

T.C.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

NÖROLOJİ ANABİLİMDALİ

AKUT İSKEMİK İNMELİ HASTALARDA
SERUM PANNEKSİN 1 DÜZEYİNİN
ENFARKT VOLÜMÜ VE PROGNOZLA
İLİŞKİSİ

Dr. Yasemin Erdemir

Uzmanlık Tezi

DANIŞMAN

Dr.Öğrt.Üyesi Fatma ŞİMŞEK

ERZURUM-2021

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi Nöroloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 23.09.2020 tarih ve 2000231595 sayılı yazısı ile "Akut İskemik İnmeli Hastalarda Serum Panneksin 1 Düzeyinin Enfarkt Volümü Ve Prognozla İlişkisi" konulu tez konusunun araştırma görevlisi Dr. Yasemin ERDEMİR tarafından çalışılması uygun görölmüştür. Seçilen konu incelenmek üzere Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi Etik Kurulu Başkanlığı'nca görüşölmüş ve 05.11.2020 tarih ve 9 sayılı oturumunun 60 nolu kararı ile etik kurallara uygun görölmüştür. Çalışma Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nın 05.10.2020 tarih ve 6 sayılı oturumunun 50 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TABLolar LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
TEŞEKKÜR	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Tanım	3
2.2. Epidemiyoloji	4
2.3. Patofizyoloji	4
2.3.1. Glutamat Eksitotoksisitesi	6
2.3.2. Oksidatif Stres	6
2.3.3. Lipid Peroksidasyonu	7
2.3.4. İltihap	8
2.3.5. Kan Beyin Bariyeri Disfonksiyonu	8
2.3.6. Lökosit İnfiltrasyonu	9
2.4. Risk Faktörleri	9

2.5. Klinik Yaklaşım ve Sınıflama	11
2.6. İskemik İnmede Görüntüleme	13
2.6.1. Bilgisayarlı Tomografi	13
2.6.2. Konvansiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme	15
2.6.3. Difüzyon Ağırlıklı Manyetik Rezonans Görüntüleme	16
2.7. Prognoz	17
2.8. Panneksin Kanal Proteinleri Ailesi	19
2.8.1. Panneksin-1	21
2.8.2. Panneksin-2	22
2.8.3. Panneksin-3	22
2.9. Panneksinlerin Biyokimyası	23
2.10. Panneksinlerin Kanal Fonksiyonları	24
2.10.1. Panx1'in Aracılık Ettiği Parakrin Sinyali	24
2.10.1.1. Kalsiyum Dalgaları	24
2.10.1.2. Vazodilatasyon Ve Vazokonstriksiyon	26
2.10.1.3. Tat Hissi	26
2.10.1.4. Havayolu Savunması	27
2.10.1.5. Viral Enfeksiyon	27
2.10.2. Panx1'in Aracılık Ettiği Hücresel Yanıtlar	28
2.10.2.1. Bağışıklık Tepkisi	28
2.10.2.2. Tümörjenez	29

2.10.2.3. İskemik Hücre Ölümü Ve Epileptik Nöbet	29
2.10.2.4. Apoptoz.....	31
2.10.2.5. Keratinosit Farklılaşması.....	31
3. MATERYAL VE METOD	32
3.1. Çalışma İçin Uygunluk Kriterleri.....	32
3.2. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri.....	32
3.3. Hastaların Enfarkt Volümünün Hesaplanması	33
3.4. Serum Örneklerinin Toplanması ve Çalışılması.....	36
3.5. İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA.....	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKLAR	52
EKLER	67

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1. İnme Risk Faktörlerinin Sınıflandırılması	10
Tablo 2.2. İskemik İnme Tipleri.....	11
Tablo 4.1. Demografik Özellikler	37
Tablo 4.2. Komorbidite Varlığı Dağılımı.....	38
Tablo 4.3. Hastaların Klinik Bulguları	38
Tablo 4.4. Pannexin-1 Düzeyinin Dağılımı	39
Tablo 4.5. AIS Hastaların Laboratuvar Bulguları	40
Tablo 4.6. İnme Şiddetine Göre Demografik Özellikler.....	40
Tablo 4.7. İnme Şiddetine Göre Komorbidite Dağılımları	41
Tablo 4.8. İnme Şiddetine Göre Klinik Ve Laboratuvar Bulguları.....	42
Tablo 4.9. Panexin-1 Düzeyi Demografik Ve Klinik Bulgular Arasındaki İlişki	43
Tablo 4.10. Panexin-1 Düzeyi Yaş Ve Laboratuvar Bulgular Arasındaki İlişki	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. İskemik İnmenin Başlıca Hücresel Patofizyolojik Mekanizmaları ...	5
Şekil 2.2. Konneksinler ve Panneksinler	19
Şekil 2.3. Üç Panneksin Ailesi Üyesinin Şematik Gösterimi	20
Şekil 2.4. Panx-1 kanallarının Açılması ve ATP'nin Salınımı	25
Şekil 2.5. Panx-1'in İnflamasyondaki Rolü	28
Şekil 2.6. Panx-1 Ve Beyin Hücreleri Ve Ölümü Arasındaki İlişki	30
Şekil 4.1. AİS Hastalarında Komorbid Oranı	37
Şekil 4.2. Pannexin-1 Düzeyinin Dağılımı	39
Şekil 4.3. AİS'i Öngörmede Pannexin-1 Düzeyinin Tanısal Performans Değerlendirmesi	45

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

4-HNE	:	4-Hidroksinonenal
ACA	:	Anterior Serebral Arter
ADC	:	Görünür Difüzyon Katsayısı
AİS	:	Akut İskemik Atak
APV	:	(2R)-Amino-5-Fosfonovaleik Asit
ATP	:	Adenozin Trifosfat
ATPaz	:	Adenozin Trifosfataz
BT	:	Bilgisayarlı Tomografi
Ca	:	Kalsiyum
CAM	:	Hücre Adezyon Molekülleri
Cxs	:	Konneksinler
DAG	:	Difüzyon Ağırlıklı Görüntüleme
DVT	:	Derin Ven Trombozu
EC	:	Endotel Hücreleri
ER	:	Endoplazmik Retikulum
FLAIR	:	Fluid Attenuated Inversion Recovery
GİA	:	Geçici İskemik Atak
ICAM-1	:	Hücrelerarası Adezyon Molekülü-1
IL	:	İnterlökin
iNOS	:	İndüklenebilir NOS
K	:	Potasyum
KBB	:	Kan-Beyin Bariyeri
MCA	:	Orta Serebral Arter
MCAO	:	Orta Serebral Arter Tıkanıklığı
MCP	:	Monosit Kemotaktik Proteini
MRG	:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
Na	:	Sodyum
NF-κB	:	Nükleer Faktör-Kb

NMDA	:	N-Metil-D-Aspartat
NMDAR	:	N-Metil-D-Aspartat Reseptörü
NO	:	Nitrik Oksit
NOS	:	Nitrik Oksit Sentaz
OGD	:	Oksijen-Glukoz Yoksunluğu
ONOO-	:	Peroksinitrit
P2Y	:	Purinerjik 2Y
Panx	:	Pannexin
PP2	:	Protein Fosfataz 2
PSA	:	Posterior Serebral Arterden
SAG	:	Duyarlılık Ağırlıklı Görüntüleme
shRNA	:	Short Hairpin RNA
SMC	:	Düz Kas Hücreleri
TGF- β 1	:	Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta 1
TNF- α	:	Tümör Nekroz Faktör- A
TOAST	:	Trial Of Org 10172 In Acute Stroke Treatment
tPA	:	Doku Plazminojen Aktivatörü
VCAM-1	:	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1

TEŞEKKÜR

Mesleğimin ayrıntılarını öğrenmek ve hastalarımın zarar vermeden faydalı olmak için önümde aşmam gereken birçok engel olduğunun farkında olarak; Uzmanlık eğitimi boyunca iliminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı; başta tez hocam Dr.Öğrt.Üyesi Fatma ŞİMŞEK olmak üzere saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Yalçın YILIKOĞLU, Prof. Dr. İbrahim İYİĞÜN, Doç.Dr. Gökhan ÖZDEMİR, Dr.Öğrt. Üyesi Mehmet Nuri KOÇAK, Doç.Dr. Mustafa CEYLAN, Dr.Öğrt. Üyesi Nuray BİLGE, Dr.Öğrt. Üyesi Alper EREN, Dr.Öğrt. Üyesi Recep YEVGİ' ye;

Rotasyon eğitimlerim süresince bana yardımcı olan psikiyatri, dahiliye, kardiyoloji ve radyoloji kliniği hocalarıma ve ekiplerindeki herkese;

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım asistan arkadaşlarım; Dr.Nazım KIZILDAĞ, Dr.Yunus Emre AKTAŞ, Dr. Esin GÖĞEBAKAN, Dr.Hasan KARAMAN, Dr.Merve KARAMAN, Dr.Cafer ZARDİ, Dr.Ravza TOSUNOĞLU, Dr. Gökhan AYDOĞAN ve kıdemlilerim olan; Dr.Reyhan YÜKSEK Uz. Dr. Nursen ARSLAN, Dr. Yıldız DAĞCI ve Dr. Tuba ANIK'a;

Tüm asistanlığım boyunca bilgilerinden faydalandığım, şahsıma çok emeği geçen, sabır ve sevgi ile davranan, sevgili kıdemlim Uz.Dr. Filiz DEMİRDÖĞEN'e;

Klinik ve yoğun bakım hemşirelerimize, sekreterlerimize ve başta EMG eğitimim boyunca sabırla yardımlarını esirgemeyen Kubilay DADAK, Yakup KAVAZ' a;

Hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen annem, babam ve kardeşlerime;

Sonsuz sabırları ile destek olan sevgili eşim Mete ve oğullarım İlbeyi Osman ile Aybars' a;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yasemin Erdemir

TEMMUZ 2021

ÖZET

Akut İskemik İnmeli Hastalarda Serum Pannexin 1 Düzeyinin Enfarkt Volümü Ve Prognozla İlişkisi

Amaç: Pannexin-1 (Panx1), iskemik koşullar altında apoptotik ve inflamatuvar sinyalleşme kaskadlarına aracılık ederek inmenin patofizyolojisinde rol oynadığı öne sürülmüştür. Akut iskemi atak (AİS) geçiren hastalarda serum Panx1 düzeyinin enfarkt volümü ve prognozla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Metod: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yakutiye Araştırma Hastanesi Nöroloji Servisinde akut iskemik inme tanısı ile yatırılan benzer yaş ve cinsiyet dağılımına sahip 45 hasta ve 45 sağlıklı kişi dahil edildi.

Bulgular: AİS hastalarında kontrol grubuna kıyasla ortanca Panx1 düzeyi daha yüksek saptandı (6,9 vs 2,6; $p<0,001$). Panx1 düzeyi ile yaş, NIHSS skoru, enfarkt volümü ve laboratuvar bulguları arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Panx1 $\geq 5,0$ olması %86,7 duyarlılık ve %97,7 özgüllük ile AİS'i öngördüğü saptandı ($AUC \pm SE = 0,971 \pm 0,01$; Pozitif prediktif değer (+PV)=%97,5; Negatif prediktif değer (-PV)=%87,5; $p<0,001$).

Sonuç: Panx1 kanallarının inmede patojenik bir rol oynadığını Panx1'in seviyelerinin arttığı gözlenmiştir. Panx1 kanallarının sadece eksitotoksik hücre ölümü için bir kanal olarak değil, aynı zamanda bağışıklık hücresi aktivasyonu / infiltrasyonu ve serebral kan akışının bir düzenleyicisi olarak rol oynayabilir.

Anahtar Sözcükler: Pannexin, İnme, Enfarkt volümü

ABSTRACT

The Relationship of Serum Pannexin 1 Level with Infarct Volume and Prognosis in Patients with Acute Ischemic Stroke

Objective: Pannexin-1 (Panx1) has been suggested to play a role in the pathophysiology of stroke by mediating apoptotic and inflammatory signaling cascades under ischemic conditions. It was aimed to investigate the relationship of serum Panx1 level with infarct volume and prognosis in patients with acute ischemia attack (AIS).

Methods: Forty-five patients with similar age and gender distribution and 45 healthy individuals hospitalized with the diagnosis of acute ischemic stroke in the Neurology Service of Atatürk University Faculty of Medicine Yakutiye Research Hospital were included.

Results: The median Panx1 level was found to be higher in AIS patients compared to the control group (6.9 vs 2.6; $p<0.001$). There was no significant correlation between Panx1 level and age, NIHSS score, infarct volume and laboratory findings. Panx1 ≥ 5.0 was found to predict AIS with 86.7% sensitivity and 97.7% specificity ($AUC \pm SE = 0.971 \pm 0.01$; Positive predictive value (+PV)=97.5%; Negative predictive value (-PV)=87.5%; $p<0.001$).

Conclusion: It has been observed that Panx1 channels play a pathogenic role in stroke and the levels of Panx1 increase. Panx1 channels may play a role not only as a conduit for excitotoxic cell death, but also as a regulator of immune cell activation/infiltration and cerebral blood flow.

Keywords: Pannexin, Stroke, Infarct volume

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnme, Dünya Sağlık Örgütü tarafından, 24 saatten fazla süren veya vasküler orijinden başka görünür bir neden olmaksızın ölüme yol açan fokal (veya koma durumunda global) serebral fonksiyon bozukluğunun hızla gelişen klinik belirtilerinden oluşan klinik bir sendrom olarak tanımlanmaktadır (1). Küresel olarak, inme ikinci önde gelen ölüm nedenidir (2). İskemik inmeyi takiben hasta sonuçlarını iyileştirmek için yeni terapötik hedeflerin belirlenmesi gereklidir. Son zamanlarda pannexinler, beynin birden fazla hücre tipinde, felç sonucunu iyileştirmede potansiyel kanallar olarak ortaya çıkmaktadır.

Panneksinler, birincil işlevi hücre içi depolardan pürinlerin düzenlenmiş salınımı gibi görünen yeni keşfedilmiş bir zar kanalları ailesidir (3). Panneksin izoformu Pannexin1 (Panx1), Panx2 ve Panx3 olmak üzere 3 tipe ayrılır. Panx1 izoformu, arteryal ağaç boyunca endotel hücrelerinde (EC'ler) ve ayrıca çapı 300 µm'den küçük arterler ve arteriyollerin düz kas hücrelerinde (SMC'ler) bulunur (4). Panx1 yeni lokasyonlarda keşfedilmeye devam etse de, bu kanalların vasküler fonksiyonun düzenlenmesinde oynadığı roller tam olarak netliğe kavuşmamıştır.

Panx1, sıçanın hem nöronlarında hem de serebral vaskülatüründe bulunur (5). Pannexinlerin silinmesi veya bloke edilmesinin, orta serebral arter tıkanıklığı (MCAO) prognozunu önemli ölçüde iyileştirdiği gösterilmiştir (6-8). Fakat bu çalışmaların önemli kısıtlılıkları vardır. Pannexinlerin sistemik olarak uygulanan farmakolojik inhibitörleri, MCAO / reperfüzyonu takiben enfarktüs boyutunu önemli ölçüde etkiler (6, 8). Ek olarak, Panx1 ve Panx2'nin silinmesi kalıcı MCAO'nun ardından enfarktüs hacmini azaltmıştır (7). Bununla birlikte, Panx1'in silinmesinin de vaskülatürdeki Panx3'ü yukarı doğru düzenlediği gösterilmiştir, bu da potansiyel bir telafi edici mekanizmayı gösterir (9). Bu çalışmaların odak noktası nöronlarda bulunan panneksinler ve adenosin trifosfatın (ATP) nöronal fonksiyon üzerindeki etkileri üzerinedir. Bu veriler, inme sonucunu belirlemede önemli bir rol oynayan pannexinlere işaret ederken, vasküler hücreler de dahil olmak üzere beyindeki pannexin

kanallarını küresel olarak etkilediği ve Panx1'in özellikle serebral vaskülatürdeki rolünü keşfetme ihtiyacını düşündürmektedir.

Panx1 kanallarından pürin salınmasının hem venöz hem de arteriyel damarlarda vasküler işlevi düzenlediği gösterilmiştir (10, 11). Örneğin, endotelial Panx1, venüllerde tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ile indüklenen lökosit adezyonunu ve göçünü düzenler (11). TNF- α , bir iskemik inmenin ardından salınır. Anti-TNF- α antikoru veya nötrofil infiltrasyonunun inhibisyonu, farelerde inme sonucunu iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu bulgular inmenin ciddiyetini belirlemede inflamasyonun rolünü gösterir (12, 13).

Venöz enflamatuar yola ek olarak, Panx1 tarafından serebral kan akışının yukarı yönde düzenlenmesi de inme sonucunu etkileyebilir. Yeterli serebral kan akışının yeniden sağlanması akut iskemik inmeyi takiben iyileşme için hayati öneme sahiptir (14, 15). Serebral kan akışı büyük ölçüde, artmış lümen basıncına yanıt olarak arterlerin daraldığı miyojenik reaktivite ile düzenlenir. Serebral iskemi gibi patofizyolojik durumlarda miyojenik reaktivite değişir, bu nedenle mekanizmalarını anlamak çok önemlidir (16). Son raporlar, miyojenik reaktivitenin, özellikle hücre dışı pürinler (örneğin ATP) tarafından aktive edilen Purinerjik 2Y (P2Y) reseptörleri aracılığıyla purinerjik bağımlı bir mekanizma olduğunu ileri sürmektedir (14, 17, 18). Bu nedenle, ATP'nin salınımını P2Y reseptörlerinin aktivasyonu ile birleştiren mekanizmalar, hastalık durumlarında serebral kan akışının düzenlemesini iyileştirmek ve prognoza olumlu katkı sağlamak için farmakolojik müdahalelerin hedefi olabilir.

Bu çalışmada, akut iskemi atak (AİS) geçiren hastalarda serum Panx1 düzeyinin enfarkt volümü ve prognozla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tanım

İnme, vasküler bir nedene bağlı olarak merkezi sinir sisteminde akut fokal bir yaralanmanın neden olduğu bir nörolojik defisitini ani başlangıcı olarak tanımlanır (19). İnme; kan damarlarının bir kan pıhtısı / trombüsü tarafından tıkanması veya arteriyovenöz malformasyonlar veya anevrizmalar nedeniyle kan damarlarının yırtılması sonucu meydana gelir. İnme, iskemik ve hemorajik olarak kategorize edilebilir (20). İnmelerin yaklaşık %85'i iskemiktir ve morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir (21).

Beyin en yüksek enerji tüketen organlardan biridir ve fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için kandan glukoz ve oksijen alımına ihtiyacı vardır. İnmeden kaynaklanan oksijen ve besin eksikliği, nörolojik bozukluklarla sonuçlanan ciddi beyin hasarına neden olabilir (22). Beyne giden kan akışının azalmasına veya kesilmesine bağlı olarak nöronların fonksiyonlarını yapabilmesi için gereken oksijen ve glukozun sağlanamaması durumuna 'serebral iske mi' denir. Oksijen ve glukozun sağlanamaması durumunda mitokondriyal ATP üretimi azalır ve metabolik yan ürünlerin birikmesine neden olur. Beyin, yüksek enerji tüketimi ve elektriksel aktivite nedeniyle global iskemiden kaynaklanan hasarı sürdüren ilk organlardan biridir. İske miye bağlı ATP üretimindeki azalma, iyon gradyanlarının kaybı, uyarıcı nörotransmitterlerin salınımı (glutamat), hücre içi kalsiyum (Ca^{2+}) seviyelerinde artış ve nöronal eksitotoksisite gibi sonuçlara neden olur (23).

Fokal beyin iskemisi genellikle tromboz veya embolizmin bir sonucu olarak beyne giden arteryel kan akışının engellenmesinden kaynaklanır. İske mi yeterince uzun sürerse, geri döndürülemez nöron kaybı meydana gelir ve bu da iskemik inme ye neden olur. İlk olarak stenotik serebral veya internal karotis arter rüptüre plağın ani trombozu, etkilenen arter tarafından beslenen bölgede iske miye yol açar. Kalpte veya büyük bir arterde oluşan bir pıhtının embolizasyonu, beyin iskemisinin en yaygın kaynağıdır ve

geçici iskemik atak (GİA) ve inme vakalarının yaklaşık %60-%70'ini oluşturur (24).

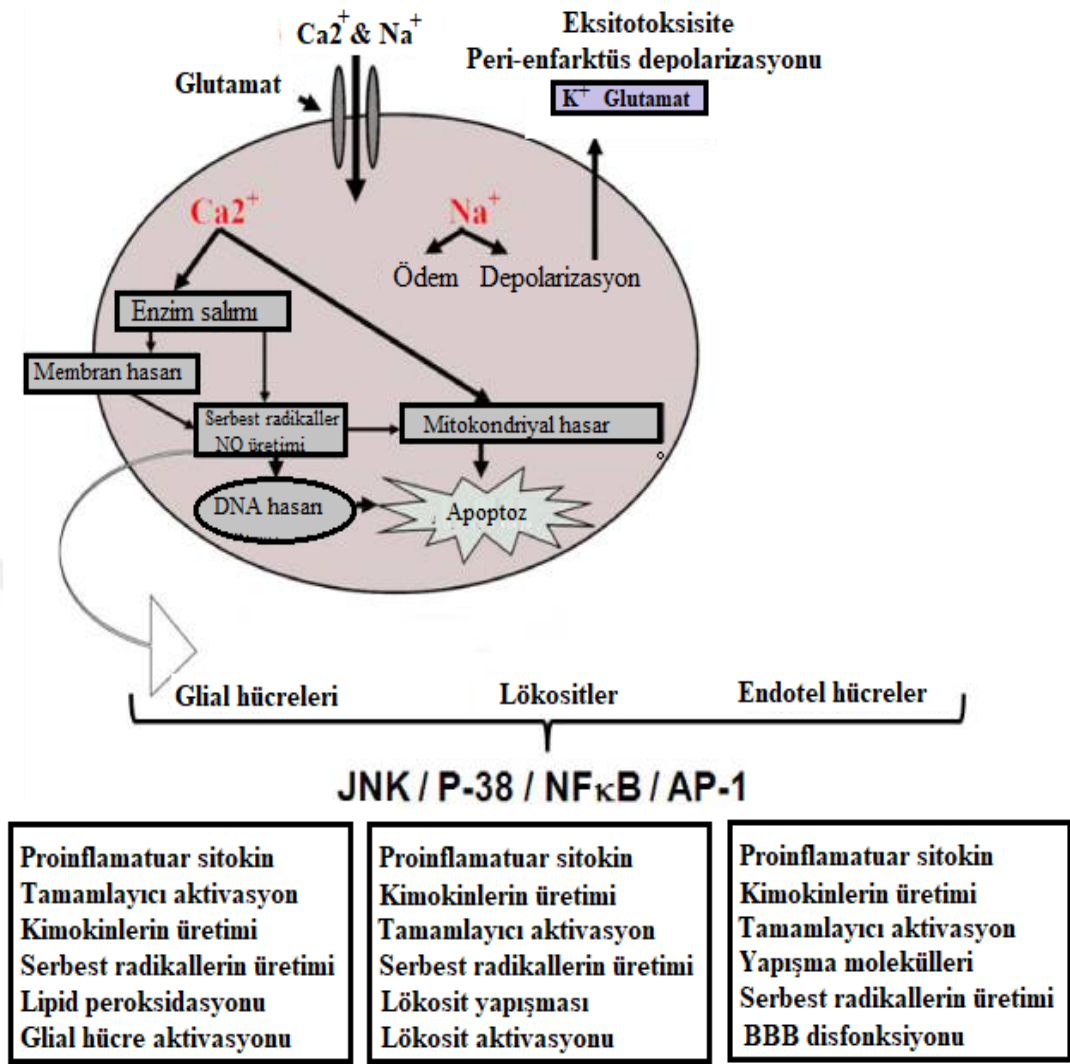
2.2. Epidemiyoloji

İnme, yıllık yaklaşık 5,5 milyon ölüm oranıyla dünya çapında ikinci önde gelen ölüm nedeni olarak sıralanmaktadır. İnme yükü yüksek ölüm oranı dışında kalıcı felç gibi yüksek morbiditeye neden olur. Bu nedenle inme, halk sağlığı açısından ciddi ekonomik ve sosyal sonuçları olan önemli bir hastalıktır (25). İnme prevalansı coğrafik ve sosyoekonomik koşullara göre dünya genelinde farklılık göstermektedir. ABD'de yaklaşık %3 (26), Avrupa'da yaklaşık %1 (27), Orta Asya'da yaklaşık %0,3 (28), Doğu Asya'da yaklaşık %0,5 olarak bildirilmiştir (29). Türkiye'de inmenin prevalansı veya insidansına popülasyona uyarlanmış bir veri seti bulunmamaktadır. Yapılan nadir çalışmalar mevcuttur ve genel olarak insidans %1,7 civarındadır (30)

Epidemiyolojik serebral infaktların değerlendirilmesinde coğrafik konum, yaş, cinsiyet, ırk gibi faktörler önemlidir. Vakaların yaklaşık %75'i 65 yaşın üzerindeki insanlardan oluşur ve dolayısıyla artan yaş prevalansı etkiler (31). Siyah ırk daha fazla inme riskine sahiptir (32). İnme insidansı erkeklerde kadınlara kıyasla daha yüksek olmakla birlikte 85 yaşından sonra kadınlarda insidans daha yüksek gözlenmektedir (33, 34).

2.3. Patofizyoloji

İnme patofizyolojisi; enerji yetersizliği, hücre iyonu homeostazı kaybı, asidoz, hücre içi kalsiyum seviyelerinde artış, eksitotoksisite, serbest radikal aracılı toksisite, araşidonik asit ürünleri üretimi, sitokin aracılı sitotoksisite, tamamlayıcı aktivasyon, kan-beyin bariyerinin (KBB) bozulması, glial hücrelerin aktivasyonu ve lökositlerin infiltrasyonu gibi karmaşık süreçleri içerir (Şekil 2.1). Bunlar, iskemik çekirdek bölgelerinde nekroza yol açabilen birbiriyle ilişkili ve koordineli olaylardır. Serebral bir iskemiden sonraki birkaç dakika içinde, kan akışı azalmasına maruz kalan beyin dokusunun çekirdeği ölümcül şekilde yaralanır ve ardından nekrotik hücre ölümüne uğrar (35-37).



Şekil 2.1. İskemik İnmenin Başlıca Hüresel Patofizyolojik Mekanizmaları (37)

İskemiye bağlı enerji yetmezliği, nöronların depolarizasyonuna yol açar. Spesifik glutamat reseptörlerinin aktivasyonu, hücre içi Ca^{2+} ve Na^{+} 'ı önemli ölçüde artırır ve K^{+} , hücre dışı boşluğa salınır. Ödem, hücre içi boşluğa su kaymalarından kaynaklanır. Artan hücre içi haberci Ca^{2+} seviyeleri proteazları, lipazları ve endonükleazları aktive eder. Serbest radikaller, zarlara, mitokondriye ve DNA'ya zarar vererek hücre ölümünü tetikleyerek ve daha sonra glial hücrelerde, endotelial hücrelerde ve sızan lökositlerde JNK, p-38, NFκB ve AP-1 aktivasyonunu tetikleyen inflamatuvar araçlar üretilir. Bu, pro-inflamatuvar sitokin ve kemokin salgılanmasıyla sonuçlanır ve endotelial adezyon moleküllerinin yukarı regülasyonu yoluyla lökositlerin istilasına yol açar.

2.3.1. Glutamat Eksitotoksitesi

İskeminin neden olduğu nöronal hasarın önemli bir kısmına, hücre içi kalsiyumda toksik artışlara yol açan aşırı uyarıcı amino asit birikimi aracılık eder (38). Hücre içi kalsiyumdaki bu artış, sonuçta hücre ölümüne yol açan çoklu sinyal yollarını aktive eder. Serebral kan akışının azalması veya sona ermesinden kısa bir süre sonra, enerjiye bağımlı hücrel pompalar, glikoza bağı ATP üretimindeki düşüş nedeniyle başarısız olur ve hücreye çok sayıda iyonik türün akışı ile sonuçlanır. Bu, ozmoz ve hücrel depolarizasyon yoluyla hücrel şişmeye neden olur. Kalsiyum iyonları (Ca^{2+}) voltaja bağı ve ligand-kapılı iyon kanallarından hücreye girerek, bir dizi proteaz, kinaz, lipaz ve endonükleazın aktivasyonuna, içsel apoptotik yolun tetiklenmesine ve böylece hücre ölümüne neden olur (39). Beyindeki başlıca uyarıcı nörotransmitter olan glutamat, iskemiyi takiben hücre dışı boşlukta birikir ve reseptörlerini aktive eder. Glutamat reseptör aktivasyonu, hücre içi iyonların konsantrasyonunda, özellikle Ca^{2+} ve sodyum iyonlarında (Na^+) değişikliklere neden olur (Şekil 2.1). Hücre içi Na^+ yükselmeleri, iskemiden sonra erken zaman noktalarında nöronal sağkalım için zararlı olabilir (37).

2.3.2. Oksidatif Stres

Artan kanıtlar, oksidatif stres ve apoptozun, iskemik inmenin patofizyolojisinde yakından bağlantılı fenomenler olduğunu göstermektedir. Nöronlar normal olarak vücuttaki tüm hücreler gibi hem ekzojen hem de endojen kaynaklardan temel düzeyde oksidatif strese maruz kalırlar. Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, oldukça reaktif moleküllerdir. Serbest radikaller DNA, proteinler ve lipidlerle reaksiyona girerek çeşitli derecelerde hasar ve işlev bozukluğuna neden olabilir (40). İnme kaynaklı beyin hasarına karışan serbest radikaller arasında süperoksit anyon radikali, hidroksil radikali ve nitrik oksit (NO) bulunur. İskemik inme hasarı sırasında oksijenden türetilen serbest radikallerin birincil kaynağı, elektron taşıma işlemi sırasında süperoksit anyon radikalleri üreten mitokondridir [28]. İskemi sonrası nöronlarda potansiyel olarak önemli bir başka süperoksit kaynağı, araşidonik asidin siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolları yoluyla

metabolizmasıdır (41). Oksijen serbest radikalleri aynı zamanda aktive mikrogia ve iskemik dokunun reperfüzyonunu takiben NADPH oksidaz sistemi yoluyla periferik lökositleri infiltre ederek de üretilebilir. Bu oksidasyon daha fazla doku hasarına neden olur ve iskemik inmeden sonra apoptoz için önemli bir tetikleyici molekül olduğu düşünülmektedir (37).

Nitrik oksit, birkaç NO sentaz (NOS) izoformundan biri aracılığıyla L-arginin'den üretilir (42). İndüklenebilir NOS (iNOS), mikrogia ve monositler gibi enflamatuar hücrelere bağımlıdır. Bu iki izoform, çoğunlukla, iskemik koşullar altında beyne zarar verir. Endotel hücrelerinde (eNOS) bulunan üçüncü bir izoform vazodilatör etkilere sahiptir ve yerel kan akışını iyileştirerek yararlı bir rol oynaması muhtemeldir (43). N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör aktivasyonunun nNOS tarafından NO üretimini uyardığı ve iskemik inmede eksitotoksik kaynaklı yaralanmada muhtemelen rol oynadığı gösterilmiştir (44). NO, zarlar boyunca serbestçe yayılır ve üreme noktasında süperoksitle reaksiyona girerek başka bir yüksek reaktif oksijen türü olan peroksinitrit (ONOO^-) üretebilir. Hem oksijenden türetilmiş serbest radikaller hem de reaktif nitrojen türleri, apoptoz ve iltihaplanma gibi inmeyi takiben hücre ölümüne dahil olan çeşitli yolların etkinleştirilmesinde rol oynarlar. Oksijen arzının azalması aynı zamanda anaerobik glikoliz yoluyla laktat birikimine ve dolayısıyla asidoza yol açar (37).

2.3.3. Lipid Peroksidasyonu

Farklı oksijen radikal türlerinin üretiminin yanı sıra asidoz, hücre içi protein sentezini de engeller. Lipid peroksidasyonunun inme patogeneğinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Membran lipid peroksidasyonunun nöronal apoptozu indüklediği mekanizma, sodyum- potasyum adenosin trifosfataz ($\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{ATPaz}$), glikoz taşıyıcıları ve glutamat taşıyıcıları gibi membran taşıyıcılarını kovalent olarak değiştiren ve böylece işlevlerini bozan 4-hidroksinonenal (4-HNE) adı verilen bir aldehit oluşumunu içerir (45). Ca^{2+} ve serbest radikaller, doğrudan etkileri yoluyla potansiyel olarak zarar verirken, nükleer faktör- κB (NF- κB), hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 ve interferon düzenleyici faktör 1 gibi nöroprotektif transkripsiyon faktörlerini de aktive

edebilir (46). Bu transkripsiyon faktörlerinin bazıları, enflamatuar sitokinlerin (interlökin (IL)-1, IL-6 ve TNF-a) ve kemokinlerin (IL-8 ve monosit kemotaktik proteini (MCP)-1), endotelial hücre yapışma moleküllerinin (selektinler, hücrelerarası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1)) ve diğer proinflamatuar genlerin (interferon-indüklenebilir protein-10) ekspresyonunu indükler (37).

2.3.4. İltihap

Beyin dokusunda, iskemik bir olaydan sonra proinflamatuar araçları salgılayabilen endotel hücreleri, astrositler, mikroglia ve nöronların dahil olduğu hücre popülasyonu vardır. Transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, sitokinler için artmış protein seviyelerine ve inme sonrası beyin dokusunda endotel hücre adezyon moleküllerinin (CAM'ler) ekspresyonunda artışa neden olur (47). İnme sonrası beyin iltihabında önemli bir rol, özellikle hasarın penumbral bölgesinde mikrogliaya atfedilir (48). Aktif mikroglia, çok sayıda proinflamatuar sitokin ile toksik metabolitler ve enzimler üretir (49). Mikroglial hücrelere ek olarak astrositlerin de inmeye bağlı beyin iltihabında önemli bir yeri vardır. Bu hücreler hem proinflamatuar sitokinleri hem de eritropoietin, dönüştürücü büyüme faktörü beta 1 (TGF- β 1) ve metalotiyonin-2 gibi nöroprotektif faktörleri üretebilir. Mikroglial ve astrosit ürünlerinin karışık doğası nedeniyle (hem yıkıcı hem de koruyucu faktörler), glia'nın genel rolü, iskeminin başlangıcından günler veya haftalar sonra meydana gelen koruyucu veya rejeneratif aktivitelerle, inmeden sonra farklı zaman noktalarında değişiklik gösterebilir (37).

2.3.5. Kan Beyin Bariyeri Disfonksiyonu

Beyin endoteli, KBB gösterdiği gibi, diğer organlara kıyasla oldukça farklıdır. Bununla birlikte, iskemik yaralanmadan sonra diğer organlarda olduğu gibi, damar duvarının bazal laminasının degradasyonu ile birlikte artmış geçirgenlik ve azalmış bariyer işlevi ile inme hasarına yanıt verir (50). Benzer şekilde, akut iskemik inmenin beyin endoteliumunun ekstrasvasküler merkezi sinir sistemi hücreleri (astrositler, mikroglia, nöronlar) ve intravasküler hücreler

(trombositler, lökositler) ile etkileşimlerini artırdığına ve bu etkileşimlerin yaralanma sürecine katkıda bulunduğuna dair önemli kanıtlar vardır (51). İnmeye verilen tüm bu yanıtların net sonucu, serebral vaskülatürün aşağıdaki fenotipleri varsaymasıdır: 1) beyin dokusunun zayıf kılcal perfüzyonu, 2) dolaşımdaki hücreler için pro-yapışkan, 3) proinflamatuvar, 4) pro-trombojenik ve 5) azalmış endotel bariyer fonksiyonu. Normal fizyolojik işlevlerdeki bu değişiklikler, bu enflamatuvar tepkilerin her birinin aynı zararlı yöne doğru eğilmesiyle birikerek merkezi sinir sistemi hücreleri ve dokuları için zararlı sonuçlara neden olur (37).

2.3.6. Lökosit İnfiltrasyonu

İnme patogenezinde lökositlerin rol oynadığını gösteren çok sayıda kanıt vardır. Lökositlerin reperfüzyonla indüklenen doku hasarına ve mikrovasküler disfonksiyona aracılık ettiği iddiası üç mekanizma ile desteklenmektedir: 1) lökositler, doku hasarının başlangıcından önce iskemik dokularda birikir, 2) nötroopenik hale getirilen hayvanlar, iskemik inmeye karşı azalmış bir yaralanma yanıtı sergiler ve 3) spesifik lökosit veya endotelial CAM'lere yönelik monoklonal antikolar (mAb'ler) ile lökosit-endotel hücre yapışmasının önlenmesi ayrıca inme hasarına karşı önemli koruma sağlar (51). Nötrofillerin baskın olduğu polimorfonükleer lökositler, bu nedenle kötüleşen inme sonucunda büyük ölçüde rol oynar (37).

2.4. Risk Faktörleri

Popülasyonda inme yükünün azaltılması, değiştirilebilir risk faktörlerinin belirlenmesini ve risk azaltma çabalarının etkinliğinin gösterilmesini gerektirir. Hem değiştirilebilir (örneğin, diyet, komorbid durumlar) hem de değiştirilemez risk faktörleri (örneğin yaş, ırk) dahil olmak üzere inme için çok sayıda risk faktörü vardır. Hemorajik ve iskemik inme için benzer risk faktörleri olmakla birlikte, bazı önemli farklılıklar vardır. Hipertansiyon, hemorajik inme için özellikle önemli bir risk faktörüdür, ancak iskemik inmeye de yol açabilen aterosklerotik hastalığa katkıda bulunur. Öte yandan hiperlipidemi, koroner ateroskleroz için bir risk faktörü olduğu gibi, ektrakraniyal ve intrakraniyal kan

damarlarının aterosklerozuna bağı inmeler için de özellikle önemli bir risk faktörüdür. Atrial fibrilasyon, kardiyembolik inme için bir risk faktörüdür (52).

Risk faktörleri değiştirilemez, değiştirilebilir ve yeni (potansiyel) risk faktörleri olmak üzere üç gruba ayrılır.

Tablo 2.1. İnme Risk Faktörlerinin Sınıflandırılması (52)

Değiştirilemez Risk Faktörleri	Etki
Yaş	Özellikle ≥ 55 yaş
Cinsiyet	Erkek
İrk	Siyah
Genetik faktör	Aile öyküsü
	Apolipoprotein E
	Metilenetetrahidrofolat redüktaz
	Endotelial nitrik oksit sentaz
	Faktör V Leiden
	Sitokrom P450 4F2
	Beta-fibrinaz 4D
	Fosfodiester ch4q25
Değiştirilebilir Risk Faktörleri	
Hipertansiyon	Büyük damar ateroskleroza
	Küçük damar oklüzyonu
	İntraserebral hematoma
Sigara	Ateroskleroz
Diabetes Mellitus	Ateroskleroz
Hiperlipidemi	Ateroskleroz
Atrial Fibrilasyon	Tromboembolik inme
	Ateroskleroz
Alkol	
Fiziksel inaktivite	
Obezite	
Asemptomatik Karotis Stenoza	
Yeni (Potansiyel) Risk Faktörleri	
Hiperhomosisteinemi	Ateroskleroz
	Tromboz
İnflamasyon/İnfeksiyon	Ateroskleroz

2.5. Klinik Yaklaşım ve Sınıflama

Akut iskemik inme tedavisinde en önemli faktör zamandır. İskemik inmeli hasta her dakika 190.0000 beyin hücrelerini kaybeder, her dakika yaklaşık 14.000.000.000 sinir bağlantısı yok edilir ve her dakika 12 km sinir lifi kaybolur. Beyin kan kaynağından mahrum kaldığı her saat için 3.6 yıl yaşlanır (53). Bu nedenle iyi bir anamnez ve muayene önemlidir. Nörolojik semptomları olan herhangi bir hastanın değerlendirilmesinin en önemli kısmı, başvuru şikayetinin öyküsüdür. Başlangıç zamanı, hastanın en son sağlıklı görüldüğü zamanı belirtir ve tedavi açısından önem arz eder (54).

İskemik inme etiyojisini belirlemek, prognoz, yönetim ve klinik sonlanım açısından önemlidir. Akut inme kohortunda tedavi ve yanıtının ölçülmesi, iskemik inme alt tipine dayalıdır. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) sınıflaması, inme sınıflama sistemleri arasında en çok uygulanan ve kabul gören, kullanımı kolay sınıflama sistemidir. TOAST'a göre iskemik inme, büyük arter aterosklerozu, kardiyoembolizm, küçük arter oklüzyonu (lakün), belirlenebilen diğer nedenlere bağlı inme ve etiyojisini bilinmeyen inme olarak 5 ana alt tipe ayrılmaktadır (Tablo 2.2) (55).

Tablo 2.2. İskemik İnme Tipleri (55)

1. Büyük damar hastalığı (tromboz veya emboli)
2. Kardiyoembolizm
3. Küçük damar hastalığı (lakün)
4. Belirlenebilen diğer etyolojiler
5. Etiyojisini belirlenemeyen inme
• İki veya daha fazla neden negatif değerlendirme
• Yeterli inceleme yapılmış ancak neden saptanamamış iskemik inme
• Yetersiz inceleme

Hastanın ilk değerlendirmesinde elde edilen muayene bulguları, elektrokardiogram ve ekokardiyografi, kan sayımı, ekstrakranial arterlere yönelik doppler görüntüleme bulguları ve beyin görüntülemesindeki bulgular ile hasta bu gruplardan birine dahil edilir.

Büyük damar hastalığı: Bu grup hastalarda, ateroskleroz sebebiyle ciddi (>% 50) damar stenozu, büyük bir arterin veya kortikal dal arterlerinin tıkanıklığı ile ilişkili klinik ve nöro-görüntüleme bulguları vardır. Klinik bulgular açısından serebrokortikal bozukluklar (ihmal, afazi, sınırlı motor tutulum gibi), beyin sapı ve serebellar disfonksiyon mevcuttur. İntermittan klodikasyo öyküsü, geçici iskemik ataklar, aynı vasküler bölgede karotis üfürümü ile zayıf nabız klinik tanımı desteklemeye yardımcı olur. Bilgisayarlı tomografi (BT) veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) 1,5 cm'den daha büyük kortikal yada subkortikal hemisferik infarktların varlığı büyük arter ateroskleroz kaynaklı olabilir. Tanının uygun görüntüleme yöntemiyle aynı intrakraniyal veya ekstrakraniyal arterde %50'den fazla bir stenoz gösterilmesiyle desteklenmelidir. Tetkik esnasında, kardiyojenik emboli kaynakları dışlanmalıdır. Arteriyografik çalışmalar normale veya sadece minimal değişiklikler gösteriyorsa, büyük arter aterosklerozuna sekonder inme tanısı yapılamaz (55, 56).

Kardiyoembolizm: Kalpte oluşan bir emboli sonucu arteriyel oklüzyonu mevcuttur. Kardiyoembolizme göre yüksek riskli ve orta riskli olarak sınıflandırılır. Kardiyoembolik inme teşhisi için en az bir kardiyak emboli kökeni tanımlanmalıdır. Klinik ve beyin görüntüleme bulguları büyük arter aterosklerozu için tarif edilen bulgularla benzerlik gösterir. Birden fazla vasküler bölgede ya da sistemik embolizmde, geçirilmiş GİA veya geçirilmiş inme kanıtı, kardiyojenik inmenin klinik tanısını destekler. Büyük arter aterosklerozu kaynaklı tromboz veya embolinin dışlanması gerekir. Orta riskli bir kalp emboli kaynağı olan ve başka inme nedeni olmayan bir hastada inme, olası bir kardiyoembolik inme olarak sınıflandırılır (55).

Küçük arter oklüzyonu: Perforan arterlerin iskemisine veya hipoperfüzyonuna bağlı gelişir. Willis poligonu, anterior serebral arter (ACA), orta serebral arterin (MCA) lentikülostriat dalları, baziler arterin paramedian dalları başlıca perforan arterlerini oluşturur. Bu arterler ana dallarından 90°'lik açıyla çıkan mikron düzeyinde çapa sahip küçük arterlerdir. Hastalar geleneksel laküner infarktlardan birine sahiptir. Serebral kortikal disfonksiyon

(afazi, agnozi, apraksi ya da hemianopsi) kanıtı olmamalıdır. Küçük arter oklüzyonları görülen hastalarda diyabetes mellitus veya hipertansiyon öyküsü olması klinik tanıyı destekler. Çoğunlukla subkortikal alanda sessiz infarktlar olarak görülen lezyonlar, kritik bölgelerde görüldüğünde klinik tablolara sebep olur. Hastaların lezyonu ile uyumlu klinik tablosunun olmasının yanısıra BT/MR görüntülemelerinde, ilgili lezyon çapı 1.5 cm'den küçük, subkortikal hemisferik lezyon veya beyin sapı lezyonu şeklinde görülmesi gerekir. Emboli için potansiyel kardiyak kaynaklar olmamalıdır. Büyük ekstrakraniyal arterlerin değerlendirilmesinde, ipsilateral arterde %50'den fazla stenoz görülmemelidir. Klasik laküner sendromları saf motor inme, saf duyuşal inme, mikst sensorimotor inme, ataksik hemiparezi, dizatri/beceriksiz el sendromu oluşturmaktadır (55, 57).

Belirlenebilen diğer nedenlere bağlı inme: Non-aterosklerotik vaskülopati, hiperkoagülabite durumu veya hematolojik bozukluklar gibi nadir inme nedenleri olan hastalardan oluşur. Boyut ve lokasyondan bağımsız akut iskemik inmenin klinik ve BT / MRG bulguları mevcuttur. Kan testleri veya arteriyografi gibi tetkikler, olağandışı inme nedenlerinden birini ortaya koyabilir. Kardiyak kökenli embolizm ve büyük arter ateroskerozu dışlanmalıdır (55, 58).

Etyolojisi Belirlenemeyen İnme: İskemik inme nedeninin bulunamadığı hastalar bu grupta tanımlanır. Ayrıntılı incelemeye karşın etyoloji belirlenememiş veya aynı olayı açıklayabilecek birden fazla sebep olabilir.

2.6. İskemik İnmede Görüntüleme

2.6.1.Bilgisayarlı Tomografi

Şüpheli inme hastasının yönetiminde ilk adım bir görüntüleme incelemesidir. Genellikle bu aşamada uygulanan kontrastsız BT testi, kanamanın varlığını hızla dışlayabilir. Kanamanın olmaması iskemik bir olay tanısını destekler ve BT'de de bazı iskemi kanıtları görülebilir. Gri ve beyaz madde arasındaki kontrast kaybıyla ilgili hiper yoğun damar işareti ve

işaretlerin tümü (örneğin, insular şerit işareti ve lentiform belirsizlik gibi) BT'de akut iskemi belirtilerinin örnekleridir (59).

Kontrastsız BT, erken hiperakut dönemde (0-6 saat) düşük sensitiviteye sahiptir. Bulgular radyoloğun deneyimine, etkilenen bölgeye ve semptom başlangıcından itibaren geçen zamana bağımlıdır. Kontrastsız BT'de MCA enfarktlarında erken hiperakut dönemde %30-40 olguda bulgu saptanamamaktadır (60). Hiperakut dönemde görülen, intravasküler trombüs/emboliyi gösteren hipderdens damar en erken BT bulgusudur (61). Herhangi bir damarda gözlenebilmesine rağmen en sık MCA ile ilişkilidir. "Dens MCA işareti" olarak adlandırılan bu bulgu MCA'nın M1 segmentindeki oklüzyonu simgeler ve olguların yaklaşık %30'unda gözlenir. Hiperakut dönemin ilk saatlerinde oklüzyon segmentine ve kollateral akıma bağlı olarak kontrastsız BT'de erken sitotoksik ödeme sekonder bir dizi işaret gözlenir. Bunlar; gri-beyaz cevher ayrımının kaybolması, insular korteks kaybı (insular şerit işareti) ve lentiform nükleusun silinmesidir. Gri-beyaz cevher ayrımının kaybolması oklüzyonu takip eden ilk 3 saat içinde vakaların %50-70'inde gözlenmektedir (62).

MCA oklüzyonunu takiben, MCA'nın diğer sulama alanlarına kıyasla insular korteks iskemiye karşı daha hassastır. Çünkü ACA ve posterior serebral arterden (PSA) kollateral akım bakımından zayıf bir desteğe sahiptir (63). Sitotoksik ödeme bağlı oluşan hipodansite sebebiyle insular korteksin lateralinde gri-beyaz cevher ayrımının kaybolmasına "İnsular şerit işareti" denir. Bununla birlikte sitotoksik ödeme bağlı lentiform nükleusun hipoatenüe olması ve gri-beyaz cevher arayüzlerinin kaybolması "lentiform nükleusun silinmesi" olarak adlandırılır. Lentiform nükleusta gözlenen bu değişimler, oklüzyondan en erken 1 saat sonra gözlenebilmekte ve vakaların %75'inde 3. saatte ortaya çıkmaktadır (63).

Hiperakut dönem sonrası, hücre içinde su içeriğinde artış olur. Geç hiperakut dönemin (6-24 saatlik dönem) ilk 6 saatlik döneminde sulkal silinme, sonraki 12 saatlik döneminde ise atenüasyon azalması gerçekleşir. Enfarktın 3-10. günlerinde subakut evrede hipoatenüasyon ve hücre şişmesi belirgin

hale gelerek maksimum kitle etkisine ulaşır. Bu olay büyük infarktlarda sekonder hasarın temel sebebidir. Kitle etkisi, subakut evrenin 7-10. günlerinde azalmaya başlar ve 4. haftaya doğru kaybolur (64). Subakut evrede şişliğin azalması esnasında kortikal peteşiyal kanamalar oluşabilir ve korteks atenüasyonunun artmasına sebep olur. Bu olay “BT sislenme fenomeni” olarak bilinmektedir (65). BT sislenme fenomeni, vakaların yaklaşık yarısında gözlenmiştir. İnfarktı takiben 2-3. haftalarda korteks normale yakın dansiteye dönmesinden dolayı bu dönemde yapılan görüntülemeler yanlış tanıya neden olabilir. Bununla birlikte aynı dönemde kan beyin bariyerinin bozulmasına bağlı giral ve yamalı paternde parankimal kontrastlanmalar gözlenebilir. Kronik periyotta kitle etkisi ve ödem bulguları ortadan kalkar. Etkilenen bölge negatif kitle etkisine sahip gliotik-ansefalomalazik hipodens bir alan olarak izlenir (66, 67).

2.6.2. Konvansiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme

Konvansiyonel MRG, inme anından itibaren ilk saatlerde akut serebral iskeminin belirlenmesinde BT'den daha üstün tanısal performansa sahiptir. Birden çok planda patolojik antiteyi (inme ve taklitçilerini) gösterebilme avantajına sahiptir. İlk 3-6 saatte T1 ağırlıklı görüntüler çoğunlukla normaldir. İlk 12-24 saatte giruslarda şişme ve hipointensite bulguları oluşmaya başlar ve gri-beyaz cevher ayrımında bulanıklaşma izlenir. İlk dört saatte fluid attenuated inversion recovery (FLAIR) görüntülerde inmelerin %30-50 civarında kortikal şişme ve hiperintensite gözlenir (68). Semptom anından itibaren 7. saatte FLAIR görüntülerde inmelerin tamamında patolojik sinyal izlenir. FLAIR'da inmenin erken bulgusu intraarteriyel hiperintensitedir. Bu olay antegrad akımın gecikmesi veya retrograd kollateral akıma bağlı oluşan yavaş akımı ifade eder. T2 ağırlıklı görüntüler çoğunlukla 12-24 saatte pozitifleşir. Bu nedenle FLAIR'e kıyasla biraz daha geçtir. T2/FLAIR görüntülerde büyük arterlerin herhangi birinin etkilenmesinde arterde hiperintens izlenimi yani flow-void yokluğu saptanabilir. T2* ve duyarlılık ağırlıklı görüntüleme (SAG) sekanslarda intraarteriyel trombüs “blooming” hipointensite olarak izlenebilir. SAG sekansı BT ve diğer MRG yöntemlerine kıyasla serebral kanamayı belirlemede daha

güçlü yöntemdir (68). SAG sekansı ile inme kohortunda çok küçük beyin kanamaları rahatlıkla saptanabilir. Bununla birlikte konvansiyonel MRG, inmenin hiperakut döneminde difüzyon ağırlıklı MRG kıyasla daha az duyarlılığa ve yanlış negatif sonuca sebep olabilir (69).

2.6.3. Difüzyon Ağırlıklı Manyetik Rezonans Görüntüleme

Difüzyon ağırlıklı MRG su moleküllerin termal enerjilerinden kaynaklanan rastgele (brownian) harekete dayanır. Difüzyon yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğrudur. Su moleküllerinin intraselüler ve ekstraselüler alanlardaki dağılımları yaklaşık olarak 3'te 1 oranındadır. Akut inme durumunda, intraselüler ve ekstraselüler suyun homeostazdaki değişim sonucunda intraselüler su hacmi artarak sitotoksik ödem oluşur ve ekstraselüler su hacmi azalır. Bu sebeple ekstraselüler alandaki suyun difüzyonu kısıtlanır ve sitotoksik ödem alanları (iskemik beyin dokusu) normal beyin dokusuna göre parlak-hiperintens olarak gözlenir (68, 70).

Difüzyon ağırlıklı MRG genellikle single-shot eko planar görüntüleme ile sağlanır. Hızlı olması önemli bir avantajdır, fakat duyarlılık artefaktları, düşük SNR gibi dezavantajları mevcuttur. Bu dezavantajların ortadan kaldırılması için 3-6 arasında puls gönderilen readout segmentli difüzyon ağırlıklı görüntüleme (DAG) önerilir. Readout segmentli DAG'da inceleme süresi uzar, ancak sinyal gürültü oranı ve uzaysal rezolüsyon iyileşir, duyarlılık artefaktları azalır (71, 72).

DAG; moleküler seviyede hareketliliğin ölçüsünde "görünür difüzyon katsayısı (ADC; Apparent diffusion coefficient)" kullanılır (72). İskeminin başlangıcından 30 dakika sonra düşük ADC değerleri gözlenmeye başlanır. İlerleyen dönemde ADC daha fazla düşer ve 3. günde en düşük seviyelere ulaşır. 3.günü takiben sonraki günlerde ADC'de artış başlar ve 1-4 haftada normal değerine döner. Buna ADC psödonormalizasyonu denilmektedir. ADC'de bu değişimler sitotoksik ödemin üzerine vazojenik ödemin oluşmasına

bağlı olabilir. Ekstraselüler su miktarında artışla oluşan gliozis birkaç hafta ile ay arasında gelişir. Bu dönemde ADC normalden yüksektir (73).

Difüzyon ağırlıklı MRG'de inmede semptom anından 30 dakika sonrasında düşük ADC değerleriyle beraber hiperintens sinyal gözlenir. 1-4. haftada psödonormal ADC değerleriyle beraber T2 sinyal özellikleri nedeniyle difüzyon ağırlıklı MRG'de hafif hiperintensite devam edebilir. İlk bir hafta boyunca sinyal intensitesi artar, fakat sonraki dönemlerde azalır. Bununla birlikte sinyal uzun süre hiperintens kalabilir (74). İlk birkaç günde difüzyon ağırlıklı MRG'deki hiperintensite kısıtlı difüzyonda bağlıken ilerleyen dönemlerde enfarktlı beyin dokusunun T2 sinyalinin artışından kaynaklanır. Bu sebeple, difüzyon ağırlıklı MRG enfarkt yaşını tahmin etmede tek başına kullanılmamalı, ADC haritasıyla birlikte değerlendirilmelidir. Semptom anından itibaren ilk 6 saat içerisinde akut inme tespitinde difüzyon ağırlıklı MRG'nin %88-100 duyarlılığa ve %86-100 özgüllüğe sahip olduğu gösterilmiştir (75, 76). Difüzyon ağırlıklı MRG'de difüzyonun viskozite nedeniyle kısıtlandığı (serebral abse gibi) veya yüksek nükleus/sitoplazma oranına sahip bir lezyon varlığında (lenfoma gibi) akut iskemi bulguları yanlış pozitif olabilir; fakat bu tür lezyonlar çoğunlukla konvansiyonel MRG bulgularına kıyasla akut iskemiden ayırt edilebilir (72).

2.7. Prognoz

Beyin iskemisinin süresine bağlı olarak, hafif beyin disfonksiyonu, kalıcı semptomlar ve sakatlık olsun ya da olmasın beyinde kalıcı hasarla birlikte uzun süreli disfonksiyon olabilir. Serebral iskemiden sonra hasta sonuçları kalıcı etkilerin olmamasından (geçici iskemik atak) kalıcı sakatlığa ve ölüme kadar değişebilir. Bozukluğun ciddiyeti, hastanın iskemik olaydan önceki fonksiyonel durumuna bağlıdır. Örneğin, hafif bilişsel bozukluğu veya demansı olan hastalar, iskeminin daha düşük nöronal toleransını düşündüren, iskemik inmeden sonra daha fazla görece bilişsel bozukluğa sahiptir (77). Bu durum hastanın yaşı ile de bağlantılıdır (78).

Nörolojik fonksiyonu korumak için iskemi / enfarktüs sonrası hızlı reperfüzyon gerekli olmakla birlikte hasar görmüş hücrelerin yok edilmesinden kaynaklanan doku disfonksiyonunu ve hücre nekrozunu hızlandırabilir. Serebral iskemi-reperfüzyon hasarı, tromboliz veya mekanik trombektomi sonrası ortaya çıkabilir. Reperfüzyon beyin akışını düzeltir ve tersine çevrilebilir şekilde hasarlı dokuyu kurtarabilir, fakat daha uzun bir iskemik dönemden sonra reperfüzyon ilk tıkanmadan daha büyük bir enfarkta neden olabilir. Bu enfarktın mekanizması lökosit infiltrasyonunu, trombosit aktivasyonunu, kompleman aktivasyonunu ve vazojenik iskemiye yol açan kan-beyin bariyerinin parçalanmasını içerir (79).

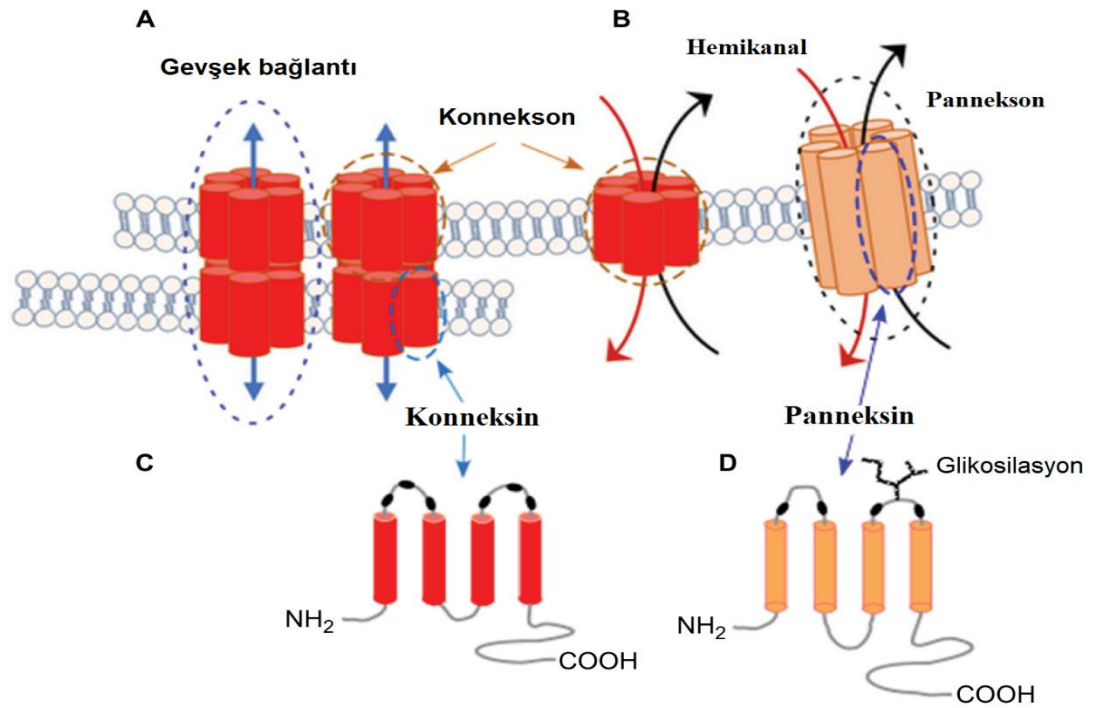
Doku plazminojen aktivatörü (tPA) sonrası hemorajik inmeye dönüş başka bir komplikasyondur. Trombolitik uygulamalardan sonra hastanın durumunun kötüleşmesi ciddi olarak düşünülmelidir. Belirtiler arasında farkındalık veya bilinçte bir değişiklik, nörolojik muayenede kötüleşme, artan güçsüzlük, yeni veya kötüleşen baş ağrısı, kan basıncı veya nabızda değişiklikler yer alabilir. Bu durumlarda ilk adım hemen beyin BT, temel laboratuvarlar ve beyin cerrahisi konsültasyonu olmalıdır (80).

Akut iskemik inmeli hastalar ayrıca enfeksiyonlar ve tromboembolik komplikasyonlar dahil olmak üzere hareketsizliğe bağlı komplikasyonlar açısından risk altındadır. Aspirasyon riski nedeniyle, hastalara ağız yoluyla yiyecek veya içecek verilmeden önce bir yutkunma değerlendirmesi yapılmalıdır. Aspirasyon önlemleri alarak ve üriner kateter gibi invaziv cihazların kullanımını en aza indirerek enfeksiyonu en aza indirmeye özen gösterilmelidir. Ek olarak, mekanik derin ven trombozu (DVT) profilaksisi mümkün olduğunca uygulanmalıdır. Farmakolojik DVT profilaksisi de düşünülmelidir, ancak bu, tPA uygulamasından sonraki 24 saat içinde kontrendikedir ve hemorajik dönüşümü olan hastalar için kontrendike olabilir (24).

2.8. Panneksin Kanal Proteinleri Ailesi

Panneksin kanal proteinleri ailesi Panneksin 1 (Panx1), Panneksin 2 (Panx2) ve Panneksin 3 (Panx3) olmak üzere üç üyeden oluşur ve ilk olarak 2000 yılında Panchin ve arkadaşları tarafından memeli genomunda tanımlanmıştır (81).

Panneksinler, omurgasız gevşek bağlantı proteinleri olan inneksinler (Inxs) ile sınırlı sekans homolojileri (% 25-33 özdeşlik) nedeniyle keşfedilmiştir ve başlangıçta fonksiyonel özellikleri omurgalıların gevşek bağlantı proteinleri olan Konneksinler (Cxs) ile benzerlik gösterdiği tahmin edilmektedir (Şekil 2.2) (81, 82).



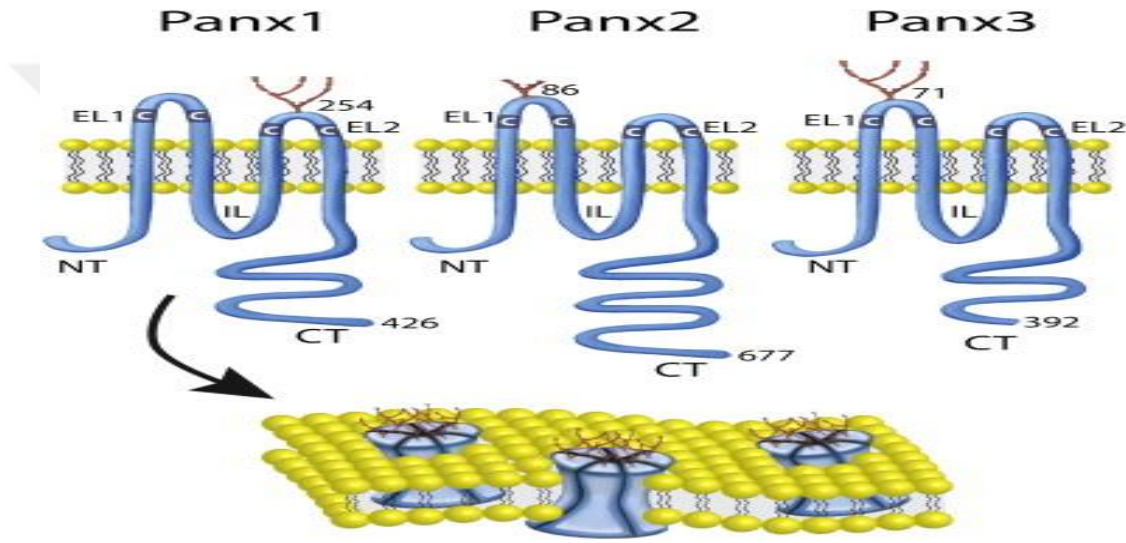
Şekil 2.2. Konneksinler ve Panneksinler

A, B) Konneksinler ve panneksinler, sekans homolojisi olmamasına rağmen benzer bir yapıyı paylaşır ve fonksiyonel konneksin ve panneksin hemikanallarını oluşturur.

C, D) Konneksinler ve panneksinler, dört transmembran alanı, iki hücre dışı döngü, bir sitoplazmik döngü ve sitoplazmik N- ve C-terminal alanları olan transmembran proteinlerdir. Konneksin kanalları, hücreler arası iletişime aracılık eden bir boşluk

bağlantısında birleşebilirken (A), panneksinin hücre dışı döngüsü memeli hücrelerinde (D) gevşek bağlantılarının oluşumunu önleyen yüksek düzeyde glikosilasyon içerir.

Panxs ve Cxs arasında herhangi bir sekans homolojisi bulunmamakla birlikte, üç protein ailesinin hepsinin, dört α -sarmal transmembran alanı, iki hücre dışı döngü, bir hücre içi döngü, sitoplazmaya maruz kalan amino ve karboksil terminalleri ile benzer topoloji sergilediği düşünülmektedir (81-84) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Üç Panneksin Ailesi Üyesinin Şematik Gösterimi (84)

Değişen amino asit uzunluklarına sahip Panx1 (426), Panx2 (677) ve Panx3 (392), amino asit 254 (Panx1), 86 (Panx2) ve 71 (Panx3)'de N-glikosilasyon bölgelerine sahip tetra yayılan integral membran proteinleridir. Panx1 ve Panx3, hem yüksek mannoz formuna hem de karmaşık bir glikoproteine glikosile edilirken, Panx2 yalnızca yüksek mannoz glikoprotein veya palmitoillenmiş bir izoform olarak rapor edilmiştir. Tüm panneksinler, her hücre dışı döngüde (C) iki sistein kalıntısına sahiptir. Panx1'in, birçok memeli hücresinin hücre yüzeyinde tek membranlı kanallar oluşturmak için bir heksamere oligomerize olduğu gösterilmiştir. EL1 ve EL2 (hücre dışı döngüler 1 ve 2), IL (hücre içi döngü), CT (karboksil terminali) ve NT (amino terminali).

Connexin ailesinin gevşek bağlantı proteinlerine benzer şekilde, Panx1 oligomerizasyonunun ilk karakterizasyonu, bir kanal oluşturmak için 6 alt birime gereksinim duyar (85). Panx2 ise heptamerler veya oktomerler halinde birleşir (86). Panx3'ün oligomerizasyonu netlik kazanmamakla birlikte Panx1 ile yakın polipeptit sekansı göz önüne alındığında, heksamerler oluşturacağı tahmin edilmektedir. Panx1'in iç gözenek yüzeyi; C-terminalinin katılımıyla oluşurken, dış gözenek yüzeyi ilk alfa helikal transmembran bölge ve ilk hücre dışı ilmik bölge arasındaki kısımdan oluşur (87).

Üç Panx üyesi de Homo sapiens (insan) ve Mus musculus (fare), Rattus norvegicus (sıçan), Canis familiaris (köpek), Bos taurus (inek), Danio rerio (zebra balığı) ve Tetraodon nigroviridis (balon balığı) olmak üzere 7 farklı türde olduğu gösterilmiştir (82). Geniş türler arası dağılıma rağmen, pannexinler en iyi şekilde insan ve fare dokularında karakterize edilir. İnsan Panx1 proteini (erişim numarası NP_056183, 426 amino asit, 47,6 kDa), Panx2 proteini (erişim numarası NP_443071, 677 amino asit, 74,4 kDa) ve Panx3 proteini (erişim numarası NP_443191, 392 amino asit, 44,7 kDa) ile kemirgen Panxs arasında %94'e yakın korunmuş sekans homolojilerine sahiptir (88).

2.8.1. Pannexin-1

Panx1 insan dokularının tamamına yakın kısmında (beyin, kalp, iskelet kası, deri, testis, yumurtalık, plasenta, timus, prostat, akciğer, karaciğer, ince bağırsak, pankreas, dalak, kolon, kan endotelyum ve eritrositler gibi) eksprese edildiği Northern blot analizleri ile gösterilmiştir (83). Panx1 transkriptleri santral sinir sisteminde serebellum, korteks, lens (fiber hücreler), retina (retina ganglion, amacrin ve horizontal hücreler), piramidal hücreler, neokorteks ve hipokampusun internöronları, amigdala, substantia nigra, olfaktori bulb, nöronlar ve glial hücrelerde tespit edilmiştir (84). Üç haftalık bir farede anti-Panx1 antikoru kullanılarak yapılan bir doku araştırmasında; beyinde yüksek Panx1 protein seviyeleri gözlenmiş, fakat akciğer, böbrek, dalak, kalp ventrikülü, deri ile tüm kıkırdak dokularında farklı seviyelerde olduğu saptanmıştır (89). Kemirgen kokleasında Panx1 protein ekspresyonu özellikle Korti organının destekleyici hücrelerinde, spiral limbus, kohlear yan

duvar, strial kan damarları (90) ve torakodorsal arterlerin vasküler düz kas hücrelerinde (91) gözlenmiştir. Yetişkin sıçanlarda Panx1, seminifer epitelyumunun bazal kısmında, epididimis ve efferent kanalların apikal bölgesinde olduğu bildirilmiştir (92).

2.8.2. Panneksin-2

Panx2, yetişkin insan beyninin çeşitli bölgelerinde (beyincik, serebral korteks, medulla, oksipital kutup frontal lob, temporal lob ve putamen) daha sınırlı görünmektedir. Northern blot analizi ile Panx2 transkriptlerinin kemirgen beyni, omurilik ve gözlerde yüksek seviyelerde olduğunu ortaya koyarken tiroid, böbrek ve karaciğer gibi diğer dokularda düşük seviyelere sahip olduğu gösterilmiştir (84). İn situ hibridizasyon araştırmalarında Panx2'nin hipokampus, olfaktor bulbus, piramidal hücreler, dentat girus, serebellumun purkinje hücreleri, hipokampus ve neokorteksin internöronları gibi yetişkin sıçan beyninin çeşitli bölgelerinde Panx1 ile birlikte ekspre olduğu gösterilmiştir (93). Panx1'den farklı olarak, doğum öncesi beyinde düşük seviyelerde Panx2 transkriptleri tespit edilirken, doğum sonrası beyinlerde transkript seviyeleri önemli ölçüde artmıştır (93). Ayrıca Panx2 protein ekspresyonu, sıçan kohlear sisteminin stria vaskularis bazal hücrelerinde ve spiral ganglion nöronlarında (90) ve farelerde nöral kök hücrelerinde ve hipokampusun projenitör hücrelerinde (94) tanımlanmıştır.

2.8.3. Panneksin-3

İfade edilen sekans etiketlerine dayanarak, Panx3 osteoblastlarda, sinovyal fibroblastlarda, fare pençelerinin tüm eklemlerinde ve iç kulak kıkırdığında tanımlanmıştır. Ek olarak, insan hipokampus ekstrelerinde düşük seviyelerde Panx3 transkriptleri tespit edilmiştir (83). Panx3 proteini fare koklear kemiğinde bildirilirken (90), 16,5 günlük fare embriyolarından yapılan in situ hibridizasyon araştırmaları prehipertrofik kondrositlerde, perikondriyumda ve osteoblastlarda Panx3 ekspresyonunu güçlü bir şekilde ortaya çıkarmıştır (95). Ayrıca deri, kıkırdak ve ventriküllerde Panx3 proteini; ~43kDa ve ~70kDa olan iki formda saptanmış, 3 haftalık farenin akciğer,

karaciğer, böbrek, timus ve dalak dokularında ise ~70kDa tek form belirlenmiştir (89). Panx3'ün osteoblastlarda ve hem fare kafatasından alınan birincil kültürde hem de referans hücre dizilerinde endojen olarak eksprese edildiği de gösterilmiştir (96-98). Yakın zamanda, Panx3'ün yetişkin sıçanların Leydig hücrelerinde, epididimisinde ve efferent kanallarında da bulunduğu bildirilmiştir (92).

2.9. Panneksinlerin Biyokimyası

Panneksinler, hücre yüzeyi, sitoplazma ve hücre içi organellerinde bulunması kısmen post-translasyonel modifikasyonlar aracılığı ile düzenlenir. Bununla birlikte post-translasyonel modifikasyonlar Panx kanallarının fonksiyonunda da rol oynar (99).

N-glikozilasyon; proteinlere asparjin rezidülerinden oligosakkarit eklenmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu düzenleme endoplazmik retikulum (ER) ve Golgi'de meydana gelen post-translasyonel modifikasyon sonucu oluşur. Panneksinler yapısal açıdan, tanımlanmış N-glikozilasyon bölgeleri barındıran glikoproteinler olup farklı N-bağlı glikozilasyon profilleri sergilerler. Panx2 çoğunlukla hücre içi bölgede, glikozillenmemiş (Gly0) ve yüksek mannoz glikozilasyonu (Gly1) formunda bulunur (86, 88, 94). İkili-immünpresipitasyon araştırmalarında; Gly0 ve Gly1 formlarında bulunan Panx'ler birleşik bir yapı oluşturabildiği, fakat kompleks glikozilasyon (Gly2) formları arasında ilişki kurulamadığı saptanmıştır ve baskın olarak hücre yüzeyinde gözlemlenmiştir (88). Bu nedenle N-glikozilasyonu Panx'in hem hücre yerleşiminde hemde birbirleri arasındaki ilişkide rol oynar. Bununla birlikte Panx1 ve Panx3 ER'de kalsiyum sızdıran kanal olarak görev alır (97, 100).

Panneksinler kaspaz kesiminde rol oynar. Panx1'in C-terminalinin kaspaz aracılığı ile kesilmesi, kanalın açılmasında rol oynar (101). İnsanlarda Panx1'in kaspaz 3 ve 7 ile kesilmesi apoptik immün hücrelerden makrofajların çağırılması için ATP salınmasında rol oynar. Böylelikle ölü hücreler monositler

aracılığıyla temizlenebilir. İskemi, epileptik nöbet ve kollitide görülen enterik nöronların ölümü ile Panxs'in ilişkili olduğu gösterilmiştir (102-105).

Kinazların farmakolojik antagonistlerinin Panx1 aktivasyonunu değiştirebildiği düşünülmektedir. Temel mekanizma sarkoma ailesi kinazlarından protein fosfataz 2 (PP2) inhibitörü Panx1 aktivasyonunu engelleydiği yönündedir (106, 107). Fakat fosforilasyon ile Panx arasındaki ilişki henüz netlik kazanmamıştır.

2.10. Panneksinlerin Kanal Fonksiyonları

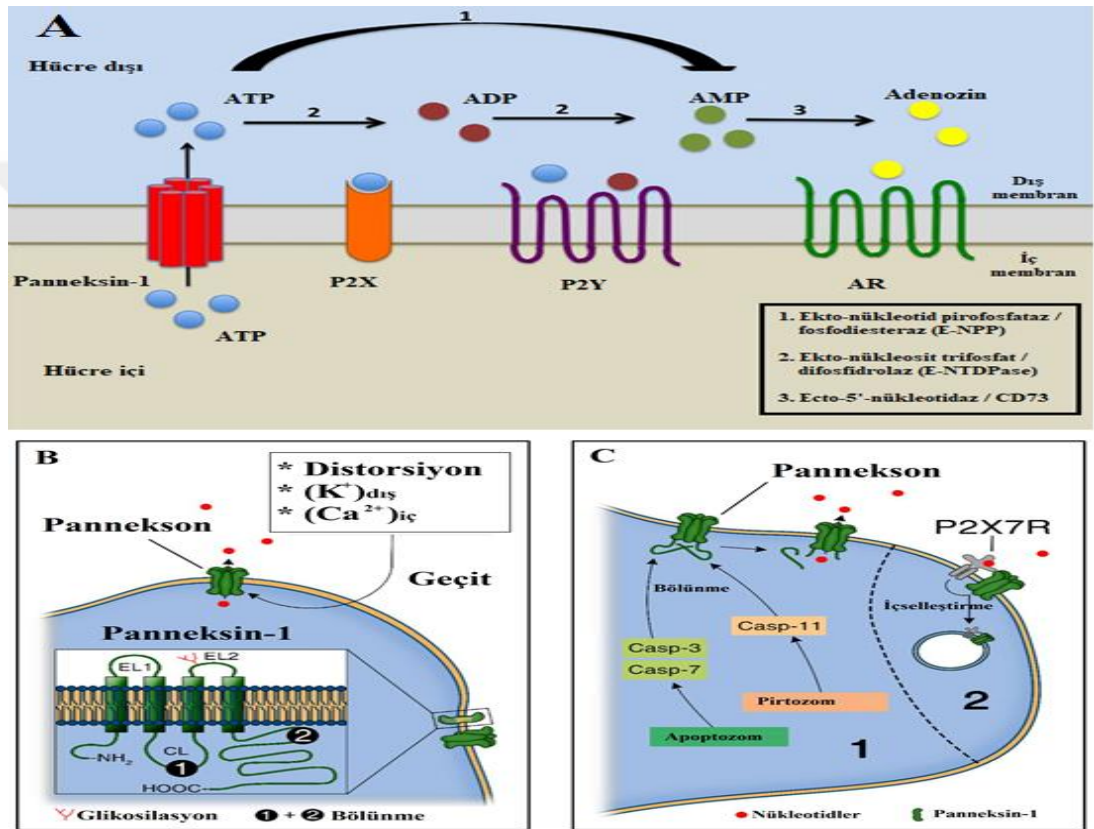
Panx1 kanallarının aktive edilmesinde mekanik uyarılma, kaspaz kesimi, sitoplazmik kalsiyum, membran depolarizasyonu ve potasyum iyonu rol oynar (108-111). Panx1 kanallarının aktivasyonu karbondioksit aracılı sitoplazmik asidifikasyon, ATP salınımında geri bildirim, taklitçi peptidler ve karbenoksolon, probenesid, fluefenamik asit gibi kanal engelleyiciler ile durdurulabilir (84). Panx2 yüksek voltajda açılan fonksiyonel homomerik kanallar oluşturabilir. Panx3 homomerik tek membran kanalı oluşturarak hücre dışı ortama ATP salınımında rol oynar, bununla birlikte C2C12 hücrelerinde ve primer kalvarial osteoblastlarında kalsiyum kanalı gibi rol üstlenirler (97). Panx ailesi benzer sekans homolojisi gösterirler ve birçok fonksiyonel durumda birbirleri ile birleşerek bir kanal oluştururlar. Bu olay N-glikozilasyon ile belirlenen Panx1 ve Panx2 etkileşiminde çok daha belirgindir. Bununla birlikte Panx1 ve Panx3 arasındaki etkileşim daha azdır ve kanal fonksiyonu farklılık göstermez (84).

2.10.1. Panx1'in Aracılık Ettiği Parakrin Sinyali

2.10.1.1. Kalsiyum Dalgaları

Kalsiyum (Ca^{2+}), çeşitli hücresel tepkileri çok yönlü düzenleyebilen, her yerde bulunabilen ikincil habercidir. Kalsiyum dalgalarının başlangıcına, ATP'ye duyarlı purinerjik reseptörlerin (P2Y ve P2X) aktivasyonu aracılık eder (84, 112). ATP'nin P2Y reseptörlerine bağlanması, inositol 1,4,5-trifosfatı artırır, bu da ER depolarından Ca^{2+} salgılar. Kalsiyum salındığında, tek

membranlı kanalları aktive ederek ATP'nin daha fazla salınmasına ve sinyallerin komşu hücrelere yayılmasına yol açar (84). Panx1'in ATP salımı için gerekli olan P2X7 reseptör kompleksinin bir parçası olduğu gösterilmiştir (113-116). Ayrıca, Panx1 kanalları P2Y reseptörleri ve sitoplazmik Ca^{2+} aracılığıyla aktive edildiğinde ATP salımı rapor edilmiştir. Böylece rejeneratif Ca^{2+} sinyallemesinin başlatılması ve yayılmasında Panx1'in rolünü desteklenmiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Panx-1 Kanallarının Açılması ve ATP'nin Salınımı (112, 116)

A) Patolojik veya fizyolojik uyarılar, ATP'nin hücreden salınmasını teşvik eden Panx-1 yarı kanallarının açılmasıyla sonuçlanır. ATP / ADP / AMP daha sonra P2X ve P2Y reseptörlerine bağlanabilir. Ekto-ATPaz ve ATP-difosfo-hidrolaz dahil olmak üzere ekto-nükleosit trifosfat difosfidrolaz (E-NTDPase), ATP'nin ADP'ye veya ADP'den AMP'ye hidrolizini destekler (2). Ekto-nükleotid pirofosfataz / fosfodiesteraz (E-NPP) hidroliz ATP'den AMP'ye (1). AMP ayrıca, adenosin oluşumunu teşvik eden Ekto-5'-nükleotidaz / CD73 (3) tarafından hidrolize edilir. Adenosin daha sonra adenosin reseptörlerini (AR) aktive eder.

- B) Pannexin-1 geçit ve yapısı: Kaspaz yarıma yerleri, hücre içi döngüde ve C-terminal kuyruğunda bulunur.
- C) Kaspaz aracılı bölünme yoluyla Pannexin-1 kanal aktivasyonu. Gözenek, homeostatik koşullar altında tıkanır ve bölünme üzerine açılır. Hücre dışı nükleotid konsantrasyonunun artması üzerine, P2X7 reseptörünün (P2X7R) aktivasyonu, otokrin negatif geri besleme döngüsü açısından Pannexin-1'in içselleştirilmesine yol açar.

Panx1 kanallarının NMDA reseptörleri ile etkileşiminin hipokampal piramidal nöronlarda Ca^{2+} 'nın düzenlenmesine de katkıda bulunduğ u gösterilmiştir ve epilepside rol oynadığı ö ne sürölmüştür (103). Panx1'in epilepsideki rolü Panx1'den yoksun fareler kullanılarak doğrulanmıştır (102).

2.10.1.2. Vazodilatasyon Ve Vazokonstriksiyon

ATP'nin eritrositlerden salınımı stres ve hipoksik koşullar sırasında meydana gelir. Eritrositlerin endojen olarak Panx1 eksprese ettiğ i ve Panx1 kanallarının mekano-duyarlı aktivasyonunun ATP salınımını düzenlediğ i bildirilmiştir (102). Stres aktivasyonu koşulları altında Panx1 kanallarının, kırmızı kan hücrelerinden ATP salgılayarak ve endotel hücreleri üzerindeki purinerjik reseptörlerin uyarılması yoluyla Ca dalgası yayılmasını başlatarak kan akışını kontrol ettiğ i varsayılmaktadır. Ca^{2+} yükselmesi daha sonra NO salgılayarak vazodilatasyona yol açar (114). Panx1'in hem endotelyal hem de vasküler düz kas hücrelerinde eksprese edildiğ ini ve vasküler düz kas hücrelerinde Panx1 ve $\alpha 1D$ -adrenerjik reseptör arasındaki bir ilişki yoluyla direnç arterlerinde fenilefrin kaynaklı vazokonstriksiyonda anahtar rol oynadığını gösterilmiştir (91). Bu, Panx1'in vasküler düz kas hücresi daralmasının koordinasyonu ve potansiyel olarak kan basıncının düzenlenmesiyle doğrudan bağlantılı olabileceğ ini desteklemektedir.

2.10.1.3. Tat Hissi

Tat tomurcukları, bazıları tat reseptörlerini ifade eden ve diğ erleri sinapsları (presinaptik hücreler) içeren iki farklı hücre popölasyonundan oluşur

(117). Panx1'in reseptör hücrelerinde eksprese edildiği ve tat uyarımı üzerine ATP'nin Panx1 kanalları yoluyla salındığı bildirilmiştir. ATP, hücre dışı ortamda salındıktan sonra, presinaptik hücrelerin P2 reseptörlerini serotoninini salması (5-HT) için uyarır, böylece tat tomurcuğu içinde hücre-hücre sinyalleşmesi ve bilgi işleme için bir mekanizma sağlar (117, 118).

2.10.1.4. Havayolu Savunması

Hava yolu epitelyumu, mukosilyer klirensi kontrol ederek, yeterli hava yolu yüzey sıvısı hacmi ve siliyer aktivitenin korunmasına bağlı olan bir savunma mekanizması sağlar. Farklılaşmış insan hava yolu epitelinde Panx1 kanallarının ekspresyonu, hipotonik stres altında ATP salınımı ile ilişkilendirilmiştir. Panx1 ile uyarılmış ATP salınımının, mukus klirensi için siliyer atım sıklığını ve yüzey sıvı hacmini düzenlemek için çok önemli olduğu ileri sürülmektedir (119).

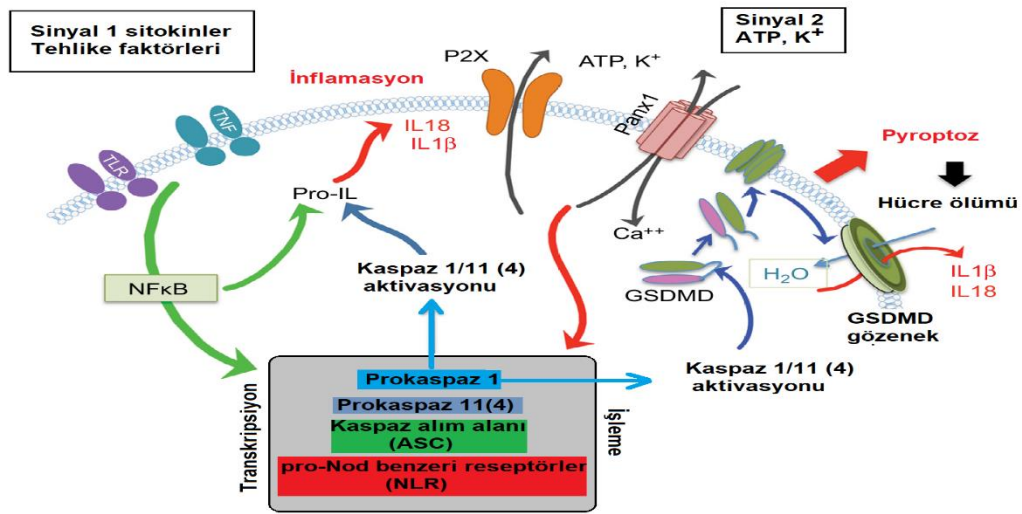
2.10.1.5. Viral Enfeksiyon

Panx1'in HIV-1 viral enfeksiyonunda oynadığı rol; HIV-1 zarf proteinlerinin spesifik CD4⁺ hücre reseptörleri ile etkileşime girdiği ve ATP'nin daha sonra P2Y2 purinerjik reseptörleri üzerinde etki yaptığı ve Pyk2 kinazı aktive ettiği hücre dışı ortama Panx1 kanalları yoluyla ATP'nin salınmasını tetiklemesi şeklinde ileri sürülmektedir (120). Bu etkileşim, zardan depolarizasyona neden olur ve zardan zara füzyonun, hücreye viral girişin yanı sıra hücreden hücreye geçişe izin vermesini kolaylaştırır. İlginç bir şekilde, Panx1, P2Y2 ve Pyk2'nin tümü fiziksel olarak Env içeren ve CD4 / CXCR4 içeren membranlar arasındaki temas alanına alınır ve bu da enfeksiyonu kolaylaştırmak için virüs tarafından düzenlenen enfeksiyon sinapsının bir parçasını oluşturur. Bu etkileşimin herhangi bir bileşeninin engellenmesi, HIV-1 enfeksiyonunu azaltabilir ve viral replikasyonu bozabilir, bu da bunların yeni bir antiretroviral tedavi olarak potansiyel kullanımlarını gösterir (120).

2.10.2. Panx1'in Aracılık Ettiği Hücresel Yanıtlar

2.10.2.1. Bağışıklık Tepkisi

Panx1'in P2X 7 reseptörleri ile etkileşimi, ATP tarafından reseptör stimülasyonuna yanıt olarak proinflamatuvar sitokin interlökin (IL) -1 salgılayarak ve ardından kaspaz-1'in aktive edilmesiyle bir immün yanıtı ortaya çıkarır (113). Panx1'in, endozomlardan sitozole geçen bakteriyel moleküllerin tanınmasına dayalı olarak Toll benzeri reseptörden bağımsız inflammasomu (kriyopirini içerir) tetiklediği de bildirilmiştir (121). Ayrıca, Panx1 kanallarının P2X7 aracılı aktivasyonunun, nöronal / astrositik enflamasyonlarda yüksek hücre dışı K^+ seviyeleri ile güçlendirildiği bulunmuştur (108). Bununla birlikte, Panx1'den yoksun fareleri kullanan bir çalışmada, Panx1'in kaspaz-1'i aktive eden inflammasom komplekslerinin montajı için gerekli olmadığını gösterilmiştir (122).



ASC, bir kaspaz alım alanı içeren apoptozla ilişkili benek benzeri protein.

Şekil 2.5. Panx-1'in İnflamasyondaki Rolü (123)

Sinyal 1 yolları, yüzey Tümör nekroz faktörü (TNF), Toll benzeri (TLR) ve IL-1 reseptörleri aracılığıyla çevresel sinyalleri algılar ve NF κ B yolu aracılığıyla inflammasom bileşenlerinin transkripsiyonel hazırlanmasını kolaylaştırır. IL1 β , kaspazlar 1 / 11 (kaspaz 4 olarak da bilinir) ve pro-Nod benzeri reseptörler (NLR) öncü proteinlerinin ekspresyonunu yukarı düzenler.

Sinyal 2, kompleksin proteolitik işleme ve montaj yoluyla aktivasyonunu kolaylaştırır. Bu kol, mekanik strese, sitozol içindeki ligand algılama sisteminin aktivasyonuna veya Panx1 – P2X reseptör sinyalizasyonları aracılığıyla hücre dışı ATP algılamaya yanıt verir. Aktivasyon üzerine, kaspazların proteaz aktivitesi, IL1p ve IL18'in olgunlaşmasını ve salınmasını düzenler. Yeni bir membran gözenek Gasdermin D'nin (GSDMD) proteini ile oluşur. İnflamatuar kaspazlar Casp1 veya Casp11 (4) tarafından parçalanır. GSDMD, plazma membranındaki fosfoinosititlere bağlanır ve çapı ~ 10-14 nm olan membran gözenekleri oluşturmak için oligomerize olur. Bu gözenek boyutu, olgun IL1p, IL18 ve kaspaz 1'in geçişine izin verebilir. GSDMD gözeneklerinin oluşumu, ozmotik potansiyeli de bozarak, piroptoz olarak bilinen enflamatuar bir hücre ölümü ile sonuçlanır.

2.10.2.2. Tümörijeniz

Panx1'in eksojen ekspresyonu, C6 gliomalarda tümör baskılayıcı özelliklerle ilişkilendirilmiştir. Panx1 varlığında, C6 gliomaları düzleştirilmiş bir morfoloji ve proliferasyon, motilite ve ankorajdan bağımsız büyümede azalma sergiler. Ek olarak, Panx1 aşırı eksprese eden hücreler, kontrollere kıyasla çıplak farelerde in vivo tümör büyümesinde azalma göstermiştir (124). Bu bulgular Panx1'in bir tümör baskılayıcı olarak rol oynadığını destekler. Benzer şekilde Panx2'inde benzer bir tümör baskılayıcı role sahip olduğu bildirilmiştir (125).

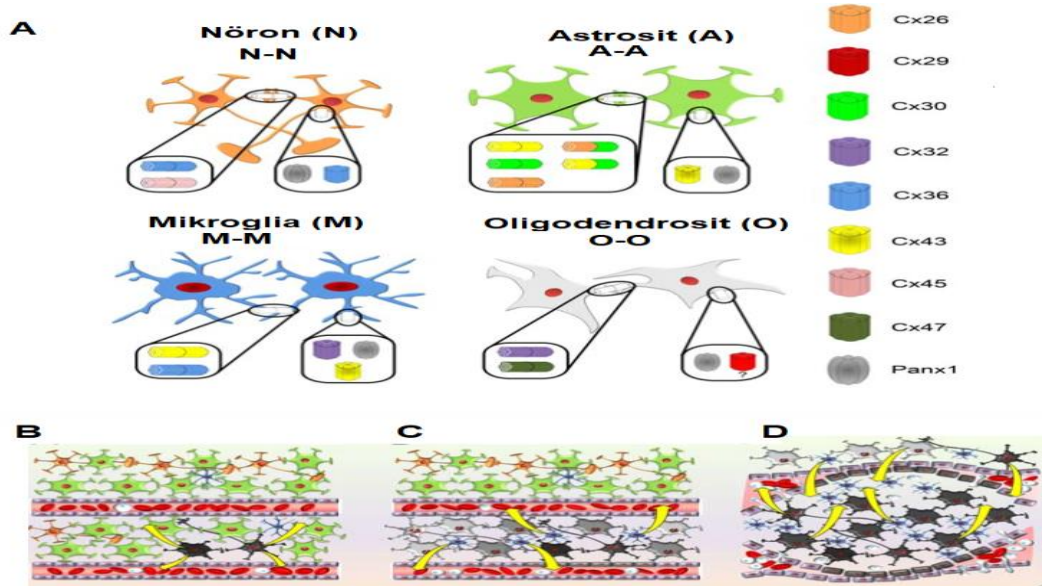
2.10.2.3. İskemik Hücre Ölümü Ve Epileptik Nöbet

Fare hipokampal piramidal nöronlarında O₂ ve glikozun hızlı düşüşü, büyük akımların iletkenliğine yol açan Panx1 kanallarının açılmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu da nöron ölümüne yol açan derin bir iyonik düzensizliğe neden olur (105). Panx1 kanallarının N-metil-d-aspartat reseptör bazlı açılması, piramidal nöronlarda epileptiform nöbet aktivitelerini artırarak Panx1 kanal açıklığının hassas düzenlenmesinin önemini daha da destekler. Panx1 knockout farelerde yapılan araştırmalarda Panx1'in in vivo epileptik nöbetlerin ciddiyetine katkıda bulunduğunu doğrulanmıştır (102).

Beyin hücrelerinde pannexin ve connexin yarı kanallarının ve connexin boşluk bağlantılarının hücresel dağılımı Şekil 2.5A'da gösterilmiştir. Panx-1'in

hücre ölümünde oynadığı rol 3 mekanizma ile açıklanabilir (Şekil 2.5'e göre uyarlanmıştır) (126).

1. Başlangıçta, astrositleri (yeşil), nöronları (turuncu) veya dinlenmekte olan mikrogliaları (mavi) etkileyen beyin hasarı (iskemi, enfeksiyon veya nekroz tarafından oluşan), yaralı hücrelerde (koyu renkli hücreler) yüksek konsantrasyonda bulunan toksinler ve moleküller (örneğin, Ca^{2+} , NO, süperoksit iyonu, peroksinitrit, glutamat ve NAD⁺) aracılığıyla bir ölüm dalgası (sarı oklar) başlatabilir. Bu moleküller, yaralı hücrelerden (griden siyaha doğru daha fazla etkilenen hücreler) daha sağlıklı hücrelere konneksin gevşek bağlantıları ve konneksin ve panneksin hemikanalları yoluyla aktarılabilir (Şekil 2.5B).
2. Daha sonra ikinci bir ölüm dalgasına, ATP tarafından aşırı aktive edilen mikroglial hücreler ve yaralı hücreler tarafından salınan sitokinler aracılık edebilir (Şekil 2.5C).
3. Daha sonra doku perfüzyonunu azaltan inflamasyona bağlı ödem, inflamatuvar yanıtı kötüleştirebilir, lökositleri toplayabilir ve lezyonun boyutunu artırabilir (Şekil 2.5D).



Şekil 2.6. Panx-1 Ve Beyin Hücreleri Ve Ölümü Arasındaki İlişki (126)

2.10.2.4. Apoptoz

Panx1'in P2X7 reseptörü ile birlikte ekspresyonu, *Xenopus* oositlerinde tek başına veya P2Y reseptörü ile birlikte Panx1 transkriptinin enjeksiyonunda gözlenmeyen ATP kaynaklı zeiosis oluşmasına neden olur (84, 110, 115). Bu sonuçlar, purinerjik P2Y reseptörünün aktivasyonunun Panx1 akımlarına aracılık edebilmesine rağmen, spesifik hücre ölümü sinyallemesinin iyonotropik P2X7 reseptörleri ile etkileşim sonucunda olduğunu göstermektedir. Panx1 kanallarının, aktive monositlerin toplanması için apoptotik hücrelerden nükleotid sinyallerinin salınmasına aracılık eder (110). Mekanik olarak, Panx1 kanallarının Panx1'i parçalayan kaspazlar tarafından aktive edildiğini ve kanalı fagositleri çekmek için bir "beni-bul" sinyali olarak ATP ve UTP salımı için açtığı gösterilmiştir (110). .

2.10.2.5. Keratinosit Farklılaşması

Ektopik olarak eksprese edilen Panx1'in sıçan epidermal keratinositlerinin proliferasyon oranını düşürür, ancak göç özelliklerini önemli ölçüde değiştirmez (127). Organotipik kültürlerde Panx1'in aşırı ekspresyonu epiderminin genel yapısını bozar, canlı hücre tabakasının kalınlığını azaltır ve bazal hücre belirteci olan sitokeratin 14'ü canlı hücre tabakası boyunca yeniden lokalize eder (127). Bu nedenle, keratinosit farklılaşmasının düzenlenmesinde Panx1'in rolü halen tartışma konusudur.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yakutiye Araştırma Hastanesi Nöroloji Servisinde akut iskemik inme tanısı ile yatırılan 45 hasta ve 45 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere randomize kontrollü çalışma olarak yapıldı. Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyeti uyumluydu. Hastalardan aşağıdaki kriterlere uyanlar çalışmaya dâhil edilmek üzere seçildi.

3.1. Çalışma İçin Uygunluk Kriterleri

- 18-80 yaş arası akut iskemik inmeli hastalar
- Çalışmaya gönüllü olanlar dahil edilecektir.

3.2. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri

- İlk 24 saatten sonra müracaat eden iskemik inmeli hastalar
- GİA hastalar
- Beyin tümörü veya sistemik malignitesi olanlar
- Akut kafa travması olanlar
- Yakın dönem ve eşzamanlı miyokard enfarktüsü geçiren hastalar

Çalışmaya alınan hastaların anamnezlerinde; yaşları, cinsiyetleri, eşlik eden bulguları, öz ve soy geçmişlerinde iskemik serebrovasküler hastalık risk faktörleri sorgulandı. Tüm hastaların sistemik ve nörolojik muayeneleri yapıldı. Çalışma grubunda yer alan tüm hastalara;

- Rutin hematolojik ve biyokimyasal tetkikler,
- Tam idrar tetkiki,
- Akciğer grafisi,
- Elektrokardiografi,
- Ekokardiografi,
- Karotis ve vertebral arter doppler ultrasonografi,
- Kranial MRG yapıldı.

Başvuru anında inme şiddeti, inmenin şiddetini derecelendiren 15 maddelik bir nörolojik değerlendirme olan Ulusal Sağlık İnme Ölçeği (NIHSS) kullanılarak nörologlar tarafından belirlendi. NIHSS ölçeğine göre; <4 puan “hafif”, 5-15 “orta”, 15-20 arası “orta-şiddetli” ve 21-42 “şiddetli” inmeyi olarak sınıflandırıldı.

3.3. Hastaların Enfarkt Volümünün Hesaplanması

MRG Ölçümleri

MRG çalışmaları Siemens® Sonata 1.5-T ve GE-HD 3-T MR cihazlarında ekoplanar görüntüleme sistemi ile yapıldı. Görüntüleme protokolü; DAG olarak belirlendi. Görüntülemede kullanılan parametreler: 1.5 T MR incelemesi için TR/TE = 3300/84 ms; görüntüleme alanı (FOV) = 240 mm; kesit kalınlığı = 5mm; kesitler arası gap= 1,5 mm idi. 3 T MR incelemesi için TR/TE = 6000/80 ms; görüntüleme alanı (FOV) = 240 mm; kesit kalınlığı = 5mm; kesitler arası gap= 1,5 mm idi. Tüm kesitler incelenerek enfarktlı alanlar belirlendi.

Beyin Ve Enfarkt Hacminin Stereolojik Metotlar İle Hesaplanması

Tüm beyin ve enfarkt alanları hacimleri ise Cavalieri metodu ile hesaplandı.

Cavalieri Prensibi

Düzenli ya da simetrik bir şekle sahip nesnelerin (küp, prizma ya da silindir gibi) hacimleri aşağıdaki matematik formülü yardımı ile kolayca hesaplanır.

$$\hat{V} = t \times a$$

Formüldeki (V) nesnenin hacmini, (t) nesnenin yüksekliğini ve (a) ise nesnenin taban alanını tanımlar.

Ancak, çoğu zaman biyolojik nesneler için bu yöntemi kullanmak mümkün olmayabilir. Özellikle canlılarda herhangi bir yapı ya da organın hacmi hesaplanmak veya hacim oranları hesaplanmak istendiğinde daha değişik yöntemler kullanılmak zorundadır.

Düzensiz bir şekle sahip nesnelerin hacmini hesaplamaya yarayacak bir yöntem İtalyan matematikçi Bonoventura Cavalieri tarafından üç asır önce geliştirilmiştir. Cavalieri, düzenli bir geometrik şekle sahip olmayan üç boyutlu nesnelerin hacimlerinin birbirine paralel dilimlere ayrılarak hesaplanabileceğini ortaya koymuştur.

Cavalieri yöntemi ile incelenmek istenen organ ya da organ içerisinde yerleşmiş belli bir yapının hacmini hesaplamak mümkündür. Cavalieri metodu ile önce hacmi hesaplanacak yapı dilimlere ayrılır, her bir dilimin kesit yüzey alanı bulunup, kesit kalınlığı ile çarpılarak ilgili dilimin hacmi hesaplanır ve nihayet dilimlerin hacimleri toplanarak ilgilenilen yapının toplam hacmi hesaplanır.

$$\hat{V}_1 = t \times a \qquad \hat{V}_{\text{total}} = V_1 + V_2 + \dots V_n$$

Alternatif olarak MR ve BT gibi görüntüleme yöntemleri kullanılarak da ilgilenilen nesne ya da organı baştan sona kadar kapsayacak biçimde kesit görüntüleri alınarak bu görüntüler üzerinden hacim hesaplamaları oldukça yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Cavalieri prensibi ile bir nesnenin hacmi hesaplanmak istendiğinde uyulması gereken bazı kurallar vardır. Öncelikle yapı eşit kalınlıkta ve paralel dilimler halinde baştan sona kadar kesilir ya da kesitlere ayrılır. Örneklemede taraflılığı ortadan kaldırmak için ilk kesit, kesit kalınlığı mesafesindeki herhangi bir noktadan rastgele olarak alınmaya başlanmalı ve sistematik olarak eşit aralıklı kesitler alınacak şekilde kesme işlemine devam edilmelidir. Elde edilen kesit görüntülerinin kesit yüzey alanları hesaplandıktan sonra her bir kesitin ya

da dilimin hacmi hesaplanır ve en sonunda her bir dilimin hacmi toplanarak yapının tüm hacmi hesaplanır.

Bazı yarı otomatik makineler, özel yazılıma sahip görüntü analiz sistemleri (Stereoinvestigator software, version 6.0, Microbrightfield, Colchester, VT) veya bazı resim analiz programları ile (ImageJ vb) görüntülerde ortaya çıkan kesit yüzey alanlarını hesaplayabilmektedirler.

Ancak, yapılan çalışmalar kesit yüzey alanlarının elde edilmesinde, nokta sayım tekniklerinin planimetrik tekniklerden daha güvenilir ve etkin bir yaklaşım olduğunu göstermiştir. Bu nedenle şeffaf bir asetat üzerinde belli aralıklarla yerleştirilmiş noktalardan oluşan bu noktalı alan ölçüm cetveli, kesitlerin yüzey alanlarının hesaplanmasında kullanılabilir.

Bu amaç için kullanılan noktalı alan ölçüm cetveli (NAÖC), düzenli olarak sıralanmış (+) şeklindeki işaretlerden oluşur ve iki çizginin kesişmesi ile elde edilen iki boyutlu noktayı tanımlamak için kullanılır. Dolayısıyla, NAÖC de her iki çizginin kesiştiği köşe, nokta olarak tanımlanan yerdir. Bu noktalar eşit aralıklarla dizilidir ve her biri belli bir alana karşılık gelmektedir. NAÖC, BT ya da MRG görüntüsü üzerine rastgele olarak atılır ve ilgilenilen yapının kesit görüntüsü ile kesişen noktalar sayılır. Elde edilen nokta sayısı, her bir noktanın temsil ettiği alan ve kesit kalınlığı aşağıdaki formülde yerlerine konularak ilgilenilen yapının hacmi hesaplanır.

$$\text{hesaplama } 2V = t \times a/p \times (P_1 + P_2 + \dots + P_n) \text{ cm küp}$$

Formülde (P1,P2,...Pn) herbiri kesitte sayılan nokta miktarını,(a/p)ise her bir noktanın gerçekte temsil ettiği alanı göstermektedir.hesaplama2V de ki 2, kesit alma ve nokta sayımı olarak iki aşamalı bir süreci belirtmekte ve hacmi hesaplamaktadır.

Kesitlerin ve enfarkt alanlarının yüzey alanını hesaplamak için Stereoinvestigator software özel yazılıma sahip görüntü analiz sistemi ve noktalı alan ölçüm cetveli (NAÖC) yöntemini kullanıldı. İlk önce kesitin kalibrasyonu yapıldı. Yani kalibrasyon, kesit üzerindeki 5 cm' lik birim uzunluk

ile gerçek uzunluğun eőleőtirilmesi yapıldı. Bunun için MRG zerindeki 5 cm ölçeğin ölçüm işlemi ile gerçekteki değeri eőlendi.

3.4. Serum rneklerinin Toplanması ve çalışılması

Akut iskemik stroke geçiren 24. saatindeki hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden PANX1 düzeyi için antekubital bölgeden 10 ml venöz kan rneği alındı. 1000 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Serumlar iki ayrı ependorf tüpüne konularak çalışma yapılana kadar -80  C de depolandı. Çalışma yapılmadan önce numuneler -20  C de bir gece ve +4  C bir gece bekletildi. Çalışma günü serum örnekleri çalışma kitleri oda sıcaklığında yaklaşık 2 saat bekletildi.

Pannexin 1 (Lot: L201124763) Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemi ile çalıőıldı. Analiz sonuçları üretici firmanın talimatları doğrultusunda ng/ml olarak hesaplandı.

3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 20 (IBM SPSS Inc., Chicago, IL) programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren sayısal değişkenler ortalama±standart sapma olarak, normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenler ortanca (min-max) olarak gösterildi. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak belirtildi. İki grup arasında sayısal deęiőkenlerin karőılaőtırılmasında Student's T testi veya Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik deęiőkenlerin karőılaőtırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Pannexin-1 düzeyi ile sayısal değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. Pannexin-1 düzeyinin AİS'i öngörmede tanısal performans değerlendirmesi ROC Curve analizi ile incelendi ve kestirim değeri Youden index metoduna göre belirlendi. İstatistiksel analizlerde $p < 0.05$ (*) değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

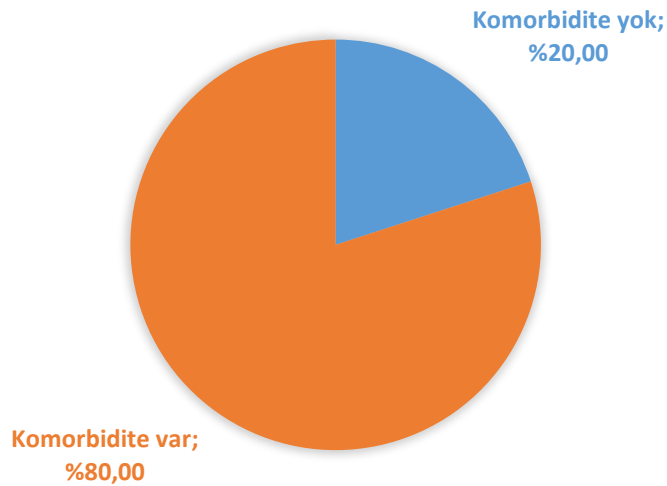
Araştırma popülasyonu 45 AİS (23 kadın (%51,1) ve 22 erkek (%48,9)) ve 45 kontrol grubu AİS (23 kadın (%51,1) ve 22 erkek (%48,9)) olmak üzere 90 kişiden oluştu. Kontrol grubu ile AİS grubu arasında yaş ve cinsiyet dağılımları benzerdi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Demografik Özellikler

Demografik özellikler	Tüm popülasyon n=90	Kontrol n=45	AİS n=45	P
Cinsiyet, n(%)				
Kadın	46(51,1)	23(51,1)	23(51,1)	0,999
Erkek	44(48,9)	22(48,9)	22(48,9)	
Yaş, yıl	68,8±13,8	68,2±13,4	69,4±14,5	0,685

Kategorik değişkenlere sayı(%) olarak gösterildi.
Yaş ortalama±standart sapma olarak gösterildi.

Kontrol grubunda herhangi bir komorbid durum yoktu. AİS hastaların %80'inde (n:36) komorbidite saptandı. AİS hastaların %55,6'sında hipertansiyon, %22,2'sinde (n:10) diabetes mellitus, %20'sinde (n:9) koroner arter hastalığı, %17,8'sinde (n:8) atriyal fibrilasyon mevcuttu (Tablo 4.2).



Şekil 4.1. AİS Hastalarında Komorbid Oranı

Tablo 4.2. Komorbidite Varlığı Dağılımı

Komorbidite, n(%)	AİS n=45
Yok	8(20,0)
Var	36(80,0)
Hipertansiyon	25(55,6)
Diabetes mellitus	10(22,2)
Koroner arter hastalığı	9(20,0)
Atriyal fibrilasyon	8(17,8)
Serebro vasküler olay	6(13,3)
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı	5(11,1)
Hipertiroidi	3(6,7)
Epilepsi	2(4,4)
Mezenter iskemi	1(2,2)
Postpartum	1(2,2)
Kronik kalp yetmezliği	1(2,2)
Kronik renal yetmezliği	1(2,2)
Aort kapak yetmezliği	1(2,2)
Astım	1(2,2)
Hiperlipidemi	1(2,2)
Osteoporoz	1(2,2)
Pulmoner emboli	1(2,2)
Renal taş	1(2,2)
Demans	1(2,2)
Parkinson	1(2,2)

Kategorik değişkenlere sayı(%) olarak gösterildi.

AİS hastalarında ortalama NIHSS skoru 5 (aralık:1-13) ve %53,3'ü (n:24) orta inme şiddetine sahipti. Hastaların infarkt volümü ortalama 4,7 (aralık: 0,6-111,7) olarak saptandı (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Hastaların Klinik Bulguları

Klinik bulguları	AİS n=45
NIHSS, skor	5(1-13)
İnme şiddeti, n(%)	
Hafif	21(46,7)
Orta	24(53,3)
İnfarkt volümü, cc	4,7(0,6-111,67)

Kategorik değişkenlere sayı(%) olarak gösterildi.

NIH skoru ve infarkt volümü ortalama (min-max) olarak gösterildi.

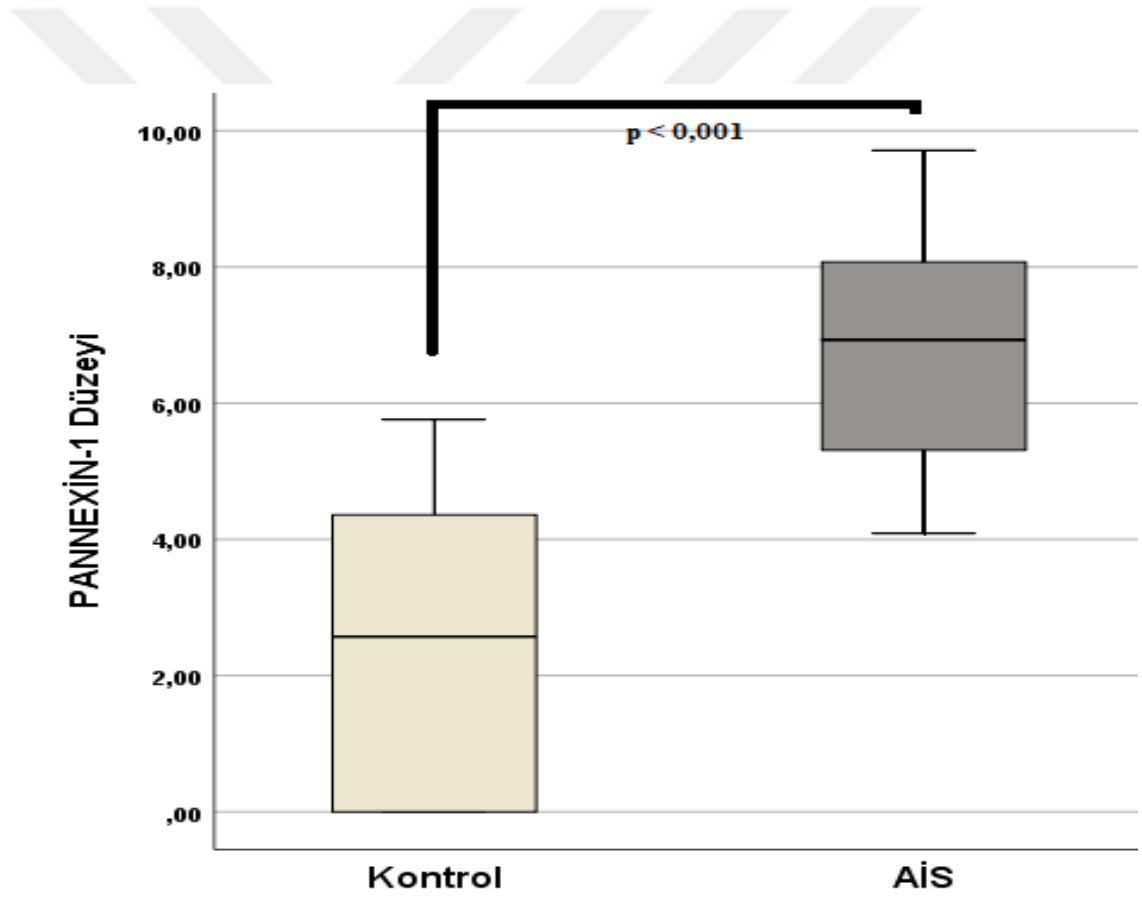
AİS hastalarında kontrol grubuna kıyasla ortalama Panx1 düzeyi daha yüksek saptandı (Şekil 4.2) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Pannexin-1 Düzeyinin Dağılımı

	AİS n=45	Kontrol n=45	P
Pannexin-1, birim	6,9(4,1-9,71)	2,6(0-5,76)	<0,001*

Pannexin-1 (Panx1) düzeyi ortalama (min-max) olarak gösterildi.

*p<0,05 istatistiksel anlamlılık göstermektedir.



Şekil 4.2. Pannexin-1 Düzeyinin Dağılımı

AİS hastaların diğer laboratuvar bulgularının dağılımı Tablo 4.5’de gösterildi.

Tablo 4.5. AİS Hastaların Laboratuvar Bulguları

Laboratuvar bulguları	AİS n=45
Homosistein	16,5(3,9-33,6)
Trigliserit	105(49-385)
Total kolesterol	184(107-382)
HDL	43(25-90)
LDL	120(65-271)
HbA1C	5,7(4,8-17,3)

Laboratuvar bulguları ortanca (min-max) olarak gösterildi.

AİS hastalarında İnme Şiddetine Göre Dağılımlar

Düşük ve orta inme şiddeti olan hastalarda demografik özellikler farklılık göstermedi (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. İnme Şiddetine Göre Demografik Özellikler

Demografik özellikler	İnme Şiddeti		P
	Düşük n=21	Orta n=24	
Cinsiyet, n(%)			
Kadın	8(38,1)	15(62,5)	0,139
Erkek	13(61,9)	9(37,5)	
Yaş, yıl	68,5±17,2	70,2±12	0,702

Kategorik değişkenlere sayı(%) olarak gösterildi.

Yaş ortalama±standart sapma olarak gösterildi.

Düşük ve orta inme şiddeti olan hastalarda komorbidite dağılımları farklılık göstermedi (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. İnme Şiddetine Göre Komorbidite Dağılımları

Komorbidite, n(%)	İnme Şiddeti		P
	Düşük n=21	Orta n=24	
Yok	6(28,6)	3(12,5)	0,331
Var	15(71,4)	21(87,5)	
Hipertansiyon	10(47,6)	15(62,5)	0,377
Diabetes mellitus	4(19,0)	6(25,0)	0,905
Koroner arter hastalığı	3(14,3)	6(25,0)	0,601
Atriyal fibrilasyon	2(9,5)	6(25,0)	0,335
Serebro vasküler olay	3(14,3)	3(12,5)	0,999
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı	1(4,8)	4(16,7)	0,428
Hipertiroidi	0	3(12,5)	0,281
Epilepsi	2(9,5)	0	0,411
Mezenter iskemi	1(4,8)	0	0,946
Postpartum	1(4,8)	0	0,946
Kronik kalp yetmezliği	0	1(4,2)	0,999
Kronik renal yetmezliği	1(4,8)	0	0,946
Aort kapak yetmezliği	0	1(4,2)	0,999
Astım	0	1(4,2)	0,999
Hiperlipidemi	0	1(4,2)	0,999
Osteoporoz	0	1(4,2)	0,999
Pemboli	1(4,8)	0	0,946
Renal taş	1(4,8)	0	0,946
Demans	0	1(4,2)	0,999
Parkinson	0	1(4,2)	0,999

Kategorik değişkenlere sayı(%) olarak gösterildi.

AİS hastalarında inme şiddetine göre enfarkt volümü ve laboratuvar bulguları açısından anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. İnme Şiddetine Göre Klinik Ve Laboratuvar Bulguları

Değişkenler	İnme Şiddeti		P
	Düşük n=21	Orta n=24	
NIHSS, skor	3(1-4)	6,5(5-13)	<0,001*
Enfark volümü, cc	4,8(0,6-105,7)	4,5(0,8-111,7)	0,418
Pannexin-1, birim	7,4(4,5-9,7)	6,5(4,1-8,4)	0,232
Homosistein	17,5(3,9-33,6)	15(7,9-26)	0,260
Trigliserit	125(49-321)	97(49-385)	0,459
Total kolesterol	184,5(120-351)	177(107-382)	0,742
HDL	41(25-90)	47(26-69)	0,770
LDL	123(72-253)	119(65-271)	0,884
HbA1C	5,5(4,9-17,3)	5,8(4,8-15,6)	0,060

Klinik ve laboratuvar bulguları ortanca (min-max) olarak gösterildi.

*p<0,05 istatistiksel anlamlılık göstermektedir.

AİS Hastalarında Panexin-1 Düzeyi İle İlişkili Bulgular

Hastalarda Panx1 düzeyi ile cinsiyet, komorbidite varlığı ve inme şiddeti arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Panexin-1 Düzeyi Demografik Ve Klinik Bulgular Arasındaki İlişki

Değişkenler	Panexin -1				P
	n	Median	Minimum	Maximum	
Cinsiyet					
Kadın	23	6,5	4,1	9,5	0,517
Erkek	22	7,3	4,5	9,7	
Komorbidite					
Yok	8	7	4,5	9	0,999
Var	37	6,6	4,1	9,7	
Hipertansiyon					
Yok	20	7	4,5	9,2	0,656
Var	25	6,5	4,1	9,7	
Diabetes mellitus					
Yok	35	6,9	4,1	9,5	0,672
Var	10	6,1	5,3	9,7	
Koroner arter hastalığı					
Yok	36	7	4,1	9,7	0,619
Var	9	5,9	4,7	9,2	
Atrial fibrilasyon					
Yok	37	6,9	4,1	9,5	0,673
Var	8	7	4,9	9,7	
Serebro vasküler olay					
Yok	39	6,6	4,1	9,7	0,515
Var	6	7,4	5,1	9,2	
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı					
Yok	40	6,8	4,1	9,7	0,665
Var	5	6,9	5,3	8,4	
İnme şiddeti					
Hafif	21	7,4	4,5	9,7	0,232
Orta	24	6,5	4,1	8,4	

Panx1 düzeyi ile yaş, NIHSS skoru, enfarkt volümü ve laboratuvar bulguları arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 4.10).

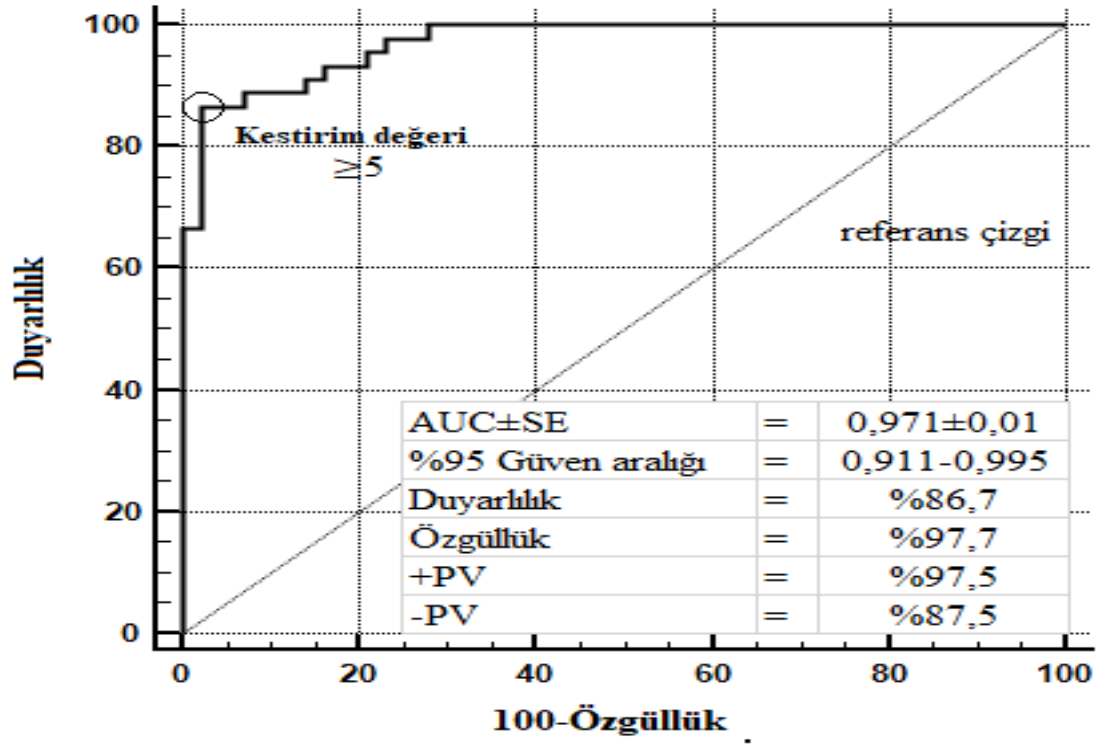
Tablo 4.10. Panexin-1 Düzeyi Yaş Ve Laboratuvar Bulgular Arasındaki İlişki

Değişkenler	Pannexin-1	
	r	p
Yaş	-0,003	0,986
NIHSS	-0,239	0,114
Enfark volümü	-0,121	0,451
Homosistein	0,309	0,080
Trigliserit	0,250	0,101
Total kolesterol	0,201	0,196
HDL	-0,031	0,843
LDL	0,237	0,125
HbA1C	0,008	0,961

r = korelasyon katsayısı

Pannexin-1 Düzeyinin Tanısal Performans Değerlendirmesi

Panx1 düzeyinin $\geq 5,0$ olması %86,7 duyarlılık ve %97,7 özgüllük ile AİS'i öngördüğü saptandı ($AUC \pm SE = 0,971 \pm 0,01$; Pozitif prediktif değer (+PV)=%97,5; Negatif prediktif değer (-PV)=%87,5; $p < 0,001$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. AIS'i Öngörmeye Pannexin-1 Düzeyinin Tanısal Performans Değerlendirmesi

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, AİS hastalarında serum Panx1 düzeyinin sağlıklı insanlara kıyasla daha yüksek olduğu saptandı. Ayrıca, AİS hastalarında Panx1 düzeylerinin demografik özelliklerden, klinik bulgulardan ve enfarkt volümünden bağımsız olarak yükseklik gösterdiği belirlendi.

İskemik inme, belirli bir beyin bölgesine kan akışı, genellikle kan pıhtısı oluşumuna (yani trombüs) yanıt olarak, serebral arter tıkanması nedeniyle tehlikeye düştüğünde meydana gelir. İskemi sırasında, uyarıcı nörotransmitter glutamatın birikmesi, nöronal anoksik depolarizasyona ve hücre ölümüyle ilişkili kalsiyum düzensizliğine yol açar (128). Panx1 kanallarının iskemik hasara katkıda bulunabileceğine dair ilk öneri, gecikmiş anoksik depolarizasyon akımının büyük bir kısmının karbenoksolon ve lantan tarafından bloke edilebildiği oksijen-glukoz yoksunluğu (OGD) koşulları altında hipokampal izole nöronlarda aktivasyonlarının kanıtlarından gelmiştir (129). Panx1 kanallarının anoksik depolarizasyona katkısı daha sonra ex vivo hipokampal bölümlerde doğrulanmıştır. Anoksik depolarizasyon hem Panx1 blokerleri (karbenoksolon ve 10 Panx) hem de nöronlarda short hairpin RNA (shRNA) aracılı Panx1 knockdown ile azatılmıştır (130). İlginç bir şekilde, OGD sırasında ex vivo bölümlerde Panx1 fonksiyonuna bakan önceki bir çalışma, bu kanalın anoksik depolarizasyon akımına bir katkısı belirlenememiştir (131). Bu tutarsızlığın nedeni açık değildir, ancak deneysel çalışma koşullarındaki farklılıklardan (örneğin; tek başına anoksiye karşı OGD) kaynaklanıyor olabilir.

Araştırmamızda AİS hastalarında Panx1 seviyeleri sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek saptanmıştır. Üstelik Panx1 seviyesinin 5'in üzerinde olması AİS'İ öngörmede yüksek tanısal duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir. İskemi durumlarında Panx1'in nasıl aktive olduğu henüz net olarak bilinmemektedir. İleri sürülen bir model, Panx1'in NMDAR sinyallemesinin akış yönünde görev aldığı şeklindedir. Weilinger ve ark (130), Panx1 aracılı anoksik akımın, APV tarafından bloke edilmesi Panx1 aktivitesini ortadan kaldırdığı için NMDA reseptör aktivitesine bağlı olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, Panx1 alt

biriminin C-terimi üzerindeki Y308 tortusundaki tirozin fosforilasyonunun, anoksi koşulları altında NMDAR stimülasyonunun akış aşağısındaki kanal aktivasyonunu teşvik etmek için kritik role sahip olduğunu bulmuşlardır. Hem Src ailesi kinaz inhibitörü (PP2) hem de Src fosforilasyon bölgesini (TAT - Panx305-318) bloke etmek için tasarlanmış bir TAT-konjuge Panx1 peptidi tarafından tirozin fosforilasyon sahasının bloke edilmesi, anoksi sırasında Panx1 aktivasyonunu inhibe etmiştir. Weilinger ve ark. 2016 yılında yaptığı bir başka çalışmada ise (132) NMDA reseptörü (NMDAR) - Panx1 aktivasyon modeli, Panx1 aktivasyonunun NMDAR'lar tarafından yapılan sinyalizasyona iyonotropik değil metabotropik bağlı olduğunu gösterilmiştir. Bu model için destek, NMDAR gözenegini bloke ettiği ve böylece iyon akışını önlediği bilinen MK - 801'in Panx1 kanallarının ikincil aktivasyonunu engellemediği gözlemine dayanmaktadır. Bunun tersine ikincil Panx1 akımları, glutamat bağlanmasını önleyen rekabetçi bir NMDAR antagonisti olan (2R)-amino-5-fosfonovalerik asit (APV) tarafından kolaylıkla bloke edilmiştir. Bu bulgular, iskemi sırasında NMDAR'a glutamat bağlanmasının, Y308'de Src kinaz tarafından fosforilasyon yoluyla NMDAR aracılı iyon akışından bağımsız olarak Panx1 aktivasyonuna neden olduğunu desteklemektedir. Hem in vitro hem de in vivo iskemik inme modelleri, farmakolojik bloke ediciler (10Panx, probenesid ve anti - Panx1) ve Panx1 koşullu knockout fareler kullanılarak, bu iki çalışmadan elde edilen deneysel bulgular, aşırı NMDAR stimülasyonuna yanıt olarak Panx1 aktivasyonunun, anoksik depolarizasyonda, mitokondriyal disfonksiyonda, kalsiyum düzensizliğinde ve inmede nöronal ölümden rol oynadığını desteklemektedir (130, 132).

İnme durumunda Panx1 aktivitesini etkileyen bir takım mekanizmalar ileri sürülmektedir. Zang ve ark. tarafından (133) serebral iskemi, OGD koşulları altında nöronal Panx1 aracılı kalsein akışını kolaylaştırdığı gösterilen NO gibi reaktif oksijen türlerinin artan üretimiyle de ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu ilişki, NO'nun hücre içi sistein kalıntılarının nitrosilasyonu ile Panx1 aktivitesini kolaylaştırması olarak öne sürülmektedir. İlginç bir şekilde, sitoplazmik Panx1 C-terminalinde lokalize olan amino asit 346'da (C346) kritik bir sistein kalıntısının serin ikamesinin, hücre ölümüyle ilişkili yapısal kanal

aktivitesini teşvik ettiği gösterilmiştir (134, 135). Bununla birlikte, NO donörleriyle tedaviye yanıt olarak Panx1 C346'daki S- nitrosilasyonun Panx1 kanal akımlarını ve ATP salımını inhibe ettiği gösterilmiştir (136, 137). Zhang ve diğerleri tarafından önerilen aktivasyon mekanizmasının aksine, bu bulgular, S- nitrosilasyonun oksidatif stres sırasında aşırı kanal aktivitesini sınırlamak için olumsuz geribildirim olarak hareket edebileceğini göstermektedir. Bu nedenle, alternatif mekanizmaların, oksidatif strese yanıt olarak Panx1'in işlevini nasıl artırdığı halen netlik kazanmamıştır.

Panx1'in inmede diğer bir rolü, beyin damar sistemini, serebral kan akışını ve kan-beyin bariyerini düzenleme işlevi ile ilgilidir. Bu bağlamdaki potansiyel ilgisi, Panx1'in periferik arterlerin vasküler düz kas hücrelerinde ifade edildiğini ve α 1AR stimülasyonunun Panx1 aracılı ATP salınımı yoluyla vazokonstriksiyonu destekleyebileceğini gösteren çalışmalara dayanır (138). Panx1 ekspresyonu, sıçan orta serebral arterinin düz kas hücrelerinde (139) ve murin posterior serebral arterlerin hem düz kas hem de endotel hücrelerinde gösterilmiştir (140). İlginç bir şekilde, Panx1'in endotel hücrelerinden koşullu hücre tipine özgü silinmesi, orta serebral arter tıkanıklığı ile iskemi / reperfüzyondan sonra serebral enfarktüs hacmini azaltmıştır (141). Endotelyal Panx1 knockoutun koruyucu etkisi, lökositlerin beyin parankimine infiltrasyonundaki bir azalmaya ve inme ile indüklenen serebral arter miyojenik tonunun körelmesine atfedilmiştir. Bu durum çalışmamızda Panx1 ile enfarktüs hacmi arasındaki anlamsız ilişkinin diğer mekanizmalar tarafından (ATP, nöroinflamasyonun gibi) etkilenebileceğini düşündürmektedir.

Nöroinflamasyonun hem nöronal hasarı hem de onarımı teşvik ederek inmenin patogeneze katkıda bulunduğu bilinmektedir. İskeminin hemen ardından nöronal hücre ölümüne yanıt olarak hem mikroglia hem de astrositlerin pro-inflamatuar aktivasyonu vardır. Ek olarak, inme sonrası kan-beyin bariyerinin bozulması, periferik bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonuna ve beyin ödemeine yol açar. Endotelyal Panx1, venüllerde TNF- α ile indüklenen lökosit adezyonunu ve göçünü düzenler (11). TNF- α , bir iskemik inmenin

ardından salınır. Anti-TNF- α antikoru veya nötrofil infiltrasyonunun inhibisyonu, farelerde inme sonucunu iyileştirdiği gösterilmiştir (12, 13).

Panx1'in inme patofizyolojisine katkısı ile ilgili in vivo çalışmalar arasındaki farklara dikkat çekmek önemlidir. Bargiotas ve ark. (142) başlangıçta Panx1'in tek başına genetik eliminasyonunun kalıcı MCA oklüzyonunun (MCAO) ardından enfarktüs boyutunu azaltmadığını göstererek Panx1'in iskemik hasara aracılık etmedeki rolünü sorgulamıştır. Bununla birlikte, kalıcı değil, geçici MCAO inme modeliyle, ya Panx1'in genetik eliminasyonu ya da probenesid, mefloquine veya TAT - PanX₃₀₅₋₃₁₈ ile farmakolojik blok, enfarktüs boyutunda bir azalma ve gelişmiş nörolojik skorlar göstermiştir (132, 143, 144). Bu bulgular, Panx1'in inme yaralanmasına katkısının modele bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Örneğin Panx1, geçici MCAO modelinde reperfüzyon hasarının altında yatan mekanizmaları şiddetlendirebilir.

Son zamanlarda, Panx1'in kalıcı MCAO'ya katkısının cinsiyete özgü olduğu, erkek farelerde Panx1 knockout'un inme sonuçlarını iyileştirdiği ancak dişi farelerde olmadığı gösterilmiştir (145). Bazı çalışmalarda sadece erkek fareler kullanılması (142) nedeniyle cinsiyet ilişkisi araştırılmamıştır. Bizim araştırmamızda erkek ve kadın AIS hastalarında Panx1'in benzer seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Fakat Panx1'in knockout etkisi araştırmamızda incelenmemiştir. Freitas-Andrade ve ark. tarafından (145) yapılan çalışmada, Panx1 knockout dişi farelerde, vahşi tipteki muadillerine kıyasla önemli ölçüde daha küçük enfarktüs hacimleri (~% 50 azalma) sergilerken, erkeklerde böyle bir knockout etkisi görülmemiştir. Panx1 knockoutun cinsiyete özgü bu etkisi, peri-enfarktüs enflamasyonunda ve astrosit reaktivitesinde önemli azalmalarla ve ayrıca probenesid ile tedavi edilen kadınlarda daha küçük enfarktüs hacimleriyle tekrarlanmış, ancak erkeklerde böyle bir ilişki gözlenmemiştir. Son olarak, dişiler iskemik koşullar altında erkeklerden genel olarak daha yüksek Panx1 protein seviyeleri göstermiştir. Bu bulgular, kadınlara özgü kalıcı orta serebral arter tıkanmasına yanıt olarak Panx1 için

zararlı bir rolünü ortaya çıkarır ve inme sonucundaki cinsiyet farklılıklarını anlamak için yeni bir bakış açısı sağlar.

Sonuç olarak; Panx1 kanallarının inmede patojenik bir rol oynadığını Panx1'in seviyelerinin arttığı gözlenmiştir. Panx1 kanallarının sadece eksitotoksik hücre ölümü için bir kanal olarak değil, aynı zamanda bağışıklık hücresi aktivasyonu / infiltrasyonu ve serebral kan akışının bir düzenleyicisi olarak güçlü bir şekilde desteklemektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında AİS geçiren hastalarda serum Panx1 düzeyinin enfarkt volümü ve prognozla ilişkisi araştırıldı. Bu amaçla 45 hasta ve 45 sağlıklı kişiler randomize kontrollü olarak araştırmaya dahil edildi. Enfarkt alanları hacimleri ise Cavalieri metodu ile PANX1'in in vitro kantitatif ölçümü ise ELISA yöntemi ile ölçüldü. AİS hastalarında kontrol grubuna kıyasla ortalama Panx1 düzeyi daha yüksek saptandı. AİS hastalarında Panx1 düzeyi ile demografik ve laboratuvar bulguları arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Bu durum Panx1'in AİS'e özgü olarak yükselebileceğini gösterdi. Bu bulgu; Panx1 düzeyinin $\geq 5,0$ olması %86,7 duyarlılık ve %97,7 özgüllük ile AİS'i öngörmesi ile desteklendi ($AUC \pm SE = 0,971 \pm 0,01$; Pozitif prediktif değer (+PV)=%97,5; Negatif prediktif değer (-PV)=%87,5; $p < 0,001$).

7. KAYNAKLAR

1. Truelsen T, Begg S, Mathers C. The global burden of cerebrovascular disease. Geneva: World Health Organisation. 2000.
2. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Blaha MJ, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2014 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2014;129(3):399-410.
3. Bond S, Naus CC. The pannexins: past and present. *Frontiers in physiology*. 2014;5:58.
4. Lohman AW, Billaud M, Straub AC, Johnstone SR, Best AK, Lee M, et al. Expression of pannexin isoforms in the systemic murine arterial network. *Journal of vascular research*. 2012;49(5):405-16.
5. Burns AR, Phillips SC, Sokoya EM. Pannexin protein expression in the rat middle cerebral artery. *Journal of vascular research*. 2012;49(2):101-10.
6. Xiong X-X, Gu L-J, Shen J, Kang X-H, Zheng Y-Y, Yue S-b, et al. Probenecid protects against transient focal cerebral ischemic injury by inhibiting HMGB1 release and attenuating AQP4 expression in mice. *Neurochemical research*. 2014;39(1):216-24.
7. Bargiotas P, Krenz A, Hormuzdi SG, Ridder DA, Herb A, Barakat W, et al. Pannexins in ischemia-induced neurodegeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(51):20772-7.
8. Weilingner NL, Lohman AW, Rakai BD, Ma EM, Bialecki J, Maslieieva V, et al. Metabotropic NMDA receptor signaling couples Src family kinases to pannexin-1 during excitotoxicity. *Nature neuroscience*. 2016;19(3):432-42.
9. Lohman AW, Isakson BE. Differentiating connexin hemichannels and pannexin channels in cellular ATP release. *FEBS letters*. 2014;588(8):1379-88.
10. Billaud M, Chiu Y-H, Lohman AW, Parpaite T, Butcher JT, Mutchler SM, et al. A molecular signature in the pannexin1 intracellular loop confers

- channel activation by the α_1 adrenoreceptor in smooth muscle cells. *Science signaling*. 2015;8(364):ra17-ra.
11. Lohman AW, Leskov IL, Butcher JT, Johnstone SR, Stokes TA, Begandt D, et al. Pannexin 1 channels regulate leukocyte emigration through the venous endothelium during acute inflammation. *Nature communications*. 2015;6(1):1-12.
 12. Yang G-Y, Gong C, Qin Z, Ye W, Mao Y, Bertz AL. Inhibition of TNF α attenuates infarct volume and ICAM-1 expression in ischemic mouse brain. *Neuroreport*. 1998;9(9):2131-4.
 13. Härtl R, Schürer L, Schmid-Schönbein GW, del Zoppo GJ. Experimental antileukocyte interventions in cerebral ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1996;16(6):1108-19.
 14. Koller A, Toth P. Contribution of flow-dependent vasomotor mechanisms to the autoregulation of cerebral blood flow. *Journal of vascular research*. 2012;49(5):375-89.
 15. Lin MP, Sanossian N. Reperfusion therapy in the acute management of ischemic stroke. *Cardiology clinics*. 2015;33(1):99-109.
 16. Cipolla MJ, Chan S-L, Sweet J, Tavares MJ, Gokina N, Brayden JE. Postischemic reperfusion causes smooth muscle calcium sensitization and vasoconstriction of parenchymal arterioles. *Stroke*. 2014;45(8):2425-30.
 17. Brayden JE, Li Y, Tavares MJ. Purinergic receptors regulate myogenic tone in cerebral parenchymal arterioles. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2013;33(2):293-9.
 18. Mederos y Schnitzler M, Storch U, Meibers S, Nurwakagari P, Breit A, Essin K, et al. Gq-coupled receptors as mechanosensors mediating myogenic vasoconstriction. *The EMBO journal*. 2008;27(23):3092-103.
 19. Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, Caplan LR, Connors J, Culebras A, et al. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2013;44(7):2064-89.

20. Chang JC. Stroke Classification: Critical Role of Unusually Large von Willebrand Factor Multimers and Tissue Factor on Clinical Phenotypes Based on Novel “Two-Path Unifying Theory” of Hemostasis. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2020;26:1076029620913634.
21. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2016;133(4):447-54.
22. Lee RH, Lee MH, Wu CY, e Silva AC, Possoit HE, Hsieh T-H, et al. Cerebral ischemia and neuroregeneration. *Neural regeneration research*. 2018;13(3):373.
23. T Neumann J, H Cohan C, R Dave K, B Wright C, A Perez-Pinzon M. Global cerebral ischemia: synaptic and cognitive dysfunction. *Current drug targets*. 2013;14(1):20-35.
24. DeSai C, Shapshak AH. Cerebral Ischemia. *StatPearls [Internet]*. 2020.
25. Donkor ES. Stroke in the 21st century: A snapshot of the burden, epidemiology, and quality of life. *Stroke research and treatment*. 2018;2018.
26. Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart disease and stroke statistics—2020 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2020:E139-E596.
27. Wafa HA, Wolfe CD, Emmett E, Roth GA, Johnson CO, Wang Y. Burden of Stroke in Europe: Thirty-Year Projections of Incidence, Prevalence, Deaths, and Disability-Adjusted Life Years. *Stroke*. 2020;51(8):2418-27.
28. El-Hajj M, Salameh P, Rachidi S, Hosseini H. The epidemiology of stroke in the Middle East. *European Stroke Journal*. 2016;1(3):180-98.
29. Venketasubramanian N, Yoon BW, Pandian J, Navarro JC. Stroke epidemiology in south, east, and south-east asia: A review. *Journal of stroke*. 2017;19(3):286.
30. Türk Börü Ü, Kulualp AŞ, Tarhan ÖF, Bölük C, Duman A, Zeytin Demiral G, et al. Stroke prevalence among the Turkish population in a rural area

- of Istanbul: A community-based study. *SAGE open medicine*. 2018;6:2050312118797565.
31. Yousufuddin M, Young N. Aging and ischemic stroke. *Aging (Albany NY)*. 2019;11(9):2542.
 32. Howard G, Kissela BM, Kleindorfer DO, McClure LA, Soliman EZ, Judd SE, et al. Differences in the role of black race and stroke risk factors for first vs recurrent stroke. *Neurology*. 2016;86(7):637-42.
 33. Gibson CL. Cerebral ischemic stroke: is gender important? *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2013;33(9):1355-61.
 34. Turtzo LC, McCullough LD. Sex differences in stroke. *Cerebrovascular diseases*. 2008;26(5):462-74.
 35. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *The American journal of pathology*. 1995;146(1):3.
 36. Broughton BR, Reutens DC, Sobey CG. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia. *Stroke*. 2009;40(5):e331-e9.
 37. Woodruff TM, Thundyil J, Tang S-C, Sobey CG, Taylor SM, Arumugam TV. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *Molecular neurodegeneration*. 2011;6(1):11.
 38. Mehta SL, Manhas N, Raghubir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics. *Brain research reviews*. 2007;54(1):34-66.
 39. Mattson MP, Culmsee C, Yu ZF. Apoptotic and antiapoptotic mechanisms in stroke. *Cell and tissue research*. 2000;301(1):173-87.
 40. Choi K, Kim J, Kim GW, Choi C. Oxidative stress-induced necrotic cell death via mitochondria-dependent burst of reactive oxygen species. *Current neurovascular research*. 2009;6(4):213-22.
 41. Im J-Y, Kim D, Paik S-G, Han P-L. Cyclooxygenase-2-dependent neuronal death proceeds via superoxide anion generation. *Free Radical Biology and Medicine*. 2006;41(6):960-72.
 42. Mize RR, Dawson TM, Dawson V, Friedlander MJ. Nitric oxide in brain development, plasticity, and disease: Preface. *Progress in Brain Research*. 1998;118.

43. Kukreja RC, Xi L. eNOS phosphorylation: a pivotal molecular switch in vasodilation and cardioprotection? *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2007;42(2):280-2.
44. Bhardwaj A, Northington FJ, Ichord RN, Hanley DF, Traystman RJ, Koehler RC. Characterization of ionotropic glutamate receptor-mediated nitric oxide production in vivo in rats. *Stroke*. 1997;28(4):850-7.
45. Mattson MP. Roles of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in obesity, the metabolic syndrome, and associated vascular and neurodegenerative disorders. *Experimental gerontology*. 2009;44(10):625-33.
46. Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends in neurosciences*. 1999;22(9):391-7.
47. Wang Q, Tang XN, Yenari MA. The inflammatory response in stroke. *Journal of neuroimmunology*. 2007;184(1-2):53-68.
48. Gelderblom M, Leyboldt F, Steinbach K, Behrens D, Choe C-U, Siler DA, et al. Temporal and spatial dynamics of cerebral immune cell accumulation in stroke. *Stroke*. 2009;40(5):1849-57.
49. del Zoppo GJ, Milner R, Mabuchi T, Hung S, Wang X, Berg GI, et al. Microglial activation and matrix protease generation during focal cerebral ischemia. *Stroke*. 2007;38(2):646-51.
50. del Zoppo GJ, Hallenbeck JM. Advances in the vascular pathophysiology of ischemic stroke. *Thrombosis research*. 2000;98(3):73-81.
51. Ishikawa M, Zhang JH, Nanda A, Granger DN. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in the cerebral microcirculation. *Front Biosci*. 2004;9(5):1339-47.
52. Boehme AK, Esenwa C, Elkind MS. Stroke risk factors, genetics, and prevention. *Circulation research*. 2017;120(3):472-95.
53. Saver JL. Time is brain—quantified. *Stroke*. 2006;37(1):263-6.
54. Khaku AS, Tadi P. Cerebrovascular Disease (Stroke). *StatPearls* [internet]. 2020.
55. Adams Jr HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for

- use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *stroke*. 1993;24(1):35-41.
56. Marini C, Totaro R, De Santis F, Ciancarelli I, Baldassarre M, Carolei A. Stroke in young adults in the community-based L'Aquila registry: incidence and prognosis. *Stroke*. 2001;32(1):52-6.
 57. Chen Z, Mo J, Xu J, Qin H, Zheng H, Pan Y, et al. Risk Profile of Ischemic Stroke Caused by Small-Artery Occlusion Versus Deep Intracerebral Hemorrhage. *Frontiers in neurology*. 2019;10:1213.
 58. Yesilot Barlas N, Putaala J, Waje-Andreassen U, Vassilopoulou S, Nardi K, Odier C, et al. Etiology of first-ever ischaemic stroke in European young adults: the 15 cities young stroke study. *European journal of neurology*. 2013;20(11):1431-9.
 59. Vymazal J, Rulseh AM, Keller J, Janouskova L. Comparison of CT and MR imaging in ischemic stroke. *Insights into imaging*. 2012;3(6):619-27.
 60. Lev MH, Farkas J, Gemmete JJ, Hossain ST, Hunter GJ, Koroshetz WJ, et al. Acute stroke: improved nonenhanced CT detection—benefits of soft-copy interpretation by using variable window width and center level settings. *Radiology*. 1999;213(1):150-5.
 61. Pressman BD, Tourje EJ, Thompson JR. An early CT sign of ischemic infarction: increased density in a cerebral artery. *American Journal of Roentgenology*. 1987;149(3):583-6.
 62. Price EB, Moss HE. Osborn's Brain: Imaging, Pathology, and Anatomy. Taylor & Francis; 2014.
 63. Nakano S, Iseda T, Kawano H, Yoneyama T, Ikeda T, Wakisaka S. Correlation of early CT signs in the deep middle cerebral artery territories with angiographically confirmed site of arterial occlusion. *American journal of neuroradiology*. 2001;22(4):654-9.
 64. Erden İ. Kraniospinal manyetik rezonans. M Ağildere: Proton manyetik rezonans spektroskopisi Manyetik rezonans derneği. 2003:165-73.
 65. Becker H, Desch H, Hacker H, Pencz A. CT fogging effect with ischemic cerebral infarcts. *Neuroradiology*. 1979;18(4):185-92.

66. O'Brien P, Sellar R, Wardlaw J. Fogging on T2-weighted MR after acute ischaemic stroke: how often might this occur and what are the implications? *Neuroradiology*. 2004;46(8):635-41.
67. Burdette JH, Elster AD. "Cerebral Infarction Diagnosis by Computerized Tomography: Analysis and Evaluation of Findings"—How Far Have We Really Come? *American Journal of Roentgenology*. 2006;186(3):611-2.
68. Wycliffe ND, Choe J, Holshouser B, Oyoyo UE, Haacke EM, Kido DK. Reliability in detection of hemorrhage in acute stroke by a new three-dimensional gradient recalled echo susceptibility-weighted imaging technique compared to computed tomography: a retrospective study. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*. 2004;20(3):372-7.
69. Srinivasan A, Goyal M, Azri FA, Lum C. State-of-the-art imaging of acute stroke. *Radiographics*. 2006;26(suppl_1):S75-S95.
70. Provenzale JM, Jahan R, Naidich TP, Fox AJ. Assessment of the patient with hyperacute stroke: imaging and therapy. *Radiology*. 2003;229(2):347-59.
71. Bammer R, Keeling SL, Augustin M, Pruessmann KP, Wolf R, Stollberger R, et al. Improved diffusion-weighted single-shot echo-planar imaging (EPI) in stroke using sensitivity encoding (SENSE). *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*. 2001;46(3):548-54.
72. Schaefer PW, Grant PE, Gonzalez RG. Diffusion-weighted MR imaging of the brain. *Radiology*. 2000;217(2):331-45.
73. Schwamm LH, Koroshetz WJ, Sorensen AG, Wang B, Copen WA, Budzik R, et al. Time course of lesion development in patients with acute stroke: serial diffusion-and hemodynamic-weighted magnetic resonance imaging. *Stroke*. 1998;29(11):2268-76.
74. Lansberg MG, Thijs VN, O'Brien MW, Ali JO, De Crespigny AJ, Tong DC, et al. Evolution of apparent diffusion coefficient, diffusion-weighted, and

- T2-weighted signal intensity of acute stroke. *American Journal of Neuroradiology*. 2001;22(4):637-44.
75. Marks MP, de Crespigny A, Lentz D, Enzmann DR, Albers GW, Moseley ME. Acute and chronic stroke: navigated spin-echo diffusion-weighted MR imaging. *Radiology*. 1996;199(2):403-8.
 76. Gonzalez RG, Schaefer PW, Buonanno FS, Schwamm LH, Budzik RF, Rordorf G, et al. Diffusion-weighted MR imaging: diagnostic accuracy in patients imaged within 6 hours of stroke symptom onset. *Radiology*. 1999;210(1):155-62.
 77. Béjot Y, Duloquin G, Crespy V, Durier J, Garnier L, Graber M, et al. Influence of Preexisting Cognitive Impairment on Clinical Severity of Ischemic Stroke: The Dijon Stroke Registry. *Stroke*. 2020;51(6):1667-73.
 78. Kwah LK, Harvey LA, Diong J, Herbert RD. Models containing age and NIHSS predict recovery of ambulation and upper limb function six months after stroke: an observational study. *Journal of physiotherapy*. 2013;59(3):189-97.
 79. Pan J, Konstas A-A, Bateman B, Ortolano GA, Pile-Spellman J. Reperfusion injury following cerebral ischemia: pathophysiology, MR imaging, and potential therapies. *Neuroradiology*. 2007;49(2):93-102.
 80. Balami JS, Sutherland BA, Buchan AM. Complications associated with recombinant tissue plasminogen activator therapy for acute ischaemic stroke. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*. 2013;12(2):155-69.
 81. Panchina Y, Kelmanson I, Matz M, Lukyanov K, Usman N, Lukyanov S. A ubiquitous family of putative gap junction molecules. *Current biology*. 2000;10(13):R473-R4.
 82. Yen MR, Saier Jr MH. Gap junctional proteins of animals: the innexin/pannexin superfamily. *Progress in biophysics and molecular biology*. 2007;94(1-2):5-14.
 83. Baranova A, Ivanov D, Petrash N, Pestova A, Skoblov M, Kelmanson I, et al. The mammalian pannexin family is homologous to the invertebrate innexin gap junction proteins. *Genomics*. 2004;83(4):706-16.

84. Penuela S, Gehi R, Laird DW. The biochemistry and function of pannexin channels. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2013;1828(1):15-22.
85. Boassa D, Ambrosi C, Qiu F, Dahl G, Gaietta G, Sosinsky G. Pannexin1 channels contain a glycosylation site that targets the hexamer to the plasma membrane. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(43):31733-43.
86. Ambrosi C, Gassmann O, Pranskevich JN, Boassa D, Smock A, Wang J, et al. Pannexin1 and Pannexin2 channels show quaternary similarities to connexons and different oligomerization numbers from each other. *Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(32):24420-31.
87. Wang J, Dahl G. SCAM analysis of Panx1 suggests a peculiar pore structure. *Journal of General Physiology*. 2010;136(5):515-27.
88. Penuela S, Bhalla R, Nag K, Laird DW. Glycosylation regulates pannexin intermixing and cellular localization. *Molecular biology of the cell*. 2009;20(20):4313-23.
89. Penuela S, Bhalla R, Gong X-Q, Cowan KN, Celetti SJ, Cowan BJ, et al. Pannexin 1 and pannexin 3 are glycoproteins that exhibit many distinct characteristics from the connexin family of gap junction proteins. *Journal of cell science*. 2007;120(21):3772-83.
90. Wang XH, Streeter M, Liu YP, Zhao HB. Identification and characterization of pannexin expression in the mammalian cochlea. *Journal of Comparative Neurology*. 2009;512(3):336-46.
91. Billaud M, Lohman AW, Straub AC, Looft-Wilson R, Johnstone SR, Araj CA, et al. Pannexin1 regulates α 1-adrenergic receptor-mediated vasoconstriction. *Circulation research*. 2011;109(1):80-5.
92. Turmel P, Dufresne J, Hermo L, Smith CE, Penuela S, Laird DW, et al. Characterization of pannexin1 and pannexin3 and their regulation by androgens in the male reproductive tract of the adult rat. *Molecular reproduction and development*. 2011;78(2):124-38.

93. Vogt A, Hormuzdi SG, Monyer H. Pannexin1 and Pannexin2 expression in the developing and mature rat brain. *Molecular Brain Research*. 2005;141(1):113-20.
94. Swayne LA, Sorbara CD, Bennett SA. Pannexin 2 is expressed by postnatal hippocampal neural progenitors and modulates neuronal commitment. *Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(32):24977-86.
95. Iwamoto T, Nakamura T, Doyle A, Ishikawa M, De Vega S, Fukumoto S, et al. Pannexin 3 regulates intracellular ATP/cAMP levels and promotes chondrocyte differentiation. *Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(24):18948-58.
96. Bond SR, Lau A, Penuela S, Sampaio AV, Underhill TM, Laird DW, et al. Pannexin 3 is a novel target for Runx2, expressed by osteoblasts and mature growth plate chondrocytes. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2011;26(12):2911-22.
97. Ishikawa M, Iwamoto T, Nakamura T, Doyle A, Fukumoto S, Yamada Y. Pannexin 3 functions as an ER Ca²⁺ channel, hemichannel, and gap junction to promote osteoblast differentiation. *Journal of Cell Biology*. 2011;193(7):1257-74.
98. Penuela S, Celetti SJ, Bhalla R, Shao Q, Laird DW. Diverse subcellular distribution profiles of pannexin1 and pannexin3. *Cell communication & adhesion*. 2008;15(1-2):133-42.
99. Penuela S, Laird DW. The cellular life of pannexins. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling*. 2012;1(5):621-32.
100. Vanden Abeele F, Bidaux G, Gordienko D, Beck B, Panchin YV, Baranova AV, et al. Functional implications of calcium permeability of the channel formed by pannexin 1. *The Journal of cell biology*. 2006;174(4):535-46.
101. Elliott MR, Chekeni FB, Trampont PC, Lazarowski ER, Kadl A, Walk SF, et al. Nucleotides released by apoptotic cells act as a find-me signal to promote phagocytic clearance. *Nature*. 2009;461(7261):282-6.

102. Santiago MF, Veliskova J, Patel NK, Lutz SE, Caille D, Charollais A, et al. Targeting pannexin1 improves seizure outcome. *PloS one*. 2011;6(9):e25178.
103. Thompson RJ, Jackson MF, Olah ME, Rungta RL, Hines DJ, Beazely MA, et al. Activation of pannexin-1 hemichannels augments aberrant bursting in the hippocampus. *Science*. 2008;322(5907):1555-9.
104. Gulbransen BD, Bashashati M, Hirota SA, Gui X, Roberts JA, MacDonald JA, et al. Activation of neuronal P2X7 receptor–pannexin-1 mediates death of enteric neurons during colitis. *Nature medicine*. 2012;18(4):600-4.
105. Thompson RJ, Zhou N, MacVicar BA. Ischemia opens neuronal gap junction hemichannels. *Science*. 2006;312(5775):924-7.
106. Iglesias R, Locovei S, Roque A, Alberto AP, Dahl G, Spray DC, et al. P2X7 receptor-Pannexin1 complex: pharmacology and signaling. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2008;295(3):C752-C60.
107. Weilingner NL, Tang PL, Thompson RJ. Anoxia-induced NMDA receptor activation opens pannexin channels via Src family kinases. *Journal of Neuroscience*. 2012;32(36):12579-88.
108. Silverman WR, de Rivero Vaccari JP, Locovei S, Qiu F, Carlsson SK, Scemes E, et al. The pannexin 1 channel activates the inflammasome in neurons and astrocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 2009;284(27):18143-51.
109. Bao L, Locovei S, Dahl G. Pannexin membrane channels are mechanosensitive conduits for ATP. *FEBS letters*. 2004;572(1-3):65-8.
110. Chekeni FB, Elliott MR, Sandilos JK, Walk SF, Kinchen JM, Lazarowski ER, et al. Pannexin 1 channels mediate ‘find-me’ signal release and membrane permeability during apoptosis. *Nature*. 2010;467(7317):863-7.
111. Locovei S, Wang J, Dahl G. Activation of pannexin 1 channels by ATP through P2Y receptors and by cytoplasmic calcium. *FEBS letters*. 2006;580(1):239-44.

112. Velasquez S, Eugenin EA. Role of Pannexin-1 hemichannels and purinergic receptors in the pathogenesis of human diseases. *Frontiers in physiology*. 2014;5:96.
113. Pelegrin P, Surprenant A. Pannexin-1 mediates large pore formation and interleukin-1 β release by the ATP-gated P2X7 receptor. *The EMBO journal*. 2006;25(21):5071-82.
114. Locovei S, Bao L, Dahl G. Pannexin 1 in erythrocytes: function without a gap. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(20):7655-9.
115. Locovei S, Scemes E, Qiu F, Spray DC, Dahl G. Pannexin1 is part of the pore forming unit of the P2X7 receptor death complex. *FEBS letters*. 2007;581(3):483-8.
116. Dosch M, Gerber J, Jebbawi F, Beldi G. Mechanisms of ATP release by inflammatory cells. *International journal of molecular sciences*. 2018;19(4):1222.
117. Huang Y-J, Maruyama Y, Dvoryanchikov G, Pereira E, Chaudhari N, Roper SD. The role of pannexin 1 hemichannels in ATP release and cell–cell communication in mouse taste buds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(15):6436-41.
118. Dando R, Roper SD. Cell-to-cell communication in intact taste buds through ATP signalling from pannexin 1 gap junction hemichannels. *The Journal of physiology*. 2009;587(24):5899-906.
119. Ransford GA, Fregien N, Qiu F, Dahl G, Conner GE, Salathe M. Pannexin 1 contributes to ATP release in airway epithelia. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2009;41(5):525-34.
120. Séror C, Melki M-T, Subra F, Raza SQ, Bras M, Saïdi H, et al. Extracellular ATP acts on P2Y2 purinergic receptors to facilitate HIV-1 infection. *Journal of Experimental Medicine*. 2011;208(9):1823-34.
121. Kanneganti T-D, Lamkanfi M, Kim Y-G, Chen G, Park J-H, Franchi L, et al. Pannexin-1-mediated recognition of bacterial molecules activates the cryopyrin inflammasome independent of Toll-like receptor signaling. *Immunity*. 2007;26(4):433-43.

122. Qu Y, Misaghi S, Newton K, Gilmour LL, Louie S, Cupp JE, et al. Pannexin-1 is required for ATP release during apoptosis but not for inflammasome activation. *The Journal of Immunology*. 2011;186(11):6553-61.
123. Makarenkova HP, Shah SB, Shestopalov VI. The two faces of pannexins: new roles in inflammation and repair. *Journal of inflammation research*. 2018;11:273.
124. Lai CP, Bechberger JF, Thompson RJ, MacVicar BA, Bruzzone R, Naus CC. Tumor-suppressive effects of pannexin 1 in C6 glioma cells. *Cancer research*. 2007;67(4):1545-54.
125. Lai C, Bechberger J, Naus C. Pannexin2 as a novel growth regulator in C6 glioma cells. *Oncogene*. 2009;28(49):4402-8.
126. Orellana JA, Giaume C, Sáez JC. Role of connexin hemichannels in neurodegeneration. *Neurodegenerative Diseases-Processes, Prevention, Protection and Monitoring*; IntechOpen; 2011.
127. Celetti SJ, Cowan KN, Penuela S, Shao Q, Churko J, Laird DW. Implications of pannexin 1 and pannexin 3 for keratinocyte differentiation. *Journal of cell science*. 2010;123(8):1363-72.
128. Yeung AK, Patil CS, Jackson MF. Pannexin-1 in the CNS: Emerging concepts in health and disease. *J Neurochem*. 2020;154(5):468-85.
129. Thompson RJ, Zhou N, MacVicar BA. Ischemia opens neuronal gap junction hemichannels. *Science*. 2006;312(5775):924-7.
130. Weilinger NL, Tang PL, Thompson RJ. Anoxia-induced NMDA receptor activation opens pannexin channels via Src family kinases. *J Neurosci*. 2012;32(36):12579-88.
131. Madry C, Haglerod C, Attwell D. The role of pannexin hemichannels in the anoxic depolarization of hippocampal pyramidal cells. *Brain*. 2010;133(Pt 12):3755-63.
132. Weilinger NL, Lohman AW, Rakai BD, Ma EM, Bialecki J, Maslieieva V, et al. Metabotropic NMDA receptor signaling couples Src family kinases to pannexin-1 during excitotoxicity. *Nat Neurosci*. 2016;19(3):432-42.

133. Zhang L, Deng T, Sun Y, Liu K, Yang Y, Zheng X. Role for nitric oxide in permeability of hippocampal neuronal hemichannels during oxygen glucose deprivation. *J Neurosci Res.* 2008;86(10):2281-91.
134. Bunse S, Schmidt M, Prochnow N, Zoidl G, Dermietzel R. Intracellular cysteine 346 is essentially involved in regulating Panx1 channel activity. *J Biol Chem.* 2010;285(49):38444-52.
135. Wang J, Dahl G. SCAM analysis of Panx1 suggests a peculiar pore structure. *J Gen Physiol.* 2010;136(5):515-27.
136. Lohman AW, Weaver JL, Billaud M, Sandilos JK, Griffiths R, Straub AC, et al. S-nitrosylation inhibits pannexin 1 channel function. *J Biol Chem.* 2012;287(47):39602-12.
137. Poornima V, Vallabhaneni S, Mukhopadhyay M, Bera AK. Nitric oxide inhibits the pannexin 1 channel through a cGMP-PKG dependent pathway. *Nitric Oxide.* 2015;47:77-84.
138. Billaud M, Lohman AW, Straub AC, Looft-Wilson R, Johnstone SR, Araj CA, et al. Pannexin1 regulates alpha1-adrenergic receptor- mediated vasoconstriction. *Circ Res.* 2011;109(1):80-5.
139. Burns AR, Phillips SC, Sokoya EM. Pannexin protein expression in the rat middle cerebral artery. *J Vasc Res.* 2012;49(2):101-10.
140. Good ME, Chiu YH, Poon IKH, Medina CB, Butcher JT, Mendu SK, et al. Pannexin 1 Channels as an Unexpected New Target of the Anti-Hypertensive Drug Spironolactone. *Circ Res.* 2018;122(4):606-15.
141. Good ME, Eucker SA, Li J, Bacon HM, Lang SM, Butcher JT, et al. Endothelial cell Pannexin1 modulates severity of ischemic stroke by regulating cerebral inflammation and myogenic tone. *JCI Insight.* 2018;3(6).
142. Bargiotas P, Krenz A, Hormuzdi SG, Ridder DA, Herb A, Barakat W, et al. Pannexins in ischemia-induced neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(51):20772-7.
143. Cisneros-Mejorado A, Gottlieb M, Cavaliere F, Magnus T, Koch-Nolte F, Scemes E, et al. Blockade of P2X7 receptors or pannexin-1 channels

similarly attenuates postischemic damage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2015;35(5):843-50.

144. Xiong XX, Gu LJ, Shen J, Kang XH, Zheng YY, Yue SB, et al. Probenecid protects against transient focal cerebral ischemic injury by inhibiting HMGB1 release and attenuating AQP4 expression in mice. *Neurochem Res.* 2014;39(1):216-24.
145. Freitas-Andrade M, Bechberger JF, MacVicar BA, Viau V, Naus CC. Pannexin1 knockout and blockade reduces ischemic stroke injury in female, but not in male mice. *Oncotarget.* 2017;8(23):36973-83.



EKLER



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/
Konu : Etik Kurul Kararı

05.11.2020

Sayın:Arş. Gör. Yasemin ERDEMİR
Nöroloji Anabilim Dalı
Araştırma Görevlisi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz
“Akut İskemik Storklu Hastalarda Serum Pannexin Düzeyi Ve Enfarkt Volümü İlişkisi” isimli
bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı

Sorumlu Araştırmacı :
1. Dr. Öğr. Üyesi Fatma ŞİMŞEK

Yardımcı Araştırmacı :
1. Arş. Gör.Dr. Yasemin ERDEMİR



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Dr. Öğr. Üyesi Fatma ŞİMŞEK
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Akut İskemik Stoklu Hastalarda Serum Pannexin Düzeyi Ve Enfarkt Volümü İlişkisi
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 09 Karar No: 60	Tarih: 05.11.2020
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.M.Hamidullah UYANIK
Üye

Prof.Dr.Zekai HALICI
Üye

Doç.Dr.Zeynep KAYAMAN ÖZLÜ
Üye

Doç.Dr.Yasemin ÇAYIR
Üye

Doç.Dr.Ayşenur AKSOY
Üye

Doç.Dr.Atilla ÇAYIR
Üye

Dr.Öğr.Üy.İbrahim KARABULUT
Üye

Dr.Öğr.Üy.Murat KAYABEKİR
Üye

Dr.Öğr.Üy.Sinan YILMAZ
Üye

Emrah MELETLIOĞLU
Üye