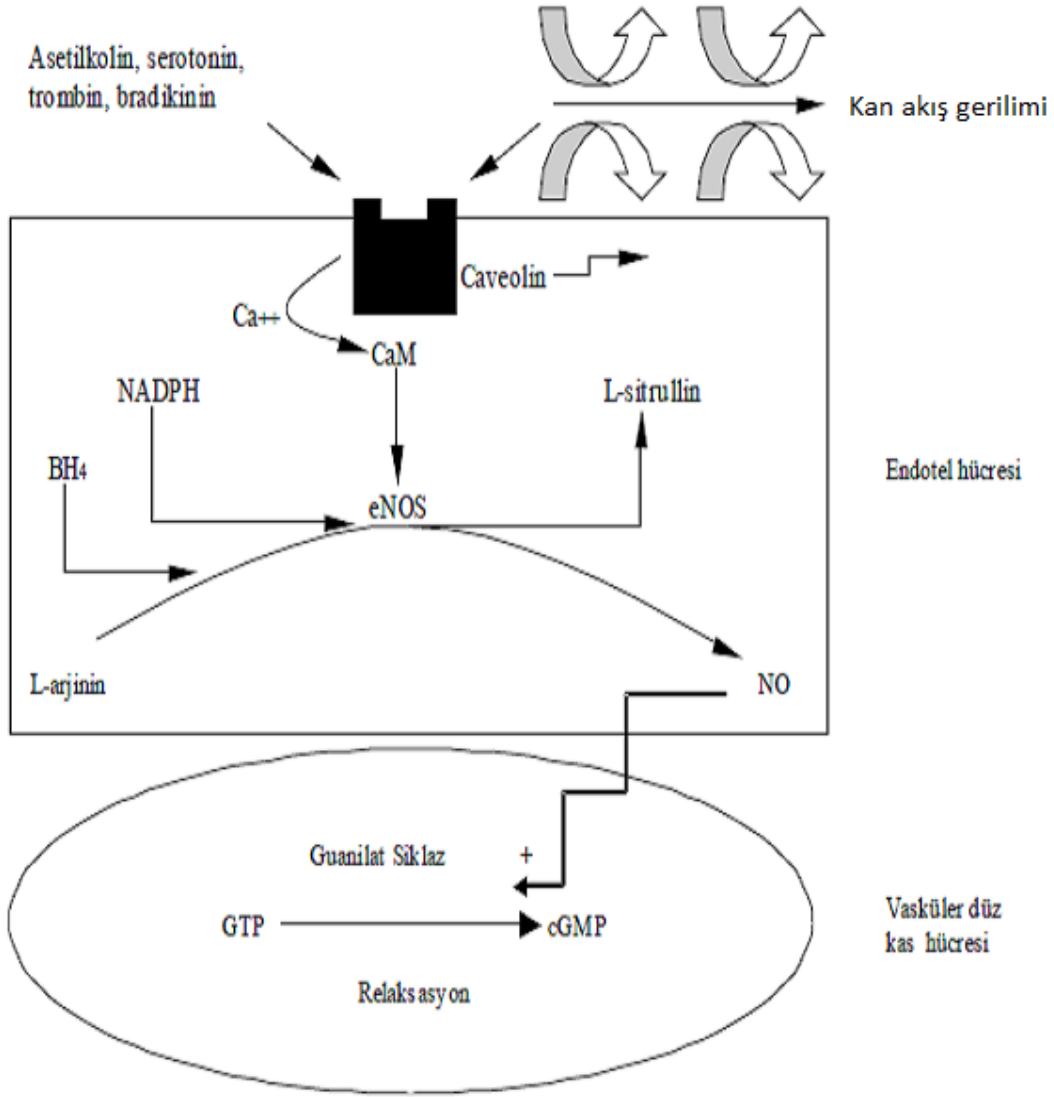
Nitrik oksit sentaz(NOS)'un yapısal ve uyarılabilen olmak üzere 2 ayrı formu vardır. Farklı NOS formları NOS1, NOS2, NOS3 olmak üzere 3 farklı gen tarafından sentezlenir (Nathan C. ve ark. 1994). NOS1 ve NOS3 12. ve 16. kromozom tarafından, NOS2 ise 7. kromozom tarafından kodlanırlar. NOS1 (nöronal (nNOS)) ve NOS2 (endotelyal (eNOS)) normalde ilgili reseptörlerin uyarılmasıyla aktif formlarına dönüşürken kalsiyuma ihtiyaç duyduklarından yapısal NOS olarak adlandırılır (Şekil 2.2.2) (Akçakoyun M 2004). Dolayısıyla hücre içi kalsiyum seviyesi azaldığında enzim inaktive olur (Bloch ve ark 1995, Hong-miao ve ark 2009, Munshi ve ark 2010).

NOS2 ise endotoksin ve sitokinlere cevap olarak makrofajlar ve diğer hücrelerin uyarılmasıyla kalsiyumdan bağımsız salgılanır. NOS2'ye indüklenebilen/uyarılabilen NOS (iNOS) adı verilir. Bakteri lipopolisakkaridi ve interferon- γ (IFN γ) ile aktifleşen makrofajlar çok fazla miktarda NO üretilmesine neden olur ki bu NO sentezi saatlerce hatta günlerce devam edebilir (Aladağ ve ark 2010).

NOS “kaveola” olarak isimlendirilen, hücre zarının hemen altında bulunan keseciklere bağlı halde bulunur. NOS endotelde sürekli olarak sentezlenir. Kolesterol yüksekliği gibi hücre membranının lipid yapısında değişikliğe yol açan durumlar kaveolanın fonksiyonunu bozarak, NOS aktivitesini olumsuz etkileyebilir ayrıcaTNF- α ve hipoksi de NOS aktivitesini olumsuz yönde etkileyebilir (Gümüsel 2008).

eNOS tarafından sentezlenen NO, bazal vasküler tonusu regüle eder. Böylece sistemik dolaşımı düzenleyen NO, kalp, karaciğer, beyin gibi organların dolaşımının da düzenlenmesini sağlar. eNOS'un kronik inhibisyonu ile aterosklerozun hızlandığı ve kan basıncında artmanın olduğu hayvan deneyleriyle gösterilmiştir (Shesely ve ark 1996).

Endotel kaynaklı NO'nun damar bütünlüğünü koruma, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmasını önleme, düz kas hücre proliferasyonunu önleme, trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe etme gibi etkileri vardır (De Graaf ve ark 1992).



Şekil 2.2.2: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz Aktivasyonu

2.2.2 Endotelial Nitrik Oksit Sentaz Gen Polimorfizmi ve İskemik İnme

İskemik inme morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenidir ve insidansı artmaktadır. İskemik inme dünya genelinde ölümlerin sıklığı artan bir nedendir. Birçok çalışma genetik faktörlerin iskemik inmedeki önemini vurgulamaktadır. İkizlerde yapılmış çalışmalar ve ailelerde yapılmış çalışmalarda inme riskinin artışında genetik faktörler suçlanmaktadır (Hong-miao ve ark 2009, Munshi ve ark 2010, Xiong ve ark 2012, Yao ve ark 2013, Diakite ve ark 2014, Kang ve ark 2014, Guo 2014). Nitrik Oksit Sentaz tarafından sentezlenen Nitrik Oksit proteinlerinin serebrovasküler sistemde düzenleyici görevleri vardır. Fizyolojik süreçlerde sinyal molekülü olarak, sinir iletiminde, düz kas relaksasyonu, immün sistemde ve

bir çok hastalığın patofizyolojisinde rol aldıklarından yukarıda bahsedilmiştir (Zerrin2000, Munshi ve ark 2010). Ayrıca NO serebral dolaşım dahil vasküler hemostazda önemli bir role sahiptir. Deneysel çalışmalar iskemik inme patofizyolojisinde NO bağımlı vazomotor reaktivitenin rol oynadığını göstermektedir. Birçok vaka serisinde eNOS polimorfizminin iskemik serebrovasküler hastalık riskini arttırdığı gösterilmiştir (İlhan ve ark 2002). Nitrik Oksit Sintaz (eNOS) VNTR polimorfizmi, 894GT+TT genotipi ile iskemik inme arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (Karşıdağ ve ark 1998, Mustaf ve ark 2001). Toplam 5516 hasta ve 6150 kontrol grubunun olduğu bir meta analizde, 894T alleli homozigositesi ile iskemik inme riski arasında marjinal bir ilişki bulunmuştur (OR, 1.14; 95% CI, 0.99–1.31). eNOS 4b / a gen polimorfizmlerin iskemik inme ile ilişkisinin olmadığı yönünde güçlü kanıtlar elde edilmiştir. G894T polimorfizmlerinde iskemik inme ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. VNTR b/a ve T-786C polimorfizmleri iskemik inme, hipertansiyon, koroner arter hastalığı ve diyabet komplikasyonları gibi arteriyel hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. Yine NO'nun bu hastalıkların tedavilerinde de kullanılabileceği yönünde de kanıtlar vardır (Alpoim ve ark 2014, Bath ve ark 2014). Ratlarda yapılan çalışmalarda alternatif tıp da kullanılan bazı bitkisel tedavilerin, NO aktivasyonunu sağlayarak arteriyel hipertansiyon ve iskemik inmenin önlenmesinde faydalı olabileceği gösterilmiş (Djordjevic ve ark 2009, Yoshitomi ve ark 2011.). Daha önce Faslılarda, Hintlilerde, Korelilerde ve Asya popülasyonlarında iskemik inme ile eNOS gen polimorfizmini araştıran çalışmalar yapılmıştır (Munshi ve ark 2010, Xiong ve ark 2012, Diakite ve ark 2014, Kang ve ark 2014) Anadolu popülasyonunda bu anlamda yapılmış çalışmaların sayısı sınırlıdır. Bu konuda Yemişçi M. ve arkadaşları Türkiyede yaptıkları bir çalışmada eNOS geninin intron 4a/a genotipinin, izole semptomatik laküner infarkt için koruyucu olduğunu ve bu etkinin, promotör bölgesindeki 789C polimorfizminin yokluğu ile güçlendirildiğini öne sürmüşler. Guldiken Bve ark (2008) Türkiye'de yaptığı çalışmada Glu298Asp gen (G894T (rs1799983)) polimorfizminin genotipik dağılımında veya allelik frekansında istatistiksel olarak iskemik inme ile anlamlı bir ilişki saptamamışlar. Bu nedenle çalışmamızda, Anadolu popülasyonunda eNOS G894T (rs1799983), intron 4 (27-bp TR) VNTR ve T786C (rs2070744) polimorfizmlerinin, iskemik inme ile ilişkisinin olup olmadığını incelemeyi amaçladık.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Olguların belirlenmesi, Çalışmaya Dahil Edilme ve Dışlanma Kriterleri

Çalışmamızda eNOS'a ait G894T (rs1799983), intron 4 (27-bp TR) VNTR ve T786C (rs2070744) polimorfizmlerinin dağılım frekansının ülkemizde sağlıklı bireyler ile inme geçirmiş hastalar arasında farklılık gösterip göstermediğini araştırmak amacıyla 50 yaş üstü erişkin sağlıklı ve inme geçirmiş hasta bireylerden oluşan iki grup dizayn edildi. Benzer yaş dağılımı olan 112 hasta, 160 sağlıklı kontrol olmak üzere 272 kişi çalışmaya dahil edildi. Daha önce iskemik inme geçirmemiş ve dışlama kriterlerinden herhangi birine sahip olmayan bireyler "kontrol grubu" olarak çalışmaya dahil edildi. İskemik inme geçirmiş hastalar TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) sınıflamasına göre sınıflandırıldı. TOAST sınıflaması sonucunda "sebebi belirlenemeyen inme" olarak sınıflandırılan hastalar çalışmamıza "vaka grubu" olarak dahil edildi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi nöroloji polikliniğine veya acil servisine yeni başvuru yapmış hastalardan, sağlıklı kontrollerden başvuru esnasında veya daha önceden tarafımızca takip edilmiş, tam bilgi kayıtlarına ulaşılmış eski hastalar tekrar çağrılarak kan numuneleri alındı. Çalışma grupları için için fakültemiz etik kurulundan Etik Kurul Onayı alındı.

Tablo 3.1.1. Çalışma Dışı Tutulma Kriterleri

Protein C,S eksikliği
Aktive protein C rezistansı
Faktör V leyden mutasyonu olanlar
Antitrombin 3 eksikliği
Disfibrinojenemi
Lupus antikoagülanı
Antifosfolipit antikorları
Kollagen doku hastalıkları
Malignite
Hiperviskozite sendromları
Arteriyel diseksiyon
Moya moya hastalığı
Mekanik Prostetik Kapak
AF'li Mitral Stenoz
Atrial Miksoma
Yeni Geçirilmiş Koroner İskemi (<4 hafta)

Akinetik Sol Ventriküler Segment

İnfektif Endokardit

Sol Ventrikül Trombüsü

Dilate Kardiyomiyopati

Atrial Fibrilasyon

Sol Atrial Trombüs

Romatizmal Kapak Hastalığı

Sistemik Embolizm ve Patent Foramen Ovale Birlikteliği

Laküner infarktlar (<2cm)

Aterosklerotik büyük damar hastalığı (%50 üzeri darlığı olan ve aterosklerotik plağı olan)

Çalışmaya alınan hastaların yaş, cinsiyet, özgeçmişleri, inme açısından risk faktörleri gibi epidemiyolojik bilgileri kaydedilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol gruplarından alınan mor kapaklı tam kan tüpü (EDTA'lı) numuneleri -80 derecede derin dondurucuda muhafaza edildi. Toplanan numuneler yeterli sayıya ulaştığında genetik analize alındı.

3.2. DNA İzolasyonu: EDTA'lı kan örneklerinden DNA izolasyon kiti ile izole edildi. Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm'deki absorbans değerlerine DNA saflığı ve miktarı göre belirlendi.

3.3. Real time PCR aşaması: Erime eğrisi analizi ("melting curve analysis") ile genotiplerin ayırt edilmesi sağlanmaktadır. PCR'da DNA amplifikasyonu tamamlanarak, sıcaklık yavaş bir şekilde yükseltildi ve her örnek için ayrı ayrı erime eğrisi oluşturuldu. Sıcaklık yükseltilirken normal dizi ile polimorfizmik dizinin ayırımı gerçekleşir. Polimorfizm içeren dizi ile floresan işaretli prob arasında oluşan dupleks yanlış bir eşleşme ("mismatch") içerdiğinden, normal dizi ile prob arasında oluşan duplekse oranla daha az stabildir. Bu durum, polimorfizm içeren dupleksin daha düşük bir erime noktasına ("melting point") gelmesine ve bundan dolayı sıcaklık yükseltilmesi esnasında daha düşük bir sıcaklıkta ayrışmasına yol açmaktadır. Matematiksel bir dönüşüm yardımıyla erime eğrilerinden floresan değerinin negatif türevinin sıcaklığa göre değişimini veren profiller elde edilmektedir. Sonuçta değişik allellere ait farklı erime sıcaklıkları gösteren tepeler

izlenmektedir. Çalışmamızda eNOS G894T (rs1799983), intron 4 (27-bp TR) VNTR ve T786C (rs2070744) polimorfizmlerine özgü floresan-işaretli probalar kullanılarak analiz işlemi yapıldı. Hibridizasyon solüsyonu (Taq polimeraz, reaksiyon tamponu, nükleotid karışımı), MgCl₂, primerler, probalar ve genomik DNA toplam 20 µl hacimde karıştırılarak real time PCR cihazına aktarıldı. Pozitif ve negatif kontroller kullanıldı. Real time-PCR amplifikasyonun tamamlanmasından sonra, erime eğrileri oluşturularak analiz edildi.

Kullanılan Cihazlar ve Aletler

- Real Time PCR-Rotor Gene Q-Qiagen
- Sensoquest Hightech Thermocycler Cyclers
- Mikro Santrifüj-Euroklon
- Otomatik DNA izolasyon aleti-Easyone-Qiagen
- Thermo Fisher Scientific-NanoDrop 2000

3.4. İstatistiksel İnceleme

İstatistiksel analizler SPSS (21.0) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Grupların normalizasyon dağılımını incelemek için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Gruplar arası oranların karşılaştırılmasında Ki-kare ve Fisher'in Exact testi kullanıldı. Bağımsız değişkenlerin gruplara etkilerinin kestirimi için Binary Logistic Regression analizi uygulandı. Regression analizi için wild tip referans alındı. $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 112 hasta vaka grubu ve 160 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplamda 272 gönüllü dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen vaka grubunda yaşların ortalama değeri 68.58 (± 10.848), kontrol grubunda ise 61.44 (± 8.104) olarak bulundu. Cinsiyet dağılımına göre vaka grubunun 50 (%44.6)'sinin kadın, 62 (%55.4)'sinin erkek, kontrol grubunda ise 95 (%59.4)'sinin kadın, 65 (%40.6)'sinin erkek olduğu saptandı. Vaka grubunda bulunan 112 hastanın özgeçmişlerinde 61 (%54.5)'inin hipertansiyon, 40 (%35.7)'inin diyabet, 15 (%13.4)'inin koroner arter hastalığı öyküsü olduğu, 32 (%28.6)'sinin hiperlipidemisinin ve 9 (%8)'unun sigara kullandığı saptandı (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Vaka ve kontrol gruplarında demografik veriler ve risk faktörleri.

	Hasta (n, %)		Kontrol (n, %)		p	χ^2
Yaş(ortalama, standart sapma)	68.58 (± 10.848)		61.44 (± 8.104)		(<0.05)	85.810
Cinsiyet	Erkek	62 (%55.4)	65 (%40.6)	95 (%59.4)	(<0.05)	6.779
	Kadın	50 (%44.6)	65 (%40.6)	95 (%59.4)	(<0.05)	6.779
Diyabetes Mellitus	40 (%35.7)	33 (%20.6)	33 (%20.6)	33 (%20.6)	(<0.05)	8.011
Hipertansiyon	61 (%54.5)	47 (%29.4)	47 (%29.4)	47 (%29.4)	(<0.05)	15.785
Koroner Arter Hastalığı	15 (%13.4)	47 (%29.4)	47 (%29.4)	47 (%29.4)	(<0.05)	11.321
Sigara	9 (%8)	15 (%9.4)	15 (%9.4)	15 (%9.4)	NS	1.159
Hiperlipidemi	32 (%28.6)	19 (%11.9)	19 (%11.9)	19 (%11.9)	NS	2.449

NS: İstatistiksel olarak anlamsız

a) eNOS G894T (rs1799983) polimorfizmi için, 112 hastada genotip dağılımları; 21 (% 18.8) hastada GG, 77 (%68.8) hastada GT ve 14 (%12.5) hastada TT olarak saptandı. Buna karşılık kontrol grubundaki 160 deneğin genotip dağılımları; 38 (%23.8) GG, 103 (% 64.4) GT, 19 (%11.9) TT olarak saptandı. Lojistik regresyon analizi sonucunda genotip dağılımları açısından, vaka ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). Allel frekansları hasta grubunda; G aleli 115 (%39.1) ve T aleli 109 (%43.8) ve kontrol grubunda; G aleli 179 (% 60.9), T aleli 140 (%56.2) olarak saptandı. Regresyon analizi sonucunda her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.212$) (Tablo 4.2. ve 4.3.)

Tablo 4.2. Vaka ve kontrol gruplarında eNOS G894T (rs1799983) genotip dağılımları.

Polimorfizm	Genotip	Vaka (n, %)	Kontrol(n, %)	p	OR	95%CI
G894T (rs1799983)	GG	21 (%18.8)	38 (%23.8)	-	1	
	GT	77 (%68.8)	103 (%64.4)	0.462	1.451	(-0.70-1.62)
	TT	14 (%12.5)	19 (%11.9)	0.772	0.880	(-1.14- 0.84)

Tablo 4.3. Vaka ve kontrol gruplarında eNOS G894T (rs1799983) allel frekansları.

Polimorfizm	Allel	Vaka (n, %)	Kontrol (n, %)	p	OR	95%CI
	T	109 (%43.8)	140 (%56.2)	-	1	
	G	115 (%39.1)	179 (% 60.9)	0.180	0.780	(0.-62-0.13)

b) eNOS intron 4 (27-bpTR) VNTR polimorfizmi için hasta grubunda genotip dağılımları; 57 (% 50.9) hastada 4b/b, 50 (%44.6) hastada 4b/a ve 5 (%4.5) hastada 4a/a olarak saptandı. Kontrol grubunda ise genotip dağılımları; 124 (%77.5) 4b/b, 34 (% 21.3) 4b/a, 2 (%1.3) 4a/a olarak saptandı. Genotip dağılımı açısından, hasta grubunda 4b/a (heterozigot polimorfizm) ve 4a/a (homozigot polimorfizm) genotipleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek orana sahiptir (sırasıyla p:0.018, p<0.0001). Allel frekansları hasta grubunda; 4b alleli 164 hastada(%36.8), 4a alleli 60 hastada(%61.2) ve kontrol grubunda; 4b alleli 282 hastada(% 63.2), 4a alleli 38 hastada(%38.7) olarak saptandı. Allel dağılımı açısından vaka ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı (p:0.001). Vaka ve kontrol gruplarında tesbit edilen eNOS G894T (rs1799983) genotip dağılımları ve allel frekansları tablo 4.4. ve 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Vaka ve kontrol gruplarında eNOS intron 4 (27-bpTR) VNTRgenotip dağılımları.

Polimorfizm	Genotip	Vaka (n, %)	Kontrol (n, %)	p	OR	95%CI
intron4 VNTR	4b/b	57(%50.9)	124 (%77.5)	-	1	
	4b/a	50 (%44.6)	34 (% 21.3)	0.018	0.057	(-23.16-1.14)
	4a/a	5 (%4.5)	2 (%1.3)	<0.0001*	0.318	(-1.89-0.51)

*Hasta grubunda 4b/a ve 4a/a genotipleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek orana sahiptir.

Tablo 4.5. Vaka ve kontrol gruplarında eNOS intron 4 (27-bpTR) VNTR allel frekansları.

Polimorfizm	Allel	Vaka	Kontrol	p	OR	95%CI
Allel	a	60 (%61.2)	38 (%38.7)	-	1	
	b	164 (%36.8)	282 (% 63.2)	0.001	0.324	(-1.68- 0.63)

c)eNOS T786C (rs2070744) polimorfizmi için hastalarda genotip dağılımları; 59 (%52.7) hastada 35 (%31.2) hastada TC ve 18 (%16.1) hastada CC olarak saptandı. Kontrol grubunda genotip dağılımları; 38 (%23.8) TT, 103 (% 64.4) TC, 19 (%11.9) CC olarak saptandı. Regresyon analizi sonucu CC genotipi açısından hasta grubu kontrole göre anlamlı derecede yüksek CC (homozigot polimorfizm) oranına sahiptir (p:0.037). Allel dağılımları hasta grubunda; T aleli 272 (%95.77), C aleli 12 (%4.23) ve kontrol grubunda; 190 (%93.14), C aleli 14 (%6.86) olarak saptandı. Regresyon analizi sonucunda her iki grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Vaka ve kontrol gruplarında tesbit edilen eNOS T786C (rs2070744) genotip dağılımları ve allel frekansları tablo 4.6. ve 4.7' de verilmiştir.

Tablo 4.6. Vaka ve kontrol gruplarında eNOS T786C genotip dağılımları.

Polimorfizm	Genotip	Vaka (n, %)	Kontrol(n, %)	p	OR	95%CI
T786C	TT	59 (%52.7)	38 (%23.8)	-	1	
	TC	35 (%31.2)	103 (% 64.4)	0.461	0.720	(-1.328-0.754)
	CC	18 (%16,1)	19 (%11.9)	0.037*	2.492	(-0.032-1.996)

*CC genotipi açısından hasta grubu kontrole göre anlamlı derecede yüksek CC oranına sahiptir.

Tablo 4.7. Vaka ve kontrol gruplarında eNOS T786C allel frekansları.

Polimorfizm	Allel	Vaka (n, %)	Kontrol (n, %)	p	OR	95%CI
	T	152 (%45.92)	179 (%54.07)			
	C	72 (%33.96)	140 (%66.03)	0.180	0.780	(0.-624-0.134)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İskemik inme tedavisindeki yeni gelişmelere rağmen, inmeye bağlı ölümler halen dünyada üçüncü sıradaki yerini korumaktadır (Çoban 2011). İnme sonrası özürllülük hasta ve yakınlarının yaşam kalitesini etkileyerek sosyo-ekonomik ve toplumsal sorunlara yol açabilmektedir. Bu yüzden inme risk faktörlerinin belirlenmesi ve önlenmesinin önemi gün geçtikçe daha da iyi anlaşılmaktadır.

İskemik inmede etiyojide %70'lik büyük bir kısmı yaş, ırk, cinsiyet, sigara kullanımı, hipertansiyon, diabet, obesite, kalp hastalıkları ve çevresel nedenler gibi risk faktörlerinden oluşmaktadır. Geri kalan tanımlanamamış nedenler arasında genetik problemlerin önemli rolü olduğu vurgulanmaktadır (Demir ve ark 2014, Şahin ve ark 2015). Genetik alanındaki gelişmeler sayesinde son yıllarda anjiyotensinogen (AG) ve nitrik oksit (NO) sentazgenini de içeren birçok genetik polimorfizmin iskemik inme insidansı ile ilişkili olduğu iddia edilmiştir (Hong-miao ve ark 2009, Munshi ve ark 2010, Demir ve ark 2014, Kang ve ark 2014, Guo 2014). Nitrik oksit çalışmaları, eNOS geninin (4b/a, T-786C, G894T) polimorfizmlerinin hipertansiyon, total kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol düzeyleri ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu ileri sürmüştür (Sawada ve ark 2008, Pereira ve ark 2006, Li 2011, Niu 2011). Çalışmamızda hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi, yaş gibi risk faktörleri hasta grubunda daha yüksek orandayken, koroner arter hastalığı ve sigara kullanımı gibi risk faktörleri her iki grupta homojen olarak dağılmıştır (Tablo 4.1.).

Nitrik oksit hücre içi kalsiyum düzeylerini ve lökosit adezyonunu azaltarak, platelet agregasyonunu ve vasküler düz kas hücresi proliferasyonunu inhibe ederek endotelyal mikroçevreyi düzenleyen bir enzimdir (Munshi ve ark 2010, Yao ve ark 2013). L-argininin guanidin N-terminalinden nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile sentezlenir (Bengü 2014). Nitrik oksit sentaz(NOS)'un yapısal ve uyarılabilen olmak üzere 2 ayrı formu vardır. Farklı NOS formları (NOS1(nöronal NOS), NOS2, NOS3 (endotelyal NOS) olmak üzere 3 farklı gen tarafından sentezlenir (Nathan C 1994). NOS3 geni 7. kromozom tarafından kodlanır. NOS1(nöronal (nNOS)) ve NOS3(endotelyal (nNOS)) normalde ilgili reseptörlerin uyarılmasıyla aktif formlarına dönüşürken kalsiyuma ihtiyaç duyduklarından yapısal NOS olarak adlandırılır (Akçakoyun 2004). Endotelyal mikroçevreyi düzenleyen ve koruyucu özelliği olan NO' nun miktarını ve yapısını bozacak her türlü genetik problem pıhtılaşmaya meyil teşkil edecektir.

Endotelial nitric oksit sentaz genipolimorfizm (G894T, VNTR ve T786C dahil) çalışmalarında bazı toplumlarda iskemik inme için bir risk faktörü olduğu düşünülmesine rağmen çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (Djordjevic ve ark 2009, Hong-miao ve ark 2009, Munshi ve ark 2010, Song ve ark 2010, Yao ve ark 2013, Diakite ve ark 2014, Kang ve ark 2014, Guo 2014). Biz bu çalışmamızda eNOS'a ait G894T (rs1799983), VNTR (4b/a) ve T786C (rs2070744) polimorfizmlerinin Anadolu popülasyonunda iskemik inme ile ilişkisinin olup olmadığını araştırdık.

T-786C polimorfizmi

Yao ve ark (2013) Asyalılarda ve Kafkaslılarda temmuz 2012'ye kadar yapılmış çalışmaların dahil edildiği, 2125 vaka ve 2673 kontrol hastasından oluşan meta-analiz çalışmasında T-786C polimorfizmi ile inme riski arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Sonuçta iskemik inmeli hastalar ve kontrol grubu arasında T786C polimorfizmi için genotip dağılımı açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 5.1.) (Yao ve ark 2013).

Guo'nun (2014) yaptığı meta-analiz çalışmasına eNOS T786C polimorfizmi ile II insidansı arasında ilişki inceleyen 31 vaka kontrol çalışması dahil edilmiştir. Çalışmada 8.547 hasta ve 9.117 kontrol hastasının verileri analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda hasta ve kontrol grupları arasında T786C genotipleri ve allel dağılımları açısından istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 5.1.) (Guo 2014).

Asyalılarda T786C gen polimorfizmi ve iskemik inme arasındaki ilişkiyi inceleyen Wang ve arkadaşlarının (2013) meta-analiz çalışmasında 1800 vaka , 1751 kontrol olmak üzere 3551 denegin verileri analiz edilmiştir. T-786C polimorfizmi için C alleli baskın ve kodominant modellerde iskemik inme riski üzerinde anlamlı bir koruyucu etki göstermiştir ancak resesif modelde böyle bir etki saptanmamıştır (Tablo 5.1.) (Wang ve ark 2013).

Bahsedilen meta-analiz çalışmaları T786C genotip ve allel dağılımlarının iskemik inme için anlamlı bir risk faktörü olmadığını göstermektedir. Çalışmamızda allel dağılımları açısından anlamlı bir fark tespit edilmezken, iskemik inmeli grupta CC homozigot polimorfizmin kontrole göre daha yüksek oranda olduğu görüldü ($p < 0.05$) (Tablo 5.1.). Allel dağılımı bakımından kontrol grubumuzda da C allel oranı yüksek bulunmakla birlikte Wang ve ark'ın (2013) ileri sürdüğü gibi anlamlı bir düzeyde değildi ($p > 0.05$).

Tablo 5.1. eNOS T786C (rs2070744) Polimorfizmi ile İlgili Yapılmış Çalışmaların İstatistiksel Sonuçları

	Genotip			Allel	
	TT(V/K)	T(V/K)	CC(V/K)	T(V/K)	C(V/K)
Yao YS ve ark	NS	NS	NS	NS	NS
Guo X	NS	NS	NS	NS	NS
Wang M ve ark	NS	NS	NS	NS	NS
Çalışmamız	NS	NS	(p<0.05)	NS	NS

(V/K: Vaka/Kontrol, NS: İstatistiksel anlamlı olmayan sonuç).

G894T Polimorfizmi

Yao ve ark'ın (2013) meta-analizinde G894T T alleli ile İİ riski arasında anlamlı bir ilişkisi Asyalılarda saptanmasına rağmen, Kafkaslar'da böyle bir ilişki saptanmamış (Yao ve ark 2013) (Tablo 5.2.). Benzer şekilde Guo'nun (bu soy isim değil mi soy isimler yazılır atfı nerde tek isim mi) 2014 yılında yaptığı çalışmada da T alleli Asyalılarda İİ riski ile istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunurken, Kafkaslarda böyle bir ilişki bulunmamış. Yine aynı çalışmada G894T TT genotipi (homozigot polimorfizm), G alleli ile karşılaştırıldığında inme insidansının artmış riskiyle önemli derecede ilişkili olduğu saptanmış (Tablo 5.2.) (Guo 2014).

Diakite ve ark (2014) Fas'da 162 hasta ve 182 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışma ile eNOS G894T polimorfizmi ile iskemik inme arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışma sonucunda resesif, dominant ve kodominant modellerde G894T eNOS polimorfizmi ile iskemik inme arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Tablo 5.2.) (Diakite ve ark 2014).

Kumar ve ark (2016) kuzey Hindistan'da yaptıkları çalışmada eNOS G894T polimorfizmi ile inmeye duyarlılık arasındaki riski araştırmışlardır. Çalışmaya 250 hasta, 250 kontrol olmak üzere 500 kişi dahil edilmiştir. Bu çalışmada çok değişkenli lojistik regresyon analizi eNOS G894T (rs1799983) polimorfizmi ile dominant model altında inme riski arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. TOAST sınıflamasına göre, büyük damar hastalığı vakalarının, dominant ve resesif modellerde artmış İİ riskiyle birlikte olduğu görülmüştür (Tablo 5.2.) (Kumar ve ark 2016).

Wang ve ark (2013) meta-analizinde G894T polimorfizmi için, dominant ve kodominant T alleli ve İİ riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur, ancak resesif modellerde anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 5.2.) (Wang ve ark 2013).

Hong-miao ve ark (2009) yaptıkları meta-analizde ise G894T polimorfizminin iskemik inme ile ilişkili olduğunu öne sürmüşler (Tablo 5.2.) (Hong-miao ve ark 2009).

Anadolu popülasyonunda Guldiken ve ark(2008) ın yaptığı bir çalışmada G894T (rs1799983) polimorfizminin allelik frekansını ve genotipik dağılımında İİ ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 5.2).

Başta Asya popülasyonu olmak üzere diğer popülasyonlarda yapılan çalışmalarda G894T genotipleri ve allelleri ile iskemik inme arasında bir ilişki bulunduğu ileri sürülmesine rağmen, Guldiken ve ark'nın (2008) yaptığı çalışma ile benzer şekilde bizim çalışmamızda da Anadolu popülasyonunda böyle bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 5.2.).

Tablo 5.2. eNOS G894T Polimorfizmi ile İlgili Yapılmış Çalışmaların İstatistiksel Sonuçları

	Genotip			Allel	
	GG(V/K)	GT(V/K)	TT(V/K)	G(V/K)	T(V/K)
Yao YS ve ark	NS	NS	NS	NS	Asyalılarda (p<0.05) Kafkaslarda NS
Diakite B ve ark	NS	(p<0.05)	(p<0.05)	NS	NS
Hong-miao T ve ark	NS	NS	(p<0.05)	NS	NS
Guldiken B ve ark	NS	NS	NS	NS	NS
Guo X	NS	NS	(p<0.05)	NS	Asyalılarda (p<0.05) Kafkaslarda NS
Kumar A ve ark	(p<0.05)	NS	NS	NS	NS
Wang M ve ark	NS	NS	NS	NS	(p<0.05)
Çalışmamız	NS	NS	NS	NS	NS

(V/K: Vaka/Kontrol, NS: İstatistiksel anlamlı olmayan sonuç.)

İntron 4 (27-bpTR) VNTR (4b/a)

Munshia ve ark (2010) tarafından Güney Hindistan'da yaptıkları bir çalışmada eNOS genindeki 4b/a polimorfizminin iskemik inme ile ilişkisini araştırılmış, genotip ve allelik frekansları açısından hastalarla (n:357) sağlıklı kontroller (n:283) arasında anlamlı fark saptanmıştır. eNOS geni 4a allelinin ve diğer risk faktörlerinin çoklu lojistik regresyon analizi

sonucunda iskemik inmenin en iyi tahminini yapan bağımsız risk faktörlerinin eNOS geni 4a alleli ve hipertansiyon olduğu tesbit edilmiştir (Tablo 5.3.) (Munshi ve ark 2010).

Yao ve ark (2013) yaptıkları meta-analizde eNOS 4a/b polimorfizmi hem genotipik hem de allel oranı olarak İİ riski arasında anlamlı ilişki olduğunu belirtmiştir. Asya kökenli kişilerde önemli bir ilişki saptanmıştır ancak Kafkasyalılarda bu ilişkinin olmadığı vurgulanmıştır. Sonuçta potansiyel olarak işlevsel olan eNOS 4a/b polimorfizminin İİ duyarlılığında etnik kökene özgü bir şekilde bir penetrasyon rolü oynayabileceğini düşünülmüştür (Tablo 5.3.) (Yao ve ark 2013).

Wang ve ark (2012) Çin popülasyonunda yaptığı meta-analiz çalışmasında 4b/a, T-786C, G894T polimorfizmleri ile iskemik inme ilişkisi araştırılmıştır. 4b/a için 3742 vaka, 3691 kontrol olmak üzere 7433 donörün verileri analiz edilmiş. 4b/a polimorfizmi için, dominant ve kodominant modellerde 4a allel ile İİ riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Alt grup analizinde, Çin popülasyonu için, 4a allel baskın resesif ve kodominant modellerde artan inme riskiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Tablo 5.3) (Wang ve ark 2012).

Bunun yanında Hong Miao ve ark (2009) yaptıkları bir meta-analiz çalışmasında 4b/a polimorfizmleri ile İİ arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Çalışmaya aralık 2008 yılına kadar yapılmış olan 18 vaka kontrollü çalışma dahil edilmiştir. G894T için 3880/4190 vaka/kontrol, 4b / a için 1636/1960 vaka / kontrol olmak üzere toplamda 5516 vaka, 6150 kontrol olmak üzere 11666 donöre ait veriler analiz edilmiş. Çalışma sonucunda eNOS 4b/a gen polimorfizminin iskemik inme ile ilişkili olmadığı saptanmıştır (Tablo 5.3.) (Hong-miao ve ark 2009). Hong Miao ve ark'nın (2009) konu ile ilgili yapılmış çalışmaların meta-analizi ile elde ettiği veriler, Wang ve ark'nın (2013) çalışmasındaki veriler ile çelişmektedir. Bunun sebepleri, daha önceki meta-analizde benimsenen çalışmaların sayısının nispeten düşük olması ve genetik farklılıkların etnik kökene göre değişmesi olarak gösterilmiştir (Tablo 5.3.) (Wang ve ark 2013).

Guo (2014) meta-analiz çalışmasına İİ ile ENOS G894T, intron 4 VNTR, T786C polimorfizmleri arasında ilişkiyi inceleyen 31 vaka kontrol çalışmasını dahil etmiştir. VNTR polimorfizmi için 4a/a genotipi 4b/b genotipine kıyasla İİ insidansı riski ile anlamlı olarak ilişkili saptanmıştır. Benzer şekilde, alt grup analizleri yapıldığında 4a/a Kafkasyalılar için olmasa da Asyalılar için artmış İİ riski ile yakından ilişkili bulunmuştur (Tablo 5.3.) (Guo 2014).

Jihwan ve ark (2010) sessiz beyin infarktları ile endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) genindeki (-786T>C, 4a4b ve 894G>T) polimorfizmler arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışma sonucunda ; Enos polimorfizmlerinin ve haplotiplerinin sessiz beyin infarktları için risk faktörleri olarak görev yapabildiğini ve eNOS genindeki üç farklı polimorfik lokusun interaktif olarak rol oynadığını, dolayısıyla sessiz beyin infarktları 'nın üretilmesi için sinerjik etkilere yol açtığını öne sürmüşlerdir (Tablo 5.3.) (Jihwan ve ark 2010).

Bu polimorfizm ile ilgili Yemişçi ve ark'nın (2009) ülkemizde yaptıkları bir çalışmada nitrik oksit sentaz gen polimorfizminin (intron 4'te tandem 27 bp tekrarlar) artmış laküner infarkt riski ile ilişkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, eNOS geninin intron 4a/a genotipinin izole semptomatik laküneri nfarkt için koruyucu olduğunu ve bu etkinin, promotör bölgesindeki 789C polimorfizminin yokluğu ile güçlendirildiğini öne sürmüşlerdir. Aksine bizim çalışmamızda 4a/a genotipi kuvvetli bir anlamla vaka grubunda daha yüksek oranda olup inme riskini bağımsız gösteren bir değişken olarak bulundu. Bu farklı sonuç Yemişçi ve ark'ın yalnızca laküner infarkt grubunda çalışmasından kaynaklanabilir (Tablo 5.3.) (Yemişçi ve ark 2009).

Tablo 5.3. eNOS intron 4 VNTR Polimorfizmi ile İlgili Yapılmış Çalışmaların İstatistiksel Sonuçları

	Genotip			Allel	
	4b/b(V/K)	4b/a(V/K)	4a/a(V/K)	4b(V/K)	4a(V/K)
Munshia A ve ark	(p<0.05)	NS	(p<0.05)	(p<0.05)	(p<0.05)
Yao YS ve ark	NS	NS	NS	NS	(p<0.05)
Wang M ve ark	NS	(>0.05)	(>0.05)	(>0.05)	Asyalılarda (p<0.05) Kafkaslarda NS
Guo X	NS	NS	Asyalılarda (p<0.05) Kafkaslarda NS	NS	(p<0.05)
Jihwan S ve ark	NS	NS	NS	NS	NS
Yemişçi M ve ark	NS	NS	Anadolu (p<0.05)	NS	NS
Çalışmamız	NS	NS	Anadolu (p<0.05)	NS	(p<0.05)

(V/K: Vaka/Kontrol, NS: İstatistiksel anlamlı olmayan sonuç.)

Çalışma kısıtlılık açısından hastaların vücut kilo indexi ve kolesterol alt tipleri açısından değerlendirmede yetersiz kaldı. İnmelerde TOAST sınıflamasına göre nedeni belirsiz inme oranı %25-39'dur (Kuo ve ark 2013). Atrial fibrilasyon gibi diğer inme nedenlerinin dışlanması nedeniyle daha spesifik bir hasta alt grubu seçimi ile istatistiksel

olarak bağımsız değişken miktarını azaltarak daha spesifik bir analiz imkanı sağlanmıştır. Çoğu çalışmada etyolojik açıdan bir ayırım yapılmadığından çelişkili sonuçlar ortaya çıkabilmektedir.

Sonuç olarak Anadolu popülasyonunda eNOS G894T (rs1799983) gen polimorfizminin inme riski açısından bir ilişki tespit edilmemiştir. Anadolu popülasyonunda intron 4 VTNR(4b/a) gen polimorfizminin daha kuvvetli olmak üzere T786C polimorfizmlerinin anlamlı bir şekilde inme grubunda yüksek çıkması, inmenin kesinleşmiş risk faktörleri arasına eNOS'un girebileceği önermesini kuvvetlendirir. Bu risk faktörü temelinde nitrik oksitin normal fonksiyonunun sağlanması iskemik inmede primer ve sekonder koruma açısından ileri çalışmalara ilham verecektir.



6. KAYNAKLAR

Abbott AL, 2009. Medical (nonsurgical) intervention alone is now best for prevention of stroke associated with asymptomatic severe carotid stenosis: results of a systematic review and analysis. *Stroke*,40,573–83.

Adams RD, 2006. Principles of Neurology, 8th edition, USA, McGraw Hill Co, p. 660-746.

Afifi A.K, 1998. Functional Neuroanatomy , 2nd edition, USA, Mc Graw Hill, p. 101-105.

Akçakoyun M, 2004. Koroner Arter Hastalığı Olgularında Koroner Risk Faktörleri İle Endotel Fonksiyonları Arasındaki İlişki. Kardiyoloji Uzmanlık Tezi, Koşuyolu Kalp Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Aladağ MA, Türköz Y, İH. Ö, 2010. Nitrik Oksit ve Nörofizyopatolojik etkileri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri, 20, 107-111.

Alpoim NP, Gomes BK, Pinheiro BM et al, 2014. Polymorphisms in endothelial nitric oxide synthase gene in early and late severe preeclampsia. *Nitric Oxide*, 42, 19–23.

Amarenco P, Labreuche J, Lavalley P et al, 2004. Statins in stroke prevention and carotid atherosclerosis: systematic review and up-to-date meta-analysis. *Stroke*, 35, 2902–9.

Arsava EM, 2013. Nöroloji Temel Kitabı, 1. Baskı, İstanbul, Güneş Tıp Kitapevleri, s. 692-694.

Balkan S, 2013. Nöroloji Temel Kitabı, 1. Baskı , İstanbul, Güneş Tıp Kitapevleri, s. 681-685.

Balkan S, 2009. Serebrovasküler Hastalıklar, 1. Baskı, İstanbul, Güneş Kitabevi Yayınları, s.5-41.

Bamford J, Sandercock P, Dennis M et al, 1991. Burn J, Warlow C, Classification and natural history of clinical subtypes of cerebral infarction. *Lancet*, 337, 1521-1526.

Bath PMW, Adami A, Bereczki D et al, 2014. Baseline characteristics of the 4011 patients recruited into the 'Efficacy of Nitric Oxide in Stroke' (ENOS) trial. *International Journal of Stroke*. Vol 9, 711–720.

Bath PMW, Houlton A, Woodhouse L et al, 2014. Statistical analysis plan for the 'Efficacy of Nitric Oxide in Stroke' (ENOS) trial. *International Journal of Stroke*, Vol 9, 372–374.

Beckman JS, Beckman TW, Chen J et al, 1990. Apparent Hydroxyl Radical production by Peroxynitrite; Implications for Endothelial Injury from Nitric Oxide and Superoxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87, 1620-1624.

Bengü AŞ, 2014. Doğu Anadolu Bölgesinde Erken Başlangıçlı İskemik İnme Vakaları İçin Bir Risk Faktörü Olarak Asimetrik Dimetil Arginin, Nitrik Oksit ve Endotelial Nitrik Oksit Sentazın Değerlendirilmesi. Tıbbi Biyokimya Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Bloch KD, Wolfram JR, Brown DM et al, 1995. Three Members of the Nitric oxide Synthase II Gene Family Colocalize to Human Chromosome 17. *Genomic*, 27, 526-530.
- Bombeli T, Mueller M, Haeberli A, 1997. Anticoagulant properties of the vascular endothelium. *Thromb Haemost*, 77,408-423.
- Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A, 2003. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1,23(2),168-75.
- Bonitta R, 1992. Epidemiology of stroke. *Lancet*, 339, 342-344.
- Bougusslavsky J.,Van Mele G., Regli F, 1998. The Lausanne stroke registry. Analysis of 1000 consecutive patients with first stroke. *Stroke*, 19, 1083 – 1092.
- Bozkurt M, Dereci H, Yağız O ve ark, 2006. Arka Sistem Serebrovasküler Hastalıklarda Risk Faktörlerinin Anatomik Lokalizasyonla Olan ilişkisinin Değerlendirilmesi. *İstanbul Tıp Dergisi*, 2, 5-7.
- Buse R, Fleming I, VB. S, 1995. Nitric Oxide Formation in the Vascular Wall: Regulation and Functional Implications. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 196, 7-18.
- Lowenstein JC, Dinerman LJ, Snyder HS et al, 1994. Nitric oxide, A physiologic Messenger. *Annals of internal medicine*, 120, 3 , 227-237.
- Cimarosti H, Henley JM, 2008. Investigating the mechanisms underlying neuronal death in ischemia using in vitro oxygen-glucose deprivation: potential involvement of protein sumoylation. *Neuroscientist*, 14, 626-636.
- Connolly SJ, Laupacis A, Gent M et al, 1991. Canadian Atrial Fibrillation Anticoagulation (CAFA) Study. *J Am Coll Cardiol*, 18-349.
- Çoban EK, Aslan IK, Kırbaş D, 2011. İskemik Serebrovasküler Hastalıkta Metabolik Sendrom Sıklığı ve Karotis İntima-Media Kalınlığı İlişkisi. *Nöropsikiyatri Arşivi Dergisi*, 48, 234-7.
- Çoban EK , İçen NK, Acar MÖ ve ark, 2015. İnme Risk Faktörleri Arasında Genetiğin Yeri; Nadir Görülen İki Sendromun İnmeye Birlikteliğinin Tartışılması ve Literatür Taraması. *Turk J Neurol*, 21, 104-9.
- Çoban O, Bebek N, 2011. Serebrovasküler Hastalıklar. In: Adams and Victor's Principles of Neurology, 9. baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, s. 746-845.
- Çoban O, 2011. Beyin Damar Hastalıklarında Tanımlar, Sınıflama, Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri, 2. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, s. 235-239.
- De Graaf JC, Banga JD, Moncada S et al, 1992. Nitric Oxide Functions as an Inhibitor of Platelet Adhesion under Flow Conditions. *Circulations*, 85.

Demir R, Atış Ö, Özel L. ve ark, 2014. Genç İskemik Stroklu Hastalarda Protrombotik Gen Polimorfizmleri ve Strok Risk Faktörlerinin Belirlenmesi. *Sakaryamj*, 4(3), 119-124.

Diakite B, Hamzi K, Slassi I et al, 2014. G894T endothelial nitric oxide synthase polymorphism and ischemic stroke in Morocco. *Meta Gene* 2, 349–357.

Diodati JG, Dakak N, Gilligan DM et al, 1998. Effect of atherosclerosis on endothelium dependent inhibition of platelet activation in humans. *Circulation*, 98, 17-24.

Djordjevic V, Stankovic M, Sreckovic V et al, 2009. Genetic Risk Factors for Arterial Ischemic Stroke in Children: A Possible MTHFR and eNOS Gene-Gene Interplay?. *Journal of Child Neurology*, 823-827.

Duman T, Dede HÖ, 2010. İnmeye ait prognostik faktörler: Hastaya ait faktörlerin gözden geçirilmesi. *Journal of Türk Beyin Damar Hast Derg*, 16, 7-16.

Etminan M, Takkouche B, Isoma FC et al, 2005. Risk of ischaemic stroke in people with migraine: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*, 330-63.

Gezici T, Kökeş Ü, Hız F ve ark, 2008. Akut İskemik ve Akut Hemorajik İnmede Risk Faktörü Olarak Homosistein. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 15, 181-5.

Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ et al, 2011. Guidelines for the Primary Prevention of Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 42, 517-84.

Gören A, Budak F, Başoğlu M, 1992. İskemik Serebrovasküler Hastalıklarda Risk Faktörünün Araştırılması. *J Ssk Tepecik Hosp Turkey*, 2, 1.

Guo X, 2014. Endothelial nitric oxide (eNOS) gene G894T and VNTR polymorphisms are closely associated with the risk of ischemic stroke development for Asians: meta-analysis of epidemiological studies. *Mol Biol Rep*, 41, 2571–2583.

Güldiken B, Sipahi T, Güldiken B ve ark, 2008. Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in Turkish patients with ischemic stroke. *Mol Biol Rep*, 36, 1539–1543.

Gümüşel HK, 2008. Endotel Disfonksiyonu İle Koroner Risk Faktörleri Ve Koroner Arter Hastalığı Yaygınlığı Ciddiyeti Arasındaki İlişki. *Uzmanlık Tezi*, İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul.

He FJ, Nowson CA, Mac Gregor GA, 2006. Fruit and vegetable consumption and stroke: meta-analysis of cohort studies. *Lancet*, 367-320.

Hong-miao T, Guo-zhong C, 2009. Endothelial NO synthase gene polymorphisms and risk of ischemic stroke: A meta-analysis. *Neuroscience Research*, 64, 311–316.

İlhan S, Alp R, Koçer A ve ark, 2002. Serebrovasküler Hastalıklarda Majör Risk Faktörleri, SVH Tipi ve Cinsiyet İlişkisi. Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, 13,3.

Jones DW, Hall JE, 2004. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure and Evidence From New Hypertension Trials. Hypertension, 43,1-3.

Kang KM, Kim OJ, Jeon YJ et al, 2014. Interplay between polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene and metabolic syndrome in determining the risk of ischemic stroke in Koreans. Journal of the Neurological Sciences, 344, 55–59.

Karşıdağ S, Çetin S, Ufacık M ve ark, 1998. Atrial Fibrilasyonlu Hastalarda İnme Riski. Türkiye Tıp Dergisi Dahili Tıp Bilimleri, 5, 78-82.

Kumar A, Misra S, Kumar P et al, 2016. Association between Endothelial nitric oxide synthase G894T gene polymorphism and risk of ischemic stroke in North Indian population: a case-control study. Neurological Research, 38,7, 575-579.

Kumral E, 2004. Serebrovasküler Hastalıkların Epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri Nöroloji, Serebrovasküler Hastalıklar Özel Sayısı, 1, 15-21.

Kuo CY, Yen MF, Chen LS et al, 2013. Increased risk of hemorrhagic stroke in patients with migraine: a population-based cohort study. PLoS One, 8, 1, e55253.

Li YY, 2011. Endothelial nitric oxide synthase G894T gene polymorphism and essential hypertension in the Chinese population: a meta-analysis involving 11,248 subjects. Intern Med, 50, 2099–2106.

Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH et al, 1997. The endothelial cell ecto -ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39. J Clin Invest, 99, 1351-1360.

Munshi A, Rajeshwar K, Kaul S et al, 2010. VNTR polymorphism in intron 4 of the eNOS gene and the risk of ischemic stroke in a South Indian population. Brain Research Bulletin, 82, 247–250.

Mustafa B, Çekmen MB, Turgut M ve ark, 2001. Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'in Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri. T Klin Pediatri, 10.

Nathan C, QW X, 1994. Nitric Oxide Synthases: Roles, Tolls, Controls. Cell, 78, 915-918.

Niu W, Qi Y, 2011. An updated meta-analysis of endothelial nitric oxide synthase gene: three well-characterized polymorphisms with hypertension. PLoS One 6, e24266.

O'Brien JT, Erkinjuntti T, Reisberg B et al, 2003. Vascular Cognitive Impairment. Lancet Neurology, 2, 89-98.

Onat Ş, Erkin G, 2008. İnmede risk faktörleri. FTR Bil J PMR Sci, 1, 30-7.

Ökten İA, Güzel A, 2012. Beynin Arteriyel Anatomisi. Türk Nöroşirürji Dergisi. 22, 3, 171-188.

Öztürk Ş, 2009. Serebrovasküler Hastalık Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri-Dünya ve Türkiye Perspektifi. Turk Geriatri Derg, 13, 51-8.

Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S, 1987. Nitric Oxide Release Account for the Biological Activity of Endothelium- Derived Relaxing Factor. Nature ReviewNeuroscience, 327, 524-526.

Pereira AC, Sposito AC, Mota GF et al, 2006. Endothelial nitric oxide synthase gene variant modulates the relationship between serum cholesterol levels and blood pressure in the general population: new evidence for a direct effect of lipids in arterial blood pressure. Atherosclerosis, 184, 193-200.

Quyumi AA, Dakak N, Andrews NP et al, 1995. Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for coronary atherosclerosis. J Clin Invest, 95, 1747-55.

Sacco RL, 1995. Risk Factors and Outcomes for Ischemic Stroke. Neurology, 45, 1, 10-4.

Sanossian N, Ovbiagele B, 2009. Prevention and Managment of Stroke in Very Elderly Patients. Lancet Neurol , 8, 1031-41.

Sawada T, Kishimoto T, Osaki Y et al, 2008. Relation of the Glu298Asp polymorphism of the nitric oxide synthase gene to hypertension and serum cholesterol in Japanese workers. Prev Med, 47, 167-171.

Shesely EG, Maeda N, Kim HS et al, 1996. Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. Proc Natl Acad Sci U S A, 93,13176-81.

Song J, Kim OJ, Kim HS. H et al, 2010. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of silent brain infarction. International Journal of Molecular Medicine, 25, 819-823.

Sudlow M, Warlow CP, 1996. Comparing Stroke Incidence Worldwide What Makes Studies Comparable? Stroke, 27, 50-8.

Şahin AD, Üstü Y, Işık D, 2015. Serebrovasküler Hastalıklarda Önlenebilen Risk Faktörlerinin Yönetimi. Ankara Med J, 15, 2, 106-113.

Şengün İŞ, Kutluk K, Ergör G, 2004. Atrial Fibrilasyonlu İskemik İnme Hastalarında İnme Alt Tipleri ve Diğer Risk Faktörleri. Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Dergisi, 18,133-9.

Tangürek B, Özer N, Sayar N ve ark, 2005. Endotelyal nitrik oksit sentetaz (eNOS) gen polimorfizminin (T-786 C) koroner arter hastalığı ile ilişkisi. Türk Kardiyol Dern Arfl - Arch Turk Soc Cardiol, 33, 8, 467-472.

Tokgöz S, Zamani GA, Durakbaşı GH ve ark, 2012. TAFI gene polymorphisms in patients with cerebral venous thrombosis. Acta Neurol Belg, 113, 291-297.

Utku U, Çelik Y, 2005. İnmede etiyojji, sınıflandırma ve risk faktörleri, Serebrovasküler Hastalıklar, 2.Baskı, Antalya, Öncü Basımevi, s. 61-7.

Utku U, Çelik Y, 2005. İnmede etiyojji, sınıflandırma ve risk faktörleri, Serebrovasküler Hastalıklar, 2.Baskı, Antalya, Öncü Basımevi, s. 57-72.

Xiong L, Hu M, Zhang X et al, 2012. Association between Glu298Asp/677C-T single nucleotide polymorphism in the eNOS/MTHRF gene and blood stasis syndrome of ischemic stroke. *Gene*, 511, 475–479.

Wang M, Jiang X, Wu W et al, 2013. Endothelial NO Synthase Gene Polymorphisms and Risk of Ischemic Stroke in Asian Population: A Meta- Analysis. *PLoS ONE* 8, 3, e60472.

Warlov CP, Dennis MS, Van Gijn J et al, 2001. *Stroke: a practical guide to management*. Second Edition. Oxford: Blackwell Science, 1-60.

Wolf PA, D'Agostino RB, O'Neal MA et al, 1992. Secular trends in stroke incidence and mortality. The Framingham Study. *Stroke*, 23, 1551-5.

World Health Organization Europe, International Diabetes Federation Europe, Türkiye Diyabet Vakfı, Türkiye'de diyabet profili, Diyabet bakım, izlem ve tedavisinde mevcut durum değerlendirilmesi, 2009. Çalıştay Raporu.

Yao YS , Chang W, Y et al, 2013. An updated meta-analysis of endothelial nitric oxide synthase gene: Three well-characterized polymorphisms with ischemic stroke. *Gene* 528, 84–92.

Yaylalı YT, Küçükbaşlan M, 2011. Endotel disfonksiyonu. *Pam Med J*, 4, 3, 152-157.

Yemişçi M, Gürsoy ÖY, Dalkara T, 2009. Akut İskemik İnmenin Patofizyolojisi. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Akut İnme Özel Sayısı*, 2, 3, 1-9.

Yemişçi M, Gürsoy ÖY, Dalkara T, 2013. *Nöroloji Temel Kitabı*, 1. Baskı, İstanbul, Güneş Tıp Kitapevleri, s. 688.

Yemişçi M, Gürsoy ÖY, Dalkara T, 2013. *Nöroloji Temel Kitabı*, 1. Baskı, İstanbul, Güneş Tıp Kitapevleri, s. 687-692.

Yemişçi M, Sinici I, Özkara HA ve ark, 2009. Protective role of 27bp repeat polymorphism in intron 4 of eNOS gene in lacunar infarction. *Free Radical Research*, 43,3, 272-279.

Yoshitomi H, Iwaoka H, Kubo M et al, 2011. Beneficial effect of *Sparassis crispa* on stroke through activation of Akt/eNOS pathway in brain of SHRSP. *J Nat Med*, 65, 135–141.

Zerrin Y, 2000. Türk Atrial Fibrilasyon (TAF) Çalışması Non-valvüler Atrial Fibrilasyonlu Hastalarda Antikoagulan ve Aspirin'in Tromboembolik Risk Üzerine Etkilerinin Karşılaştırıldığı çok merkezli, Randomize Çalışma. Türk Kardiyoloji Dern Arş, 28, 8-19.

Zivin JA, 1998. Factors determining the therapeutic window for stroke. Neurology, 50, 599–603.

