

# Akut iskemik inmede yeni bir biyobelirteç olan serum NR2 düzeyinin inmenin şiddeti ve prognozu ile ilişkisi

Ersin Kasım Ulusoy<sup>1</sup>, Erdem Gürkaş<sup>2</sup>, Cevdet Zungun<sup>3</sup>, Mehmet İlker Yön<sup>2</sup>, Sevilay Sezer<sup>3</sup>, Fikri Ak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Develi Hatice Muammer Kocatürk Devlet Hastanesi Nöroloji Kliniği, Kayseri  
<sup>2</sup>Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji<sup>2</sup> ve Biyokimya<sup>3</sup> Klinikleri, Ankara

**Giriş:** Akut iskemik inme tanısı için klinik deneyim ve görüntüleme bulgularını destekleyecek kan testine ihtiyaç vardır. Bu çalışmada serum NR2 antikor düzeyinin akut iskemik inme tanısındaki değerinin ortaya konması amaçlandı. **Gereç ve yöntem:** Çalışmaya prospektif olarak, çalışmaya alınma kriterlerini dolduran 64 iskemik inmeli hasta ile 68 sağlıklı gönüllü dahil edildi. İskemik inmenin akut döneminde serum NR2 antikor düzeyi ELİSA yöntemi ile ölçüldü. İnmenin şiddeti ve prognozu, giriş NIH İnme Skalası, 3. Ay modifiye Rankin Skalası ve Barthel indexi skorları ile, enfarkt hacmi AXBXC/2 hesaplamasıyla belirlendi. Sonuçlar Kolmogorov Smirnov, Tukey HSD, Wilcoxon ve Mann-Whitney U Testi kullanılarak NR2 düzeyi ile kıyaslandı. **Bulgular:** Ortalama serum NR2 antikor düzeyi iskemik inme grubunda  $2.64 \pm 1.43$  iken, kontrol grubunda  $2.28 \pm 1.13$  idi. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. S100B değerlerinin yaş, cinsiyet, koroner arter hastalığı, diyabetes mellitus, hiperlipidemi, hipertansiyon, periferik damar hastalığı, sigara içiminden etkilenmediği görülmüştür. **Sonuç:** Bu çalışma sonuçları NR2 antikor düzeyinin akut iskemik inmeli hastalardaki serum düzeylerinin normal kontrollere göre farklı olmadığını gösterdi. Bu verilere göre iskemik inmede NR2 antikor düzeyinin etkili bir rol olmadığını düşünüyoruz.

**Anahtar sözcükler:** İskemik inme, biyobelirteç, serum NR2 antikor düzeyi

## The relationship between serum levels of a novel biomarker NR2 antibody and acute ischemic stroke prognosis and severity

**Objectives:** A blood test supporting the clinical and radiological findings used for the diagnosis of acute ischemic stroke (AIS) is needed. The aim was to demonstrate the value of serum NR2 antibody levels for the differential diagnosis of AIS. **Material and method:** Sixtyfour ischemic stroke patients and 68 healthy volunteers who fulfilled the study criteria are included to our study prospectively. Serum NR2 antibody levels calculated by ELISA method at period of the acute ischemic stroke. Severity and prognosis of stroke are determined by on admission NIHSS score, third month MRS and Barthel index scores, infarction volume with AXBXC/2 calculation. Results are compared with NR2 antibody levels by using Kolmogorov Smirnov, Tukey HSD, Wilcoxon and Mann-Whitney U tests. **Results:** Average serum NR2 antibody levels are  $2.64 \pm 1.43$  and  $2.28 \pm 1.13$  in ischemic stroke and control groups respectively. The difference between two groups is found statistically insignificant. It is understood that S100B levels are not affected by age, gender, coronary artery diseases, diabetes mellitus, hyperlipidemia, hypertension, peripheral artery disease or smoking. **Conclusion:** These results suggest that serum NR2 antibody levels in the patients with acute ischemic stroke do not show a statistically significant difference when compared to healthy controls. We conclude that serum NR2 antibody levels have no important effect on the ischemic stroke.

**Keywords:** Ischemic stroke, biomarkers, serum NR2 antibody levels

### Yazışma Adresi:

Ersin Kasım Ulusoy  
Develi Hatice Muammer Kocatürk Devlet Hastanesi Nöroloji Kliniği,  
Kayseri

E-posta: ersinkasim\_ulusoy@hotmail.com

## Giriş

Akut inme tedavisindeki gelişmelere rağmen, inme nedenli ölümler halen birçok ülkede 3. sırada yer almaktadır (1). İnmeye bağlı sakatlıklar ise tüm hastalıklar arasında ilk sırada yer alıp büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır (2). Bu durumda epidemiyolojik çalışmalarla iskemik inmeye neden olabilecek risk faktörlerinin saptanması tedavi edici ve koruyucu hekimlik açısından büyük önem taşımaktadır (3).

Günümüzde inme tanısı, hastanın fizik muayenesini gerçekleştiren doktorun deneyimine ve radyolojik görüntüleme yöntemlerine dayandırılmaktadır (4). Akut inmenin akıbeti kesinlikle zaman odaklıdır ve hasta için erken evrede başlatılacak reperfüzyon tedavisi önem taşımaktadır (5). Deneyimli nörologların bulunduğu hastanelerde bile klinik değerlendirme ile doğru tanı koyma oranının %38-90 arasında değiştiği bildirilmektedir (4). Bu ön değerlendirmeye eklenen görüntüleme yöntemleri, özellikle bilgisayarlı tomografinin (BT) kullanımı, bu oranı arttırmaktadır. Ancak görüntüleme yöntemlerinin bütün hastanelerde bulunmaması, erken dönem iskemik inmelerde BT'nin duyarlılığının ve özgüllüğünün düşük olması veya minor inmelerde bulgu vermemesi hastaların erken tanı ve tedavisinde gecikmelere neden olmaktadır (6). Akut iskemik inme tanısı için klinik deneyim ve görüntüleme cihazlarını destekleyecek, beyin dokusu hasarı hakkında bilgi verebilecek, hızlı, basit, düşük maliyetli hasta yanında kullanılabilir teknolojiye sahip bir kan testinin son derece faydalı olacağı düşünülmektedir. Kanda erken dönemde saptanabilecek özgül bir biyobelirteç küçük merkezlerde de uygulanabilmesi, acil durumlarda nörolog veya radyolog konsültasyonuna gereksinimi azaltması, doğru tanı ve riskli hastaların tedavi seçimlerini belirlenmesinde daha güvenli bir yol izlenmesine olanak sağlayacaktır (4,7).

Bu amaçla günümüzde iskemik inme tanısı ve prognozunu belirlemede birçok biyobelirteç tanımlanmıştır. Glial aktivasyonu, nöronları ve endotelial hücre hasarını gösteren bu biyobelirteçler arasında; fosfolipaz A2, asimetrik dimetil arginin, glial fibriler asidik protein, nükleozit difosfat kinaz A, S-100B, myelin basic protein (MBP), nöron spesifik enolaz (NSE), C reaktif protein (CRP), matrix metallo proteinaz 9 (MMP), interlökin-6 (ILK-6), ICAM-1, von Willebrand faktör (vWF), P-selectin ve glutamat reseptörleri yer alır (8).

N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri iyonotropik bir glutamat reseptörü alt tipidir. NMDA reseptörleri beyin tümünde yaygın olarak bulunmaktadır (9). NMDA reseptörlerinin şu ana kadar tanımlanan yedi tane subuniti vardır. Bunlar; NR1, NR2A-B-C-D ve NR3 A-B'dir (10).

İskeminin erken evresinde trombin aktive serin proteazları aktive olur ve NMDA reseptörden NR2 parçalanır ve ölçülebilir değerde kan beyin bariyerinden (KBB) kana salınır (11). Bundan dolayı iskemik inme sonrası görülen oksidatif stresle NR2'nin NR2A ve NR2B peptidlerine fragmantasyonunun serebral iskemi veya nörotoksite ile birlikte olduğuna inanılır. NMDA reseptör antikorumlarının üretimi iskemik olay sonrası immün sistem ile olmaktadır ve hem bu otoantikormlar hem de NR2 peptidlerinin fragmanları beyin omurilik sıvısı (BOS) ve kanda ölçülebilir değerlere ulaşmaktadır (12).

## Gereç ve yöntem

### Çalışma popülasyonu

Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu onayından sonra, acil servise ilk 24 saat içinde başvuran hastalar içinden ilk yapılan fizik muayene ve anamnez sorgulamasında akut iskemik inme ön tanısı alan 64 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilmeden önce tüm hastalara çalışma hakkında bilgi verilerek onam formu alındı. Ayrıca çalışmamızın bütçesi etik kurul tarafından karşılandı. Tüm hastaların demografik verileri kayıt edildi. İnme şiddeti NIH İnme Skalası (NIHSS) ile belirlendi. Fonksiyonel sonuçlar modifiye Rankin Skalası (mRS), Barthel İndeksi kullanılarak yapıldı. Hastaların rutin laboratuvar testleri hastane yatışları sırasında yapıldı. Karotis ve vertebral arter renkli doppler USG ile 12 derivasyonlu EKG rutin olarak uygulandı. Hastalara inme protokolüne göre başvuru anında beyin BT'si çekildi. İskemik lezyonların hacimleri intraserebral hematoma değerlendirilmesinde kullanılan yöntemle (AXBXC/2) hesaplandı.

Kontrol grubu için; yaş, cins ve diğer risk faktörleri açısından hasta grubu ile uyumlu olan, bilinen nörolojik ve sistemik hastalık öyküsü olmayan ve kendilerine verilen bilgilendirilmiş onam formunu imzalayan 68 sağlıklı gönüllü dahil edildi.

### Araştırma kapsamında hasta dışlama kriterleri

- Travmaya sekonder ortaya çıkan beyin damar hasarı (travmatik beyin hasarı)
- İlk çekilen BT'sinde serebral hematoma ve subaraknoid kanama tespit edilen hastalar,
- Enflamatuvar ya da enfeksiyöz hastalık, malignite, ciddi renal ve hepatik yetmezlikli hastalar,
- Son 1 yıl içerisinde miyokard enfarktüsü ve majör cerrahi geçiren hastalar,
- İmmünyüpresyon veya son 6 ayda antienflamatuvar ilaçlarla tedavi alanlar, derin ven trombozu, psikiyatrik bozukluklar, malnutrisyon, intoksikasyon hikayesi olanlar,
- 24 saatten geç hastaneye ulaşanlar,
- Acile başvurduğu sırada herhangi bir nedenle antikoagulan tedavi alan hastalar,
- Takiplerinde kliniği 24 saatte düzelen TIA'lı hastalar.

### Serum NR2 antikor düzeyi

Kan örnekleri; venöz yoldan 5 mililitrelik antikoagulanlı tüplere alındı. Yaklaşık 30 dakika içinde biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı ve standart toplama tüplerinde

4000 RPM hızında 10 dakika santrifüj edildi. Örnekler daha sonra 1 ml epandorf tüpleri içerisinde  $-80^{\circ}\text{C}$  derecede donduruldu. Numune toplama süreci tamamlandıktan sonra serum NR2 antikor düzeylerinin belirlenmesinde "Gold Dot NR2 antibody Test Kiti" kullanılarak yarışmalı ELİSA yöntemi ile çalışıldı.

### İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS for Windows Version 15.0 paket programında yapıldı. Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma ve median [minimum- maksimum] ile, kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile özetlendi. Sayısal değişkenlerin normalliği Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. İki grup karşılaştırmaları parametrik test koşullarının sağlanması durumunda tek yönlü varyans analizi ile incelendi. Farklılık bulunması durumunda ikili karşılaştırmalar Tukey HSD testi ile yapıldı. Parametrik test koşullarının sağlanmaması durumunda ikiden fazla grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi kullanıldı. İkili karşılaştırmalarda ise Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. İki grup karşılaştırmalarında parametrik test koşullarının sağlanması durumunda bağımsız gruplarda t testi, sağlanmaması durumunda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. NIHSS ve MRS'nin grup içi değişimleri Wilcoxon testi ile incelendi. Grupların kategorik değişkenler bakımından farklılığı ki kare testi ile yapıldı. Sayısal değişkenler arası ilişkiler Spearman korelasyon katsayısı ile değerlendirildi. Anlamlılık düzeyi  $p<0.05$  olarak alındı.

### Bulgular

Çalışmaya iskemik inmeli 64 hasta ve 68 sağlıklı gönüllü dahil edildi. İskemik inme grubundaki hastaların %53.1'i (34 hasta) kadın, %46.9'u (30 hasta) erkekti. Kontrol grubunda ise %58.8'i (40 hasta) kadın iken, %41.2'si (28 hasta) erkekti. İskemik inmeli hastaların yaş ortalaması  $70.1\pm 12.7$  olarak hesaplandı. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise  $65.4\pm 12.5$  idi. İskemik inmeli hastaların %7.81'i (5 hasta) takiplerinde yaşamını yitirdi.

İskemik inme grubunda ortalama NR2 antikor düzeyi  $2.64\pm 1.43$  iken, kontrol grubunun ortalama NR2 antikor düzeyi  $2.28\pm 1.13$  idi. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.005$ ) (Tablo 1).

Hastalardan kan alınış süresi ortalaması  $8.7\pm 5.1$  saat idi. İlk 0-5 saatte alınan örneklerin NR2 antikor düzeyi ile 5.5 saat ve üzeri alınan örneklerin NR2 antikor düzeyleri karşılaştırıldığında; 5.5 saat ve üzerindeki grupta NR2 antikor düzeyi yüksek olarak bulundu ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.548$ ).

İskemik inme grubundaki 55 hasta ilk atak ile başvururken, dokuz hasta iki veya daha fazla atak ile başvurdu. Bu grupların atak sıklığı ve NR2 antikor düzeyleri (sırası ile  $2.69\pm 1.51$ ,  $2.34\pm 0.79$ ) arasında yapılan istatistiksel değer-

lendirmede anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p=0.390$ ).

İskemik inmeli grupta 49 hastada (%76.6) hipertansiyon (HT), 27 hastada (%42.2) diyabetes mellitus (DM), 29 hastada (%45.3) hiperlipidemi (HL), 27 hastada (%42.2) koroner arter hastalığı (KAH), 1 hastada (%1.6) periferik arter hastalığı (PAH) mevcuttu. Kontrol grubunda ise sistemik hastalık dağılımı; 33 hasta (%48.5) HT, 19 hasta (%27.9) DM, 5 hasta (%7.4) HL, 9 hasta (%13.2) KAH, 2 hasta (%2.9) PAH şeklinde idi.

İskemik inme grubundaki hastaların komorbid hastalıkları (HT, DM, HL, KAH) ile NR2 antikor düzeyleri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. HT'si olan 49 hastanın ortalama NR2 antikor düzeyi  $2.58\pm 1.49$  mg/ml, HT'si olmayan 15 hastanın ise  $2.85\pm 1.23$  olarak bulundu. HT'si olmayan hastaların NR2 antikor düzeyi olanlara göre daha yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 1).

İskemik inme tanılı 64 hasta giriş NIHSS skoruna göre 0-6, 7-15 ve 16 ve üzeri olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Giriş NIHSS alt grupları ile NR2 antikor değeri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Hastalar 3. ay mRS 0-2, 3-5 ve 6 olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Yapılan istatistiksel analiz sonucu mRS alt grupları ile NR2 antikor düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Hastalardan 3. ay Barthel Indexi 0-90 ve 95-100 olmak üzere oluşturulan 2 alt grup ile NR2 antikor düzeyi arasında da anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo 2).

İskemik inme grubundaki hastaların CRP, NR2 antikor düzeyi ve giriş NIHSS birbiri ile olan ilişkisi kıyaslandığında CRP-NR2 antikor düzeyi arasında ve giriş NIHSS-NR2 antikor düzeyi arasında anlamlı bir ilişki saptanmazken; giriş NIHSS arttıkça CRP'nin de anlamlı olarak arttığı saptandı (sırası ile ( $p=0.301$ ); ( $p=0.530$ ); ( $p=0.003$ )).

İskemik inme grubundaki Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) sınıflamasına göre 49 nonlaküner hastasının ortalama NR2 antikor düzeyi ( $2.64\pm 1.15$ ), 15 laküner enfarktlı hastanın ortalama NR2 antikor düzeyi ( $2.48\pm 0.67$ ) ile karşılaştırıldığında nonlaküner gruptaki değerler daha yüksek olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.877$ ).

İskemik inme grubundaki hastaların TOAST sınıflaması alt gruplarına göre 33 geniş arter ( $2.62\pm 1.53$ ), 13 kardiyomiyozom ( $3.19\pm 1.78$ ), 15 küçük damar ( $2.45\pm 0.66$ ) ve 3 sebebi belirlenemeyen ( $1.45\pm 0.94$ ) hastanın ortalama NR2 antikor düzeyleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p=0.236$ ).

İskemik inme grubunda TOAST sınıflamasına göre nonlaküner grupta yer alan 49 hastaların enfarkt hacmi ile NR2 antikor düzeyleri kıyaslandığında aralarında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 1:** İskemik inme grubunda NR2 antikor düzeyleri ile eşlik eden komorbid hastalıklar arasındaki ilişki

Komorbid Hastalıklar		Ort.±SS	Median [Min-Maks]	P
HT	Yok (n=15)	2.85±1.23	2.77 [1.30 – 5.85]	0.254
	Var (n=49)	2.58±1.49	2.25 [0.39 – 9.82]	
DM	Yok (n=37)	2.73±1.38	2.46 [1.43 – 9.82]	0.106
	Var (n=27)	2.53±1.52	1.93 [0.39 – 7.18]	
HL	Yok (n=35)	2.65±1.56	2.32 [1.24 – 9.82]	0.856
	Var (n=29)	2.63±1.29	2.24 [0.39 – 7.18]	
KAH	Yok (n=37)	2.48±1.10	2.24 [1.24 – 7.18]	0.399
		2.86±1.79	2.53 [0.39 – 9.82]	

**Tablo 2:** İskemik inme grubunda NR2 antikor düzeylerinin inme şiddeti ve fonksiyonel bağımsızlık ile ilişkisi

		Ort.±SS	Median [Min-Maks]	P
Giriş NIHH	0-6 (n=17)	2.27±0.55	2.25 [1.35 – 3.78]	0.721
	7-15 (n=43)	2.72±1.54	2.48 [0.39 – 9.82]	
	16 ve üzeri (n=4)	3.41±2.52	2.17 [2.09 – 7.18]	
3.ay MRS	0-2 (n=38)	2.56±1.43	2.28 [1.30 – 9.82]	0.373
	3-5 (n=20)	2.77±1.23	2.51 [0.39 – 5.85]	
	6 (n=6)	2.73±2.21	2.00 [1.24 – 7.18]	

## Tartışma

Yaptığımız bu çalışmada nörogörüntülemenin yetersiz olduğu akut inmeli olgularda tedavinin erken dönemde başlayabilmesi ve böylelikle morbidite ve mortalitenin azaltılması için inmede hızlı ve doğru tanı koydurabilecek biyobelirteçlerin etkinliğini araştırdık.

Günümüzde iskemik inme şüphesi olanlarda erken tanı sonrası ilk 4.5 saatte doku plazminojen aktivatoru (tPA) uygulamasının hastaların mortalitesinin azaltılmasına ve yaşam kalitesinin artırılmasına olumlu katkıları olduğu gösterilmiştir (13). Son dönemlerde iskemik inmeye ikincil ortaya çıkan doku hasarının şiddet ve prognozunu belirleme konusunda yardımcı olacak pek çok prognostik biyobelirteç ile ilgili çalışma vardır (8). Ancak inme sonrası KBB'yi geçen glial veya nöronal proteinlerin yavaş salınması biyobelirteç keşfini zorlaştırmaktadır. Ayrıca, serebral iske mi belirteçlerinin tanısal özgüllüğü düşüktür ve inmeyi taklit eden durumlarda da artmaktadır. İdeal inme biyobelirteçleri tanısal olarak enfarkta hassas ve özgün olmalı, iske mi ve hemoraji arasında ayırımı yapabilmelidir. Enfarktın erken döneminde salınmalı, risk değerlendirme potansiyeli olmalı, terapilere kılavuzluk etmeli ve uygun maliyetli metotlar tarafından kantitatif olarak ve hızlıca ölçülebilmelidir (8). Bu amaçla birçok biyobelirtece bakılmış olmasına rağmen bunların hiçbirinin tek başına tanı

koyduruculuğu yönünden belirleyici olmadığı görülmüştür (14).

İskeminin ve kan akımının beyin için eşik değerin altına düştüğü bölgelerde Na-K ATP Az pompa aktivitesi bozulur ve ATP hızla tükenir. ATP miktarının azalmasına bağlı olarak bir eksitator aminoasit olan glutamatın geri alımı bozulur (15). Glutamat, AMPA, kainat ve NMDA tipi glutamat reseptörleri üzerinden etki eder ve aşırı uyarılması sonucu Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> ve Ca<sup>2+</sup> iyonlarının geçişini artırır. Ca<sup>2+</sup> hücre içine geçişinin büyük bir kısmını NMDA reseptörleri üzerinden yapmaktadır (16). Ca<sup>2+</sup> düzeyindeki artışlar, lipazları, proteazları, endonükleazları aktif hale getirir ve serbest radikal oluşumunu artırarak nöronal ölümü tetikler. NMDA reseptörleri NR1 ve NR3 subünitleri; glisin veya D-serin bağlarken, glutamat veya diğer eksitator aminoasitleri bağlamaz. Sadece NR2 subünitinin eksitator aminoasitler için bağlanma bölgesi vardır. Bu nedenle fonksiyonel NMDA reseptörü en az bir NR2 subüniti içermelidir (17). Bu nedenle eksitotoksite ile tetiklenmiş iske miyi göstermede NR2 reseptörlerinin varlığı diğer NMDA reseptörlerinden daha önemlidir.

NMDA reseptör antikorları 1980 sonlarından itibaren inmeli hastaların serumlarında saptanmaya başlanmış olsa da yakın zamanda önemi artan şekilde anlaşılmaya başlanmış ve tahmin değeri yüksek olan bir biyobelirteç olarak ortaya konulmuştur. Bu antikorların inme sonrasında erken dönemde hastaların serumlarında yükselmeye başladığı ve aylarca süren bir periyotta devam ettiği görülmüştür (18). Betzen ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada iskemik inme sonrası oksitativ stresin artması sonucu serebral damarlarda NMDA reseptör sayısının arttığını ve de KBB'nin bozulması sonucunda NMDA reseptörlerinin birbirleri ile iletişime geçtiğini göstermişlerdir (19). İskeminin erken evresinde trombin aktive serin proteazları aktive olur ve NMDA reseptörleri NR2'ye parçalanır ve ölçülebilir değerde KBB'den kana salınır (20). Bundan dolayı iskemik inme sonrası oksitativ stresle NR2'nin NR2A ve NR2B peptidlerine fragmentasyonu serebral iske mi veya nörotoksitesiyi işaret etmektedir. NMDA reseptörleri glutamat nörotransmitterine bağlanır ve beyindeki tüm nöronal hücreler üzerinde heterojen olduğu gösterilmiştir (19).

Dambinova ve ark. 105 iskemik inme ve TİA hastası ve 255 kontrol birey ile yaptıkları çalışmada NR2 antikor seviyesinin kontrol grubuna göre iskemik inme ve geçici iskemik atak (GİA) hastalarında önemli derecede arttığını saptamış ama antikor konsantrasyonlarının iske miye karşı TİA ayırımını yapmada kullanmamıştır. Yine aynı çalışmada NR2 antikorlarının intraserebral kanamalı (İSK) hastalarda ve kontrol grubunda artmadığı saptanmıştır (21). Weissmann JD ve ark.'nın klinik ve görüntüleme yöntemleriyle tanı konulmuş 89 iskemik inme ve 30 kontrol grubu ile yaptığı çalışmada da sonuçlar diğer çalışma ile uyumlu bulunmuştur. Bu çalışmada iskemik inmeyi

saptamak için NR2 antikor düzeyinin cutoff değeri 2.0 ng/ml iken sensitivitesi %95.9 olarak bulunmuştur (22). Bizim çalışmamızda da iskemik inme grubunda (2.64±1.43ng/ml) NR2 antikor düzeyinin kontrol grubuna göre arttığı bulundu ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bunun sebebi olarak çalışmamızda kan alınış zamanının 8.7±5.1 saat ile daha erken dönemde alınmış olması olarak düşündük. Otoantikörlerin ortama salınması için invivo belli bir zamana ihtiyaç olması ve inme semptomlarının başlamasından sonra potansiyel olarak serum NR2 reseptör antikörlerin ölçümünün hemen değerlendirilmesini sınırlandırmaktadır (23).

Glynn ve ark.'nın yapmış olduğu prospektif bir çalışmada rekürren iskemik inme geçiren hastaların NR2 düzeyinin ilk atak akut iskemik inme ve GİA geçirenlerle kıyaslandığında daha çok arttığını saptamışlardır (24). Weissman ve ark.'nın çalışmalarında iskemik inme geçirmeyen bayanlarda NR2 düzeyi 2.05 ng/ml bulunmuşken, akut iskemik inmenin ilk 72 saatinde alınan kan örneğinde 2.50 ng/ml, inmeden sonraki 6 ay içinde ise 4.00 ng/ml olarak bulunmuştur (22). Bunu da zaman geçtikçe NR2 peptidlerine karşı oluşturulan antikörlerin ilk 6 ay içinde artması ve zamanla kana geçiş miktarındaki artışa bağlı olmasıyla açıklamışlardır. İskemik inme geçirdikten 6 ay sonraki alınan kan örneklerinde ise NR2 antikor düzeyi 3.72 ng/ml olarak azalmış tespit edilmiştir (22). Bizim çalışmamızda ise rekürren iskemik inme geçirenlerin NR2 antikor düzeyi 2.19 ng/ml olarak bulundu. Bu düzey ilk atak iskemik inme geçirenlerle kıyaslandığında anlamlı bir fark saptanmadı. Bu sonuç hastaların ilk ataklarının üzerinden 6 ay ve daha uzun zaman geçmesine bağlandı.

İskemik hasarlı beyin dokusunda, iskemik alan büyüklüğü ile serum NR2 antikor seviyesi arasındaki ilişkiyi gösteren herhangi bir literatür bilgisi mevcut değildi. Yaptığımız bu çalışmada, TOAST sınıflamasına göre laküner ve nonlaküner inmeli hastalar arasında serum NR2 antikor seviyeleri ile enfarkt hacmi arasındaki ilişki istatistiksel olarak incelendiğinde aralarında bir farklılık yoktu ( $p>0.05$ ). Bu durum; iskemik inmeli hastalıkta iskemik alan büyüklüğünde benzer etyopatogenez sorumlu olduğu için serum NR2 antikor seviyesinin değişmeyebileceği yönünde bir bilgi sağlamaktadır.

Yakın zamanda daha önce inme geçirmeyen kişilerde, inme geçirme riskini belirlemede kullanılacak biyobelirteç saptamak için büyük çalışmalar yapılmıştır. Böylelikle inmenin önlenmesinde yeni tedavi uygulamalarına başlanabileceğine inanılmaktadır (23). Bokesch ve ark.'nın yaptığı çok merkezli, prospektif, klinik bir çalışmada; NR2 antikor konsantrasyonunun koroner cerrahi uygulanan 557 hastada nörolojik komplikasyonları öngörüp görmediği için değerlendirilmiştir. Sadece 25 hastanın preoperatif NR2 antikor konsantrasyonu seviyesi yaklaşık 2.0 µg/L bulunmuş ve 25 hastanın 24'ünde postoperatif olarak 48 saat içinde nörolojik komplikasyon gelişmiştir. Bu yüzden,

NR2 antikor seviyesi yüksek kişilerde nörolojik olayların gelişme riski için kullanışlı olabileceğini düşünmüşlerdir (23). Son çalışmalar karotis stenozu olup endarterektomi veya stentleme yapılan hastalar arasında semptomatik karotis stenozu olan hastalarda NR2 antikor düzeyinin asemptomatik hastalara göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (25).

## Sonuç

Sonuç olarak akut iskemik inmenin klinik ve görüntüleme cihazları ile yapılan tanısını doğrulayacak ya da risk değerlendirmesine yardımcı olacak ve erken evrede kullanılabilir bir serum biyobelirteci ihtiyaç vardır. Bu biyobelirteç hızlı, basit, düşük maliyetli, hasta yanında kullanılabilir teknolojiye sahip olmalı, hemolizden etkilenmemeli, örnekte birkaç saat stabil kalabilmeli ve yarı ömrü dikkate alındığında acil ve yoğun bakım servislerinde, kolaylıkla uygulanabilmelidir.

Sonuç olarak, serum NR2 antikor düzeylerinin akut iskemik inmeli hastalarda normal kontrollere göre farklı olmadığı ortaya çıktı. Bu da iskemik inmede serum NR2 düzeyinin etkili bir rol oynamadığı kanaatini oluşturdu. Serum NR2 antikor düzeyi iskemik inmenin erken tanısı ve prognozunu belirlemede kullanılabilir bir biyobelirteç olarak görülmemektedir. Bizim çalışmamızda diğer çalışmalara göre hastalardan alınan serum numunelerinin daha erken dönemde alınması, çalışma grubundaki ve iskemik inme subgruplarındaki hasta sayısının az olması çalışmamızın sınırlayıcı yönleridir. Bununla beraber bu testin tanının bir parçası olarak rutin kullanımda etkinliğinin anlamlı olması ve özellikle spesifite değerlendirmesi için daha geniş popülasyonla yapılan çalışmalara ihtiyaç vardır.

## Kaynaklar

1. Hankey GJ, Stroke. How large a public health problem and how can the neurologist help? Arch Neurol 1999;56:748-54.
2. Herman B, Leyten AC, van Luijk JH, et al. Epidemiology of stroke in Tilburg, the Netherlands. The population-based stroke incidence register: 2. Incidence, initial clinical picture and medical care, and three-week case fatality. Stroke 1982;13:629-34.
3. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. Circulation 2012;125:188-97.
4. Jensen MB, Chacon MR, Sattin JA, et al. Potential biomarkers for the diagnosis of stroke. Expert Rev Cardiovasc Ther 2009;7:389-93.
5. Yip TR, Demaerschalk BM. Estimated cost savings of increased use of intravenous tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke in Canada. Stroke 2007;38:1952-5.
6. Lynch JR, Blessing R, White WD, et al. Novel diagnostic test for

- acute stroke. *Stroke* 2004;35:57-63.
7. Tonarelli SB, Hart RG. What's new in stroke? The top 10 for 2004/05. *J Am Geriatr Soc* 2006;54:674-9.
  8. Saenger AK, Christenson RH. Stroke biomarkers: progress and challenges for diagnosis, prognosis, differentiation, and treatment. *Clin Chem* 2010;56:21-33.
  9. Petrie RX, Reid IC, Stewart CA. The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity, and depressive disorder. A critical review. *Pharmacol Ther* 2000;87:11-25.
  10. Guard DB, Swartz TD, Ritter RC, et al. Blockade of hindbrain NMDA receptors containing NR2 subunits increases sucrose intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;296:R921-8.
  11. Gascon S, Sobrado M, Roda JM, et al. Excitotoxicity and focal cerebral ischemia induce truncation of the NR2A and NR2B subunits of the NMDA receptor and cleavage of the scaffolding protein PSD-95. *Mol Psychiatry* 2008;13:99-114.
  12. Macrez R, Bezin L, Le Mauff B, et al. Functional occurrence of the interaction of tissue plasminogen activator with the NR1 subunit of N-methyl-D-aspartate receptors during stroke. *Stroke* 2010;41:2950-5.
  13. Donnan GA, Baron JC, Ma H, et al. Penumbral selection of patients for trials of acute stroke therapy. *Lancet Neurol* 2009;8:261-9.
  14. Laskowitz DT, Kasner SE, Saver J, et al. Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: the Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) study. *Stroke* 2009;40:77-85.
  15. Gappoeva MU, Izykenova GA, Granstrem OK, et al. Expression of NMDA neuroreceptors in experimental ischemia. *Biochemistry (Mosc)* 2003;68:696-702.
  16. Brouns R, De Deyn PP. The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke. *Clin Neurol Neurosurg* 2009;111:483-95.
  17. Görgülü A, Kırış T. Eksitator aminoasidler ve eksitotoksisite. *Türk Nöroşirürji Derg* 2005;15:33-8.
  18. Bhatia RS, Garg RK, Gaur SP, et al. Predictive value of routine hematological and biochemical parameters on 30-day fatality in acute stroke. *Neurol India* 2004;52:220-3.
  19. Betzen C, White R, Zehendner CM, et al. Oxidative stress upregulates the NMDA receptor on cerebrovascular endothelium. *Free Radic Biol Med* 2009;47:1212-20.
  20. Goebel DJ, Poosch MS. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1Com, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. *Brain Res Mol Brain Res* 1999;69:164-70.
  21. Dambinova SA, Bettermann K, Glynn T, et al. Diagnostic potential of the NMDA receptor peptide assay for acute ischemic stroke. *PLoS One* 2012;7:e42362.
  22. Weissman JD, Khunteev GA, Heath R, et al. NR2 antibodies: risk assessment of transient ischemic attack (TIA)/stroke in patients with history of isolated and multiple cerebrovascular events. *J Neurol Sci* 2011;300:97-102.
  23. Bokesch PM, Izykenova GA, Justice JB, et al. NMDA receptor antibodies predict adverse neurological outcome after cardiac surgery in high-risk patients. *Stroke* 2006;37:1432-6.
  24. Glynn T, Tews M, Izykenova G, et al. The clinical utility of serum NR2 peptide assay in the diagnosis of patient presenting to the emergency department with acute cerebrovascular ischemic events. *Ann Emerg Med* 2007; 50: S35.
  25. Brightwell RE, Sherwood RA, Athanasiou T, et al. The neurological morbidity of carotid revascularisation: using markers of cellular brain injury to compare CEA and CAS. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007;34:552-60.