

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA
MODELİNDE KARNİTİN'İN SEREBRAL
VAZOSPAZM ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**DR. GÖKHAN REŞİTOĞLU
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. M. NAMIK ÖZTANIR**

MALATYA-2012

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam, Yrd. Doç. Dr. M. Namık ÖZTANIR'a uzmanlık eğitimim süresince bilgi, birikim ve deneyimlerini aktararak bu disiplinde yetişmemi sağlayan sayın hocalarım Prof.Dr. Ayhan KOÇAK, Prof. Dr. Süleyman R. ÇAYLI, Prof. Dr S. Çağatay ÖNAL, Doç. Dr. M. Arif ALADAĞ'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ'e, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'dan Doç. Dr. Mehmet GÜL'e, mesai arkadaşlarım Op.Dr.Tuncay ATEŞ'e, Op.Dr. Cengiz GÖLÇEK'e, Dr. A. Alper TAKMAZ'a, Dr. Ahmet YARDIM'a, Dr. Yener AKYUVA'ya, Dr. Ramazan PAŞAHAN'A, Dr. Veysel KIYAK'a, Biyokimya Araştırma Laboratuvarından Fatma ÖZYALIN'a, Necmettin KELEŞ'e, ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma, maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme, ihtisas sürem boyunca sabır ve destekleri için sevgili eşime teşekkür ederim.

Dr.Gökhan REŞİTOĞLU

İÇİNDEKİLER	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	iv
TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. AMAÇ	3
3.GENEL BİLGİLER.....	4
3.1 Subaraknoid Kanama.....	4
3.1.1 Tanım ve Tarihçe.....	4
3.1.2 Epidemiyoloji.....	5
3.1.3 Subaraknoid Kanama İçin Risk Faktörleri.....	6
3.1.4 Etiyolojik Faktörler.....	6
3.1.5 Klinik.....	7
3.1.6 Tanı ve Ayırıcı Tanı.....	8
3.1.7 Subaraknoid Kanamanın Komplikasyonları.....	10
3.2 Serebral Vazospazm	12
3.2.1 Tanım.....	12
3.2.2 Tarihçe.....	12
3.2.3 Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri.....	13
3.2.4 Vazospazmın Patofizyolojisi.....	14
3.2.5 Klinik Özellikler.....	19
3.2.6 Tanı.....	20
3.2.7 Vazospazm Tedavisi ve Önlenmesi.....	21
3.3 Serbest Radikal Reaksiyonu, Lipid Peroksidasyonu.....	22
3.3.1 Serbest Oksijen Radikalleri.....	22
3.3.2 Lipid Peroksidasyonu.....	24
3.3.3 Antioksidan Savunma Sistemleri.....	25
3.4 Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA).....	26
3.5.Nitrik Oksit.....	28
3.6 Asetil-L-Karnitin.....	31

4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
4.1. Anestezi	34
4.2. Subaraknoid Kanama Modeli ve Uygulanması.....	35
4.3. Deney Grupları.....	36
4.4. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması.....	37
4.4.1. Sakrifikasyon işlemi.....	37
4.4.2. Doku Örneklerinin Hazırlanması.....	38
4.4.3. Biyokimyasal incelemeler.....	40
4.4.4. Histopatolojik incelemeler	40
5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	44
6. BULGULAR.....	45
6.1 Makroskobik Bulgular.....	45
6.2 Histopatolojik Bulgular	45
6.3 Biyokimyasal Bulgular.....	63
7. TARTIŞMA.....	66
8. SONUÇ.....	74
9. ÖZET.....	75
10. SUMMARY.....	77
11. KAYNAKLAR.....	79

KISALTMALAR

3DCTA	: Üç Boyutlu Bilgisayarlı Tomografi Anjiyografisi
Ach	: Asetilkolin
ADMA	: Asimetrik Dimetil Arjinin
ADP	: Adenozindifosfat
ALCAR	: Asetil-L-Karnitin
ATP	: Adenozintrifosfat
AVM	: Arteriovenöz Malformasyon
BBT	: Bilgisayarlı Beyin Tomografisi
cgmp	: Siklik Guanozin Monofosfat
DDAH	: Dimetil-Arginin Dimetilaminohidrolaz
DSA	: Dijital Subtraksiyon Anjiyografisi
EDCF	: Endotelyal Kaynaklı Vazokonstriktör Faktör
EDRF	: Endotelyal Kaynaklı Relaksasyon Faktör
ET	: Endotelin
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotid
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
ICAM	: İnterelüler Adezyon Molekülleri
MDA	: Malonildialdehit
MLC	: Miyozin Hafif Zincir
MLCK	: Miyozin Hafif Zincir Kinaz
MRA	: Manyetik Rezonans Anjiyografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NAD	: Niasin Nikotinamid Dinükleotid
NO	: Nitrikoksit
NOS	: Nitrikoksit Sentetaz
PDE	: Fosfodiesteraz
PET	: Pozitron Emission Tomography
PG	: Prostaglandinler
ROT	: Reaktif Oksijen Türevleri
SAK	: Subaraknoid Kanama
SAM	: S-Adenozil Metiyonin
SF	: Serum fizyolojik

SPECT	: Single Photon Emission Computerized Tomography
SSS	: Santral Sinir Sistemi
SVS	: Serebral Vazospazm
TKA	: Trikarboksilik Asit Siklusu
Tx	: Tromboksan
VCAM	: Vasküler Adezyon Molekülleri

TABLolar VE ŐEKİLLER DİZİNİ

Tablo- I. Hunt-Hess Sınıflaması.....	8
Tablo-II. WFNS Sınıflaması	8
Tablo III. Yaşargil SAK sınıflandırması.....	9
Tablo-IV. Anevrizmal Subaraknoid Kanamada Fisher BT Derecelendirme Skalası.....	14
Tablo-V. Hidrojen Peroksid Oluşumu.....	23
Tablo-VI. Haber – Weiss Reaksiyonu.....	23
Tablo-VII. Fenton Reaksiyonu.....	24
Şekil 3.1. Arjinin ve ADMA’nın moleküler formülleri.....	27
Şekil 3.2. L-Arjininden Üre Siklusunda NO Sentezlenmesi	29
Şekil 3.3. Endotel Kaynaklanan Faktörlerin Salgılandıktan Sonra Düz Kas Üzerindeki Etkileri.....	30
Şekil 3.4 Karnitin’in Vücutta Bulunan İzofomları.....	32
Şekil 4.1. Beyin baziler arter imgesi ve uzman tarafından girilen lümen ve damar polygon koordinatları. (Kalın ok yeşil noktaları, ince ok kırmızı noktaları göstermektedir.).....	41
Şekil 4.2. Örnek B-spline eğrileri.....	42
Şekil 4.3. Piksel mikro-metre dönüşümü imgesi.....	41
Tablo-VIII. Baziler Arter Lümen Kesit Alanları (μm^2).....	57
Tablo-IX. Gruplara Göre Lümen Kesit Alanı Ortalamaları ve Standart Sapmaları.....	58
Şekil 6.1 Gruplara Göre Lümen Kesit Alanları Ortalamaları.....	59
Tablo-X. Baziler Arter Duvar Kalınlığı (μm).....	59
Tablo-XI. Gruplara Göre Baziler Arter Duvar Kalınlığı Ortalamaları ve Standart Sapmaları.....	60
Şekil 6.2 Gruplara Göre Damar Duvar Kalınlık Ortalamaları.....	61
Tablo-XII. Baziler Arter Damar Alanı (μm^2).....	61
Tablo-XIII. Gruplara Göre Baziler Arter Alanı Ortalamaları ve Standart Sapmaları (μm^2).....	62
Şekil 6.3 Gruplara Göre Baziler Arter Damar Alanı Ortalamaları.....	62
Şekil 6.4 Gruplara Göre ADMA Doku Düzeylerinin Ortalamaları (mikromol/L)	64
Şekil 6.5 Gruplara Göre NO Serum Düzeylerinin Ortalamaları (mikromol/L)....	64

RESİMLER DİZİNİ

Resim 4.1. Atlantookspital bileşke lokalizasyonunda sisterna magnaya nonheparinize otolog arteryel kan enjeksiyonu.....	36
Resim 4.2 Subaraknoid kanama yapılmış deneğin tek parça halinde çıkarılmış beyin, beyincik ve beyin sapının alttan görünüşü.....	38
Resim 4.3 Mikroskop altında, baziler arterin baziler sulkustan diseke edilerek çıkarılması.....	39
Resim 4.4 Mikroskop altında baziler sulkustan diseke edilerek ayrılan baziler arter.....	39
Resim 6.1 Grup 1, Normal histolojik görünümde arter.....	46
Resim 6.2 Grup 1, Normal histolojik görünümde arter; H-E, x40.....	47
Resim 6.3 Grup 1; Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar polygon koordinatları.....	47
Resim 6.4 Grup 1; Resim 6.3'te lümen ve damar polygon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü.....	48
Resim 6.5 Grup 2; Arter endotel hasarı, lamina elastika internada belirgin kıvrılma-ondülasyon (kırmızı ok), media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon ve vakuolizasyon (yeşil ok), H-E, x40.....	49
Resim 6.6 Grup 2; Arter lamina elastika internasında belirgin kıvrılma-ondülasyon (yeşil ok), media tabakası düz kas hücrelerinde şişme ve vakuolizasyon (kırmızı ok), H-E, x40.....	49
Resim 6.7 Grup 2; Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar polygon koordinatları. Yeşil ok damar lümen koordinatlarını, kırmızı ok damar duvarı dış çap koordinatlarını göstermekte.....	50
Resim 6.8 Grup 2; Resim 6.7'te lümen ve damar polygon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü. Yeşil ok damar lümen çapını, kırmızı ok damar duvarının çapını göstermekte.....	50
Resim 6.9 Grup 3; Arter media tabakası düz kas hücrelerinde minimal kontraksiyon (kırmızı ok), Arter lamina elastika internasında orta derecede kıvrımlı görünüm (yeşil ok) , H-E, x20.....	51

Resim 6.10 Grup 3; Arter media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon (yeşil ok), H-E, x40.....	51
Resim 6.11 Grup 3; Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar polygon koordinatları. Yeşil ok damar lümen koordinatlarını, kırmızı ok damar duvarı dış çap koordinatlarını göstermekte.....	52
Resim 6.12 Grup 3; Resim 6.11’de lümen ve damar polygon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü. Yeşil ok damar lümen çapını, kırmızı ok damar duvarının çapını göstermekte.....	52
Resim 6.13 Grup 4; Arter media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon (yeşil ok), perivasküler alanda minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu. H-E, .	53
Resim 6.14 Grup 4; Düzgün görünümlü endotel (yeşil ok) ve media tabakası düz kas hücrelerinde minimal intrasellüler ödem (kırmızı ok). H-E, x40.....	53
Resim 6.15 Grup 4; Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar polygon koordinatları. Yeşil ok damar lümen koordinatlarını, kırmızı ok damar duvarı dış çap koordinatlarını göstermekte.....	54
Resim 6.16 Grup 4; Resim 6.15’de lümen ve damar polygon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü. Yeşil ok damar lümen çapını, kırmızı ok damar duvarının çapını göstermekte.....	54
Resim 6.17 Grup 5; Arter endotel hücre nükleuslarında lümene doğru çıkıntı (yeşil ok), media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon (kırmızı ok). H-E, x20....	55
Resim 6.18 Grup 5; Arter endotel hücre nükleuslarında lümene doğru çıkıntı (yeşil ok), media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon ve vakuolizasyon (kırmızı ok), perivasküler alanda inflamatuvar hücre infiltrasyonu (beyaz ok). H-E, x40.....	56
Resim 6.19 Grup 5; Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar polygon koordinatları. Yeşil ok damar lümen koordinatlarını, kırmızı ok damar duvarı dış çap koordinatlarını göstermekte.....	56
Resim 6.20 Grup 5; Resim 6.19’da lümen ve damar polygon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü. Yeşil ok damar lümen çapını, kırmızı ok damar duvarının çapını göstermekte.....	57

1.GİRİŞ

Spontan subaraknoid kanama (SAK); genellikle anevrizma rüptürüne bağlı olarak meydana gelen ve beyin omurilik sıvısının (BOS) doldurduğu subaraknoid boşlukta gelişen kanama olarak tanımlanır (1,2). Genel olarak farklı populasyonlarda, farklı yaşam tarzı, genetik yapı ve çeşitli risk faktörlerinin bulunması nedeni ile insidansı hakkında fikir birliği gelişmemiştir. Ancak tüm inmelerin %5-10'unu oluşturduğu bilinmektedir (3). Mortalitesi ve morbiditesi yüksek bir patoloji olmasına rağmen son zamanlarda özellikle mortalite oranlarında azalma görülmektedir. Mortalite ve morbiditenin yüksek olmasından başlıca yeniden kanama (rebleeding) ve vazospazm sorumlu tutulmaktadır. Erken tedavi seçeneğinin nöroşirurjiyenler tarafından kabul edilmesi ve uygulanması yeniden kanamaya bağlı mortalite oranlarını azaltmıştır.

Serebral Vazospazm (SVS) mortalite ve morbiditenin en önemli sebebi olarak gösterilmektedir. Subaraknoid mesafedeki kan miktarı ile vazospazmın şiddeti birbiri ile bağlantılıdır (4). 3. günden başlayarak, arteriyel lümendeki daralmanın şiddetine bağlı, geç nörolojik defisitler, baş ağrısı ve klinik kötüleşme vazospazmı düşündürmelidir. Radyolojik olarak gösterilmesi ile tek başına tanı koydurmasa da klinik tanıyı destekler. Etiyopatogenezi aydınlatmak amacı ile birçok çalışma yapılmasına rağmen net bilgiler elde edilememiştir. SVS gelişiminde birkaç hipotez ortaya atılmış, ancak hiçbirisi fizyopatolojiyi açıklayamamıştır. Multifaktöriyel olması nedeni ile ortaya atılan hipotezler üzerinden verilen tedaviler mortalite ve morbiditeyi değiştirememiştir.

Gelinen noktada ortaya atılan hipotezlerden bir tanesi, subaraknoid mesafedeki eritrositlerin yıkılmaya başlaması ile ortaya çıkan oksihemoglobinin serebral vazospazmda (SVS) ana sorumlu olduğu yönündedir (5,6). Vasküler endotelin en önemli görevlerinden bir tanesi vasküler tonusu sağlamaktır. Bunu sentezlediği vazodilatör (NO, Ach, bradikinin.vs.) ve vazokonstriktör (ET1, noerpinefrin, PG..vs) maddelerle gerçekleştirmektedir. Başlıca vazodilatatör olarak NO gösterilmektedir. Oksihemoglobin ET1'i artırırken, NO'ı inhibe ederek dengenin vazospazm gelişimi yönünde bozulmasına neden olur (7,8). Oksihemoglobinin NO'ı bağlaması, guanilat siklazın (GC) inaktive olması vazokonstrüksiyonla sonuçlanır (Şekil 3.3). NO, nitrik oksit sentaz enzimi ile endotelde sentezlenir.

ADMA (asimetrik dimetilarjinin) NO sentetaz'ın endojen inhibitörüdür. Yine oksihemoglobin ortamdaki serbest demir ile lipid peroksidasyonunu aktive etmektedir. Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur ve malonil dialdehit (MDA) oluşumu ile sonuçlanır. MDA membran yapısını bozar. Bunun sonucunda membran geçirgenliği artar, iyon ve enzim dengesizliği oluşur. Membran destrükte olduğunda Ca^{++} akımı olur, ödem ve nekroz takip eder. Lipid peroksidasyonu sonucunda hücre içerisine Ca^{++} akımı olmakta ve bu olayın sonucunda vazospazm oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonunda hidroksil radikalının etkili olduğu bildirilmiştir (9).

Karnitin amino asitlere ve vitaminlere benzeyen kuarterner yapıda bir amindir. Başlıca görevi uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriye geçişini sağlamaktır. Yağ asidi metabolizması ve ketogenezinin düzenlenmesi, açıl köklerini yeniden oksidasyon için peroksizomdan mitokondriye taşımak, membran stabilizasyonunu sağlamak gibi çeşitli etkilerinin yanında çok önemli bir antioksidandır. Esansiyel değildir. ALCAR, karnitinin asetil esteridir. Beyin dokusunda bulunabilir ve kan beyin bariyerini kolayca geçebilir. Mitokondride trikarboksilik asit siklusuna (TCA) Açıl KoA sağlar. Burada oksidatif fosforilasyon ve enerji transport zinciri sırasında fazla oksijen tüketilir. Böylece O_2 konsantrasyonu ve reaktif oksijen türevleri (ROT) üretimi azalır (10).

2.AMAÇ

Bu çalışmada bir antioksidan olan ALCAR'ın oluşturulan deneysel SAK sonrasında gelişen vazospazm üzerine terapotik etkinliğinin incelenmesini amaçladık.

3.GENEL BİLGİLER

3.1 SUBRAKANOİD KANAMA

3.1.1 Tanım ve Tarihçe

Subaraknoidal boşluğa, arter ya da venin yırtılması sonucu, kan sızması ile meydana gelen tablo “subaraknoid kanama (SAK)” olarak adlandırılır. Subaraknoidal boşluk veya aralık ise beyinin en dışını saran piamater adı verilen çok ince zar ile bu tabakanın üzerindeki zar olan arachnoidea arasında kalan mesafedir. Beyin, beyincik, beyin sapı veya omurilik yüzeyindeki sıklıkla arter, daha nadiren ven ve kapillerlerin çeşitli nedenlerle kanaması şeklinde olmakla birlikte, kanın beyin omurilik sıvısı (BOS) dolanım yollarına girmesi esastır. Beyin parankimi içerisindeki bir kanamanın beyin korteksi yönünde yüzeye açılması veya ventriküllere geçerek yine BOS’a karışması ve nadiren de subdural mesafedeki kanın araknoid membranı delerek subaraknoid aralığa geçmesi sonucunda ortaya çıkabilmektedir. En sık SAK sebebi travmadır. Travma dışında meydana gelen SAK’a spontan veya primer SAK denir.

Subaraknoid kanama ilk olarak 1700’lu yıllarda Morgagni tarafından saptanmıştır. İlk anevrizma tarifini 1765 yılında Biumi yapmış, 1814 yılında da Blackall kanamış bir anevrizmayı bildirmiştir. Anevrizmaya yönelik ilk cerrahi girişim ise 1885 yılında Horsley tarafından kanamayı önlemek için her iki karotis arter bağlanarak yapılmıştır (11).

3.1.2 Epidemiyoloji

Spontan SAK'ın yıllık insidansının 10-16 / 100000 arası değiştiği bildirilmektedir (12). SAK tüm kanamaya neden olan inmelerin %5-10'unun nedenidir (3). Bu durumun toplam mortalite oranı %30-70'tir ve sağ kalanların %10-20'sinde ciddi nörolojik bozukluklar görülür (13). SAK sonrası izlenen klinik tabloda hastaların %10-15'i medikal tedavi almadan kaybedilirken, tedavi edilmeyenlerin %40-60'ı ilk 30 gün içerisinde kaybedilmektedir (14,15).

Subaraknoid kanama sıklığı ile ilgili çok farklı rakamlar ortaya atılmıştır. Gerçek sıklığı hakkında fikir öne sürmek bazı nedenlerle oldukça güçtür. Ağır bir klinik tablo olması nedeniyle olguların bir kısmının tanı konulacak bir birime ulaşmadan kaybedilmesi ve daha siliik semptomatoloji ile başvuru sonrasında konulabilen yanlış tanıları bu belirsizliğin ana nedenlerindendir. Literatürde konu ile ilgili ilk rakamlar otopsi serilerinden gelmiştir. Dolayısıyla SAK ve kanamanın etiyolojisine yönelik çalışmalar olmadıkları için bu rakamlar çok sağlıklı değildir. Subaraknoid kanamanın insidansı ve prevalansı ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Ancak bu çalışmaların sonucunda ortak bir sonuca ulaşmak mümkün olmamıştır. Bunun nedeni ise farklı popülasyonlarda, farklı yaşam tarzı, genetik yapı ve risk faktörlerinin bulunması gösterilmiştir (1,16,17,18).

Dünya Sağlık Örgütü'nün yaptığı büyük bir çalışmada SAK'ın yaşa göre düzeltilmiş yıllık insidansı karşılaştırıldığında Çin'de 2,0/ 100 000, Finlandiya'da 22,5 / 100 000 olmak üzere ülkeler arasında 10 kat farklılık olduğu bulundu (19). Yine toplum temelli yapılan bir başka çalışmada SAK insidansı Avustralya ve Yeni Zelanda'da 8,1 / 100000 Japonya'da ise 23/100000 olarak saptandı (20). Japonların yaptığı başka bir çalışmada erken ölümler dahil edilseydi SAK'a atfedilen oranın 32/100000 olacağı ileri sürüldü (18). SAK en sık 40-60 (ortalama 50) yaşları arasında görülmekle birlikte çocukluk ve yaşlılıkta da görülebilmektedir. Kadınlarda erkeklere oranla 1,6 kat fazla görülmektedir (21,22). SAK'ların erkeklerde geç sonbaharda ve kadınlarda ise geç ilkbaharda daha fazla görüldüğü belirlenmiştir (23). Bunların yanı sıra zenci ırkta, beyaz ırka nazaran 2,1 kat daha fazla risk taşındığını gösteren çalışmalar vardır (24).

3.1.3 Subaraknoid Kanama İçin Risk Faktörleri

Genetik faktörler; Olguların %5-20'sinde pozitif aile hikayesi vardır (25). Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı ve tip IV Ehler Danlos sendromu örnek olarak sayılabilir (26).

Sigara; Sigarayı bırakan popülasyonda içenlere oranla daha az SAK görüldüğü gösterilmiştir (27).

Alkol; Orta ve aşırı alkol kullananlarda daha fazla görülmekle birlikte şüpheli risk faktörüdür.

Hipertansiyon; Özellikle tansiyon takibi düzensiz olanlarda daha fazla görülmektedir.

Oral Kontraseptif Kullanımı: Diğer risk faktörlerinden bağımsız, kontrollü çalışmalar olmadığı için SAK ve oral kontraseptif kullanımı arasındaki ilişki çok net değildir (12).

Madde bağımlılığı; Kokain ve fenilpropanolamin içeren sempatomimetik maddeler, risk faktörleri olarak bildirilmiştir (28,29,30)

Diabet SAK için bir risk faktörü olarak görülmemektedir (31).

SAK için bazı risk faktörlerinin (sigara, bayan cinsiyet, hipertansiyon, postmenapozal dönem) multipl anevrizma görülme riskini artırdığı gösterilmiştir (32).

Rüptüre olmuş anevrizma nedeni ile tedavi edilmiş hastalarda yeni anevrizma oluşma oranı yıllık %1-2 arasındadır (33,34).

3.1.4 Etiyolojik Faktörler

Travma dışında en sık SAK sebebi (%85) rüptüre olmuş intrakranial anevrizmalardır. Bunu AVM'ler, hipertansiyon, ateroskleroz, intrakranial kitleler, SSS vaskülitleri, kanama diskrazileri, cerrahi girişimler, enfeksiyonlar, allerjik hastalıklar, intoksikasyonlar izler (35,36). Klinik ve radyolojik olarak saptanan SAK'ların yaklaşık %20'sinde bilinen bir neden yoktur (37). Nedeni saptanamayan SAK'lar genellikle selim seyreder. Kanama tekrarı ve mortalite oranı %3'ün altındadır (38). Şüphelenilen olgularda 3-6 hafta sonra araştırmanın tekrarlanması 1/4 olguda SAK nedeninin ortaya konabileceğini göstermiştir (39,40,41).

3.1.5 Klinik

SAK, semptomatoloji yönünden çok değişken olabilen bir hastalıktır. Bu nedenle tanıya varmak her zaman için çok kolay olmayabilir. Hastaların %35'i ile %59'u arasında kanamayı akla getirecek bazı öncü bulguların ortaya çıktığı bilinmektedir. Öncül bulgular, anevrizmanın genişlemesine, sızıntı şeklinde kanamaya veya iskemik olaylara bağlı olabilir (42). En sık görülen öncü bulgu ani ve şiddetli baş ağrısıdır. Baş ağrısı genellikle sonuç rüptür oluncaya kadar devam etmektedir. Diğer öncü bulgular ise bulantı, kusma, baş dönmesi, boyun ağrısı, ekstraoküler hareket bozuklukları, görme kaybı, görme alanı defektleri ve III. Kranial sinir paralizileridir.

Asıl kanama, genellikle bu gibi öncü şikayetlerden yaklaşık bir hafta sonra ortaya çıkmaktadır ve bu aradaki dönemde hastalar migren, sinüzit, menenjit vb. gibi tanılar ile büyük oranda atlanmaktadır.

Subaraknoid kanama genellikle akut başlangıçlıdır ve hastaların büyük bir kısmı ani ve şiddetli baş ağrısı ile başvururlar (43). Hastalar bu ağrıyı “hayatımda yaşadığım en şiddetli ağrı” ifadesi ile tanımlarlar. Kanama ile birlikte %30 hastada komaya kadar giden ani bilinç bozukluğu gelişebilir. Subaraknoid kanamanın asıl semptomları kusma, baş dönmesi, nöbet, papil ödem, konfüzyon, fokal nörolojik defisitler, hipertansiyon ve hafıza bozukluğudur. Kanamadan 6-24 saat sonra meningeal irritasyon bulgularından “Kerning ve Brudzinski” gelişebilir (44). %20-40 hastada oküler hemorajiler görülür. Retinal kanamalar daha çok intrakranial basınç artışını gösteren ve artmış mortalite ile birlikte olan Terson Sendromundan (vitreus içi hemoraji) ayırdedilmelidir (45).

Bazı anevrizma kanamalarında spesifik klinik bulgular gelişebilir. Örneğin anterior serebral arter kanamalarında bilateral alt ekstremitelerde geçici kuvvetsizlik gelişirken orta serebral arter kanamalarında ise sıklıkla hemiparezi, parestezi, hemianopsi ve disfazi gelişir. Nöbet sıklıkla anterior sirkülasyon ve orta serebral arter anevrizmaları ile birlikte olur. Üçüncü kranial sinir paralizisi veya tek taraflı retroorbital ağrı posterior kommunikan arter anevrizmasına işaret edebilir. Karotid-oftalmik arter anevrizmaları da tek taraflı görme kayıpları veya görme alanı defektleri oluşturabilir (44).

İlk kanamadan sonra yaşayan ve cerrahi olarak tedavi görmemiş hastalarda morbidite ve mortalitenin esas nedeni yeniden kanamadır. Küçük anevrizmaların daha fazla miktarda subaraknoid kanamaya yol açtığı şeklindeki önceki teorilerin

aksine, son klinik serilerde anevrizma boyutu ile subaraknoid mesafedeki kan hacmi arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir. Prognoz; Hunt-Hess derecesi, yaş ve klinik vazospazm şiddeti ile ilişkilidir (46).

Anevrizma rüptürü sonrası SAK olan olgularda cerrahi riski ve prognozu belirleme amacı ile değişik klinik değerlendirmeler yapılmıştır. Yaygın olarak kullanılanları; Botterel, Hunt-Hess (Tablo-I), Yaşargil ve son olarak Dünya Nörolojik Cerrahlar Federasyonu (WFNS) (Tablo-II, TabloIII) SAK sınıflandırmasıdır (47,48).

Tablo- I. Hunt-Hess Sınıflaması

Evre 0 Kanamamış anevrizma, nörolojik bozukluk yok
Evre 1 Asemptomatik, hafif baş ağrısı ve ense sertliği
Evre 2 Orta veya şiddetli baş ağrısı, ense sertliği, kranial sinir felci
Evre 3 Uykuya eğilim, hafif fokal nörolojik defisit
Evre 4 Stupor, orta veya ciddi hemiparezi, rijidite, vejetatif bozukluk
Evre 5 Derin koma ve deserebrasyon rijiditesi

Tablo-II. WFNS Sınıflaması

Evre 1 Glasgow Koma Skalası (GKS) 15 Motor defisit yok
Evre 2 GKS 13-14 Motor defisit yok
Evre 3 GKS 13-14 Motor defisit var
Evre 4 GKS 7-12 Motor defisit var veya yok
Evre 5 GKS 3-6 Motor defisit var veya yok

3.1.6 Tanı ve Ayırıcı Tanı

Acil servise baş ağrısı şikayeti ile başvuran hastaların %1'inde SAK saptandığından bu hastalar çok dikkatli değerlendirilmelidir (49). SAK'tan şüphelenmek en can alıcı noktadır. Alışılmamış tipte şiddetli baş ağrısı şikayeti ile gelenlerde ilk tanı yöntemi olarak mutlaka Bilgisayarlı Beyin Tomografisi (BBT) çekilmelidir. BBT aynı zamanda ventriküllerin büyüklüğü, hematoma, enfarkt,

sisterna ve fissürlerdeki kan miktarı, çoğul anevrizmalı olgularda hangi anevrizmanın kanadığı ve anevrizmanın yeri hakkında bilgi verir (50).

Tablo III. Yaşargil SAK sınıflandırması

Evre 0a Yırtılmamış anevrizma, nörolojik defisit yok
Evre 0b Yırtılmamış anevrizma ve birlikte nörolojik defisit var
Evre 1a Subaraknoid kanaması var, ancak nörolojik belirti yok.
Evre 1b Uyanık, meningeal irritasyon bulgusu yok, nörolojik kayıp var
Evre 2a Uyanık, subaraknoid kanamayı takiben baş ağrısı ve meningeal irritasyon bulgusu var.
Evre 2b Ek olarak fokal nörolojik kayıp var.
Evre 3a Uyukluyor, bilinç bulanık, çevreyle ilgisiz, huzursuz.
Evre 3b Ek olarak fokal nörolojik defisit var.
Evre 4 Yarı komada, ağırlı uyaranlara yanıt var ancak sesli uyarana yok
Evre 5 Komada, pupiller ışığa yanıt vermez, ağırlı uyarana ekstansör veya hiç yanıt yok

Lomber ponksiyon (LP), subaraknoid kanama şüphesi olan olgularda kesin tanı konulmasını sağlamakla birlikte bakteriyel menenjit gibi benzer kliniği yapan enfeksiyöz durumların ayırıcı tanısında da yardımcı olmaktadır. İntraserebral hematom gelişme ihtimalinin yüksek olması ve muhtemel bir intrakranial kitle lezyonu bulunabilmesi nedeni ile intrakranial görüntüleme yapmadan LP yapılmamalıdır. LP kullanılan en eski yöntemdir. Ardışık üç tüpe alınan BOS örneklerinde santrifüj sonrası ksantokromi izlenmesi SAK için tanı koydurucudur. BOS’da ksantokromi 4 ila 6 saatte gelişir (51).

Dijital Subtraksiyon Anjiyografi (DSA) anevrizma görüntülenmesinde altın standarttır. Anjiyografide anevrizmanın varlığı, birden fazla ise sayısı, boynun genişliği, anevrizma duvarının şekli, domun büyüklüğü, yönü ve diğer vasküler yapılar ile olan ilişkisi değerlendirilebilir (52).

DSA, anevrizma görüntülenmesinde altın standart olarak kabul edilmekle birlikte; non invaziv olması, hızlı görüntüleme yapması, arter ve anevrizma duvarındaki kalsifikasyonları göstermesi, hızlı üç boyutlu rekonstrüksiyon olanağı vererek şüpheli lezyonlar hakkında bilgi vermesi nedeni ile bir çok merkez ilk

inceleme metodu olarak Üç Boyutlu Bilgisayarlı Tomografi Anjiyografisi (3DCTA) kullanılmaktadır (53).

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), acil kullanım zorluğu olması, işlemin uzun sürmesi ve subaraknoid kanama geçiren hastaların büyük kısmının klinik tablosunun stabil olmaması ve inceleme süresini tolere edememeleri nedeniyle SAK tanısında rutin kullanımda değildir.

Semptomatolojisinin değişken olması nedeni ile SAK;

-Migren, sinüzit, gerilim tipi baş ağrısı, hipertansiyon, subdural hematoma gibi baş ağrısı ile seyreden hastalıklardan;

-Servikal artroz, servikal disk hernisi, menenjit gibi ense sertliğinin bulunduğu hastalıklardan;

-Akut gastroenterit, gıda zehirlenmesi, peptik ülser, akut apendisit ve akut miyokard infarktüsü gibi bulantı-kusmanın eşlik edebileceği hastalıklardan;

-Uyuşturucu kullanımı, alkol intoksikasyonu, akut psikoz gibi konfüzyon, letarji ve kişilik değişikliklerinin varlığıyla seyreden hastalıklardan;

-Serebral iskemik olay veya spontan intraserebral hematoma gibi fokal nörolojik defisitlerle seyreden hastalıklardan ayırdedilmelir.

3.1.7 Subaraknoid Kanamanın Komplikasyonları

a) Yeniden kanama; İlk anevrizma kanamasından sonra tekrar kanama ihtimalinin en yüksek olduğu zaman dilimi ilk 24 saattir. İlk 24 saatte tekrar kanama oranı %4'tür. Birinci günden sonra bu oran günde %1,5 oranına düşer ve ilk 2 haftadaki kümülatif tekrar kanama oranı %14'tür. Tekrar kanama ihtimali; yüksek klinik grade, büyük anevrizma boyutu, yüksek tansiyon, ileri yaş ve bayan cinsiyette artış göstermektedir. Erken cerrahi, tekrar kanama oranını büyük oranda azaltıp vazospazm gelişimini önlemek için "3H" tedavisinin uygulanabilmesine imkan sağlamaktadır. Erken cerrahi ve intratekal fibrinolitiklerin kullanımı ile pıhtının uzaklaştırıldığı hastalarda vazospazm gelişme ihtimali azalmakta, hastalar daha hızlı mobilize edilebilmekte, yatak yarası komplikasyonlarının gelişimi önlenilmekte ve hastanede kalış süresi kısaltılabilmektedir (55). Erken cerrahinin dezavantajları ise intraoperatif anevrizma rüptürü, retraksiyon hasarının fazla olması ve iskemi gelişme ihtimalini arttırmasıdır (44,54).

b) Hidrosefali: Subaraknoid kanama sonrası akut hidrosefali gelişiminde en

önemli faktörler subaraknoid ve intraventriküler mesafedeki kanın miktarıdır. Oluşumunda, beyin omurilik sıvısının intraventriküler veya subaraknoid mesafedeki dolaşımının engellenmesi sorumludur ve SAK sonrasında %20 oranında gelişmektedir. Tedavide ventriküler eksternal drenaj uygulanmaktadır. Ancak ventriküler drenajın yeniden kanama oranını arttırdığı akılda tutularak dikkatli çalıştırılmalı ve beş günden fazla kalması gerektiği durumlarda enfeksiyonun önüne geçmek için ya kateter değiştirilmeli ya da kalıcı kateter yerleştirilmelidir (44,56).

c) Vazospazm, serebral iskemi, enfarkt; Subaraknoid kanama sonrası gelişen arteriyel daralma gecikmiş nörolojik bozuklukların ana nedenidir. Vazospazm asemptomatik olabileceği gibi morbiditenin önemli bir nedeni olan gecikmiş serebral iskemiye de yol açabilir. Vazospazm subaraknoid kanama komplikasyonlarından en önemlisidir ve anevrizmal hastaların %30-40'ında oluşur. Subaraknoid kanama sonucu oluşan vazospazmın en önemli yönü mevcut tedavi yöntemlerine çok az veya hiç cevap vermemesidir. Geç fokal ya da diffuz iskemik nörolojik kayıplar, serebral arteriyel vazospazm ile birlikte gider. Vazospazmın semptomları günler boyunca yavaş gelişir. Şiddetlenen baş ağrısı bilinçte bulanıklık, artan meningismus, ateş ve fokal nörolojik bulgular vazospazmın semptomlarıdır. Bu durumda subaraknoid kanamanın diğer komplikasyonları olan yeniden kanama, hidrosefali, yaygın serebral ödem, subdural ve intraserebral kanamaları ekarte etmek amacıyla acil kranial BT endikasyonu vardır. Olguların çoğunda anjiyografide vazospazm görülmesine karşın pek çoğu asemptomatik seyreder. Bu durum kollateral dolaşım yeterliliğinden kaynaklanmaktadır. Geç serebral iskemi genellikle 3. günde başlar, 4 ile 12. günler arasında şiddeti üst düzeye ulaşır. Vazospazmı önlemek veya mevcut vazospazmı tedavi etmek amacıyla hastalarda hiperdinamik "3H" tedavisi uygulanır. Bu tedavi, hipertansiyon, hipervolemi, hemodilüsyonu kapsamaktadır. Hastalar bu dönemde beyin ödemi ve iskemiye artıran etkenler olan hiponatremi, hiperglisemi, hipoksi ve hipertermiden korunmalıdırlar (57,58).

d) Nöbet

e) Serebral Ödem (sitotoksik, hipoksik, iatrojenik); Subaraknoid kanama sonrası intrakranial basınç artmasında intraventriküler kanama, parankimal hematoma ve iskemik beyin ödemi gibi etkenler sorumlu tutulmaktadır. Hematomun boşaltılması, ventriküler kateter yerleştirilmesi, sedasyon, farmakolojik tedavi ve ventilasyonun ayarlanması uygulanabilecek tedavi yöntemlerindendir (59).

- f) Elektrolit İmbalansı** (Uygunsuz aşırı ADH salınımı, serebral tuz kaybı, diabetes insipitus)
- g) Kardiyak Komplikasyonlar** (Disritmiler, miyokard infarktüsü ve nekrozu, ventriküler duvar hareket bozuklukları)
- h) Pulmoner Komplikasyonlar** (aspirasyon pnömonisi, nörojenik pulmoner ödem, iatrojenik pulmoner ödem, pulmoner emboli)
- i) Gastrointestinal Bozukluklar** (motilite değişiklikleri, kanama)
- j) Terson Sendromu** (subaraknoid kanama sonrası görülen intraoküler kanama)
- k) Nöropsikiyatrik Bozukluklar**

3.2 SEREBRAL VAZOSPAZM (SVS)

3.2.1 Tanım

SVS, subaraknoid kanamadan günler sonra ortaya çıkan, değişken şiddette ve reversibl olabilen serebral arterlerin daralmasıdır. Rebleeding, anevrizmal rüptürün en korkulan komplikasyonu olmasına rağmen vazospazm ölüm ve nörolojik sekellerin primer potansiyel nedenidir. SVS klasik olarak anevrizma rüptürüne bağlı SAK'ın komplikasyonu olmasına rağmen %5-10 oranında ağır kafa travması ve daha az oranlarda meningeal enfeksiyon ve diğer serebrovasküler hastalıklarda görülebilir (60,61,62).

3.2.2 Tarihçe

SVS hakkındaki ilk bilgilerimiz Peabody'nin 1891 yılındaki çalışmalarına dayanır. Peabody spazmı damar düz kaslarının spazmodik kontraksiyonu şeklinde tarif etmiştir. 1942 yılında Erclin, 1959'da Gurdjian ve Thomas baziler arteri mekanik yolla stimüle ederek spazm meydana getirmişlerdir. 1965'de Echline subaraknoid mesafeye taze kan enjekte ederek deneysel subaraknoid kanamaya bağlı SVS'in evrelerini göstermiştir. Robertson ilk kez 1949'da anevrizma rüptürüne bağlı SAK ile SVS ilişkisini bildirmiştir. Anjiyografik vazospazm ilk olarak 1951 yılında bir nöroşirürjiyen olan Ecker ve bir radyolog olan Riemenschneider tarafından tanımlanmıştır (63). Bu çalışmaların sonucunda vazospazmın kanama sonrası birkaç hafta içinde geliştiğini, anevrizmaya yakın vasküler etkilenmenin maksimum ancak komşu vasküler yapılarda daha az derecelerde olduğunu ve anevrizma rüptürü

sonrası prognozda etkili olduğunu göstermişlerdir. Yine de bu görüşlerin nöroşirurjiyenler arasında o dönemde kabul görmesi yavaş olmuştur.

1960'ların başından itibaren nöroşirürjikal çalışma laboratuvarlarında hayvanlar üzerinde deneysel SAK modelleri ile vazospazmın fizyopatolojisi yoğun bir şekilde çalışılmaya başlanmış, vazospazmı önlemek veya tedavi etmek için birçok başarısız ilaç denemeleri yapılmıştır.

İlk olarak Kosnik ve Hunt 1976 yılında, Giannota ve arkadaşları ise 1977 yılında vazospazm nedeniyle gelişen iskemik nörolojik defisitinin tedavisinde hipertansiyonun etkisini bildirmişlerdir. Kassel ve arkadaşları (64) 1982 yılında standart hipervolemik ve hipertansif tedavinin vazospazma bağlı geç iskemi tedavisindeki olumlu etkilerini göstermişlerdir. 1980'li yıllarda Sasaki ve arkadaşları, oksijen radikallerinin membran fosfolipidlerinde peroksidasyona yol açtığını, bunun da serebral vazospazmın etyopatogenezinde önemli bir rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir (65).

1980 yılında Fischer ve arkadaşları, bilgisayarlı beyin tomografisinde subaraknoid mesafedeki pıhtı kalınlığının vazospazm gelişme ihtimali ile yakından ilişkili olduğunu göstermişlerdir (66).

3.2.3 Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Serebral vazospazmı, anjiyografik ve semptomatik vazospazm olarak incelemek gerekir. Bu konudaki literatürlerin taranması sonucunda elde edilen bilgilere göre anjiyografik vazospazm sıklıkla SAK sonrası 3-5. günlerde başlar, arteriyel lümen daralması maksimum 5-14. günlerde görülür ve 2-4 hafta arasında yavaşça düzelir (67). SAK sonrası yaklaşık yedinci günde yapılan anjiyografide arteriogramların %30 ile %70'inde anjiyografik vazospazmın dökümente edildiği bildirilmiştir (68). Ancak semptomatik vazospazm görülme zamanı anjiyografik vazospazma paralellik göstermesine rağmen olguların sadece %20-30'unda görülmektedir(69).

Yapılan çalışmalar, BBT'de görülen kanamanın miktarı ve lokalizasyonu ile radyolojik vazospazm oluşma riski ve dağılımı arasında bağlantı olduğunu göstermiştir. Fischer derecelendirme sistemi (4) (Tablo-IV) ve modifikasyonu bu amaçla kullanılmaktadır.

Tablo-IV. Anevrizmal Subaraknoid Kanamada Fisher BT Derecelendirme Skalası

1.Derece Saptanabilen subaraknoid kan yok (çok az riskli)
2.Derece 1mm kalınlıktan daha ince ve diffüz kan
3.Derece 1 mm veya daha fazla kalınlıkta ve/veya lokalize kan (orta derece riskli)
4.Derece İntraserebral veya intraventriküler kan

Erken cerrahi ile subaraknoid mesafedeki kanın temizlenmesinin radyolojik vazospazm riskini azaltacağı belirtilmektedir. Risk faktörleri aynı zamanda semptomatik vazospazm için de belirlenmiştir. Kötü klinik durum, ventrikül içi kan bulunması ve akut hidrocefali olması, eşlik eden hipovolemi ve hiponatremi, periferik lökositoz ve ateş bulunması, orta serebral arter anevrizması başta olmak üzere anevrizmanın yerleşim yeri, 35'den küçük yaş ve sigara içilmesi vb. bağımsız risk faktörleri olarak gösterilmiştir (70,71).

3.2.4 Vazospazmın Patofizyolojisi

Subaraknoid mesafedeki kan SVS patogenezinde rol oynar. Buna rağmen spazmojenik bir faktör sorumlu tutulmamış, bu olay uzun süreli arteriyel kontraksiyonu sağlayan vazodilatasyonu inhibe eden maddelere, immünoreaktif ya da inflamatuvar olaylara, mekanik faktörlere ve arteriyel metabolizmanın depresyonuna bağlanmıştır. Muhtemelen SVS kompleks multifaktöryel olayların sonucudur. Patofizyolojideki temel mekanizmaları dört başlık altında toplayabiliriz.

a-) Kan Ürünlerinin Yıkımı

Kabul gören hipotezlerden biri, olayın ekstrasvaze olmuş eritrosit ve trombositlerin yıkımı sonucu ortaya çıkan spazmojenler tarafından tetiklendiğidir (72). Tanımlanmış spazmojenlerden bazıları serotonin, prostaglandinler (PG), katekolaminler, histamin, anjiotensin, oksihemoglobindir (5). Ancak bu sayılan maddelerin hiçbirisi laboratuvar deneylerinde tek başlarına vazospazm oluşturmakta yeterli etki gösteremedikleri gibi izole olarak nötralize edildiklerinde de vazospazmın engellenmesi sağlanamamıştır (72). İn vivo çalışmalar, kan pıhtısı içinde eritrositlerin vazospazma yol açtığını; beyaz kan hücreleri, trombositler ve plazmanın

tek başına böyle bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bütün bu bulgular asıl spazmojenik faktörün hemoglobin olduğunu düşündürmekle birlikte, birçok modelde hemoglobin dışında daha pekçok madde ihtiva eden kırmızı kan hücrelerinin hemolizatlarının, izole halde hemoglobinden daha etkin vazokonstriktör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bütün bu bulgular hemoglobinin de tek başına vazospazma yol açmadığını telkin eder niteliktedir. (73,74). SAK sonrası hemoliz hemen başlar ve eritrositler tamamen lizize uğrayıncaya ve/veya fagosite edilinceye kadar devam eder. Yapılan çalışmalar bu maddeler arasında vazospazmı ana sorumlunun oksihemoglobin olduğunu göstermiştir (5,6). Vasküler endotel, vasküler gerginliğin düzenlenmesinde sentezlediği vazorelaksan (EDRF) ve vazokonstriktör (EDCF) faktörler ile katkıda bulunur. Nitrikoksit (NO), asetilkolin (Ach), bradikinin, adenosindifosfat (ADP), adenosintrifosfat (ATP), histamin, vazopressin, substance P, neurokinin A, neurokinin B ve PG F2 α vazorelaksan etki gösterirken, serotonin, norepinefrin, PG E2, Tx A2, leukotriene C4, endotelin 1 (ET1), endotelin 3(ET3) ise vazokonstriktör etki göstermektedir (5). Oksihemoglobin, vazokonstriktör ET ve PG üretimini arttırırken vazodilatör NO'ı inhibe eder (7). SAK sonrası azalmış endotelial NO ve artmış ET etkisinin vazospazm gelişiminde etkili olduğu bildirilmiştir (8).

Subaraknoid kanama patofizyolojisinde kan beyin bariyerinin hasarı önemli role sahiptir. Bu konuda deneysel çalışmalar vazospazm patogeneğinde lipid peroksidasyonu sonrası serbest radikallerin primer rolü olduğunu göstermiştir (75). Serbest radikaller poliansatüre yağ asitleri metabolizması ile etkileşime girmektedirler. Böylelikle belirgin sitotoksik etki gösterirler. Serbest radikallerin üretiminin katalize edilmesi için serbest demir gerekir. SAK'dan sonra ortamda demirin artması serebral vazospazm ve nöronal hasardan serbest radikallerin sorumlu olabileceğini düşündürmüştür (75). Oksihemoglobin serbest demir ile birlikte lipid peroksidasyon aktivitesini arttırarak oksijen serbest radikallerinin formasyonunu katalize eder. Bu proses endotel hasarı ile sonuçlanır ve intrasellüler kalsiyumun artışına yol açar. Kalsiyum ve kalsiyum bağımlı enzim olan kalmodulin, damar düz kas regülasyonunda önemli role sahiptir (7).

b-) Uzamış Arteriel Kontraksiyon

Uzamış arteriel kontraksiyon halen vazospazm gelişiminde en çok kabul gören teorilerdendir. Vasküler düz kaslar yavaş, tonik ve uzun süreli kasılırlar.

Kasılmalarında mekanik, elektriksel ve kimyasal uyaranlar rol oynar. Mekanik olarak damar duvarında transmural basınç artınca damarda sekonder dilatasyon gelişir. Basınç düşünce tekrar kasılma olur. Buradaki mekanik etkiye göre düz kasın kendisi tarafından düzenlenen kasılma-gevşeme reaksiyonlarına vasküler düz kasın miyojenik cevabı denmektedir. Vasküler düz kas hücrelerinin elektriksel uyarımı ise L ve T tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından L-tipi kalsiyum kanallarının açılmasına, membranin depolarize olmasına ve hücre içi kalsiyumun artarak damarda kontraksiyon gelişmesine neden olur. Hücre içi kalsiyum artışı ekstra sellüler mesafeden kalsiyum kanal yollarıyla, mekanik gerilme ve basınca duyarlı mekanizmalarla ve hücre içi kalsiyum depolarından (sarkoplazmik retikulum) sağlanır. Hücre içi kalsiyum artışı olmasıyla kalsiyum, hücre içinde kalmoduline bağlanır. Kalmodulin özel kalsiyum bağlayan bir protein yapısıdır (76). En önemli mekanizma hiç kuşkusuz sitozol içindeki kalsiyum aktivitesidir. Kalsiyum, kalmodulini ve sonrasında kalmodulin miyozin hafif zincir kinazı (MLCK) aktive eder. Bu miyozin hafif zincirinin (MLC), serine 19 pozisyonunda fosforilasyonuna neden olur. Aktin filamentleriyle etkileşme sonucunda kasılma gerçekleşir. Hücre içi kalsiyumun azaltılması ise siklik guanozin monofosfat (cGMP)'ın sarkoplazmik membrana bağımlı kalsiyum pompalarını aktive etmesi ile mümkün olur. Bu sayede düz kas hücresinde relaksasyon gerçekleşir. Nitrik oksit (NO) ise, cGMP üreten guanilat siklazın (GS) ana aktivatörüdür.

Ayrıca vasküler düz kas hücrelerinde potasyum (K^+) kanalları mevcuttur. Bu kanallar K_{ir} , K_{ATP} , K_v ve B_K kanallarıdır. Vasküler tonusun düzenlenmesinde özellikle B_K ve K_v kanalları görev alır. K_v kanalları istirahat halindeki membran potansiyelinin oluşturulmasında ve artmış luminal basınca myojenik cevaptan sorumludur. Membran depolarize olup kalsiyum artışı olduğu zaman B_K kanalları açılır, hücre içindeki (+) yüklü K^+ dışarı çıkar, hücre hiperpolarize olur. Böylece L-tipi kalsiyum kanalları kapanır ve vazodilatasyon gerçekleşir (76,77).

Hücre içindeki kalsiyum dengesi ve vasküler tonusun oluşturulmasında 3 temel yol vardır.

Fosfoinozitol yolu: Bu yolda fosfolipaz C (PLC) aktive olur. Fosfatidil inozitol 4,5'i hidrolize eder ve diaçilgliserol (DAG) ve IP3 oluşumuna neden olur. DAG protein kinaz C (PKC)'yi aktive eder ve vasküler kasın devamlı (sustained) kasılmasından

sorumludur. IP3 ise hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınmasını sağlar (78,79).

G-protein ile ilişkili yol: Bu yolda Gs ve Gi olmak üzere iki tip G proteini bulunmaktadır. Bu G proteinleri ile etkileşim sonucunda Gs adenilat siklazın aktive olmasına, Gi adenilat siklazın inhibe olmasına neden olur. cAMP'nin aktive olması MLCK'nın inhibe olmasına neden olarak kasılmayı inhibe eder. cAMP ve cGMP seviyeleri, siklazlar tarafından sentezlenmesi ve fosfodiesterazlar (PDE) tarafından yıkımı yolu ile dengede tutulur (80,81).

NO-cGMP yolu: Bu yolda ise L-Arjininden Nitrik oksid sentetaz (NOS) tarafından sentezlenen NO, guanil siklazı (GC) aktive ederek GTP'den cGMP oluşumuna neden olur. Temelde iki farklı guanil siklaz enzimi bulunmaktadır. NO duyarlı GC ve membrana lokalize natriüretik etkin GC. NO duyarlı GC $\alpha 1\beta 1$ izoformu beyin hariç tüm dokularda sentezlenmektedir. $\alpha 2\beta 1$ izoformu ise sinaptik iletiye spesifiktir. Düz kaslarda NO $\alpha 1\beta 1$ GC'a bağlanmasıyla GTP'de cGMP sentezi gerçekleşir. cGMP inozitol reseptörlere etki eder, myoglobulin hafif zincir fosfatazı defosforile eder ve düz kaslarda relaksasyona neden olur. cGMP protein kinaz yoluyla K_v kanallarını aktive eder, voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının kapanmasıyla damar dilatasyonu olur (82).

c-) İnflamatuvar Yanıt

SAK sonrası kanamanın olduğu bölgeye kan hücrelerinin migrasyonu 3. saatte başlar. İnflamasyonun bu akut döneminde lökositlerle vasküler endotelial hücrelerin arasında bir takım etkileşimler başlar. Bu etkileşimde lökositlerin vasküler hücrelerle etkileşimini sağlayan bir takım adhezyon molekülleri bulunmaktadır. Bunlar ICAM-1 (CD54), VCAM-1 (CD106), Mac-1 (CD11b/CD18), LFA ve selektinlerdir. ICAM-1 vasküler endotelial hücrelerden salgılanır. Lökositlerin endotelium boyunca ekstravazyonunu sağlar. Daha sonra selektinlerden E-selektin, P-selektin ve L-selektin lökositlerin vasküler lümene toplanmasına ve daha sıkı adhezyonuna neden olur. Selektinlerle sağlanan sıkı adhezyon LFA ve Mac-1 adlı adhezyon molekülleri ile stabil hale getirilir. Kanama sahasında iyice toplanan lökositler aktif oksijen moleküllerini üretilip salgılamaya başlar. Bu oksijen radikalleri

endotelial disfonksiyona, hücre içine kalsiyum geçişine ve damar düz kasında kontraksiyonlara neden olur (83,84).

Kanda bulunan diğer hücreler olan granülositler, monositler ve lenfositler de inflamasyon sahasına toplanırlar. İnflamasyonda bazı substratları salgırlar. Bu substratlar TNF α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8'dir. Adı geçen substratların sentezi ve düzenlenmesi ise normalde hücre stoplazmasında inaktif halde bulunan ve bir transkripsiyon faktörü olan Nükleer Faktör kappaB (NF- κ B) tarafından düzenlenmektedir. İnaktif haldeki NF- κ B reaktif oksijen ürünleri ile aktifleşmekte ve vazospazm kaskadı başlamaktadır (85,86,87).

TNF α çoğu hücre için sitotoksik etkili bir sitokindir. Monositler ve makrofajlar tarafından üretilir. Apoptik kaskatta TNFR-1 sinyal kompleksini aktive ederek; inaktif prokaspaz 8'i, kaspaz 8'e çevirerek hücre ölümünü başlatır. TNF α hipotalamusu uyararak vücut sıcaklığını artırır (88,89).

IL-1 monositler ve makrofajlar tarafından sentezlenir, ortamdaki serbest radikaller tarafından aktive olmuş NF- κ B'nin aktive edilmesinde (+) feed-back etkisi vardır (85,90).

IL-6 ve IL-8 endotelial hücrelere bağlanır ve permeabilite artışına neden olur. İnflamatuvar süreçte sahada kan hücrelerinden eritrositler kümeleşip trombüs formasyon oluşumuna neden olur. Bu trombüste IL-1 β , TNF α ve If γ gibi akut faz reaktanları üretilir. Kanamanın ilk 24 saati içinde görülmeye başlanan bu süreç, kanamanın 3.-4. gününe gelindiğinde sahada artmış fagositoz, salgılanmaya başlanan IL-1, IL-6 ve IL-8'in seviyelerinde belirgin yükselme ve lökositlerin sonradan degranüle olmasıyla endotelin salınımı şeklinde belirginleşir (88,90).

d-) Arter Duvarındaki Yapısal Değişiklikler

Hayvanlardaki deneysel subaraknoid kanamadan sonra ve anjiyografik vazospazmın görüldüğü insanlarda yapılan biopsilerde patolojik bir takım arteriyel duvar değişiklikleri görülmüştür. Elektron mikroskopik inceleme ile yapılan çalışmalarda endotel hücre tabakalarında vakuolizasyon, interendotelial sıkı bağlantılarda bozulma ve endotelial dökülme ve luminal mikrotrombozis gibi değişiklikler görülmüştür. Günümüzde arter duvarındaki değişikliklerin olayın nedeninden çok sonucu olduğu düşünülmektedir. Arteriyel hiperplazi, trombosit agregasyonu ve ödem sonucu gelişen yapısal değişiklikler serebrovasküler rezistansı

arttırarak serebral kan akımını azaltırlar. Hem deneysel ortamda geliştirilen hem de insandaki vazospastik damarların özelliği, belirgin kalınlaşmış media tabakası ve subaraknoid kanamadan sonra damar duvarında yangısal veya hipertrofik reaksiyonel sekonder değişikliklerdir. Bu nedenle damar duvarının kalınlığı primer olarak vasküler kontraksiyon ve duvar alanında artış ile adventisyanın enflamatuar infiltrasyonuna bağlıdır (4).

3.2.5 Klinik Özellikler

Serebral vazospazm SAK sonrasında ortaya çıkan, beynin kapasitans arterlerinde daralmayla birlikte seyreden, gecikmiş ve irreversibil olabilen iskemik nörolojik defisit olarak tanımlanır. Genellikle etkilenen arterin distalinde azalmış kan akımı ile ilişkili olan ve radyolojik olarak gösterilebilen perfüzyonda azalma ile birlikte. Erken cerrahi yapılması ile birlikte serebral vasospazm SAK'lı hastalarda mortalite ve morbiditeyi etkileyen en önemli komplikasyon olarak kalmıştır (91,92). Serebral vazospazmın şiddeti subaraknoid boşluktaki kan miktarı ile ilişkilidir (66). Serebral vazospazm klinik ve radyolojik olarak tanımlansa da, bu iki durum her zaman birbiri ile uyumlu olmamaktadır.

Klinik olarak, SAK sonrası üçüncü beşinci günler arasında görülmeye başlar; yedinci onuncu günler arasında en şiddetli şekilde görülürken, şiddeti azalarak ikinci haftanın sonuna doğru düzelir (67). Vazospazmın bilinen semptomları saatler, günler boyunca yavaş olarak gelişir. Şiddetlenen baş ağrısı, bilinçte bulanıklık, artan meningismus, düşük derecede ateş ve fokal nörolojik bulgular vazospazmın semptomlarıdır. İskemi tanısı diğer potansiyel nörolojik kötüleşme nedenleri dışlandıktan sonra konur. Serebral vazospazmın klinik etkilerini belirleyen en önemli faktör damar daralmasının boyutu ve serebral vazospazmın yaygınlığıdır (71). SAK sonrası 3.-4. günlerde bilinç bozulması, motor defisit veya afazi gelişmesi halinde doğrudan düşünülmeli; baş ağrısında artma, subfebril ateş halinde ise kuşku kullanılmalıdır. Artan baş ağrısı ile birlikte ateş yükselmesi, hafif bir konfüzyon ile ilk belirtiler başlayabilir. Arteriyel düzeyde devam ederse fokal nörolojik defisitler gelişir devamında serebral dokuda enfarkt ortaya çıkar. Kortikal iskemiler epileptik nöbetlere neden olabilir. Spazmın şiddetine bağlı olarak çok değişik bulgular çıkabilirse de ilk nörolojik bulgu genellikle diplopidir (71).

Etkilenen arterin lokalizasyonuna göre nörolojik defisitler değişiklik göstermektedir.

Orta serebral arter (MCA) tutulumunda, karşı tarafta hemiparezi ve dominant hemisfer etkilendiyse afazi gelişebilmektedir. Bilateral anterior serebral arter (ACA) tutulumunda; parapleji, frontal bulgular, akinezi, mutizm ve inkontinans ortaya çıkarken, tek taraflı tutulumlar karşı alt ekstremitede motor defisite yol açar. Posterior serebral arter (PCA) tutulumu; bilateral pitoza ve hemianopsiye neden olabilir. Posterior fossada vazospazm geliştiğinde hıçkırık, Cheyne-Stokes solunumu, ateş ve kan basıncı değişiklikleri görülebilmektedir.

Semptomatik vakaların yaklaşık %50'sinde kalıcı serebral enfarkt gelişir. Geri kalan hasta gurubunda anjiografik vazospazma rağmen defisitsiz tam düzelme mümkündür.

Radyolojik vasospazm subaraknoid kanama sonrası 7.-10. günler arasında %30-70 hastada görülmektedir. Oysaki semptomatik serebral vazospazm subaraknoid hemorajili hastaların sadece % 20-30'unda görülür (68).

Klinik vazospazm SAK sonrası 10.-14. günler arasında düzelse de radyolojik vazospazm 3.-4. haftalar arasında düzelmektedir. Fokal defisit gelişmeden radyolojik vasospazm gelişebilir. Radyolojik vazospazm gelişmeden de klinik vazospazm görülebilir.

Bazı hastalar vazospazmın gelişimi için yüksek risk taşırlar. Koma skoru düşük olanlar, ventrikül içinde kan bulunanlar, ateşi olanlar, akut hidrocefali gelişenler, meninks irritasyonu şiddetli olanlar ve erken dönemde kortikal boyanma gösterenler bunlara örnektir (54).

3.2.6 Tanı

Serebral vazospazm olduğu düşünülen hastalarda transkranyal doppler ultrasonografi, serebral arterlerdeki akımı gösterebilmesi açısından önemli bir tetkiktir. BBT, MR, MRA, Xenon BT, PET (Positron Emission Tomography) ve SPECT (Single Photon Emission Computerized Tomography) perfüzyon defektini ve iskemik alanları göstermede etkili tetkiklerdir. Serebral vazospazm tanısında en önemli tetkik daralan arterleri göstermesi nedeniyle DSA'dır. DSA'da görülen vazospazmı açmak amacı ile balon anjioplasti de yapılabilmektedir. Durumu akut kötüleşen hastalarda hidrocefaliyi, intraserebral hematomu, iskemik alanları ayırt etmesi, kolay ulaşılabilir olması ve kısa sürede sağlanabilir olması nedeni ile BBT faydalı bir tetkiktir (94).

3.2.7 Vazospazm Tedavisi Ve Önlenmesi

SAK sonrasında ortaya çıkan vazospazmı çözecek, beyini meydana gelebilecek iskemi ve enfarktlerden koruyacak ve vazospazma bağlı kötü gidişi durdurabilecek her yönü ile yeterli bir ilaç yoktur. Bununla birlikte genel olarak kabul görmüş ve kısmen etkinliği gösterilmiş tedavi seçenekleri kullanılmaktadır. Bunlardan bir tanesi 3H tedavisi olarak bilinen, hipervolemik, hipertansif, hemodilüsyonel tedavidir (64,95). Vazospazm sırasında otoregülasyon mekanizmalarının iskemik alanlarda bozulması nedeni ile kan basıncındaki değişikliklerin serebral kan basıncını etkilediği düşünülmektedir. Bu yüzden ki 3H tedavisinde damarları doldurmak suretiyle, beyine giden kan miktarını artırarak serebral perfüzyon basıncının artırılması hedeflenir. 3H tedavisi postoperatif hastalarda daha güvenli uygulanabilir, serebral mikrosirkülasyonda düzelmeye yol açar. Preoperatif dönemde anevrizma rüptür riski mevcuttur. Pratik olarak hematokrit değeri %30 (27-33), santral venöz basınç değeri 8-12 mmHg ve kan basıncı preoperatif 130-150 mmHg, postoperatif 150-170 mmHg olacak şekilde hedeflenir.

Diğer bir tedavi seçeneği olan kalsiyum kanal blokerlerinin kullanılması birçok çalışmaya konu olmuştur. Nimodipinin L tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek intraselüler kalsiyum artışını engellediği, hücre ölümünü önlediği ve semptomatik vazospazm gelişimini azalttığı gösterilmiştir (96,97). Yine yapılan çalışmaların ortak sonucu olarak; oral nimodipin kullanımının; her evredeki hastalarda vazospazma bağlı kötüleşmeyi belirgin olarak azalttığı, nimodipin tedavisi ile anjiyografideki damar çapının etkilenmediği, ilacın yan etkilerinin ve komplikasyonlarının minimal olduğu ve son olarak tedavi maliyetinin ucuz olduğu gösterilmiştir (98). Britanya anevrizma nimodipin çalışmasının sonuçlarına göre hastalarda serebral infarkt oluşma sıklığının %33'den %22'ye düştüğü, hastaların kötü gidişlerinde %40 azalma sağlandığı rapor edilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda kalsiyum kanal blokerlerinin leptomeningeal damarları genişleterek kollateral dolaşımı artırdıkları ve hücre koruyucu etki gösterdikleri rapor edilmiştir. Bütün bunların yanında son yıllarda bu konu ile ilgili tüm çalışmalarda nimodipin ile ilgili olumlu vazospazm insidansı ve anjiyografik olarak vazospazmın saptanmasında kontrol grupları ile farklılık gösterilmemiştir. Açıklanamayan bir mekanizma ile yaşam kalitesi üzerine olumlu etkileri saptanmıştır (99). Yine bir kalsiyum kanal blokeri olan intravenöz nikardipin ile yapılan çalışmalarda radyolojik vazospazmın azaldığı gösterilmiş, üçüncü ayda gruplar

arasında anlamlı fark olmadığı ve nörolojik sonuçlar üzerine yararlı etkisi bulunmadığı gösterilmiştir (100). Magnezyum, kalsiyum akımı üzerine inhibitör etkisi olması nedeni ile üzerinde çalışılmış olup nöroprotektif olmadığı belirlenmiş (101) ve anevrizmal SAK'ı olup postop magnezyum alan ve almayan gruplar arasında vazospazm sıklığında fark olmadığı gösterilmiştir. Balon anjioplastinin vazospazmda yararlı sonuçları gösterilse de %2-5 mortalite oranı bulunduğundan önerilmemektedir (102).

Birçok tedavi yöntemi denenmesine rağmen vazospazm insidansını ve ağır klinik tablosunu azaltmada tek başına önemli bir tedavi bulunamamıştır. Aslında en doğru yol subaraknoid mesafedeki kanın temizlenmesi olarak görülmektedir. Bu yüzden erken cerrahi seçeneği ile anevrizmanın erken tedavisi ve subaraknoid mesafenin yıkanması, ameliyattan sonra BOS sirkülasyonunun sağlanıp subaraknoid mesafenin temizlenmesi vazospazm sıklığını azaltmada etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir.

Metilprednizolon, ET-1 antagonistleri, papaverin, vazodilatatör kalsitonin ile ilişkili peptid, hidroksil radikali temizleyicileri, nöroprotektif ebselen (GPx benzeri aktivitesi olan, antioksidan-antiinflamatuvar etkili), ibuprofen gibi antienflamatuvarlar ve nitrik oksit donörleri yapılan çalışmalarda kullanılmış, ancak rutin tedavide yer alamamışlardır (103,104,105).

3.3 SERBEST RADİKAL REAKSİYONU, LİPİD PEROKSİDASYONU

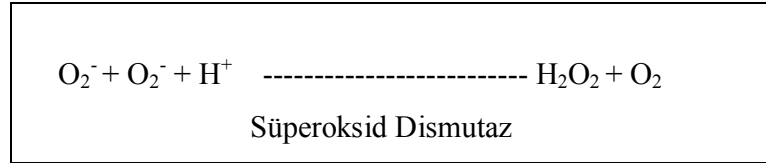
3.3.1 Serbest Oksijen Radikalleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. O₂ molekülü eşlenmemiş olmayan elektrona sahiptir ve kimyasal olarak diradikaldır. Bu iki elektron farklı orbitallerde olmasına rağmen yönleri aynıdır. Bu durumda oksijen molekülü elektron alıcısı gibi davranarak oksidasyon yapar. Eğer bir oksijen diradikali bir molekül veya atomu okside edecekse (2 elektron alacaksa), bu elektronların her biri mevcut elektronların hareket yönünün tersinde hareket eden elektronlar olmaları gerekir. Başka bir molekülün aynı orbitalindeki bir çift elektron bu gerekliliğe uymaz ve bu nedenle oksijen non-radikallerle çok yavaş reaksiyona girer. Ancak birçok oksidaz ve oksijenaz enzimleri ile mitokondriyal elektron transport zincirinde bulunan başta demir olmak üzere metal iyonları, bir elektron

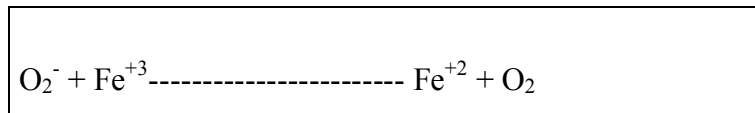
alma (veya verme) kapasiteleri sayesinde bu yörünge kısıtlanmasının üstesinden gelebilirler.

SAK sonrası hemoliz hemen başlar ve eritrositler tamamen lizise uğrayıncaya ve/veya fagositte edilinceye kadar devam eder. Yapılan çalışmalar bu maddeler arasında vazospazmda ana sorumlunun oksihemoglobin olduğunu göstermiştir (5,6). Eritrositlerin parçalanmasıyla açığa çıkan oksihemoglobin, methmoglobine çevrilirken güçlü bir serbest radikal olan superoksidler (O_2^-) oluşur. Oksijen molekülünün bir elektron alıp indirgenmesi veya indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu ile süperoksid (O_2^-) radikali oluşur (106). Bu da süperoksid dismutaz enzimi ile H_2O_2 'ye dönüşür (107). Serbest radikal olmakla birlikte direkt olarak etki etmez. H_2O_2 kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olarak önemlidir. Kendiliğinden veya enzimatik yolla dismutasyona uğrayabilir (9). Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir.

Tablo-V Hidrojen Peroksid Oluşumu

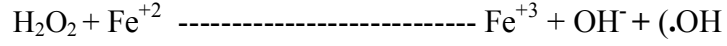


Tablo-VI Haber – Weiss Reaksiyonu



Oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2) kanama sonucu ortamda bulunan eritrositlerin parçalanmasıyla açığa çıkan demir ile reaksiyona girer ve hidroksi radikallerin (OH^-) oluşumuna neden olur. Zayıf oksidan, zayıf redüktan bir ajandır ve geçiş metali iyonlarının yokluğunda göreceli olarak stabildir. Esas önemi, O_2^- radikali veya Fe gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek hidroksil (OH) radikalini oluşturmasıdır.

Tablo-VII Fenton Reaksiyonu



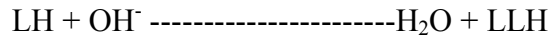
Hidroksil radikali; son derece reaktif bir oksidan radikalidir. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde büyük hasara sebep olur (9). Oksijen normal olarak sitokrom oksidaz tarafından katalize edilerek H₂O'nun 4 elektron indirgenmesine neden olur. Hücre içi oksijenin varlığı kısmen indirgenmiş toksik ara oksijen türlerinin uygunsuz üretimine yol açar. Bu türlerden en önemli üçü süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil iyonlarıdır. En önemli üç serbest radikali oluşturan bu toksik bileşikler sitozol, mitokondri, lizozom, peroksizom ve plazma membranı gibi hücrenin çeşitli yerlerinde çeşitli oksidatif enzimlerin aktivitesi ile üretilebilirler. Reaktif oksijen türevleri (ROT) aerobik canlılar için gerekli birçok reaksiyonda yer alırlar ve bunlar endojen antioksidan sistemlerle ortadan kaldırılırlar. Normalde ROT ile endojen antioksidan mekanizmalar arasında var olan denge ortadan kalkarsa oksidatif stres gelişir (2,69). Oksidatif stres hücre DNA'sının parçalanmasına, hücre membranı iyon transportunu sağlayan protein yapıların ve diğer protein yapıların yıkımına neden olur. Bunun neticesinde hasarlanmış hücre içine kalsiyum birikimi olur ve hücre içi yıkım enzimleri etkinleşir (108).

3.3.2 Lipid Peroksidasyonu

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır. Lipid peroksidasyonunda en etkili olan serbest radikal hidroksil radikaldır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlerler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (9,109).

Hidroksi radikal çok güçlü bir reaktiftir. Molekül yapısında bulunan hidrojen atomunu biyolojik molekülün yapısından çıkararak serbest radikal zincir reaksiyonunu tetikler. Hücre membranının yapısındaki yağ asidinin metilen

karbonuna bağı olan hidrojen atomunu yapıdan çıkararak eşlenmemiş elektrona sahip lipid radikali oluşumuna sebep olur. Lipid radikali, moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksi radikaline dönüşür. Peroksi radikal de lipid hidrokside indirgenir. Bunun neticesinde hücre membranı destabilize olup membran potansiyeli oluşturamaz hale gelir. Vasküler endotelial hücrelerde gelişen lipid peroksidasyonu sonucunda hücre yapısında hasar oluşur, vasküler permeabilite artışı neticesinde hücre içi kalsiyum birikimi olur.



Lipid, OH⁻: Hidroksiradikal

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt membran yapısına ve indirekt reaktif aldehytler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda malonil dialdehyt (MDA) meydana gelmektedir. MDA membranda; iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir (9,109).

Lipid peroksidasyonu sonucunda zar yapısı bozulduğu için geçirgenlik artar, transmembran proteinlerinde hasar oluşur (110). Lipid membranın destrüksiyonu hücrede iyon ve enzim dengesizliğine, bu da Ca⁺² akımına, hücre ödemi ve nekroza yol açar.

3.3.3 Antioksidan Savunma Sistemleri

Hücrelerde metabolik sürecin bir parçası olarak, sürekli serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri meydana gelmektedir. Serbest oksijen radikallerinin hasar yapıcı özelliklerine karşın hücrelerde doğal olarak oksidatif hasarı azaltmaya veya sınırlamaya düzenlenmiş, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir (111,112,113). Antioksidanlar, hem doğrudan, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonlarının istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Antioksidanların ilk belirlenen etkileri, zar yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyona karşı korunması olmuştur. Bunun sonucu olarak antioksidanlar, lipid

peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde antioksidanların tanımı, lipidlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef molekülleri koruyucu etkilerini de içerecek şekilde genişletilmiştir.

Başlıca enzimatik antioksidanlar;

Katalaz (CAT); Hücrede sitozol ve peroksizomlarda yerleşir. Hidrojenperoksidi su ve moleküler oksijene çevirir. Ortamdaki hidrojenperoksit konsantrasyonunun çok fazla arttığı durumlarda belirgin olarak artmaktadır (113).

Süperoksit Dismutaz (SOD); Süperoksit dismutaz, çok etkili bir hücre içi enzimatik antioksidandır. Bu enzim süperoksit radikallerinin daha az toksik etkili hidrojen peroksite ve oksijene dönüşmesini katalize etmektedir. Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkinin önlenmesinde SOD enziminin katalaz enzimi ile birlikte incelenmesi gerektiği ve hatta iki enzimin bir kompleks haline getirilip fenton reaksiyonu sonucu oluşan radikallerin giderilmesinde daha etkili olacağı düşünülmektedir.

Glutasyon Peroksidaz (GPx); GPx, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur. GPx'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Solunum patlaması sırasında, serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de GPx, oksidan strese karşı en etkili antioksidandır.

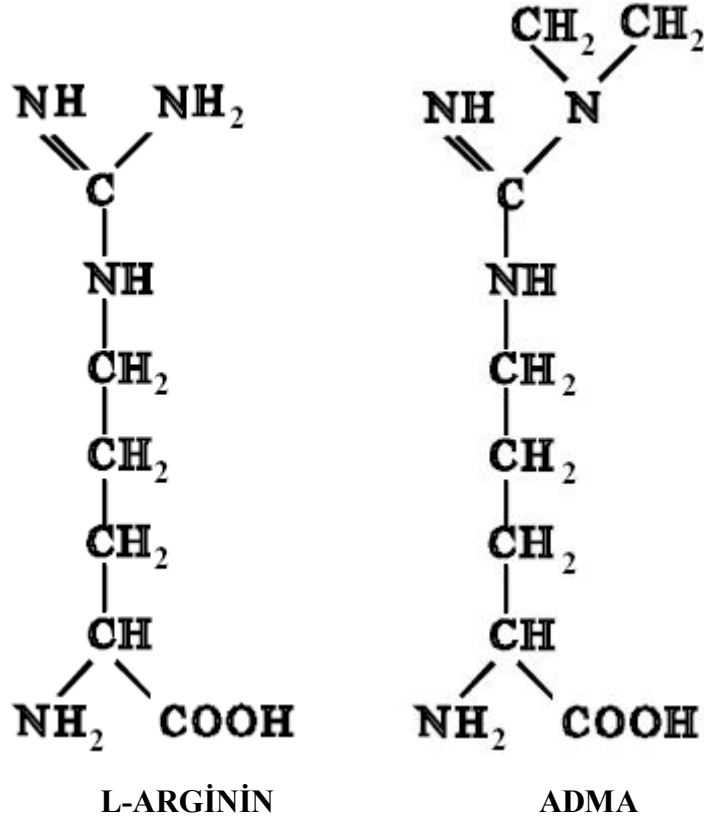
Glutasyon s-transferaz (GST), Glutasyon Redüktaz (GR) ve Myeloperoksidaz diğer enzimatik antioksidanlardır.

Glutasyon (GSH), A, E ve C non enzimatik antioksidanlara örnek gösterilebilir.

3.4 ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN (ADMA)

Asimetrik N^G, N^G dimetilarjinin, L-Arjininin guanidino analogu; endojen olarak sentezlenen, proteinlerdeki arjinin rezidülerinin protein arjinin metil transferazlarıyla (PRMT I) metillenmesiyle meydana gelen bir türev aminoasittir (Şekil 3.1). Metil grubu vericisi olarak S-adenozil metiyonin (SAM) kullanılır (114). 3 adet metilarjinin (ADMA, SDMA ve L-LMMA) Y taşıyıcı protein adı verilen katyonik aminoasit taşıyıcıları aracılığıyla endotelial hücrelerin içine girerler. Metil

arjininler birbirleriyle ve arjinin aminoasidi ile hücre içine giriş için yarışır. ADMA, L-Arjininin hücre içine transportunu engelleyerek NO sentezini azaltır. Bir diğer metil arjinin olan, simetrik dimetil arjininin (SDMA) NOS enzimi üzerine inaktive edici etkisi yoktur. Ancak L-Arjinin ve ADMA ile hücre giriş yolunu etkileyerek NO üretim hızında dolaylı yoldan etkisi vardır (115).



Şekil 3.1. Arjinin ve ADMA'nın moleküler formülleri

ADMA, plazmada doğal olarak bulunan bir aminoasittir. ADMA, endojen nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörüdür. NOS'un vücuttaki fonksiyonu, L-Arjinin'den nitrik oksit sentezinin sağlanmasıdır (116). ADMA kan basıncını yükseltir, vazokonstrüksiyona neden olur, endotel bağımlı relaksasyonu bozar, endotelial hücre adhezivitesini artırır. Kardiyak outputu azaltır. ADMA, protein yıkımı sırasında bütün hücrelerde sentezlenir. Birçok çalışmada kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin bağımsız bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (117).

Ortama çok fazla miktarda NOS enziminin substratı olan L-Arjinin eklenmesiyle ADMA'nın NOS üzerindeki inhibitör etkisi geri döndürülebilir. ADMA'nın tek hedefinin NOS enzimi olup olmadığı net olarak bilinmemektedir.

Klirensi böbreklerden olur. Böbrek yetmezliğinde, ADMA klirensinin azalması ile endotel vazodilatör disfonksiyonu başlamaktadır (118). Dimetil-arginin Dimetilaminohidrolaz (DDAH), ADMA'nın klirensinde görevlidir. DDAH ile ADMA, L-Sitrullin ve dimetilamine metabolize olur (119). Bu işlem genellikle yapıldığı hücrede gerçekleşmektedir. Metabolize olmayan çok az miktardaki bir kısmı ise dolaşıma geçmektedir. Dolaşımdaki kısmı ise ya yine böbrekten atılmakta veya diğer organlarda metabolize edilmektedir. Antioksidanlar, ADMA yıkılımını hızlandırmaktadır. Tedavide ADMA'yı azaltan ajanlar olarak; L-Arginin, folik asit, vitamin B6 ve B12 kullanılmaktadır.

3.5 NİTRİK OKSİT (NO)

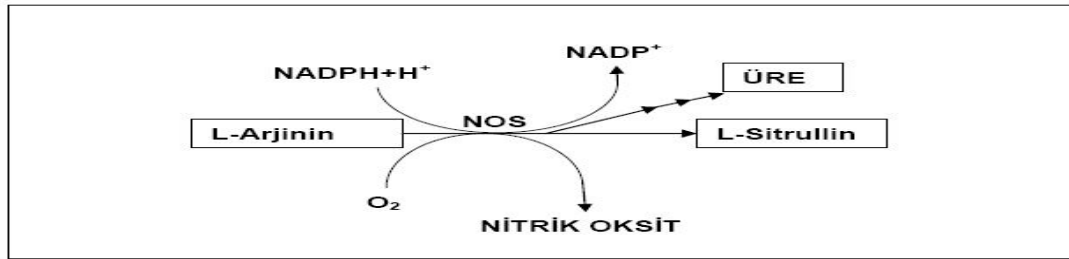
Vasküler endotel, vasküler gerginliğin düzenlenmesinde sentezlediği vazorelaksan (EDRF) ve vazokonstriktör (EDCF) faktörler ile katkıda bulunur. SAK sonrası azalmış endotelial NO ve artmış ET etkisinin vazospazm gelişiminde etkili olduğu bildirilmiştir (8).

NO, L-Arjinin aminoasidinin guanido nitrojeninin NOS aracılığı ile oksitlenmesi reaksiyonu ile in vivo olarak sentezlenir. L-Arjininden sentezlenen NO aynı zamanda çok kısa yarı ömrü olan bir serbest radikaldir. Kaveolin-1, kalmodulin'e bağlanır ve eNOS aktivitesini inhibe eder. Kalsiyumun (Ca^{++}) kalmodulin'e bağlanması kaveolin-1'i ayırır ve eNOS'u aktive ederek, NO üretimine yol açar. Tetrahidrobiopterin (BH_4) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) gibi kofaktörler de NO üretiminde rol alır (Şekil 3.2)(119).

Guanil siklazı (GC) aktive ederek GTP'den cGMP oluşumuna neden olur. Temelde iki farklı guanil siklaz enzimi bulunmaktadır. NO duyarlı GC ve membrana lokalize natriüretik etkin GC. NO duyarlı GC $\alpha 1\beta 1$ izoformu beyin hariç tüm dokularda sentezlenmektedir. $\alpha 2\beta 1$ izoformu ise sinaptik iletiye spesifiktir. Düz kaslarda NO $\alpha 1\beta 1$ GC'a bağlanmasıyla GTP'de cGMP sentezi gerçekleşir. cGMP inozitol reseptörlere etki eder, myoglobulin hafif zincir fosfatazı defosforile eder ve düz kaslarda relaksasyona neden olur. cGMP protein kinaz yoluyla K_v kanallarını aktive eder, voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının kapanmasıyla damar dilatasyonu

olur (82). cGMP'lerin inaktivasyonu endotel kaynaklı fosfodiesterazlar tarafından GMP'ye dönüştürülerek gerçekleştirilir(PDE I-V). Özellikle PDE V damar düz kaslarında hidrolizden sorumlu majör fosfodiesterazdır. Bu yolla SAK sonrası beyin damarları gibi dokularda NO-cGMP etkisi sınırlandırılmaktadır (Şekil 3.3)(119). Makrofajlardaki NO, tümör hücresi ve mikroorganizmalardaki Fe-S taşıyan enzimleri nitrolayarak, antimikrobiyal ve antitümoral sitotoksik etki gösterir. Ferritinle reaksiyona girerek serbest demir açığa çıkmasına neden olur. Bu da lipid peroksidasyonuna neden olabilir.

NO'in *invivo* olarak üretilmesi, NO ile NOS arasındaki (-) feed-back ve PRMT-1'in L-Arjinini metilasyonu ile düzenlenir (120). L-Arjininin ikinci defa metilasyonundan sonra SDMA ve ADMA oluşmaktadır. SDMA'nın ne görev yaptığı bilinmemektedir. Ancak ADMA, NOS'un endojen yarışmalı inhibitörüdür.



Şekil 3.2. L-Arjinden Üre Siklusunda NO Sentezlenmesi

NOS'un bilinen en az üç izoformu mevcuttur. İki konstitif ve biri indüklenebilir formudur. NOS₁ ve NOS₃ fizyolojik şartlarda ilgili reseptörleri uyarıldığında aktif hale geçerler. Nöronal (nNOS) ve endotelial (eNOS) olarak da bilinen NOS₁ ve NOS₃, aktif hale gelmek için Ca⁺⁺'a ihtiyaç duyar ve bu nedenle konstitif NOS olarak adlandırılmaktadır. Bu iki form nöronlarda ve endotelial hücrelerde sentezlenirler. Sentez süresi kısa ve miktarı azdır. Bunun sebebi hücre içerisindeki kalsiyum miktarı azaldığında enzimin inaktif olmasıdır. Diğer iki formun aksine, hücre içinde bulunmayan NOS₂, kalsiyumdan bağımsız olarak makrofajlar ve bazı hücreler tarafından sitokinlere veya endotoksinlere cevap olarak salgılanır. Normal şartlarda gösterilemeyen bu forma indüklenebilen veya uyarılabilen (iNOS) adı verilmiştir.

nNOS: Santral sinir sistemi başta olmak üzere diğer sistemlerde de gösterilmiştir. Başlıca nöromodulatör olarak görev yapar. Glutamat postsinaptik aralıktan NO

NO düşük konsantrasyonda olduğu zaman, O₂'e Hb'den 3000 kat daha fazla affiniteyle bağlanır. Hb okside formunda NO'ı kısa sürede Nitrat (NO₃) oksitleyerek etkisizleştirir. NO'nin dolaşımdaki en kuvvetli inhibitörü oksihemoglobindir.

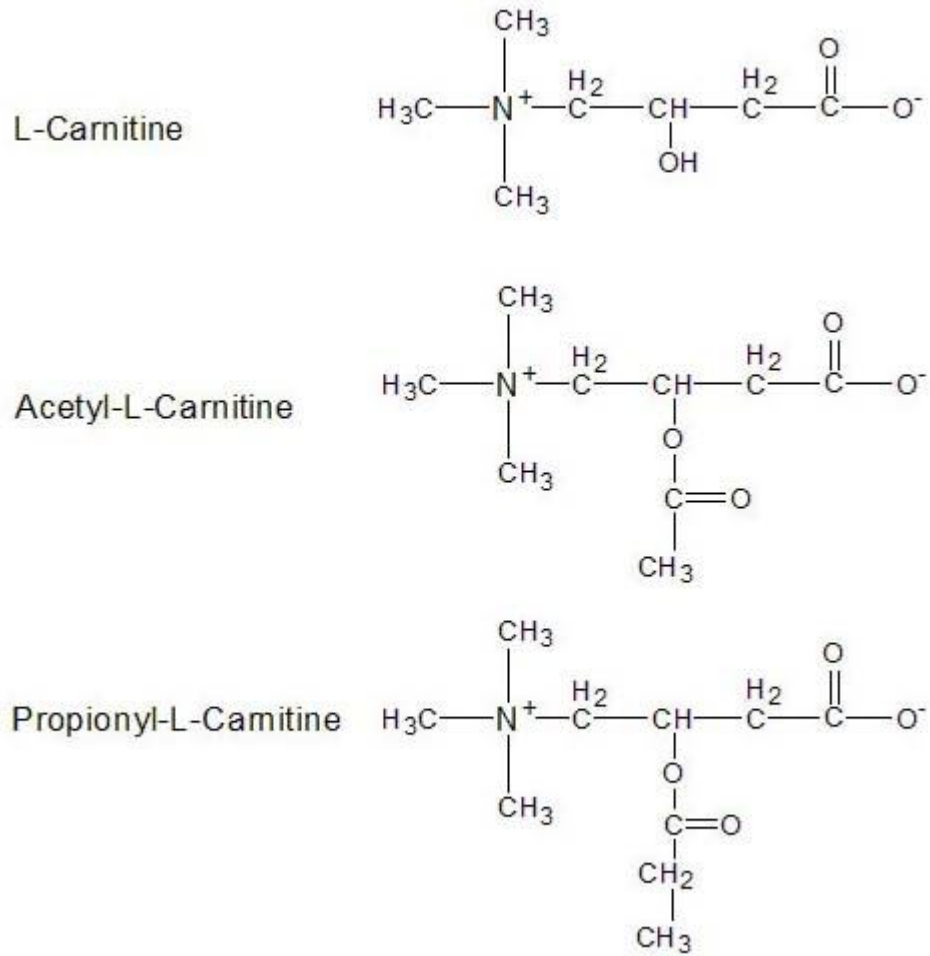
NO, süperoksit anyon radikali ile reaksiyona girerek peroksinitrite dönüşebilmektedir. Ancak NO bir yandan süperoksit anyon radikalini temizlerken diğere yandan oluşan peroksinitrit güçlü bir oksidandır. Peroksinitrit hücre membranında lipid peroksidasyonunu başlatarak hücre hasarı yapmaktadır (110).

3.6 ASETİL-L-KARNİTİN (ALCAR)

Karnitin; yapı olarak amino asitlere benzeyen, hiçbir proteinin yapısına girmediği için amino asit olarak kabul edilmeyen, vitamin benzeri, kuartern yapıda bir amindir. Karnitin ilk kez 1905 yılında hayvan kaslarından izole edilmiş, kimyasal yapısı 1927'de belirlenmiştir. Açık biyokimyasal formülü 3-hidroksi-4-N-trimetilaminobutirat şeklindedir (Şekil 3.3). Karnitin esansiyel olmayan bir amin türevidir. %75'i diyetle alınırken, %25'i karaciğere, böbrek ve beyin başta olmak üzere birçok organda esansiyel aminoasitler olan lizin ve metioninden sentezlenir. Bu sentez için C vitamini, niasin nikotinamid dinükleotid (NAD), flavin adenin dinükleotid (FAD), piridoksin, demir ve SAM'a ihtiyaç vardır (125).

Karnitin beta oksidasyona girebilmek üzere uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri matriksine geçişinde görev alır. Asetilenmiş Koenzim A (KoA) miktarını düzenler ve diğere hücresel metabolik olaylarda yer alır. Antioksidan özelliğie kanıtlanmış bir bileşiktir. Mitokondriye taşınan Açıl CoA da, trikarboksilik asit siklusuna (TKA) girer. Bu reaksiyonda elektron transport zinciri ve oksidatif fosforilasyon sırasında fazla miktarda oksijen tüketilerek ATP sentezlenir. TKA siklusu sonunda oksijen suya indirgenir. Böylelikle oksijen konsantrasyonu ve sonuçta ROT üretimi azalır (10).

Vücutta genellikle L izoformunda bulunur. L-Karnitin, Asetil-L-karnitin (ALCAR) ve Propionil-L-Karnitin olmak üzere üç türevi bulunmaktadır.



Şekil 3.4 Karnitin'in Vücutta Bulunan İzofomları

Diyetle alınan ve endojen olarak sentezlenen formu L-izoformundadır. L-karnitin aktif transport ve pasif difüzyon yolları ile barsaklardan emilir. Oral ve İV kullanılabilir. Maksimum kan konsantrasyonuna oral alımdan üç buçuk saat sonra ulaşılır ve 15 saatlik bir yarı ömrü vardır. Vücuttan atılımı böbrekler yolu ile olmaktadır (126).

ALCAR karnitin esterlerinden biridir. ALCAR sentezi, yağ asidi, ATP ve KoA kullanılması sureti ile açıl KoA sentez eden sitoplazmik tiokinaz enzimi ile başlar. Ardından, karnitin ile karnitin palmitoil transferaz-I yoluyla birleşerek, açilkarnitin oluşturur. Mitokondriye karnitin - açilkarnitin translokaz sistemiyle taşınır. Buna karşılık dışarıya bir karnitin atılır. Mitokondrial membranda karnitin palmitoil transferaz-II, açilkarnitini karnitine çevirerek açıl KoA'yı serbest bırakır. Son olarak, mitokondriyal matrikste bulunan karnitin asetil transferaz, karnitin ve asetil-KoA'dan ALCAR ve KoA üretir.

ALCAR'ın etkileri arasında;

- Yağ asidi Açıl CoA'yı beta oksidasyon için mitokondri membranından geçirmek
- Yağ asidi metabolizması ve ketogenezisin düzenlenmesini sağlamak
- Peroksizomal beta oksidasyon ile ortaya çıkan açıl köklerini yeniden oksidasyon için peroksizomdan mitokondriye taşımak
- Membran stabilizasyonu sağlamak
- Sentez için asetil grup vericisi (asetil kolin sentezi gibi) olmak
- Antioksidan etki oluşturmak sayılabilir.

Bu etkilerine ilaveten; ALCAR nöroprotektif, nöromodülatör ve nörotrofik etkilere sahiptir. Nöroprotektif etkilerinin bir kısmı nörotrofik etkileri ile ilişkilidir. İn vivo ve in vitro çalışmalarda nöron rejenerasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir. ALCAR beyinde Ach sentezi için gerekli asetil grubu kaynağıdır (125).

Yine yapılan çalışmalarda serbest radikal temizleyicisi olduğu ve hücreleri ROT'dan koruduğu gösterilmiştir (127). Hücre içi oksidatif hasarın lipid peroksidasyonuna, fosfolipid yıkımına ve bu yolla serbest yağ asidi miktarının artışına neden olduğu bildirilmiştir.

Farklı hücre örneklerinde yapılan çalışmalarda ALCAR'ın apoptozu, hücre membran geçirgenliğindeki değişiklikleri, mitokondrial disfonksiyonu ve lipid peroksidasyonunu güçlü şekilde engellediği gösterilmiştir. ALCAR oksidatif stresi engeller, nitrik oksidi ve oksidatif hasardan korunmaya yönelik enzimlerin aktivitesini düzenler (128,129).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın bütünü İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından incelenerek 27.04.2012 tarihindeki oturumda 2012/A-54 karar numarası ile onaylanmıştır. Ratlar İnönü Üniversitesi Deney Hayvanı Üretim ve Araştırma Merkezinden temin edildi ve takibi yapıldı. Çalışmanın deneysel bölümü, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Preparatların hazırlanması, baziler arter çap ölçümleri ve histopatolojik incelemeleri Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, immünokimyasal ölçümler Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Çalışmada, daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış, sağlıklı ve ağırlıkları 235-350 gr arasında değişen 35 adet erişkin Wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Deney süresince deneklerin tümü 22 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda kafeslerde tutuldu. Deneklere standart beslenme koşulları sağlandı. Deney için denekler, her birinde yedi denek bulunan beş gruba randomize edilerek dağıtıldı. Çalışma İnönü Üniversitesi Deney Hayvanı Üretim ve Araştırma Merkezinde standart cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi.

4.1. ANESTEZİ

Deney hayvanlarının anestezisi, 12 saat önceden aç bırakılarak, spontan solunumda Ketamin Hidroklorür (60 mg/kg) (Ketalar, Parke Davis) ve Xylazine Hidroklorür (10mg/kg) (Rompun-%2 Bayer) karışımının intraperitoneal enjeksiyonu ile sağlandı. Anestezi ratlar ağrıya yanıtızsız olacak ve deney sırasında spontan

solunumlarına devam edecek şekilde ayarlandı. Gerekğinde Xylazine ile ek doz anestezi yapıldı. Deney sırasında ratların vücut ısısı rektal ısı probu ile kontrol edilerek 37 °C sabit tutuldu. Çalışma sonrası ratlar normal oda ısısında (20-22 °C) bırakıldı.

4.2. SUBARAKNOİD KANAMA MODELİ VE UYGULANMASI

Anestezi sağlandıktan sonra, tüm ratların inion ile atlas arası traş edildi. Batticon ile saha temizliği yapıldıktan sonra, inion ile atlas arasına yaklaşık 2 cm'lik cilt bölgesi hazırlandı. Takibinde kontrol grubu dışındaki tüm gruplardaki denekler supine pozisyona getirildi. Sağ inguinal bölgenin Batticon ile saha temizliği yapıldı ve cilt insizyonunun ardından sağ femoral arter ortaya kondu. Femoral arter kateterize edilerek, 0.3 ml nonheparinize arteriyel kan alındı. Ardından ratlar yeniden prone pozisyonuna getirildi. Baş hiperfleksiyona getirilerek atlanto-oksipital mesafeden PPD enjektörü ile sisterna magnaya girildi. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplardaki deneklerden eşit miktarda (0,2 ml) BOS boşaltıldı. Yine aynı deneklere, femoral arterden alınan nonheparinize kan eşit miktarda (0,2ml) yavaşça enjekte edildi (130,131). Bu işlemi takiben ratlar 15 dakika süreyle daha önceden hazırlanan sehpa üzerinde trendelenburg pozisyonunda tutularak kanın prepontin sisternaya yayılması sağlandı. Ratlar tamamen uyandıktan sonra kafeslerine alındı. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplardaki deneklere, 48. saatte ikinci kez sisterna magna ponksiyonu yapılarak nonheparinize kan enjeksiyonu gerçekleştirildi (130,132) (Resim 4.1).



Resim 4.1. Atlantooksipital bileşke lokalizasyonunda sisterna magnaya nonheparinize otolog arteriyel kan enjeksiyonu.

4.3. DENEY GRUPLARI

Bu çalışmada, kontrol grubu (SAK yapılmayan) (n=7), SAK yapılan (n=7), SAK yapıp ALCAR (50 mg/kg/12h) (n=7), SAK yapıp ALCAR (100 mg/kg/12h) (n=7) ve SAK yapıp plasebo uygulanan (taşıyıcı molekül, %0.9 salin SF) (n=7) olmak üzere 5 ana grupta toplam 35 adet Wistar Albino erişkin erkek rat üzerinde çalışıldı.

Çalışmamızda O-Asetil-L-karnitin HCl (Sigma-Aldrich, Ürün No: A6706) kullanıldı. İlaç dozları ALCAR miktarları hesaplanıp, 0.1 ml'de 5 mg olacak şekilde serum fizyolojikte çözülerek hazırlandı.

1.Grup (Kontrol) (n=7)

Bu gruptaki ratlar hiçbir işlem uygulanmadan çalışmanın sonunda sakrifiye edildiler.

2.Grup (SAK Oluşturulan Ve %0,9 SF) (n=6)

Bu gruptaki ratlara ikinci SAK işleminden sonra başlanmak sureti ile 12 saate bir olmak üzere 72 saat boyunca intraperitoneal (İP) yoldan, 0,3 ml SF verildi. 72 saat

sonunda biyokimyasal ve histopatolojik örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildiler. Bu grupta çalışmaya 7 adet rat ile başlandı. Kaybedilen 1 adet rat çalışmadan çıkartıldı.

3.Grup (SAK Oluşturulan Ve 50 ml/kg/12h ALCAR) (n=6)

Bu gruptaki ratlara ikinci SAK işleminden sonra başlanmak sureti ile 12 saate bir olmak üzere 72 saat boyunca İP yoldan 50 mg/kg/12h ALCAR verildi. 72 saat sonunda biyokimyasal ve histopatolojik örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildi. Bu grupta çalışmaya 7 adet rat ile başlandı. Kaybedilen 1 adet rat çalışmadan çıkartıldı.

4.Grup (SAK Oluşturulan Ve 100 ml/kg/12h ALCAR) (n=6)

Bu gruptaki ratlara ikinci SAK işleminden sonra başlanmak sureti ile 12 saate bir olmak üzere 72 saat boyunca İP yoldan 100 mg/kg/12h ALCAR verildi. 72 saat sonunda biyokimyasal ve histopatolojik örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildi. Bu grupta çalışmaya 7 adet rat ile başlandı. Kaybedilen 1 adet rat çalışmadan çıkartıldı.

5.Grup (SAK Oluşturulan Ama Tedavi Almayan) (n=6)

Bu gruptaki ratlara ikinci SAK işleminden sonra herhangi bir tedavi verilmedi. 72 saat sonunda biyokimyasal ve histopatolojik örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildi. Bu grupta çalışmaya 7 adet rat ile başlandı. Kaybedilen 1 adet rat çalışmadan çıkartıldı.

4.4. DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI VE HAZIRLANMASI

4.4.1. Sakrifikasyon işlemi

72 saat sonunda tüm deneklere, spontan solunumda Ketamin Hidroklorür (60 mg/kg) (Ketalar, Parke Davis) ve Xylazine Hidroklorür (10mg/kg) (Rompun-%2 Bayer) karışımının İP enjeksiyonu ile anestezi sağlandı. Anestezi sonrasında tüm deneklere torakotomi yapıldı. Torakotomi sonrasında kan alma işlemine geçildi. Sol ventrikül içerisine girilerek tüm deneklerden ortalama 6-7 cc kan alındı. Kan alınması işlemini takiben 5 dakika süreyle intrakardiak serum fizyolojik verilerek doku perfüzyonu yapıldı. Böylece beyin dokusu kan elemanlarından arındırılmış

oldu. Ardından tüm deneklere bilateral fronto-parieto-oksipital kraniektomi yapıldı. Foramen magnum üzerinde kalan serebrum, serebellum ve beyin sapı total olarak anatomik bütünlüğü korunacak şekilde çıkarıldı. Makroskopik olarak, SAK yapılan tüm deneklerde beyin sapı bazal yüzeyinde vertebral arterler ve baziler arter çevresinde yaygın subaraknoid kanama izlendi.

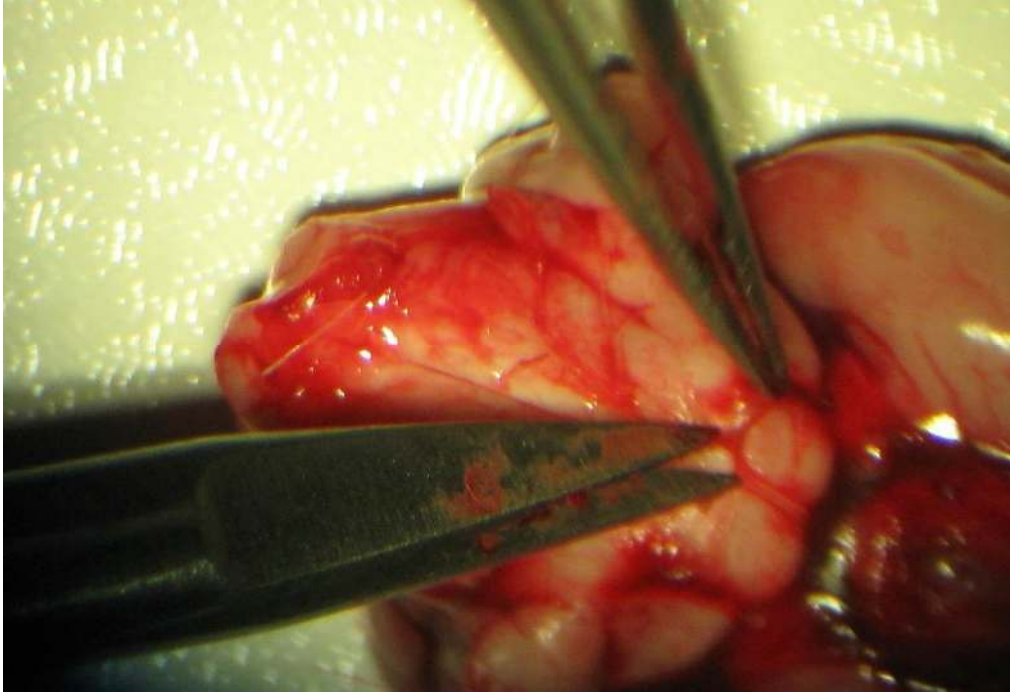


Resim 4.2 Subaraknoid kanama oluşturulmuş deneğin tek parça halinde çıkarılmış beyin, beyincik ve beyin sapının alttan görünüşü

4.4.2. Doku Örneklerinin Hazırlanması

Beyin sapından geçen kesitlerden mikroskop altında baziler arter diseke edilerek çıkarıldı. Baziler arter kesitleri gluteraldehit içerisine, beyin sapı ve beyin dokusundan alınan kesitler %10 formaldehit içerisine alınarak fiksede edildi.

Doku homejanatlarının hazırlanması amacıyla alınan örnekler alüminyum folyo içerisinde -30 °C'de saklandı.



Resim 4.3 Mikroskop altında, baziler arterin, baziler sulcistan diseke edilerek çıkarılması.



Resim 4.4 Mikroskop altında baziler sulcistan diseke edilerek ayrılan baziler arter.

4.4.3. Biyokimyasal incelemeler

Daha önce alüminyum folyo içerisinde -30°C 'de saklanan preparatlar homojenat elde etmek amacı ile 0,1 gr beyin dokusu 0,9 ml pH:7 olan sodyum fosfat tamponu ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) ile 1/10 oranında muamele edildi. Ardından buz kabına yerleştirilmiş cam tüpte, ucu teflon kaplı homojenizatör kullanılarak 2 dk 12.000 rpm'de homojenize edildi. Bu homojenat daha sonra 3500 rpm'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'ta 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar ADMA, SDMA ve Nitrik Oksit ölçümlerinde kullanıldı.

L-Arjinin, ADMA VE SDMA ölçümleri; Bu testler kombine olarak, Shimadzu marka HPLC (High (Performance) Pressure Liquid Chromatography) cihazında, EUREKA (Head Quarter: Via E. Fermi 25 60033 Chiaravalle (AN) ITALY) kiti kullanılarak floresans dedektörle elde edilen kromatogramlarla analiz edildi.

NO ölçümleri: Serum ve doku süpernatantları deproteinize edilerek enzimatik Greiss yöntemine göre spektrofotometrik olarak ölçüldü (133).

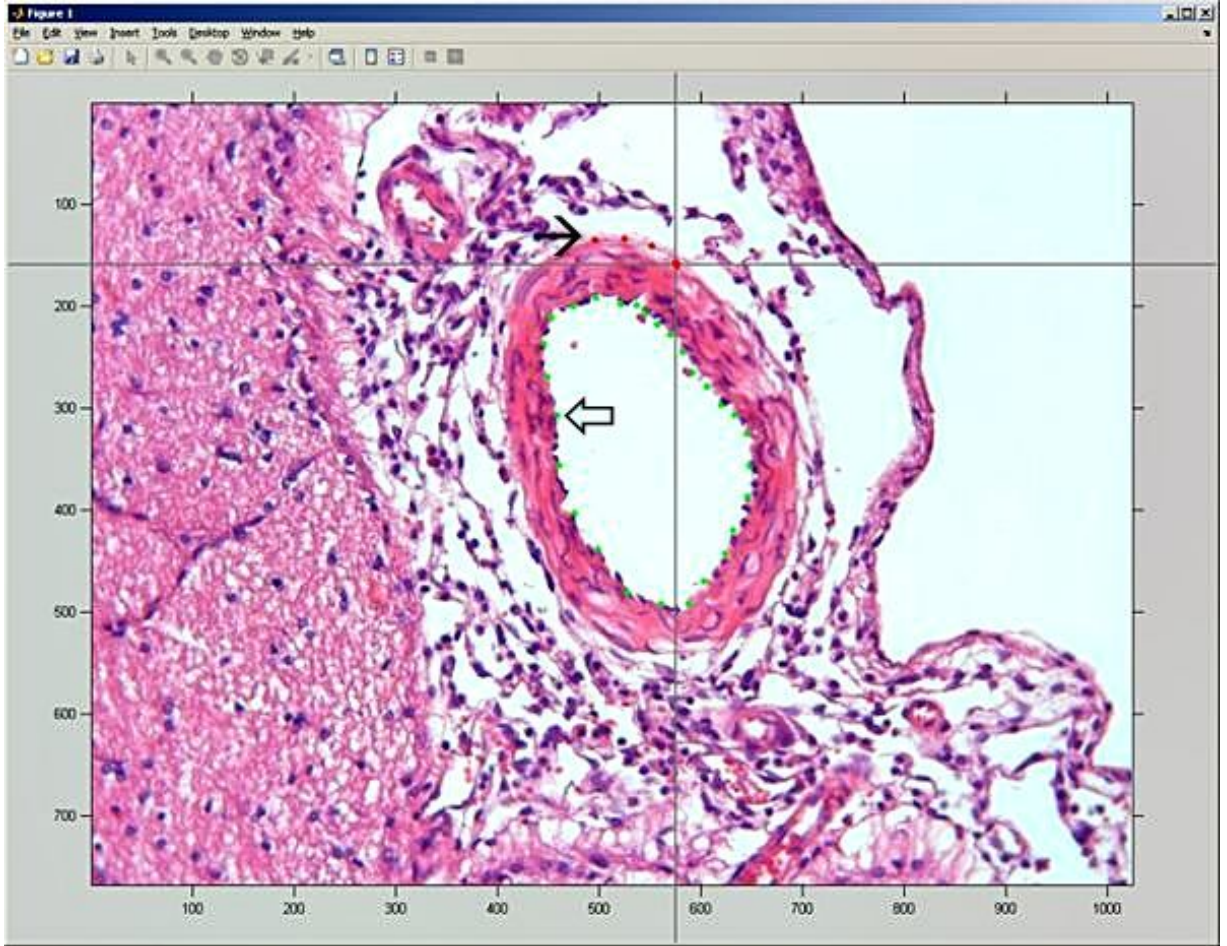
4.4.4. Histopatolojik incelemeler

Histopatolojik inceleme için serebral doku ve baziler arteri de içeren beyin sapı kesitlerinin örnekleri % 10'luk formaldehit içerisinde 48 saat süre ile tespit edildi. Tespit işlemini sonrasında basilar arter segmentini içeren beyin dokusu örnekleri rutin histolojik doku takip işlemi basamaklarından geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla $6\ \mu\text{m}$ kalınlığında kesitler hazırlandı. Lamlar üzerine alınan kesitler hematoxilen – eozin (H-E) ile boyandıktan sonra Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz Sistemi (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) ile incelenerek fotoğraflar çekildi.

Hematoxilen – eozin ile boyanan histolojik kesitlerde basilar arterlerin transvers kesitleri ve çevre sinir dokusu ışık mikroskopik olarak histopatolojik yönden değerlendirildi. Basilar arterlerin damar imgeleri kullanılarak Lümen alanı (μm^2), Damar alanı (μm^2), Lümen çapı (μm), Damar duvar kalınlığı (μm^2) bilgileri elde edildi.

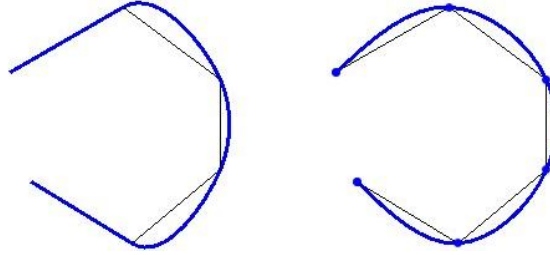
Adı geçen ölçümler için, 2.66 GHz Pentium IV işlemcili ve 2GB RAM bellekli bir masaüstü bilgisayar ve bu bilgisayara yüklenmiş Matlab R2012b programında eğri uydurma yöntemi kullanıldı.

İlk olarak, bilgisayarda yüklü olan ve RGB renk formatına sahip her bir beyin baziler arter imgesi Matlab aracılığı ile okunarak matrissel formata dönüştürüldü. Daha sonra her bir beyin baziler arter imgesindeki lümen alanı ve damar alanının sınırlarını ifade eden referans noktaları işaretlendi. İlgili noktalara ait koordinat bilgileri kaydedildi. Böylece her bir imgede kabaca lümen poligonu ve damar poligonu elde edilmiş oldu. Lümen ve damar poligonuna ait koordinatların seçildi ve kaydedildi (Şekil 4.1). Yeşil noktalar lümen poligon sınırlarını, kırmızı noktalar ise damar sınırlarını ifade etmektedir.



Şekil 4.1. Beyin baziler arter imgesi ve uzman tarafından girilen lümen ve damar poligon koordinatları. Kalın ok yeşil noktaları, ince ok kırmızı noktaları göstermektedir.

Sonraki aşamada, kabaca belirlenen lümen ve damar poligonlarına ait koordinat bilgilerinden B-spline eğri uydurma yöntemi kullanılarak hassas poligon eğrileri elde edildi. Şekil 2’de değişik örneklerle gösterilen B-spline eğrileri, bilgisayar grafiklerinde ve Bilgisayar Destekli Tasarım (CAD) uygulamalarında çok kullanılmaktadır.



Şekil 4.2. Örnek B-spline eğrileri

Matematiksel olarak kısaca ifade etmek gerekirse, $N + 1$ adet nokta $P_i(x_i, y_i), i = 0, 1, 2, \dots, N$ şeklinde verilmiş olsun. Herhangi bir $P_i - P_{i+1}$ ($i = 0, 1, 2, \dots, N$) aralığındaki kübik B-spline eğrisi parametrik olarak aşağıdaki gibi ifade edilmektedir;

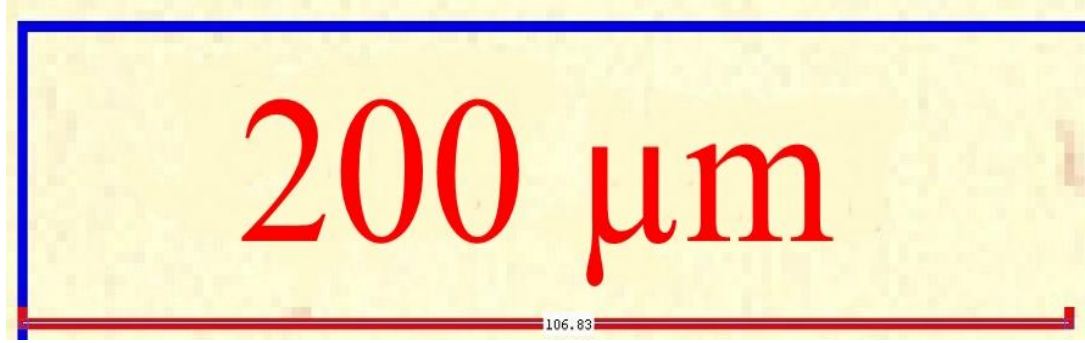
$$B_i(u) = \sum_{k=-1}^2 b_k P_{i+k} \quad (0 \leq u \leq 1)$$

Alan hesaplamasında ilk olarak lümen ve damar poligonlarının alanı tespit edilir. Lümen alanını hesaplamak için imgedeki her bir pikselin elde edilen hassas lümen koordinatlarının içerisine mi yoksa dışarısına mı düştüğü kontrol edilir. Böylece imgedeki pikseller lümen poligonuna ait ve ait olmayan şeklinde iki sınıfa ayrılır. Lümeneye ait olan piksellerin sayısı lümen alanını ifade etmektedir. Aynı işlem damar koordinatları kullanılarak damarın alanını bulmak için yapılır. Her iki poligonun alanı hesaplandıktan sonra poligon çapları aşağıdaki gibi hesaplanır;

$$\text{Çap} = \sqrt{2 * \frac{\text{Alan}}{\pi}}$$

Damar kalınlığı, damar çapından lümen çapının çıkarılmasıyla hesaplanmaktadır.

Piksel olarak elde edilen alan ve çap bilgilerinin mikro-metre birimine dönüştürülmesi için şekil 4.3'deki referans dönüşüm imgesi kullanılmıştır. Bu imgede 200 mikron uzunluğunu ifade eden bir çizgi yer almaktadır ve Matlab'daki imtool aracıyla bu çizginin kaç piksel olduğu tespit edilmiştir. Böylece piksel olarak hesaplanan alan ve çap bilgileri $200/106.83=1.8721$ katsayısı ile çarpılarak mikro-metre birimine dnştrlmştir.



şekil 4.3. Piksel mikro-metre dönüşümü imgesi

5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmanın istatistiksel analizlerinde SPSS 16.0 programında tanımlayıcı veriler ortanca (Min-Max) olarak verildi. Normal dağılım varsayımı sağlanmadığı için, grupların ortancalarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar Connover varyans analizi ile yapıldı. $P < 0.05$ anlamlı olarak alındı.

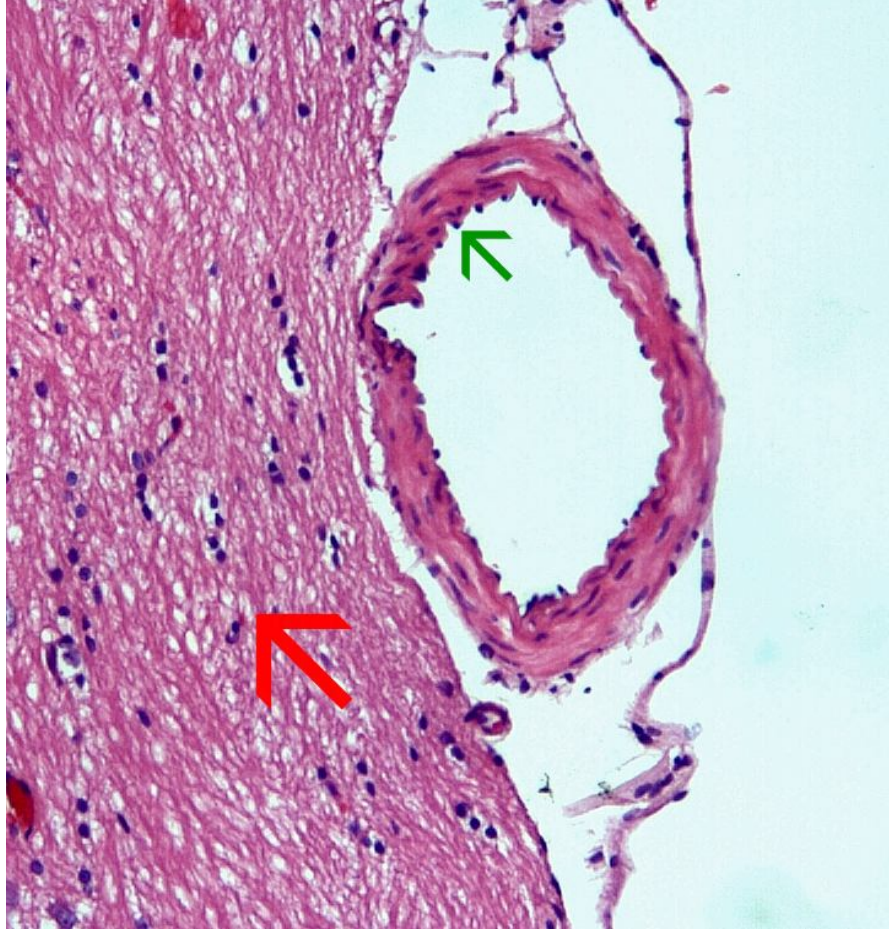
6. BULGULAR

6.1. MAKROSKOBİK BULGULAR

Makroskopik olarak; sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile subaraknoid kanama oluşturulan Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'teki deneklerin bilateral total kraniektomi sonrası hepsinde beyin ventral yüzeyinde ve bazal sisternlerde yaygın subaraknoid kanamaya ait pıhtı olduğu izlendi (Resim 4.2).

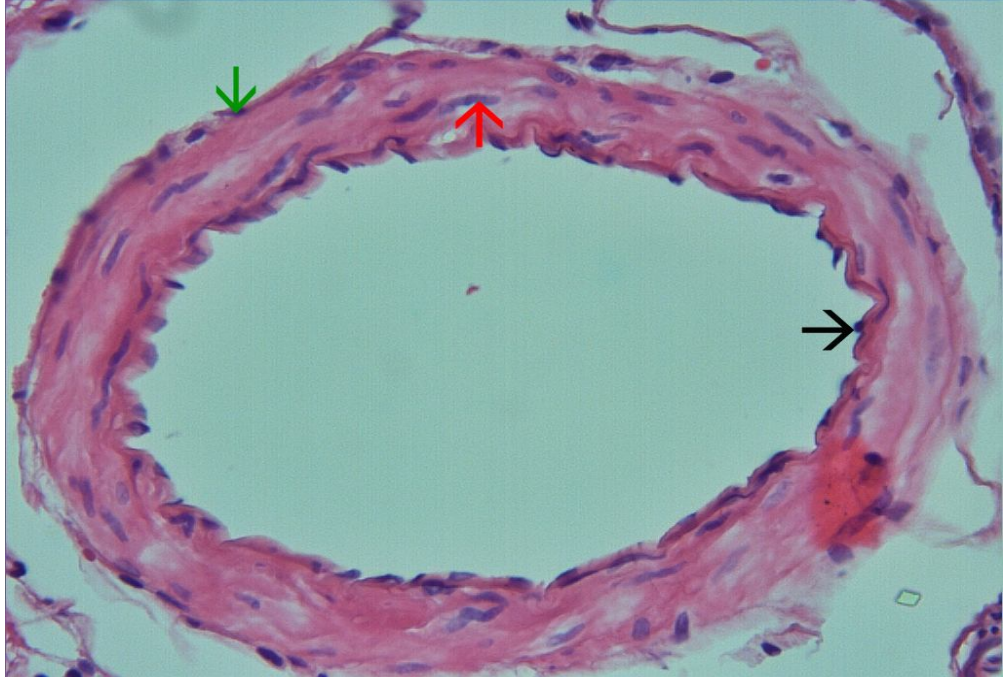
6.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Grup 1 (Kontrol): Işık mikroskopik incelemede arter duvarının içten dışa doğru normal histolojik yapıda intima, media ve adventisya tabakalarını içerdiği görüldü. Arter lümeni açık ve düzgün olarak izlendi. Lüminal yüzde, tek sıra yassı endotel hücreleri ile döşenmişti. Media tabakası birbirine paralel, sirküler seyirli düz kas hücre tabakalarından oluşmuştu. Adventisya tabakası gevşek bağ dokusu yapısında izlendi. Perivasküler alan ve çevre sinir dokusu normal histolojik yapıda değerlendirildi (Resim 6.1, 6.2).

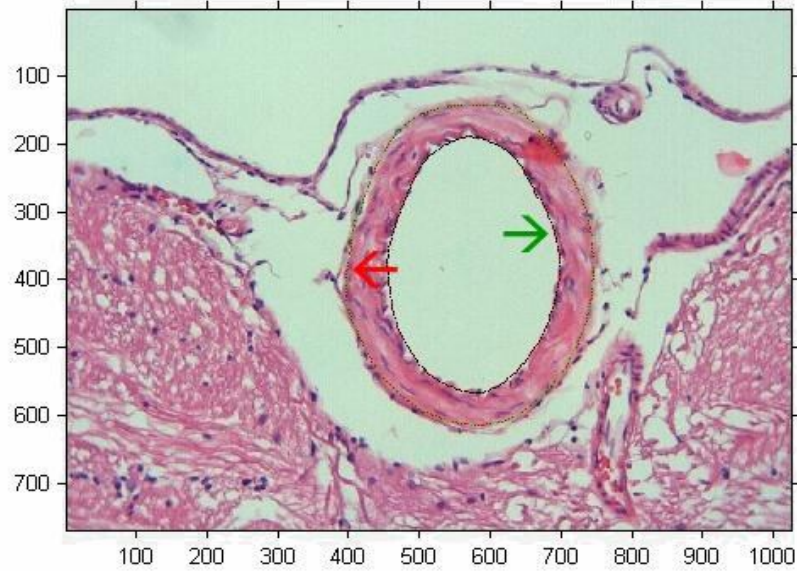


Resim 6.1 Grup 1, Normal histolojik görünümde arter (yeşil ok) ve beyin dokusu (kırmızı ok), H-E, x20.

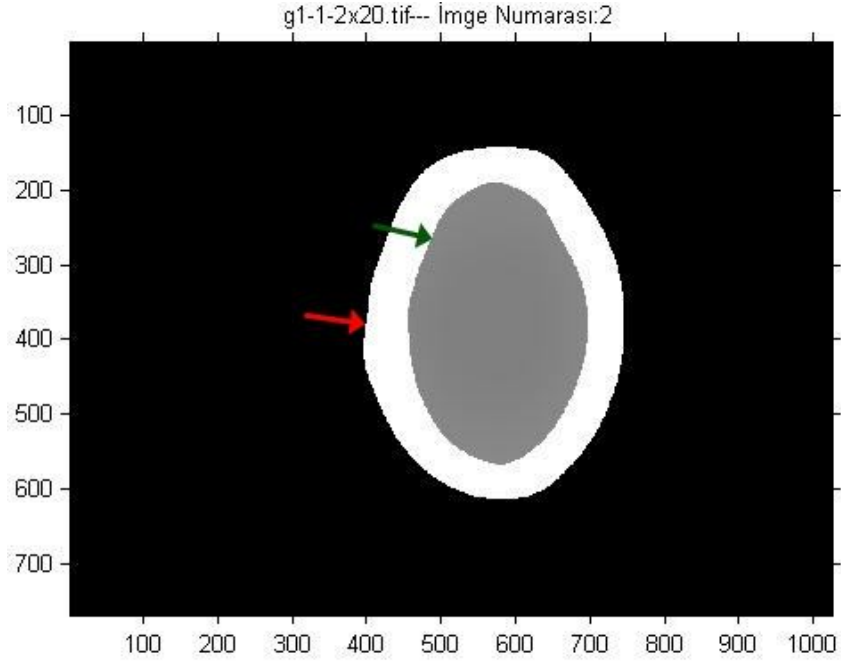
Grup 1'in histopatolojik kesitlerinde baziler arterin ve etrafındaki beyin dokusunun görüntülenip selüler haritasının çıkarılmasından sonra, bu görüntülerden işaretlenen lümen ve damar poligon koordinatları eşliğinde bilgisayar ortamında baziler arter lümen alanı, damar duvar kalınlığı ve baziler arter alanı ölçüldü (Resim 6.3, 6.4).



Resim 6.2 Grup 1: Normal histolojik görünümde arter; tek sıra yassı endotel hücreleri (siyah ok), birbirine paralel, sirküler seyirli düz kas hücreleri (kırmızı ok), gevşek bağ dokusu (yeşil ok) H-E, x40.



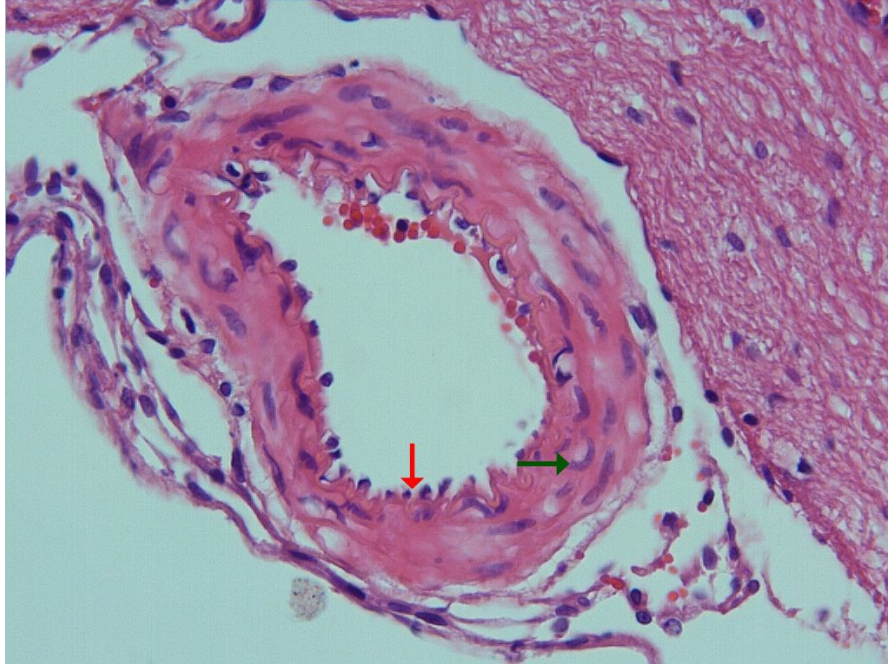
Resim 6.3 Grup 1: Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar poligon koordinatları. Yeşil ok damar lümen koordinatlarını, kırmızı ok damar duvarı dış çap koordinatlarını göstermekte.



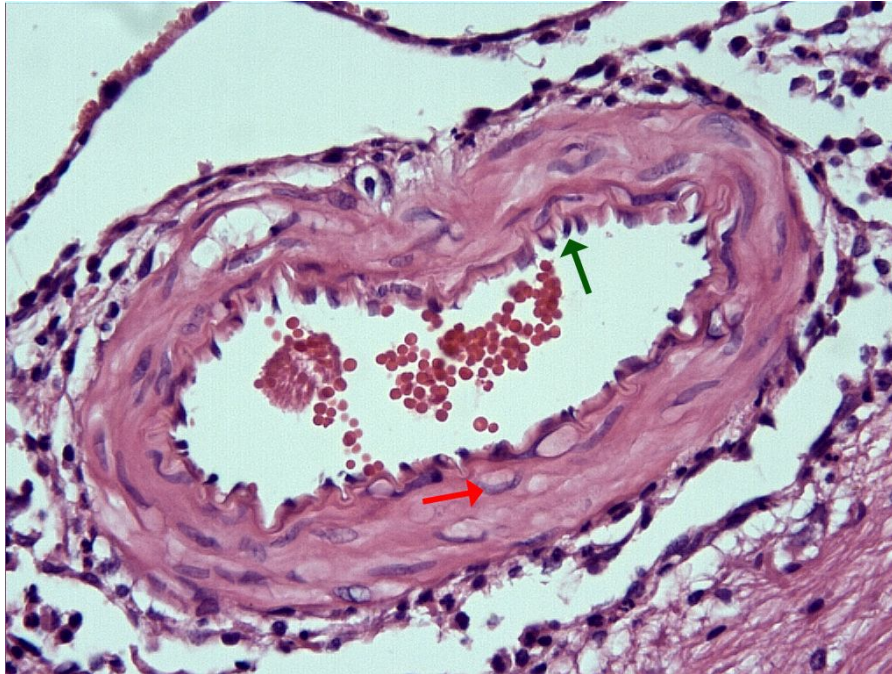
Resim 6.4 Grup 1: Resim 6.3'te lümen ve damar poligon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü. Yeşil ok damar lümen çapını, kırmızı ok damar duvarının çapını göstermekte.

Grup 2: Bu grubun arter kesitlerinde, endotel hücrelerinde lümene doğru çıkıntı, perinuklear alanda intrasellüler ödem ve yer yer alttaki elastik laminadan ayrılmalar görüldü. Lamina elastika internanın kıvrımlarında, media tabakasının düz kas hücrelerinin kontraksiyonunda artış ve boylarında kısalma saptandı. Düz kas hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon ve şişme dikkati çekti (Resim 6.5, Resim 6.6).

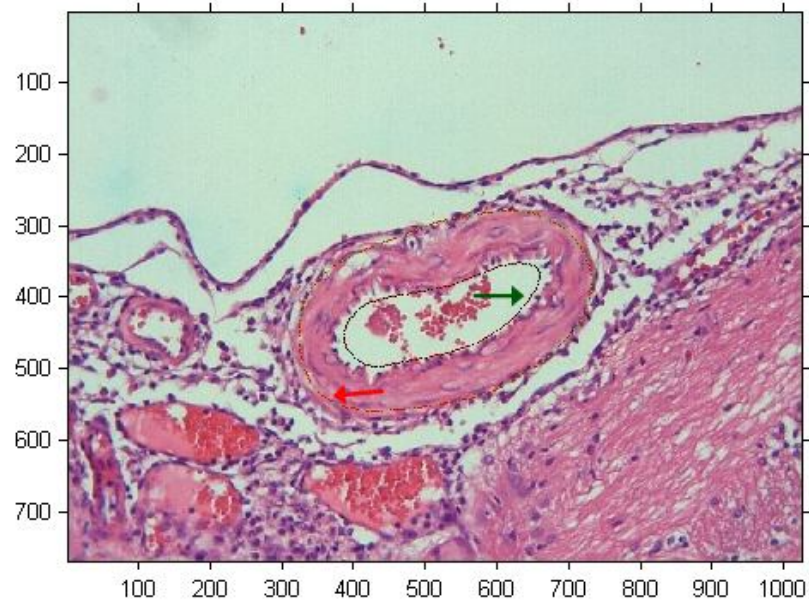
Grup 2'nin işaretlenen lümen ve damar poligon koordinatları eşliğinde bilgisayar ortamında baziler arter lümen alanı, damar duvar kalınlığı ve baziler arter alanı ölçüldü (Resim 6.7, Resim 6.8).



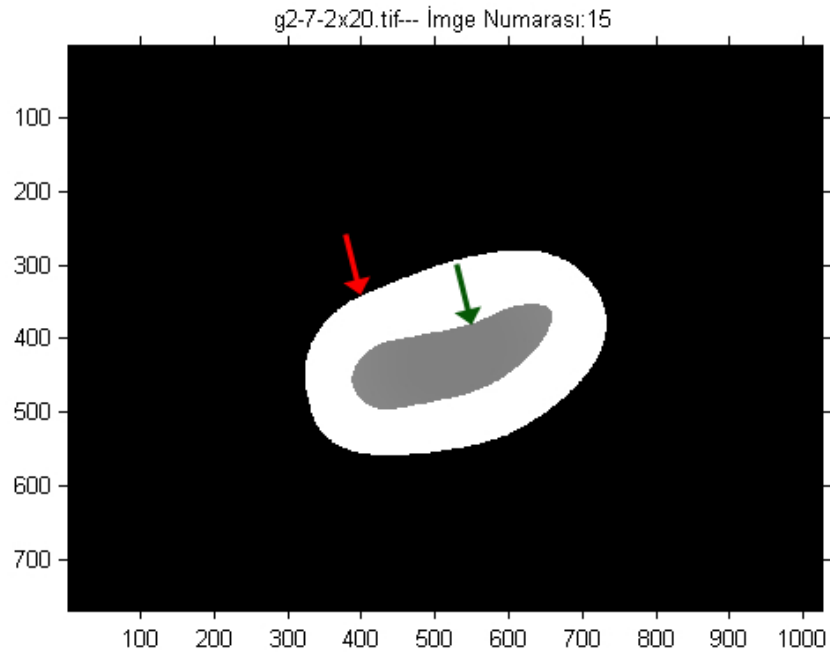
Resim 6.5 Grup 2: Arter endotel hasarı, lamina elastika internada belirgin kıvrılma-ondülasyon (kırmızı ok), media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon ve vakuolizasyon (yeşil ok), H-E, x40.



Resim 6.6 Grup 2: Arter lamina elastika internasında belirgin kıvrılma-ondülasyon (yeşil ok), media tabakası düz kas hücrelerinde şişme ve vakuolizasyon (kırmızı ok), H-E, x40



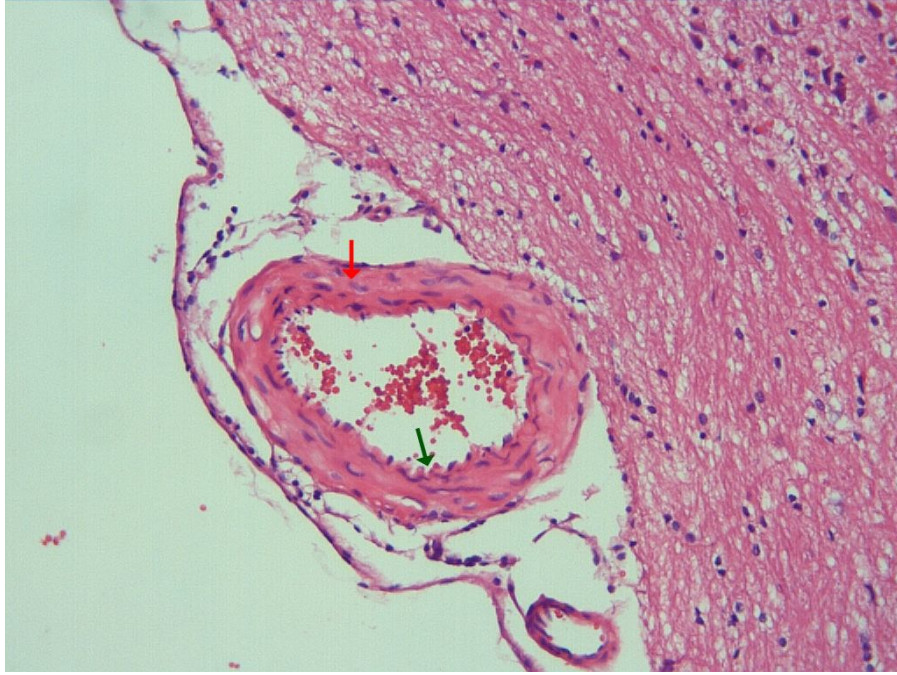
Resim 6.7 Grup 2: Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar poligon koordinatları. Yeşil ok damar lümen koordinatlarını, kırmızı ok damar duvarı dış çap koordinatlarını göstermekte.



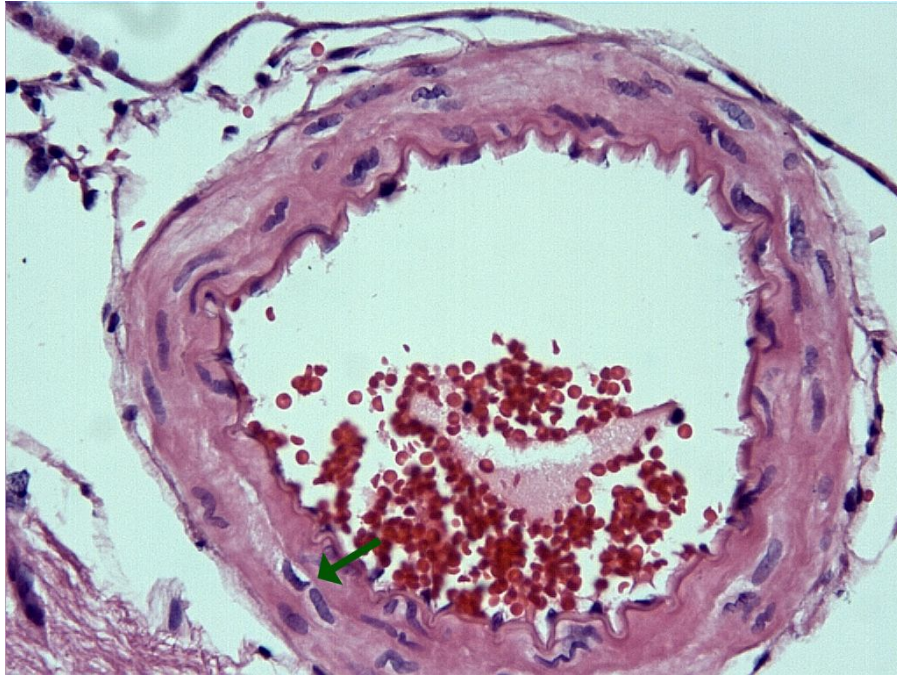
Resim 6.8 Grup 2: Resim 6.7’de lümen ve damar poligon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü. Yeşil ok damar lümen çapını, kırmızı ok damar duvarının çapını göstermekte.

Grup 3: Bu grubun arter kesitlerinde endotel hücrelerinde lümene doğru çıkıntı, kıvrımlı lamina elastika interna yapısı ve media tabakası düz kas hücrelerinde

kontraksiyon izlenmekle birlikte bu bulguların ikinci gruptakine göre daha az belirgin ve lümen konturunun daha düz olduğu görüldü (Resim 6.9, Resim 6.10).

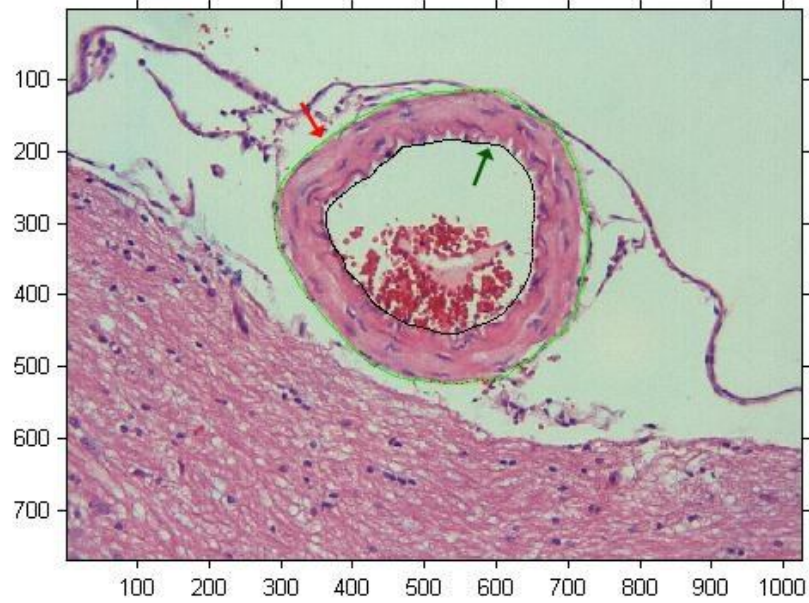


Resim 6.9 Grup 3: Arter media tabakası düz kas hücrelerinde minimal kontraksiyon (kırmızı ok), Arter lamina elastika internasında orta derecede kıvrımlı görünüm (yeşil ok) , H-E, x20.

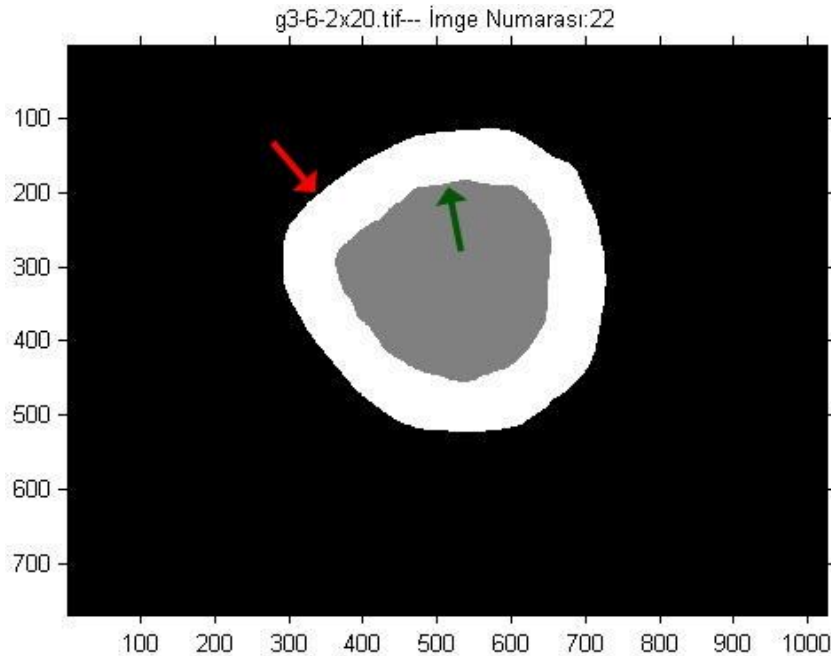


Resim 6.10 Grup 3: Arter media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon (yeşil ok), H-E, x40.

Grup 3'ün işaretlenen lümen ve damar poligon koordinatları eşliğinde bilgisayar ortamında baziler arter lümen alanı, damar duvar kalınlığı ve baziler arter alanı ölçüldü (Resim 6.11, Resim 6.12).

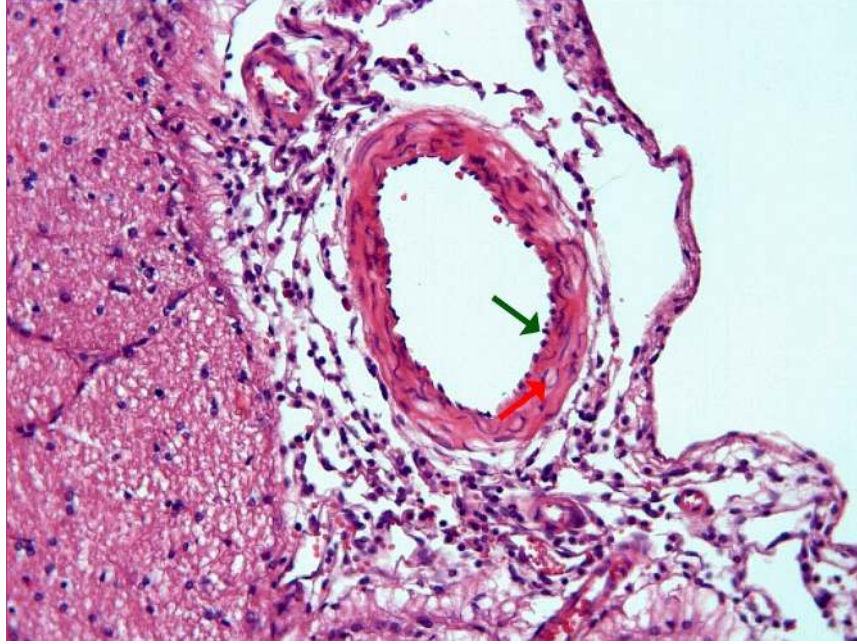


Resim 6.11 Grup 3: Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar poligon koordinatları. Yeşil ok damar lümen koordinatlarını, kırmızı ok damar duvarı dış çap koordinatlarını göstermekte

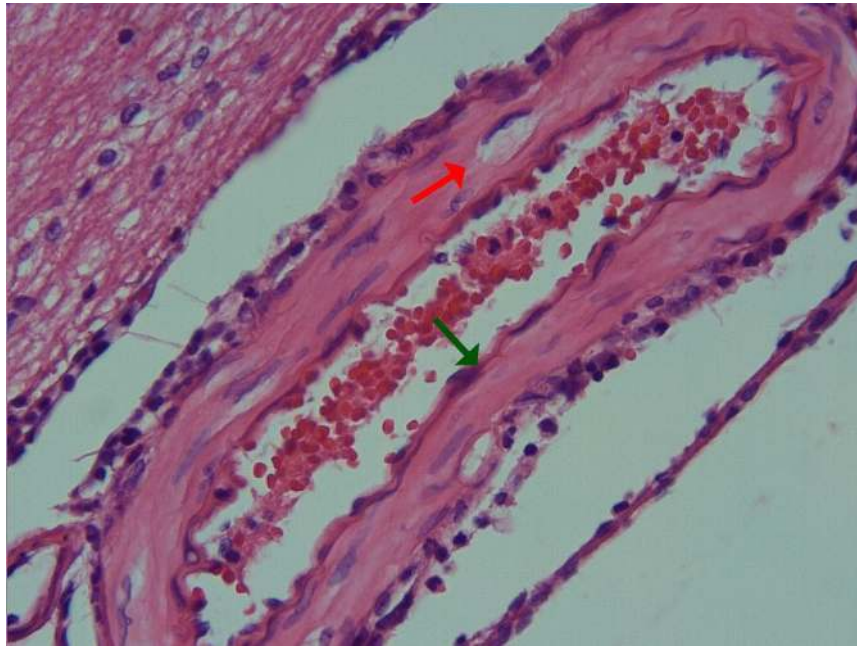


Resim 6.12 Grup 3: Resim 6.11'de lümen ve damar poligon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü. Yeşil ok damar lümen çapını, kırmızı ok damar duvarının çapını göstermektedir.

Grup 4 (SAK + ALCAR 100 mg/kg): Bu gruptaki damar kesitlerine ait histolojik bulgular üçüncü gruptakine benzerdi. Endotel hücreleri lümenal yüze çıkıntı yapmış şekilde izleniyordu. Media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon minimal düzeyde olup yer yer intrasitoplazmik ödem mevcuttu. (Resim 6.13, Resim 6.14)

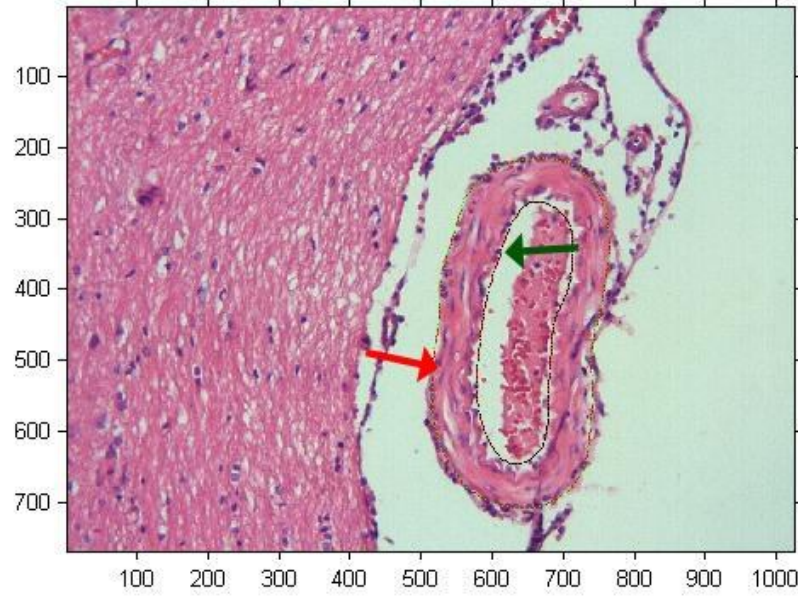


Resim 6.13 Grup 4: Arter media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon (yeşil ok), perivasküler alanda minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu. H-E, x20

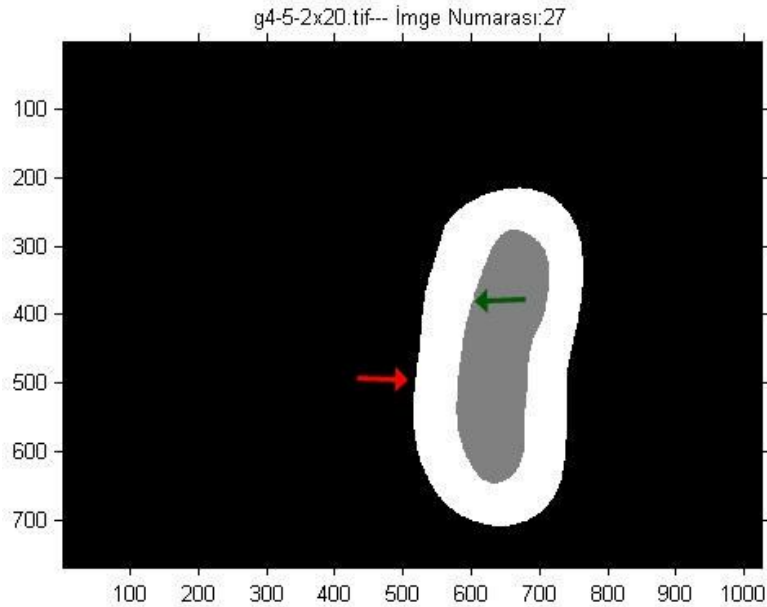


Resim 6.14 Grup 4: Düzgün görümlü endotel (yeşil ok) ve media tabakası düz kas hücrelerinde minimal intrasellüler ödem (kırmızı ok). H-E, x40.

Grup 4'ün işaretlenen lümen ve damar poligon koordinatları eşliğinde bilgisayar ortamında baziler arter lümen alanı, damar duvar kalınlığı ve baziler arter alanı ölçüldü (Resim 6.15, Resim 6.16).

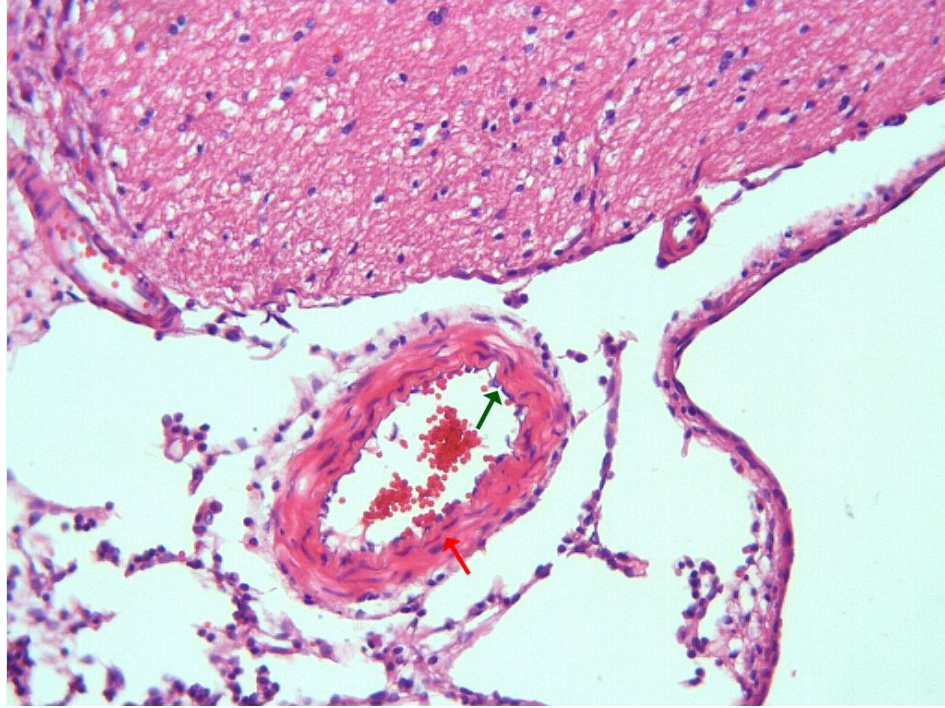


Resim 6.15 Grup 4: Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar poligon koordinatları. Yeşil ok damar lümen koordinatlarını, kırmızı ok damar duvarı dış çap koordinatlarını göstermekte.



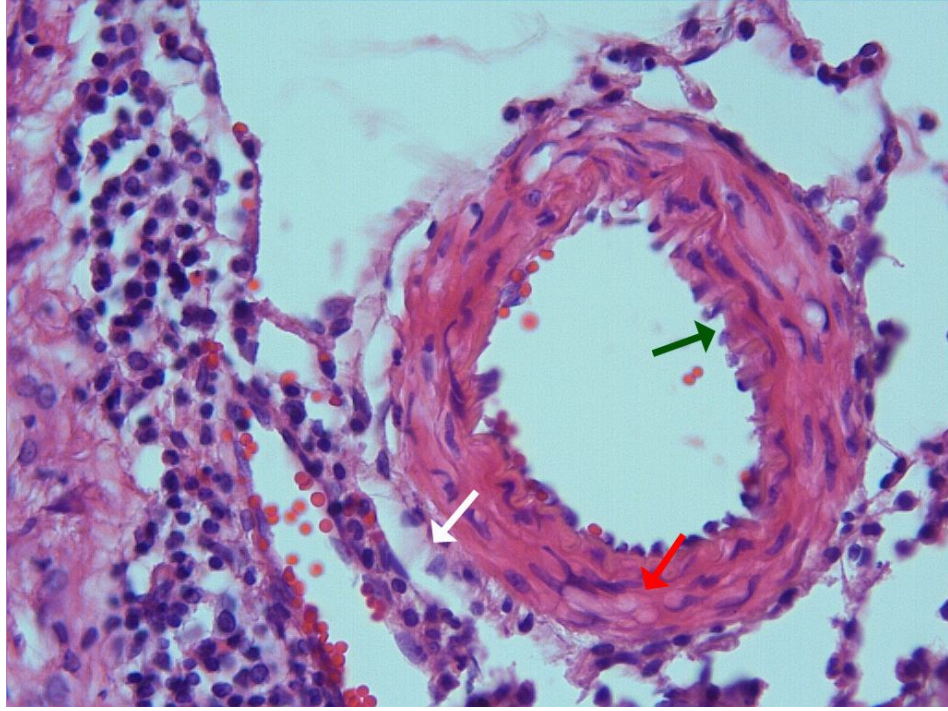
Resim 6.16 Grup 4: Resim 6.15'de lümen ve damar poligon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü. Yeşil ok damar lümen çapını, kırmızı ok damar duvarının çapını göstermekte.

Grup 5 (SAK): Bu grubun arter kesitlerinde ikinci gruptakine benzer şekilde endotel hücrelerinin nukleuslarının lümene doğru çıkıntı yaptığı, lamina elastika internanın oldukça kıvrıntılı seyrettiği ve media tabakası düz kas hücrelerinde belirgin kontraksiyon olduğu saptandı. Ayrıca düz kas hücrelerinde yer yer sitoplazmik vakuolizasyon dikkati çekti (Resim 6.17, Resim 6.18).

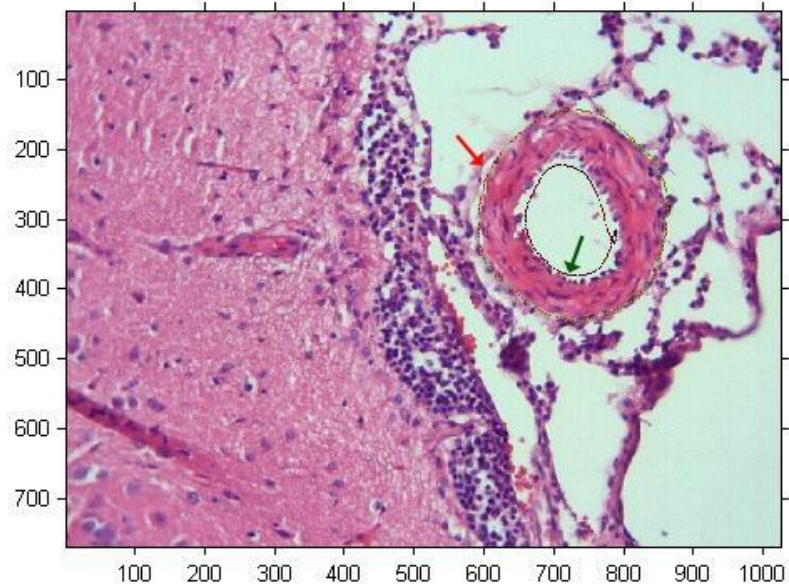


Resim 6.17 Grup 5: Arter endotel hücre nukleuslarında lümene doğru çıkıntı (yeşil ok), media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon (kırmızı ok). H-E, x20.

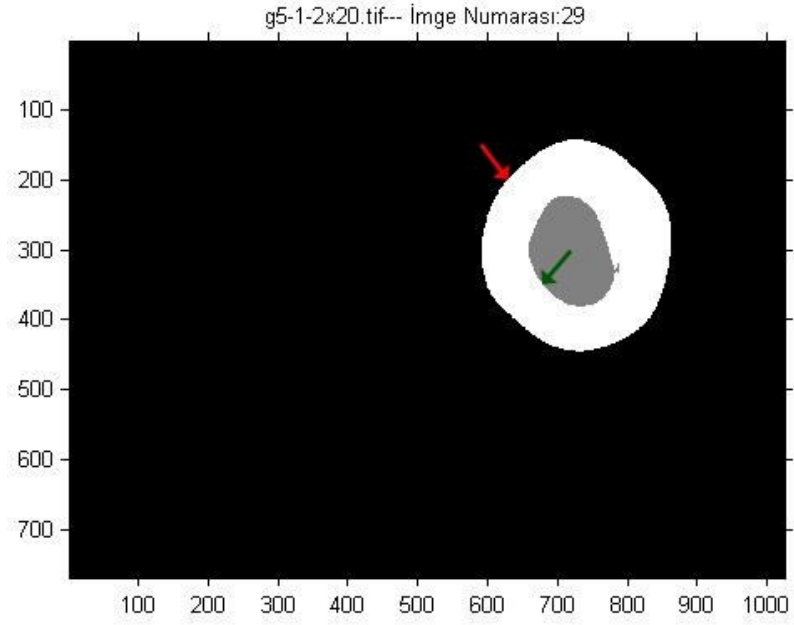
Grup 5'in işaretlenen lümen ve damar poligon koordinatları eşliğinde bilgisayar ortamında baziler arter lümen alanı, damar duvar kalınlığı ve baziler arter alanı ölçüldü (Resim 6.19, Resim 6.20).



Resim 6.18 Grup 5: Arter endotel hücre nükleuslarında lümene doğru çıkıntı (yeşil ok), media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon ve vakuolizasyon (kırmızı ok), perivasküler alanda inflamatuvar hücre infiltrasyonu (beyaz ok). H-E, x40.



Resim 6.19 Grup 5: Baziler arter imgesi ve uzman kişi tarafından girilen lümen ve damar poligon koordinatları. Yeşil ok damar lümen koordinatlarını, kırmızı ok damar duvarı dış çap koordinatlarını göstermekte.



Resim 6.20 Grup 5: Resim 6.19’da lümen ve damar poligon koordinatları belirlenen imgenin eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiş görünümü. Yeşil ok damar lümen çapını, kırmızı ok damar duvarının çapını göstermekte.

Baziler Arter Lümen Kesit Alanları;

Tüm deneklerin baziler arter lümen kesit alanı, damar duvar kalınlığı ve baziler arter damar çapı eğri uydurma yöntemi kullanılarak ölçüldü.

Tablo-VIII. Baziler Arter Lümen Kesit Alanları (μm^2)

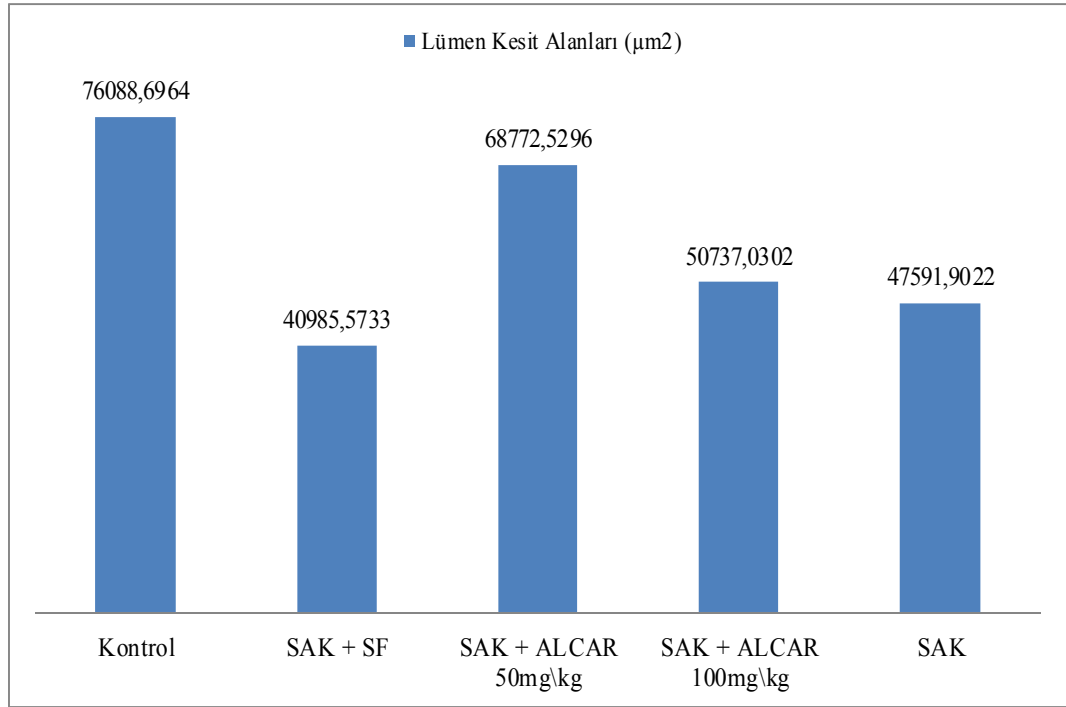
Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
No	Kontrol	SAK + SF	SAK+ALCAR 50 mg\kg	SAK+ALCAR 100 mg\kg	SAK
1	55011,6585	48981,6244	71497,3711	32158,9338	26911,4375
2	129122,4812	36451,6591	36210,1582	39847,6485	91824,6329
3	62878,2227	31670,3157	95478,9721	52871,8482	56767,6883
4	57973,3207	39739,0667	59255,7092	41350,9448	40566,5349
5	76947,0542	46924,1865	38943,4242	63941,5755	29191,6553
6	74599,4408	42146,5873	111249,5425	74251,2302	40289,4641
7	76088,6963				

Her denekten edinilen ve baziler arter üst 1/3'ünden geçen kesitleri alınarak hazırlanan preparatların lümen kesit alanları eğri uydurma yöntemi kullanılarak ölçüldü (Tablo-VIII). Elde edilen değerler doğrultusunda her grup için kesit alanları ortalamaları alındı (Tablo-IX). Grupların ortancalarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi ve çoklu karşılaştırmalarda Conover varyans analizi kullanıldı.

Tablo-IX. Gruplara Göre Lümen Kesit Alanı Ortalamaları ve Standart Sapmaları

	Lümen Kesit Alanları (μm^2)			
	Minimum	Maksimum	Median	Ortalama $\pm$ SD
Kontrol (n=7)	55011,66	129122,48	74599,4408	76088,6964 $\pm$ 25041,50544
SAK + SF (n=6)	31670,32	48981,62	40942,8270	40985,5733 $\pm$ 6472,03359
SAK + ALCAR 50 mg/kg (n=6)	36210,16	111249,54	65376,5402	68772,5296 $\pm$ 30217,90492
SAK + ALCAR 100 mg/kg (n=6)	32158,93	74251,23	47111,3965	50737,0302 $\pm$ 16022,84597
SAK (n=6)	26911,44	91824,63	40427,9995	47591,9022 $\pm$ 24123,27345

Beş grupta yer alan deney hayvanlarının lümen kesit alanları ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark mevcuttu. Kontrol grubunda lümen kesit alanı ortalaması diğer gruplardan yüksekti. Kontrol grubu baz alınarak diğer gruplar ile karşılaştırıldığında SAK + ALCAR 50 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p<0.05$). SAK grubu, SAK + SF grubu, SAK + ALCAR 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p<0.05$). Kontrol grubu ile SAK grubu, SAK + SF grubu, SAK + ALCAR 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark mevcuttu ($p=0.0408$). Damar lümen kesit alanları ortalamasında kontrol grubuna en yakın ortalama SAK + ALCAR 50mg/kg grubuna aitti (Şekil 6.1).



Şekil 6.1 Gruplara Göre Lümen Kesit Alanları Ortalamaları

Baziler Arter Damar Duvar Kalınlıkları:

Tüm deneklerin baziler arter damar duvar kalınlığı, baziler arter damar çapından lümen çapının çıkarılması ile ölçülmüştür (Tablo-X).

Tablo-X. Baziler Arter Duvar Kalınlığı (µm)

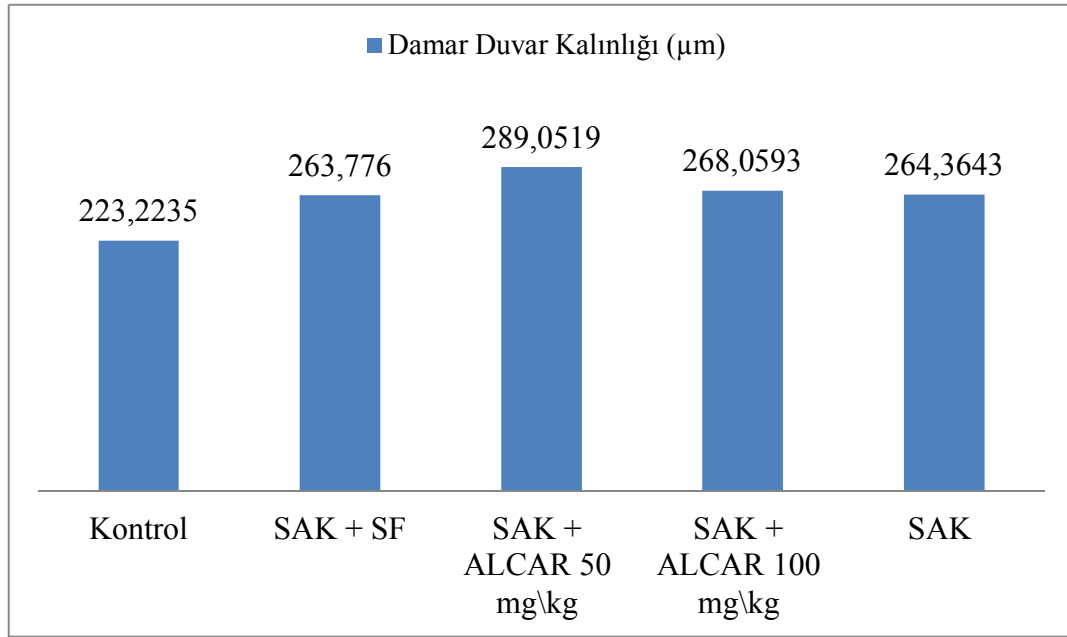
Denek No	Grup 1 Kontrol	Grup 2 SAK + SF	Grup 3 SAK+ALCAR 50 mg/kg	Grup 4 SAK+ALCAR 100 mg/kg	Grup 5 SAK
1	260,4379015	241,6039878	368,6444205	274,5164105	276,6633786
2	203,4210576	241,1562379	311,5495808	238,0034079	242,8861168
3	234,2746309	275,3922134	265,8514755	295,5219446	296,3235014
4	198,1575382	287,044101	262,824434	281,7788585	231,5427546
5	197,2636134	237,0675791	255,4520775	272,9515304	271,9428008
6	245,7862057	300,3918023	269,9893444	245,5837733	266,82729
7	223,2234912				

Elde edilen değerler doğrultusunda her grup için duvar kalınlığı ortalamaları alındı (Tablo-XI).

Tablo-XI. Gruplara Göre Baziler Arter Duvar Kalınlığı Ortalamaları ve Standart Sapmaları

	Baziler Arter Duvar Kalınlığı (μm)			
	Minimum	Maksimum	Median	Ortalama $\pm$ SD
Kontrol (n=7)	197,26	260,44	223,2235	223,2235 $\pm$ 24,86788
SAK + SF (n=6)	237,07	300,39	258,4981	263,7760 $\pm$ 27,32636
SAK + ALCAR 50 mg/kg (n=6)	255,45	368,64	267,9204	289,0519 $\pm$ 43,72547
SAK + ALCAR 100 mg/kg (n=6)	238,00	295,52	273,7340	268,0593 $\pm$ 21,98435
SAK (n=6)	231,54	296,32	269,3850	264,3643 $\pm$ 23,55727

Beş grupta yer alan deney hayvanlarının damar duvar kalınlığı ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark mevcuttu. Kontrol grubunda damar duvar kalınlığı ortalaması diğer gruplardan dūşüktü. Kontrol grubu baz alınarak diğer gruplar ile karşılaştırıldığında SAK grubu, SAK + SF grubu, SAK + ALCAR 100 mg/kg ve SAK + ALCAR 50 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark mevcuttu ($p=0.0267$). SAK grubu, SAK + SF grubu, SAK + ALCAR 50 mg/kg ve SAK + ALCAR 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p<0.05$) (Şekil 6.2).



Şekil 6.2 Gruplara Göre Damar Duvar Kalınlık Ortalamaları

Baziler Arter Damar Alanı:

Tüm deneklerin baziler arter damar alanı, baziler arter damar çapından ölçülmüştür (Tablo-XII).

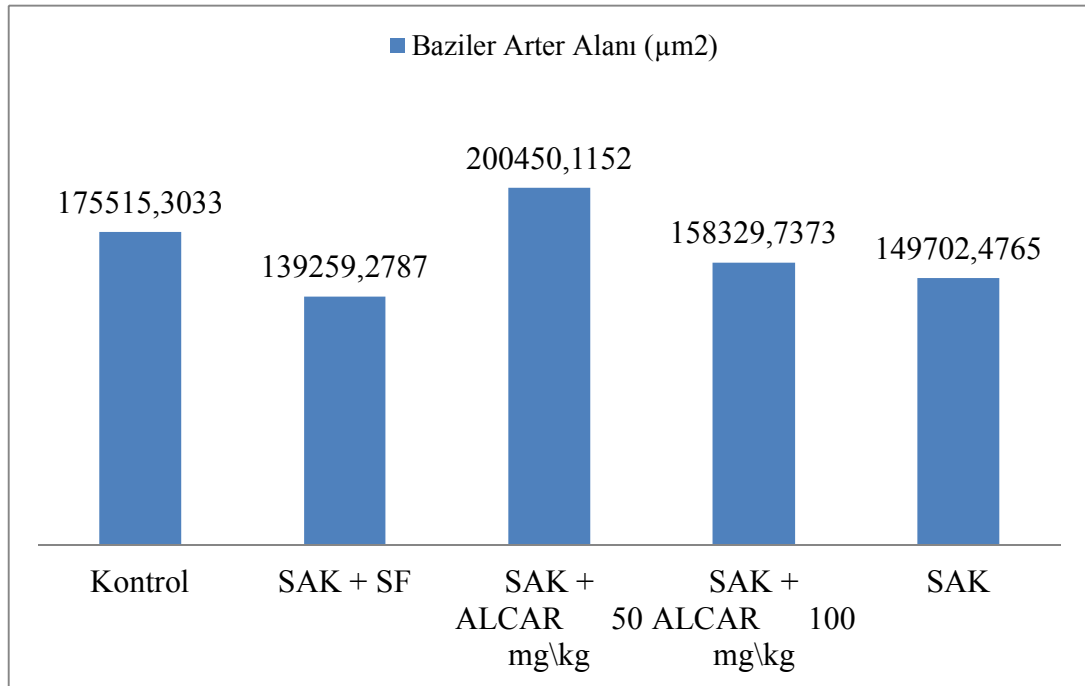
Tablo-XII. Baziler Arter Damar Alanı (µm²)

Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
No	Kontrol	SAK + SF	SAK+ALCAR 50 mg/kg	SAK+ALCAR 100 mg/kg	SAK
1	162597,5013	142738,2645	256202,5013	127546,173	117816,8693
2	241173,2825	120493,9723	153729,3636	125157,3734	211917,9758
3	162004,0456	126975,1825	231545,0722	177536,8593	185064,5734
4	136253,3101	148431,3206	171113,6842	148888,113	123470,6113
5	164156,9606	137026,4874	131623,6068	184607,781	120405,9836
6	186906,7198	159890,4447	258486,4633	186242,1243	139538,8456
7	175515,3033				

Elde edilen değerler doğrultusunda her grup için baziler arter damar alanı ortalamaları alındı (Tablo-XIII).

Tablo-XIII. Gruplara Göre Baziler Arter Alanı Ortalamaları ve Standart Sapmaları (μm^2)

	Baziler Arter Alanı (μm^2)			
	Minimum	Maksimum	Median	Ortalama $\pm$ SD
Kontrol (n=7)	136253,31	241173,28	164156,9606	175515,3033 $\pm$ 32814,31180
SAK + SF (n=6)	120493,97	159890,44	139882,3760	139259,2787 $\pm$ 14351,97412
SAK + ALCAR 50 mg/kg (n=6)	131623,61	258486,46	201329,3782	200450,1152 $\pm$ 55179,68046
SAK + ALCAR 100 mg/kg (n=6)	125157,37	186242,12	163212,4862	158329,7373 $\pm$ 28198,32722
SAK (n=6)	117816,87	211917,98	131504,7284	149702,4765 $\pm$ 39465,51112



Şekil 6.3 Gruplara Göre Baziler Arter Damar Alanı Ortalamaları

Beş grupta yer alan deney hayvanlarının damar alanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark yoktu. Beş grubun karşılaştırmalı varyans analizi sonucunda $p=0,0932$ ($p<0.05$) ölçüldü. Lümen kesit alanları ve damar duvar kalınlıkları arasında istatistiksel anlamda fark olmasına rağmen, damar alanı ortalamasında fark yoktu (Şekil 6.3).

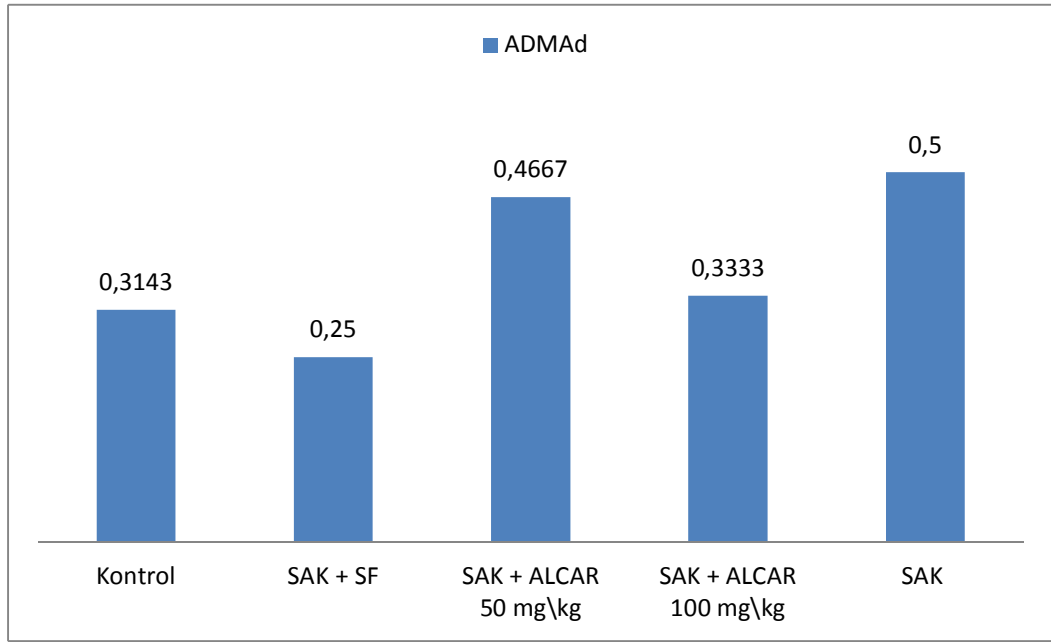
6.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Gruplardaki tüm deneklerden sakrifiye edilmeden önce kan ve sakrifikasyon sonrasında parankimden örnekler alınarak L-Arginin, ADMA SDMA, ve NO'nun serum ve doku düzeylerine bakıldı.

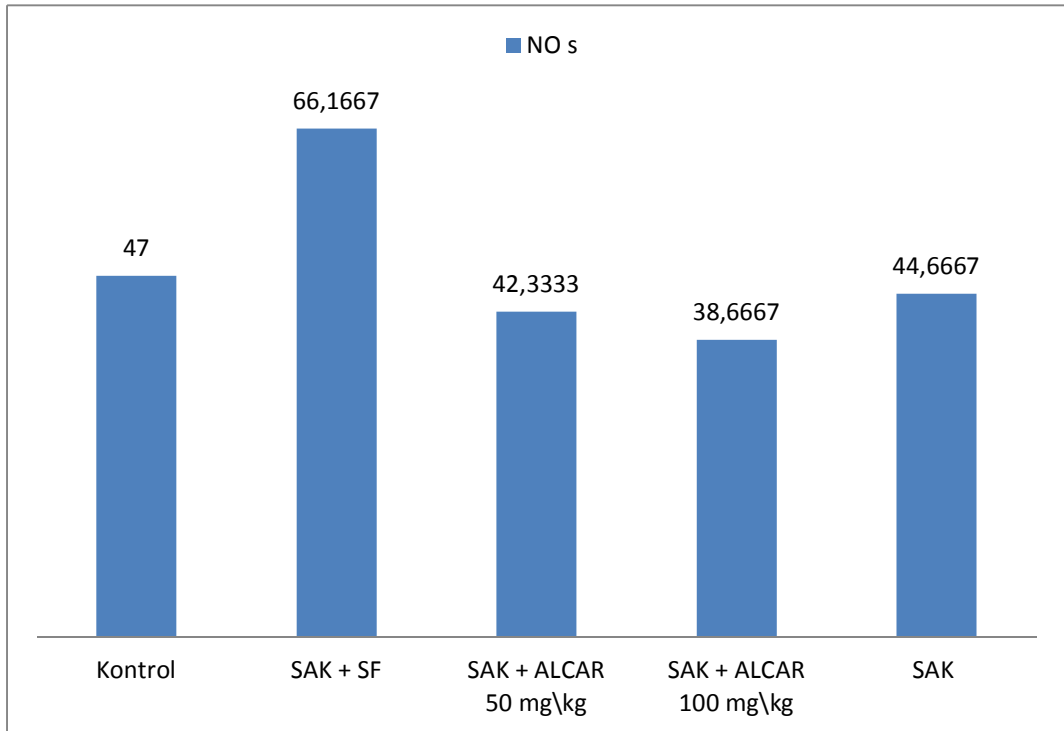
-L-Arginin'in serum ($p=0,2132$) ve doku ($0,3506$) örneklerinde gruplar arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p<0,005$).

-SDMA'nın doku örneklerinde gruplar arasında istatistiksel anlamda fark saptanmadı ($p=0,7854$). SDMA'nın serum örneklerinde gruplar arasında çoklu varyans analizi ile karşılaştırma yapıldığında; kontrol grubu ile SAK + SF verilen grup arasında istatistiksel anlamda fark bulunmadı ($p<0,05$). SAK + ALCAR 50 mg/kg verilen grup ile SAK oluşturulan grup arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p<0,05$). ALCAR 100 mg/kg verilen grup ile SAK grubu arasında istatistiksel anlamda fark gözlenmedi ($p<0,05$). Kontrol grubunda SDMA serum seviyeleri diğer gruplara oranla yüksekti. Kontrol grubu ve SAK + SF grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda fark mevcuttu ($p=0,0007$).

-ADMA'nın serum örneklerinde gruplar arasında istatistiksel anlamda fark görülmedi ($p=0,0572$). ADMA'nın doku örneklerinde gruplar arasında çoklu varyans analizi ile karşılaştırma yapıldığında; SAK + ALCAR 50 mg/kg grubu ile SAK grubu arasında istatistiksel anlamda fark belirlenmedi ($p<0,05$). Kontrol grubu, SAK + SF grubu ve SAK + ALCAR 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p<0,05$). SAK + ALCAR 50 mg/kg ve SAK grupları ile Kontrol, SAK + SF ve SAK + ALCAR 100 mg/kg grupları arasında istatistiksel anlamda fark mevcuttu ($p=0,0015$) (Şekil 6.4).



Şekil 6.4 Gruplara Göre ADMA Doku Düzeylerinin Ortalamaları (mikromol/L)



Şekil 6.5 Gruplara Göre NO Serum Düzeylerinin Ortalamaları (mikromol/L)

- NO'in doku örneklerinde gruplar arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p=0,3917$).
- NO'in serum örneklerinde gruplar arasında çoklu varyans analizi ile karşılaştırma yapıldığında; SAK + SF grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamda fark mevcuttu($P=0,0016$). SAK + ALCAR 50 mg/kg grubu ile SAK + ALCAR 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark belirlenmedi.
- SAK + ALCAR 50 mg/kg grubu ile SAK + ALCAR 100 mg/kg gruplarının SAK grubu karşılaştırılmasında ise istatistiksel anlamda fark görülmedi ($p<0,005$).
- Kontrol grubu ile SAK grubu arasında istatistiksel anlamda fark yoktu($p<0,05$), ancak diğer gruplarla istatistiksel anlamda fark mevcuttu (Şekil 6.5).

7. TARTIŞMA

Tıp alanında son yıllardaki başdöndürücü gelişmelere, tanı ve tedavi yöntemlerindeki alternatiflerin hızlı artışına rağmen SAK sonrası ortaya çıkan vazospazm, tedavisi ve sonuçları konusunda önemini korumaktadır.

Rüptüre olmuş anevrizma sonrasında mortalite ve morbiditenin en önemli sebebi vazospazm olarak gösterilmektedir (49). Vazospazm gelişmesinde olmazsa olmaz ana faktör arter çevresindeki pıhtıdır. Aslında tüm sorun bu pıhtının çözülmeye başlaması ile başlıyor gibi görülse de vazospazmın sadece bir faktöre bağlı olmaması olayı içinden çıkılmaz bir hale sokmaktadır. Bu da tedavide yetersizliğin ana sebebini oluşturmaktadır.

Arter lümenindeki daralmanın devamında kan akımında azalmayı takiben iskemi gelişmektedir. Nörolojik sekelin reversibl olması arterdeki daralmanın diffüz ve fokal olmasına bağlıdır (49).

Vazospazmın 1951’de ilk olarak radyolojik olarak gösterilmesinin ardından birçok çalışmaya konu olmuştur. Yapılan çalışmalarda SAK geçiren hastaların %70’inde radyolojik vazospazm görülmesine rağmen %30-40’ında semptomatik serebral iskemi geliştiği görülmüştür (7).

Yaygın olarak vazospazm, spontan SAK sonrası oluşan periarteriyel pıhtıya ve bu pıhtının hemoliziyle açığa çıkan spazmojenlere bağlı olarak oluşmaktadır. En ideali bu konudaki araştırmaların insan serebral arterleri üzerinde yapılması olarak düşünülmüştür. Ancak bu durumun kadavradan elde edilen arterlerin çalışılması ile

mümkün olabileceği görülmüştür. Bu da bize çok sınırlı bilgi vereceğinden, hayvanlar üzerinde deneysel modeller geliştirmek ihtiyacı doğmuştur.

İlk olarak Offerhaus ve Van Goll 1969 yılında hayvanlarda SAK modelini yayınladılar. 1979 yılında Barry ve ark. ratlarda ilk kez deneysel vazospazm modelini bildirdiler. Hayvanlar üzerinde deneysel SAK modeli geliştirilirken, öncelikli olarak insandaki anevrizma rüptürü sonrasında gelişen subaraknoid kanamaya yakın özellikler göstermeli, uygulanacak tedaviye dayanıklı olmalı, ucuz olmalı ve çalışılması kolay bir model olmalıdır. Solomon ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; SAK öncesi ve sonrasında serebral kan akımını incelemişler ve ratların SAK çalışmaları için potansiyel model olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada baziler arterdeki vazospazmın insandaki vazospazm ile aynı özellikleri gösterdiğini belirtmişlerdir (133).

Biz de çalışmamızda kolay bulunur olması, ucuz olması, bakımının rahat olması ve vazospazm oluşması sırasında insandaki vazospazma benzerliği nedeni ile ratları seçtik. Ratlarda akut vazospazm 48. saatte maksimuma ulaşmaktadır. Deneysel SAK oluşturma teknik olarak 3 başlık altında toplansa da, bu teknikler baz alınarak bir çok yöntem geliştirilmiştir. İlk olarak; baziler arter veya büyük bir arterin delinmesi suretiyle etrafta kan toplanmasının sağlanması tekniği. İkinci teknik ise; arterin cerrahi olarak diseke edilmesi, başka bir arterden alınan otolog kanın arter etrafına yerleştirilmesi. Üçüncü ve son olarak; aslında çalışmalarda en sık kullanılan teknik subaraknoid boşluğa otolog arteriyel kanın enjekte edilmesi (105). Bu yöntem tekli, ikili ve üçlü kananama oluşturma şeklinde uygulanabilmektedir. Deneysel vazospazm modellerinde, özellikle ratların ortak özelliği vazospazm gelişse bile, buna bağlı nörolojik defisit gelişmemesidir. Bunun sebebi olarak da kollateral dolaşımın yoğun olması gösterilmiştir. Ayrıca insanlarda olduğu gibi subaraknoid boşluktaki arteriyel sistemin adventisyası gelişmemiştir ve vazo vazorumları yoktur, arterler BOS'tan beslenmektedir. Hayvan modellerinde morfometrik ölçümlerde baziler arterin seçilmesinin sebebi ise ratlarda posterior sirkülasyonun daha gelişmiş olmasıdır. Vazospazmın en belirgin göstergesi baziler arter lümen çapında azalmadır. Yine beraberinde internal elastik tabakadaki hücrelerin değişikliğidir.

Yapılan çalışmalarda ratlarda vazospazmın bifazik paterni olduğu gösterilmiştir. Oluşan spazm belirli bir zaman süresinde sınırlanmalıdır. Ratlarda ikinci gün görülen geç dönem vazospazm diğer türlerden daha erken gelişmesi

nedeni ile önemlidir. Hastalarda görülen vazospazm ise yedinci günde tepe yapmaktadır. Klinikte nörolojik bulguların görüldüğü dönem bu dönemdir. Ratlarda tüm morfolojik değişikliklerin olduğu gün 3. gündür. Bu yüzden ratlarda yapılan çalışmalar 72. saatte sonlandırılmalıdır.

Çalışmamızda daha önce Aladağ ve ark.'nın kullandığı ve benzer çalışmalarda en sık kullanılan ikili kanama modelini kullandık (130,134). Bu modelde bazal sisternlere (sisterna magna yoluyla) 48 saat arayla iki kez nonheparinize otolog enjeksiyon yaptık. Bu uygulama ile tek zamanlı kan enjeksiyonuna göre daha iyi arteryel vazokonstriksiyon sağlamayı amaçladık.

Vücutta birçok fizyolojik etkisi olan, esansiyel olmayan, esas görevi uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri matriksine taşınması olan Asetil-L-Karnitin'in (ALCAR) deneysel SAK modelinde vazospazm üzerine etkisini araştırmayı amaçladık. Burada elde edilen sonuçlar deneysel SAK modelinde oluşan vazospazm üzerine ALCAR ile elde edilmiş ilk sonuçlardır.

Deneysel subaraknoid kanama modelinde oluşturulan vazospazmı nasıl değerlendirebiliriz? Baziler arter lümen alanını, baziler arter alanını ve arter duvarındaki değişiklikleri morfometrik olarak ölçebiliriz. Bu ölçümleri karşılaştırarak gruplar arasında fark olup olmadığına karar verebiliriz.

Hematoksilen – Eozin ile boyanan histolojik kesitlerde basilar arterlerin transvers kesitleri ve çevre sinir dokusu ışık mikroskopik yöntemle histopatolojik olarak değerlendirildi. Basilar arterlerin lümen çapları, damar duvar kalınlıkları ve damar çapları ölçüldü. Eğri uydurma yöntemi kullanılarak bilgisayar ortamında, baziler arter lümen kesit alanları, baziler arter alanları ve baziler arter damar duvar kalınlıkları hesaplandı. SAK sonrası ALCAR 50 mg/kg verilen grupta, SAK + SF, SAK + ALCAR 100 mg/kg ve SAK grubuna göre baziller arter lümen kesit alanı ortalamalarının anlamlı şekilde arttığı görüldü. Tedavi grubunda kontrol grubuna göre vazospazmın büyük oranda düzeldiği saptandı. Gruplar arası farklılık istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bu çalışmada yer alan beş grubun sonuçları Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldı. $P < 0.05$ anlamlı olarak alındı. Baziler arter lümen kesit alanı değerleri arasında tüm gruplar göz önüne alındığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($P < 0,05$). Çalışmada yer alan tüm gruplar Connover varyans analizi testi ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunda lümen kesit alanı ortalaması diğer gruplardan

yüksekti. Kontrol grubu baz alınarak diğer gruplar ile karşılaştırıldığında SAK + ALCAR 50 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p<0.05$). SAK grubu, SAK + SF grubu, SAK + ALCAR 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark bulunmadı ($p<0.05$). Kontrol grubu ile SAK grubu, SAK + SF grubu, SAK + ALCAR 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark mevcuttu ($p=0.0408$). Damar lümen kesit alanları ortalamasında kontrol grubuna en yakın ortalama SAK + ALCAR 50mg/kg grubuna aitti (Şekil 6.1). Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre ALCAR istatistiksel açıdan anlamlı olacak şekilde serebral vazospazmın oluşumunu ve gelişimini engellemiştir. Seçkin H. ve ark.'nın yaptığı çalışma ile sonuçlarımız uyumlu bulunmuştur (135). Adı geçen çalışmada tavşan deneysel SAK modelinde bir antiepileptik olan Lamotrijinin vazospazm üzerine etkileri araştırılmıştır. Tedavi alan grup ile kontrol grubu arasında lümen kesit alanı değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı. Tedavi alan grup ile SAK yapılan grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttu.

Baziler arterden hazırlanan ince kesitler ışık mikroskopunda incelendiğinde damar duvarında bir takım değişikliklerin olduğu görüldü. Kontrol grubunun ışık mikroskopik incelemesinde arter duvarının içten dışa doğru normal histolojik yapıda intima, media ve adventisya tabakalarını içerdiği saptandı. Arter lümeninin açık ve düzgün olduğu izlendi. Lüminal yüz tek sıra yassı endotel hücreleri ile döşenmişti. Perivasküler alan ve çevre sinir dokusu normal histolojik yapıda değerlendirildi (Resim 6.1, Resim 6.2). SAK ve SAK + SF gruplarının arter kesitlerinde, endotel hücrelerinde lümene doğru çıkıntı, perinuklear alanda intrasellüler ödem ve yer yer alttaki elastik laminadan ayrılmalara görüldü. Lamina elastika internanın kıvrımlarında, media tabakasının düz kas hücrelerinin kontraksiyonunda artış ve boylarında kısalma saptandı. Düz kas hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon ve şişme dikkati çekti (Resim 6.5, Resim 6.17). SAK + ALCAR 50 mg/kg ve SAK + ALCAR 100 mg/kg gruplarında endotel hücrelerinde lümene doğru çıkıntı, kıvrımlı lamina elastika interna yapısı ve media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon izlenmekle birlikte bu bulguların ikinci gruptakine göre daha az belirgin ve lümen konturunun daha düz olduğu görüldü (Resim 6.9, Resim 6.14).

İstatistiksel açıdan baziler arter damar duvar kalınlığı ortalamaları incelendiğinde kontrol grubu ortalaması diğer gruplardan düşüktü ve anlamlı

derecede farklıydı ($p=0,0267$). Diğer gruplar arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p<0,05$) (Şekil 6.2).

Bu bulgular daha önce Kuo CP ve ark. ile Erdi MF ve ark. tarafından saptanan bulgular ile benzerdir (136,137). Tedavi grubunda baziler arter lümen çapında belirgin artış ve baziler arter duvarında SAK grubuna göre inceltme saptandı.

Tabii ki vazospazma giden süreçte suçlanan arterdeki değişiklikler ve vazospazm gelişmesi olayı tek başına açıklamamaktadır. Periarteriel klotttan damardaki morfolojik değişikliklere kadar geçen süreçle ilgili birçok teori ortaya atılmıştır. Vazospazm gelişiminin sadece bir faktöre bağlı olmaması çalışmaların birkaç noktadan aynı anda yürütülmesi gerekliliğini zorunlu kılmıştır.

Serebral vasküler dokuların morfolojik olarak benzerlik göstermesi nedeniyle hem insanlarda, hem de ratlarda; kanama sonrasındaki intrakranial basınç artışı ve dolayısı ile serebral perfüzyon basıncında düşme meydana gelir. Sonucunda serebral vasküler dokuların BOS'tan beslenmesini sağlayan rete vazorium denilen, adeventisya olmaması nedeni ile tüm damar tabakasına penetre olan delikçiklerin kan pıhtısı ile kapanması gerçekleşir. Pıhtılarla tıkanan bu yapılar görevini yapamayacak, vasküler ve nöronal dokuların iskemik sürece girmelerinde sebep olacaktır. Daha sonrasında kan hücrelerinin başlattığı akut inflamasyon, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyonu, vasküler endotelial hücre harabiyeti, NO azalması, endotelin miktarının artması, vasküler hücre membran harabiyeti neticesinde intrasellüler kalsiyum birikimi gibi birçok iç içe geçmiş reaksiyonlar olayın ne kadar karmaşık olduğunu bir göstergesidir.

Bu reaksiyonlar ışığı altında vazospazm açıklanmaya çalışılmıştır. Kan ürünlerinin yıkımı ile vazospazm gelişmesi en popüler hipotezdir. Bu hipoteze göre SAK sonrasında eritrositlerin ve trombositlerin yıkımı sonucu spazmojenler açığa çıkmakta ve bunun sonucunda vazospazm tetiklenmektedir. Adı geçen spazmojenler arasında, serotonin, prostoglandinler, katekolaminler, anjiotensin ve oksihemoglobin sayılabilir (5,72). Bu maddelerin hiçbirinin laboratuvar ortamında tek başına vazospazm geliştiremediği ve olan vazospazmı çözemediği görülmüştür (72). SAK sonrası hemolizin hemen başlaması, eritrositlerin lizise ve fagosite edilmesine kadar devam etmesi araştırmacıların ilgisini çekmiş, yapılan çalışmalar sonucunda, vazospazmdan ana sorumlu maddenin oksihemoglobin olduğu gösterilmiştir (6). Buna göre oksihemoglobin NO'ı bağlayacak, azalan NO sonucunda GC inaktif

olacak cGMP azalacak ve vazospazm gelişecektir (7). Yine ortamdaki serbest demir oksihemoglobinle lipid peroksidasyonunu arttıracak ve sonuçta serbest radikal üretimi artırılmış olacaktır. Serbest radikaller kan beyin bariyerini bozacak ve olay aynı zamanda endotel hasarı ile sonuçlanacaktır (75).

NO; endotelden sentezlenen, endotel tonusunda vazorelaksan görev yapan bir maddedir. L-Arjininin guanido nitrojeninin NO sentetaz ile oksitlenmesi sonucu sentezlenir (Şekil 3.2).

L-Arjininden sentezlenen NO aynı zamanda çok kısa yarı ömrü olan bir serbest radikaldır. Kaveolin-1, kalmodulin'e bağlanır ve eNOS aktivitesini inhibe eder. Kalsiyumun (Ca^{++}) kalmodulin'e bağlanması kaveolin-1'i ayırır ve eNOS'u aktive ederek, NO üretimine yol açar. Tetrahidrobiopterin (BH4) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) gibi kofaktörler de NO üretiminde rol alır (Şekil 3.2) (138).

NO'nın *invivo* olarak üretilmesi, NO ile NOS arasındaki (-) feed-back ve PRMT-1'in L-Arjinini metilasyonu ile düzenlenir (150). L-Arjininin ikinci defa metilasyonundan sonra SDMA ve ADMA oluşmaktadır. SDMA'nın ne görev yaptığı bilinmemektedir. Ancak ADMA, NOS'un endojen yarışmalı inhibitörüdür. Hücre içerisine L-Arjinin giremez ve böylece NO üretilemez. Ve bu da vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Çalışmamızda L-Arjinin, ADMA, SDMA ve NO düzeylerine bakılmış deneysel SAK'ı takip eden vazospazm sürecinde alınan doku ve serum örnekleri incelenmiştir.

L-Arjinin düzeylerinin doku ve serum örneklerinde gruplar arasında istatistiksel anlamda farklılık olmadığı görüldü.

SDMA düzeylerinin doku örneklerinde gruplar arasında istatistiksel anlamda fark yoktu.

ADMA düzeylerinin serum örneklerinde gruplar arasında istatistiksel anlamda fark saptanmadı.

NO düzeylerinin doku örneklerinde gruplar arasında istatistiksel anlamda fark yoktu.

SDMA serum örneklerinde, ADMA doku örneklerinde ve NO serum örneklerinde istatistiksel anlamda birbirlerine paralellik gösteren farklılıklar mevcuttu.

NO ve dolayısıyla vazodilatasyon oluşumunu kabaca tartışacak olursak; ADMA, L-Arjininin hücre içine girişini önlemekte, ayrıca NO sentetaz enziminin inhibisyonunu

sağlamaktadır. Böylece NO sentezini azaltarak vazospazma neden olmaktadır. SDMA'nın görevleri ise net olarak tanımlanamamıştır.

Çalışmamızda ADMA doku örnekleri ortalaması açısından SAK + ALCAR 50 mg/kg grubu ile SAK grubu arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p < 0,05$) ve her iki grupta ortalama değer diğer gruplara göre artmıştı. Yine kontrol grubu, SAK + SF grubu ve SAK + ALCAR 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark belirlenmedi ($p < 0,05$) ve bu üç grupta ADMA doku örnekleri ortalaması azalmıştı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, SAK + ALCAR 50 mg/kg ve SAK grubunda ADMA doku düzeyleri istatistiksel anlamda artış göstermekteydi (Şekil 6.4)

NO serum örnekleri karşılaştırıldığında; SAK + SF grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamda fark mevcuttu ($P = 0,0016$). SAK + ALCAR 50 mg/kg grubu ile SAK + ALCAR 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel anlamda fark yoktu. Kontrol grubu ile SAK grubu arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p < 0,05$), ancak diğer gruplarla istatistiksel anlamda fark mevcuttu (Şekil 6.5). Yani kontrol grubuna göre SAK + SF grubunda NO ortalama değeri artmış, SAK + ALCAR 50 mg/kg grubu ile SAK + ALCAR 100 mg/kg grubunda ise NO ortalaması azalmıştı (Şekil 6.5).

Lümen kesit alanları ortalaması ile NO serum örneklerinin düzeyleri kontrol grubu baz alınarak değerlendirildiğinde her iki parametrenin ters orantılı bir gelişme gösterdiği görüldü. SAK + SF grubundaki lümen kesit alanı ortalamasının ($40985,5733 \mu\text{m}^2$) düşüklüğüne karşılık NO serum düzeyi ortalaması ($66,1667$ mikromol/L) yükselmişti.

SAK + ALCAR 50 mg/kg grubundaki lümen kesit alanı ortalamasına ($68772,5296 \mu\text{m}^2$) karşılık NO serum düzeyi ortalaması ($66,1667$ mikromol/L) olarak değerlendirildi (Kontrol grubu ile her iki parametre istatistiksel anlamda farksız). Şekil 6.1 ile Şekil 6.5 karşılaştırıldığında her iki parametrenin birbirini desteklediği görülmektedir.

Bu durumda; serum örneklerinden ölçülen NO seviyelerinin, lümen kesit alanı düşük olan gruplarda yüksek olması vazospazmın şiddeti ile doğru orantılıdır. Vazospazm ne kadar şiddetli ise (lümen kesit alanı azalacak) bu spazmı çözmek amacı ile NO seviyeleri aynı oranda artacaktır. Ancak ALCAR 50 mg/kg ve ALCAR 100 mg/kg alan gruplarda lümen kesit alanları ortalamalarının diğer gruplara oranla daha yüksek olmasına karşılık NO seviyelerinin aynı oranda düşmemesi tedavi alan

gruplarda vazospazmın başka mekanizmalarla çözülmeye çalışıldığını göstermektedir.

NO seviyesi yüksekliğinin endotel hasarından kaynaklandığı düşünülürse, ALCAR alan gruplarda endotelin korunduğu söylenebilir. Yine buna bağlı olarak L-Arginin seviyelerinin doku ve serum örneklerinde gruplar arasında istatistiksel olarak fark göstermemesi NO sentezinin doğrudan endotel hasarı sonucu oluşmadığının bir göstergesi olabilir.

Grup bazında değerlendirecek olursa, doku ADMA düzeylerinin serum NO düzeyleri ile ters orantılı, lümen kesit alanları ile doğru orantılı olduğu söylenebilir. Doku ADMA seviyeleri yükseldiğinde NOS enzimini inhibe edip, NO seviyelerini azaltacaktır. NO seviyeleri düştüğünde ise lümen kesit alanının artması beklenir. Ancak çalışmamızda bunun tam tersi olmuştur. Lümen kesit alanı düşük olan grupların serum NO seviyeleri yüksek saptanmıştır. Bu da bize vazodilatasyon gelişmesinin bu kaskat üzerinden olmayıp ALCAR'ın antioksidan etkisi üzerinden oluştuğunu desteklemektedir.

SAK'dan sonra hemolize bağlı olarak ortamda demirin artması serebral vazospazm ve nöronal hasardan serbest radikallerin sorumlu olabileceğini düşündürmüştür (75). Oksihemoglobin serbest demir ile birlikte lipid peroksidasyon aktivitesini arttırarak oksijen serbest radikallerinin formasyonunu katalize eder. Bu proses endotel hasarı ile sonuçlanır ve intrasellüler kalsiyumun artışına yol açar. Kalsiyum ve kalsiyum bağımlı enzim olan kalmodulin, damar düz kas regülasyonunda önemli role sahiptir (7).

Antioksidanların ilk belirlenen etkileri, zar yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyona karşı korunması olmuştur. Bunun sonucu olarak antioksidanlar, lipid peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde ise antioksidanların tanımı, lipidlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef moleküllerin koruyucu etkilerini de içerecek şekilde genişletilmiştir.

Biz de çalışmamızda bir antioksidan olan ALCAR'ı kullanarak oluşan vazospazmı çözmede etkili olup olmadığını araştırmak istedik. ALCAR alan her iki grupta histopatolojik ve morfolometrik olarak lümen kesit alanı ortalamaları diğer gruplardan anlamlı derecede farklıydı. Bu da ALCAR'ın vazospazm tedavisinde bir alternatif ajan olarak denenebileceğini göstermektedir.

8. SONUÇ

Bu çalışmada ratlarda sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile deneysel subaraknoid kanama oluşturuldu. İlk kanamadan 48 saat sonra kanama tekrarlanarak ikili SAK modeli kullanıldı. Subaraknoid kanamaya bağlı gelişen vazospazm önlemek için halen etkinliği kanıtlanmış bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Vazospazm üzerine birçok çalışma yapılmış ve yapılan çalışmalar sonrasında lipid peroksidasyonunun vazospazm oluşumundan sorumlu olabileceği görüşü ortaya atılmıştır. Bundan yola çıkarak Karnitin'in (ALCAR) ratlarda deneysel subaraknoid kanama sonrası gelişmiş vazospazm'da tedavi edici etkinliği araştırılmıştır. 72. saatte denekler sakrifiye edilerek baziler arter kesitleri, beyin dokusu ve serum örnekleri alındı. Hazırlanan preparatların mikroskop ile histopatolojik incelemesi yapıldı. Baziler arter çapları ölçülerek vazospazm dereceleri değerlendirildi. Elde edilen sonuçlardan, tedavi grubunda damar duvar kalınlığının tedavi edilmemiş SAK'lı deneklere göre istatistiksel açıdan anlamlı düşüş göstermediği, yine lümen kesit alanları incelendiğinde tedavi alan grupta, tedavi edilmemiş subaraknoid kanamalı deneklere göre istatistiksel açıdan anlamlı artış gösterdiği saptandı. Biyokimyasal parametrelerde NO serum örnekleri sonuçları, lümen kesit alanları sonuçları ile korelasyon göstermekteydi. Tüm bu bulguların ışığında ALCAR'ın antioksidan özelliği göz önüne alınarak bu ajanın deneysel SAK modelinde ortaya çıkan vazospazmın önlenmesinde olumlu etkilerinin olduğu ve bu konuda daha çok araştırma yapılması gerektiği söylenebilir.

9. ÖZET

Subaraknoid kanama (SAK) sonrası gelişen vazospazm, etyolojisi ve sonuçları bakımından aydınlatılamamış bir tablodur. Vazospazm oluşumu ile birçok teori üretilmiştir. En çok kabul gören teorilerden bir tanesi, vasküler gerginliğin düzenlenmesinde endotel tarafından sentezlenen başlıca vazodilatatör olan NO ve başlıca vazokonstriktör olan ET1 arasındaki dengenin ET1 tarafına kayması olarak gösterilmektedir. Oksihemoglobin serbest demir ile birlikte lipid peroksidasyon aktivitesini arttırarak oksijen serbest radikallerinin formasyonunu katalize eder. Bu proses endotel hasarı ile sonuçlanır ve intrasellüler kalsiyumun artışına yol açar ve bu da vazokonstriksiyon ile sonuçlanmaktadır. NO, cGMP üreten guanilat siklazın (GS) ana aktivatörü olması nedeniyle hücre içi kalsiyumu düşürerek vazodilatasyon yapmaktadır. Biz de bir antioksidan olan Karnitin'in (ALCAR) vazospazm üzerine etkisini araştırdık.

Çalışmamızda ağırlıkları 235-350 gr arasında değişen 35 adet erişkin Wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Bu ratlar n=7 olacak şekilde beş gruba ayrıldı. Grup 1 Kontrol grubu, Grup 2 SAK + SF (taşıyıcı solüsyon), Grup 3 SAK + ALCAR 50 mg/kg i.p., Grup 4 SAK + ALCAR 100 mg/kg i.p. ve Grup 5 SAK olarak oluşturuldu. Grup 2, 3, 4 ve 5'teki hayvanların sisterna magnalarına otolog arteriyel kan verilerek SAK meydana getirildi. 0.-12.- 24.- 36.- 48.- 60. ve 72. Saatlerde Grup 2'ye SF, Grup 3'e ALCAR 50 mg/kg ve Grup 4'e ALCAR 100 mg/kg intraperitoneal olarak enjekte edildi. Daha sonra perfüzyon ve fiksasyonu takiben tüm hayvanlara geniş kraniektomi yapılarak beyin, beyincik ve beyin sapları global olarak çıkarıldı. Ardından tüm hayvanların baziler arterlerinden kesitler alınarak bunların 40X büyütmede fotoğrafları çekildi. Bu kesitlerden baziler arter lümen kesit alanları,

baziler arter alanları ve duvar kalınlıkları ölçüldü. Elde edilen değerlere, gruplara göre ortalamaları ve gruplar arası farkı incelemek amacı ile Kruskal Wallis testi uygulandı. Baziler arter lümen kesit alanı, SAK oluşturulup ALCAR 50 mg/kg ve ALCAR 100 mg/kg verilen gruplarda sadece SAK oluşturulan ve SAK + SF alan gruba göre anlamlı olarak büyük bulundu ($p=0.0408$). Baziler arter duvar kalınlığı ise kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda artış göstermekteydi ($p < 0,05$).

Tüm bu bulgular ışığında çalışmamızda Karnitin'in deneysel SAK modelinde oluşan vazospazmın çözülmesi üzerinde etkili olduğu kanısına varıldı.

10. SUMMARY

Vasospasm after subarachnoid hemorrhage has not been elucidated absolutely in terms of etiology and consequences. There are a lot of theories about the formation of vasospasm. One of the most widely accepted theory is that, there is a balance with the NO- a main vasodilator which is produced from vascular endothelium and ET1 - a main vasoconstrictor originating also from vascular endothelium. Vasospasm develops after disruption of this balance in favor of ET1. Oxyhemoglobin with Fe^{++} enhances lipid peroxidation and catalyzes the formation of oxygen free radicals. This process results in endothelial damage and leads to increased intracellular Ca^{+2} which results in vasoconstriction. NO is a main activator of guanylate cyclase (GC) which produces cGMP and reduces intracellular calcium causing vasodilatation. We investigated the effect of Carnitine (ALCAR) on vasospasm which is an antioxidant.

In our study, 35 adult male Wistar rats ranging from 235-350 g were used. Rats were divided into five groups, ($n = 7$). Group 1 Control Group, Group 2 SAH + saline (carrier solution), Group 3 SAH + ALCAR 50 mg \ kg ip, Group 4 SAH + ALCAR 100 mg \ kg ip and Group 5 pure as SAH group. SAH was created by giving autologous arterial blood to cisterna magna in group 2, 3, 4 and 5. On group 2,3 and 4 the therapeutic agent was administered intraperitoneally in 0 - 12 - 24 - 36 - 48 - 60 and 72 hours. Then all the animals were capitulated after perfusion and fixation. A Large craniectomy was performed and brain, cerebellum, and brainstem were removed globally. Then the photographs of basilar arteries were then with 40X magnification after sections were obtained. In these sections, basilar artery lumen

cross-sectional area, basilar artery areas and wall thickness were measured. The obtained values, were examined with Kruskal-Wallis test. Basilar artery lumen cross-sectional area, was found significantly higher in SAH created and treated groups of ALCAR 50 mg \ kg and ALCAR 100 mg \ kg, than pure SAH and SAH + SF groups ($p=0.0408$). Basilar artery wall thickness was significantly increased in all groups except the control group ($p < 0,05$).

Carnitine in the light of all these findings, is thought to be effective against vasospasm in an experimental SAH model.

11.KAYNAKLAR

1. Linn FH, Rinkel GS, Algra A, van Gijns. Incidence of subarachnoid hemorrhage. Role of region, year and rate of computerized tomography. A meta anlysis. Stroke1996;27 625-9.
2. Weir B, McDonald RL. Intracraial aneurysms and subarachnoid hemorrhage. An overview. In. Wilkins DH, Regechary SS,eds.Neurosurgery.2 nd ed. New York.1996; 26: 91- 211
3. Takahashi M, Macdonald RL. Subarachnoid hemorrhage. Contemporary Neurosurgery 2006;Vol 28 No 15.
4. Kassell NF, Shaffrey ME, Shaffrey CL.Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. In Apuzzo MED, ad. Brain Surgery: Complication Avoidance and management. New York , Churchill Livingstone 1992;847-56
5. Weir BKA, McDonald RL, Stoodley M: Etiology of cerebral vasospasm. Acta Neurochir (Wien) 72: 27-46, 1999
6. Pluta RM, Afshar JK, Boock RJ, Oldfield EH. Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and methemoglobin after subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 1998; 88:557-561.
7. Liu-Deryke X, Rhoney DH. Cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an overview of pharmacologic management. Pharmacotherapy 2006 Feb; 26(2):182-203
8. Alabadi JA, Torregrosa G, Miranda FJ, Salom JB, Centeno JM, Alborch E: Impairment of the modulatory role of nitric oxide on the endothelin-1-elicited contraction of cerebral arteries: A pathogenetic factor in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage? Neurosurgery 41:245–253, 1997
9. Akkuş İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri (ed 1). Konya, Mimoza Yayınları, 1995
10. Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of l-carnitine. Life Sci. 2006; 78:803-811
11. Yasargil M. Microneurosurgery, Vol. II. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1984; 165-221.

12. Mayberg MR, Batjer HH, Dacey R, Diringer M, Haley EC, Heros RC, Sternau LL, Torner J, Adams HP Jr, Feinberg W: Guidelines for the management to aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1994; 25: 2315-2328
13. Hop JW, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J: Case-fatality rates and functional outcome. After subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *Stroke* 1997; 28: 660-664
14. Mocco J, Brad E. Zacharia, Ricardo J. Komotar, E. Sander Connolly JR: A review of current and future medical therapies for cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg Focus* 2006; 21 (3):E9
15. Broderick JP, Brott TG, Duldner JE, Tomsick T, Leach A: Initial and recurrent bleeding are the major causes of death following subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1994; 25:1342-1347
16. Hacıyakupoğlu S. Subaraknoid kanamanın medikal tedavisi. *Temel Noroşirurji. Turk Noroşirurji Derneği Yayını* 1997; 16: 1-32
17. Schievink WI. Genetics of intracranial aneurysms. In: Winn HR, ed: *Youmans Neurological Surgery* 5 th. Ed. New York. NY; Saunders 2004; 1769-79
18. Inagawa T. What are the actual incidence and mortality rates of subarachnoid hemorrhage? *Surg Neurol* 1997;47:47-53.
19. Ingall T, Asplund K, Mahonen M, Bonita R. A multinational comparison of subarachnoid hemorrhage epidemiology in the WHO MONICA stroke study. *Stroke*. 2000;31:1054 –1061
20. Epidemiology of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in Australia and New Zealand: incidence and case fatality from the Australasian Cooperative Research on Subarachnoid Hemorrhage Study (ACROSS). *Stroke*. 2000;31:1843–1850.
21. Van Gijn J, Rinkel GJ. Subarachnoid haemorrhage: diagnosis, causes and management. *Brain*. 2001;124(pt 2):249 –278.
22. Rinkel GJ, Djibuti M, Algra A, van Gijn J. Prevalence and risk of rupture of intracranial aneurysms: a systematic review. *Stroke*. 1998;29:251–256
23. Chyatte D, Chen TL, Bronstein K, Brass LM: Seasonal fluctuation in the incidence of intracranial aneurysm rupture and its relationship to changing climatic conditions. *J Neurosurg* 81:525-530, 1994

24. Broderick JP, Brott T, Tomsick T, Huster G, Miller R. The risk of subarachnoid and intracerebral hemorrhages in blacks as compared with whites. *N Engl J Med.* 1992;326:733–736.
25. Schievink WI. Genetics of intracranial aneurysms. (Review) *Neurosurg* 40:651-662,1997
26. Locksley HB. Natural history of subarachnoid hemorrhage, intracranial aneurysms and arteriovenous malformations. *J Neurosurg.* 1966;25: 321–368
27. Kawachi I, Colditz GA, Stamper MJ, Willett WC, Manson JE, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Smoking cessation and decreased risk of stroke in women. *JAMA* 269: 232-236, 1993
28. Nanda A, Vannemreddy PS, Polin RS, Willis BK. Intracranial aneurysms and cocaine abuse: analysis of prognostic indicators. *Neurosurgery.* 2000;46:1063–1067
29. Oyesiku NM, Colohan AR, Barrow DL, Reisner A. Cocaine-induced aneurysmal rupture: an emergent negative factor in the natural history of intracranial aneurysms? *Neurosurgery.* 1993;32:518 –525
30. Kernan WN, Viscoli CM, Brass LM, Broderick JP, Brott T, Feldmann E, Morgenstern LB, Wilterdink JL, Horwitz RJ. Phenylpropanolamine and the risk of hemorrhagic stroke. *N Engl J Med.* 2000;343:1826 –1832
31. Adams HP Jr, Putman SF, Kassell NF, Torner JC. Prevalence of diabetes mellitus among patients with subarachnoid hemorrhage. *Arch Neurol.* 1984;41:1033–1035
32. Qureshi AI, Suarez JJ, Parekh PD, Sung G, Geocadin R, Bhardwaj A, Tamargo RJ, Ulatowski JA. Risk factors for multiple intracranial aneurysms. *Neurosurgery.* 1998;43:22–26
33. David CA, Vishteh AG, Spetzler RF, Lemole M, Lawton MT, Partovi S. Late angiographic follow-up review of surgically treated aneurysms. *J Neurosurg.* 1999;91:396–401.
34. King JT Jr, Berlin JA, Flamm ES. Morbidity and mortality from elective surgery for asymptomatic, unruptured, intracranial aneurysms: a metaanalysis. *J Neurosurg.* 1994;81:837– 842.
35. Wilkins RH: Update SAH and saccular intracranial aneurysms. *Surg Neurol* 1981;12: 92- 102

36. Weir B: Intracranial aneurysms and SAH. In Wilkins RH and Rangachary SS (Eds.): Neurosurgery, McGraw Hill Book Comp, New York, 1985; 1308-1329
37. Smith RR, Miller JD: Pathophysiology and clinical evaluation of subarachnoid hemorrhage. In Youmans JR(Ed): Neurological Surgery Vol 3, WB Saunders, Philadelphia 1990; 1644-1660
38. Roach MR, Drake CG: Ruptured cerebral aneurysms caused by micro-organisms. N Engl J Med. 273: 240-244, 1965
39. Kawamura S, Yasul N: Clinical and long-term follow-up study in patients with spontaneous subarachnoid hemorrhage of unknown aetiology. Acta Neurochir 106: 110-114, 1990.
40. Gilbert JW, Lee C, Young B: Repeat cerebral panangiography in subarachnoid hemorrhage. Surg. Neurol 33: 19-21, 1990
41. Iwanaga H, Wakai S, Ochiai C, Narita J, Inoh S, Nagai M: Ruptured cerebral aneurysms missed by initial angiographic study. Neurosurgery 27: 45-51, 1990
42. Okawara SH: Warning signs prior to rupture of an intracranial aneurysm. J Neurosurg 38:575-580, 1973
43. Mc Fadzen RM, Doyle D, Rampling R, Teasdale E, Teasdale G: Pituitary apoplexy and its effects on vision. Neurosurg 1991; 29: 669-75
44. McDonald RL, Weir B: Perioperative Management of Subarachnoid Hemorrhage. Youmans Fifth edition, Vol II, Philadelphia, Elsevier 1996; 1813-38.
45. M O McCarron, M J Alberts, P McCarron: A systematic review of Terson's syndrome: frequency and prognosis after subarachnoid haemorrhage. Neurol Neurosurg Psychiatry 2004;75:491-493.
46. Salary M, Quigley MR, Wilberger JE Jr. Relation among aneurysm size, amount of subarachnoid blood, and clinical outcome. J Neurosurg. 2007 Jul;107(1):13-7

47. Aksoy K, Palaoglu S, Pamir N, Tuncer R (Ed): Temel nörosirürji, Türk Nöroşirürji Derneği yayınları Cilt 1 2005; 441-457
48. Drake CG: Report of World Federation of Neurological Surgeons Committee on a universal subarachnoid hemorrhage grading scala. J Neurosurg 1988; 68:985-986
49. Bederson JB, Connolly ES, Batjer HH, Dacey RG, Dion JE, Diringer MN, Duldner JE Jr, Harbaugh RE, Patel AB, Rosenwasser RH. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A statement for Healthcare Professionals From a Special Writing Group of the Stroke Council. American Heart Association. Stroke 2009; 40:994-1025.
50. Karamessini MT, Kagadis GC, Petsas T, Karnabatidis D, Konstantinou D, Sakellaropoulos GC, Nikiforidis GC, Siablis D. CT angiography with three-dimensional techniques for the early diagnosis of intracranial aneurysms. Comparison with intraarterial DSA and the surgical findings. Eur J Radiol 2004; 49: 212-23
51. Binet EF, Angtuaca EJC. Radiology of intracranial aneurysm. In Wilkins RH, New York. 1985; 1341-54.
52. Uysal E, Yanbuloglu B, Erturk M, Kilinc BM, Basak M. Spiral CT angiography in diagnosis of cerebral aneurysms of cases with acute subarachnoid hemorrhage. Diagn Interv Radiol 2005; 11: 77-82
53. Hernesniemi J, Dashti R, Lehecka M, Niemelä M, Rinne J, Lehto H, Ronkainen A, Koivisto T, Jääskeläinen JE. Microneurosurgical management of anterior communicating artery aneurysms. Surgical Neurology 2008; 70: 8-29
54. Kassel NF, Torner JC, Jane JA, Haley EC Jr, Adams HP, Kongable GL. The international cooperative study on the timing of aneurysm surgery: II. Surgical results. J Neurosurg 1990; 73: 37-47

- 55.** Findlay JM, Weir BKA, Kassel NF. Intracisternal recombinant tissue plasminogen activator after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 75:181-188, 1991
- 56.** Hasan D, Tanghe HL: Distribution of cisternal blood in patients with acute hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage. *Ann Neurol* 1992; 31: 374-8
- 57.** Egemen N, Turker RK, Sanlidilek U, Zorlutuna A, Bilgic S, Baskaya M, Unlu A, Caglar S. The effect of intrathecal sodium nitroprusside on severe chronic vasospasm. *Neurological Research* 1993; 15: 308- 15
- 58.** Egemen N, Turker RK, Sanlidilek U, Zorlutuna A, Bilgic S, Baskaya M, Unlu A, Caglar S. The effect of Iloprost on Chronic Cerebral Vasospasm. *Gen. Pharmac.* 1993; 24 (2): 403-9.
- 59.** Selcuki D, Selcuki M: Aneurysmal subarachnoidal hemorrhage: post hemorrhagic complications. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006; (2) 22: 79-84
- 60.** Allen GS, Bahr AL: Cerebral arterial spasm. Part 10. Reversal of acute and chronic spasm in dogs with orally administered nifedipine. *Neurosurgery* 4: 43, 1979
- 61.** Kunihiro O: Prolonged vasospasm produced by the breakdown products of erythrocytes. *J Neurosurg.* 47: 403-411, 1977
- 62.** Findlay MS. Cerebral vasospasm Youmans Neurological Surgery eds: Winn RH, Vol II chapter 2004; 109:1839-67
- 63.** Ecker A, Riemenschneider PA: Arteriographic demonstration of spasm of the intracranial arteries: With special reference to saccular arterial aneurysm. *J Neurosurg* 8: 660-667, 1951.
- 64.** Kassel NF, Peerless SJ, Durward QJ: Treatment of ischemic deficits from vasospasm with intravascular volume expansion and induced arterial hypertension. *Neurosurgery* 11: 337-343, 1982

65. Sasaki T, Wakai S, Asano T, Watanabe T, Kirino T, Sano K. The effect of a lipid hydroperoxide of arachidonic acid on the canine basilar artery. An experimental study on cerebral vasospasm. *J.Neurosurgery* 54: 357-365, 1981
66. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM: Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery* 6: 1-9, 1980
67. Mayberg MR, Batjer HH, Dacey RG Jr, Diringer M, Haley EC Jr, Heros RC, Sternau LL, Torner J, Adams HP Jr, Feinberg W, Thies W: Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A statement of healthcare professionals from a special writing group of Stroke Council, American Heart Association. *Circulation* 90: 2592-2605, 1990
68. Kassel NF, Sasaki T, Colohan AR, Nazar G: Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 16: 562-572, 1985
69. Haley EC Jr, Kassell NF, Torner JC: The international cooperative study on the timing of aneurysm surgery: The North American experience. *Stroke* 23: 205-214, 1992.
70. Pfohman M, Criddle LM. Epidemiology of intracranial aneurysm and subarachnoid hemorrhage. *J Neurologic surg* 2001; 33: 39-40
71. Barker FG, Heros RC: Clinical aspects of vasospasm. *Neurosurgery Clinics of North America* 1990, 1,2:277-287
72. Harrod CG, Bendok BR, Batjer HH: Prediction of cerebral vasospasm in patients presenting with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a review. *Neurosurgery*, 56 (4): 633 – 654, 2005.
73. McDonald RL, Weir BKA: A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke* 22: 971-982, 1991.
74. Aoki T, Takenaka K, Suzuki S, Kassell NF, Sagher O, Lee KS: The role of hemolysate in the facilitation of oxyhemoglobin-induced contraction in the rabbit basilar arteries. *J Neurosurg* 81: 261-266, 1994.

75. Tahta K, Caner H, Özcan OE, Özgen T, Atasever A: Effect of deferoxamine on blood-brain disturbance following subarachnoid hemorrhage in cats . Turkish Neurosurg 1991; 2:60-63
76. Aihara Y, Jahromi BS, Yassari R, Nikitina E, Agbaje-Williams M, Macdonald RL. Molecular profile of vascular ion channels after experimental subarachnoid hemorrhage. J Cereb Blood Flow Metab. 24 (1):75-83, 2004
77. Liu P, Xi Q, Ahmed A, Jaggar JH, Dopico AM. Essential role for smooth muscle BK channels in alcohol-induced cerebrovascular constriction. Proc Natl Acad Sci U S A. 28;101 (52):18217-22, 2004
78. Moneer Z, Pino I, Taylor EJ, Broad LM, Liu Y, Tovey SC, Staali L, Taylor CW. Different phospholipase-C-coupled receptors differentially regulate capacitative and non capacitative Ca²⁺ entry in A7r5 cells. Biochem J. 389 (Pt 3):821-9, 2005
79. Hisatsune C, Nakamura K, Kuroda Y, Nakamura T, Mikoshiba K. Amplification of Ca²⁺ signaling by diacylglycerol-mediated inositol 1,4,5-trisphosphate production. J Biol Chem. 2004 25;280 (12):11723-30
80. Cawley SM, Sawyer CL, Brunelle KF, Vliet A, Dostmann WR. Nitric oxide – evoked transient kinetics of cyclic GMP in vascular smooth muscle cells. Cellular Signalling. 2006, 1-11
81. Netherton SJ, Maurice DH. Vascular endothelial cell cyclic nucleotidephosphodiesterases and regulated cell migration: Implications in angiogenesis. Mol Pharmacol 67: 263-272, 2005.
82. Krumenacker J, Hanafy K, Murad F. Regulation of nitric oxide and soluble guanylyl cyclase. Brain Res Bull 62: 505–515, 2004
83. Clatterbuck RE, Gailloud P, Ogata L, Gebremariam A, Dietsch GN, Murphy KJ, Tamargo RJ. Prevention of cerebral vasospasm by a humanized anti-CD11/CD18 monoclonal antibody administered after experimental subarachnoid hemorrhage in nonhuman primates. J Neurosurg. 99 (2):376-82, 2003

84. Clatterbuck RE, Oshiro EM, Hoffman PA, Dietsch GN, Pardoll DM, Tamargo RJ. Inhibition of vasospasm with lymphocyte function-associated antigen-1 monoclonal antibody in a femoral artery model in rats. *J Neurosurg* 97 (3):676-82, 2002
85. Zhou ML, Shi JX, Hang CH, Cheng HL, Qi XP, Mao L, Chen KF, Yin HX. Potential contribution of nuclear factor-kappaB to cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007 Feb 7
86. Gallia GL, Tamargo RJ. Leukocyte-endothelial cell interactions in chronic vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res.* 28 (7):750-8, 2006
87. Bowman G, Bonneau RH, Chinchilli VM, Tracey KJ, Cockcroft KM. A novel inhibitor of inflammatory cytokine production (CNI-1493) reduces rodent posthemorrhagic vasospasm. *Neurocrit Care.* 5 (3):222-9, 2006
88. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, Bertsch T, Schmeck J, Schutt S, Fritzinger M, Horn P, Vajkoczy P, Kreisel S, Brunner J, Schmiedek P, Hennerici M. Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 70 (4):534-7, 2001
89. Nam DH, Kim JS, Hong SC, Lee WH, Lee JI, Shin HJ, Park K, Eoh W, Han DH, Kim JH. Expression of interleukin-1 beta in lipopolysaccharide stimulated monocytes derived from patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage is correlated with cerebral vasospasm. *Neurosci Lett.* 312 (1):41-4, 2001
90. Hendryk S, Jarzab B, Josko J. Increase of the IL-1 beta and IL-6 levels in CSF in patients with vasospasm following aneurysmal SAH. *Neuro Endocrinol Lett.* 25 (1-2):141-7, 2004
91. Keyrouz SG, Diringier MN. Clinical review: Prevention and therapy of vasospasm in subarachnoid hemorrhage *Crit Care.* 2007 Aug 14;11(4):220

92. Bederson JB, Levy AL, Ding WH, Kahn R, DiPerna CA, Jenkins AL III, Vallabhajosyula. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1998; 42:352-360
93. Kassell NF, Sasaki T, Colohan AR, Nazar G: Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1985; 16: 562-572
94. Yonas H: Cerebral blood measurements in vasospasm. *Neurosurg Clin North Am* 1990; 1:307-318
95. Origitano TL, Wsachler TA, Reichman OH. Sustained increased CBF with prophylactic hypertensive hypervolemic hemodilution (Triple-H therapy) after SAH. *Neurosurgery*, 1990; 27:729-740
96. Wardas J. Neuroprotective role of adenosine in the CNS. *Pol .J Pharmacol* 2002; 54:313-26.
97. Ohmann J, Servo A, Heiskanen O: Long-term effects of nimodipine on cerebral infarcts and outcome after aneurysmal SAH and surgery. *J Neurosurg* 71:8-13,1991
98. Karinen P, Koivukangas P, Ohinmaa A, Koivukangas J, Ohman J: Costeffectiveness analysis of nimodipine treatment after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and surgery. *Neurosurgery* 1999; 45:780-785
99. Tjahjadi M, König R, Rainer Wirtz C, Woischneck D, Kapapa T., Cerebral vasospasm and health-related quality of life after subarachnoid haemorrhage. *World Neurosurg.* 2012 Sep 25. pii: S1878-8750(12)01036-
100. Leblanc R. Clinical and experimental investigation of aneurysmal SAH. *Neurosurg*, 1991;4:63-70.
101. McDonald RL, Curry DJ, Aihara Y, Zhang ZD, Jahromi BS, Yassari R: Magnesium and experimental vasospasm. *J Neurosurg* 2004; 100:106-110
102. Bejjani GK, Bank WO, Olan WJ, Sekhar L: The efficacy and safety of angioplasty for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 42:979 – 982,1998

103. Chih-Lung Lin, Aaron S, Dumont, Calisaneller T, Kwan AL, Hwong SL, Lee KS. Monoclonal antibody against E selectin attenuates subarachnoid hemorrhage induced cerebral vazospazm. *Surgical Neurology* 2005; 64: 201-206.
104. Ashwal S, Tone B, Tian HR, Cole DJ, Pearce WJ. Core and penumbral nitric oxide synthase activity during cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 1998; 29: 1037
105. Megyesi JF, Vollrath B, Cook DA, Findlay JM. In vivo animal models of cerebral vasospasm: a review. *Neurosurgery* 2000; 46: 448-60
106. Smith C, Marks DA, Lieberman M: Marks' Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach (ed 2), Lippincott Williams & Wilkins, 2005
107. Peiro C, Angulo J, Rodriguez-Manas L, Llergo JL, Vallejo S, Cercas E, Sanchez-Ferrer CF. Vascular smooth muscle cell hypertrophy induced by glycosylated human oxyhaemoglobin. *Br J Pharmacol.* 125 (4):637-44, 1998
108. Hinder RA. Oxygen –derived free radicals . *Arch Surg* 1991; 126: 104-105
109. Akyol O, Isci N, Temel I, Ozgocmen S, Uz E, Murat M, Buyukberber S. The relationship between plasma and erythrocyte antioxidant enzymes and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 68:31 1-7,2001
110. Tamer L, Polat G, Eskandari G, Ercan B, Atik U. Serbest radikaller. *Mersin Üniv Tıp Fak Der*, 2000; 1 (1): 52-58.
111. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189: 41–54
112. Çiçek D. Exercise and oxidative stress. *Ana Kar Der* 2006; 6:141–142
113. Amorim AM, Gasques MD, Andreus J, Scharf M. The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. *An Acad Bras Cienc.* 2002; 74: 433-436

114. Valkonen V.P, Laaksonen R. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. *Clinica Chimica Acta* 2004; 348: 9-17
115. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular Biology of the Asymmetric Dimethylarginine: Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase Pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1023-1030
116. Cooke JP: Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 20: 2032-37, 2000.
117. Zoccali C, Bode-Boger S, Mallamaci F, Benedetto FA ve ark. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase predicts mortality in end stage renal disease (ESRD). *Lancet* 2001;358:2113-17
118. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP: Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation.* 99: 1141-46, 1999
119. Sobey, C. Cerebrovascular dysfunction after subarachnoid hemorrhage: novel mechanisms and directions for therapy. *Clin Exp. Pharmacol Physiol* 2001, 28, 926– 929
120. Ignarro, L. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol* 2002. 53, 503– 514.
121. S. Moncada, E.A. Higgs. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British Journal of Pharmacology* (2006) 147, S193–S201
122. Napoli C, Ignarro LJ. Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric Oxide* 2001;5:88-97
123. Cooke JP ve Losordo DW. Nitric Oxide and angiogenesis. *Circulation* 2002;105(18):2133-5
124. Böger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovascular Research* 59 (2003) 824–833
125. Virmani A, Binienda Z. Role of carnitine esters in brain neuropathology. *Mol Aspects Med.* 2004; 25: 533-549

126. Calabrese V, Giuffrida Stella AM, Calvani M, et al. Acetylcarnitine and cellular stress response: roles in nutritional redox homeostasis and regulation of longevity genes. *J Nutr Biochem* 2006;17: 73-88
127. Gomez-Amores L, Mate A, Miguel-Carrasco JL, Jimenez L, Jos A, Camean AM, Revilla E, Santa-Maria C, Vazquez CM. L-carnitine attenuates oxidative stress in hypertensive rats. *J Nutr Biochem*. 2007; 18: 533-540
128. Furuno T, Kanno T, Arita K, Asami M, Asami M, Utsumi T, Doi Y, Inoue M, Utsumi K. Roles of long chain fatty acids and carnitine in mitochondrial membrane permeability transition. *Biochem Pharmacol* 2001; 62: 1037-1046
129. Brown GC. Nitric oxide and mitochondrial respiration. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1411: 351-369
130. Aladag MA, Turkoz Y, Sahna E, Parlakpınar H, Gul M: The attenuation of vasospasm by using a sod mimetic after experimental subarachnoidal haemorrhage in rats. *Acta Neurochir (Wien)* 145:673–677, 2003.
131. Longo M, Blandino A, Ascenti G, Ricciardi GK, Granata F, Vinci S: Cerebral angiography in the rat with mammographic equipment: A simple, costeffective method for assessing vasospasm in experimental subarachnoid haemorrhage. *Neuroradiology* 44:689–694, 2002
132. Suzuki H, Kanamaru K, Tsunoda H, Inada H, Kuroki M, Sun H, Waga S, Tanaka T: Heme oxygenase-1 gene induction as an intrinsic regulation against delayed cerebral vasospasm in rats. *J Clin Invest* 104:59–66, 1999
133. Solomon RA, Antunes JL, Chen RY, Bland L, Chien S. Decrease in cerebral blood flow in rats after experimental subarachnoid hemorrhage: a new animal model. *Stroke* 1985, 16(1):58-64.
134. Vatter H, Weidauer S, Konczalla J, Dettmann E, Zimmermann M, Raabe A, Preibisch C, Zanella FE, Seifert V. Time course in the development of cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage: clinical and

neuroradiological assessment of the rat double hemorrhage model. Neurosurgery. 2006 Jun;58(6):1190-7

135. Seçkin H, Yigitkanli K, Besalti O, Kosemehmetoglu K, Ozturk E, Simsek S, Belen D, Bavbek M. Lamotrigine attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. Surg Neurol. 2008 Oct;70(4):344-5
136. Kuo CP, Lu CH, Wen LL, Cherng CH, Wong CS, Borel CO, Ju DT, Chen CM, Wu CT. Neuroprotective effect of curcumin in an experimental rat model of subarachnoid hemorrhage Anesthesiology. 2011 Dec;115(6):1229-38
137. Erdi MF, Guney O, Kiyici A, Esen H. The effects of alpha lipoic acid on cerebral vasospasm following experimental subarachnoid hemorrhage in the rabbit. Turk Neurosurg. 2011;21(4):527-33.
138. Davignon J. And Ganz P. Role of Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. Circulation 2004;109:III-27-III-32.