

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SIÇANLARDA A. CAROTIS COMMUNIS'İN  
İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE RETİROL'ÜN  
ANTIOKSİDAN SİSTEM VE BEYİN ÜZERİNDEKİ  
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Yadigar AKBAŞ

Anatomi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR  
2020



T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SIÇANLARDA A. CAROTIS COMMUNIS'İN  
İSKEMİ/REPERFÜZYON MODELİNDE RETİNOL'ÜN  
ANTIOKSİDAN SİSTEM VE BEYİN ÜZERİNDEKİ  
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Yadigar AKBAŞ

Anatomi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI  
Prof.Dr. Hilmi ÖZDEN

ESKİŞEHİR  
2020

**TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI**

Dr. Yadigar AKBAŞ'a ait "Sıçanlarda A. Carotis Communis'in İskemi/Reperfüzyon Modelinde Retinol'ün Antioksidan Sistem ve Beyin Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi" adlı çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:08/12/2020

Jüri Başkanı Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN  
Anatomi Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Ferruh YÜCEL  
Anatomi Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Ayhan CÖMERT  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Anatomi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fakülte Kurulunun ----/----/2020 tarih ve ----/---- sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İ. Özkan ALATAŞ  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarım Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN'e, Prof. Dr. Emel ULUPINAR'a, Prof. Dr. Ferruh YÜCEL'e, Prof. Dr. Nedim ÜNAL'a, Prof. Dr. Yüksel AYDAR'a ve Dr. Öğr. Gör. Hakan AY'a; tezimin deney aşamasında yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Semih ÖZ'e; Anatomi Anabilim Dalımızda birlikte çalıştığım meslektaşlarıma ve çalışma arkadaşlarıma; tezimin sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Cengiz ÜSTÜNER'e ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU'na yardımları ve destekleri için teşekkür ederim. Eğitim ve öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim aileme sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

## ÖZET

**Akbaş, Y. Sıçanlarda A. Carotis Communis'in İskemi/Reperfüzyon Modelinde Retinol'ün Antioksidan Sistem ve Beyin Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2020.** Çalışmamızda beyinde iskemi/reperfüzyon ile oluşturulan hasar sonrası uygulanan A vitamininin morfolojik ve antioksidan etkilerini araştırdık. Çalışmamızda 40 Sprague- Dawley sıçan her bir grup 8'er hayvan olacak şekilde 5 gruba ayırdık. Kontrol grubu hariç tüm gruplarda sağ a. carotis communise 30 dakikalık iskemi ve bunu takiben reperfüzyon uyguladık. 24 saatlik iyileşme sürecinin ardından 7 gün süreyle 3. gruba 1.000 IU/kg/gün, 4. gruba 3.000 IU/kg/gün, dozunda 5. gruba ise 9.000 IU/kg/gün dozunda oral gavaj yoluyla A vitamini uygulaması yaptık. 2. gruba iskemi/reperfüzyon uygulamasından sonra 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla ayçiçek yağı verdik. Kontrol grubuna ise normal değerleri elde etmek amacı ile hiçbir uygulama yapmadık, sıçanlar standart pelet yem ile ad libitum beslendi. 7 günlük uygulamanın sonunda intrakardiyak kan örnekleri ve sağ beyni aldık. Kan örneklerinden süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA) ve katalaz (KAT) seviyeleri belirlendi. Doku örnekleri ise hematoksilin/eozin ile histokimyasal olarak boyandı ve beyin histolojisindeki değişiklikler ışık mikroskopunda incelendi. Çalışma sonucunda A vitamini ile tedavi edilen gruplarda iskemi/reperfüzyon grubuna göre beyinde oluşan hasar azaldı. SOD, MDA ve KAT değerlerinin ise A vitamini uygulanan gruplarda kontrol grubu değerlerine göre anlamlı olarak olumlu etkileri görüldü. Sonuç olarak, beyinde iskemi/reperfüzyon sonrasında yapılan A vitamini uygulaması histolojik hasarı azaltıcı ve antioksidan değerleri tedavi edici etki ortaya çıkarmıştır.

Anahtar Kelimeler: İskemi/reperfüzyon, a. carotis communis, antioksidan, vitamin

A, sıçan

## ABSTRACT

**Akbaş, Y. Evaluation of the Effect of Retinol on Antioxidant System in Brain A. Carotis Communis Ischemia / Reperfusion Model in Rats. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Specialization Thesis, Eskişehir, 2020.** In our study, we investigated the morphological and antioxidant effects of vitamin A applied after injury caused by ischemia / reperfusion in the brain. In our study, we divided 40 Sprague-Dawley rats into 5 groups, each group being 8 animals. In all groups except the control group, we applied 30 minutes ischemia to the right a.carotis communis followed by reperfusion. Following the 24-hour recovery period, we applied vitamin A via oral gavage for 7 days to the 3rd group at a dose of 1.000 IU/ kg/day, to the 4th group at a dose of 3.000 IU/kg/day, and to the 5th group at a dose of 9.000 IU/kg/day. After the ischemia / reperfusion application to the second group, we gave sunflower oil via oral gavage for 7 days. We did not apply any application to the control group in order to obtain normal values, rats were fed ad libitum with standard pellet feed. We received intracardiac blood samples and the right brain at the end of the 7-day application. Superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and catalase (CAT) levels were determined from blood samples. Tissue samples were histochemically stained with hematoxylin / eosin and changes in brain histology were examined under a light microscope. As a result of the study, brain damage decreased in the groups treated with vitamin A compared to the ischemia / reperfusion group. SOD, MDA and KAT values were significantly positive compared to the control group values in the groups treated with vitamin A. As a result, application of vitamin A after ischemia / reperfusion in the brain has reduced histological damage and therapeutic effect of antioxidant values.

**Key Words:** Ischemia / reperfusion, a. carotis communis, antioxidant, vitamin A, rat

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Sinir Sistemi Histolojisi ve Anatomisi	5
2.1.1. Sinir Sistemi Histolojisi	5
2.1.2. Sinir Sistemi Anatomisi	6
2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı	20
2.3. Cerebral İskemi Reperfüzyon Hasarı	21
2.4. Serbest Radikaller ve Kaynakları	26
2.5. Antioksidanlar ve Avitamini	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Şartları	33
3.2. Deney Grupları	33
3.3. Kullanılan Maddeler	35
3.3.1. A vitamini	35
3.3.2. Serum fizyolojik	35
3.3.3. Anestezik madde	35
3.4. Girişimsel İşlemler ve Cerrahi Yöntem	35
3.5. Kanların Biyokimyasal Analizleri	40
3.5.1. Malondialdehit (MDA) düzeyi ölçümü	40
3.5.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü	41
3.5.3. Katalaz (CAT) aktivitesi ölçümü	41



	Sayfa
3.6. Dokuların Alınması ve Histolojik İncelenmesi	42
3.7. İstatiksel Analiz	44
4. BULGULAR	45
4.1. Biyokimyasal Sonuçlar	45
4.1.1. Hemolizatta malondialdehit (MDA) değerleri	49
4.1.2. Hemolizatta süperoksit dismutaz (SOD) değerleri	50
4.1.3. Hemolizatta katalaz (KAT) değerleri	48
4.2. Histolojik Sonuçlar	52
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	72

## SİMGELER VE KISALTMALAR

µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
a.	Arteria
aa.	Arteriae
ACC	Arteria carotis communis
AMPA	Alfa amino-3-hidroksil-5-metil-4 izoksazol-propionik asit
ark.	arkadaşları
ATP	Adenozin tri fosfat
BA	Broddman alanı
Br	Brom
Ca <sup>+</sup>	Kalsiyum iyonu
CA <sub>1</sub>	Cornu ammonis 1
CAT	Katalaz
cc	Cubic centimeter
Cl	Klor
cm	Santimetre
Cu	Bakır
ddH <sub>2</sub> O	Double-distilled su
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilen diamin tetra asetat
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
gl	Glandula
gr	Gram
HADYEK	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HE	Hematoksilen eozin
IU	International unit
İ/R	İskemi reperfüzyon
İ-R	İskemi reperfüzyon
K <sup>+</sup>	Potasyum iyonu

KAT	Katalaz
kg	Kilogram
M	Mol
MDA	Malondialdehit
ml	Mililitre
mm	Milimetre
Mn	Manganez
Na <sup>+</sup>	Sodyum iyonu
NaCl	Sodyum klorür
NAD	Nikotinamid dinükleotit
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
nm	Nanometre
NMDA	N-metil-D-Aspartat
nmol	Nanomol
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentetaz
°C	Celsius
PARP	Poli-ADP-riboz-polimeraz
pH	Power of hydrogen
r.	Ramus
rpm	Revolution per minute
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TOAST	Trial of Organization
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
WST	Water-soluble tetrazolium salt
Zn	Çinko

## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Beyin loblarının farklı açılardan görünüşü	9
2.2. Arcus aortae'nın dallarına ayrılması	15
2.3. A. carotis communis'in boyundaki seyirinde dallarına ayrılması	16
2.4. A. carotis externa ve dalları	17
2.5. A. carotis interna ve dalları	18
2.6. Cerebrum beslenmesi	19
2.7. İskemik inmede hücre ölüm mekanizması	23
2.8. Vitamin A metabolizması	30
2.9. Vitamin A'nın çeşitleri	31
3.1. A. carotis communis dextra'nın ortaya çıkarılması	37
3.2. A. carotis communis dextra'ya klemp takılması	38
3.3. A. carotis communis dextra'da reperfüzyonun sağlanması	39
4.1. Gruplara göre ortalama MDA düzeylerini gösteren grafik (veriler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir)	49
4.2. Gruplara göre ortalama SOD aktivitelerini gösteren grafik (veriler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir).	50
4.3. Gruplara göre ortalama KAT düzeylerini gösteren grafik (veriler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir).	48
4.4. Kontrol grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (A1-A3)(HE, scale bar: 200µm, 100µm, 50.0µm). Kontrol grubuna ait sıçan beyinlerinde kortikal alanda normal görünümlü nöronlar (⇨) ve glial hücreler (Δ) izlenmektedir.	52
4.5. İ/R grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (B1-B3) (HE, scale bar: 200 µm, 100 µm, 50.0 µm). İ/R grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanda hasar,ekstrasellüler vakuolizasyon(v), perivasküler ödem(→) ve nekrotik hücre yapıları(Δ) izlenmektedir.	54

- 4.6. 1000 IU/kg vit A grubunu grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (C1-C3) (HE, scale bar: 200  $\mu$ m, 100  $\mu$ m, 50.0  $\mu$ m). 1000mg/kg vit A grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanda az sayıda nekrotik hücre( $\Delta$ ), azalmış ekstrasellüler vakuolizasyon (v) ve perivasküler ödem ( $\rightarrow$ ) görülmekle birlikte genel olarak normale yakın görünümlü nöronlar( $\Leftrightarrow$ ) ve glial hücreler izlenmektedir. 56
- 4.7. 3000 IU/kg vit A grubunu grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (D1-D3) (HE, scale bar: 200  $\mu$ m, 100  $\mu$ m, 50.0  $\mu$ m). 3000 IU/kg vit A grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanda az sayıda nekrotik hücre( $\Delta$ ) ve kısmi perivasküler ödem( $\rightarrow$ ) görülmekle birlikte sham grubuna oranla azalmış hasar ve normale yakın nöron yapıları ( $\Leftrightarrow$ ) ve glial hücreler izlenmektedir. 58
- 4.8. 9000 IU/kg vit A grubunu grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (E1-E3) (HE, scale bar: 200  $\mu$ m, 100  $\mu$ m, 50.0  $\mu$ m). 9000 mg/kg vit A grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanda birkaç nekrotik hücre ( $\Delta$ ) görülmekle birlikte sham grubuna oranla azalmış hasar ve kortikal alanda normale yakın nöronlar ( $\Leftrightarrow$ ) ve glial hücreler izlenmektedir. 60

## TABLOLAR

	Sayfa
2.1. Ölüm nedenlerinin cinsiyete göre dağılımı, Türkiye 2011	4
2.2. Sinir sistemi bölümleri	6
2.3. Encephalon bölümleri	7
2.4. Diencephalon bölümleri	8
2.5. Lobların majör görevleri	11
2.6. Brodmann alanları ve kortikal yerleşimleri	14
2.7. Cerebral hemisfer lezyonları	24
4.1. 1.000 IU A vitamini uygulanan gruptaki sıçanlara ait antioksidan veriler	45
4.2. 3.000 IU A vitamini uygulanan gruptaki sıçanlara ait antioksidan veriler	46
4.3. 9.000 IU A vitamini uygulanan gruptaki sıçanlara ait antioksidan veriler	46
4.4. İskemi/reperfüzyon uygulanan gruptaki sıçanlara ait antioksidan veriler	47
4.5. Kontrol grubundaki sıçanlara ait antioksidan veriler	47
4.6. Gruplara göre ortalama MDA düzeyini gösteren tablo (veriler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir)	49
4.7. Gruplara göre ortalama SOD düzeyleri (veriler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir)	50
4.8. Gruplara göre ortalama KAT aktivitesini gösteren tablo (veriler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir)	48
4.9. Deney gruplarından elde edilen MDA,SOD,KAT değerleri ve bu değerlerin istatistik olarak karşılaştırılmasını içeren tablo (veriler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir)	51
4.10. Kontrol grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu.	53
4.11. İskemi / reperfüzyon grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu	55
4.12. 7 gün süresince 1000 IU/kg vitamin A grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu	57
4.13. 7 gün süresince 3000 IU/kg vitamin A grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu	59

4.14. 7 gün süresince 9000 IU/kg vitamin A grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu	61
---	----

## 1. GİRİŞ

Bir organizmanın işlev görebilmesi için sistemlerin, sistemler için organların, organlar için dokuların, dokular için ise hücrelerin sağlıklı olması gerekir. Canlının temel yapı taşı olan hücrenin fonksiyonlarının devamı için oksijen gereklidir. Bu oksijen ihtiyacının karşılanması ise tabiki kan yoluyla. Kan akımının devamlılığının sağlanması ve oksijenize olması hücre canlılığını sağlar.

Dolaşımdaki herhangi bir arteriyel veya venöz sistemin patolojisi organizmadaki en küçük birim olan hücreden başlayarak sistemi etkiler. Hücreler oluşturduğu yapılara göre de oksijen, besin kısacası ihtiyaçları değişir. Bazı organlar oksijen yetersizliğine dayanıklıysen iskelet kası gibi; bazı organlar ise oldukça hassastır ki en duyarlı organ cerebrumdur.

Dokuya giden kan akımının tromboz, emboli, ateroskleroz veya dışardan bir etkiyle azalması ya da kesilmesine iskemi denir. İskemi sonucu dokuda kimyasal reaksiyonlar fonksiyon ve doku kaybına yol açar. Bu durum sadece bulunduğu organ ile de sınırlı kalmayabilir. Örneğin; kalpte myokard enfarktüsünde ejeksiyon fraksiyonunun normal değerlerinin altına düşmesi diğer organların kanlanması da etkilediği için çoklu organ hasarına yol açabilir, alt ekstremitedeki bir iskemi akciğerleri etkileyebilir (1).

Bir bölgedeki oluşan aterosklerotik plak veya trombüs kan dolaşımına katılarak diğer organlarda da damar tıkanıklığına neden olabilir. Örneğin; atrial septal defektli hastalarda alt ekstremiteden gelen trombüs veya plak cerebrum damar tıkanıklığına kadar gidebiliyor.

İskemi, hücrenin ATP seviyesinin düşmesine ve toksik maddelerin dokuda birikerek hücresel disfonksiyon ve ölüme götüren biyokimyasal bir süreci başlatır. Reperfüzyon ise kanlanması bozulan dokunun tekrar kan akımının sağlanmasıdır. Reperfüze olan dokunun iskemik kaldığı süreç boyunca oluşturduğu toksik metabolitler ve inflamatuvar mediatörler hem bulunduğu dokuya hem de sistemik dolaşıma geçerek çoklu doku hasarına yol açabilir (2). İlk etapta kan akımının yeniden sağlanması dokuyu kurtarıyor gibi görünse de iskemi sırasında ortaya çıkan serbest radikalleri ortadan kaldırmak için yeterli antioksidan bulunmadığı için, reperfüzyon bile doku hasarını ortadan kaldıramamaktadır .



Cerebrum kognitif ve motor fonksiyonların oluşmasında majör rol oynayan organizmanın en temel organıdır. Vücut kan volümünün %20'sini kullanarak kanlanması yüksek olan organlardan biri olan cerebrum iskemiye çok duyarlıdır. Cerebrumun kan oksijen, karbondioksit, hidrojen iyon konsantrasyonları ve hücre membran geçirgenliği çok hassas bir şekilde kontrol altında tutulmaktadır.

Cerebrumun kan akışının global ya da fokal olarak azalmasına ya da tamamen kesilmesine bağlı olarak meydana gelen duruma cerebral iskemi denir. Cerebral iskemi, iki taraflı, tek taraflı ya da spesifik olarak bir bölgenin iskemisi şeklinde olabilir (3). Cerebral iskeminin birçok nedeni vardır. Nedenleri arasında kardiyak arrestler, hipovolemik şok, pulmoner emboli, venöz sistem yetmezliği, tromboembolik olaylar, aterosklerotik plaklar, asfiksi, çeşitli cerrahi operasyon geçiren hastalar kısacası beyin kanlanmasını sağlayan damarda darlık ya da tıkanıklık oluşturabilecek bütün durumlar vardır. Etyolojiye bakılmaksızın cerebral iskemi hücresel ve moleküler düzeyde nöron hasarıyla sonuçlanır.

Cerebral kan akımının 5-10 dakika süreyle kesilmesi sonucu beyinde kalıcı hasar oluşur. Bu kalıcı hasarın etkileri günler, aylar, yıllar hatta bir ömür sürecektir. Cerebral iskemiden sonraki reperfüzyon sonucu oluşan sekonder beyin hasarını da gözardı etmemek gerekiyor ki bunlar da artmış nötrofil, yüksek serbest oksijen radikalleri, cerebral ödem ve cerebral hemorajidir (3).

Serebrovasküler hastalıklar özellikle altmış yaş üstü insanlarda kardiyovasküler hastalıklardan sonra dünyada ikinci sırada mortalite nedenidir. Cerebral iskemi hem ülkemizde hem de dünyada oldukça sık görülen ve morbidite ve mortalitesi yüksek olan serebrovasküler hastalıklardandır (4).

Yaşam kalitesini ciddi anlamda bozan ve mortalite nedeni olan cerebral iskemi tedavisi oldukça önem kazanmaktadır. Tabiki ilk önceliğimiz insanın cerebral iskemiye karşı önlem almasıdır (5). Fakat o kadar çok etken var ki morbidite gerçekleşikten sonra tedavisi oldukça elzemdir.

Özellikle cerebral iskemi sonrası sekonder hasar olan, serbest oksijen radikallerinin etkisi ciddi anlamda hasar verici olabilmektedir (6). İskemi/reperfüzyon sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri için antioksidan maddeler oldukça önemlidir. Bu serbest oksijen radikallerinin kaldırılmasında hem endojen hem de eksojen antioksidanlar mevcuttur. Antioksidanlar endojen olarak bulunmasına rağmen,

anormal bir şekilde serbest oksijen radikal artışı olduğunda yeterli gelmemektedir. Eksojen antioksidanlar kullanılarak çeşitli deneysel çalışmalar yapılmaktadır. Hem protektif hem de terapötik anlamda değerli bilgiler elde edilen çalışmalar mevcuttur.

A vitamini (retinol) eksojen antioksidanlardan biri olup serbest etkileri hala araştırılmaktadır. Özellikle lipid peroksidasyonu üzerinde etkileri mevcuttur (7).

Çalışmamızda tek taraflı sağ arteria carotis communis iskemi/reperfüzyon hasar modelini sıçanlar üzerinde oluşturduk. Sıçanlara iskemi/reperfüzyon sonrası yedi gün boyunca farklı dozlarda terapötik A vitamini uygulayarak hasar üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

Dünyada mortalite nedeni olarak ilk sırada kalp ve damar hastalıkları, ikinci sırada bulaşıcı hastalıklar ve üçüncü sırada ise kanserler yer almaktadır. Tabiki bu oran yıllar içerisinde değişimler göstermektedir.

Türkiye’de ölüm bilgilerinin toplanması ve yayınlanması Türkiye İstatistik Kurumuna (TÜİK) aittir. Buna göre istatistiksel olarak bakıldığında ilk sırada kalp krizi yani kalp ve damar hastalıkları ikinci sırada ise kanserler yer almaktadır. Özellikle dolaşım sistemi hastalıkları yani damar hastalıkları hem kardiyak hem de cerebral olduğu için oldukça önemlidir (8).

**Tablo 2.1.** Ölüm nedenlerinin cinsiyete göre dağılımı, Türkiye 2011 (8).

Ölüm Nedeni	Cinsiyet				Toplam	
	Erkek		Kadın		Sayı	%
	Sayı	%	Sayı	%		
Kalp krizi	58	22,5	29	15,6	87	19,6
Kalp yetmezliği	29	11,2	35	18,8	64	14,4
İnme	13	5	19	10,2	32	7,2
KOAH	16	6,2	10	5,4	26	5,9
Kanser	58	22,5	32	17,2	90	20,3

Verilerde de görüldüğü üzere özellikle inme konusunda çalışmalar oldukça önemlidir. Ve çalışmalar sürekli devam etmektedir. İnmenin etyolojisine bakıldığında damarsal yapıların anatomik olarak ayrıntılı bir şekilde bilinmesi oldukça önem arz etmektedir. İskemi sonrası ise ortaya çıkan morbidite için etkilenen bölgelerin hem anatomik hem de fonksiyonel yapısının bilinmesi gerekmektedir.

## 2.1. Sinir Sistemi Histolojisi ve Anatomisi

Canlılardaki organizma ne kadar kompleks olursa sinir sistemi de o derece gelişmektedir. Su sölenterelerinde ilkel bir sinirsel mekanizma görülür. Hydra, deniz anası ve deniz gelinciği gibi canlılar ektoderm ve endoderm tabakaları vardır. Daha ilerlerse sinir sistemi yassı kurtlar gelir. Bunlarda ise merkezileşme vardır. Sinir sistemi ilkel sinirsel mekanizma-merkezileşme-segmentasyon ve ilkel refleksler-vertebralılar olarak basit bir mekanizmadan komplekse doğru ilerlemektedir (9).

Sinir sistemi organizmadaki en kompleks sistemdir. Hem işlevsel hem de yapısal olarak oldukça karmaşık ve diğer sistemlerle devamlı koordineli bir şekilde çalışmaktadır. Canlının etrafında ve organizmada bir etkiye cevap vermesine uyarılabilme denir. Sinir sistemi burada devreye girerek gelen uyarıyı merkezi sinir sistemine ya da merkezi sinir sisteminden aldığı uyarıyı efektör organlara iletir. Sinir sisteminde uyarıları merkezi sinir sistemine getiren lifler afferent, merkezi sinir sisteminden kas, organ gibi periferdeki yapılara götüren lifler ise efferent olarak tanımlanır.

### 2.1.1. Sinir Sistemi Histolojisi

Embriyonel gelişimin 3. Haftasında üç yapraklı germ yaprağı oluşur ve bunlar dıştan içe doğru ektoderm, mesoderm ve endodermdir. Bu üç germ yaprağının oluşum sürecine gastrulasyon denir. Gastrulasyon embriyo diskinde epiblast hücrelerinin primitif çizgiyi oluşturması sonucu başlar. Epiblast hücreleri primitif çizginin ön kısmında toplanarak primitif düğümü oluşturur. Bu durumda baş-kuyruk ve sağ-sol olarak eksenler belirlenir. Epiblast hücreleri endoderm, mezoderm ve ektodermi oluşturur (10).

Sinir sisteminin tamamı ektoderm kaynaklıdır. Nörolasyon ise nöral plağın nöral tüpe dönüşmesidir ve notokord oluşmaya başlar. Notokord çeşitli sinyaller oluşturarak ektodermden sinir sistemi oluşumuna neden olur. Ektodermden oluşan nöral öncü hücreler nöral plağı (lamina neuralis) meydana getirir. Nöral plak kranialden kaudale doğru ilerleyerek plica neuralis ve nöral oluğu (sulcus neuralis) oluşturur. Nöral oluğun dorsolateral katlantıları birbirlerine kaynaşarak nöral tüpü (tubus neuralis) oluşturur. 4. hafta sonunda nöroporlar kapanarak nörolasyon tamamlanır.

Dördüncü haftada nöral tüp ön kısmına pars cranialis, arka kısmına ise pars spinalis denir. Pars cranialis’de oluşan üç şişlik primer beyin kesecikleri olarak

isimlendirilir. Ve önden arkaya doğru prosencephalon, mesencephalon ve rhombencephalon olarak isimlendirilir. Bu yapılardan gelişecek olan beyin bölgelerinin hepsine encephalon denir. Pars spinalis'den ise medulla spinalis meydana gelir.

Sinir sistemi nöron denen sinir hücrelerinden ve glia hücreleri adı verilen destek hücrelerinden oluşur. Nöron duyuların alınması, motor-emosyonel uyarıların oluşması, hafıza ve öğrenme gibi işlevlerin yerine getirilmesi gibi birçok işlevi vardır. Bir nöronun dört kısmı vardır. Bunlar; hücre gövdesi, akson, dendrit ve sinaptik terminallerdir. Genelde birden fazla dendrit ve bir tane akson bulunur. Dendrit diğer nöronlarla bağlantı kurar ve diğer nöronlardan gelen impulsları nöron hücre gövdesine iletimini sağlar. Akson ise nöronun gövdesinden gelen impulsu diğer nöronlara ve efektör organlara gönderilmesini sağlar. Aksonlardan bir bölümü merkezi sinir sisteminin dışına çıkarak periferik sinirleri oluşturur. Akson üzeri myelin ve schwann kılıfıyla kaplıdır ve merkezi sinir sistemindeki aksonda myelin, periferik sinirlerde hem myelin hem de schwann kılıfı vardır. Glia hücreleri ise nöronların arasında bulunarak sinir hücrelerini destekler, besler ve metabolizma sonucu ortaya çıkan zararlı maddeleri yok eder. Glia hücreleri nöronların 5-10 katı fazladır (10).

Sinaps dediğimiz yapı bir nöronun diğer nöronların uzantılarıyla ya da hücre gövdesi ile kurduğu bağlantıya denir.

### 2.1.2. Sinir Sistemi Anatomisi

Sinir sistemi anatomik ve fizyolojik olarak bölümlere ayrılır. Anatomik olarak; merkezi ve periferik sinir sistemi olarak ikiye ayrılır. Fizyolojik olarak ise somatik ve otonom sinir sistemi olarak ayrılır (Tablo 2.2).

**Tablo 2.2.** Sinir sistemi bölümleri

<b>A) Anatomik olarak</b>
- Merkezi Sinir Sistemi: Beyin ve omurilik
- Periferik Sinir Sistemi: Kranial ve spinal sinirler
<b>B) Fizyolojik olarak</b>
- Somatik Sinir Sistemi
- Otonom Sinir Sistemi

Merkezi sinir sistemindeki benzer işlevleri yapan ve bir arada bulunan nöron topluluklarına nucleus, aksonlarına ise tractus nadir de olsa fasciculus denir. Aksonların fazlaca bulunduğu kısımlar açık renkte görülür, myelin kılıfına sahiptir substantia alba olarak isimlendirilir. Nöronların daha fazla bulunduğu ve koyu renkte görülen bölgelere ise substantia grisea denir.

Merkezi sinir sistem bölümlerinden biri olan encephalon; cavitas cranii içinde yer alır ve foramen magnum'da medulla spinalis ile devam eder. Rhombencephalon, mesencephalon ve prosencephalon (cerebrum) olmak üzere üçe ayrılır (11) (Tablo 2.3).

**Tablo 2.3.** Encephalon bölümleri

<b>Encephalon (Beyin)</b>
A) Rhombencephalon
○ Myelencephalon(medulla oblongata=bulbus)
○ Metencephalon(pons+cerebellum)
B) Mesencephalon
C) Prosencephalon(cerebrum)
○ Diencephalon
○ Telencephalon
Truncus encephali (beyin sapı) = Bulbus+pons+mesencephalon
Encephalon (beyin) = Cerebrum+cerebellum+truncus encephali

### **Cerebrum (prosencephalon)**

Merkezi sinir sisteminin bir bölümü olan beyin yeni doğanda 350 gram yetişkinlerde ise 1400-1450 gramdır. Yetişkinde vücut ağırlığının %2 yeni doğanda ise %10 beyin yaklaşık ağırlığını verir. Cerebrum dediğimizde aklımıza diencephalon ve telencephalon gelir.

Diencephalon üçüncü ventrikülün yanlardan sınırlayan ve mesencephalon-beyin hemisferleri arasında bulunan iki taraflı yerleşen bir yapıdır. İki taraftaki diencephalonu birleştiren yapıya adhesio interthalamica denir. Diencephalon pars dorsalis diencephali ve pars ventralis diencephali olarak iki bölümden oluşur. Retina

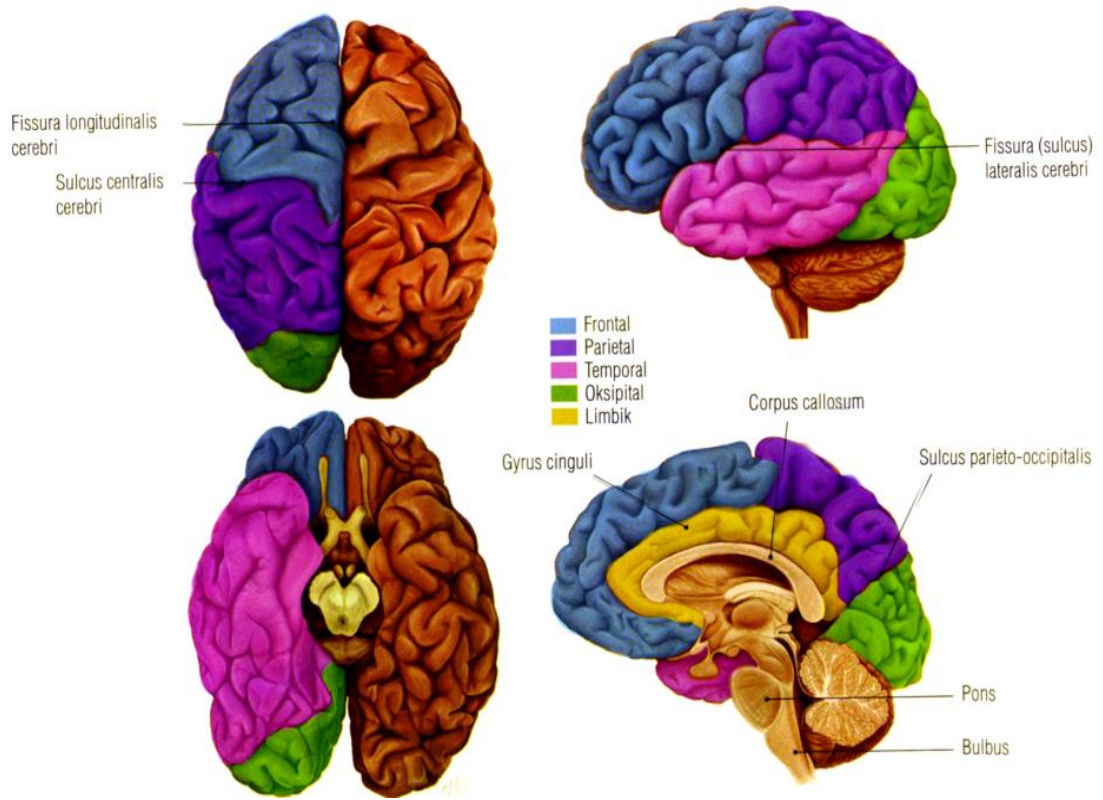
da embriyonel gelişimde optik çanakdan geliştiği için nervus opticus da diencephalona bağlıdır (11) (Tablo 2.4).

**Tablo 2.4.** Diencephalon bölümleri

Diencephalon	
1. Pars Dorsalis Diencephali	2. Pars Ventralis Diencephali
a) Epithalamus	a) Thalamus (ventralis)=subthalamus
b) Metathalamus	b) Hypothalamus
c) Thalamus (dorsalis)	

Telencephalon korteks, bazal ganglionlar, hippocampus ve bulbus olfactorius'dan oluşur. Sağ ve sol hemisferler olarak fissura longitudinalis ile ayrılır. İki hemisfer arası bağlantı ise corpus callosum denen liflerle sağlanır. Cortex cerebri ve subkortikal çekirdeklerden oluşur. Beyin hemisferinin dış kısmına cortex cerebri denir. Beyin üst kısmında bulunan çıkıntılara gyri cerebri, girintilere ise sulci cerebri denir.

Telencephalon beş loba ayrılır. Bunlar; lobus frontalis, lobus parietalis, lobus temporalis, lobus occipitalis, lobus limbicus'dur. Ayrıca derinlerde bulunan bir lob vardır ve lobus insularis denir (11).



Şekil 2.1. Beyin loblarının farklı açılardan görünüşü (10)

**1. Lobus Frontalis:** Beynin ön kısmında, lobuslar'dan en büyüğü olan ve sulcus centralis'in önünde bulunan lobdur. Lobus frontalis alt kısımda sulcus lateralis ile lobus temporalis'den ayrılır.

Primer motor alan burada bulunur ve vücuttaki tüm çizgili kasların kontralateral kontrolünü sağlar. Premotor korteks, frontal göz sahaları, suplementer göz sahası, motor konuşma merkezi (Broca alanı), prefrontal merkez ve orbitofrontal cortex bulunur.

Lobus frontalis kişinin iyi-kötü kavramını anlaması, sosyal iletişim, ödül, dikkat, bellek, planlama ve motivasyon gibi zihinsel görevlerde önemlidir. İlâveten dopamin reseptörlerinin bulunmasından dolayı alışkanlık, ilaç, uyşturucu maddeler veya alkol gibi bağımlılık oluşturan durumlarla da ilişkilidir.

**2. Lobus Parietalis:** Lobus parietalis lobus frontalis ve lobus occipitalis arasında yer alır. Ön kenarını sulcus centralis, ventrali sulcus lateralis ile ayrılır. Sulcus lateralis aracılığıyla lobus temporalis'den ayrılır. Lobus occipitalis'ten ise sulcus



parietooccipitalis ile ayrılır. Her iki hemisferdeki lobus parietalis fissura longitudinalis ile ayrılır.

Primer somatik duyu merkezi, kortikal okuma merkezi, primer dokunma merkezi, sekonder somatik duyu merkezi ve assosiasyon bölgeleri bulunur.

Lobus parietalis organizmada kontralateral deri ve somatik periferik alan innervasyonu, miksiyon-defekasyon kontrolü, proprioepsiyon, dokunma duyusu, kendini tanıma, farkındalık ve koordiasyon sağlar.

3. **Lobus Occipitalis:** Lobus occipitalis tentorium cerebelli üzerine oturur ve cerebellum'dan fissura transversa cerebelli ile ayrılır. Primer görme merkezi, sekonder görme merkezi, oksipital göz sahası bulunur.

Her bir görsel korteks ipsilateral retinanın lateral yarısından ve kontralateral retinasının medial yarısından görsel bilgiler alır.

4. **Lobus Temporalis:** Yukarıda, sulcus lateralis ile frontal lobdan; arka-üst kısımda, sulcus lateralis'in arka ucunu polus occipitalis'e birleştiren çizginin ön yarısı ile parietal lobdan; arkada, sulcus parieto-occipitalis'i incisura preoccipitalis'e birleştiren çizginin alt yarısı ile de oksipital lobdan ayrılır.

Primer işitme merkezi, sekonder işitme merkezi ve sekonder konuşma merkezi (Wernicke alanı) bulunur.

5. **Lobus Limbicus:** Hemisferlerin medialinde bulunan gyrus cinguli, gyrus parahippocampalis, gyrus fasciolaris ve gyrus dentatus'tan oluşur.

6. **Lobus İnsularis (insula):** Lobus frontalis, lobus parietalis, lobus temporalis tarafından örtülü olan ve sulcus lateralis derininde bulunan bir lobdur. Sulcus lateralis aralığından etrafındaki dokuları kaldırarak ulaşabiliriz.

Lobus insularis'in işlevine bakacak olursak duyu durum, vücut homeostazi, benlik duygusu, empati, algı, motor kontrol, öfke, korku, hüzn, mutluluk, benlik, özgüven, yeniliği ve kişiler arası ilişkiler gibi bir sürü durumla ilişkilidir. Lobus insularis'in ön kısmında primer tat korteksi bulunur.

Loblari majör görevlerine göre aşağıdaki tabloda özetledik (Tablo 2.5).

**Tablo 2.5.** Lobların majör görevleri

<b>Beyin Hemisferleri ve Lobları</b>	<b>Fonksiyon</b>
Sol Hemisfer	
	-Anlamsal bellekten geri çağırma
	-Detaylara odaklanma
	-Kuralların okunması
	-Plan yapar ve ivedidir
	-İletişim sırasında beden kullanımı
	-Mantıksal durum üretir
	-Sözel bellek
Sağ Hemisfer	
	-Görsel hafıza
	-Episodik hafızadan geri çağırılması
	-Duygu ve sezgi kaynaklı
	-Ayrıntıya odaklanamama
	-İletişim sırasında el kullanımı
	-Bir işin nasıl yapılacağı
	-Kuralları sorma
	Şekilci, ivedi olmayan
Frontal	
	-Hareket
	-Yüksek zihinsel işlevler
Prefrontal Cortex	
	-Kişiliğin merkezi
	-Kibarlık, mantık, öngörü, karar verme
	-Hafızayla kodlama sol prefrontal cortex
	-Hafızada geri çağırma sağ prefrontal cortex
Parietal Lob	
	-Ağrı, ısı, tat, dokunma

**Tablo 2.5. “Devam” Lobların majör görevleri**

Frontal + Parietal Lob (lobulus paracentralis)	
	-Miksiyon ve defekasyon
Occipital Lob	
	-Görme merkezi
Temporal Lob	
	-İşitme, hafıza, limbik sistem
Sağ Temporal Lob Arkası	
	-Görsel bilgilerin hatırlanması
Sol Temporal Lob Arkası	
	-Sözel bilgilerin hatırlanması
Hippocampus	
	-Bellek (hafıza)

Telencephalon’u dış kısmından kabuk şeklinde saran yapıya cortex cerebri denir. Gri cevher yapısındadır, gyrus ve sulcus sayesinde oldukça geniş bir yüzey alanına sahiptir. Cortex cerebri 1.5-4.5 mm kalınlığındadır ve yaklaşık en az 2.6 milyar en fazla ise 13-14 milyar kadar nöron bulunur. Sinir hücresi olarak piramidal, yıldız, fuziform, horizontal (kajal) ve Martinotti hücreleri bulunur.

Cortex kısmına baktığımızda embriyolojik gelişimi ve histolojik yapısı açısından allocortex ve neocortex olarak ikiye ayrılır. Allocortex 3-5 tabakadan oluşan, paleocortex-archiocortex-periallocortex alt tiplere ayrılan bir kısımdır. Neocortex ise altı tabakadan oluşan proisocortex ve isocortex olmak üzere ikiye ayrılır. Neocortex’in altı tabakasına bakarsak;

1. Stratum moleculare(plexiforme, Lamina I): En üstteki tabaka olup tanjensiyel lifler bulunur. Sinir hücresi olarak da piramidal ve fuziform hücrelerinin apikal dendritleriyle yıldız ve Martinotti hücrelerinin aksonları bulunur. Bazen Cajal’ın horizontal hücreleri de bulunabilir.
2. Stratum granulare externum (Lamina II): Çok miktarda küçük piramidal ve yıldız hücreleri mevcuttur. Dendritleri stratum plexiforme’de son bulur

fakat aksonları ise derine inerek bu tabakada sonlanır ya da beyaz cevhere kadar gider.

3. Stratum neurium pyramidalium externu (Lamina III): Piramidal hücrelerin bulunduğu; yüzeysel olanlarına neuron pyramidale medium, derinde olanlarına ise neuron pyramidale magnum dendiği bir tabakadır. Bu nöronların apikal dendritleri stratum moleculare'ye aksonları ise beyaz cevherde assosiasyon, projeksiyon ve komissural yol şeklinde devam eder.
4. Stratum granulare internum (Lamina IV): Küçük yıldız hücreleri ve piramidal hücrelerden oluşur. Ayrıca Baillarger'in dış bandı olarak da bilinir.
5. Stratum ganglionicum(stratum pyramidale internum, Lamina V): Bu katmanda büyük ve orta boy piramidal nöronlar vardır. Bu hücreleri dendrit kısımları stratum moleculare'ye uzanır ve akson kısımları ise capsula interna'yı geçip tr. Corticospinalis olarak devam eder. Ayrıca bir miktar yıldız hücresi ve Martinotti hücresi de bulunur. Gyrus precentralis'deki piramidal hücreleri bu tabakadaki en büyük hücreleridir ve Betz'in dev hücreleri ismi verilir.
6. Stratum multiforme (Lamina VI): Hücreler fuziform hücreler olmasına rağmen çoğunlukla piramidal nöronlardan modifiyedir. Ayrıca Martinotti hücreleri de mevcuttur.

Cortex cerebri'ye baktığımızda numaralandırılmış sahalar görürüz. Bu sahalar bilim insanları tarafından farklı kriterler göz önüne alınarak numaralandırılmıştır. Brodmann Nissl boyama tekniğine göre cortex cerebri'yi elliiki sahaya, Vogts myelinli lifleri dikkate alarak ikiyüz sahaya, Von Economo yüzdokuz sahaya ayırmıştır. Bu sahalar özellikle klinik açıdan hastaların değerlendirilmesinde önemlidir.

Brodmann cortex cerebri'yi histolojik ve hücre mimarisini göz önüne alarak elliiki sahaya ayırmıştır. Aşağıdaki tabloda kısaca bazı sahalardan bahsettik (10) (Tablo 2.6).

**Tablo 2.6.** Brodmann alanları ve kortikal yerleşimleri

<b>Brodman Alanı</b>	<b>Kortikal İşlevi</b>
BA 3,1,2	Primer somatik duyuşsal alan
BA 4	Primer motor alan
BA 17	Primer görme korteksi
BA 18	Sekonder görme korteksi
BA 19	Assosiasyon görme korteksi
BA 22	Kaudal kısmı Wernicke alanı
BA 39	Wernicke konuşma alanının bir kısmı
BA 40	Wernicke alanının bir kısmı
BA 41,42	Primer işitme korteksi
BA 43	Primer tat korteksi
BA 44	Broca motor konuşma alanının bir kısmı
BA 45	Broca motor konuşma alanının bir kısmı

### **Cerebrum'un Kanlanması**

Çalışmamızda a. carotis communis dextra'dan geçen kan akımını kestikten sonra terapötik retinol uygulayarak beyin üzerindeki antioksidan sisteme etkisini değerlendirdik. Bu durumda beyin kanlanmasını sağlayan damarlar oldukça önemlidir.

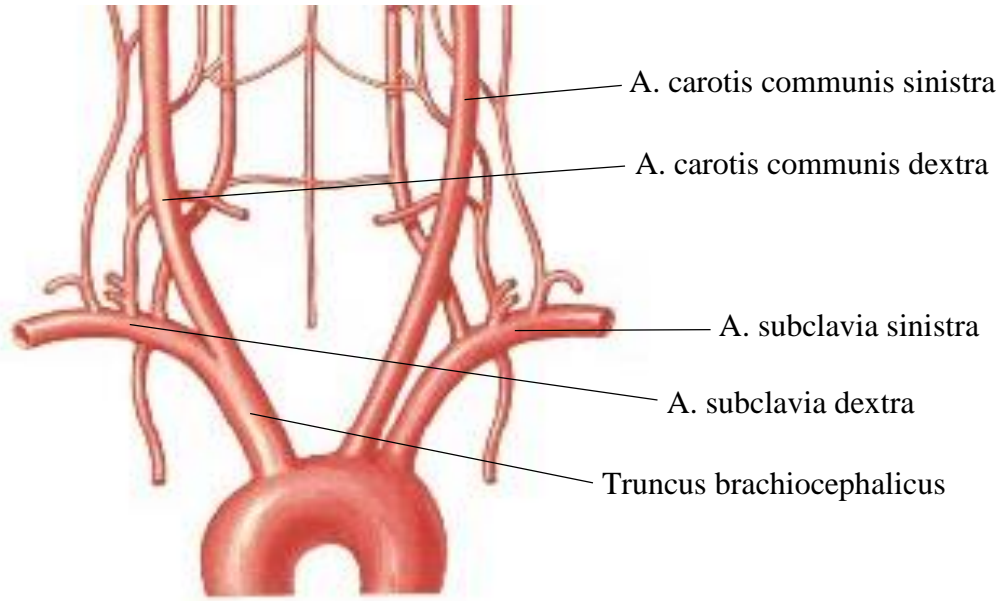
Merkezi sinir sisteminin kanlanması a. carotis interna ve a. vertebralis tarafından sağlanır. Her iki tarafın a. vertebralis birleşerek a. basilaris oluşur. Beyindeki hemisferlerden lobus occipitalis dışında kalanları a. carotis interna beslerken diğer kısımlar a. vertebralis tarafından beslenir.

Aorta sistemik dolaşımın sağlandığı asıl damardır. Yaklaşık 3 cm çapta olup sol ventrikülden 3. sol kıkırdak kostanın altından ve sternumun sol yarısının arkasından çıkar. Aorta üç farkı kısmı vardır ve bunlar; pars ascendens aortae, arcus aorta ve pars descendens aortae'dir.

Arcus aortae manubrium sterni sağ yarımının arkasından ve sağ 2. sternokostal eklem üst kenarından başlar. Sol 2. kaburganın sternumla eklemleştığı yer ya da 4. torakal vertebra alt kenarında sonlanır. Aorta ascendens devamı olarak başlar ve aorta descendens olarak devam eder. Arcus aortae'nın dallarına bakacak olursak sırayla

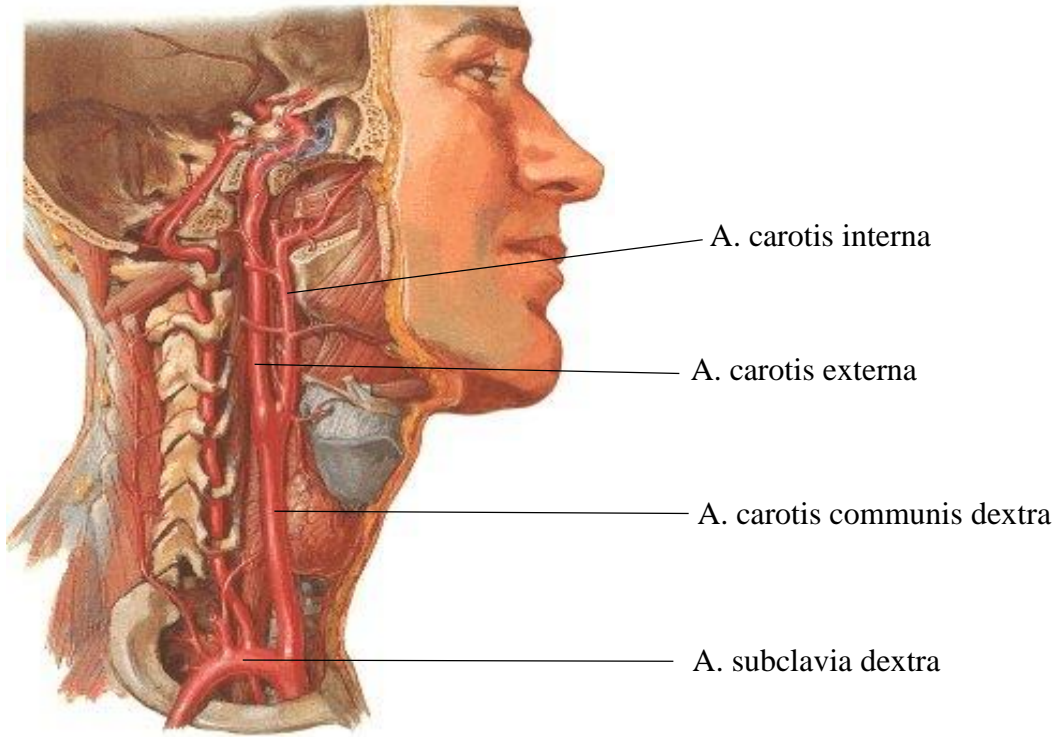
truncus brachiocephalicus, a. carotis communis sinistra, a. subclavia sinistra görülür (Şekil 2.2).

A. carotis communis başın ve boynun beslenmesini sağlayan ana arterdir. A. carotis communis dextra truncus brachiocephalicus'un dalıdır. A. carotis communis sinistra ise arcus aorta'dan en yüksek kısımdan direk ayrılır. Her iki arterin de servikal kısımları hemen hemen aynıdır (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2.** Arcus aortae'nın dallarına ayrılması(12)

A. carotis communis her iki tarafta da art. sternoclavicularis'in arka kısmından, cartilago thyroidea'nın üst kenarına doğru uzanarak, burada a. carotis externa ve a. carotis interna olmak üzere ikiye ayrılır. (Şekil 2.3)

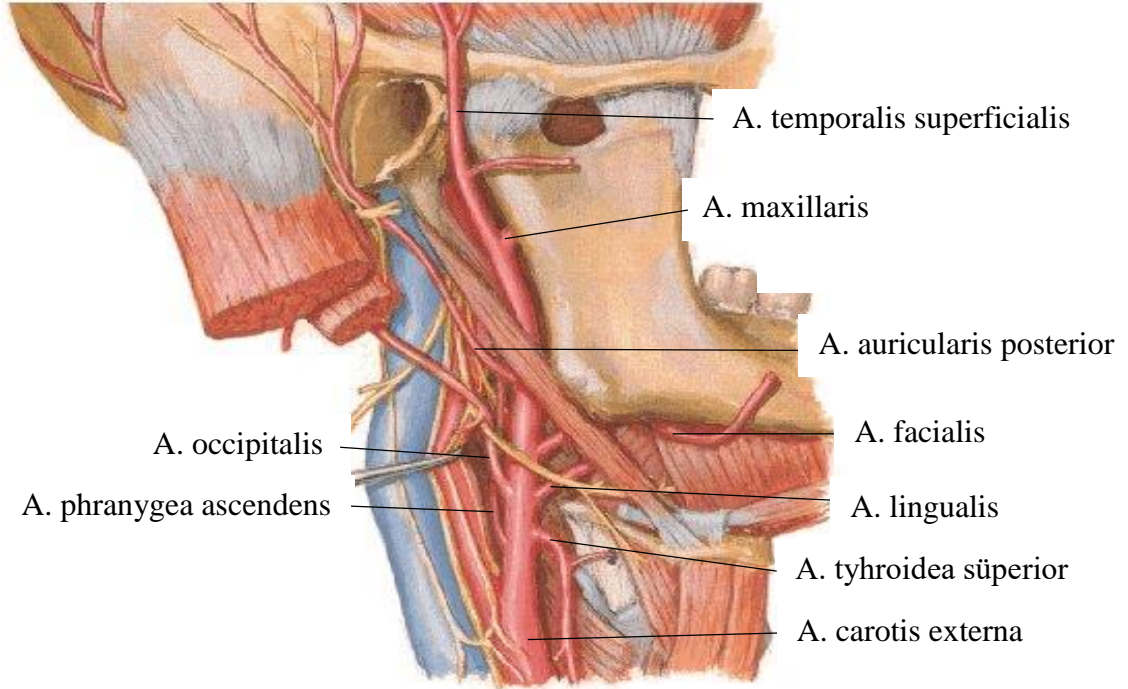


**Şekil 2.3.** A. carotis communis'in boyundaki seyrinde dallarına ayrılması (12)

A. carotis externa başın ve yüzün beslenmesini sağlayan temel arterdir. Seyrederken birçok dal verir. İlk dalı olan a. thyroidea superior os hyoideum'un cornu majus seviyesinde ayrılarak komşuluğundaki kasları ve gl. thyroidea'yı besler. A. pharyngea ascendens a. carotis externa'nın en ince dalı olup medialinden çıkar. Pharynx'in, dura mater arka duvarının ve orta kulak medial duvarının beslenmesinden sorumlu olan dallar verir. A. lingualis dalı ise a. carotis externa'dan ayrıldıktan sonra dilin kök kısmına kadar ilerleyerek dili besleyen birçok dal verir (11).

Çok önceden a. maxillaris externa da denilen a. facialis'in hem boyun hem de yüzde seyreden dalları vardır. A. facialis a. lingualis'in biraz yukarisından trigonum caroticum'da a. carotis externa'dan ayrılır. Seyri sırasında yüzde ve boyunda dallar vererek çenenin alt kısmı, üst ve alt dudak, glandula submandibularis, tonsilla palatina, dil kökü ve burun sırtı ve burun kanadı beslenmesinden sorumludur. A. occipitalis processus mastoideus'un biraz aşağısından a. carotis externa'dan ayrılır. Verdiği dallar dura mater encephali, cellulæ mastoidea, kulak kepçesi arka bölüm ve boyun arka kısmındaki kasları besler. A. auricularis posterior ise orta ve iç kulağı, kulak kepçesi arka bölümünün bir kısmını besler ve glandula parotidea'ya dallar verir. Son olarak da

a. carotis externa iki terminal dalı a. temporalis superficialis ve a. maxillaris olarak glandula parotidea içinde ayrılır. (Şekil 2.4)



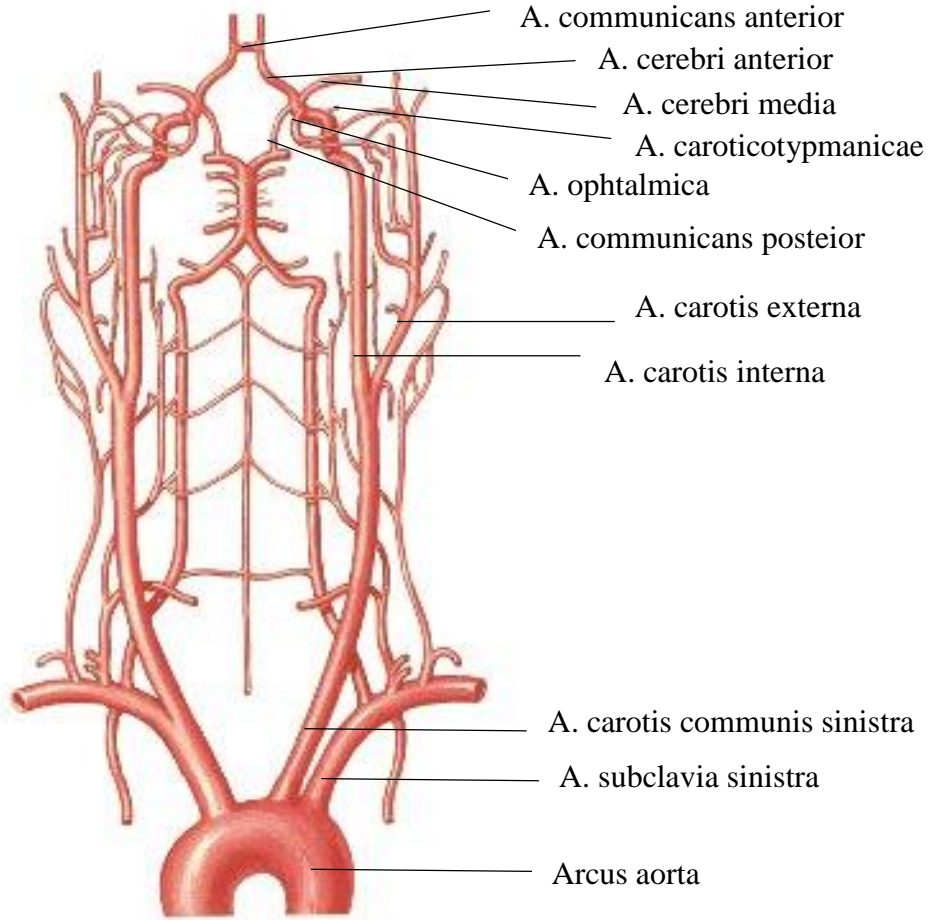
Şekil 2.4. A. carotis externa ve dalları (12)

A. carotis interna ve a. basilaris cerebrumun beslenmesini sağlayan iki ana arterdir. A. carotis interna cartilago thyroidea'nın üst hizasından a. carotis communis'in uç dalı olarak ayrılır. İlk üç servikal vertebranın transvers çıkıntıları önünden vertikal olarak kafa iskeleti tabanına gelir. Canalis caroticus'a girerek öne ve içe doğru devam eder. Kanaldan çıktıktan sonra foramen lacerum üstünden yukarı doğru devam ederek fossa cranii media'ya gelir. İlk bölümü sinüs cavernosus içindedir. A. carotis interna substantia perforata anterior'un hemen altında a. cerebri anterior ve a. cerebri media dallarına ayrılarak sonlanır. (Şekil 2.5)

A. carotis interna seyrine göre dört kısma ayrılarak incelenir. İlk kısım olan pars cervicalis'de dal vermez ve sinüs caroticus bulunur. İkinci kısım pars petrosa'da aa. caroticotympanicae ve a. canalis pterygoidei (vidii) dallarını verir. Üçüncü kısım olan pars cavernosa'da r. sinüs cavernosi, a. hypophysialis inferior, rr. gangliones trigeminalis, r. meningeus anterior dallarını verir. Son olarak da dördüncü kısım pars

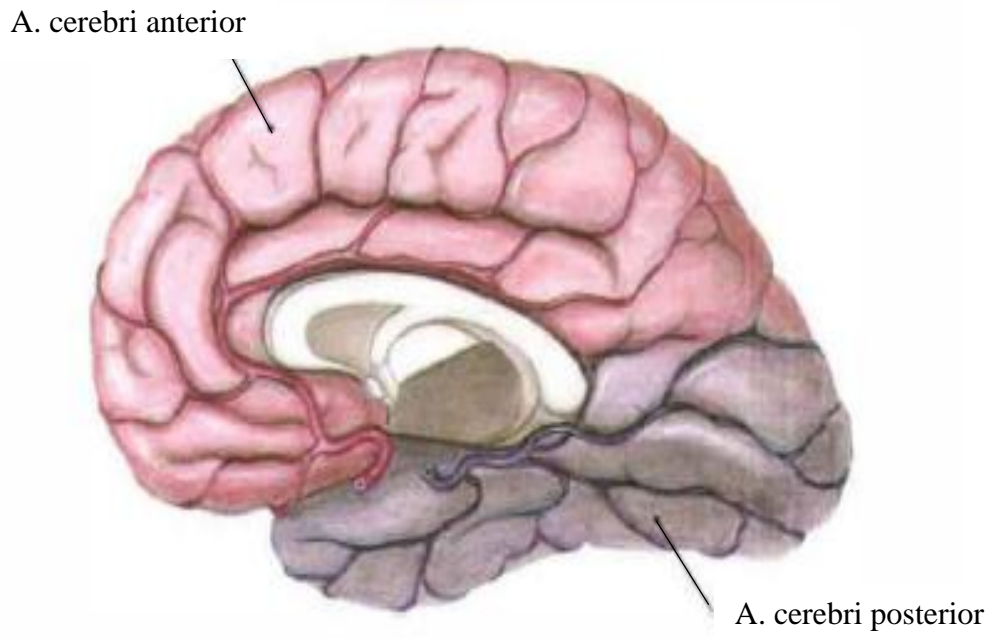
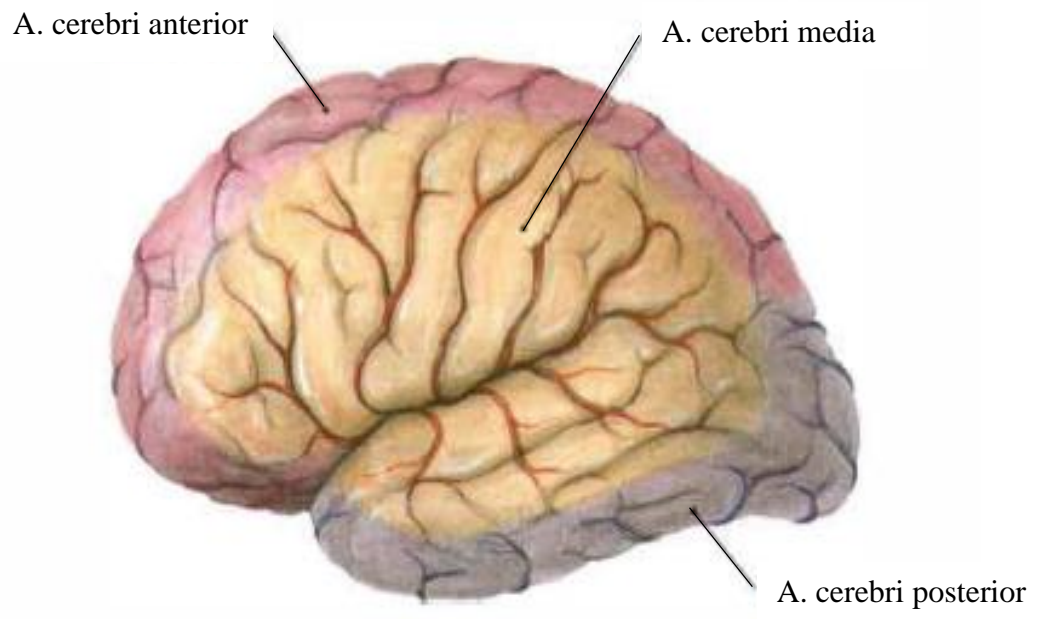


cerebralis'de a. ophtalmica, a. cerebri anterior, a. cerebri media, r. communicans posterior, a. choroidea anterior, aa. epiphysiales superiores dallarını verir (11).



**Şekil 2.5.** A. carotis interna ve dalları (12)

A. carotis interna'nın dallarının beslediği bölgeler aşağıdaki şekillerde makroskopik olarak gösterilmiştir. (Şekil 2.6)



Şekil 2.6. Cerebrum beslenmesi (13)

## 2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemi bir doku ya da organın arteriyel veya venöz kanlanmasının azalması ya da kesilmesi sonucu oluşan durumdur. Bu perfüzyon bozukluğu etyolojisi, süresi ve dokunun dayanıklılığı gibi birçok faktörden dolayı geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz olabilir.

Bir hücre metabolizması için oksijen gereklidir. İskemi durumunda aerobik solunum yapan hücre oksijen olmadığı için anaerobik solunum yapar ve hücrenin ölümüne kadar gidebilen durum söz konusudur. Mitokondride yapılan aerobik solunum sonucu ortaya çıkan ATP ve fosfokreatin gibi enerji kaynakları azalır ve sonunda biter. Enerji kaynakları biten hücrede membran iyon dengesizliği oluşur (14). Hücre membranındaki  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz pompası ve ATP kullanan  $\text{Ca}^+$  dengesini sağlayan pompa da inhibe olur. Bu durumda hücre dışına  $\text{K}^+$  çıkarken hücre içinde  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^+$  miktarı artar. Hücre içinde yüksek  $\text{Ca}^+$  seviyelerinin birçok enzimi inhibe etmesi,  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^+$  dengesinin bozulması oksidatif strese, asidoza ve ozmatik şoka kadar giden sürece neden olur. Hücrenin fonksiyon kaybını iskeminin süresi ve büyüklüğü belirler (15, 16).

Reperfüzyon ise iskemi oluşan dokunun ya da organın yeniden kanlanmasıdır. İskemik doku reperfüze olduğunda paradoksal olarak doku hasarı oluşur. Bu doku hasarını oksijen artması sonucu oluşan serbest radikaller, inflamatuvar mediyatörler, toksik metabolitler oluşturur (17). Ve oluşan toksik metabolitler sistemik dolaşıma geçerek hasarın artmasına neden olur.

İskemi reperfüzyon hasarı nedenlerinde özellikle serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler, kompleman sistemi ve endotel hücreleri yer alır (16). Serbest radikaller DNA, protein, karbonhidrat, lipid gibi makromoleküllerle etkileşime girerek oksidatif hasara neden olur. Polimorf nüveli lökositlerin iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü açıklanırken mikrovasküler oklüzyon, serbest oksijen radikali salınması, vasküler permeabilite artışı, sitotoksik enzim salınması, sitokin salınması gibi mekanizmalar öne sürülmüştür (16).

Kompleman sisteminin iskemi reperfüzyon hasarındaki rolüne bakarsak kompleman sistem aktivasyonu sonucu proinflamatuvar komponentler oluşmaktadır. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi uyarılarak inflamatuvar yanıt amplifiye edilir. Vasküler tonus bozulur (16).

İskemi reperfüzyon hasarında endotel hücrenin oksidatif stresten dolayı aktivasyonu ve işlevi bozulur. Endotel hücresi serbest oksijen radikalının hem kaynağıdır hem de hedefidir. Endotelin ve nitrik oksit üretiminden sorumludur. Endotelin nitrik oksit oranı endotelin lehine bozularak arteriyel vazokonstriksiyon ve venöz vazodilatasyon oluşur (16).

Lipitin okside olup bozulmasına lipit peroksidasyonu denir ve oksidatif stresi değerlendirmede niceliği şarttır. Lipit peroksidasyon son ürünlerinden biri olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna bağlı olarak MDA seviyesi ölçülebilir. MDA değerlerinin artması dokada oksidatif hasarın arttığını göstermektedir.

Serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak için ise ilk savunma hattında olan SOD en güçlü antioksidan enzimlerdendir. Bu değer ölçülerek dokunun endojen antioksidan etkinliği ölçülebilir. Oksidatif stres hasarında bu enzim aktif olarak kullanılarak değerlerinde düşüş meydana gelir.

Biyokimyasal olarak endojen antioksidan etkinliğin ölçülmesinde kullanılan bir diğer parametre de katalazdır. Küçük moleküler ağırlıklı alkoller katalazın peroksidatif aktivitesi için elektron donörü olarak çalışırlar. Katalaz değeri ölçülerek endojen antioksidan aktivitesi hakkında bilgi sahibi olabiliriz. Serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında katalaz kullanıldığı için oksidatif streste değerlerinde düşme görülür.

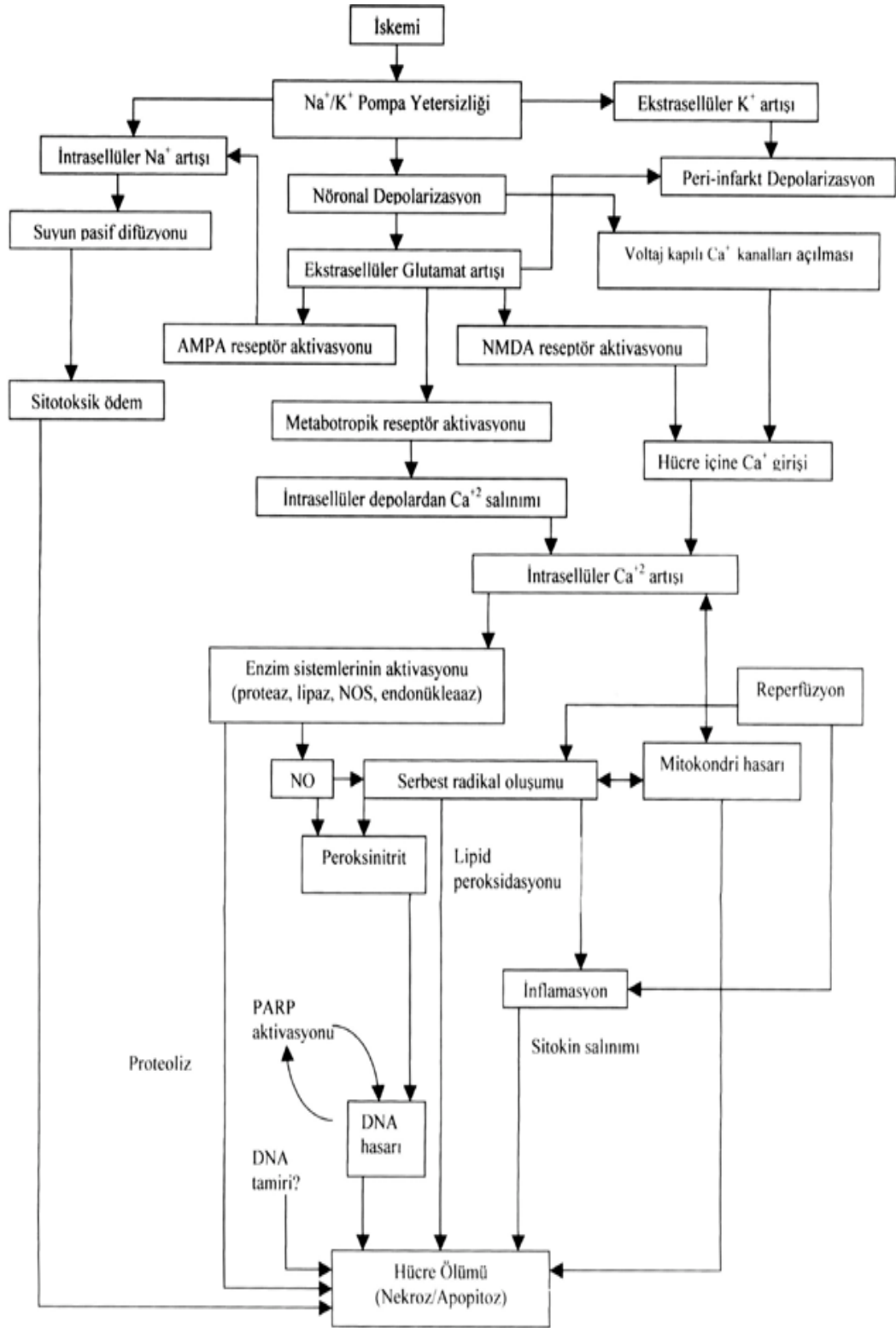
### **2.3. Cerebral İskemi Reperfüzyon Hasarı**

Cerebral kan akımı normalde 50-54 ml/100 gr/dk'dır. Bu durum gri cevherde yani kortikal kısımda 80 ml/100 gr/dk ve beyaz cevherde 20 ml/100 gr/dk'dır. İskemi dediğimiz durum ise kan akımı 20 ml/100 gr/dk altında olduğunda başlar ve 10 ml/100 gr/dk altında ise hücre ölümü görülür (18). Cerebrum glukozu primer enerji kaynağı olarak kullanır. İskemiden dolayı hem oksijenden hem primer enerji kaynağı olan glukozdan yoksun kalan cerebrum geri dönüşümsüz hasara doğru gider.

Cerebrumda oksijen olmadan 10-20 saniye arasında bilinç kaybı ve elektriksel aktivite kaybı olur. İskemi süresi ilerledikçe ATP tükenir bunun sonucunda  $Na^+/K^+$  pompası inaktive olarak intrasellüler  $Na^+$  ve ekstrasellüler  $K^+$  artışı olur.  $Na^+$  artışı sonucu sitotoksik ödem oluşur ve hücre apoptoz yoluna doğru ilerler. Nöronal depolarizasyon sonucu ekstrasellüler glutamat artışı ve voltaj kapılı  $Ca^+$  kanalları

açılır. Birçok reseptör aktivasyonuna da ilave olarak hücre içi  $Ca^{+}$  artışı enzimlerin aktivasyonunu yaparak NO üretimi olur. Ortaya çıkan serbest radikaller hücreyi apoptoza götürür (Şekil 2.7). Serbest radikallerin artışı, proteazların, lipazların aktive olması beyin dokusunda nöron yıkımına ve interstisyel vazojenik ödeme neden olur (19).

Cerebrum normalde iskemiye çok duyarlıdır fakat bazı bölümleri özellikle hipokampus  $CA_1$  bölgesi, striatumda bulunan küçük nöronlar ve serebral neokorteksin dördüncü tabakası iskemiye daha duyarlıdır (19).



Şekil 2.7. İskemik inmede hücre ölüm mekanizması (19)

İskemi süresine baktığımızda bir dakikalık bilateral kortikal iskemi ardından reperfüzyon beyinde lezyona neden olmaz. İki dakikalık iskemi sonrasında reperfüze olduğunda az miktarda nöronal nekroz görülür ya da hiç görülmez. Beş dakika iskemi ise hipokampusde CA<sub>1</sub> tabakasında önemli miktarda piramidal hücre kaybına neden olur. Onbeş dakikalık iskemide anlamlı (>60 %) mortalite görülür (20).

Cerebral iskemi tıkanan arterden etkilenen hemisferin fonksiyonuna bağlı olarak birçok klinik bulguyla ortaya çıkar (Tablo 2.7). İskemik inmede klinik bulgular ve etyoloji dikkate alınarak yapılan TOAST (Trial of Organization. 10172 in Acute Stroke Treatment) sınıflandırması kullanılmaktadır. TOAST sınıflandırması beş ayrıdır. Bunlar; geniş arter ateroskleroza (tromboz ve emboli), kardiyo-embolizm, küçük damar oklüzyonu (laküner infarkt), diğer belirlenen etyolojiler ve sebebi belirlenemeyen etyolojilerdir (19).

**Tablo 2.7.** Cerebral hemisfer lezyonları

<b>Cerebral Hemisfer Lezyonları</b>	
<b>1-Lobus Occipitalis</b>	<b>3-Lobus Parietalis</b>
-Görme alanı defektleri	-Allestezi
-Görsel agnozi	-Kontralateral ağrı, pareteziler
-Aleksiyle birlikte agrafi	-Dikkat bozukluğu
-Palinopsi	-Transkortikal duyuusal afazi
-İpsilateral tarama bozukluğu	-Parietal apraksi
<b>2-Lobus Temporalis</b>	-Parmak agnozisi
-Amnezi	-Akalküli
-Görsel agnozi	-Sağ-sol dezoryantasyonu
-Uysallık	-Literal aleksi
-Hiperseksüalite	-Kondüksiyon afazisi
-Hareket azlığı	-Anozognozi
-Hipermetamorfoz	-Ototopagnozi
-Kelime seçme anomisi	-Uzaysal dezoryantasyon
-Ajite deliryum	-Giyinme apraksisi

**Tablo 2.7. “Devam” Cerebral hemisfer lezyonları**

-Yüzdeki duygusal ifadeyi tanıma bozukluğu	- Kontralateral duyu kaybı(nesne tanıma, pozisyon duygusu, temas, ağrı ve ısı)
-Saf kelime sağırlığı	<b>4-Lobus Frontalis</b>
-Duyusal afazi	-Dizartri
-Duyusal aprozodi	-Disfaji
-İşitsel agnozi	-Kontralateral güçsüzlük(el, bacak)
-Saf kelime sağırlığı	-Akinezi
-İşitsel hallüsinasyonlar	-Perseverasyon
-Hipergrafi	-Selam nöbetleri
-Paranoid fikirler	-Yabancı el belirtisi
-Paranoya	-Transkortikal motor afazi
-İnkâr	-Saf agrafi
-İktal belirtiler(görsel, koku, tat)	-Küntleşmiş affekt
<b>4-Lobus Frontalis</b>	
-Hemiakinezi	-Sol elde apraksi
-Sosyal detayları anlamada bozukluk	-Sol elde agrafi
-Motor afazi	-Sağ elde yapılandırma apraksisi
-Motor aprazodi	-Eller arasında anlaşmazlık
-Amaca yönelik davranışlarda bozukluk	-Çifte hemianopi
-Empotans	-Sol hemiparaleksi
-Alaycılık	-Abuli
-Çevreye bağımlılık sendromu	

Genellikle cerebral iskemi modelleri global cerebral iskemi, fokal cerebral iskemi ve ön cerebral iskemi olmak üzere üç şekilde yapılmaktadır (3, 21).

Global cerebral iskemi modeli cerebral kan akışının 5-15 dakikalığına tamamen kesilmesi ve reperfüzyonudur. Global cerebral iskeminin gerbillerde iki damar oklüzyon modeli (geçici bilateral a. carotis communis oklüzyonu) (22), sıçanlarda iki damar oklüzyon modeli (geçici bilateral a. carotis communis oklüzyonuna ek hipotansiyon), sıçanlarda dört damarlı oklüzyon modeli (geçici



bilateral a. carotis communis oklüzyonuna ek kalıcı bilateral a. vertebralis oklüzyonu) (23) gibi çeşitli (kardiyak arrest, dekapitasyon, beyin omurilik sıvı artışı, boyun turnikesi) varyasyonları vardır (21).

Global cerebral iskemi modellerinde gecikmiş ve selektif ölüm benzer oranlara sahiptir. Yaklaşık on dakikalık iskemi süresinden sonra hipokampusun CA<sub>1</sub> bölgesinde selektif hasar oluşur. Kritik bir eşik süresinden sonra koruyucu ve önleyici bariyerler geçilerek hücre ölümü gerçekleşir (21).

Fokal cerebral iskemi cerebrum kan akımının belirli bir bölgede azalması sonucu oluşur. Fokal cerebral iskemi modelleri kalıcı ve geçici oklüzyon olmak üzere ikiye ayrılır. Geçici oklüzyonda a. cerebri media oklüzyonu ve spontan hipertansif sıçanların kullanılarak yapıldığı a. cerebri media oklüzyon modelidir. Kalıcı iskemi modelinde ise Rose Bengal kullanılarak yapılan tromboz, a. carotis internaya karbon mikrosfer enjeksiyonu, a. carotis communise trombosit agregatlarının enjeksiyonu ve a. carotis communise küçük kan pıhtı enjeksiyonu modelleri vardır (21).

Ön cerebral iskemi modelinde ise iskemi ön beyindedir ve global değildir. Ön cerebral iskemi modellerinde gerbillerde bilateral a. carotis communis oklüzyon modeli, sıçanlarda dört damarlı oklüzyon modeli, spontan hipertansif sıçanlarda bilateral a. carotis communis oklüzyon modeli ve hipotansif sıçanlarda iki damar oklüzyon modeli bulunur (24).

#### **2.4. Serbest Radikaller ve Kaynakları**

Serbest radikaller insanda tarihsel süreçte genellikle patolojik olaylara yol açtığından dolayı örneğin yaşlanma, hücresel destruksiyon, hastalıklar gibi oldukça önemli bir araştırma konusu olmuştur.

Serbest radikal dediğimizde dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron olan ve kısa ömürlü moleküller aklımıza gelir. Cl, Br gibi tek atom olan; halojen moleküller; Na, K gibi alakli metaller; NO, NO<sub>2</sub> gibi moleküller radikal sınıfındadır. Fakat Molibden, Manganez, Bakır, Deimr gibi elementler dış yörüngelerinde elektron taşımalarına rağmen radikal olarak adlandırılmazlar. Serbest radikaller pozitif, negatif veya nötr formda olabilirler (25-27).

Serbest radikaller üç yolla oluştuğu kabul edilmektedir (28).İlki molekülün elektron kaybına uğraması, ikincisi moleküle elektron eklenmesi ve en çok homolitik bağ ayrılmasıyla bir elektronun bir moleküle transferi sonucu meydana gelirler (27,

29). Eşlenmemiş elektron farklı bir elektronla kimyasal bağla spin paylaşmadığında, başka bir moleküle transfer olana kadar reaktiftir (27).

Serbest radikal türlerine baktığımızda reaktif oksijen ve nitrojen türleri görmekteyiz. Reaktif oksijen türleri radikal ve radikal olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılır. Radikal reaktif oksijen türleri; süperoksit, hidroksil, peroksil, alkoksil ve hidroperoksildir. Radikal olmayan oksijen türleri ise; hidrojen peroksit, hipoklorik asit, ozon, singlet oksijen ve peroksinitrittir.

Reaktif nitrojen türlerine baktığımızda yine radikal olan ve olmayan türler olmak üzere ikiye ayırabiliriz. Radikal olan nitrojen türlerinde nitrik oksit ve nitrojen dioksit vardır. Radikal olmayan nitrojen türlerinde ise nitrosil, nitrikoksit, dinitrojen trioksit, dinitrojen tetraoksit, nitronyum iyonu, peroksinitrit ve alkil peroksinitrit görürüz.

Serbest radikallerin kaynaklarına baktığımızda oksijen ve nitrojen kaynaklı veya endojen ve eksojen kaynaklı olarak sınıflandırabiliriz. Hücre içinde özellikle en çok üretildiği metabolik olay mitokondriyal elektron transport zinciridir. Oksijen hücre içine taşınırken hemoglobinden ve NADPH'a bağlı dehidrojenazdan elektron sızıntısından dolayı radikaller oluşur (30).

Reaktif oksijen üretiminde oldukça önemli olan metabolik ürünlerden biri araşidonik asit salınımına fagosit yapan hücrelerin uyarımı, membran siklooksijenaz, fosfolipaz, protein kinaz enzim aktivasyonu neden olur (29).

Sitoplazmik enzim olan aldehit oksidaz, flavoprotein dehidrojenaz, triptofan dioksijenaz, tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler ve hemoglobin gibi moleküller nötr ortamda oksidasyon-redüksiyon tepkimesine katılarak intrasellüler serbest radikal oluşur (31, 32).

Serbest radikal oluşumunun tetiklenmesinde hipoksi, inflamasyon, ısı, yoğun egzersiz, iskemi, travma, intoksikasyon oldukça etkilidir (33, 34).

Klinikte kullanılan kemoterapotiklerden antineoplastik ajanlar, geçiş metallere afinite gösteren antibiyotikler, pestisitler, anestetik maddeler radikal üretim siklusunda bulunurlar (25, 31, 32).

Eksojen kaynaklara baktığımızda hava kirliliği, kimyasal maruziyet, sigara dumanı, ultraviyole/morötesi ışınları, gamma ve mikrodalga ışınları, egzoz dumanı,

plastik maddelerin işlenmesi, boyaların kuruması, organik maddelerin çürümesi gibi birçok serbest radikal oluşturan etken görebiliriz (25, 27, 32).

Oksidatif stres vücutta üretilen serbest radikallerin temizlenmesi sırasında antioksidan sistemin yetersiz kalması sonucu oluşan durumdur. Hücrede devamlı reaktif oksijen türleri mevcuttur ve endojen antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Fakat patolojik durumlarda artması serebrovasküler ve kardiyovasküler olaylar, kanser, asfiksi gibi; endojen antioksidanlar yeterli olmamaktadır.

Reaktif oksijen türleri lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerle etkileşime girerek toksik etki oluşturur (35). Oksidatif stres nekroz ve apoptozise neden olarak hücre hatta doku hasarına yol açar (36). Kontrolsüz oksidasyon membran lipidleri ve lipoproteinlerin oksidasyonuna neden olarak dejenerasyona neden olur.

## **2.5. Antioksidanlar ve Avitamini**

Canlılığın devamı için hücresel düzeyde homeostasis olmalıdır. Serbest radikaller aerobik hücreler için oldukça toksik olan metabolittir. Antioksidanlar ise bu serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırmaya çalışan maddelerdir.

Genel anlamda antioksidan tanımına baktığımızda oksidatif bozulmayı geciktiren, önleyen ya da oksidasyon sonucu oluşan serbest radikalleri zararsız hale getiren bileşikler olarak görürüz.

Antioksidanların sınıflandırılması birçok faktör dikkate alınarak yapılmıştır. Kısaca özetleyecek olursak etki mekanizmaları, doğal ve yapay olmaları, enzim şeklinde olup olmadıkları, kimyasal bileşimleri, endojen ve eksojen olmaları, direkt ya da indirekt etkili olmaları gibi sınıflandırmalar yapılmıştır (37, 38).

Antioksidanlar etki mekanizmasına göre dörde ayrılır ve bunlar; bastırıcı, zincir kırıcı, toplayıcı, onarıcı etki şeklindedir (37, 38). Bu sınıflandırmadaki toplayıcı etkide serbest radikaller toplanıp bağlanır kararlı hale gelir; bastırıcı etkide serbest radikaller reaksiyon hızı kesilerek hidrojen eklenip aktivitesi düşürülür; zincir kırıcı etkide serbest radikallerin reaksiyonlarının durdurulup zincirleri kırılır; onarıcı etkide ise lipit, protein ve DNA'da oluşan hasarı onarılır.

Antioksidan sınıflandırılmasında popüler olan bir diğer sınıflandırma da endojen ve eksojen olarak sınıflandırmadır. Endojen antioksidanlara baktığımızda glutatyon peroksidaz, katalaz, glutatyon redüktaz, süperoksit dismutaz, selenyum, ürik

asit, bilirubin, melatonin, glutasyon, albümin, serüloplazmin, laktoferrin, haptoglobulin, hemopeksin, mukus, transferrin, koenzim Q 10 ve alfa lipoik asit vardır. Eksojen antioksidanlarda ise beta karoten (vitamin A), folik asit (vitamin B9), askorbik asit (vitamin C), alfa tokoferol (vitamin E), desferroksamin, allopürinol, demir şelatörleri, barbitüratlar, mannitol ve daha birçok madde vardır (39-41).

Endojen antioksidanlardan olan süperoksit dismutaz ve katalaz enzimini deneysel çalışmamızda kandaki değerini kullandığımızdan dolayı ayrıntılı bir şekilde bahsedeceğiz.

Süperoksit dismutaz enzimi reaktif oksijen türleriyle karşılaşmada ilk savunmayı oluşturmaktadır. Oksidatif stres arttığında süperoksit dismutaz seviyesi artar. Oluşan süperoksit serbest radikalini hidrojen peroksit ve oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. Süperoksit dismutaz enzimi bu reaksiyonu yaklaşık 4000 kez daha hızlı gerçekleşmesini sağlar. Süperoksit dismutaz enzimi iki tiptir. Cu-Zn bulunan sitoplazmada Mn bulunan ise mitokondridedir (25, 27).

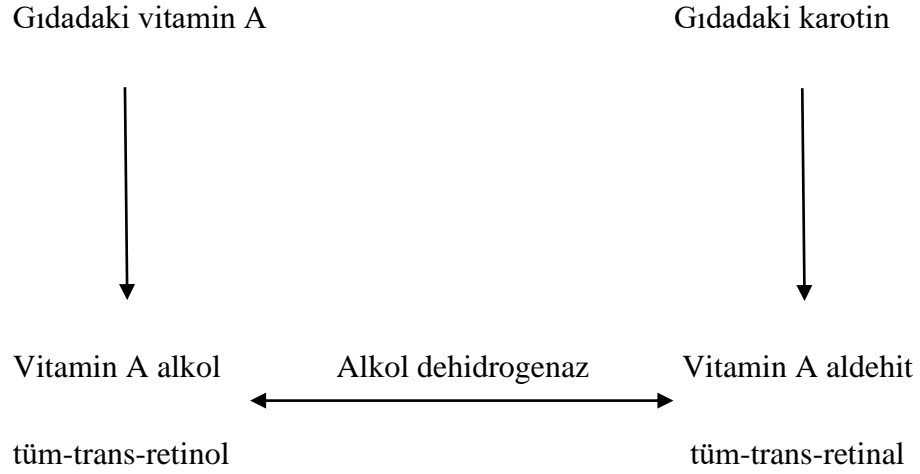
Katalaz sitoplazmada ve daha fazla olarak da peroksizomlarda bulunan, içinde demir ihtiva eden, hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştüren bir antioksidan enzimdir. Hidrojen peroksit artışında yani oksidatif stres arttığında katalaz düzeyi de artmaktadır.

Eksojen antioksidanlara endojen antioksidan yetersizliğinde ya da bir patoloji durumunda ihtiyaç duyulur. Organizmada normal şartlarda serbest radikal ve antioksidan dengededir, hücreye zarar verecek düzeyde serbest radikaller bulunmaz. Fakat birçok nedenden dolayı serbest radikaller meydana gelir.

Eksojen antioksidanlardan olan beta karoten yani vitamin A'nın ön maddesi oldukça etkili bir antioksidandır (42, 43). Birçok çalışmada antioksidan etkinliğine bakılmıştır (44).

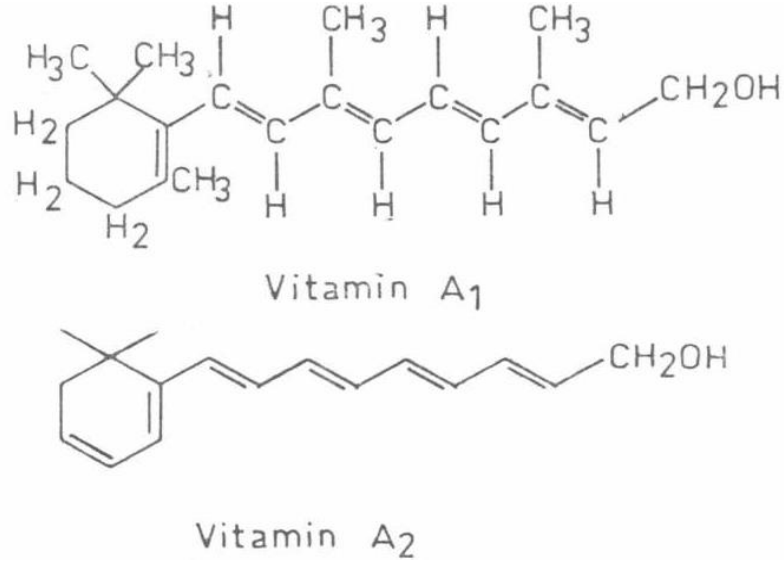
Vitamin A kaynaklarına baktığımızda hayvansal ve bitkisel kaynaklar görmekteyiz (45). Vitamin A bitkilerde direk olarak bulunmaz. Bitkilerde karotenoid denen pigment vardır, karotin ve karotenoidlere provitamin A denir. Provitamin A birçok hayvan tarafından enzimatik olarak A vitaminine çevrilir (46). Hayvansal ürünlere baktığımızda karaciğer, balık yağı, böbrek, yumurta, tereyağı ve süt vitamin A'dan zengin kaynaklardır (47). Bitkisel olarak da havuç, patates, kayısı, şeftali gibi sarı, kırmızı, turuncu renkli sebze ve meyvelerde bulunur (48-50). Vitamin A ya da

onun prekürsörü olan karotinler safra asitleri sayesinde emilerek bağırsak mukozasında karotinaz enzimiyle vitamin A'ya çevrilir. Başlıca karaciğerde depo edilerek gerektiğinde kullanılır (Şekil 2.8).



**Şekil 2.8.** Vitamin A metabolizması

Vitamin A iki çeşittir vitamin A<sub>1</sub> ve vitamin A<sub>2</sub> olmak üzere. Özellikle vitamin A dendiğinde vitamin A<sub>1</sub> akla gelir. (Şekil 2.9) Vitamin A<sub>2</sub> etkisi zayıftır ve ancak vitamin A<sub>1</sub>'in % 40'ı kadar etki yapabilir (51, 52).



**Şekil 2.9.** Vitamin A'nın çeşitleri (51)

Vitamin A üç farklı karotenden meydana gelir. Bunlar alfa, beta ve gamma karotenlerdir. Beta karotenin parçalanmasıyla iki mol A vitamini aldehidi oluşur. A vitamini aldehidine retinal alkol şekline ise retinol denir. Retinal ve retinol NAD veya NADP dehidrogenaz veya redüktaz ile birbirine çevrilirken retinoik asit oluşuktan sonra geri dönüşemez (51).

A vitaminin birçok görevi vardır. Görme siklusunda, üremede, büyümede, sinir sistemi gelişiminde, cildin yapısında ve antioksidan olarak birçok metabolik faaliyette rol alır (53, 54).

Özellikle beyin gelişmesinde ve yetişkin hayvanlarda nörojenezi, nöral canlılığı ve sinaptik plastisiteyi düzenler (55). Retinoik asit çeşitli transkripsiyon faktörlerini, hücre sinyal moleküllerini, yapısal proteinleri, enzimleri ve hücre yüzey reseptörlerini kodlayan genlerin transkripsiyonunu aktive ederek çeşitli nöron ve glia türlerinin farklılaşmasını indükler (56-59). Bu durum kök hücrelerin nöral hücrelere farklılaşmasında kullanılabilir ve terapötik transplantasyon yapılabilir. Retinoik asit schwann hücreleri ve makrofajlara etki ederek periferik sinirlerde rejeneratif yanıtı uyarır (56). Özellikle nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde ve tedavisine ek olarak kullanılması birçok çalışma tarafından önerilmektedir (60).

Göz retinasında az ışıkta görmeyi sağlayan rodopsin vardır ve rodopsin retinal opsin proteinine bağlanarak oluşur (61). A vitaminini de C vitamini ve E vitamini gibi

antioksidan etkinliğe sahiptir ve oksijen radikallerini inaktive ederek etki ederler. Lipidlerin bozulmasına karşı korur ve singlet oksijen söndürücü olarak etki eder (62, 63).

Çalışmamızda literatürde A vitaminin terapötik dozu olarak geçen 1.000 IU/kg (düşük), 3.000 IU/kg (orta) ve 9.000 IU/kg (yüksek) dozlarını seçtik (64, 65).

Antioksidan etkinin gösterilebilmesi için çeşitli yöntemler vardır. Çalışmamızda kandan elde edilen antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz ve katalaz değerlerine bakarak A vitaminin antioksidan aktivitesini değerlendirdik. Lipid peroksidasyon ikincil ürünü olan malondialdehit değerine bakarak vitamin A'nın lipid peroksidasyon üzerindeki etkisine baktık.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza başlamadan önce Eskişehir Osmangazi Üniversitesi rektörlüğüne bağlı “Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu (HADYEK)” tarafından 10.10.2018 tarihinde yapılan 129 numaralı toplantı sonucunda alınan 688 numaralı kayıtlı “etik açıdan uygundur” onayı alındı. Çalışmamızın deney aşaması Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde tamamlanmıştır. Alınan doku örnekleri histolojik inceleme için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında hazırlanmıştır. Alınan kan örneklerinin incelenmesi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır.

#### 3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Şartları

Çalışmada 250- 300 gram ağırlığında Sprague- Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma merkezinden alınan sıçanların deney boyunca bakımları burada yapıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüde, sıcaklığın sabit olduğu bir ortamda ( $21 \pm 3$  °C) ve ortalama 4-5 sıçandan oluşan kafeslerde barındırıldı. Yem ve su erişiminin sınırsız olduğu bir şekilde beslendi. Operasyon sonrasında birden fazla sıçanın aynı kafeste bulunmasının oluşturacağı riskler düşünülerek her sıçan ayrı bir polikarbon şeffaf kafese alındı.

#### 3.2. Deney Grupları

Deneyde kullanılan 40 tane sıçan, rastgele bir grup 8'er sıçandan oluşmak üzere 5 gruba ayrıldı. Deney gruplarına uygulanan işlemler aşağıda anlatılan şekilde uygulandı. Yapılan cerrahi işlemlerden önce hayvanlara anestezi uygulandı.

Grup 1 (Kontrol grubu): Bu deney grubundaki sıçanlar üstünde normal değerleri elde etmek için herhangi bir tıbbi veya cerrahi uygulama yapılmadı. Deney boyunca yukarıda bahsedilen şartlarda beslendi ve bakımları yapıldı. 7 gün sonunda anestezi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı. Fazla miktarda kan alınarak gruptaki deney hayvanlarına ötanazi uygulandı.

Grup 2 (İskemi/reperfüzyon grubu): Bu deney grubundaki sıçanların boynu diseke edilerek, a. carotis communis dextra ortaya çıkarıldı ve 30 dakika boyunca kleplendi ve iskemi oluşturuldu. 30 dakikanın sonunda klemp kaldırıldı ve yeniden



kanlanması sağlandı. Boyundaki yapılar eski pozisyonuna getirilip deri suture edildi. 24 saatlik iyileşme sürecinden sonra günde bir kez 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla ayçiçek yağı verildi. Uygulanan ayçiçek yağının miktarı diğer gruplara uygulanan toplam madde miktarı ile aynıdır. 7 gün sonunda anestezi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı. Fazla miktarda kan alınarak gruptaki deney hayvanlarına ötanazi uygulandı.

Grup 3 (1.000 IU/kg A vitamini grubu): Bu deney grubundaki sıçanların boynu diseke edilerek, a. carotis communis dextra ortaya çıkarıldı, 30 dakika boyunca kleplendi ve iskemi oluşturuldu. 30 dakikanın sonunda klemp kaldırıldı ve yeniden kanlanması sağlandı. Boyundaki yapılar eski pozisyonuna getirilip deri suture edildi. 24 saatlik iyileşme sürecinden sonra günde bir kez 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla 1.000 IU/kg A vitamini uygulaması yapıldı. A vitamini uygulanırken ayçiçek yağı içerisinde çözülerek kullanıldı. 7 gün sonunda anestezi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı. Fazla miktarda kan alınarak gruptaki deney hayvanlarına ötanazi uygulandı.

Grup 4 (3.000 IU/kg A vitamini grubu): Bu deney grubundaki sıçanların boynu diseke edilerek, a. carotis communis dextra ortaya çıkarıldı, 30 dakika boyunca kleplendi ve iskemi oluşturuldu. 30 dakikanın sonunda klemp kaldırıldı ve yeniden kanlanması sağlandı. Boyundaki yapılar eski pozisyonuna getirilip deri suture edildi. 24 saatlik iyileşme sürecinden sonra günde bir kez 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla 3.000 IU/kg A vitamini uygulaması yapıldı. A vitamini uygulanırken ayçiçek yağı içerisinde çözülerek kullanıldı. 7 gün sonunda anestezi uygulanarak doku ve kan örnekleri alındı. Fazla miktarda kan alınarak gruptaki deney hayvanlarına ötanazi uygulandı.

Grup 5 (9.000 IU/kg A vitamini grubu): Bu deney grubundaki sıçanların boynu diseke edilerek, a. carotis communis dextra ortaya çıkarıldı, 30 dakika boyunca kleplendi ve iskemi oluşturuldu. 30 dakikanın sonunda klemp kaldırıldı ve yeniden kanlanması sağlandı. Boyundaki yapılar eski pozisyonuna getirilip deri suture edildi. 24 saatlik iyileşme sürecinden sonra günde bir kez 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla 9.000 IU/kg A vitamini uygulaması yapıldı. A vitamini uygulanırken ayçiçek yağı içerisinde çözülerek kullanıldı. 7 gün sonunda anestezi uygulanarak doku ve kan

örnekleri alındı. Fazla miktarda kan alınarak gruptaki deney hayvanlarına ötanazi uygulandı.

### **3.3. Kullanılan Maddeler**

#### **3.3.1. A vitamini**

Çalışmamızda Merck® firmasına ait oral kullanım için uygun olan Vitamin A palmitat bulunan madde kullanıldı.

Vitamin A'nın literatürlerde çalışılmış olan dozlarına bakarak düşük (1.000 IU/kg), orta (3.000 IU/kg) ve yüksek (9.000 IU/kg) dozları seçtik (de Oliveira, Silvestrin, e Souza, & Moreira, 2008).

Temin edilen ürünün 1 mililitresinin içinde 200.000 IU A vitamini bulunmaktadır. Bahsi geçen üründen her bir sıçan için hacmi en fazla 0,6 cc olacak şekilde 1.000, 3.000 ve 9.000 IU/kg A vitamini içeren çözeltiler hazırlandı. Ürünün seyreltilmesi için Ayçiçek yağı kullanıldı.

#### **3.3.2. Serum fizyolojik**

Deney aşamasında ve kardiyak perfüzyon sırasında kullanmak amacıyla serum fizyolojik solüsyonu % 0,09'luk izotonik NaCl (Eczacıbaşı- Baxter®) temin edildi

#### **3.3.3. Anestezik madde**

Tüm cerrahi işlemler ve ötanazi işlemleri anestezi altında gerçekleştirilmiştir. Anestezik maddelerden ketamin ve xylazine kullanılmıştır. Ketamin 50 mg/kg intramüsküler olarak enjekte edilmiştir (Ketalar®). Xylazine ise 10 mg/kg intramüsküler olarak enjekte edilmiştir (Rhompun®).

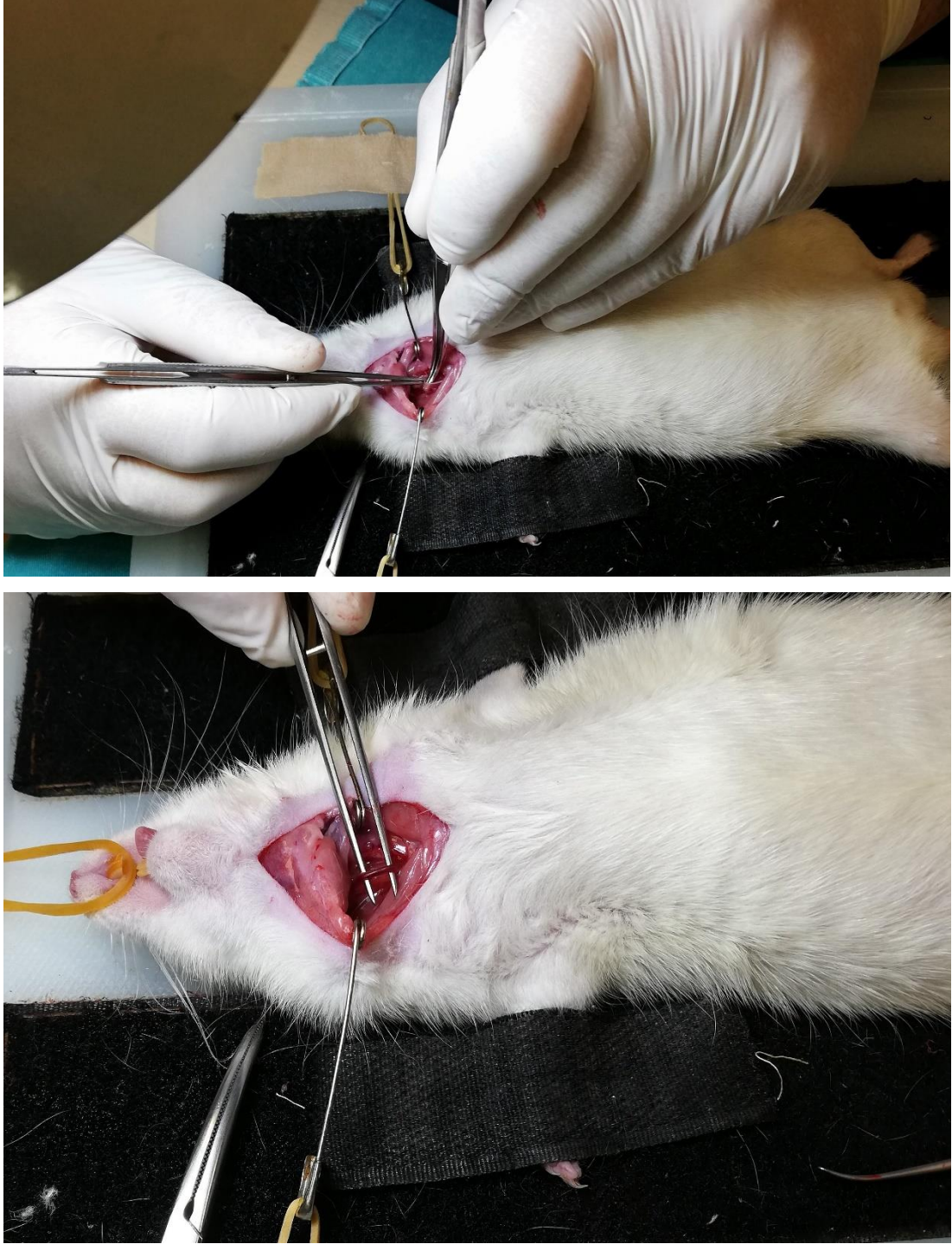
### **3.4. Girişimsel İşlemler ve Cerrahi Yöntem**

Deney gruplarındaki sıçanlara kontrol grubu hariç iskemi/reperfüzyon uygulaması yapılmıştır. Tüm cerrahi işlemler sıçanlar derin anestezi altındayken yapıldı. Derin anestezi Ketamin (50 mg/kg) ve Xylazine'in (10 mg/kg) intramüsküler olarak uygulanmasıyla sağlandı. Sıçanların cerrahi işlemler, doku-kan alımı ve perfüzyon sırasında anestezi altında olduğu geri çekme ve kornea refleksine her 2 dakikada bir bakarak kontrol edildi.

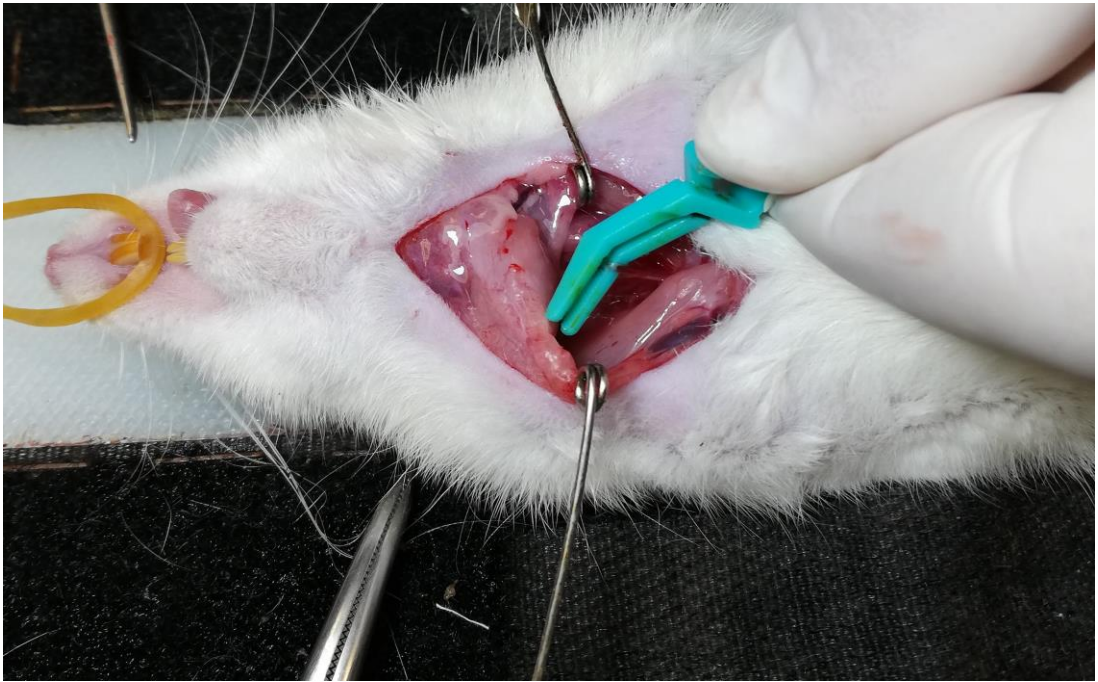
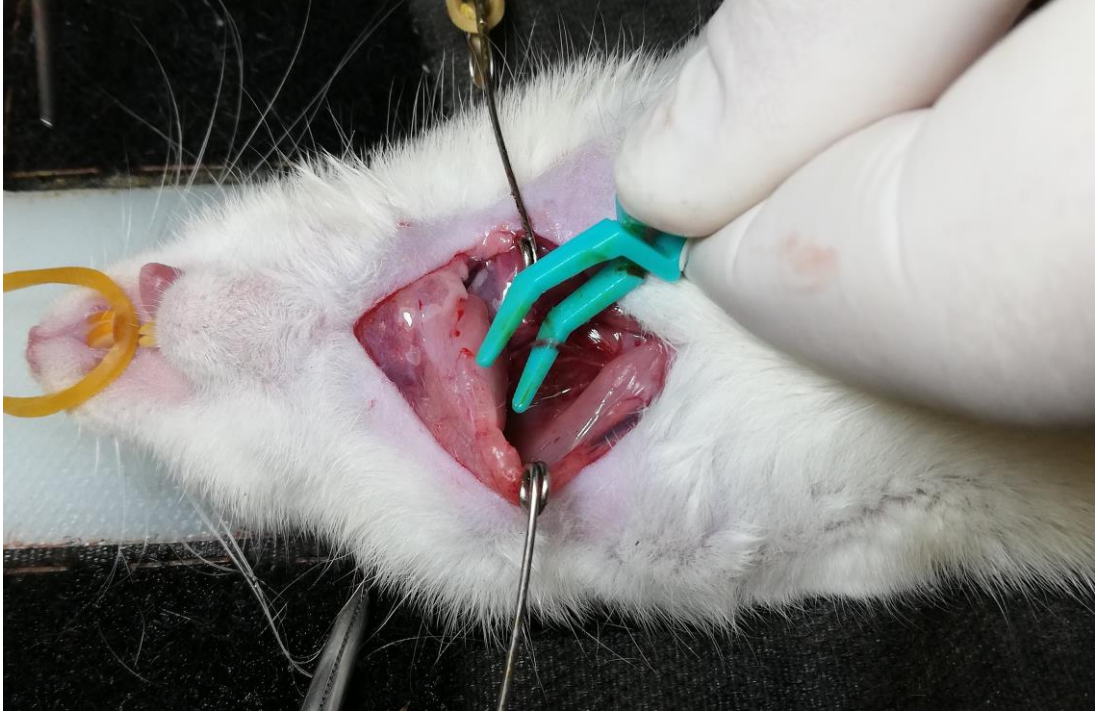
Sıçanların genel anestezisi sağlandıktan sonra cerrahi masaya alınarak supin pozisyonunda sabitlendi. Anestezinin kontrolü amacıyla geri çekme ve kornea refleksine bakıldı. Sıçanın boyun derisi %0,9 izotonik sodyum klorür ile ıslatılarak

jiletli ustura bıçağı ile tıraş edildi. Boyun derisine orta hat üzerinde, 2 cm uzunluğunda vertikal cilt ve cilt altı insizyon uygulandı. Yüzeysel diseksiyon yapıldı. Fascia ve kaslar künt diseksiyon ile ekarte edildi. Trachea ortaya çıkarılıp mm. paratracheales ve m. sternocleidomastoideus klemp yardımıyla kenara çekildi. Mm. infrahyoidei serbestleştirildi. Yüzeysel mikrodiseksiyon yapıldıktan sonra derin mikrodiseksiyon ile a. carotis communis dextra'ya doğru ilerlendi. A. carotis communis dextra, çevresindeki yapılardan ve vagina carotica içerisinde birlikte bulunup seyrettiği nervus vagus'tan dikkatlice ayrıldı (Şekil 3.1).

A. carotis communis dextra klemlenerek üzerine serum fizyolojik ile ıslatılmış gazlı bez yerleştirilerek 30 dakika boyunca iskemi uygulandı (Şekil 3.2).



**Şekil 3.1.** A. carotis communis dextra'nın ortaya çıkarılması.



Şekil 3.2. A. carotis communis dextra'ya klemp takılması

Süre dolduktan sonra kelmç çıkarılarak reperfüzyon sağlandı. Nabız tekrar gözlendi (Şekil 3.3). Sırasıyla kas ve deri katmanları eski haline getirilerek cilt suture edildi. Sıçanlar tek olarak kafese yan yatırılarak, başının altı ve sırtı desteklenerek ayılması beklendi. 24 saat boyunca belli aralıklarla kontrol edilerek gözlendi.



**Şekil 3.3.** A. carotis communis dextra'da reperfüzyonun sağlanması

Operasyonun üzerinden geçen 24 saatin sonunda sıçanlar tartıldı ve ağırlıklarına ve gruplarına göre A vitamini dozajı ayarlandı. 7 gün boyunca her gün bir kez sıçanlara oral gavaj uygulandı. Oral gavaj yoluyla deney gruplarına 1.000, 3.000 ve 9.000 IU/kg dozda A vitamini verilirken, iskemi/reperfüzyon grubuna Ayçiçek yağı uygulaması yapıldı. Oral gavaj sırasında sıçanların rahatsızlıklarını en aza indirmek adına sessiz bir ortam seçildi ve irrite edici faktörler en aza indirildi. Uygulama için çelik oral gavaj kanülleri kullanıldı.

### 3.5. Kanların Biyokimyasal Analizleri

Deney sonucunda anestezide olan sıçanlardan intrakardiyak kan örneği alınmıştır. Ve sonrasında fazla miktarda kan alınarak deney hayvanlarına ötanazi uygulanmıştır.

Antioksidan enzimleri olan süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT); lipid peroksidasyon ikincil ürünü olan malondialdehit'in (MDA) seviyelerini belirledik.

Kan örnekleri EDTA içeren tüplere alınarak 5 dakika boyunca 1500 devirde santrifüj edilerek plazma ayrıldı. Eritrositler üç kez salin ile yıkanarak eritrosit paketleri hazırlandı. Elde edilen eritrosit hemolizatları SOD, CAT ve MDA aktiviteleri tespit edilinceye kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

#### 3.5.1. Malondialdehit (MDA) düzeyi ölçümü

Lipitin okside olup bozulmasına lipit peroksidasyonu denir ve oksidatif stresi değerlendirmede niceliği şarttır (66). Lipit peroksidasyon son ürünlerinden biri olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna bağlı olarak MDA seviyesi ölçülmüştür (67).

Çözeltiyi yapmak için; 1ml fosforik asite distile su ekleyerek 100 ml'lik %1 fosforik asit, 6g TBA 1000 ml suda çözerek %0,6 TBA çözeltisi hazırlandı.

Ölçümlerin herbiri için bir kör ve bir örnek deney tüpü hazırlandı. Kör deney tüpüne; 0,5 ml distile su, 3 ml fosforik asit maddesi, 1 ml TBA maddesi katıldı. Örnek deney tüpünde 0,5 ml hemolizat, 3 ml fosforik asit maddesi ve 1ml TBA maddesi katıldı. İçi su dolu olan behere kör ve örnek deney tüpleri konularak 45 dakika kaynatıldı. Deney tüpleri soğuduktan sonra 4 ml butanol katıldı ve 10 dakika boyunca 3500 rpm'de santrifüj edildi. Ölçüm yapabilmek için süpernatant alındı. 532 nm'de distile su ile sıfırlanarak spektrofotometrede kör ve örnek deney tüplerinin absorbansları okundu.

Hesaplamaya geçildiğinde ise konsantrasyon ölçümü için; 1, 2, 4, 6, 8, 10 nmol/ml'de standart lipit peroksit (1.1.3.3. tetraetoksipropan) hazırlandı. Standart eğrisi hazırlanırken kör deney tüpüne; 0,5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi katıldı. Standart deney tüplerine ise; 0,5 ml farklı konsantrasyonlarda standart, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edilerek ve absorbanslar okundu.

### 3.5.2.Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü

Serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak için ilk savunma hattında olan SOD en güçlü antioksidan enzimlerdendir. SOD aktivitesini belirlemek için birçok yöntem vardır. Kullanım kolaylığı nedeniyle SOD aktivitesi WST (water-soluble tetrazolium salt) reaksiyonu bazlı Sigma SOD tespit kiti ile belirlendi (Cat no: 19160).

Çalışma çözeltisinin hazırlanması;

- WST çalışma solüsyonu 19 ml tampon solüsyonu ile 1 ml WST solüsyonu seyreltilerek hazırlandı.
- Enzim solüsyonu 5 sn santrifüj edildi. 2,5 ml seyreltme taponu ile 15 µl enzim solüsyonu sulandırılarak pipetle karıştırıldı.
- SOD solüsyonu ise SOD seyreltme tamponunda seyreltildi ve elde edildi.

Yöntem olarak ise; her numune ve blank 2 kuyucuğuna 20 µl örnek solüsyon eklendi. Blank 1 ve 3 kuyucuklarına 20 µl double-distilled su (ddH<sub>2</sub>O) eklendi. Tüm kuyucuklara 200 µl WST çalışma solüsyonu eklendi ve karıştırıldı. Blank 2 ve 3 kuyucuklarına 20 µl seyreltme tamponu ilave edildi. Tüm kuyucuklara ve blank 1 kuyucuğuna 20 µl enzim çalışma solüsyonu ilave edildi ve karıştırıldı. Plaka 20 dk süresince 37 °C’de 20 dakika inkübe edildi. 450nm’de ELISA okuyucu ile absorbans değerleri okundu.

SOD aktivitesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı.

$$(\% \text{ inhibisyon oranı}) = \{[(A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}}) - (A_{\text{örnek}} - A_{\text{blank 2}})] / (A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}})\}$$

### 3.5.3.Katalaz (CAT) aktivitesi ölçümü

Küçük moleküler ağırlıklı alkoller katalazın peroksidatif aktivitesi için elektron donörü olarak çalışırlar. CAT ölçümünde kullanılacak hemolizatları hazırlamak için CAYMAN enzim tespit kitinde belirtilen homojenat hazırlama adımları takip edildi (CAYMAN CAT Assay Kit No: 707002). Bu kitin ölçüm prensibi ise uygun hidrojen peroksit konsantrasyonunda enzim ile metanol’ün reaksiyonuna dayanır.

Öncelikle standart hazırlandı. Stok solüsyonu için 10 µl Katalaz Formaldehit Standart, 9,99 ml örnek tamponu ile sulandırıldı. Standart stok solüsyonu kullanılarak final formaldehit konsantrasyonları sırasıyla 0, 5, 15, 30, 45, 60, 75 µm formaldehit olacak şekilde 7 ayrı konsantrasyonda solüsyon hazırlandı.



Ölçüm yönteminde ise; plate üzerinde standart olarak belirlenmiş kuyucuklara; 100 µl Analiz Tamponu, 30 µl metanol ve daha önceden hazırlanmış standart viallerinden 20 µl standart, eklendi. Katalaz kontrol kuyucuklarına; 100 µl Analiz Tamponu, 30 µl metanol ve 20 µl sulandırılmış koyuldu. Örnek kuyucuklarına; 100 µl Analiz Tamponu, 30 µl metanol ve 20 µl örnek eklendi. Reaksiyonu başlatmak için tüm kuyucuklara 20 µl sulandırılmış Hidrojen Peroksit koyuldu. Plate 20 dk. oda sıcaklığında karıştırıcı üzerinde inkübe edildi. Reaksiyonun sonlanması için her kuyucuğa 30 µl Potasyum Hidroksit eklendi. Her kuyucuğa reaksiyonda kromojen olarak işlev görmesi amacıyla 30 µl Katalaz Purpald eklendi. Plate tekrar oda sıcaklığında 10 dk. boyunca karıştırıcı üzerinde inkübe edildi. Her kuyucuğa 10 µl Katalaz Potasyum Periyodat eklendi ve plate 5 dk. oda sıcaklığında inkübe edildi. Absorbans değerleri ELISA okuyucu ile 540 nm' de ölçüldü. Standart kuyucuklarından okunan absorbans değerlerine karşılık gelen formaldehit konsantrasyonları ile standart grafik çizildi. Grafikten okunan değerlerle KAT aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{KAT aktivitesi (nmol / min / ml)} = \frac{\mu\text{M örnek}}{20 \text{ dk.}} \times \text{Örnek Sulandırması}$$

### 3.6. Dokuların Alınması ve Histolojik İncelenmesi

Deney hayvanlarının diseksiyonundan önce kullanılan solüsyonlar hazırlandı. Öncelikle pH 7,4 olan, 0,1 M fosfat tampon solüsyonu (500 ml distile suya 5 g monobazik 10,875 g dibazik, Sigma) hazırlandı. Bu karışıma % 0,9'luk NaCl eklendi ve fosfat tamponlu salin solüsyonu elde edildi. Fiksatif olarak kullandığımız %4'lük paraformaldehit solüsyonunu 1 lt fosfat tampon içerisinde 40 gr paraformaldehit (sigma) tozu çözünmesiyle elde ettik. Elde edilen kimyasal maddeler manyetik karıştırıcı (MK 318) ile hazırlandı. Hazırlanan karışımlar perfüzyon işlemine kadar buzdolabında saklandı. Perfüzyon işlemlerinde peristaltik perfüzyon pompası (Vera Varistaltic Pump Plus) ve seti kullanıldı. Sıçanlara intramüsküler anestezi Ketamin (50

mg/kg) ve Xylazine'in (10 mg/kg) uygulandı. Sıçanlar cerrahi masaya alınarak geri çekme ve kornea refleksleri kontrol edildi. Costa'ların alt seviyesinden horizontal şekilde deri ve deri altı dokulara kesi atıldı. Processus xiphoideus seviyesinden diaphragma serbestleştirilerek thorax boşluğuna girildi. Costa'lar her iki taraftan mid-aksillar çizgi hattından kesilerek thorax'ın ön bölümü kaldırıldı. Kalbe zarar vermeden etrafındaki destek dokular kaldırıldı. Kalp apeksinden K3E K3EDTA (VACUETTE® TUBE 2 ml 13x75) tüplere kan alındı. Aldığımız kanları +4 °C'de 10 dakika boyunca 10.000 rpm'de santrifüj yapıldı. Elde edilen süpernatant biyokimyasal ölçümler için -85 °C'de saklanmak üzere kaldırıldı.

Etrafındaki destek dokulardan zarar vermeden açılan kalbin ventriculus sinister'den 3 mm girilerek kelebek set ile dolaşıma fosfat tamponlu salin solüsyonu verildi. Atrium dextrum'una 1-2 mm'lik insizyon ile dolaşımdaki kanın drenajı sağlandı. Geri dönen kanın rengi berraklaşana kadar (8-10 dk ) 20 ml/dk hızında fosfat tamponlu salin verilmeye devam edildi. Kan saydamlaştıktan sonra paraformaldehit solüsyonu verilmeye başlandı. Bu işleme hayvanın vücudu katılaşıncaya kadar devam edildi. İşlem sırasında meydana gelen kas seyirmeleri de fiksatifin dokulara ulaştığını göstermektedir. İşlemler bittikten sonra sıçanlar servikal dislokasyon ile dekapite edilerek cerebrum diseksiyonuna başlandı. Cranium'lara midsagittal hat üzerinden deri kesisi ile kemiğe kadar diseke edilip deri ve derialtı dokular serbestleştirildi. Kaslar da kaldırılarak cranium kemikleri makas ve penset yardımıyla cerebrum'a zarar vermeden kırılarak cerebrum görüldü. Cerebrum taban kısmında sinirlerden, arka kısımda cerebellum'dan kesi yapılarak serbestleştirildi. Truncus encephali, medulla spinalis başladığı yerden ayrılarak cranium içinden zarar vermeden çıkarıldı.

Alınan cerebral doku örnekleri histolojik incelemeler için %10'luk formalin fiksatif içinde bir hafta bekletilerek fiksasyonları sağlandı. 3-4 saat çeşme suyunda yıkanan cerebral doku örnekleri 45'er dakika boyunca sırayla %70'lik, %80'lik, %90'lık ve %96'lık alkol çözeltilerinde bekletilerek dehidratasyonu sağlandı. Cerebral doku örneklerini şeffaflandırmak için 2 kez yirmişer dakika ksilol'de bekletilerek etüv içinde 65°C'de eritilmiş parafin içine alınarak 60 dakika bekletildi. Parafinizasyon tamamlandıktan sonra cerebral doku örneklerinden kesit alabilmek için ayrı parafin bulunan kasetlere gömüldü ve bloklandı. Kesit alırken kullanılan mikrotom bıçağı

buzdolabında soğutularak 5'er µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlere 45 °C'de su banyosu yaptırılarak açıldı. Lamların üzerine alınarak etüvde bir saat bekletildi. Hazırlanan preparatlara deparafinizasyon sağlamak için birer saat süreyle iki farklı ksilol'de tutularak boyama aşamasına geçildi. Preparatları boyamada HE ikili boyası kullanıldı. Preparatlar sırayla %96'lık, %90'lık, %80'lik, %70'lik alkol çözeltilerinde ve distile su içerisinde bekletilerek hematoksilen ile 2 dakika eozin ile 10 dakika boyandı. Kalan fazla boya için çeşme suyu ile hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Preparatlar iki ayrı ksilol'de 30 dakika tutularak dokular şeffaflaştırıldı. Şeffaflaştırılan dokular entellanla kapatıldı. Işık mikroskobu (Olympus BH-2) ile değerlendirilerek cerebral doku içeren preparatlar dijital kamera (Olympus DP-70) ile fotoğraflandı.

### **3.7. İstatiksel Analiz**

Çalışma sonucunda elde edilen sürekli değişkenlerin gruplardaki dağılımının normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov- Smirnov ve Shapiro- Wilk testleri uygulanarak belirlendi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arasındaki karşılaştırmaları tek yönlü varyans analizi (One way analysis of variance, ANOVA) ile yapıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlere ise Kruskal- Wallis testi yapılarak istatistiki anlamlılıklar incelendi.

Değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Tüm analizler SPSS (IBM Spss statistics 21), SigmaStat ve MINITAB paket programlarında yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak belirlendi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Sonuçlar

Çalışmamızda antioksidan sistem etkinliğini gösteren parametrelerden olan SOD, MDA ve CAT değerlerine baktık. Aşağıda deneyde kullandığımız gruplardaki hayvanlara ait değerleri gösteren 5 tablo mevcuttur (Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3, Tablo 4.4, Tablo 4.5).

Çalışma neticesinde elde edilen değişkenlerin gruplardaki normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov- Smirnov ve Shapiro- Wilk testleri ile yapıldı. Normal dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arasındaki karşılaştırmaları tek yönlü varyans analizi (One way analysis of variance, ANOVA) ile yapılmıştır. Değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilecektir. Tüm analizler SPSS (IBM Spss statistics 21), SigmaStat ve MINITAB paket programlarından elde edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak belirlenmiştir.

**Tablo 4.1.** 1.000 IU A vitamini uygulanan gruptaki sıçanlara ait antioksidan veriler

Hayvanın Grubu	MDA (nmol/mg)	SOD (inh %)	KATALAZ (kU/ml protein)
1000 IU Vit A	5,296352	57,18409	1,463627
1000 IU Vit A	5,353309	56,50584	1,415831
1000 IU Vit A	5,028336	57,95693	1,4178
1000 IU Vit A	5,030521	56,09153	1,524674
1000 IU Vit A	5,298496	59,33149	1,450263
1000 IU Vit A	5,175452	52,65426	1,44444
1000 IU Vit A	5,166213	56,17571	1,432852

**Tablo 4.2.** 3.000 IU A vitamini uygulanan gruptaki sıçanlara ait antioksidan veriler

<b>Hayvanın Grubu</b>	<b>MDA (nmol/mg)</b>	<b>SOD (inh %)</b>	<b>KATALAZ (kU/ml protein)</b>
<b>3000 IU Vit A</b>	4,190519	60,64107	1,704663
<b>3000 IU Vit A</b>	4,063668	62,01133	1,657507
<b>3000 IU Vit A</b>	4,392298	61,76857	1,652419
<b>3000 IU Vit A</b>	4,264645	62,71759	1,699559
<b>3000 IU Vit A</b>	4,248456	61,47362	1,728809
<b>3000 IU Vit A</b>	4,091533	61,99613	1,707974
<b>3000 IU Vit A</b>	4,114615	61,31624	1,724679
<b>3000 IU Vit A</b>	4,100339	63,01924	1,759512

**Tablo 4.3.** 9.000 IU A vitamini uygulanan gruptaki sıçanlara ait antioksidan veriler

<b>Hayvanın Grubu</b>	<b>MDA (nmol/mg)</b>	<b>SOD (inh %)</b>	<b>KATALAZ (kU/ml protein)</b>
<b>9000 IU Vit A</b>	3,544893	68,49658	1,97684
<b>9000 IU Vit A</b>	3,611293	68,77859	1,997204
<b>9000 IU Vit A</b>	3,599607	69,48165	1,960283
<b>9000 IU Vit A</b>	3,449574	68,72596	1,96717
<b>9000 IU Vit A</b>	3,406942	68,22087	1,952153
<b>9000 IU Vit A</b>	3,576745	67,69529	1,998104
<b>9000 IU Vit A</b>	3,497449	67,51374	1,928804
<b>9000 IU Vit A</b>	3,678814	69,59241	2,018097

**Tablo 4.4.** İskemi/reperfüzyon uygulanan gruptaki sıçanlara ait antioksidan veriler

<b>Hayvanın Grubu</b>	<b>MDA (nmol/mg)</b>	<b>SOD (inh %)</b>	<b>KATALAZ (kU/ml protein)</b>
İ/R	5,369403	53,20416	1,342389
İ/R	5,431374	53,43175	1,298952
İ/R	5,392266	55,30121	1,314887
İ/R	5,437518	54,24537	1,384863
İ/R	5,510385	54,99459	1,33875
İ/R	5,546509	57,02271	1,291914
İ/R	5,471888	53,68221	1,319288
İ/R	5,621117	48,7895	1,307442

**Tablo 4.5.** Kontrol grubundaki sıçanlara ait antioksidan veriler

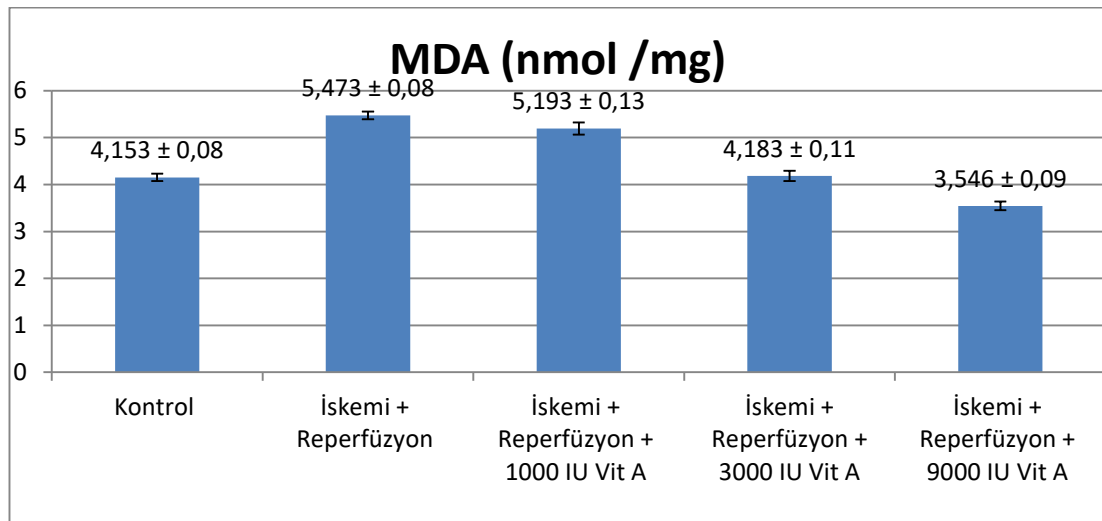
<b>Hayvanın Grubu</b>	<b>MDA (nmol/mg)</b>	<b>SOD (inh %)</b>	<b>KATALAZ (kU/ml protein)</b>
<b>Kontrol</b>	4,268321	70,0202	1,902139
<b>Kontrol</b>	4,062168	70,42025	1,80648
<b>Kontrol</b>	4,1311	66,7124	1,880203
<b>Kontrol</b>	4,132182	65,37152	1,845211
<b>Kontrol</b>	4,111203	66,71714	1,900535
<b>Kontrol</b>	4,098366	67,55584	1,813181
<b>Kontrol</b>	4,269827	69,00001	1,799162

#### 4.1.1. Hemolizatta malondialdehit (MDA) değerleri

İskemi-reperfüzyon grubunun MDA seviyesi ortalamasında ( $5,473 \pm 0,08$ ) kontrol grubundaki MDA düzeyine ( $4,153 \pm 0,08$ ) kıyasla anlamlı düzeyde artış gözlenmiştir ( $p < 0.001$ ). 3.000 IU Vitamin A grubunun MDA seviyelerinin ortalaması ( $4,183 \pm 0,11$ ) ise tekrar normal seviyelere yaklaşmış durumdaydı ve kontrol grubu MDA seviyelerinin ortalaması ( $4,153 \pm 0,08$ ) ile aralarında anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.1, Tablo 4.6).

**Tablo 4.6.** Gruplara göre ortalama MDA düzeyini gösteren tablo (veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir).

Gruplar	N	MDA (nmol/mg)
Kontrol	7	$4,153 \pm 0,08$
İskemi + Reperfüzyon	8	$5,473 \pm 0,08$
İskemi + Reperfüzyon + 1000 IU Vit A	7	$5,193 \pm 0,13$
İskemi + Reperfüzyon + 3000 IU Vit A	8	$4,183 \pm 0,11$
İskemi + Reperfüzyon + 9000 IU Vit A	8	$3,546 \pm 0,09$



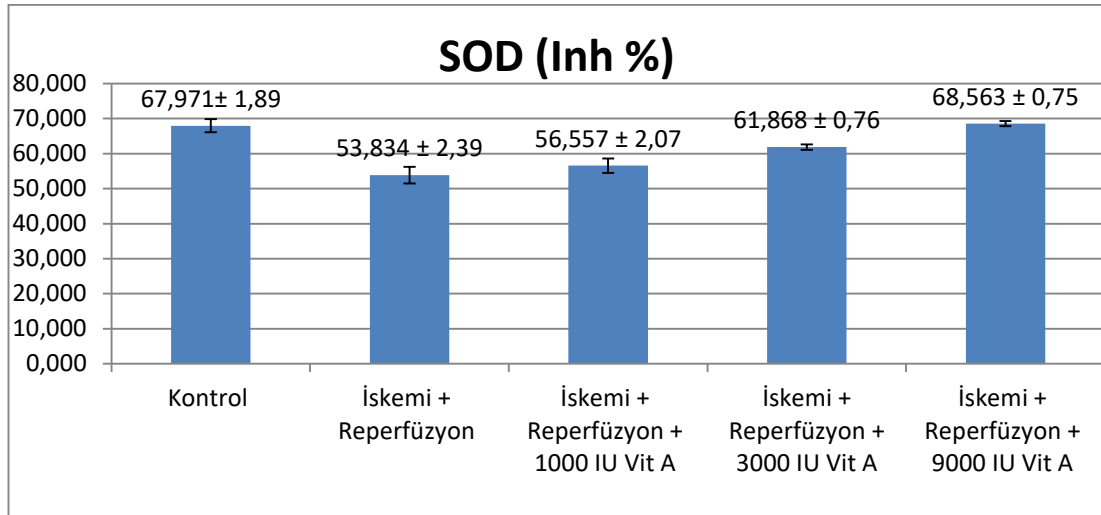
**Şekil 4.1.** Gruplara göre ortalama MDA düzeylerini gösteren grafik (veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir).

#### 4.1.2. Hemolizatta süperoksit dismutaz (SOD) değerleri

İskemi-reperfüzyon grubunun SOD değerlerinde ( $53,834 \pm 2,39$ ) kontrol grubunun SOD değerlerine göre ( $67,971 \pm 1,89$ ) anlamlı düzeyde azalma tespit edildi ( $p<0,001$ ). 9.000 IU Vitamin A grubunun SOD değerleri ise ( $68,563 \pm 0,75$ ) kontrol grubundan elde edilen ortalama SOD değerlerine ( $67,971 \pm 1,89$ ) yakın olarak tespit edildi ve aralarında anlamlı bir farka rastlanmadı (Şekil 4.2, Tablo 4.7).

**Tablo 4.7.** Gruplara göre ortalama SOD düzeyleri (veriler ortalama $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir).

Gruplar	N	SOD (Inh %)
Kontrol	7	$67,971 \pm 1,89$
İskemi + Reperfüzyon	8	$53,834 \pm 2,39$
İskemi + Reperfüzyon + 1000 IU Vit A	7	$56,557 \pm 2,07$
İskemi + Reperfüzyon + 3000 IU Vit A	8	$61,868 \pm 0,76$
İskemi + Reperfüzyon + 9000 IU Vit A	8	$68,563 \pm 0,75$



**Şekil 4.2.** Gruplara göre ortalama SOD düzeylerini gösteren grafik (veriler ortalama $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir).

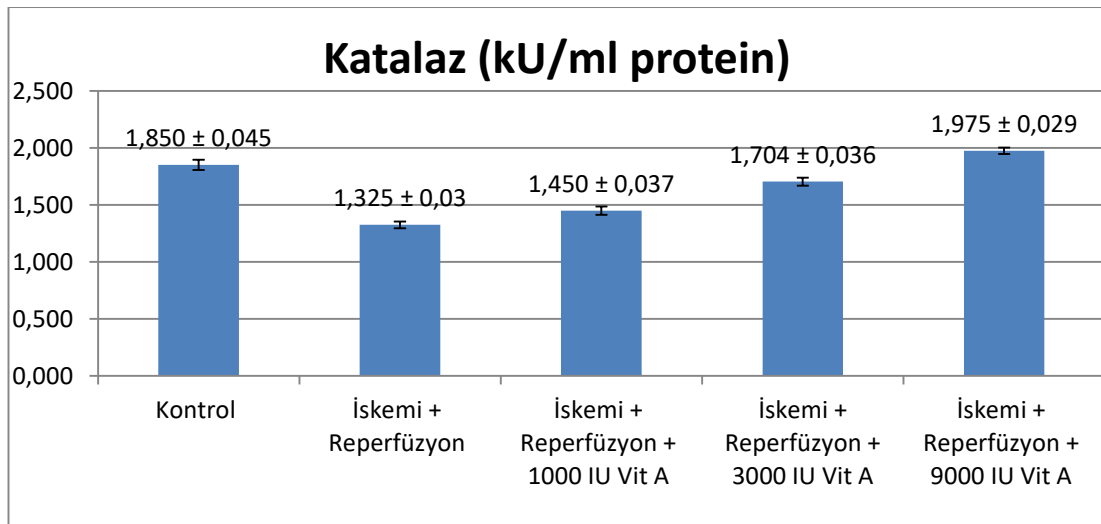


### 4.1.3. Hemolizatta katalaz (KAT) değerleri

İskemi/reperfüzyon grubundaki katalaz aktivitesi ( $1,325 \pm 0,030$ ) kontrol grubunun katalaz aktivitesine ( $1,850 \pm 0,045$ ) kıyasla anlamlı düzeyde azalma göstermiştir ( $p < 0,001$ ). 9.000 IU Vitamin A grubunun katalaz aktivitesi değerleri ise ( $1,975 \pm 0,029$ ) kontrol grubundan elde edilen değeri ( $1,850 \pm 0,045$ ) aşarak ve aralarında anlamlı derecede fark bulunmuştur ( $p < 0,001$ ) (Şekil 4.3, Tablo 4.8).

**Tablo 4.8.** Gruplara göre ortalama KAT aktivitesini gösteren tablo (veriler ortalama $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir).

Gruplar	N	Katalaz (kU/ml protein)
Kontrol	7	$1,850 \pm 0,045$
İskemi + Reperfüzyon	8	$1,325 \pm 0,030$
İskemi + Reperfüzyon + 1000 IU Vit A	7	$1,450 \pm 0,037$
İskemi + Reperfüzyon + 3000 IU Vit A	8	$1,704 \pm 0,036$
İskemi + Reperfüzyon + 9000 IU Vit A	8	$1,975 \pm 0,029$



**Şekil 4.3.** Gruplara göre ortalama KAT aktivitelerini gösteren grafik (veriler ortalama $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir).

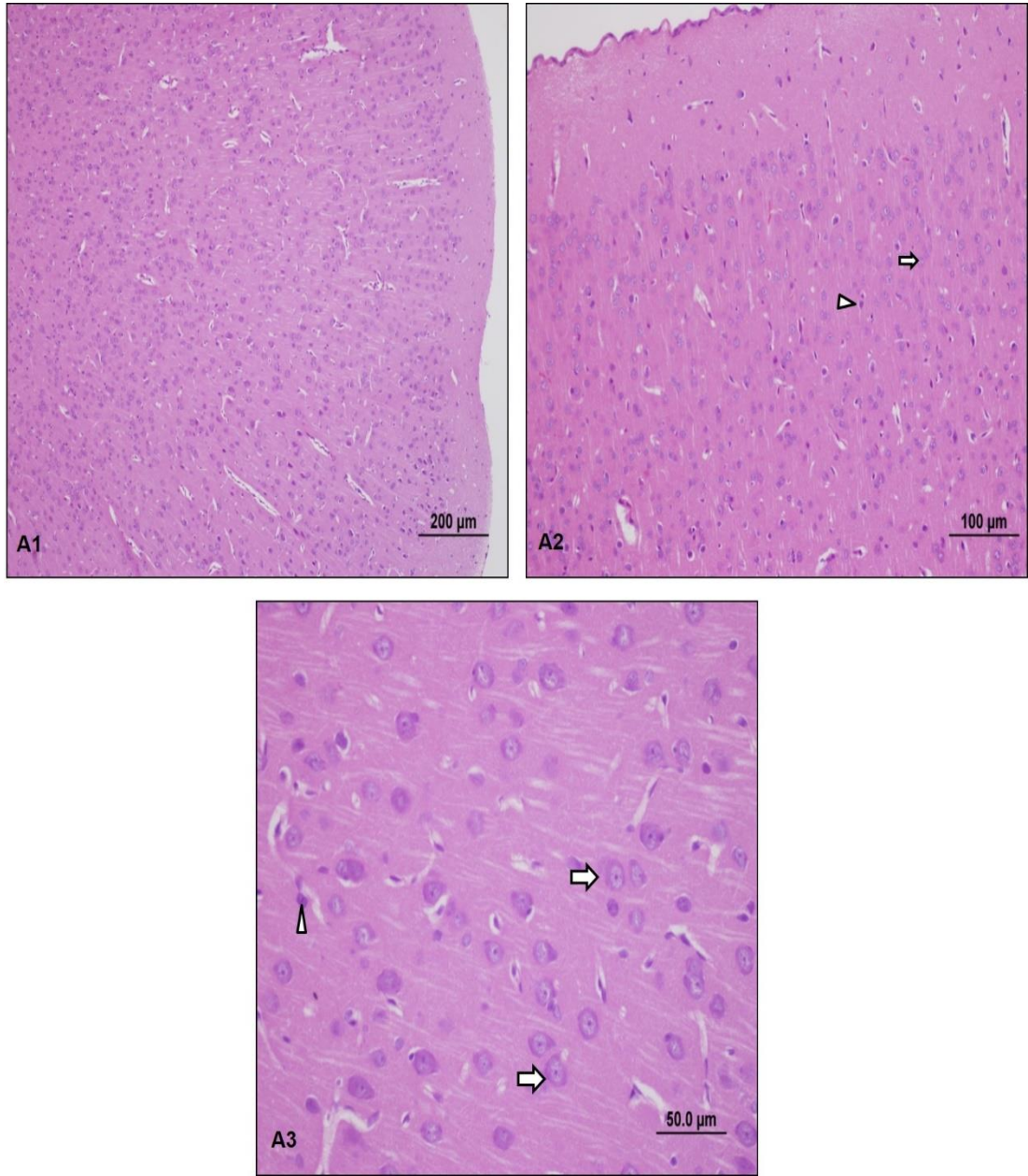
Tüm gruplara ait biyokimyasal veriler tablo halinde verilmiştir (Tablo 4.9).

**Tablo 4.6.** Deney gruplarından elde edilen MDA, SOD, KAT değerleri ve bu değerlerin istatistik olarak karşılaştırılmasını içeren tablo (veriler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir).

Gruplar	Grup No	MDA (nmol/mg)	SOD (Inh %)	Katalaz (kU/ml protein)
<b>Kontrol</b>	G1	4,153 ± 0,08	67.971 ± 1,89	1.850 ± 0,045
<b>İskemi + Reperfüzyon</b>	G2	5,473 ± 0,08	53.834 ± 2,39	1.325 ± 0,030
<b>İskemi + Reperfüzyon + 1000 IU Vit A</b>	G3	5,193 ± 0,13	56.557 ± 2,07	1.450 ± 0,037
<b>İskemi + Reperfüzyon + 3000 IU Vit A</b>	G4	4,183 ± 0,11	61.868 ± 0,76	1.704 ± 0,036
<b>İskemi + Reperfüzyon + 9000 IU Vit A</b>	G5	3,546 ± 0,09	68.563 ± 0,75	1.975 ± 0,029
<b>Grupların arası p değeri</b>	<b>G1-G2</b>	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	<b>G1-G3</b>	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	<b>G1-G4</b>	0,978	< 0,001	< 0,001
	<b>G1-G5</b>	< 0,001	0,961	< 0,001
	<b>G2-G3</b>	< 0,001	0,030	< 0,001
	<b>G2-G4</b>	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	<b>G2-G5</b>	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	<b>G3-G4</b>	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	<b>G3-G5</b>	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	<b>G4-G5</b>	< 0,001	< 0,001	< 0,001

## 4.2.Histolojik Sonuçlar

Yapılan histolojik inceleme sonucunda kontrol grubunda normal cerebrum histolojisi gözlenirken, kontrol grubuna ait histolojik görüntüler ekil 4.4'te, histolojik hasar skorlaması ise tablo 4.10'da sunulmuştur (ekil 4.4, Tablo 4.10).



**Şekil 4.1.** Kontrol grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (A1-A3) (HE, scale bar: 200µm,

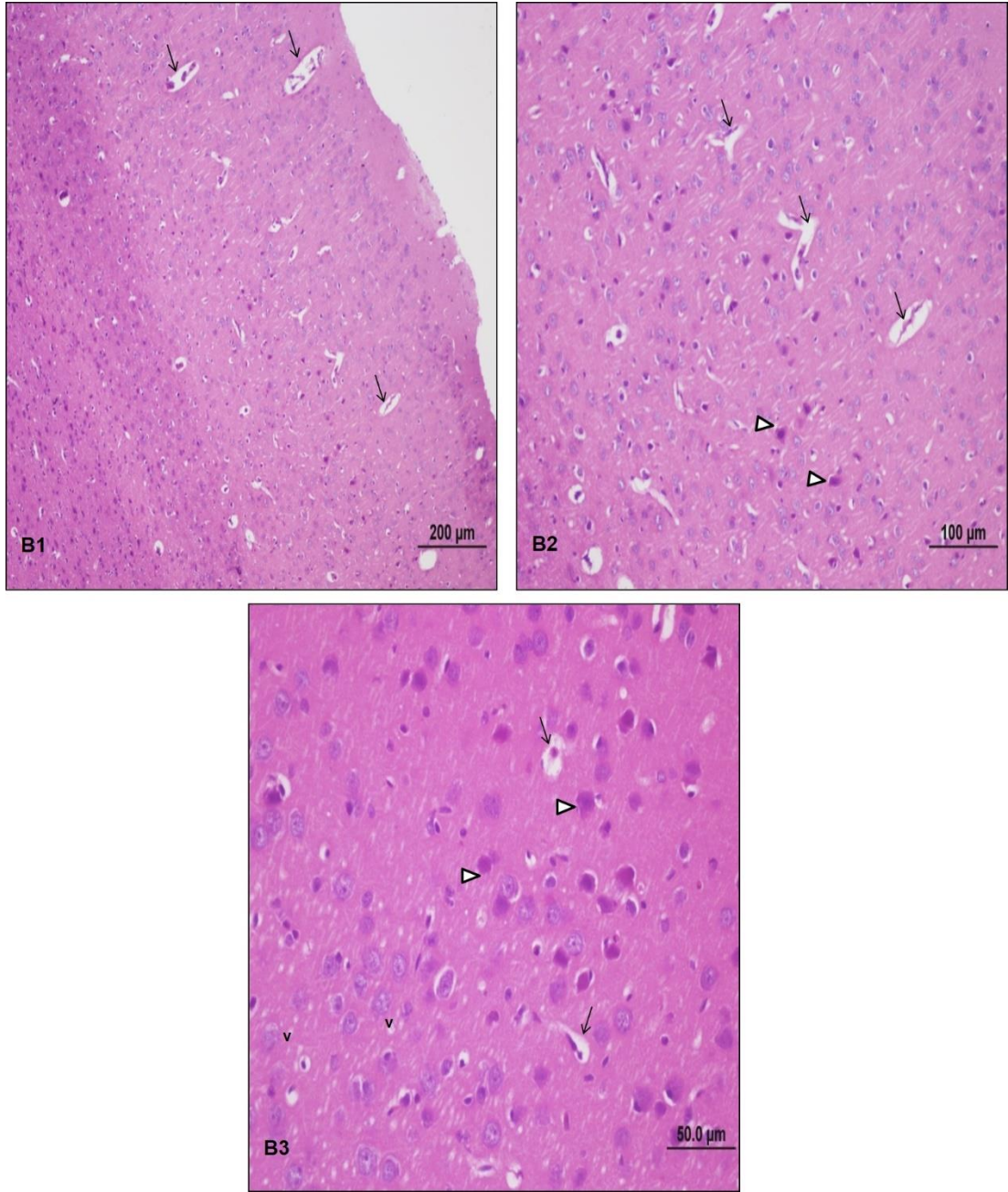
100µm, 50.0µm). Kontrol grubuna ait sıçan beyinlerinde kortikal alanda normal görünümlü nöronlar (⇨) ve glial hücreler (Δ) izlenmektedir.

**Tablo 4.7.** Kontrol grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu.

Kontrol Grubu	Nekrotik hücre	Ekstrasellüler vakuolizasyon	Perivasküler ödem
Hayvan 1	0	0	0
Hayvan 2	0	0	0
Hayvan 3	0	0	0
Hayvan 4	0	0	0
Hayvan 5	0	0	0
Hayvan 6	1	0	0
Hayvan 7	0	0	1

**Not:** Skorlamada; 0: hasar yok, 1: az hasar, 2: orta hasar, 3:yoğun hasar olarak skorlanmıştır.

İ/R grubuna ait sıçanların cerebrum örneklerinde ışık mikroskopunda değerlendirilmesi sonucu, cerebral korteksinde yoğun hasar ve çok sayıda nekrotik nöron gözlenmiştir. İ/R grubuna ait sıçanların cerebrum histolojisi görüntüleri Şekil 4.5'te, histolojik hasar skorlamaları ise tablo 4.11'de sunulmuştur (Şekil 4.5, Tablo 4.11).



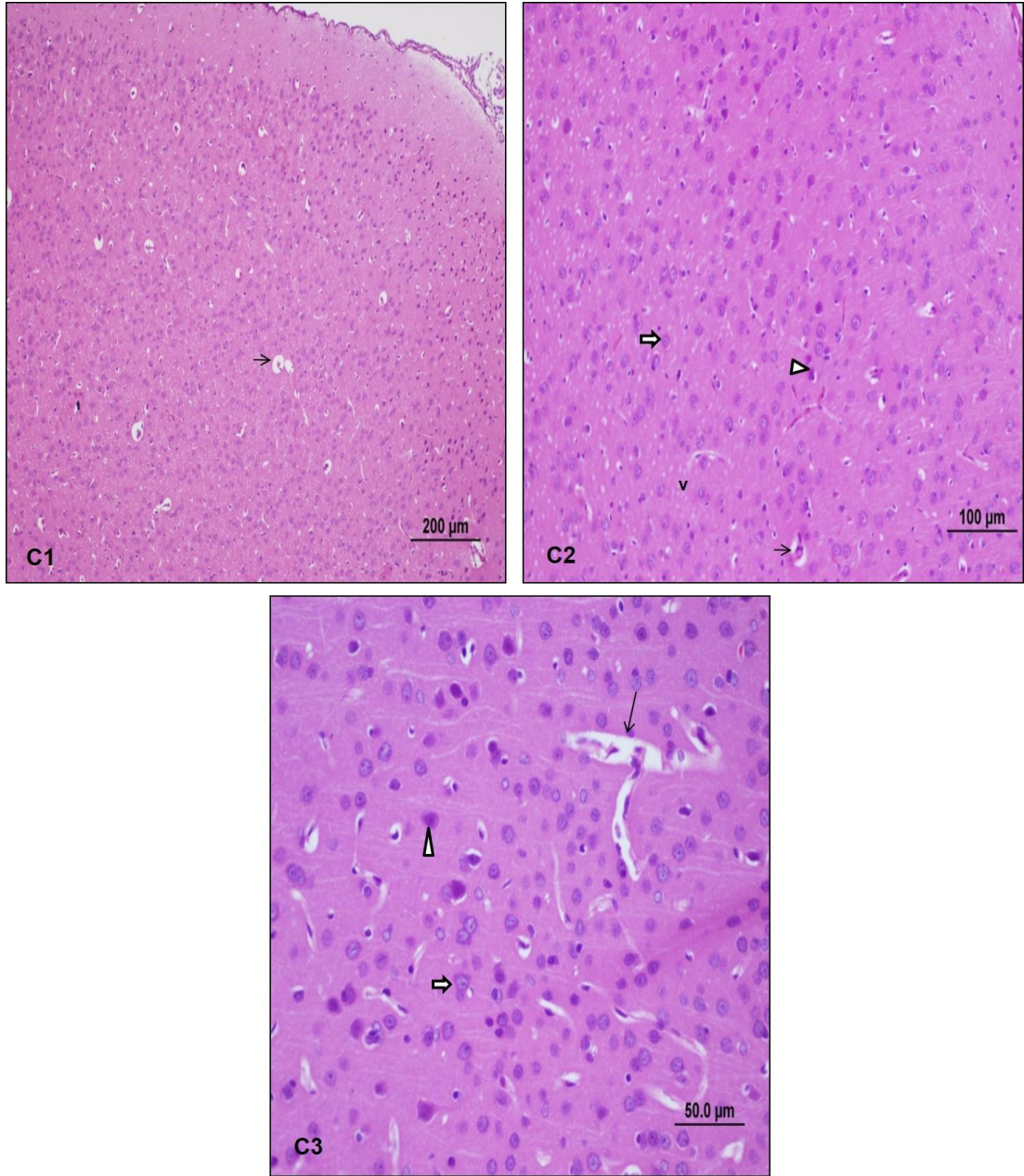
**Şekil 4.2.** İ/R grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (B1-B3) (HE, scale bar: 200µm, 100µm, 50.0µm). İ/R grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanda hasar, ekstrasellüler vakuolizasyon (v), perivasküler ödem (→) ve nekrotik hücre yapıları (Δ) izlenmektedir.

**Tablo 4.8.** İskemi/reperfüzyon grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu.

İ/R grubu	Nekrotik hücre	Ekstrasellüler vakuolizasyon	Perivasküler ödem
Hayvan 1	3	2	2
Hayvan 2	3	3	3
Hayvan 3	3	3	3
Hayvan 4	2	3	3
Hayvan 5	3	2	2
Hayvan 6	2	2	2
Hayvan 7	2	2	2
Hayvan 8	2	3	3

**Not:** Skorlamada; 0: hasar yok, 1: az hasar, 2: orta hasar, 3:yoğun hasar olarak skorlanmıştır.

1.000 IU/kg vit A grubuna ait sıçanların cerebrum örneklerinde ışık mikroskobunda değerlendirilmesi sonucu, cerebral korteksinde azalmış hasar ve az sayıda nekrotik nöron gözlenmiştir. İ/R grubuna ait sıçanların cerebrum histolojisi görüntüleri Şekil 4.6'da, histolojik hasar skorlamaları ise tablo 4.12'de sunulmuştur (Şekil 4.6, Tablo 4.12).



**Şekil 4.3.** 1000 IU/kg vit A grubunu grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (C1-C3) (HE, scale bar: 200µm, 100µm, 50.0µm). 1000mg/kg vit A grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanda az sayıda nekrotik hücre (Δ), azalmış ekstrasellüler vakuolizasyon (v) ve perivasküler ödem (→) görülmekle birlikte genel olarak normale yakın görünümü nöronlar (⇨) ve glial hücreler izlenmektedir.

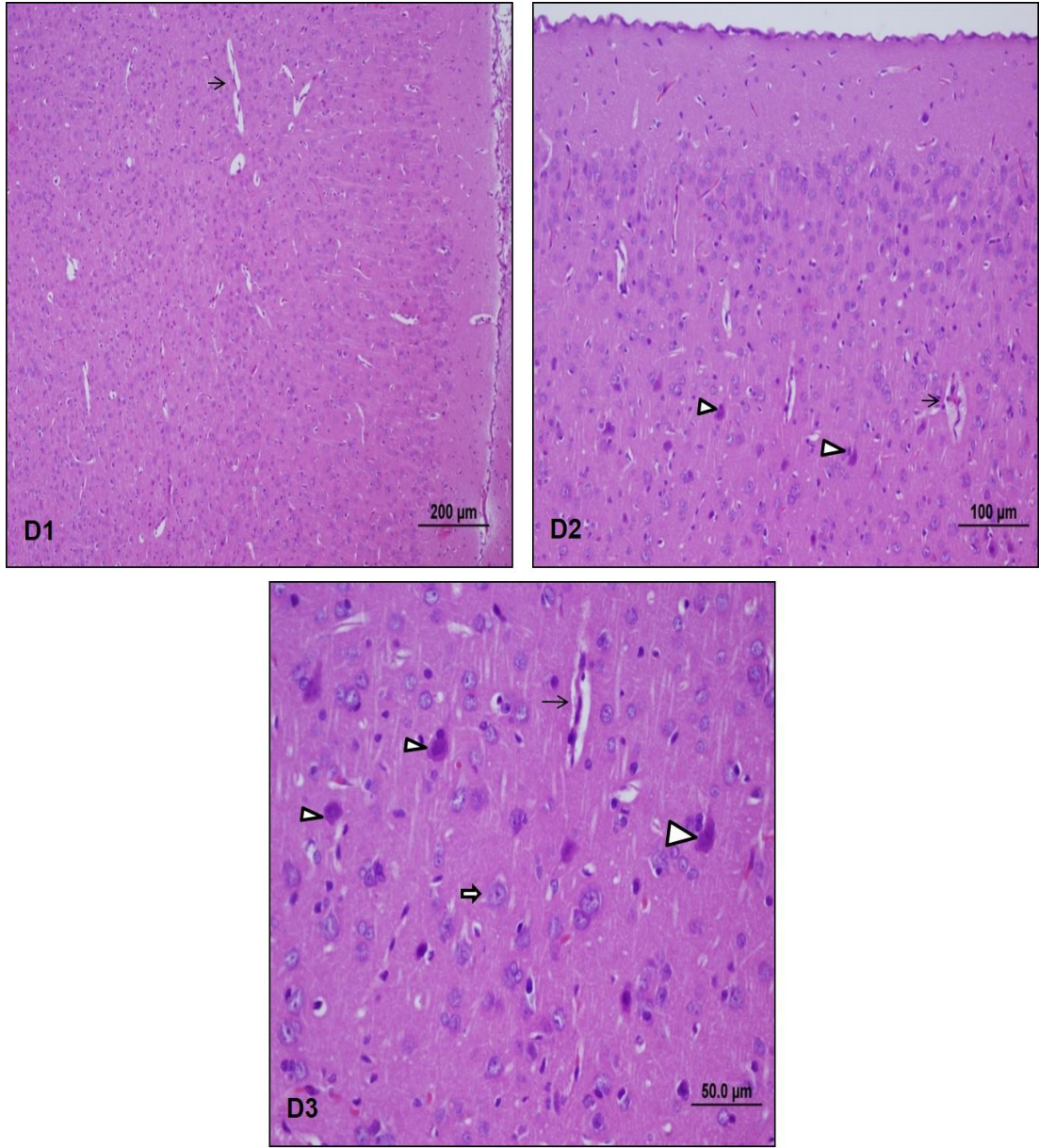
**Tablo 4.9.** 7 gün süresince 1000 IU/kg vitamin A grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu.

<b>1.000 IU A vitamini grubu</b>	<b>Nekrotik hücre</b>	<b>Ekstrasellüler vakuolizasyon</b>	<b>Perivasküler ödem</b>
Hayvan 1	1	0	2
Hayvan 2	1	0	2
Hayvan 3	1	0	1
Hayvan 4	1	0	2
Hayvan 5	1	0	2
Hayvan 6	1	0	1
Hayvan 7	1	0	2

**Not:** Skorlamada; 0: hasar yok, 1: az hasar, 2: orta hasar, 3:yoğun hasar olarak skorlanmıştır.

3.000 IU/kg vit A grubuna ait sıçanların cerebrum örneklerinde ışık mikroskobunda değerlendirilmesi sonucu İ/R grubuna göre, cerebral korteksinde azalmış hasar ve az sayıda nekrotik nöron gözlenmiştir. Ekstrasellüler vakuolizasyon görülmemektedir. Perivasküler ödem bulunan hücreler oldukça az sayıdadır. Bu gruba ait sıçanların cerebrum histolojisi görüntüleri Şekil 4.7’de, histolojik hasar skorlamaları ise tablo 4.13’te sunulmuştur (Şekil 4.7, Tablo 4.13).





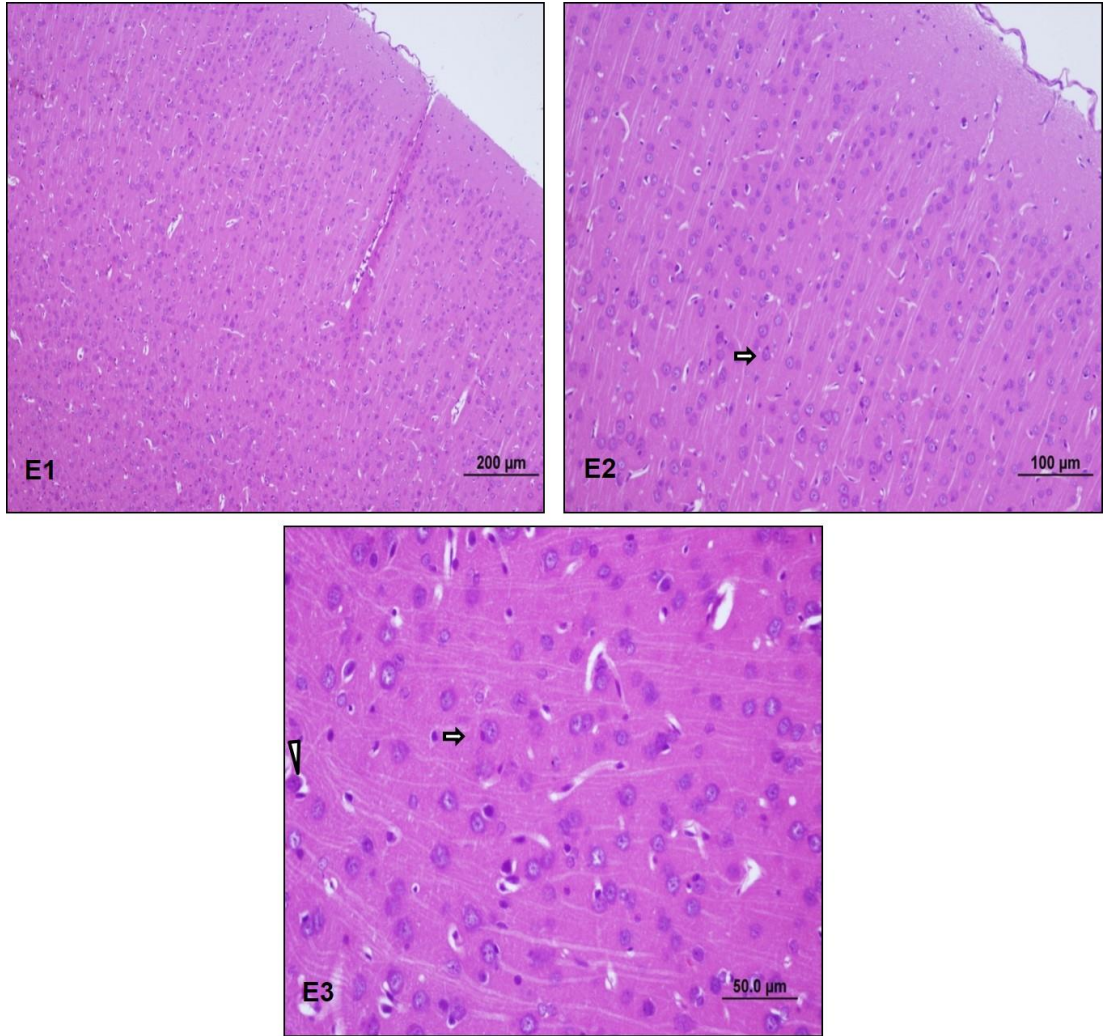
**Şekil 4.4.** 3000 IU/kg vit A grubunu grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (D1-D3) (HE, scale bar: 200µm, 100µm, 50.0µm). 3000 IU/kg vit A grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanda az sayıda nekrotik hücre ( $\Delta$ ) ve kısmi perivasküler ödem ( $\rightarrow$ ) görülmekle birlikte sham grubuna oranla azalmış hasar ve normale yakın nöron yapıları ( $\Rightarrow$ ) ve glial hücreler izlenmektedir.

**Tablo 4.10.** 7 gün süresince 3000 IU/kg vitamin A grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu.

<b>3.000 IU A vitamini grubu</b>	<b>Nekrotik hücre</b>	<b>Ekstrasellüler vakuolizasyon</b>	<b>Perivasküler ödem</b>
Hayvan 1	1	0	1
Hayvan 2	2	0	1
Hayvan 3	1	0	0
Hayvan 4	2	0	0
Hayvan 5	1	0	1
Hayvan 6	2	0	0
Hayvan 7	1	0	1
Hayvan 8	2	0	0

**Not:** Skorlamada; 0: hasar yok, 1: az hasar, 2: orta hasar, 3:yoğun hasar olarak skorlanmıştır.

9.000 IU/kg vit A grubuna ait sıçanların cerebrum örneklerinde ışık mikroskopunda değerlendirilmesi sonucu İ/R grubuna göre, cerebral korteksinde azalmış hasar ve çok az sayıda nekrotik nöron gözlenmiştir. Bu gruba ait sıçanların cerebrum histolojisi görüntüleri Şekil 4.8’de, histolojik hasar skorlamaları ise tablo 4.14’te sunulmuştur (Şekil 4.8, Tablo 4.14).



**Şekil 4.5.** 9000 IU/kg vit A grubunu grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanlarının farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüleri (E1-E3) (HE, scale bar: 200µm, 100µm, 50.0µm). 9000mg/kg vit A grubunu oluşturan sıçan beyinlerinde kortikal alanda birkaç nekrotik hücre ( $\Delta$ ) görülmekle birlikte sham grubuna oranla azalmış hasar ve kortikal alanda normale yakın nöronlar ( $\Rightarrow$ ) ve glial hücreler izlenmektedir.

**Tablo 4.11.** 7 gün süresince 9000 IU/kg vitamin A grubundaki sıçanların cerebrum hasarına dair histolojik skorlama tablosu.

<b>9.000 IU A vitamini grubu</b>	<b>Nekrotik hücre</b>	<b>Ekstrasellüler vakuolizasyon</b>	<b>Perivasküler ödem</b>
Hayvan 1	1	0	1
Hayvan 2	0	0	1
Hayvan 3	0	0	2
Hayvan 4	1	0	0
Hayvan 5	1	0	1
Hayvan 6	1	0	0
Hayvan 7	1	0	1
Hayvan 8	1	0	1

**Not:** Skorlamada; 0: hasar yok, 1: az hasar, 2: orta hasar, 3:yoğun hasar olarak skorlanmıştır.

## 5. TARTIŞMA

Beyinde meydana gelen iskemi, birçok morbidite ve mortalite sebebi olmasından dolayı tedavisi oldukça önemli olan bir durumdur (24).

Günümüzde yapılan araştırmalarda iskemiyeye uğramış beyin dokusunun reperfüzyon olmasına rağmen bölgenin geri dönüşümünün tamamen mümkün olmadığı fakat en az hasarla atlatılabilmesi hedeflenmiştir (68). İskemi sonrası reperfüzyon olmasına rağmen mitokondride oluşan serbest oksijen radikalleri oksidatif strese neden olur (69). Oksidatif stres prooksidanların antioksidan mekanizmayı aşmasından dolayı oluşur. Nöronların antioksidan kapasitesi diğer dokulara oranla düşüktür ve frajil olmasına neden olur. İskemi reperfüzyon sonucu oluşan serbest oksijen radikallerini uzaklaştırmak için birçok madde kullanılmış ve hasar azaltılmaya çalışılmıştır (70).

Sıçanlar üzerinde yapılan cerebral İ-R modellerinde oluşan hasar iskemi süresine bağlı olduğu ve sürenin artarak reperfüzyon süresinin gecikmesinin doku hasarını artırdığı gösterilmiştir (71).

Yapılan çalışmalarda iskemi süreleri çeşitli cerebral iskemi modellerinde 30 dakikadan 2 saate kadar sürebilmektedir (72, 73). Selakovic ve ark. (74) yaptığı çalışmada sıçanlarda oluşturulan İ-R modellerinde 5-10-15 dakika arası iskemi süresi değişmektedir. Çalışmamızda sıçanlara tek taraflı sağ ACC'e klemp takarak 30 dk. boyunca iskemi oluşturduk ve sonra reperfüze ederek 24 saat sonra vitamin A tedavisine başladık. Bir hafta boyunca farklı dozlarda vitamin A uygulayarak kan ve doku örnekleri olarak SOD, CAT ve MDA analizleri yaptık.

Endojen antioksidanlar, iskemi reperfüzyon hasarından sonra ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin kaldırılmasında çok önemli bir rol oynar. Serbest radikal oluşum hızı antioksidan sistem kapasitesini aştığı durumlarda oksidatif stres oluşmaktadır. Bu oksidatif stresi ortadan kaldırmak için dokunun eksojen antioksidanlara ihtiyacı vardır.

Chang ve ark. (75) tarafından yapılan çalışmada lipofilik antioksidan vitaminlerin plazma seviyesinin akut iskemik inme geçiren hastalarda inflamatuvar değerler ve nörolojik defisit ile korelasyonuna bakılmıştır. İnme sonrası yapılan tetkiklerde retinol, alfa ve beta karoten seviyeleri düşük bulunmuş, alfa ve beta karoten düşüklüğü anlamlı çıkmıştır. Bu anlamlı düşüşün birkaç nedeni olabileceğini

söylemişlerdir. Bunlardan biri de oksidatif stresten dolayı antioksidan olarak kullanımındadır.

Çalışmamızda antioksidan bir vitamin olan A vitamini kullanarak cerebrum iskemisi/reperfüzyon sonucu oluşan hasar üzerinde eksojen antioksidan etkinliğini terapötik olarak inceledik. Oksidatif strese karşı antioksidan sistemin yeterliliğinin indirek bilgisini bize SOD ve CAT düzeyleri gösterir. MDA ise oksidatif maddelerin doku üzerindeki hasarı değerlendirmemizde rol oynar (76).

Daha önceden yapılmış çalışmalarda antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için SOD, MDA ve CAT değerleri kullanılmıştır. İskemiye uğramış veya normal dokularda ve organlarda A vitamini uygulaması yapılan, bazı araştırmalar çalışmamız ile paralellik gösterirken bazı araştırmalar doza, süreye ve oksidatif strese bağlı olarak oksidan etkinin olduğunu göstermişlerdir.

Selakovic ve ark. (74) yaptığı Moğol gerbillerindeki çalışmada yapılan farklı sürelerdeki iskemi modellerinde reperfüzyon sonrası SOD düzeylerinde düşme saptanmıştır. Oluşan serbest oksijen radikallerinin ortadan kaldırılmasını sağladığı için SOD kullanılmıştır. Çalışmamızda vitamin A kullanılmayan iskemi reperfüzyon grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı düşme bulundu. SOD düzeyleri hasar konusunda oldukça öneme sahiptir.

De Oliviera ve ark. (64) yaptığı çalışmada sıçanlara 3, 7, 28 gün boyunca 1000 IU, 2500 IU, 4500 IU ve 9000 IU farklı dozlarda oral gavaj şeklinde A vitamini uygulayarak substantia nigra'daki oksidatif durum ve lökomotor sisteme etkisi araştırılmıştır. A vitaminin substantia nigra'da oksidatif stresi artırdığı ve prooksidan olduğu ileri sürülmüştür. Akut (7 gün) ve kronik (28 gün) uygulamada lipid peroksidasyonunu artırdığını bulmuşlardır. Diğer taraftan SOD/CAT değeri de artarak SOD bağlı bir artış söz konusudur. Çalışmamızda SOD ve CAT değerleri artarak kontrol grubuna ulaşmıştır ve MDA seviyesi anlamlı şekilde azalmıştır.

Misner ve ark. (77) tarafından yapılan çalışmada farelerde vitamin A eksikliği oluşturularak organizmadaki ve özellikle hipokampüsteki etkilerine bakmışlardır. Vitamin A eksikliğinin hipokampüste uzun süreli sinaptik plastisiteyi reversibl olarak kaybına neden olduğunu, vitamin A alındığında ise bu durumun düzeldiğini tesbit etmişlerdir.

Tao ve ark. (78) tarafından yapılan çalışmada farelerde miyokardiyal iskemi reperfüzyonu hasarına karşı koruyucu olarak retinol palmitat kullanılmıştır. Retinol palmitat kullanılan gruplarda SOD düzeyi artarken MDA seviyesinde azalma olmuştur. Reaktif oksijen radikal azalmasını sağlayarak hücrelerin apoptoza gidişini önlemiştir. Araştırma sonuçları çalışmamızı destekler niteliktedir.

Toktay ve ark.(79) yaptığı çalışmada sıçanlarda beta karoten uygulandıktan sonra deneysel olarak over iskemi reperfüzyon hasarı yapılarak beta karotenin hasara karşı protektif etkisine bakmışlardır. İskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan grupta sağlıklı gruba göre MDA seviyesi artmıştır. Beta karoten uygulanan grupta MDA seviyeleri anlamlı şekilde azalma göstermiştir. SOD düzeyleri iskemi reperfüzyon grubunda sağlıklı gruba göre düşmesine rağmen beta karoten uygulanan grupta SOD aktivitesinde düzelme saptamışlardır. Çalışma sonucuna göre beta karoten iskemi reperfüzyon hasarı sonucu oluşan oksidatif stresi azaltarak hasara karşı protektif olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir. Yapılan araştırma çalışmamızla hem biyokimyasal olarak hem de histolojik olarak destekler niteliktedir.

Leppälä ve ark. (80) yaptığı çalışmada alfa tokoferol ve beta karoten takviyesinin sigara içen erkeklerde mortalite ve inme insidansına bakılmıştır. Çalışma sonucunda beta karotenin inmeyi önleme açısından anlamlı bir sonuç elde edilmediği görülmüştür. Fakat burada gözardı edilen birçok faktör vardır. Genetik faktörler dâhil vasküler yapıya kadar birçok neden vardır ve bunların tüm deneklerde inmeye karşı olan yatkınlıklarını ve cevaplarını etkilemektedir. Bu çalışma deneklerin daha dikkatli bir şekilde standardize edilerek yapılması sonuçların daha doğru elde edilmesine katkı sağlayacaktır.

Keli ve ark. (81) tarafından yapılan çalışmada diyetteki flavonoid ve antioksidan vitaminlerin inmedeki insidansına bakılmıştır. Yapılan kohort çalışmasında 50-69 yaşlar arası denekler onbeş yıl süreyle takip edilmiştir. Deneklerin besin alım miktarı geçmiş yıllardaki beslenmesine göre hesaplandı. Diyetle antioksidan vitaminler ve flavonoidler ayarlandıktan sonra takip edilmeye başlandı. Çalışma sonucuna göre diyetteki antioksidan besinlerin inmeye karşı koruyucu olduğu sonucuna varmışlardır. Özellikle beta caroten hakkında daha çok çalışma yapılması önerilmiştir.

Jiang ve ark. (82) yaptığı çalışmada sıçanlarda hipoksik iskemik beyin hasarından sonra oluşan apopitozdaki vitamin A'nın etkisine bakılmıştır. Vitamin A eksikliği olan grup, vitamin A normal ve takviye edilen gruba göre öğrenme ve uzamsal bellekte bozukluklar bulmuşlardır. Ayrıca vitamin A normal olan grupta eksik olan gruba göre apopitoz daha hafif düzeyde çıkmıştır. Fakat A vitamininin yüksek ve düşük dozda apopitozu artırdığı belirtilmiştir. A vitamininin doz ayarlaması yapılarak kullanımını önermişlerdir. Bu araştırma çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Zhao ve ark. (83) tarafından yapılan çalışmada A vitamininin sıçanlarda hipoksik iskemik beyin hasarından sonra nöral kök hücrelerinin proliferasyonundaki ve nöroprotektif etkisine bakılmıştır. A vitamininin yenidoğan hipoksik iskemik beyin hasarında nöral kök hücrelerinin proliferasyonunu destekleyerek nöroprotektif etkisini göstermişlerdir. Yenidoğan hipoksik iskemik hasar tedavisinde 1 µmol/L ile 5 µmol/L vitamin A tedavisinin yararlı olabileceğini belirtmişlerdir. Araştırmanın sonuçları çalışmamızı destekler niteliktedir.

Rigebello ve ark.(84) tarafından yapılan çalışmada sıçan karaciğer dokusundan elde edilen mitokondrilere farklı formlardaki retinoik asit uygulanmıştır. Retinoik asit mitokondriyal şişme ve mitokondri membran potansiyelinde düşüş yaparak membran geçirgenliğinde artışa neden olmuştur. Fakat bunun sonuçta apoptojenik faktör salınması ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Bu durumda retinoik asitin antitümör etkisinin kullanılabileceği elde edilmiştir.

Daviglus ve ark. (85) yaptığı çalışmada orta yaş erkeklerde vitamin C ve beta karoten alımının inme riskine bakmışlardır. Beta karoten ve vitamin C alımı iskemi riskinde ılımlı bir azalma oluşturmasına rağmen yüksek dozda alım hakkında kesin bir kanıt sağlayamamışlardır. Antioksidan inme arasında ilişki için daha çok çalışma önermişlerdir.

Dal-Pizzol ve ark. (86) tarafından yapılan çalışmada sıçan sertoli hücrelerine retinol tedavisi uygulanarak DNA hasarına bakılmıştır. Retinol tedavisinde SOD ve CAT aktiviteleri artırmıştır. Yani antioksidan enzim aktivitesini modüle etmektedir. Çalışmada normal sertoli hücrelerine uygulandığı için enzim aktivasyonunun oksidatif strese neden olduğunu ve DNA hasarı oluşturduğu iddia edilmektedir. Bizim çalışmamızda oksidatif stresin olduğu ortamda antioksidan enzim aktivasyonunun artışı serbest radikal temizlenmesi açısından olumlu etki oluşturmuştur.



Zhang ve ark. (87) tarafından yapılan çalışmada sıçanlarda, prenatal A vitamininden eksik bir diyet uygulanarak, A vitamini eksikliğinin postnatal hafıza ve öğrenme üzerinde etkileri incelenmiştir. A vitamininden eksik diyetle beslenen sıçanların yavrularında A vitamini oranı anlamlı şekilde düşük bulmuşlardır. A vitamini normal olan sıçanların yavrularıyla A vitamininden eksik beslenen sıçanların yavruları Morris su labirentinde kaçış süreleri karşılaştırıldığında A vitamini normal olan sıçan yavrularında süre önemli ölçüde kısaldığını tebit etmişlerdir. A vitamini eksikliğinin erişkin dönemde bozulmuş öğrenme ve hafızaya yol açtığını gözlemlemişlerdir.

Corcoran ve ark. (88) farelerde retinoik asitin spinal kord üzerindeki etkilerine bakmışlardır. İn vitro yapılan deneylerde embriyonik spinal kortta nöron büyümesini uyardığı fakat yetişkin farelerde etki etmediğini bulmuşlardır. Çalışmaya göre spinal kord yaralanmalarında retinoik asitin nöronlar üzerinde terapötik olarak kullanılabileceğini öngörmüşlerdir.

De Oliviera ve ark. (89) yaptığı çalışmada sıçanlara 3, 7, 28 gün boyunca 1000 IU, 2500 IU, 4500 IU ve 9000 IU farklı dozlarda oral gavaj şeklinde A vitamini uygulayarak cerebellumdaki etkisini incelemişlerdir. Cerebellum'daki lipid peroksidasyonu 3 gün vitamin A uygulanan grupta artış olamamasına rağmen 7 ve 28 gün 2500 IU, 4500 IU ve 9000 IU vitamin A kullanılan grupta artmıştır. Aynı zamanda cerebellumda SOD/CAT oranında da artış olmuştur ve bu artıştan SOD sorumlu olduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızla SOD artışı paralellik göstermekle birlikte lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeylerimizde düşüş vardır.

Murata ve ark. (90) çalışmasında izole edilen insan DNA'sında vitamin A ve deriveleri uygulanarak DNA hasarına bakılmıştır. Çalışmada antioksidan maddelerin aynı zamanda prooksidan da olabileceği belirtilmiştir. Vitamin A'nın da doz ve ortamdaki oksijen miktarına bağlı olarak prooksidan olabileceği ve DNA hasarı oluşturduğunu göstermişlerdir (91).

Lai ve ark. (92) yaptığı çalışmada gebe sıçanlar vitamin A'dan eksik ve normal beslenerek gruplara ayrıldı. Doğan yavrular alınarak yine vitamin A'dan eksik ve normal olan gruplar aynı şekilde beslenmeye devam edildi. Gebelikte vitamin A eksik beslenen grupta sosyal etkileşiminin bozulduğunu ve tekrarlayan davranışlarda artış olduğunu ve vitamin A takviyesi sonucu bu durumun düzeldiğini gözlemlemişlerdir.

Sonuç olarak gestasyonel vitamin A eksikliğinin otistik benzeri davranışlara neden olduğu fakat erken dönemde vitamin A takviyesinin bu durumu iyileştirebildiğini tesbit etmişlerdir.

Zhang ve ark. (93) tarafından yapılan çalışmada PC12 hücrelerinde oksijen glukoz yoksunluğu oluşturmadan önce retinoik asit uygulaması yapılarak oksijen ve glukozdan mahrum bırakıldı. Farklı dozlarda uygulanan retinoik asit düzeylerinden en düşük dozda etkili olmadığı en yüksek dozda apoptozu artırdığı bulunmuştur. Orta düzeyde uygulanan retinoik asit uygulaması apoptoz oranlarını anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Çalışma sonucunda efektif olduğu görülen uygulamanın beyin hasarı olan hastalarda adjuvan tedavi olarak kullanılması önerilmiştir. Araştırma sonuçları çalışmamızı desteklemektedir.

Dong ve ark.'nın (94) yaptığı çalışmada PC12 hücrelerinde oksijen glukoz yoksunluğu oluşturularak retinoik asit ile tedavi edildi. Retinoik asit antiapoptotik faktör olan Bcl-2 ekspresyonunu artırarak, proapoptotik faktör olan Bax'ı azaltarak etki etmiştir. Sonuç olarak retinoik asitin oksijen ve glukoz yoksun bırakılarak oluşturulan hasarda antiapoptotik ve protektif etkisi olduğunu bulmuşlardır. Çalışmanın sonuçları bizim araştırmamızdaki kan değerlerini ve histolojik sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Kong ve ark. (95) tarafından yapılan çalışmada retinoik asitin iskemi reperfüzyon sonucu kan beyin bariyerindeki etkisine bakmışlardır. Sıçanlarda sağ a. cerebri media oklüzyonu yapılarak tekrar reperfüze edilmiştir. Bazı gruplara iskemiden önce bazı gruplara ise iskemiden sonra retinoik asit verilerek cerebrum incelenmiştir. İskemiden önce retinoik asit verilen grupta iskeminin oluşturduğu enfarkt alanını ve kan beyin bariyer bozulmasını azaltmıştır. İskemiden sonra retinoik asit verilen grupta ise tedavi amaçlı verilen doku plazminojen aktivatörünün oluşturduğu kanamayı azaltarak nörolojik hasarı önemli ölçüde iyileştirebildiğini göstermişlerdir. Bu araştırmanın bulguları çalışmamızı desteklemektedir.

Shinozaki ve ark. (96) yaptığı çalışmada hipokampal nöronlara oksijen glukoz yoksunluğu oluşturularak reperfüze edildi. İşlemin öncesinde ve sonrasında retinoik asit uygulaması yapıldı. Hipokampal nöronlarda işlemde önce verilen retinoik asitin hücre kaybına karşı protektif etkisi olduğunu tesbit etmişlerdir. İşlemden sonra verilen retinoik asitin de iskemiye bağlı hücre ölümüne karşı koruyucu etkisinin devam

ettiğini bulmuşlardır. Çalışmaya göre all-trans-retinoik asitin lipofilik bir molekül olmasından dolayı oral olarak alımda merkezi sinir sisteminde kan beyin bariyerini kolaylıkla geçebileceğini ve inme gibi santral sinir sistemi hastalıklarında kullanılabileceğini önermişlerdir. Araştırma sonucu çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Torbergsen ve ark. (97) tarafından yapılan çalışmada sağlıklı denekler üç gruba ayrılarak lutein, beta karoten ve likopen verilerek takip edildi. Bir haftalık takiten sonra lenfositlerle izole edilerek DNA hasarı yapıldı. DNA'daki oksidatif strese bağlı hasara etkisi beta karotenin ve likopenin tamir etme yönünderken luteinin anlamlı etkisinin olmadığını tesbit etmişlerdir.

Gündoğdu ve ark. (98) insanlar üzerinde yaptığı çalışmada solunum yolu enfeksiyonlarının lipid peroksidasyonu, antioksidan vitamin ve antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkisine bakmışlardır. Sinüzit, tonsillit, farenjit, larenjit, otitis media, soğuk algınlığı, pnömoni ve tamamen sağlıklı olmak üzere farklı yaş gruplarından hastalar değerlendirildi. Malondialdehit düzeylerinde enfeksiyondan dolayı oluşan oksidatif stres hasarı sonucu artış olmuştur. Retinol, beta karoten, C vitamini, E vitamini ve glutatyon düzeylerinde anlamlı azalmalar bulunmuştur. Çalışma sonucuna göre oluşan hasara karşı korumada antioksidan maddelerin verilmesinin hastalıklara karşı mücadelede yararlı olabileceği kanaatine varmışlardır. Çalışma arştırmamızı destekler niteliktedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Serebrovasküler hastalıklar ülkemizde ve dünyada önemli olan mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir. Özellikle iskemik inme sonrası hastaların yaşam kalitesi oldukça düşmektedir. İskemi sonrası oluşan nörolojik hasar birçok fonksiyon kaybına neden olmaktadır. Hastaların inme sonrası tedavisinde uygulanan prosedürler hakkında çalışmalar devam etmektedir ve hayli fazladır.

Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde en önemli rolü oynar. Yapılan çalışmalarda iskemi oluşturulan modellerde sıklıkla iki taraflı a. carotis communis ve a. cerebri media ligasyonu kullanılmaktadır. Çalışmamızda deneysel iskemi modellerinden biri olan tek taraflı a. carotis communis iskemi/reperfüzyon modelini uygulayıp A vitaminin antioksidan sistem ve cerebrum üzerinde tedavi edici etkisinin olup olmadığını araştırdık.

Bu modelin seçiminde; cerrahi işlemin dikkatli ve özenli bir şekilde yapılmasına uygun olmasından, uzun süreli sağ kalımın yüksek oranda olmasından, düşük başarısızlık oranından, istenilen hasarın verilebilmesinden ve erken ölümlerin rastlanmasının düşük olmasından dolayı tercih edilmiştir.

İskemi reperfüzyon hasarı sonucu ortaya çıkan serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında endojen ve eksojen antioksidanlar rol alır. Eksojen antioksidanlar protektif ya da terapötik olarak kullanılmaktadır. A vitamini de yıllardır araştırılan ve antioksidan etkinliği kanıtlanmış bir maddedir. Fakat A vitamininin antioksidan etkinliği doza, uygulanma süresine, dokunun serbest radikal maruziyetine göre değişmektedir. Özellikle terapötik olarak kullanıldığı çalışmalar yeterli değildir.

Çalışmamızda cerebrum iskemi/reperfüzyon hasarı sonrası A vitamini uygulamasından sonra kanda antioksidan parametrelere bakıldı ve cerebrum doku histolojisi incelendi.

Yaptığımız çalışmada İ/R grubundaki sıçanların cerebrum histolojisinde nekrotik hücreler, ekstrasellüler vakuolizasyon ve perivasküler ödem görüldü. A vitamini ile tedavi edilen gruplarda ise doza bağlı olarak korele bir şekilde doku hasarında azalma görülmüştür. Histolojik olarak skorlamada en ciddi hasar İ/R grubundaki sıçanların cerebrumunda ortaya çıktı. Histolojik skorlamada kontrol grubuna en yakın olan 9000 IU/kg vitamin A grubu idi.

Aldığımız kan örneklerinde SOD analizi sonucu olarak; iskemi uygulanan fakat daha sonra madde verilmeyen sham grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak SOD değeri en düşük olarak bulunmuştur. Bu sonuç iskemi sonucu artan serbest radikallere karşı antioksidan sistemin yetersiz kaldığı sonucuna varılmaktadır.

Vitamin A-1000 IU grubunun SOD değerlerinin sham grubuna göre anlamlı artması verilen maddenin yani A vitamininin antioksidan sistem üzerine tedavi yönünde etkili olduğunu göstermiştir. Vitamin A-3000 IU ve Vitamin A-9000 IU verilen sıçanlarda ise SOD düzeyleri anlamlı artarak tedavinin efektif olduğu gözlemlendi.

Aldığımız kan örneklerinde CAT analizi sonucu olarak; iskemi uygulanan fakat daha sonra madde verilmeyen sham grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak CAT değeri en düşük olarak bulunmuştur. Bu sonuç iskemi sonucu artan serbest radikallere karşı antioksidan sistemin yetersiz kaldığı sonucuna varılmaktadır.

Verilen madde olan A vitamininin dozu artınca CAT düzeyi anlamlı bir şekilde artarak kontrol grubuna yaklaşmış ve hatta Vitamin A-9000 IU grubunda kontrol grubunu bir miktar aşmıştır. İstatiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. Buna göre verdiğimiz A vitamini etkili olmuştur.

Çalışmamızda lipit peroksidasyon son ürünü olan MDA düzeyi ölçülerek oksidatif hasarı belirlemeye çalıştık. Aldığımız kan örneklerinde MDA analizi sonucu olarak; iskemi uygulanan fakat daha sonra madde verilmeyen sham grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak MDA değeri yüksek olarak bulunmuştur. Bu sonuç iskemi sonucu artan serbest radikallerin cerebrum hasarı oluşturduğunu göstermektedir.

Vitamin A-1000 IU grubunun MDA değerlerinin sham grubuna göre anlamlı azalması verilen maddenin yani A vitamininin antioksidan sistem üzerine tedavi yönünde etkili olduğunu göstermiştir. Vitamin A-3000 IU ve Vitamin A-9000 IU verilen sıçanlarda ise MDA düzeyleri anlamlı azalarak tedavinin efektif olduğu gözlenmektedir.

Çalışmamızda yedi gün süresince üç farklı dozda uyguladığımız A vitamini hem cerebrum histolojisindeki hasarın azalmasını hem de biyokimyasal belirteçler olan SOD, MDA ve CAT seviyelerini normal düzeye gelmesini sağlayarak cerebral hasar üzerinde terapötik etkisi görülmüştür. Bu çalışmanın sonucu olarak herhangi bir nedenden dolayı oluşan cerebral iskemiden sonra A vitamini terapötik olarak

kullanılabilir. Bundan sonraki çalışmalarda A vitamininin diğer doku ve sistemlere yan etkisinin olup olmadığı incelenmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Yassin, M.M., et al. Lower limb ischemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World journal of surgery*. 2002; 26 (1): 115-121.
2. Alaçam, B., Ratlarda alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarına Karnozinin etkisi, in *Fizyoloji Anabilim Dalı*. 2008, Adnan Menderes Üniversitesi: Aydın.
3. Harukuni, I. and A. Bhardwaj. Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia. *Neurologic clinics*. 2006; 24 (1): 1-21.
4. Şahin, A.D., Y. Üstü, and D. Işık. Serebrovasküler hastalıklarda önlenebilir risk faktörlerinin yönetimi. *Ankara Medical Journal*. 2015; 15 (2): 106-113.
5. Shen, Y., et al., Mesenchymal Stromal Cell Therapy of Stroke, in *Cellular and Molecular Approaches to Regeneration and Repair*. 2018, Springer. p. 217-237.
6. Sun, M.-S., et al. Free radical damage in ischemia-reperfusion injury: an obstacle in acute ischemic stroke after revascularization therapy. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018; 2018: 1-17.
7. Özcan, O., et al. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. 2015; 6 (3): 331-336.
8. Ünal, B., et al., Türkiye kronik hastalıklar ve risk faktörleri sıklığı çalışması, ed. B. Ünal and G. Ergör. 2013, Ankara: Sağlık bakanlığı.
9. Dere, F., *Nöroanatomi: fonksiyonel nöroloji atlası ve ders kitabı c. 3*. 2000: Nobel Tıp Kitabevi.
10. Erzurumlu, R., G. Şengül, and E. Ulupınar, *Nöroanatomi*. 2019, Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri.
11. Arıncı, K., *Anatomi 2. cilt: Dolaşım sistemi, periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi, duyu organları*. 2006: Güneş kitapevi.
12. Netter, F.H. and S. Colacino, *Atlas of human anatomy*. 1989: Ciba-Geigy Corporation.

13. Putz, R. and R. Pabst, Sobotta-Atlas of Human Anatomy: Head, Neck, Upper Limb, Thorax, Abdomen, Pelvis, Lower Limb; Two-volume set. 2006.
14. Kalogeris, T., et al., Cell biology of ischemia/reperfusion injury, in International review of cell and molecular biology. 2012, Elsevier. p. 229-317.
15. Liao, S.-L., et al. Association of immune responses and ischemic brain infarction in rat. Neuroreport. 2001; 12 (9): 1943-1947.
16. Şener, G. and Y. Bç. İskemi reperfüzyon hasarı. Klinik Gelişim Derg. 2009; 22 (3): 5-14.
17. Zimmerman, B.J. and D.N. Granger. Mechanisms of reperfusion injury. The American journal of the medical sciences. 1994; 307 (4): 284-292.
18. Çanakçı, E., Deksmetomidin ve Tiyopental'in Ratlarda Fokal Serebral İskemide Serebral Koruyucu Etkilerinin Histopatolojik Olarak Karşılaştırılması, in Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı. 2009, Atatürk Üniversitesi: Erzurum.
19. Şahan, M., et al. İskemik İnme ve Akut Faz Reaktanları. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 2010; 19 (2): 85-140.
20. Cao, W., et al. Oxygen free radical involvement in ischemia and reperfusion injury to brain. Neuroscience letters. 1988; 88 (2): 233-238.
21. Small, D.L. and A.M. Buchan. Animal models. British medical bulletin. 2000; 56 (2): 307-317.
22. Kuroiwa, T., P. Bonnekoh, and K.-A. Hossmann. Prevention of postischemic hyperthermia prevents ischemic injury of CA1 neurons in gerbils. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 1990; 10 (4): 550-556.
23. Pulsinelli, W. and A. Buchan. The four-vessel occlusion rat model: method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation. Stroke. 1988; 19 (7): 913-914.
24. Gupta, Y. and S. Briyal. Animal models of cerebral ischemia for evaluation of drugs. Indian J Physiol Pharmacol. 2004; 48 (4): 379-394.



25. Akkuş, İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya. Vol. 1. 1996. 1-157.
26. Cheeseman, K. and T. Slater. An introduction to free radical biochemistry. British medical bulletin. 1993; 49 (3): 481-493.
27. Dincer, C. and A. Kayserilioglu. Egzersizde oluşan lipid peroksidasyonu ve e vitamininin koruyucu etkisi. Spor ve Tıp. 1995; 7: 20-23.
28. Kilinc, K. and A. Kilinc. Oksijenin Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi. 2002; 33: 100-118.
29. Yu, B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiological reviews. 1994; 74 (1): 139-162.
30. Bast, A., G.R. Haenen, and C.J. Doelman. Oxidants and antioxidants: state of the art. The American journal of medicine. 1991; 91 (3): S2-S13.
31. Freeman, B.A. and J.D. Crapo. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 1982; 47 (5): 412.
32. Thomas, M.J. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? Critical Reviews in Food Science & Nutrition. 1995; 35 (1-2): 21-39.
33. Halliwell, B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. The American journal of medicine. 1991; 91 (3): S14-S22.
34. Sies, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. The American journal of medicine. 1991; 91 (3): S31-S38.
35. Sies, H., W. Stahl, and A.R. Sundquist. Antioxidant functions of vitamins: Vitamins E and C, Beta-Carotene, and other carotenoids a. Annals of the New York Academy of Sciences. 1992; 669 (1): 7-20.
36. SK, K.K.J. Oxidative stress and apoptosis. Pathophysiology. 2000; 7: 153-163.

37. Aslan, r., m.r. Şekeroğlu, and f. Bayiroğlu. Serbest radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücresele antioksidan savunma. Van Sağlık Bilimleri Dergisi. 1995; 1 (2): 137-142.
38. Matés, J.M., C. Pérez-Gómez, and I.N. De Castro. Antioxidant enzymes and human diseases. Clinical biochemistry. 1999; 32 (8): 595-603.
39. Gutteridge, J. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clinical chemistry. 1995; 41 (12): 1819-1828.
40. Hosseini, F., et al. Effect of beta carotene on lipid peroxidation and antioxidant status following renal ischemia/reperfusion injury in rat. Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. 2010; 70 (4): 259-263.
41. Nagel, E., et al. Antioxidative vitamins in prevention of ischemia/reperfusion injury. International journal for vitamin and nutrition research. Internationale Zeitschrift für Vitamin-und Ernährungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition. 1997; 67 (5): 298.
42. Gammone, M.A., G. Riccioni, and N. D'Orazio. Marine carotenoids against oxidative stress: effects on human health. Marine Drugs. 2015; 13 (10): 6226-6246.
43. Olson, J.A. Benefits and liabilities of vitamin A and carotenoids. The Journal of nutrition. 1996; 126 (suppl\_4): 1208S-1212S.
44. Packer, L. Antioxidant Action of Carotenoids in Vitro and in Vivo and Protection against Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins a, b. Annals of the New York Academy of Sciences. 1993; 691 (1): 48-60.
45. McLaren, D., et al., Vitamin A in nature, in Manual on Vitamin A Deficiency Disorders (VADD). 2012, Karger Publishers. p. 7-17.
46. Parker, R.S. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. The FASEB Journal. 1996; 10 (5): 542-551.
47. Olson, J.A. Vitamin A. Handbook of vitamins. 2001; 3: 1-50.
48. Gökpınar, Ş., et al. Algal Antioksidanlar. Su Ürünleri Dergisi. 2006; 23 (1): 85-89.

49. Mazlum, B. Antioksidan vitaminler ve psikiyatride kullanımı. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar. 2012; 4 (4): 486-505.
50. Memişoğulları, R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi. 2005; 7 (3): 30-39.
51. Bingöl, G., Vitaminler ve enzimler. 1977, Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi.
52. Palace, V.P., et al. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. Free Radical Biology and Medicine. 1999; 26 (5-6): 746-761.
53. Lucek, R. and W. Colburn. Clinical pharmacokinetics of the retinoids. Clinical pharmacokinetics. 1985; 10 (1): 38-62.
54. Mayne, S.T. Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. The FASEB Journal. 1996; 10 (7): 690-701.
55. Olson, C.R. and C.V. Mello. Significance of vitamin A to brain function, behavior and learning. Molecular nutrition & food research. 2010; 54 (4): 489-495.
56. Maden, M. Retinoic acid in the development, regeneration and maintenance of the nervous system. Nature Reviews Neuroscience. 2007; 8 (10): 755-765.
57. Wong, L.-F., et al. Retinoic acid receptor  $\beta$ 2 promotes functional regeneration of sensory axons in the spinal cord. Nature neuroscience. 2006; 9 (2): 243-250.
58. Zhelyaznik, N. and J. Mey. Regulation of retinoic acid receptors  $\alpha$ ,  $\beta$  and retinoid X receptor  $\alpha$  after sciatic nerve injury. Neuroscience. 2006; 141 (4): 1761-1774.
59. Zhelyaznik, N., et al. Activation of retinoic acid signalling after sciatic nerve injury: up-regulation of cellular retinoid binding proteins. European Journal of Neuroscience. 2003; 18 (5): 1033-1040.

60. Obulesu, M., M.R. Dowlathabad, and P. Bramhachari. Carotenoids and Alzheimer's disease: an insight into therapeutic role of retinoids in animal models. *Neurochemistry international*. 2011; 59 (5): 535-541.
61. Tanumihardjo, S.A., et al. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—vitamin A review. *The Journal of nutrition*. 2016; 146 (9): 1816S-1848S.
62. Foote, C.S. and R.W. Denny. Chemistry of singlet oxygen. VII. Quenching by beta.-carotene. *Journal of the American Chemical Society*. 1968; 90 (22): 6233-6235.
63. Monaghan, B.R. and F.O. Schmitt. The effects of carotene and of vitamin A on the oxidation of linoleic acid. *Journal of Biological Chemistry*. 1932; 96: 387-395.
64. de Oliveira, M.R., et al. Therapeutic vitamin A doses increase the levels of markers of oxidative insult in substantia nigra and decrease locomotory and exploratory activity in rats after acute and chronic supplementation. *Neurochemical Research*. 2008; 33 (3): 378-383.
65. Pasquali, M.A., et al. Vitamin A supplementation induces oxidative stress and decreases the immunocontent of catalase and superoxide dismutase in rat lungs. *Experimental lung research*. 2009; 35 (5): 427-438.
66. Draper, H., L. McGirr, and M. Hadley. The metabolism of malondialdehyde. *Lipids*. 1986; 21 (4): 305.
67. Draper, H. and M. Hadley, Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation, in *Methods in enzymology*. 1990, Elsevier. p. 421-431.
68. Ikeda, K., H. Negishi, and Y. Yamori. Antioxidant nutrients and hypoxia/ischemia brain injury in rodents. *Toxicology*. 2003; 189 (1-2): 55-61.
69. Das, D.K. and N. Maulik, Antioxidant effectiveness in ischemia-reperfusion tissue injury, in *Methods in enzymology*. 1994, Elsevier. p. 601-610.

70. Korthuis, R.J. and D.N. Granger. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clinical cardiology*. 1993; 16 (S1): 19-26.
71. White, B.C., et al. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *Journal of the neurological sciences*. 2000; 179 (1-2): 1-33.
72. Khodanovich, M.Y. and A. Kisel. Animal models of cerebral ischemia. in *AIP Conference Proceedings*. 2015. AIP Publishing LLC.
73. Petito, C. and W. Pulsinelli. Delayed neuronal recovery and neuronal death in rat hippocampus following severe cerebral ischemia: possible relationship to abnormalities in neuronal processes. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1984; 4 (2): 194-205.
74. Selakovic, V., A. Korenic, and L. Radenovic. Spatial and temporal patterns of oxidative stress in the brain of gerbils submitted to different duration of global cerebral ischemia. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2011; 29 (6): 645-654.
75. Chang, C.-Y., et al. Plasma levels of lipophilic antioxidant vitamins in acute ischemic stroke patients: correlation to inflammation markers and neurological deficits. *Nutrition*. 2005; 21 (10): 987-993.
76. Polidori, M.C., et al. Plasma carotenoid and malondialdehyde levels in ischemic stroke patients: relationship to early outcome. *Free radical research*. 2002; 36 (3): 265-268.
77. Misner, D., et al. Vitamin A deprivation results in reversible loss of hippocampal long-term synaptic plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001; 98 (20): 11714-11719.
78. Tao, L., et al. Retinol palmitate protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via reducing oxidative stress and inhibiting apoptosis. *American journal of translational research*. 2019; 11 (3): 1510.
79. Toktay, E., Beta karotenin siçan overinde oluşturulan İskemi reperfüzyon hasarındaki etkisinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırılması. 2015, Atatürk Üniversitesi: Erzurum. p. 1-95.

80. Leppälä, J.M., et al. Controlled trial of  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene supplements on stroke incidence and mortality in male smokers. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2000; 20 (1): 230-235.
81. Keli, S.O., et al. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke: the Zutphen study. *Archives of Internal medicine*. 1996; 156 (6): 637-642.
82. Jiang, W., et al. Vitamin A bio-modulates apoptosis via the mitochondrial pathway after hypoxic-ischemic brain damage. *Molecular brain*. 2018; 11 (1): 1-16.
83. Zhao, M., et al. Vitamin A regulates neural stem cell proliferation in rats after hypoxic-ischemic brain damage via RAR $\alpha$ -mediated modulation of the  $\beta$ -catenin pathway. *Neuroscience Letters*. 2020; 727: 134922.
84. Rigobello, M.P., et al. Mitochondrial permeability transition and release of cytochrome c induced by retinoic acids. *Biochemical pharmacology*. 1999; 58 (4): 665-670.
85. Daviglius, M.L., et al. Dietary vitamin C, beta-carotene and 30-year risk of stroke: results from the Western Electric Study. *Neuroepidemiology*. 1997; 16 (2): 69-77.
86. Dal-Pizzol, F., et al. Retinol supplementation induces oxidative stress and modulates antioxidant enzyme activities in rat Sertoli cells. *Free radical research*. 2001; 34 (4): 395-404.
87. Zhang, X., et al. The change in retinoic acid receptor signaling induced by prenatal marginal vitamin A deficiency and its effects on learning and memory. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2017; 47: 75-85.
88. Corcoran, J., et al. Retinoic acid receptor  $\beta$ 2 and neurite outgrowth in the adult mouse spinal cord in vitro. *Journal of Cell Science*. 2002; 115 (19): 3779-3786.
89. De Oliveira, M.R. and J.C.F. Moreira. Impaired redox state and respiratory chain enzyme activities in the cerebellum of vitamin A-treated rats. *Toxicology*. 2008; 253 (1-3): 125-130.

90. Murata, M. and S. Kawanishi. Oxidative DNA damage by vitamin A and its derivative via superoxide generation. *Journal of Biological Chemistry*. 2000; 275 (3): 2003-2008.
91. Burton, G.W. and K. Ingold. Beta-carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science*. 1984; 224 (4649): 569-573.
92. Lai, X., et al. Vitamin A Deficiency Induces Autistic-Like Behaviors in Rats by Regulating the RAR $\beta$ -CD38-Oxytocin Axis in the Hypothalamus. *Molecular nutrition & food research*. 2018; 62 (5): 1700754.
93. Zhang, X., et al. All-trans retinoic acid suppresses apoptosis in PC12 cells injured by oxygen and glucose deprivation via the retinoic acid receptor  $\alpha$  signaling pathway. *Molecular medicine reports*. 2014; 10 (5): 2549-2555.
94. Dong, W. and Y. Zhang. Retinoic acid receptor  $\alpha$  expression exerts an anti-apoptosis effect on PC12 cells following oxygen-glucose deprivation. *Experimental and therapeutic medicine*. 2018; 16 (4): 3525-3533.
95. Kong, L., et al. Retinoic acid ameliorates blood-brain barrier disruption following ischemic stroke in rats. *Pharmacological Research*. 2015; 99: 125-136.
96. Shinozaki, Y., et al. Retinoic acids acting through retinoid receptors protect hippocampal neurons from oxygen-glucose deprivation-mediated cell death by inhibition of c-jun-N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *Neuroscience*. 2007; 147 (1): 153-163.
97. Torbergsen, A.C. and A.R. Collins. Recovery of human lymphocytes from oxidative DNA damage; the apparent enhancement of DNA repair by carotenoids is probably simply an antioxidant effect. *European Journal of Nutrition*. 2000; 39 (2): 80-85.
98. Gündoğdu, S. and A. Ertekin. İnsanlarda üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarının lipit peroksidasyonu, antioksidan vitaminler ve antioksidan savunma sistemleri üzerine etkilerinin araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2006; 17 (1): 19-25.

