



**T.C.  
AFYON  
KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA SONRASI  
SEREBRAL VAZOSPAZM VE ERKEN BEYİN HASARI  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA 2-APB'NİN DOZ  
BAĞIMLI ETKİSİ**

**Arş. Gör. Dr. USAME RAKİP**

**BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. MEHMET GAZİ BOYACI**

**AFYONKARAHİSAR 2017**

**T.C  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA SONRASI  
SEREBRAL VAZOSPAZM VE ERKEN BEYİN  
HASARI OLUŞTURULAN SIÇANLARDA 2-APB'NİN  
DOZ BAĞIMLI ETKİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ARŞ. GÖR. DR. USAME RAKİP**

**DANIŞMAN**

**YRD. DOÇ. DR. MEHMET GAZİ BOYACI**

**AFYONKARAHİSAR 2017**

**T.C**  
**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**Tez başlığı** : DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA SONRASI  
SEREBRAL VAZOSPAZM VE ERKEN BEYİN HASARI  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA 2-APB'NİN DOZ  
BAĞIMLI ETKİSİ

**Tezi hazırlayan** : Arş. Gör. Dr. USAME RAKİP

**Tez Savunma Tarihi:** 27.02.2017

**Tez Kabul Tarihi** : 27.02.2017

**Tez Danışmanı** : YRD. DOÇ. DR. MEHMET GAZİ BOYACI

İş bu çalışma jürimiz tarafından BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.



Başkan  
Prof. Dr. Adem ASLAN

Üye

Üye

Prof. Dr. Saffet TÜZGEN

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Gazi BOYACI

ONAY

DEKAN V.

Prof. Dr. Adem ASLAN

## TEŞEKKÜR

Nöroşirürji gibi kutsal ancak her yönü ile uzun ve zorlu bir eğitim gerektiren bilimsel yolda, göreve başladığım ilk günden itibaren bilgi ve deneyimlerini esirgmeden her türlü desteği sağlayan saygı değer hocalarım tez jürim Prof. Dr. Saffet TÜZGEN başta olmak üzere, Prof. Dr. Adem ASLAN, Yrd.Doç.Dr. Serhat KORKMAZ, Yrd.Doç.Dr. Serhat YILDIZHAN'a, tezimi hazırlarken bilgi ve tecrübesi ile yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doç. Dr. M.Gazi BOYACI 'ya, Histoloji ve Biyokimya laboratuvar çalışmalarında destek ve katkılarından dolayı Öğr.Grv.Dr. Esra ASLAN'a ve Öğr.Grv.Dr. Halit Buğra KOCA'ya, en derin saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca birlikte ekip ruhuyla çalıştığım başta Dr. İhsan CANBEK olmak üzere değerli asistan arkadaşlarıma, asistan çekirdek ailem'e, yoğun bakım, servis, poliklinik ve ameliyathanede birlikte görev yaptığımız hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Sevgi ve özverileri ile beni yetiştiren, desteklerini esirgemeyen canım anneme, babama, kardeşlerime ve özellikle bunca yıl boyunca sabır ve sevgiyle bana destek olan ve onlara ayırmam gereken zamandan hep fedakarlık eden eşim Emine Tuba, çocuklarım; Fatma Sena, Ahmed ve Abdullah'a; en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunmak isterim.

Dr. USAME RAKİP

## İÇİNDEKİLER

|                                                                       |      |
|-----------------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                                         | I    |
| İÇİNDEKİLER.....                                                      | II   |
| KISALTMALAR .....                                                     | IV   |
| TABLO VE ÇİZELGELER .....                                             | VII  |
| TABLO:.....                                                           | VII  |
| ŞEKİL: .....                                                          | VII  |
| RESİM: .....                                                          | VIII |
| GRAFİK: .....                                                         | IX   |
| I. GİRİŞ VE AMAÇ .....                                                | 1    |
| II. GENEL BİLGİLER .....                                              | 3    |
| II.A. Subarakonid kanama .....                                        | 3    |
| II.A.1. Tanım .....                                                   | 3    |
| II.A.2. Epidemiyoloji.....                                            | 3    |
| II.A.3. Etyoloji.....                                                 | 4    |
| II.A.4. Risk Faktörler.....                                           | 9    |
| II.A.5. Klinik Belirtileri ve Bulgular .....                          | 9    |
| II.A.6. Prognoz .....                                                 | 11   |
| II.A.7. Komplikasyonlar .....                                         | 12   |
| II.A.8. Ayırıcı Tanı .....                                            | 14   |
| II.A.9. Tanı .....                                                    | 14   |
| II.A.10. Hastaya yaklaşım, Klinik Evreleme ve Sınıflandırılmalar..... | 16   |
| II.A.11. Serebral kan akımı .....                                     | 20   |
| II.A.12. Serebral vasküler değişiklikler.....                         | 21   |
| II.B. Serebral Vazospazm .....                                        | 23   |
| II.B.1. Tanım.....                                                    | 23   |

|                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------|-----------|
| II.B.2. Tarihçe.....                                                 | 24        |
| II.B.3. Epidemiyoloji .....                                          | 26        |
| II.B.4. Patogenezi .....                                             | 29        |
| II.B.5. Klinik Belirtiler .....                                      | 38        |
| II.B.6. Tanı.....                                                    | 39        |
| II.B.7. Serebral vazospazmda önleyici ve tedavi edici yöntemler..... | 40        |
| II.C. 2-Aminoetoksi difenil borat (2-APB) .....                      | 44        |
| <b>III. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                     | <b>47</b> |
| III.A. Hayvan hazırlığı ve anestezi: .....                           | 47        |
| III.B. Cerrahi İşlem Prosedür .....                                  | 48        |
| III.B.1. Deneysel Subaraknoid Kanama Oluşturulması.....              | 48        |
| III.B.2. İmmünohistokimyasal İnceleme .....                          | 50        |
| Biyokimyasal incelemeler .....                                       | 50        |
| Histopatolojik inceleme .....                                        | 52        |
| III.C. Deney Grupları.....                                           | 54        |
| III.D. İstatistiksel Analiz.....                                     | 58        |
| <b>IV. BULGULAR .....</b>                                            | <b>59</b> |
| IV.A. Biyokimyasal Bulgular: .....                                   | 59        |
| IV.B. Histopatolojik Bulgular: .....                                 | 63        |
| IV.B.1. Baziler arter lümen çapı ve duvar kalınlığı:.....            | 63        |
| IV.B.2. İmmünohistokimya .....                                       | 70        |
| <b>V. TARTIŞMA.....</b>                                              | <b>74</b> |
| <b>VI. SONUÇ.....</b>                                                | <b>78</b> |
| <b>VII. ÖZET .....</b>                                               | <b>80</b> |
| <b>VIII. ABSTRACT .....</b>                                          | <b>81</b> |
| <b>IX. KAYNAKLAR.....</b>                                            | <b>82</b> |

## KISALTMALAR

|              |                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------|
| <b>ADH</b>   | : Antidiüretik hormon                           |
| <b>AMI</b>   | : Akut Miyokard infarktüsü                      |
| <b>AMP</b>   | : Adenozin monofosfat                           |
| <b>ATP</b>   | : Adenozin trifosfat                            |
| <b>AVM</b>   | : Arteriovenöz malformasyon                     |
| <b>BA</b>    | : Baziler arter                                 |
| <b>BOS</b>   | : Beyin omurilik sıvısı                         |
| <b>BT</b>    | : Bilgisayarlı tomografi                        |
| <b>BBT</b>   | : Beyin Bilgisayarlı tomografi                  |
| <b>BTA</b>   | : Bilgisayarlı tomografi anjiografi             |
| <b>Ca++</b>  | : Kalsiyum                                      |
| <b>CGMP</b>  | : Siklik adenozin monofosfat                    |
| <b>CGRP</b>  | : Calsitonin gen ilişkili peptit                |
| <b>ÇKBTA</b> | : Çok kesitli bilgisayarlı tomografi anjiografi |
| <b>DM</b>    | : Diabetes Mellitus                             |
| <b>DNA</b>   | : Deoksi ribonükleik asit                       |
| <b>DSA</b>   | : Dijital Substraksiyon Anjiyografi             |
| <b>DVT</b>   | : Derin ven trombozu                            |
| <b>EDCF</b>  | : Endotelial kaynaklı konstriktör faktörleri    |
| <b>EDHF</b>  | : Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör        |

|                |                                      |
|----------------|--------------------------------------|
| <b>EDRF</b>    | : Endotelyel türevli relakson faktör |
| <b>EEG</b>     | : Elektroensefalogram                |
| <b>EKG</b>     | : Elektrokardiyografi                |
| <b>eNOS</b>    | : Endotelyel nitrik oksit sentaz     |
| <b>EVD</b>     | : Eksternal Ventriküler Drenaj       |
| <b>ET</b>      | : Endotelin                          |
| <b>FND</b>     | : Fokal nörolojik defisit            |
| <b>GKS</b>     | : Glasgow koma skoru                 |
| <b>GPx</b>     | : Glutasyon peroksidaz               |
| <b>GS,GC</b>   | : Guanilat siklaz                    |
| <b>H&amp;E</b> | : Hemotoksilen-eosin                 |
| <b>H2O2</b>    | : Hidrojen peroksit                  |
| <b>HT</b>      | : Hipertansiyon                      |
| <b>İCP</b>     | : İntrakranyal basınç takibi         |
| <b>İKB</b>     | : İntrakranyal basınç                |
| <b>İL-1B</b>   | : İnterleukin 1-beta                 |
| <b>IP3</b>     | : İnozitol-3 fosfat                  |
| <b>KİBAS</b>   | : Kafa içi basınç artış sendromu     |
| <b>LP</b>      | : Lomber ponksiyon                   |
| <b>MİB</b>     | : Menengial irritasyon bulgusu       |
| <b>MRA</b>     | : MR anjiyografi                     |

|              |                                              |
|--------------|----------------------------------------------|
| <b>MRG</b>   | : Manyetik Rezonans Görüntüleme              |
| <b>MDA</b>   | : Malondialdehyde                            |
| <b>MLCK</b>  | : Myosine light chain kinase                 |
| <b>NO</b>    | : Nitrik oksit                               |
| <b>PDGF</b>  | : Trombosit kökenli büyüme faktör            |
| <b>PET</b>   | : Pozitron emisyon tomografisi               |
| <b>PKC</b>   | : Protein kinaz C                            |
| <b>SAK</b>   | : Subaraknoid kanama                         |
| <b>SD</b>    | : Standart sapma                             |
| <b>SERCA</b> | : Sarkoendoplazmik retikulum $Ca^{+2}$       |
| <b>SOCE</b>  | : Depo-kontrollü $Ca^{+2}$ girişi            |
| <b>SOD</b>   | : Süperoksit dismutaz                        |
| <b>SPECT</b> | : Single-photon emission computed tomography |
| <b>SR</b>    | : Sarkoplazmik retikulum                     |
| <b>SVS</b>   | : Serebral vasopazm                          |
| <b>TBSLE</b> | : Tris- Buffered Saline                      |
| <b>TCD</b>   | : Transkranial dopler                        |
| <b>TNF</b>   | : Tümör nekrozis faktör                      |
| <b>TRP</b>   | : Transient receptor potential               |
| <b>2-APB</b> | : 2-aminoetoksifenil borat                   |

## TABLO VE ÇİZELGELER

### TABLO:

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1: Botterel SAK sınıflandırması .....                             | 17 |
| Tablo 2: Hunt-Hess SAK sınıflandırması.....                             | 18 |
| Tablo 3: M.G. Yaşargil sınıflandırması.....                             | 18 |
| Tablo 4: Fisher sınıflandırması.....                                    | 19 |
| Tablo 5: Dünya Nörolojik Cerrahlar Federasyonu(WFNS) Sınıflandırması... | 19 |
| Tablo 6: Serumda ve beyin dokusunda biyokimyasal değerleri.....         | 59 |
| Tablo 7: Baziler artel lümen çapı ve duvar kalınlığının değerleri.....  | 63 |
| Tablo 8: Caspasların gruplara değerleri.....                            | 70 |

### ŞEKİL:

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1: Anevrizma oluşumundaki patolojik değişiklikler .....                                                                          | 23 |
| Şekil 2: Subaraknoid kanama sonrası görülen vazospazmın<br>zamansal çizelgesi. ....                                                    | 25 |
| Şekil 3: Hücre içi kalsiyum artışı ile vasküler düz kas tonusunun regülasyonu.                                                         | 31 |
| Şekil 4: Basınç ve gerilime duyarlı kanallardan kalsiyum influkasyonu<br>sonucu oluşan vasküler düz kas kasılması. ....                | 31 |
| Şekil 5: Stimülatör ve inhibitör G proteinlerinin aktivasyonu ve<br>sinyal transdüksiyonu ile gelişen reseptör bağımlı mekanizma. .... | 33 |
| Şekil 6: 2-Aminoetoksidifenil borat' ın yapısı. ....                                                                                   | 44 |

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| Şekil 7: TRPC kanal proteini yapısı.....         | 45 |
| Şekil 8: SOCE aktivasyonu ve TRPC kanalları..... | 46 |

### **RESİM:**

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resim 1: Femoral kan alma işlemleri .....                                    | 48 |
| Resim 2: Sisterna magnaya kan enjekte edilmesi .....                         | 49 |
| Resim 3: Dekompreyon sonrası beyin diseksiyonu.....                          | 49 |
| Resim 4: Dekapitasyon sonrası beyin diseksiyonu.....                         | 55 |
| Resim 5: SAK modeli oluşturulan beyin dokusu.....                            | 56 |
| Resim 6: SAK modeli oluşturulan beyin dokusu 2.....                          | 57 |
| Resim 7: Beyin sapı ve baziler arter kesiti.....                             | 65 |
| Resim 8: Kontrol grubunda baziler arter lümen çapı ölçümü.....               | 66 |
| Resim 9: Deney gruplarından alınan baziler arterlerin histolojik görüntüsü.. | 67 |
| Resim 10: Baziler arter duvar kalınlığı ölçümü .....                         | 68 |
| Resim 11: SAK grubunda baziler arter duvar kalınlığı ölçümü.....             | 69 |
| Resim 12: Hipokampusta caspase 3 immun boyaması.....                         | 73 |
| Resim 13: Apoptozis ölçümü yapılan hipokampusta bölgeler.....                | 73 |

### **GRAFİK:**

|                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Grafik 1: Serumda biyokimyasal parametrelerin gruplara göre dağılımı.....                     | 60 |
| Grafik 2: Beyin dokusunda biyokimyasal parametrelerin gruplara göre<br>ortalama dağılımı..... | 60 |
| Grafik 3: Baziler artel lümen çapı ve duvar kalınlığının gruplara göre<br>Dağılımı.....       | 64 |
| Grafik 4: Apoptozis verilerinin gruplara göre dağılımı.....                                   | 71 |

## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Subaraknoid kanama (SAK) sonrasında ortaya çıkan serebral vazospazm, serebral kan dolaşımını sağlayan arteriyel sistemde yaygın daralmayla birlikte olan iskemik nörolojik defisit olarak tanımlanır ve genellikle etkilenen arterin distalinde perfüzyonda azalma ile birlikte dir. Genellikle SAK'ın 4. günden sonra görülür. SAK'lı hastalarda yeniden kanama (rebleeding) ve vazospazm mortalite ve morbiditenin yüksek olmasının en önemli nedenlerini oluşturur. Son dönemlerde SAK'lı hastalara nöroşirürji kliniklerince erken cerrahi tedavi uygulanmasından dolayı yeniden kanamaya bağı mortalite ve morbidite oranında azalma olmuştur. Bu gelişmeler doğrultusunda SAK'lı hastalardaki en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden diğeri olan vazospazmın önlenmesi ve tedavisi önem kazanmıştır.

Serebral vazospazm tanısı, klinik olarak SAK sonrası beynin bir kısmında ortaya çıkan iskemi, infarkta bağı olarak gelişen nörolojik kötüleşme ve radyolojik olarak serebral arterin lümenindeki daralmanın gösterilmesi ile konulabilir. İlk kez Ecker ve Reimenscheneider tarafından 1951 yılında anjiyografik olarak gösterilmiştir. Serebral vazospazm anjiyografik (radyolojik) ve semptomatik (klinik) olarak iki grup altında incelenebilir. Anjiyografik vazospazm ana arter lümeninde bölgesel veya yaygın daralma olmasıdır. Semptomatik vazospazm ise serebral arterlerin daralması sonucu ortaya çıkan iskemiye bağı görülen klinik tablodur. Anjiyografik vazospazm SAK sonrası 3. günde başlayıp 5-14. günlerde pik yapar ve 2-4 hafta içinde giderek azalır. Serebral vazospazm, olguların %50'sinden fazlasında anjiyografik olarak saptanabilirken ancak %30'unda

sempomatik olarak gözlenir. Semptomatik vazospazm geri dönebilen hafif-orta şiddete işlev kaybıyla sonuçlanabildiği gibi iskemik infarkta bağlı ağır nörolojik kayıplara (%7) ve mortaliteye (%7) sebep olabilmektedir.

SAK'dan sonra gelişen serebral vazospazmın temel fizyopatolojisi aydınlatılamamış olup halen etkili bir medikal tedavi yöntemi bulunamamıştır. Vazospazm için uygun farmakolojik tedavinin kür sağlayamaması klinik ve deneysel çalışmaların güncelliğini korumasına neden olmuştur. Bu çalışmaların amacı, SAK'ın patogenezi ortaya koymak ve vazospazmı sınırlamak için etkili tedavi stratejileri geliştirmektir. Bu çalışmada, etyolojide önemli basamak olan  $Ca^{++}$  un hücre içine göçünü önlemek için, IP3 reseptörleri üzerinden TRP kanal blokörü olan 2-aminoetoksidifenil borat (2-APB)'ın deneysel SAK oluşturulan sıçanlarda gelişen vazospazm üzerine terapötik etkinliğini incelemeyi ve doz aralığını belirlemeyi amaçladık.

## **II. GENEL BİLGİLER**

### **II.A. Subaraknoid kanama**

#### **II.A.1. Tanım**

Bir çok çeşit patolojilere bağlı olarak araknoid zar ile pia mater arasındaki beyin omurilik sıvısının bulunduğu subaraknoid aralıkta kan bulunması SAK olarak tanımlanır (1-7).

#### **II.A.2. Epidemiyoloji**

Farklı sebepler nedeniyle SAK'ın gerçek insidans ve prevalansını söylemek imkansızdır. Bu nedenlerden ırk, yaşam tarzı coğrafya ve iklim gibi faktörlerin SAK prevalans ve insidansını etkilemesidir (3,7,8). SAK'ın %30 mortalitesi, %40-50 oranında morbiditesi bulunmaktadır.

Kabaca SAK geçiren 10 hastadan bir veya ikisi kanama öncesi durumunu geri kazanabilmektedir (9). SAK geçiren hastaların yaklaşık %10-15'i herhangi bir tıbbi müdahale göremeden kaybedildiği için gerçek insidansı tam olarak bilinmemektedir (10). Yapılan çalışmalara bakıldığında son kırk yıl içinde SAK insidansında kayıta değer bir değişiklik olmadığı anlaşılmaktadır.

SAK'ın görülme sıklığı coğrafi değişiklik göstermekte olup ortalama olarak 11-16/100.000'dür (11). SAK en sık 60 yaş ve üzeri kişilerde görülür. Bazı çalışmalarda erkeklerde sonbahar, kadınlarda ise ilkbaharda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (12,13).

### **II.A.3. Etiyoloji**

SAK, Serebrovasküler hastalıklar arasında aterotromboz, emboli ve primer intraserebral kanamayı takiben dördüncü sıklıkta yer almakta. SAK, inme olgularının yaklaşık %4-5'ini oluşturur (13).

SAK nedenleri arasında en sık travma gelir. Travmaya örnek olarak kapalı kafa travması, elektrik yaralanması, ateşli silah yaralanmaları, penetran kafa travmaları, ısıya bağlı hasar, radyasyon, trafik kazaları gibi nedenlerdir.

Travma dışı SAK'lar, spontan SAK veya primer SAK olarak adlandırılır.

Spontan/primer SAK etiyojisinde ise, rüptüre olmuş intraserebral anevrizmalar %80'lik oran ile en sık nedenidir (14–17). bir çok neden SAK'a sebebiyeti olabilir. Aşağıda SAK'a neden olabilecek sebepler bir liste halinde sunulmuştur (17).

1. Anevrizmalar : Spontan/primer SAK'ın en sık nedenidir

2. Arteriyovenöz malformasyonlar

3. Diğer damar anomalileri

I. Kavernom

II. Kapiller hemanjiom

III. Arteriovenöz fistül

IV. Venöz anjiom

4. Tümörler

I. Glioma

II. Meningioma

III. Hemanjioblastoma

IV. Kordoma

V. Koroid pleksus papillomu

VI. Hemanjioma

VII. Hipofiz adenomu

VIII. Sarkoma

IX. Osteokondroma

X. Ependimoma

XI. Nörofibroma

XII. Bronşial karsinoma

XIII. Koryokarsinoma

XIV. Melanoma

## 5. Enfeksiyonlar

I. Bakteriyel menenjit

II. Tüberküloz menenjit

III. Fungal menenjit

IV. Leptospirozis

V. Listeriozis

VI. Brusellosiz

VII. Tifo

VIII. Malarya

IX. Antraks

X. Viral ensefalitler

XI. Sitomegalik inklüzyon hastalığı

XII. Paraziter etkenler

## 6. Vaskülitler

I. Lupus eritamatozis

II. Dev hücreli arterit

III. Amiloidozis

IV. Fokal vasküler nekroz

V. Poliarteritis nodosa

VI. Takayasu hastalığı

VII. Tromboangitis obliterans

VIII. Wegener granülomatozisi

## 7. İntoksikasyonlar

I. Epinefrin

II. Amfetamin

III. Alkol

IV. Eter

V. Karbon monoksit

VI. Morfin

VII. Nikotin : Sigarayı bırakanlarda, içenlere oranla daha az SAK görüldüğü gösterilmiştir (18).

VIII. Kurşun

IX. Kinin

X. Fosfor

XI. İnsülin

XII. Hidrosiyanik asit

XIII. Venom yılan zehiri

XIV. Monoamin oksidaz inhibitörleri

## 8. Hematolojik Hastalıklar

I. Lösemi

II. Hemofili

III. Orak hücreli anemi

IV. Agranülositozis

V. Aplastik anemi

VI. Pernisiyöz anemi

VII. Trombositopenik purpura

VIII. Polisitemia vera

IX. Waldenström makroglobulinemisi

X. Lenfoma

XI. Myeloma

XII. Herediter sferositozis

XIII. Afibrinogenemi

XIV. Antikoagölanlar

XV. Koagölopatiler

XVI. Hodgkin hastalığı

9. Çeşitli farklı etkenler

I. Elektrokonvülf tedavi

II. Güneş çarpması

III. Valsalva manevrası

IV. K vitamini eksikliği

V. Hiperbilirubinemi

VI. Eklampsi

VII. Travmalar

VIII. Alerjik hastalıklar

IX. Dalgıç hastalığı

X. Üremi

XI. Gebelik

10. Nedeni saptanamayan olgular

#### **II.A.4. Risk Faktörler**

I. Genetik faktörler: Hastaların %5-20'sinde pozitif aile hikayesi vardır (8), Ayrıca SAK'lı olguların birinci derece akrabalarında SAK görülme riski normal populusyona göre 3-7 kat daha fazladır (19). Bağ dokusunun özel ailesel geçiş gösteren bazı hastalıklarına sahip olanlar SAK'lı hastaların çok az bir kısmını oluşturur. Bunların arasında en sık görüleni otozomal dominant geçiş gösteren polikistik böbrek hastalığıdır. Ayrıca sık olarak, AVM, moyamoya hastalığı, Ehler-Danlos sendromu, aort koarktasyonu ve fibromusküler displazi gibi başka konjenital malformasyonlarla da beraber bulunabilirler (20).

II. Hipertansiyon,

III. Alkol: Orta ve aşırı alkol alımının hemorajik stroke için predominant bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (21).

IV. Sigara: Sigarayı bırakanlarda, içenlere oranla daha az SAK görüldüğü gösterilmiştir (18).

V. Oral kontraseptif kullanımı: SAK ve oral kontraseptif kullanımı arasındaki ilişki diğer risk faktörlerinden bağımsız çalışma olmadığı için net değildir(22),

VI. Madde bağımlılığı: Kokain alışkanlığı olanların % 50 sinde yapısal anomalilerden anevrizma ve AVM'nin birlikte bulunduğu gösterilmiştir.

#### **II.A.5. Klinik Belirtileri ve Bulgular**

SAK geçiren hastalar, geniş bir klinik spektrumu ile karşımıza çıkmaktadırlar. Nörolojik muayenesinde baş ağrısı dışında hiçbir patoloji

bulunmayan hastaların yanında koma tablosunda acil servise getirilen hastalar da görülebilmektedir (23).

SAK olgularında klinik belirtiler çok değişken olabilir. SAK'a ait belirtiler ön belirtiler ve asıl belirtiler olmak üzere iki farklı grupta incelenebilir. Ön belirtiler veya öncü bulgular daha çok uyrıcı nitelikte belirtilerdir. SAK'lı hastalarda ön belirtileri görülme olasılığı %30-70 arasındadır. Bunların arasında en sık ve en belirgin olanı ani başlangıçlı, şiddetli ve yaygın baş ağrısıdır ve %97 oranında izlenir. Hastaların daha önce hiç hissetmediği şiddette baş ağrısı olarak tarif ederler. İkinci sıklıkla görülen belirti hastaların yaklaşık %90'da genellikle kanamanın ilk 5-7 saati içinde ense sertliği, kerning ve Brudzinski gibi meninks irritasyon belirtileri ortaya çıkar. Bu bulgular genellikle üç günden onbeş güne kadar devam edebilir (24).

Bilinç bozukluğu (%30), bulantı-kusma(%90), baş dönmesi, çift görme ve halsizlik diğer sık görülen belirtilerdir. Bu öncü veya ön belirtilerin nedeni ağır kanamadan çok genellikle anevrizma domundan kaynaklanan sızıntılara veya domun genişlemesi sonucunda meydana gelebilecek nöronal yapıların basısına bağlı olabilmektedir (25–27).

Domun genişlemesiyle, örneğin; özellikle posterior sirkülasyon anevrizmalarında 3. cü kranial sinir felci ve görme alanı defektleri ile karşılaşılabilir. Ön belirtilerin olduğu dönemde, belirtilerin nonspesifik ve silik olması nedeniyle yanlış tanı ve tedavi sıkça görülür. Bu dönemde yapılacak lomber ponksiyon ile bazen BOS da hafif bir ksantokromiye rastlanılabilir (28).

Asıl belirtiler ise kanamanın yaygınlığı ve lokalizasyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Daha önce bahsi geçen belirtiler yanında konvülziyonlar, kranial sinir bulguları, motor ve sensoriyel bulgular SAK'ın görülebilecek diğer bulgularıdır. Bunların yanında sıvı-elektrolit dengesizlikleri, sempatik sistem deşarjı sonucunda gelişen subendokardiyal iskemi nedeni ile meydana gelen EKG değişiklikleri, sistemik problemler ortaya çıkabilir. SAK'ların üçte birinde Retina ve vitreusa olan intraoküler kanamalar oluşabilir ve bu durumda SAK için oldukça karakteristik olan subhyaloid kanamalar görülür (2). Subhyaloid kanamanın nadiren vitreus içerisine genişlemesiyle görme keskinliğinde kayıp oluşur ki bu tabloya Terson sendromu denilmektedir. Kanamaların %70'i efor esnasında ve hipertansiyon zemininde gelişir. SAK'da klinik tabloya göre hastanın durumunu sınıflayan ve prognoz hakkında da bilgi veren Hunt Hess, Yaşargil gibi evrelendirme sistemleri bulunmaktadır (9).

#### **II.A.6. Prognoz**

SAK'a neden olan anevrizmanın yerleşim yeri ve boyutu prognozda büyük ölçüde önem göstermektedir (29).

SAK da prognoz etkileyen temel faktörler:

- I. İlk kanamanın hızı, lokalizasyonu ve hacmi.
- II. Hastanın yaşı ve beyin'in kompliansı (uyum kapasitesi).
- III. Hastanın genel sağlık durumu ( Eşlik eden hastalıklar ve alışkanlıklar).
- IV. Müdahale ve takip edecek ekip ve bakım kalitesi (30).

Anevrizmanın yerleşim yeri ve boyutu prognozda büyük ölçüde önem göstermektedir. 65 yaş üstü olgularda prognoz genç gruba göre daha kötüdür (29).

Başlangıçta çekilmiş olan BT sonuçları prognoz için bilgi verir. Genelde BBT sonuçları hastanın kliniği ile paralel olup, tomografilerde hidrocefali, kitle etkisi yapan kanama, intraserebral hematom, intraventriküler kanama veya yaygın subaraknoid kanama bulguları taşıyan olgularda prognoz normal veya lokal subaraknoid kanama bulgusu taşıyanlara oranla daha kötüdür (29).

### **II.A.7. Komplikasyonlar**

I- Rebleeding : SAK'lı hastalarda yeniden kanama en sık ve en ölümcül komplikasyondur. Yapılan çok uluslu ortak bir çalışmanın sonuçlarına göre cerrahi olarak tedavi edilen 3521 hastadan 381'inde (%9) yeniden kanama saptanmıştır. İlk 24 saat içerisinde en yüksek olan bu risk (%4 ) ikinci günün sonundan itibaren günde %1,5 civarında azalır. İlk 14 günün sonunda toplam kanama riski %19 olarak saptanmıştır. Kanamadan 6-12 ay sonrasında risk yıllık %3 düzeyine iner.

II- Vasospazm: geçmişte SAK sonrası yenide kanama mortalite ve morbiditeyi belirleyen en önemli etkenlerden biriyken anevrizma tedavisinde erken cerrahinin yaygınlaşmasıyla beraber günümüzde yerini vazospazma bırakmaya başlamıştır (30).

III- Hidrocefali,

IV- Serebral iskemi, infarkt,

V- Terson Sendromu: Subhiyaloid kanamanın nadiren vitreus içerisine genişlemesiyle görme keskinliğinde kaybı

VI- Nöbet: SAK'lı hastalarının %4-15'inde nöbet görülebilir.

VII- Serebral ödem ve KİBAS,

VIII- Nöropsikiyatrik bozukluklar,

IX- Kardiyak komplikasyonlar (disritmiler, AMI )

X- Hipertansiyon: Neden olabildiği gibi sonuç ta olabilir. Anevrizmaya bağlı oluşan SAK'lı hastaların yaklaşık % 16'sında HT birlikteliği saptanmıştır (31).

Özgeçmişinde HT yoksa bile ağrı ve strese bağlı sempatik sistemin aktivasyonu sonucu artmış arteriyal kan basıncı saptanabilir ya da yüksek İKB ve düşük serebral perfüzyon basıncına yanıt olarak da arter basıncı artmış bulunabilir. Bu duruma bradikardi de eşlik eder (Cushing yanıtı).

XI- Pulmoner komplikasyonlar (pulmoner emboli, aspirasyon pnömonisi, nörojenik pulmoner ödem, iatrojenik pulmoner ödem ),

XII- Gastrointestinal bozukluklar (motilite değişiklikleri, kanama),

XIII- Elektrolit imbalansı (uygunsuz ADH sendromu, diabetes insipitus, serebral tuz kaybı) (32),

XIV- subdural, intraserebral ve intraventriküler kanama: Inagawa ve Hirano anevrizma kanaması sonucu ölen 133 hastada yaptıkları otopsi çalışmasında %40 intraventriküler kanama saptamışlardır (33).

#### **II.A.8. Ayırıcı Tanı**

SAK olgularına değişken ve geniş semptomları nedeniyle özellikle uyarıcı nitelikteki ön belirtilerin olduğu dönemde yanlış tanı konabilir. SAK'ta konulan yanlış tanıları bildiren pek çok çalışmaya rastlanmaktadır (34).

Akut gastroenterit, gıda zehirlenmesi, peptik ülser, akut apendisit ve AMI gibi bulantı-kusmanın eşlik edebileceği hastalıklar; migren, sinüzit, gerilim tipi baş ağrısı, hipertansiyon gibi baş ağrısı ile seyreden hastalıklar, servikal artroz ve servikal disk hernisi, menenjit gibi ense sertliğinin bulunduğu hastalıklar, serebral iskemik veya spontan intraserebral hematom gibi fokal nörolojik defisitlerle seyreden hastalıklar, uyuşturucu kullanımı, alkol intoksikasyonu, akut psikoz gibi konfüzyon, letarji ve kişilik değişikliklerinin varlığıyla seyreden hastalıklar SAK hastalarında ayırıcı tanılardır.

#### **II.A.9. Tanı**

SAK'ın tanısında altın değerinde anahtar, hastanın SAK geçiriyor olabileceğinden şüphelenmektir.

I. LP (Lomber Ponksiyon): Kullanılan en eski yöntemdir. Ardaşık üç BOS örneği santrifüjü sonrası ksantokromi görülür. SAK'lı hastada BOS rengi akut dönemde kırmızı, birkaç gün sonra ksantokromik görünümündedir.

BOS'ta kanın veya ksantokrominin görülmesi tanıyı doğrular. BOS'da makroskopik kan 10-14.günlerde, ksantokromi ise 20-30. günlerde kaybolur, Rebleeding durumunda BOS'da tekrar taze kırmızı kan görülür. Ancak LP sonrası subaraknoid aralıkta basınç dinamiklerinin değişmesine bağlı olarak kafa içi basınç dinamikleri de değişime uğrayacaktır ve bu durum herniasyona yol açabilir.

Özellikle intraserebral hematomu olan olgularda bu durum ciddi tehlikeler oluşabilmektedir (35). Muayenesinde papil ödemi olan ve intraserebral hematom şüphesi taşıyan olgularda LP yapılmamalıdır, ekarte edildikten sonra yapılması önerilmektedir (35–37).

II. Bilgisayarlı tomografi (BT): Tanı amacı ile kullanılan en önemli yöntemdir. Günümüzde birçok merkezde kolaylıkla bulunabilmesi, erken dönemde tanı konulmasında yardımcı olması, kanama ile beraber hidrosefali, intraserebral kanama, subdural kanama gibi intra kraniyal patolojileri de hızlı bir şekilde gösterebilmesi BT'nin öneminin korunmasında etkilidir (3).

III. Bilgisayarlı tomografi anjiyografi (BTA)/Çok kesitli bilgisayarlı tomografi anjiyografi (ÇKBTA): Günümüzde BBT teknolojisindeki gelişmeler ile birlikte noninvazif bir yöntem olan ve hızlı sonuç veren BTA anevrizma tanısında kullanıma girmiştir. BTA'nın en önemli avantajı, 3 boyutlu anjiyografi görüntülerinin istenilen düzlemde ve açıda oluşturulabilmesine olanak sağlamasıdır. BTA'da elde edilebilen multipl projeksiyonlar sayesinde anevrizmanın boyutu, boynu, oryantasyonu ve komşu yapılarla ilişkisi, sınırlı sayıda projeksiyonun alındığı serebral anjiyografiye göre daha iyi değerlendirilebilir. BTA, anevrizmanın kafa tabanı, sella tursika veya klinoid proçes gibi komşu kemik yapılarla ilişkisini net bir şekilde gösterir ki bu ek bilgiler cerrahi girişim için önemlidir. Literatürde ÇKBTA ile bildirilen sensitivite ve spesifisite değerleri anevrizma boyutuna ve lokalizasyonuna göre %81-%99 arasında değişmektedir (36,38–42).

IV. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG): Erken dönemde SAK tanısı konulması önemli rol oynamakta. ancak acil kullanım zorluğu, işlemin uzun sürmesi ve SAK geçiren hastaların büyük kısmının klinik tablosunun stabil olmaması nedeni ile bu süreyi tolere edememeleri dezavantajlı duruma düşürmektedir.

V. MR anjiyografi (MRA): Anevrizmaların lokalizasyonu ve karakteri hakkında yararlı bilgiler sağlayan non-invazif bir görüntüleme yöntemidir. Ayrıca hem zararlı X ışınları kullanılmadan hemde kontrast madde kullanımı gerekmeden vasküler yapılar ile ilgili ayrıntı bilgi verir (43).

VI. Dijital Substraksiyon Anjiyografi (DSA): Kanamanın nedeninin anlaşılmasında en etkili yöntemdir. Bununla birlikte, kanama nedeninin bulunması dışında aynı zamanda birden fazla anevrizmanın da tespit edilmesinde, vasküler anatomisinin detaylı bir şekilde ortaya konulmasında da büyük katkı sağlamaktadır. Ayrıca DSA serebral vazospazmı göstermede altın standarttır. İnvaziv bir yöntem olmasına karşılık, son yıllarda özellikle anevrizmanın tamamen kapanıp kapanmadığını anlamak için ameliyat sonrası anjiyografi yapılması giderek yaygın hale gelmektedir. DSA'nın bir yararında işlem sırasında endovasküler tedavi yollarını deneme olanağı sağlamasıdır (44).

#### **II.A.10. Hastaya yaklaşım, Klinik Evreleme ve Sınıflandırmalar**

SAK sebepleri incelendiğinde çoğu cerrahi tedavi gerektiren patolojilerdir. Cerrahi tedavinin primer amacı da etyolojiyi ortadan kaldırmaktır. Geçmişte SAK'lı olgularda anevrizma cerrahisi; kanama sonrası ikinci haftaya kadar ertelenirken, günümüzde mümkün olduğu kadar erken dönemde cerrahi tedavi

önerilmektedir. Erken dönemde cerrahi tedavi yapılmasının asıl nedeni tekrar kanama ihtimalini ortadan kaldırmaktır. Erken cerrahi tedavide rüptüre anevrizma çevresindeki pıhtının ve sisternlerdeki kanın temizlenmeside gelişebilecek ölümcül komplikasyon olan serebral vazospazm riskini azaltmaktadır. Ayrıca cerrahi tedavi sonrası bu hastalara 3H (hipervolemi, hemodilüsyon, hipertansiyon) tedavisi agresif bir şekilde uygulanabilmektedir (45–47).

Başvuru anında yapılan anjiyografide radyolojik olarak vazospazmın rapor edildiği, genel durumu bozuk ve/veya nörolojik düzeyi kötü hastalarda cerrahi tedavi geç döneme bırakılabilmektedir, bunun nedeni ise bu hastalarda perioperatif komplikasyon riskinin yüksek olmasıdır.

Anevrizma rüptürü sonrası SAK tanısı konan olgularda cerrahi risk ve prognozu belirleme amacı ile değişik klinik değerlendirmeler yapılmıştır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan derecelendirme sistemleri Botterel'in (1965) (Tablo 1), Hunt- Hess'in 1968 (Tablo 2) (48), M.G Yasargil'in (Tablo 3) (49), Fisher'in (Tablo 4), Ve son olarak Dünya Nöroşirurji Federasyonu WFNS'nin (Tablo 5) sınıflandırmalarıdır (50–52).

**Tablo 1: Botterel SAK sınıflandırması**

|        |                 |                                                        |
|--------|-----------------|--------------------------------------------------------|
| Evre 1 | Şuur açık       | menengial irritasyon belirtileri var.                  |
| Evre 2 | Uykuya eğilimli | nörolojik defisit yok.                                 |
| Evre 3 | Uykuya eğilimli | nörolojik defisit ve bazen intraserebral hematoma var. |
| Evre 4 | Şuur kapalı     | nörolojik defisit var.                                 |
| Evre 5 | Derin koma      | deserebrasyon rijiditesi var.                          |

**Tablo 2: Hunt-Hess SAK sınıflandırması**

|          |                                                                                               |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Grade 0  | Rüptüre olmamış anevrizma.                                                                    |
| Grade 1  | Aseptomatik veya minimal başağrısı ve hafif ense sertliği.                                    |
| Grade 1a | Akut meningeal reaksiyon yok, fakat nörolojik defisiti var.                                   |
| Grade 2  | Basağrısı, ense sertliği var, kranial sinir paralizi dışında nörolojik defisit yok.           |
| Grade 3  | Uykuya eğilim, konfüzyon veya hafif fokal defisit var.                                        |
| Grade 4  | Stupor orta veya ciddi derecede hemiparezi erken deserebrasyon rijiditesi ve vejetatif durum. |
| Grade 5  | Deserebrasyon rijiditesi ve derin koma.                                                       |

**Tablo 3: M.G Yaşargil sınıflandırması**

|                                                                                         |                                                                                                        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Evre 0                                                                                  |                                                                                                        |
| A: Kanamamış anevrizma                                                                  | B: Kanamamış anevrizma, FND* (+)                                                                       |
| Evre 1                                                                                  |                                                                                                        |
| A: Şuur açık, SAK (+), MİB*(-), FND(-)                                                  | B: Şuur açık, SAK (+), MİB(-), FND(+)                                                                  |
| Evre 2                                                                                  |                                                                                                        |
| A: Şuur açık, SAK (+), MİB(+), FND(-)                                                   | B: Şuur açık, SAK (+), MİB(+), FND(+)                                                                  |
| Evre 3                                                                                  |                                                                                                        |
| A: Şuur konfüze, dezoryante, SAK (+), MİB(+), FND(-)                                    | B: Şuur konfüze, dezoryante, SAK (+), MİB(+), FND(+)                                                   |
| Evre 4                                                                                  | Evre 5                                                                                                 |
| Koma, genel durumu stabil, pupilla ışık reaksiyonu var ve ağırlı uyarıyı lokalize eder. | Derin koma, genel durumu unstabil, pupilla ışık reaksiyonu yok, ağırlı uyarıya ekstansör yanıt mevcut. |

MİB\*: Menenjeal irritasyon bulgusu

FND\*: Fokal nörolojik defisit.

**Tablo 4: Fisher sınıflandırılması:** SAK'lı hastada bilgisayarlı tomografi görüntüsünü baz alan derecelendirmedir.

|          |                                                                                |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 1.Derece | Saptanabilen subaraknoid kan yok.                                              |
| 2.Derece | 1 mm kalınlıktan daha ince diffüz ya da vertikal tabakalar*.                   |
| 3.Derece | 1 mm pıhtı ve/veya 1 mm vertikal tabaka *.                                     |
| 4.Derece | Diffüz SAK ile ya da SAK olmaksızın intraserebral veya intraventriküler pıhtı. |

\*Vertikal tabaka interhemisferik fissür, insular sisterna, ambient sisternayı içeren vertikal, subaraknoid mesafeler içindeki kanı ifade eder.

**Tablo 5: Dünya Nörolojik Cerrahlar Federasyonu (WFNS) Sınıflandırılması.**

|          |           |                            |
|----------|-----------|----------------------------|
| Evre 1 # | 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 |

\* GKS: Glaskow Koma Skalası #: İntakt Anevrizma

SAK'lı hastanın takibinde karanlık ve sessiz odada takip edilmesi, mutlak yatak istirahati yapılması, başının 30 derece elevasyonda olması DVT oluşması engellemek amacıyla alt ekstremitelere emboli çorap gibi önlem alınması, genel durumu bozuk hastalarda AÇT (aldığı-çıkardığı takibi) amacıyla idrar foley sonda uygulanması, yine genel durumu bozuk hastalarda enteral beslenmeyi sağlamak

için nazogastrik veya nazojejunal kateter uygulanması gibi hasta bakımı uygulamaları şiddetle önerilmektedir.

SAK'lı hastalarda genel ilaç tedavisinde antikonvülzanlar, antiemetikler, analjezikler, intravenöz sıvı desteği, antihipertansifler, sedatifler, laksatifler, mide koruyucu tedaviler kullanılabilir.

SAK'lı hastanın takibinde arteriyel kateter ile kan basıncı monitörizasyonu, elektrokardiyografik telemetri, pulse oksimetre ile transkutanöz oksijen satürasyonu takibi, günlük kan elektrolitleri ve kan glukoz düzeyleri, kan sayımı, koagülasyon parametrelerinin takibi, endikasyonu olduğu zaman karaciğer enzimleri ve kardiyak enzim düzeyleri, arter kan gazı takibi, santral venöz kateter ve santral venöz basınç takibi, pulmoner arter takibi, ICP(intrakranyal basınç takibi) ve EVD (external ventriküler drenaj) BOS drenajı, bilgisayarlı tomografi takibi, transkranyal dopler (TCD), serebral oksimetre ve serebral mikrodializ önerilen monitorizasyon ve tekniklerdir.

#### **II.A.11. Serebral kan akımı**

Erişkin insan beyni toplam vücut ağırlığının %2'sini oluşturmaya rağmen, kalp atımının %15'ini alır. Normal olarak serebral kan akımı 50-100 ml/dk/100 g beyin dokusu olup, bu değer 15 ml'nin altına indiği zaman nöronal fonksiyonlarda azalma başlar. 3 saat 10ml/100gr/dak kadar sürmesi halinde beyin ölümü gerçekleşir. Azalma birkaç dakika veya saat içinde iskemik alanın kollateraller tarafından beslenmesi veya oklüzyona neden olan parçaların doğal fibrinolitik yollarla devre dışı bırakılması ile normale dönebilirse, yavaşlamış olan nöronal fonksiyonlar da normale dönebilir. Bu duruma geçici iskemik atak adı

verilmektedir. Eğer serebral perfüzyon bu sürede regüle edilemez ve hipoperfüzyon devam ederse iskemik enfarkt, klinik strok ile sonlanır. Yukarıda da belirtildiği gibi normal olarak ortalama 50-100 ml/dk/100 g beyin dokusu olan serebral kan akımı, 20-25 ml'nin altına indiğinde beyin işlevleri bozulmaya ve EEG (Elektroensefalogram) yavaşlamaya başlar. 15-20 ml olduğunda EEG düz çizir, 10 ml'nin altına indiğinde ise dönüşümsüz beyin hasarı oluşur. Burada ikinci önemli kavram “iskemik penumbra”dır. Bu bölge elektriksel olarak sessiz ancak iyon pompaları bozulmamış bölgedir. Yani kan akımı yeniden sağlanabilir veya çeşitli koruyucu metotlar ile uygun müdahalede bulunulabilirse bu bölge canlılığını tekrar kazanabilir. İskemik stroktaki tedavilerin hedefi de bu bölgenin canlılığını tekrar kazandırmaktır (53–58).

Tüm çalışmalar SAK'ta global serebral kan akımının azaldığını göstermektedir (16). Kan akımının evre 1 ve 2 SAK'lı hastalarda 54ml/100gr/dk.'dan 42ml/100gr/dk'ya, evre 3 ve 4 hastalarda 36 ml/100gr/dk'ya kadar, hem de vasospazm olmaksızın düştüğü gösterilmiştir (16). İleri evre komadaki hastalarda serebral kan akımındaki azalmanın uzun sürdüğü saptanmıştır (16).

#### **II.A.12. Serebral vasküler değişiklikler**

Beyin dokusunda kollateral dolaşımda normalde basınç sıfırdır. Yaşlılarda skleroz sebebi ile bu bağlantılar tam çalışmayabilir. Yaşlılarda tek karotis ligasyonu gençlere nazaran daha fazla nörolojik belirti verir, bazen iki karotid arterin tıkanmasında bile beynin total kan akımının değişmediği görülür. Beyine oksijen

sağlayan yegane faktör kan basıncı değildir. Serebral kan akımı 100 gr beynin bir dakikada, aldığı kan miktarı olarak ml cinsinden hesaplanır. Serebral kan akımı, kanı damara iten güç ve karşılaştığı direnç neticesinde değişir. Serebral dolaşım etkileyen faktörler arasında venöz basınç değişikliği de önemlidir.

Vasküler direnci etkileyen faktörler;

-Damarların fonksiyonel tonusları.

- Duvarlarının yapısı.

-Duvarın çapı.

-Artmış kafa içi basınç (ICP)'ın damar duvarına yansımaları.

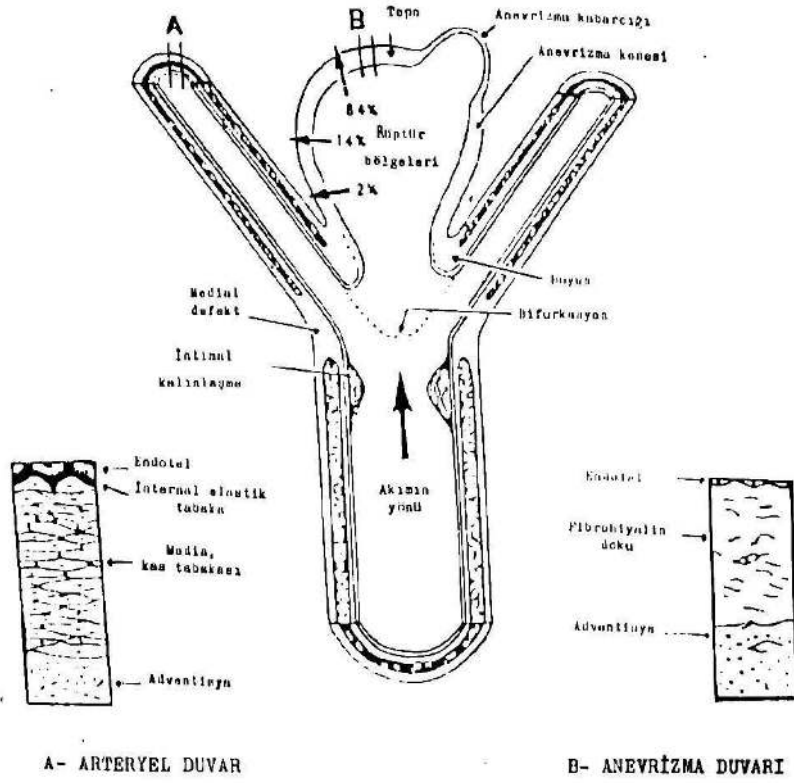
-Kan viskozitesi.

Serebral kan akımı; kan basıncının serbrovasküler dirence bölümüne eşittir.

Serebral dolaşım hakkındaki bilgilerimizin çoğunu Kety ve Somidt'in Nitrozdioksit metodunu buluşlarıyla öğrendik (59).

Bir anevrizmanın oluşumunda arter duvarında bir zayıflık ve bu zayıf noktayı iterek genişlemeye yol açan dinamik bir güç gerekir. Arter duvarında media tabakasındaki defekt bölgesinde, kan basıncının ve türbülansın artışı ile zamanla internal elastik laminada dejenerasyon başlar. İntima tabakası damar duvarı içine doğru herniye olur ve lezyon giderek büyür. Büyüme devam ederken damar içi basıncın ve rejenerasyon olayının etkisi ile anevrizma duvarında kalın ve ince sahalar gelişir. Kan basıncındaki artışla ya da yıllar süren damar içi basıncın sürekli

etkisi ile anevrizma duvarındaki bu ince sahalar basınca dayanamaz ve yırtılır (59). Şekil 1’de anevrizma oluşumundaki patolojik değişiklikler diagram halinde gösterilmektedir (60).



**Şekil 1: Anevrizma oluşumundaki patolojik değişiklikler (60).**

Media tabakasındaki defekt çoğunlukla büyük serebral arterlerin bifürkasyon yada yandal çıkış bölgelerinde olduğu için anevrizmalar genellikle en büyük arterlerin bifürkasyon ya da dal ayırım bölgelerinde bulunurlar (20,61).

## **II.B. Serebral Vazospazm**

### **II.B.1. Tanım**

Serebral vazospazm(SVS), serebral tabanından geçen büyük arterlerinin geç dönem (üçüncü günden sonra gelişmeye başlar ve 4. ile 12. günler arasında gelişme olasılığı ve şiddeti artar), değişken şiddetli, reversible, patolojik daralması ve

beyinde iskemi ya da enfarkt gelişmesi sonucu nörolojik kayıp veya her ikisinin beraber olduğu patolojik olaylar zinciridir (62–64).

Sıklıkla arter distalinde perfüzyon azalması mevcuttur. Subaraknoid aralıktaki kan miktarı ile vazospazm şiddeti ilişkilidir (65). Kanama sonrası mortalite ve morbiditenin en önde gelen nedeni serebral vazospazmıdır (66).

Serebral vazospazm genellikle anevrizma rüptürüne bağlı SAK'ın komplikasyonu olmasına rağmen %5-10 oranında ağır kafa travması ve daha az oranlarla meningeal enfeksiyon, tümöral kanama ve diğer serebrovasküler hastalıklarda da görülebilir (45,46,53,57,58,67–76).

### **II.B.2. Tarihçe**

SVS hakkındaki ilk bilgilerimiz Peabody'nin 1891 yılındaki çalışmalarına dayanır. Peabody spazmı damar düz kaslarının spazmotik kontraksiyonu şeklinde tarif etmiştir (66).

Anjiyografik vazospazm ilk olarak 1951 yılında bir nöroşirürjiyen olan Ecker ve bir radyolog olan Riemenschneider tarafından tanımlanmış ve serebral vazospazmın SAK'lı hastalarda prognozda etkili olduğunu göstermişlerdir (77). Bu çalışmaların sonucunda vazospazmın kanama sonrası birkaç hafta içinde geliştiğini, anevrizmaya yakın vasküler etkilenmenin maksimum ancak uzak vasküler yapılarda daha az derecelerde olduğunu ve anevrizma rüptürü sonrası prognozda etkili olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmadan yaklaşık 10 yıl sonra Pool, Maspes ve Marini, DuBoulay, Allcock ve Drake, Wilkins ve arkadaşları yaptıkları

alışmalarla SVS'ın kanamış intrakranial anevrizmaların seyrinde mortalite ve morbiditeyi etkileyen önemli bir sebep olduğunu göstermişlerdir (64,78–82).

1960'ların başından itibaren nöroşirurjikal çalışma laboratuvarlarında hayvanlar üzerinde deneysel SAK modelleri ile SVS'ın fizyopatolojisini anlamak ve önlemek veya tedavi etmek için birçok başarılı olamayan ilaç denemeleri yapılmıştır (83).

Crompton ve ark 1964'te SVS sonrası gelişen serebral enfarktın tomografik görünümü ile otopsi bulguları ve serebral büyük arterlerin dağılım alanındaki iskemik uyuma dikkat çekmişlerdir (45,46,71,72,84).

1967 yılında Farhat ve Schneider diğer nedenlerle gelişmiş serebral iskemi tedavisinde HT' nin etkinliğini bildirmişlerse de Kosnik ve Hunt 1976 yılında, Giannota ve arkadaşları ise 1977 yılında vazospazm nedeniyle gelişen iskemik nörolojik defisitinin tedavisinde hipertansiyonun etkisini bildirmişlerdir (85,86). Ve yine 1977'de Grup ve arkadaşları pozitron emisyon tomografisi (PET) ile yaptıkları çalışmalarında vazospazm gelişen bölgede serebral kan akımının ve oksijen metabolizma hızının azaldığını göstermişlerdir (87).

Kassel ve arkadaşları 1982 yılında standart hipervolemik ve hipertansif tedavinin SVS'a bağlı geç iskemi tedavisindeki olumlu etkilerini göstermişlerdir (46).

1979 yılında Niziuma ve arkadaşları SVS'ın en sık orta serebral arterde Görüldüğünü bildirmişlerdir (88). Sasaki ve arkadaşları, 1980'li yıllarda oksihemoglobinin otooksidasyon ile methemoglobine dönüşmesi sırasında açığa

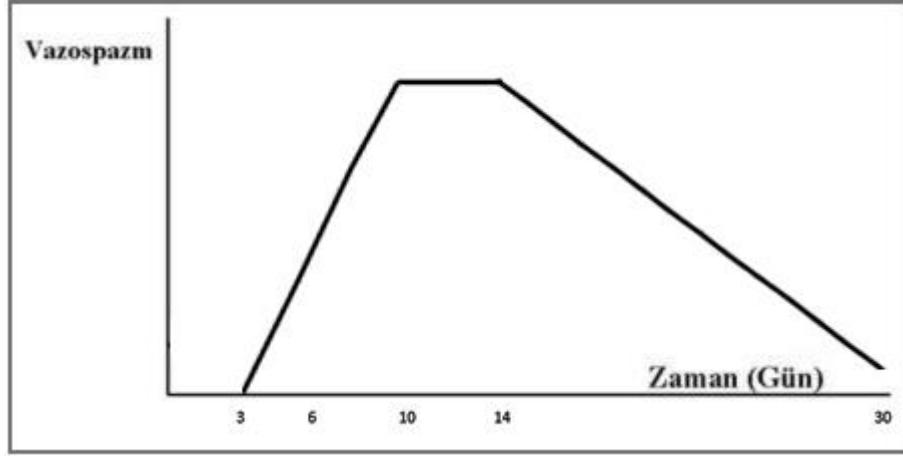
çıkan serbest oksijen radikallerinin membran fosfolipidlerinde peroksidasyona yol açtığını bildirmişlerdir (65). Bununda SVS'ın etyopatogenezinde önemli bir rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Fischer ve arkadaşları, 1980 yılında BBT'de subaraknoid mesafedeki pıhtı kalınlığının SVS gelişme ihtimali ile yakından ilişkili olduğunu göstermişlerdir (89).

Aaslid ve arkadaşları, 1984 yılında serebral dolaşımın değerlendirilmesinde daha sonraki yıllarda pratik ve noninvaziv olması nedeniyle geniş kullanım alanı bulan transkranyal doppler ultrason tetkikini tanıtmışlardır (90).

Zubkov ve arkadaşları, 1984 yılında vazospastik serebral arterleri genişletmek için translüminal balon anjioplastiyi kullanmışlardır (91).

### **II.B.3. Epidemiyoloji**

Serebral vazospazmın anjiyografik ve klinik olarak iki tanımlaması vardır (92). Anjiyografik vazospazm radyolojik olarak serebral damar çapında meydana gelen daralmayı ifade eder. Genellikle fokal olmakla birlikte diffüz bir şekilde de oluşabilir. Vazospazm Genellikle kanamadan sonraki 3.günde başlamakta, 6-10 günlerde maksimum düzeye çıkmakta (%41) ve genellikle 14. günden itibaren şiddeti azalmaktadır (%25) (2,92,93), bir ay sonra % 6-7 oranında SVS saptanmıştır (Sekil 2) (49,94).



**Şekil 2: Subaraknoid kanama sonrası görülen vazospazmın zamansal çizelgesi.**

Deneysel olarak oluşturulan SAK sonrasında vazospazm bulguları ise daha erken örneğin 24-48. saatte ortaya çıkabilmektedir (95).

Klinik veya diğer adıyla semptomatik vazospazm ise son yıllarda daha çok tercih edilen terim olan gecikmiş iskemik nörolojik defisit ile eş anlamlı olarak kullanılır ve serebral damarların ilerleyici daralmasıyla birlikte gelişen iskemik belirti ve bulguların oluşturduğu bir sendromdur. Bu tanıya ulaşabilmek için hastada nörolojik kötüleşme yaratabilecek diğer nedenlerin de örneğin yeniden kanama veya hidrosefali, hipoksi ve metabolik bozukluğun ekarte edilmesi gerekmektedir. Klinik vazospazmın zaman aralığı da anjiyografik vazospazm ile paralellik göstermektedir. Ancak bazı vakalarda radyolojik vazospazmdan bir miktar daha uzun sürebilmektedir (96) .

Klinik SVS reversible uzamış iskemik nörolojik defisitten serebral enfarkt oluşumuna kadar değişebilir. SAK sonrasında hastaların %70'inde radyolojik vazospazm görülürken bunların %20-30'unda iskemik nörolojik defisitler ortaya çıkmaktadır (93,96).

Sonuç olarak anjiyografik vazospazm görülen olguların yaklaşık yarısında semptomatik vazospazm görülmektedir. Anjiyografik vazospazm, gecikmiş iskemik vazospazmdan yaklaşık iki kat fazla görülür. Bunun nedeni büyük bir olasılıkla serebral otoreglatuar mekanizmaların kişiler arasında farklılıklar göstermesidir. Bunlar arasında hastanın kan volümü, arteriel kan basıncı vb sebepler bulunur. Serebral vazospazm, Willis poligonundan çıkan büyük çaplı arterlerden birinin beslediği alanda fokal veya global serebral kan akımının azalmasına bağlıdır. Birçok araştırmacı serebral vazospazmdaki kliniğin ortaya çıkmasını; serebral kan akımındaki azalmaya, serebral mikrosirklasyondaki bozulmaya ve distal mikroembolilere bağlayarak açıklamaktadır (45,84,97).

Daha önce de bahsedildiği gibi semptomatik vazospazmın klinik bulgularının ortaya çıkması bir takım faktörlere bağlıdır. Bunlar etkilenen arterin lokalizasyonu, etkilenme şiddeti, hastanın yaşı, HT, hipotansiyon varlığı, kollateral sirkülasyonun durumudur. Nörolojik bulguların başlangıcında sıklıkla ateş yüksekliği, menengismus bulguları ve nonspesifik bir apatik tablo vardır. Anterior sistem etkilenmişse daha çok hemiparezi, hemihipoestezi, görme bozuklukları, disfazi ve bilinçte dalgalanmalar klinik tabloya hakimdir. Posterior sirkülasyon tutulmuşsa dizartri, diplopi, vertigo, ataksi ve solunum değişiklikleri ön plandadır (98,99).

Semptomatik vakaların hemen hemen yarısında kalıcı serebral enfarkt gelişir (93). Geri kalan hasta gurubunda anjiyografik vazospazma rağmen defisitsiz tam düzelme mümkündür. Her ne kadar serebral vazospazm, SAK geçiren insanların mortalite ve morbiditelerinin yüksek olmasının halen çok önemli bir etkeni olsa da

son 20 yılda vazospazm hakkındaki bilgilerimizin artması ve onu kontrol edebilme yeteneğimizin ilerlemesi vazospazma bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltmıştır.

#### **II.B.4. Patogenezi**

Deneyisel hayvan çalışmalarında yıllar içerisinde patogenezi ile ilgili birçok farklı teori elde edilmiştir (100–102). Bunların sonucunda vazospazmın kompleks ve multifaktöryel bir patogenezi olduğu, tek bir hipotez veya mekanizma ile açıklanamayacağı ortaya çıkmıştır (103). Bu farklı teorilerin patofizyolojik temelleri 4 ana başlık altında incelenmektedir.

##### **1. Kan Ürünlerinin Yıkımı:**

Bu teoriye göre; ekstrasvaze olmuş trombosit ve eritrositlerin yıkımı sonucu spazmojenler üretilir. Ortaya çıkan spazmojenlerde (serotonin, prostaglandinler, katekolaminler, anjiotensin, histamin, oksihemoglobin) SVS'ı tetikler (104). Yapılmış olan çalışmalar bu spazmojenler arasında vazospazmda en etkili spazmojenin oksihemoglobin olduğunu göstermiş olmasına rağmen, bu spazmojenlerden hiç birisinin tek başına serebral vazospazmı başlatmada yeterli olmadıkları açıktır. Ayrıca izole olarak nötralize edildiklerinde de SVS'ın engellenmesi sağlanamamıştır (104,105).

SAK'tan hemen sonrası hemoliz başlar. BOS'un eritrositlerden tamamen temizlenmesi ise birkaç günle bir ay arasında değişen bir sürede gerçekleşmektedir (104). Kan pıhtısı içindeki eritrositlerin tek başlarına SVS'a neden olduğu, beyaz kan hücreleri, trombositler ve plazmanın tek başına böyle bir etkilerinin olmadığı saptanmıştır (106). Bütün bu bulgular asıl spazmojenik faktörün hemoglobin

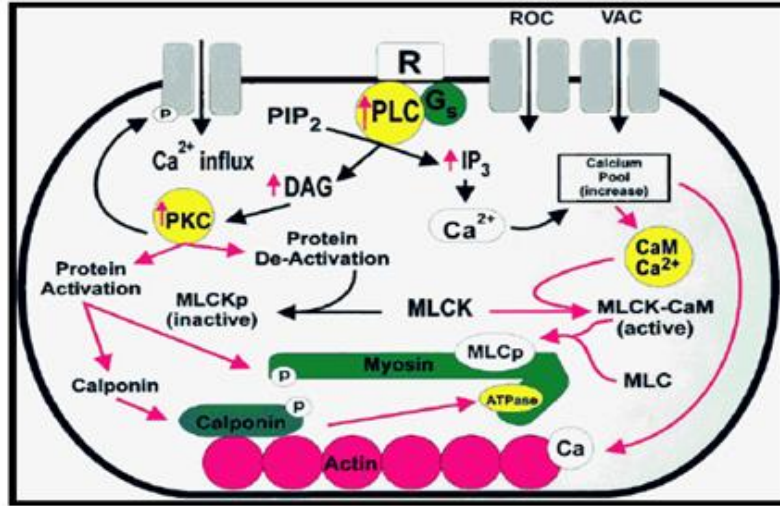
olduğunu düşündürse de, eritrosit hemozilatlarının izole halde hemoglobinden daha güçlü vazokonstriktör etkiye sahip oldukları da yapılan çalışmalarda görülmüştür (107).

## **2. Uzamış Arteriyel Kontraksiyon**

Uzamış arteriyel kontraksiyon, SVS gelişiminde halen en fazla kabul gören teorilerden biridir. Vasküler düz kaslar yavaş, tonik ve uzun süreli kasılırlar. Kasılmalarında mekanik, kimyasal ve elektriksel uyaranlar rol oynamaktadır. Mekanik olarak damar duvarında transmural basınç artınca damarda sekonder dilatasyon gelişir. Basınç düştüğünde tekrar kasılma olur. Buradaki mekanik etkiye göre düz kasın kendisi tarafından düzenlenen kasılma-gevşeme reaksiyonlarına vasküler düz kasın miyojenik cevabı denilir. Vasküler düz kas hücrelerinin elektriksel uyarımı ise L ve T tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından L-tipi kalsiyum kanallarının açılmasına, membranın depolarize olmasına ve hücre içi kalsiyumun artarak damarda kontraksiyon gelişmesine neden olmaktadır. Hücre içi kalsiyum arttığında hem ekstrasellüler mesafeden kalsiyum kanal yolları ile hemde hücre içi kalsiyum depolarından SR -sarkoplazmik retikulum- sağlanır.

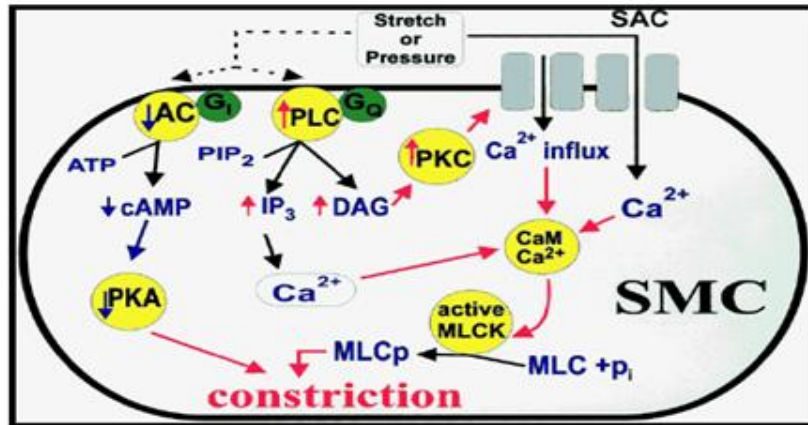
Hücre içi kalsiyum artışı nedeniyle kalsiyum, hücre içinde kalmoduline bağlanır. Kalmodulin özel kalsiyum bağlayan yapıda bir proteindir. Kalsiyum kalmodulin kompleksi MLCK -myosine light chain kinase- adlı enzimi aktive ederek myozin hafif zincirlerinin fosforile olmasını sağlar. Fosforilasyon sonrası miyozin başı ve aktin filamentleri arasında gerçekleşen çapraz bağ oluşumu vasküler düz kas hücrelerinin kasılmasına sebep olur (108,109) Şekil(3). Kalsiyumun primer kaynağı SR-sarkoplazmik retikulum- ve ekstrasellüler alandır.

Voltaj veya reseptör bağımlı mekanizmalarla ekstraselüler kalsiyum, kalsiyum kanallarından girer. (Şekil 3)



Şekil 3: Hücre içi kalsiyum artışı ile vasküler düz kas tonusunun regülasyonu

Ayrıca da ekstraselüler kalsiyum girişi mekanik gerilme ve basınca duyarlı mekanizmalarla da olabilir. (Şekil 4)



Şekil 4: Basınç ve gerilime duyarlı kanallardan kalsiyum influkasyonu sonucu oluşan vasküler düz kas kasılması.

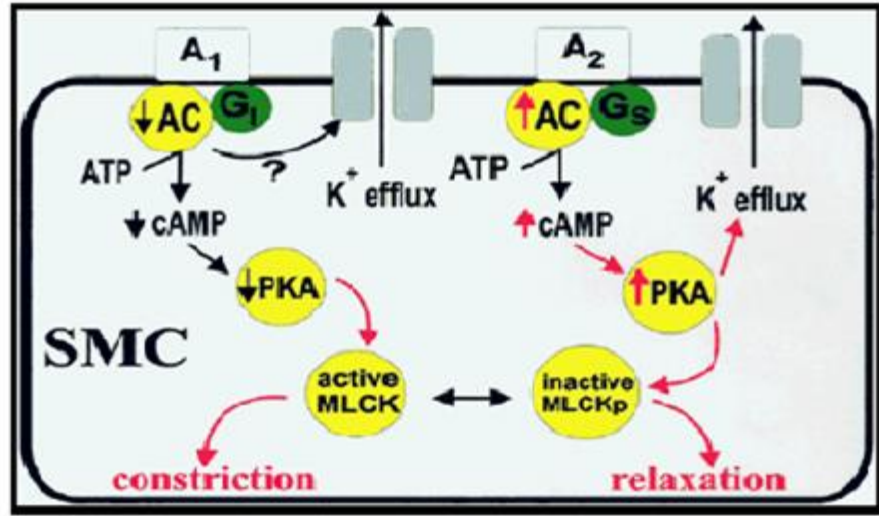
Sarkoplazmik retikulumdan hücre içine kalsiyum salınımı, intrasellüler 1, 4, 5 trifosfat artışı veya ryanodine duyarlı reseptörler aracılığı ile olur (110). (Şekil 3)

Hücre içi kalsiyum azaltılması siklik guanozin monofosfat (cGMP)'ın sarkoplazmik membrana bağımlı kalsiyum pompalarını aktive etmesi ile mümkün olabilir. Bu sayede düz kas hücresinde relaksasyon gerçekleşir (111). cGMP üreten guanilat siklazın (GS) ana aktivatörü ise Nitrik oksit (NO) dir.

Düz kas kasılmasının temel mekanizmasını, düz kas hücresi içindeki Kalsiyum aktivitesinin oluşturmaya rağmen, hücre içi kalsiyum miktarı değişmeden vasküler tonusu regüle eden başka mekanizmalarda vardır.

Bunlar protein fosforilasyon/defosforilasyonu yoluyla gerçekleşen mekanizmalardır. Bunlar miyozinin serin dışında başka bir pozisyonda fosforilasyonu, protein kinaz C -PKC- ile aktin düzenleyici proteinler olan kaldesmon veya kalponinin fosforilasyonu, miyozin hafif zincir kinazın fosforilasyonu nedeniyle deaktivasyonu gibi mekanizmaları içeriyor (112).

Vasküler düz kas hücresinin tonusunu reseptör bağımlı mekanizmalarla etkileyebilen birçok agonist tanımlanmıştır. Bunlar özellikle stimülatör veya inhibitör G proteinlerine bağlı reseptörleri aktive ederek etkilerini gösterirler. Aynı madde etkilediği reseptörlere göre stimülatör veya inhibitör G proteinlerini kullanarak birbirine zıt etkiler ortaya çıkarabilir. Örnek olarak A2 reseptörlerinin uyarımı ile stimülatör G proteinlerinin aktivasyonu relaksasyon oluştururken, A1 reseptörlerinin uyarımı inhibitör G proteinleri üzerinden vazokonstriksiyonla sonuçlanır (113) (Şekil 5).



**Şekil 5: Stimatör ve inhibitör G proteinlerinin aktivasyonu ve sinyal transdüksiyonu ile gelişen reseptör bağımlı mekanizma**

Endotelyal hücreler hem endotelyal kaynaklı konstriktör faktörlerini (EDCF) Hemde endotelyal kaynaklı relaksasyon faktörlerini (EDRF) salgırlar (110). EDRF grubunun en önemlileri; NO , başta prostasiklin olmak üzere bazı prostaglandinler, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF)'dür (114–118). İntraselüler kalsiyum artışı NO sentaz ve siklooksijenaz enzimlerini aktive etmektedir (119).

NO düz kas hücresine geçerek GS'ı aktive eder. Artan cGMP sayesinde Sitolitik kalsiyum sarkoplasmik retikulum içine alınır. NO yapımı hücre içi kalsiyum düzeyi 200nmol/L civarlarında bir değere ulaşana kadar uyarılır. Daha yüksek değerler prostaglandin kökenli maddelerin üretimini tetikler (119).

Prostaglandin kökenli EDRF'ler düz kas hücresinin potasyum kanallarını veya adenilat siklaz enzimini aktive ederler (120,121). Hala kesin olarak tanımlanamamakla birlikte EDHF'ün sitokrom P450 kaskadından kaynaklandığı ve

düz kas hücrelerini hiperpolarize ederek hücre dışına kalsiyum çıkışını sağladığı düşünülür (122). Prostosiklin ise potasyum kanallarını aktive ederek ve MLCK'ı inaktive ederek damar düz kasın relaksasyonu sağlar (121–123). EDCF'lerin en iyi bilinenleri endotelin (ET), tromboksanlar ve anjiotensin II' dir.

ET; endotel hücresi, düz kas hücresi ve ekstraselüler alanda üretilen bir peptiddir (124). ET, hem endotel hem de düz kas hücresi üzerindeki ETA ve ETB reseptörleriyle etki göstermektedir. Düz kas hücresi ET reseptörlerinin uyarımı, fosfolipaz C ve protein kinaz C aktivasyonu ile hücre içi kalsiyum miktarını artırır ve vazokonstriksiyona neden olur. Birkaç tane ET ve ET reseptörü tanımlanmıştır. ET-I ve ET-II'nin her ikisi de ETA ve ETB reseptörlerine bağlanabilse de ET-III sadece ETB reseptörüne bağlanabilir. ET-I'in SAK sonrası vazospazmıda esas rol alan endotelin tipi olduğu bilinir (124–126).

Anlatılan mekanizmaların çoğu damar düz kasında kontraksiyona yol açarak SAK sonrası SVS gelişiminde etkili olmaktadır. Oksihemoglobinin tetiklediği uzamış düz kas kasılması, vazospazm gelişiminde önemli rol oynamaktadır (127). Oksihemoglobin vasküler düz kas hücresi üzerine direkt etki yapabilir, ayrıca arter duvarından lokal vazoaaktif maddelerin salınımı, serbest radikallerin ve lipid peroksidlerin üretimini sağlayarak indirekt olarak da etki etmektedir (110). In vitro çalışmalar hemoglobinin ürettiği oksijen radikallerinin endotel ve düz kas hücrelerine zarar verdiğini ortaya koymuştur (128–130). Oksijen radikalleri endotelial geçirgenliği artırarak hücre içi kalsiyum ve 1,4,5 trifosfat miktarını yükselterek ve hücre depolarizasyonunu sağlayarak etki gösterirler (128–130). Ayrıca da serbest radikaller bir vazokonstriktör olan prostaglandin E2 ve bir

vazodilatatör olan prostoglandin I2 arasındaki dengeyi prostaglandin E2 lehine değiştirirler (131).

Yapılan deneysel SAK modellerinde baziler arterde endotel bağımlı relaksasyonun bozulduğu gösterilmiştir (132,133). Endoteldeki patolojik sürece en etkili spazmojen daha önce belirtildiği gibi oksihemoglobindir ( $\text{OH}^\cdot$ )(105).

Bunun nedeni de oksihemoglobinin ortamdaki nitrik oksidi (NO) düşürmesidir. Böylece guanilat siklazı (GS) inaktive etmesi veya serbest oksijen radikal üretimini arttırmasıdır. Hemoglobin NO'ı bağlar ve sonucunda, azalmış GS aktivitesi vazoskonstrüksiyona yol açar (134).

Hino ve arkadaşları maymunlarda SAK sonrası GS ve nöronal nitrik oksid sentaz miktarı değişmeden, endotelyal nitrik oksid sentaz (eNOS)'da %56 oranında azalma olduğunu göstermişlerdir (135).

Vermeulen 1996 da SAK sonrası insan BOS'unda ET içeriğinin arttığını, aynı Sene Hino ve arkadaşları SAK sonrası maymun'un serebral arterlerinde ET Reseptörlerinin arttığını göstermiştir (136,137). Yapılan çalışmalarda tavşan ve sıçanlarda ET reseptör blokajının vazospazmı yavaşlattığı da gösterilmiştir (138,139). SAK sonrası artmış ET etkisi ve azalmış endotelyal NO, vazospazm gelişiminde etkili olabilmektedir (140). SAK sonrası ortaya çıkan hipoksi gibi faktörler; EDCF ve EDRF'lerin normal fizyolojik dengesini değiştirerek indirekt olarak prostasiklin üretimini azaltır, tromboksan sentezinin aktivasyonu ve NO temizleyen oksijen radikallerinin üretimini sağlayarak SVS gelişimine katkıda bulunurlar (141).

### 3. İnflamatuvar Yanıt

SAK sonrası görülen vazospazmın patolojisi hem nörojenik hem de klasik inflamatuvar yanıt neticesinde meydana gelmektedir (142).

Yapılan çalışmalarda SAK sonrası BOS'da substance P ve kalsitonin gen ile ilişkili peptid konsantrasyonlarında artış olduğu saptanmıştır (143). Bu maddeler nörojenik inflamatuvar yanıtta sorumludurlar. Histamin, bradikinin, 5-hidroksitriptamin ve ET-I ile beraber kan-beyin bariyerinin bozulmasına yol açarak etkilerini gösterebilirler (142). SAK sonrası ekstravaze olan kan bir takım mekanizmalarla klasik inflamatuvar yanıtın oluşmasına sebep olmaktadır. Bu mekanizmalar şu şekilde özetleyebiliriz;

- Eritrositlerin lizisi sonucu hemoglobinin ortaya çıkması,
- Lipooksijenaz, siklooksijenaz, NO sentaz enzim aktivitelerinde artış,
- Proinflamatuvar sitokinlerin etkileri gibi basamakları,
- Trombositlerin aktivasyonu ve trombosit kökenli growth faktör- PDGF-üretimi,
- Kompleman ve trombinin protrombotik ve proinflamatuvar etkileri,
- Perivasküler ve intramural makrofaj ve granülositlerin adhezyon molekülleriyle etkileşimleri,
- ET-I'in etkileri gibi basamakları içerir (142,143).

#### **4. Arter Duvarındaki Yapısal Değişiklikler**

Arter duvarındaki değişiklikler olayın sebeplerden daha çok sonucudur. Arteriyel hiperplazi, trombosit agregasyonu ve ödemin sonucu gelişen yapısal değişiklikler serebrovasküler rezistans arttırarak serebral kan akımını azaltırlar. 1989 yılında maymunlarda deneysel SAK modelinde arter duvar değişikliklerini Findlay ve arkadaşları çalışmışlardır. Çalışmada elektron mikroskopu kullanmış olup orta serebral arter morfolojisini incelemişlerdir. Ayrıca lümen çapındaki azalma ve duvar kalınlığındaki artışı göstermişlerdir. Arteriyel daralmanın ve arter duvarındaki kalınlaşmanın SAK sonrası birkaç haftada geliştiğini ve basit bir vazokonstriksiyondan farklı olarak tunica mediadaki kasılması dışında endotel ve vasküler düz kas hücrelerindeki dejeneratif değişikliklerin de tabloya eşlik ettiğini göstermişlerdir (144).

### **II.B.5. Klinik Belirtiler**

Vazospazm esnasında klinik tabloda görülen bulgular majör ve minör olarak ikiye ayrılabilir.

1. Majör bulgular: Bilincin kötüleşmesi, motor defisit ya da afazi gibi hemisferik belirti ve bulguların ortaya çıkması doğrudan vazospazmın gelişimini düşündürür.

2. Minör bulgular: Baş ağrısında artma, subfebril ateş gibi bulgular varlığında ise SVS ‘tan kuşulanılmalı ve hasta yakından izlenilmelidir (92).

Semptomatik vazospazm kliniği; etkilenen arterin lokalizasyonu, daralmanın şiddeti, hastanın yaşı ve genel durumu, intrakranial basınç yüksekliği, intraserebral hematom, hidrosefali gibi ek komplikasyonların varlığı ve kollateral dolaşımın durumuna bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Nörolojik bulguların başlangıcında sıklıkla ateş yüksekliği, meningismus bulguları ve nonspesifik bir apatik tablo vardır.

Anterior sistem etkilenmişse daha çok hemiparezi, hemihipoestezi, görme bozuklukları, disfazi ve bilinçte dalgalanmalar klinik tabloya hakimdir.

Posterior sirkulasyon tutulmuşsa dizatri, diplopi, vertigo, ataksi ve solunum değişiklikleri ön planda görülür (99).

Anjiyografik SVS tesbit edilen hastaların yarısı asemptomatik olabilir (145).

### **II.B.6. Tanı**

SVS'ın teşhisinde klinik ve radyolojik değerlendirmenin beraber olması gerekmektedir. Ateş yükselmesi ve lökositoz genellikle ilk gelişen bulgulardır ve bu tabloya nörolojik durumda bozulmanın eklenmesi vazospazmın işareti olup kesin tanı invaziv bir yöntem olan serebral anjiyografi ile konur (146). Anjiyografi SVS'ı saptamada altın standart tanı yöntemidir (119,147,148). Anjiyografide saptanan vazospazm radyolojik vazospazm tanısı koydursa da; radyolojik vazospazm tesbit edilen hastaların sadece yarısında semptomatik vazospazm tablosu görülmektedir. Bu nedenle radyoloji tanı koydurmaktan çok tanıyı destekler niteliktedir.

Anjiyografide vazospazm 3 günden önce hemen hemen görülmezken, 5 ile 14. günde maksimum arteriyel daralma gözlenir ve 2 ile 4. haftalara doğru aşamalı olarak düzelir (22,149,150).

Yaşargil vazospazmı; anjiyografik bulgulara göre lokal, multisegmental veya diffüz olarak sınıflandırmıştır .

Transkranyal doppler ultrasonografide tanıda kullanılabilir. TCD serebral Vasküler akım hızını ölçebilen güvenli ve non-invaziv tanı yöntemidir. Orta serebral arter akım hızının 20 cm/sn.'den yüksek olduğu hastalar daha fazla klinik vazospazm riskine sahiptirler (151,152).

Manyetik rezonans anjiyografi (MRA), bilgisayarlı tomografi, anjiyografi,(BTA), single photon emission computerize tomografi (SPECT), pozitron Emisyon tomografi (PET), xenon bilgisayarlı tomografi, xenon – 133,

transkranyal serebral oksimetre de radyolojik vazospazm tanısında kullanılan tanı yöntemleridir (145).

SVS'in görülme sıklığı literatürde farklılık göstermektedir. Bu durum hastayı kabul eden hastanenin özelliğine (acil hastaları kabul eden ya da geç hastalar yatıran), tanı ve tedavi protokollerindeki (erken ya da geç cerrahi uygulanma şekline, anjiografinin yapılış zamanına, transkraniyel doppler kullanıma) bağlı olarak değişiklik gösterir. Dorsch yaptığı meta analizde, 187 çalışmada 2. haftada anjiyografi yapıldığında hastaların %67'sinde serebral vazospazm saptandığını, 297 çalışmada ise toplam 32188 SAK hastasından 10145'inde (%32) geç iskemik defisit geliştiğini belirtmiştir (152). SAK sonrası ilk üç gün içinde hastaneye kabul edilen 3521 hastayı içeren prospektif bir çalışmada vazospazm sonucunda %7.2 hasta da ölüm, %6.3 hastada sakatlık gelişmiştir (153–155).

#### **II.B.7. Serebral vazospazmda önleyici ve tedavi edici yöntemler**

Günümüzde SVS'in tam olarak efektif bir tedavisi halen bulunmamaktadır. Mevcut yöntemler ise vazospazmı önleyici ve tedavi edici yöntemler olarak iki ana başlık altında incelenebilir.

##### **1- Vazospazmı önleyici yöntemler:**

Sıvı yönetimi: Serebral vazospazmı önleyici tedaviler ameliyat öncesi dönemden itibaren başlamalıdır. Özellikle HT tespit edilen hastalarda tansiyon değerleri kontrollü olarak düşürülmeli ve serebral perfüzyon basıncında oluşabilecek azalmalar engellenmelidir (92). SAK sonrası hipovolemi, anemi ve hipotansiyon serebral iskeminin oluşmasını artırabilmektedir. Antifibrinolitik

ajanlar ise yeniden kanama insidansını azaltırken vazospazm riskini artırabilmektedirler. Cerrahi sonrası sistemik kan basıncı hafif hipertansif aralıkta (120-160 mm Hg ) tutulmalıdır (156).

Subaraknoid pıhtı temizlenmesi ve lizisi: Anevrizma cerrahisinde subaraknoid pıhtının özel bir gayretle temizlenmesinin semptomatik vazospazm görülme sıklığını azaltabileceği bildirilmektedir (92,157,158). Anevrizma klipajı sonrasında fibrinolitik ajanların (Rekombinant doku plazminojen aktivatörü, ürokinaz) subaraknoid aralığa uygulanmasının damarların etrafındaki pıhtının lizisini artırarak SVS riskini azalttığı savunulmaktadır. Ayrıca direkt ventriküler ya da lomber bölgeden sürekli ya da aralıklı BOS drenajının vazospazmı engellemede başarılı sonuçları olduğu bilinmektedir (92).

Kalsiyum Kanal Blokerleri: Nimodipin kullanımı ile ilgili randomize klinik çalışmalarda SAK hastalarında profilaktik nimodipin kullanımının vazospazm üzerine faydalı etkileri olduğu bildirilmektedir (92).

İkinci jenerasyon bir kalsiyum kanal blokeri olan nimodipin vazospazma bağlı mortaliteyi klinik ve istatistiksel olarak belirgin biçimde azaltabilmektedir (159,160). Birkaç çalışmada hemoraji sonrası ilk 96 saatte başlanan nimodipin tedavisinin SVS'ı önlemede etkili bulunması, nimodipinin birçok klinikte vazospazmın rutin tedavi protokolüne girmesini sağlamıştır (159,160).

Klinik başarı elde edilse de yapılan çalışmalarda nimodipinin anjiyografik vazospazmı önlemediği bildirilmiştir.

Diğer bir kalsiyum kanal blokeri olan nicardipin de bazı kliniklerce vazospazm tedavisinde kullanılmaktadır. Nicardipin ile yapılan çalışmalarda nimodipinin aksine anjiografik vazospazmda da düzelme gözlenmiştir.

Tedavide kullanılan diğer ajanlar: Nizofenone (nöroprotektan), vazodilatatör kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP), yüksek doz metilprednizolon, nicaraven (Hidrosil radikal antagonisti), milrinon, yavaş salımlı papaverin tabletleri, ebselen (nöroprotektan), çeşitli ET-1 antagonistleri (BQ-123, BQ-485,BQ-610) ve profilaktik balon anjioplastinin bazı faydalı etkileri ortaya konmuş olmasına rağmen yaygın klinik kullanıma geçen bir önleyici tedavi halen bulunamamıştır.

## **2- Vazospazmda Tedavi Yöntemleri:**

3H tedavisi: 3H (Hipertansiyon, Hipervolemi, Hemodilüsyon) tedavisinin yaygın olarak kullanıma girmesi 1970'li yılların sonlarına doğru gerçekleşmiştir (161). Etkilenen arterin çapının daralması sonucunda serebral vasküler direnç artar ve bölgesel serebral kan akımının bozulmasıyla serebral infarkta kadar giden bir süreç başlar (161).

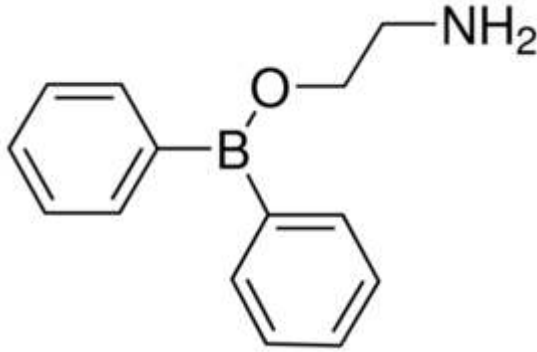
Günümüzde 3H tedavisi ile intravasküler hacmin artırılarak, yeterli doku perfüzyonunun sağlanmasının iskemik defisitini geri çevrilmesinde etkili olduğu bilinmektedir(45,162). SVS tedavisinde yaygın kullanılan bir tedavi olmasına rağmen semptomatik vazospazmın tedavisindeki etkisi klinik çalışmalarla gösterilememiştir. Bu tedavide hemodilüsyonu sağlamak amacı ile hematokrit düzeyleri 30-35' in altında olmamalı, hemoglobin ise 10 g/dl 'nin üstünde tutulmalı; hipervolemi için santral venöz basınç 8-10 mm Hg arasında olmalı; hipertansiyonu sağlamak için sistolik kan basıncı 140 mm Hg' nın üstünde tutulmalıdır.

Vazospazmlı hastalarda yapılan çalışmada 3H tedavisi ile birlikte kardiyak performansın dobutaminle arttırılmasının, oluşan nörolojik defisiti % 78 oranında geri çevirdiği gösterilmiştir (163).

Bu tedavinin uygulanabilmesi için SAK'a neden olan anevrizmanın cerrahi olarak kliplenmesi veya endovasküler yol ile koillenmesi gerekmektedir (161). 3H tedavisi tamamen güvenli ya da risksiz bir tedavi yöntemi değildir. Hastaların %10-20'sinde ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir. Bunlardan en sık görüleni pulmoner ödem, kranial komplikasyonları ise serebral ödemdir.

### II.C. 2-Aminoetoksi difenil borat (2-APB)

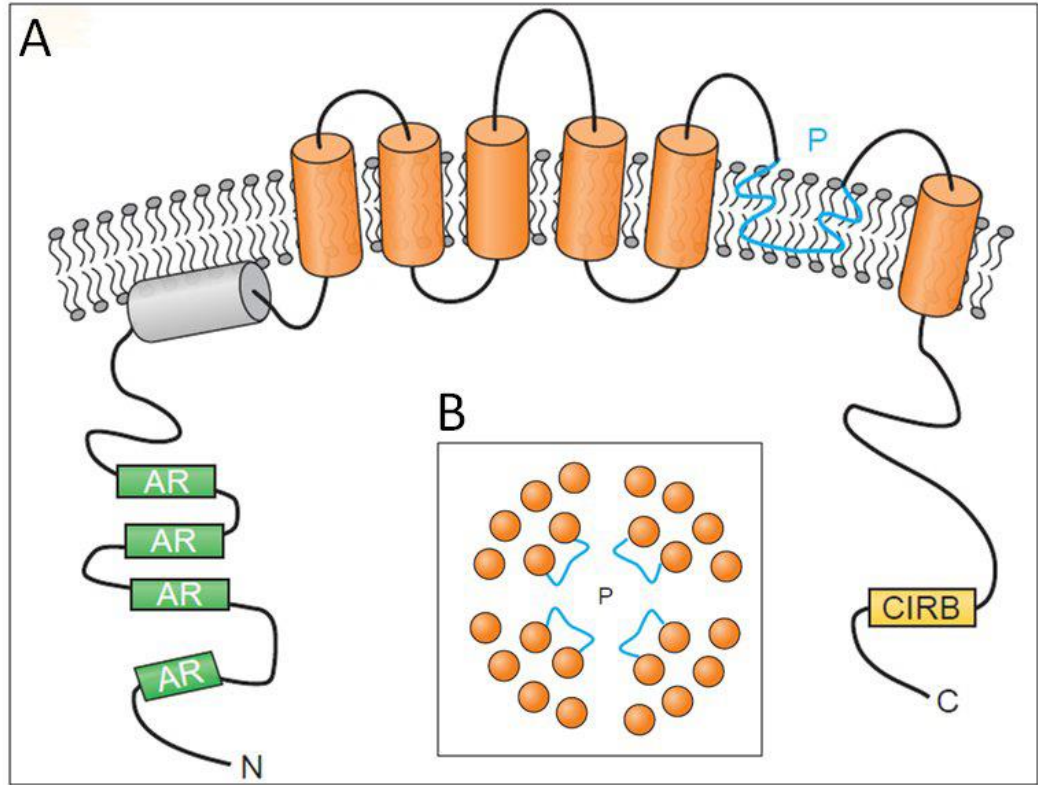
2-Aminoetoksidifenil borat (2-APB), IP3 ile indüklenen  $\text{Ca}^{+2}$  salınımını değiştiren ve membrandan geçebilen bir kimyasaldır. 2-APB'ın, IP3 ile  $\text{Ca}^{+2}$  salımı yapan diğer antagonistlerden farkı, plazma membranı veya intrasellüler veziküllerde bulunan  $\text{Ca}^{+2}$  kanallarını inhibe etmemesidir. Bu açıdan, 2-APB hücre dışından  $\text{Ca}^{+2}$  girişini etkilemeyen ilk IP3 modülatörüdür(164,165). 2-APB'ın, IP3 ile indüklenen  $\text{Ca}^{+2}$  salınım inhibisyonu yaptığı hücre tiplerine platelet, suprakiazmatik nükleus, ventriküler kardiyomiyosit, çeşitli düz kas hücreler, pankreatik  $\beta$  hücresi, hipokampal nöron, iskelet myotüpler, nötrofil ve endotel hücreler örnek olarak verilebilir (166).



**şekil 6: 2-Aminoetoksidifenil borat'ın yapısı.**

Son birkaç yılda 2-APB'nin etki ettiği  $\text{Ca}^{+2}$  kanalları üzerinde yeni çalışmalar yoğunlaşmaya başladı. Özellikle 2-APB'nin SOCE (store-operated  $\text{Ca}^{+2}$  entry-depo-kontrollü  $\text{Ca}^{+2}$  girişi)'nin inhibe etmesi ve dolaylı olarak TRP kanallarını inhibasyon etkisi çalışmaları arttıkça önemi anlaşılmaya başlandı (167).

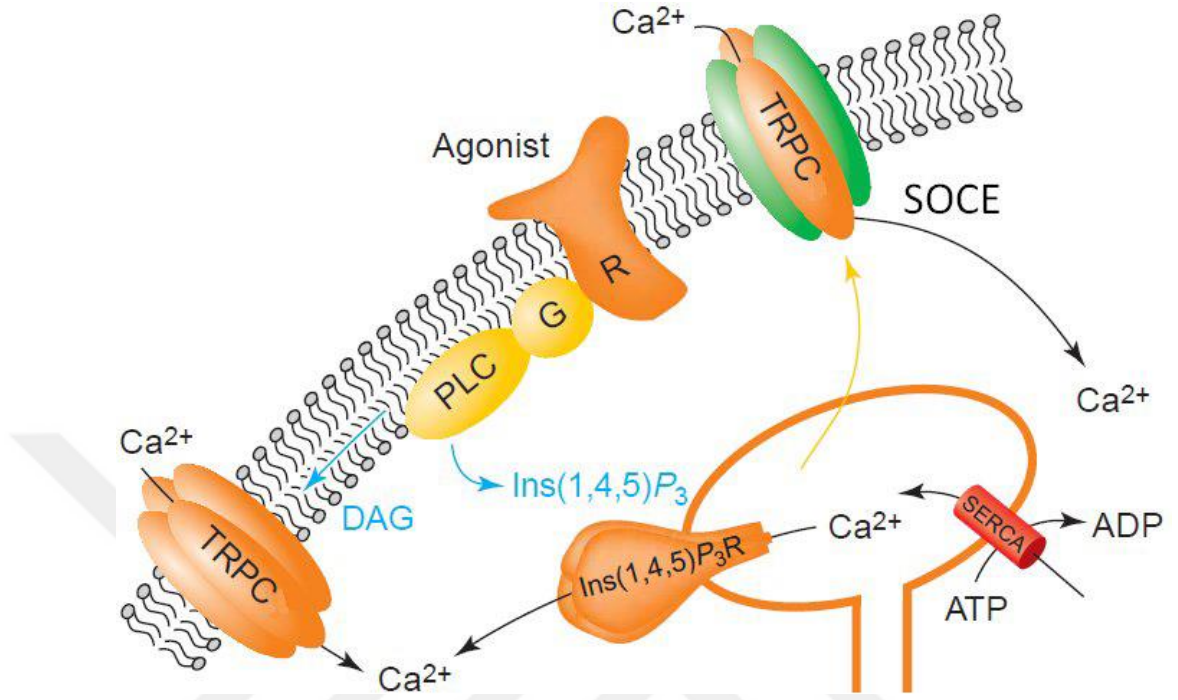
TRP'nın ilk defa *Drosophila melanogaster* (meyve sineği) fotoreseptörlerinde ışıqla aktive olan  $Ca^{+2}$  kanalının önemli bir bileşeni olduğunu keşfedildi. Amino asid benzerliğine göre TRP kanalları 7 alt aileye ayrılmıştır. Hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun düzenlenmesinde TRPC kanallarının diğer alt ailelere göre daha fazla ön plana çıkmaları nedeniyle bu kanalların damar tonusunun düzenlenmesindeki işlevlerine yönelik kanıtlar giderek artmaktadır (168). TRP kanallarının tat, sıcaklık ve koku algılama ile ilgili duyuşal nöronlarda ince ayar işlevine katılmaları (169,170) ile birlikte vasküler bariyer, oksidatif stres aktivasyonu, vazokonstriksiyon/vazodilatasyon, vasküler proliferasyon, vasküler yeniden modelleme “vascular remodelling” ve anjiyojenez gibi birçok süreçte işlevsel oldukları bilinmektedir (168,171).



**Şekil 7: TRPC kanal proteini yapısı.**

Monomerik kanal yapısı (A), ve işlevsel tetramerik kanal yapısı (B). Membranı geçen 6 bölge turuncu renkte, hidrofobik por bölgesi (P) ise mavi renkte görülmektedir. Amino (N) ucunda 4 adet ankyrin benzeri tekrar bölgesi (AR), karboksi (C) ucunda kalmodulin ve IP3R bağlanma bölgesi (CIRB) bulunur. Putney ve ark., 2004'den modifiye edilmiştir (172).

SOCE ve TRPC kanallarının arasındaki aktivasyonu aşağıdaki şekilde anlatılmıştır.



**Şekil 8: SOCE aktivasyonu ve TRPC kanalları.**

Membran reseptörlerinin (R) agonist ile uyarılması sonucunda fosfolipaz C (PLC) aktive olur. Oluşan  $IP_3$  SR membranındaki reseptörüne bağlanarak  $Ca^{2+}$  salınması ve SOCE'ye neden olur. Oluşan diğer bir ürün diacylglycerol (DAG), TRPC kanallarını aktive eder. SERCA: sarkoendoplazmik retikulum  $Ca^{2+}$  ATPaz, G:G proteini. Putney ve ark., 2004'den modifiye edilmiştir (172).

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

#### III.A. Hayvan hazırlığı ve anestezi:

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi ve Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu(AKUHADYEK) kararıyla 25.02.2016 tarihinde 49533702/17 protokol numarasıyla onaylanmış olup, Haziran 2016- Ocak 2017 tarihleri arasında yapılmıştır.

Çalışmada daha önce herhangi bir deneyde kullanılmamış ortalama ağırlıkları  $300\pm 20$  gr olan Sprague-Dawley cinsi 32 adet sıçan kullanıldı. Sıçanlar Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışmanın deneysel bölümü, Afyon Kocatepe Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

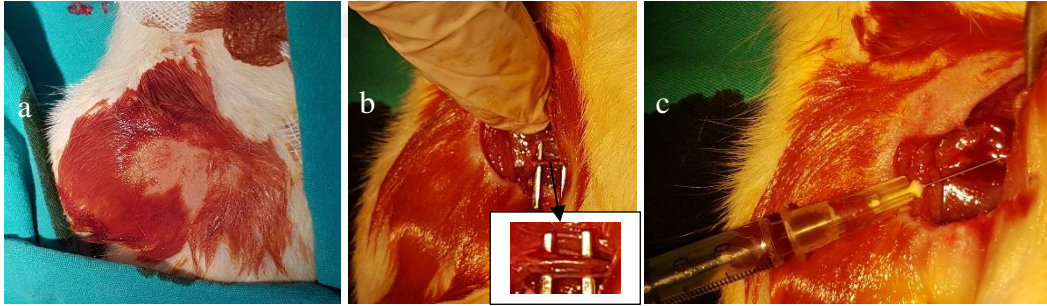
Preparatların hazırlanması, baziler arter çap ölçümleri ve immünohistopatolojik incelemeleri Histoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, kimyasal ölçümler Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Sıçanlar çalışma öncesinde, çalışma sırasında ve sonrasında her kafeste en fazla dört hayvan bulunacak şekilde polikarbon kafeslerde barındırıldı. Sabit oda sıcaklığında ve nemde ( $22\pm 3^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve  $62\pm 7\%$  nem), her gün kafes temizliği ve beslenme (standart hayvan yemi ve yeterince su) gereksinimi sağlanmak şartı ile barındırıldı. Deney süresince, uygun şekilde ışık almaları sağlanan bir ortamda (12'şer saatlik ışık karanlık siklusu içinde) tutuldu. Hayvan yemleri özel çelik kafeslerde, su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda verildi.

### III.B. Cerrahi İşlem Prosedür

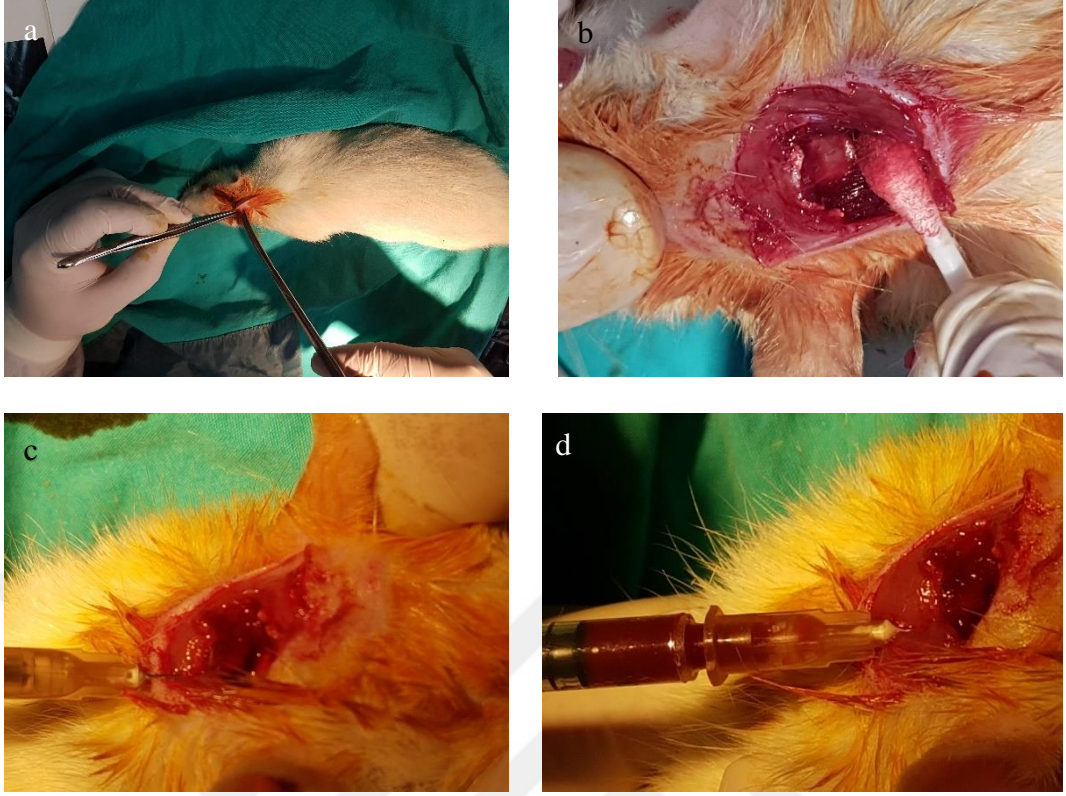
#### III.B.1. Deneysel Subaraknoid Kanama Oluşturulması

Sıçanlar prone pozisyonda tespit edilip Sisterna magnaya otolog arteriel kan transfüzyonu ile deneysel serebral vazospazm modeli yöntem ve etkinlik bakımından genel kabul görmüş, standart tekniklerden biridir. Çalışmamızda da bu model kullanıldı. Genel anestezi altında oksiput ve C1 palpe edildikten sonra bölgeye saha temizliği yapıp ve 2 cm'lik insizyonla cilt ciltaltı geçildi, adale diseksiyonu yapıldı ve kraniovertebral bileşke ortaya konuldu. Sıçan Microliter enjektör yardımıyla sisterna mangaya ponksiyon yapıldı. 0.1cc BOS boşaltıldıktan sonra sol femoral arterden alınan 0.2 cc arteriyel kan sisterna magnaya yavaşça enjekte edilerek deneysel SAK oluşturuldu. 2-APB 0.5 mg/kg ve 2 mg/kg intraperitoneal yolla verildi. Denekler 24. saatte sakrifiye edildi.



**Resim 1: Femoral kan alma işlemleri**

Femoral arter lokasyonu(a), diseksiyonu(b) ve kan alma işlemleri (c)



**Resim 2: Sisterna magnaya kan enjekte edilmesi**

Adale diseksiyonu(a) ve kraniovertebral bileşke ortaya konulması(b), Bos boşaltılması(c) ve arter kan enjekte edilmesi(d)



**Resim 3: Dekompreyon sonrası beyin diseksiyonu. Anatomik bütünlüğü korunmuştur.**

### **III.B.2. İmmünohistokimyasal İnceleme**

#### **Biyokimyasal incelemeler**

##### **Doku Homojenatının Hazırlanması**

Alınan doku örneklerinden 0.2 g tartıldı ve 0.1 M pH:7.4 fosfat tamponundan 2 ml ilave edilerek Ultra Turrax (IKA Works,USA) marka homojenizatörle buz içerisinde 24,000 devir/dk da 1 dk homojenize edildi. Homojenatlara daha sonra Dr Hielscher (Germany) marka sonikatörle 20,000 cycle/sec olacak şekilde 1 dk ultrasonikasyon gerçekleştirildi. Ardından homojenatlar 10.000 g de 15 dk santrifüj edilerek supernatant ayrıldı ve çalışılincaya kadar -85° C’de saklandı.

##### **Doku Protein Ölçüm Yöntemi**

Doku homojenatında Protein düzeyleri Brilliant Blue G boyası yöntemi ile Sigma marka ticari kitler kullanılarak (Saint Louis, Missouri, USA) prospektüste belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. Sonuçlar g/L protein olarak verildi.

##### **Doku ve Serum SOD Düzeylerinin Ölçümü**

Doku homojenatında ve serumda SOD ölçümü Cayman marka Süperoksid Dismutaz ölçüm kiti ile yapıldı (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan, USA). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı. (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak U/mg protein, serumda ise U/dl olarak verildi.

### **Doku ve Serum GPx Düzeylerinin Ölçümü**

Doku homojenatında ve serumda GPx ölçümü Cayman marka Glutasyon Peroksidaz ölçüm kiti ile yapıldı (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan, USA). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı. (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak  $\mu\text{mol/dk/g}$  protein, serumda ise  $\mu\text{mol/dk/dl}$  olarak verildi.

### **Doku ve Serum MDA Düzeylerinin Ölçümü**

Doku homojenatında ve serumda MDA ölçümü Cayman marka TBARS ölçüm kiti ile yapıldı (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan, USA). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı. (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak  $\mu\text{mol/g}$  protein, serumda ise  $\mu\text{mol/L}$  olarak verildi.

### **Doku ve Serum IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Ölçümü**

Doku homojenatında ve serumda IL-1 $\beta$  ölçümü eBioscience marka Rat IL-1 $\beta$  Platinum Elisa kiti ile yapıldı (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı. (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak  $\text{ng/g}$  protein, serumda ise  $\text{pg/ml}$  olarak verildi.

### **Doku TNF-alpha Düzeylerinin Ölçümü**

Doku homojenatında ve serumda TNF-alpha ölçümü eBioscience marka Rat TNF-alpha Platinum Elisa kiti ile yapıldı (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı. (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak pg/g protein, serumda ise pg/dl olarak verildi.

### **Histopatolojik inceleme**

Sıçanlardan alınan beyin ve beyin sapı örnekleri %10'luk formalinde tespit edildi. Fiksasyon sonrası hipokampusu içeren beyin dokuları sagittal düzlemde ve baziler arteri içeren beyin sapı örnekleri koronal düzlemde hepsi aynı bölgeden kesilmek suretiyle rutin ışık mikroskopi takibine alındı. Dokular oda sıcaklığında % 70, % 80, % 96 alkollerde 45'er dakika tutuldu. Daha sonra iki kez % 100 alkolde 60 dakika bekletilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından şeffaflaştırma için toluolde önce 15 dakika daha sonra 45 dakika tutulduktan sonra 60 derecelik etüve sıvı parafin içine alındı. İki değişim parafinde 60'ar bekletildi. Beyin ve beyin sapı örnekleri etüvden alınarak parafine gömüldü ve parafin bloklar elde edildi. Parafine gömülen dokulardan beyin sapından histokimya için klasik, beyin dokularından ise immunohistokimya için polilizinli lamlara 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Beyin sapı dokuları genel histopatolojik değerlendirme için Hematoksilen-Eozin(H&E) ile boyandı.

### **İmmunohistokimya**

Beyin kesitlerine immunohistokimyasal olarak Kaspaz-3 boyaması yapıldı. İmmunohistokimyasal boyama için bir gece etüvde bekletilerek deparafinizasyon

işlemi yapılan kesitler, iki değişim 30'ar dakika ksilenden geçirilerek kimyasal deparafinizasyona tabi tutuldu. Kesitler % 100 alkolde 5 dakika, %90, % 80, % 70 alkollerde 3'er dakika ve distile suda 3 dakika tutularak rehidrate edildi. Ardından mikrodalgada sitrat tampon solüsyonuyla(ph=6.00) antijen açığa çıkarma işlemine tabi tutuldu. Soğumaya bırakılan kesitler TBS (Tris- Buffered Saline) ile yıkandıktan sonra dokuların etrafı sınırlayıcı kalemle çevrilerek endojen peroksidazı bloke etmek için %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 13 dakika muamele edildi. Tekrar TBSle yıkanan kesitler Blocking Solüsyonuyla 5 dakika muamele edildi. Ardından Kaspaz3 (Abcam,ab 4051, 1/100 dilüsyon) primer antikoru damlatılıp +4 °C'de buzdolabında 1 gece beklemeye bırakıldı. Ertesi gün TBS ile iyice yıkandıktan sonra sekonder antikor olarak HRP kit (Large Volume Anti-polyvalent HRP, Thermo Scientific) uygulandı. Bu amaçla kit içinde yer alan Anti-Goat serumda 20 dakika bekletildi. TBS ile 2 kez yıkandıktan sonra streptavidinli sekonder antikor damlatılarak 20 dakika bekletildi. TBS'te 4 kez yıkandı ve renklendirme basamağına geçildi. Kesitlere AEC kromojeni damlatılarak reaksiyon gözlemlendi. Zıt boyama için Mayer's Hematoksileni kullanıldı ve aköz kapama solüsyonuyla kapatıldı. Ardından araştırma mikroskobu altında immunreaktivite değerlendirmesi yapıldı. Sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. Caspase 3 pozitif nöronlar CA1, CA3, ve DG bölgelerinden üçer alanda sayıldı. (Resim 13)

### **Baziler Arter Lümen Çapı ve Duvar Kalınlığı Ölçümleri**

(H&E) ile boyanan beyin sapı örneklerinde her bir numune için, baziler arter çapı ve duvar kalınlığı bilgisayarlı görüntü analiz sistemi ile ölçüldü. H&E boyalı kesitlerden, ışık mikroskopa (Eclipse E-600 Nikon, Tokyo, Japan) bağlı görüntü

analiz sistemi (Image Analysis Software, NIS Elements Nikon, Tokyo, Japan) ile elde edilen dijital görüntülerde, görüntü analiz yazılımı ile ölçümler yapıldı. Her örnek için baziler arterin en geniş ve en dar izlenen segmentlerinin çap ölçümleri x20 lik objektif altında (x200 büyütme) ölçülüp ortalamaları alındı.

Baziler arterin her kesitinin 4 kadranında lümen ile kas tabakasının dış sınırı arasındaki duvar kalınlığı 40'luk objektif altında (x400 büyütme) ölçüldü ve ortalamaları alındı. Tüm ölçümler mikrometre cinsinden kaydedi.

### **III.C. Deney Grupları**

Projede 32 adet erişkin ve ortalama ağırlıkları  $300 \pm 20$  g olan erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar standart nem, ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık) ve ısı koşullarında ( $24^{\circ}\text{C}$ ) bulunduruldu. Çalışma süresince hayvanlar ihtiyaç duydukları kadar standard sıçan yemi ve su verildi.

Cerrahi işlem:

Cerrahi işlemden 12 saat önceden itibaren aç bırakıldı. Ardından gruplarına göre cerrahi işlemlere başlandı

Deney Protokolü:

Grup 1 (KONTROL) : Deney grubundaki hayvanlara Ketamin ile anestezi sağlandıktan sonra, sıçanlar prone pozisyonda tespit edildi. Denekler sakrifiye

edildi. Beyin, Beyin sapı ve baziler arter numuneleri %10'luk formaldehit ve -80° C de muhafaza edildi.



**Resim 4: Dekapitasyon sonrası beyinler diseksiyonu.** (bazal arteri dahil anatomik bütünlüğü korunmuştur.)

Grup 2 (SAK) : Ketamin ile anestezi sağlandıktan sonra, Sıçanlar prone pozisyonda tespit edildi. Sisterna magnaya otolog arteriel kan transfüzyonu ile deneysel SVS modeli yöntem ve etkinlik bakımından genel kabul görmüş, standart tekniklerden biridir. Çalışmamızda da bu model kullanıldı. Genel anestezi altında oksiput ve C1 palpe edildikten sonra bölgeye saha temizliği yapıp ve 2 cm'lik insizyonla cilt geçildi, adale diseksiyonu yapıldı ve kraniovertebral bileşke ortaya konuldu. Enjektör ile sisterna mangaya ponksiyon yapıldı. 0.1 cc BOS boşaltıldıktan sonra sol femoraldan alınan 0.2 cc arteriyel kan sisterna magnaya yavaşca enjekte edildi. deneysel SAK oluşturuldu. Enjeksiyonu takiben denekler 45 derecelik Trandelenburg pozisyonunda 15 dakika bekletildi. Denekler 24. saatte sakrifiye edildi. Beyin, beyin sapı ve baziler arter numuneleri %10'luk formaldehit ve -80° C de muhafaza edildi.



**Resim 5: SAK modeli oluşturulan beyin dokusu 1.**

Grup 3 ( SAK +2-APB 0.5 mg/kg) : Ketamin ile anestezi sağlandıktan sonra, Sıçanlar prone pozisyonda tespit edildi. Sisterna magnaya otolog arteriel kan transfüzyonu ile deneysel serebral vazospazm modeli yöntem ve etkinlik bakımından genel kabul görmüş, standart tekniklerden biridir. Çalışmamızda da bu model kullanıldı. Genel anestezi altında oksiput ve C1 palpe edildikten sonra bölgeye saha temizliği yapıp ve 2 cm’lik insizyonla cilt geçildi, adale diseksiyonu yapıldı ve kraniovertebral bileşke ortaya konuldu. Enjektör ile sisterna mangaya ponksiyon yapıldı. 0.1 cc BOS boşaltıldıktan sonra sol femoraldan alınan 0.2 cc arteriyel kan sisterna magnaya yavaşça enjekte edildi. deneysel SAK oluşturuldu. Enjeksiyonu takiben denekler 45 derecelik Trandelenburg pozisyonunda 15 dakika bekletildi. 2-APB 0.5 mg/kg intraperitoneal yolla verildi. Denekler 24. saatte sakrifiye edildi. Beyin, beyin sapı ve baziler arter numuneleri %10’luk formaldehit ve  $-80^{\circ}\text{C}$ ’de muhafaza edildi.



**Resim 6: SAK modeli oluşturulan beyin 2.**

Grup 4 ( SAK +2-APB 2 mg/kg) : Ketamin ile anestezi sağlandıktan sonra, Sıçanlar prone pozisyonda tespit edildi. Sisterna magnaya otolog arteriel kan transfüzyonu ile deneysel serebral vazospazm modeli yöntem ve etkinlik bakımından genel kabul görmüş, standart tekniklerden biridir. Çalışmamızda da bu model kullanıldı. Genel anestezi altında oksiput ve C1 palpe edildikten sonra bölgeye saha temizliği yapıp ve 2 cm'lik insizyonla cilt geçildi, adale diseksiyonu yapıldı ve kraniovertebral bileşke ortaya konuldu. Enjektör ile sisterna mangaya ponksiyon yapıldı. 0.1 cc BOS boşaltıldıktan sonra sol femoraldan alınan 0.2 cc arteriyel kan sisterna magnaya yavaşça enjekte edildi. deneysel SAK oluşturuldu. Enjeksiyonu takiben denekler 45 derecelik Trandelenburg pozisyonunda 15 dakika bekletildi. 2-APB 2 mg/kg intraperitoneal yolla verildi. Denekler 24. saatte sakrifiye edildi. Beyin, beyin sapı ve baziler arter numuneleri %10'luk formaldehit ve -80° C'de muhafaza edildi.

Her denek için postoperatif profilaktik amaçlı antibiyoterapi (15 mg/kg/gün dozunda IM Cefazolin Na) yapıldı. Kan, BOS ve doku örneklerinden histopatolojik

ve biyokimyasal tetkikler yapıldı, elde edilen sonuçlar sayısal değerlere çevirilip istatistiksel olarak incelendi.

### **III.D. İstatistiksel Analiz**

Elde edilen sayısal değerler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak gösterildi. Grupların dağılımı (homojen olup olmadığı) Shapiro Wilks Testi ile değerlendirildi. Homojen olan gruplarda; gruplar arası karşılaştırma “One-way Anova”, ikili karşılaştırma ise Least Sginificant Difference (LSD)” ile yapıldı. Homojen olmayan gruplarda ise; gruplar arası karşılaştırma “Kuruskal Wallis H Testi”, ikili karşılaştırması ise “Mann Whitney U Testi” ile yapıldı.  $P<0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı bir farkı ifade etmiştir.

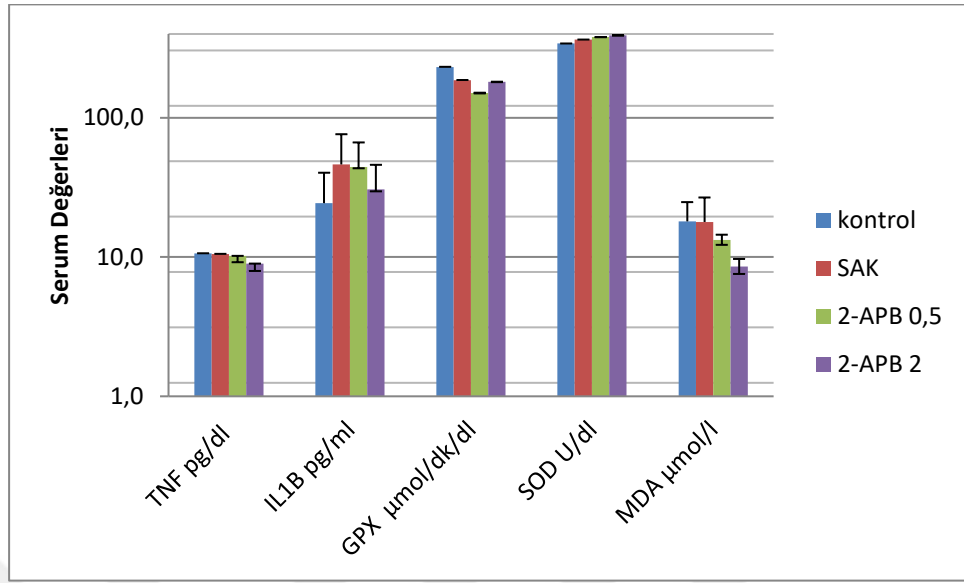
## IV. BULGULAR

### IV.A. Biyokimyasal Bulgular:

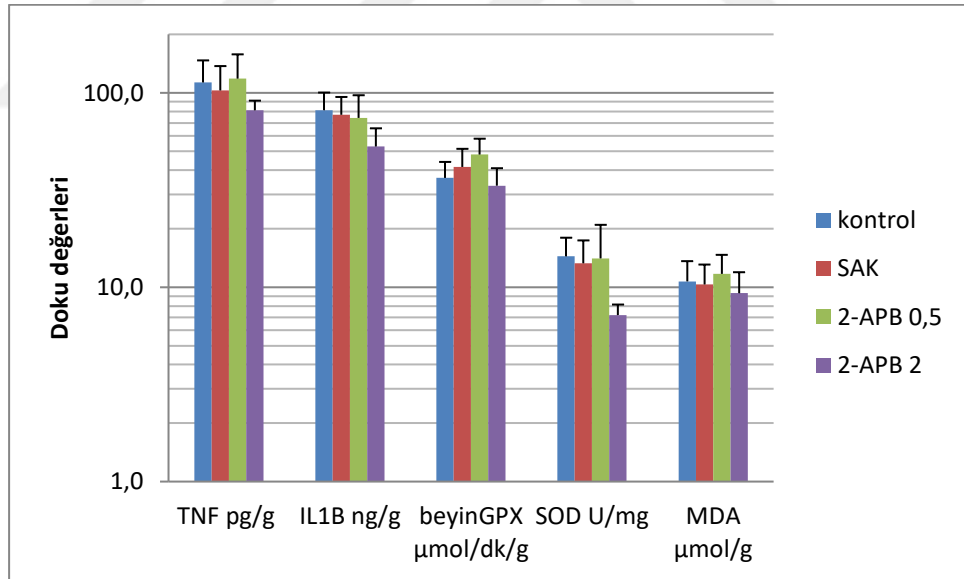
**Tablo 6: Serumda ve beyin dokusunda biyokimyasal değerleri**

| Serum biyokimyasal parametrelerin (Ortalama $\pm$ SD) ve P değerleri |                     |                    |                    |                    |                                                            |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------------------------------------------------|
|                                                                      | Kontrol             | SAK                | 2-APB 0.5mg/kg     | 2-APB 2mg/kg       | P değerleri                                                |
| TNF<br>pg/dl                                                         | 10,62 $\pm$ 2,17    | 10,53 $\pm$ 1,92   | 10,19 $\pm$ 1,50   | 8,95 $\pm$ 2,60    | P>0.05                                                     |
| IL-1B<br>pg/ml                                                       | 24,41 $\pm$ 15,92   | 46,31 $\pm$ 29,96  | 44,42 $\pm$ 22,15  | 30,67 $\pm$ 15,32  | P>0.05                                                     |
| GPX<br>$\mu$ mol/dk/dl                                               | 231,83 $\pm$ 58*    | 186,12 $\pm$ 77    | 150,71 $\pm$ 79,31 | 181,40 $\pm$ 26,48 | P>0.05                                                     |
| SOD<br>u/dl                                                          | 341,76 $\pm$ 18,63* | 364,56 $\pm$ 20,21 | 380,19 $\pm$ 30,78 | 391,43 $\pm$ 30,74 | P=0.006<br>*G1-4 P:0,007<br>*G1-3 P:0.033                  |
| MDA<br>$\mu$ mol/l                                                   | 18,06 $\pm$ 6,76    | 17,87 $\pm$ 8,92   | 13,24 $\pm$ 1,24   | 8,56 $\pm$ 1,13*   | P<0,001<br>*G2-3 P:0,020<br>*G2-4 P<0,001                  |
| Beyin biyokimyasal parametrelerin (Ortalama $\pm$ SD) ve P değerleri |                     |                    |                    |                    |                                                            |
| TNF<br>pg/g                                                          | 113,15 $\pm$ 33,73  | 102,95 $\pm$ 34,39 | 118,38 $\pm$ 39,43 | 8,34 $\pm$ 9,83    | P>0,05                                                     |
| IL-1B<br>ng/g                                                        | 81,44 $\pm$ 18,90   | 77,15 $\pm$ 18,09  | 74,32 $\pm$ 22,92  | 52,97 $\pm$ 12,73* | P=0,022<br>*G1-4 P:0,031                                   |
| GPX<br>$\mu$ mol/dk/g                                                | 36,51 $\pm$ 7,61    | 41,57 $\pm$ 9,95   | 48,17 $\pm$ 9,94*  | 33,30 $\pm$ 7,65   | P=0,022<br>*G3-4 P:0,017                                   |
| SOD<br>u/mg                                                          | 14,42 $\pm$ 3,56    | 13,28 $\pm$ 4,13   | 14,08 $\pm$ 6,87   | 7,19 $\pm$ 0,95*   | P=0,005<br>*G1-4 P:0,009<br>*G2-4 P:0,037<br>*G3-4 P:0,031 |
| MDA<br>$\mu$ mol/g                                                   | 10,72 $\pm$ 2,90    | 10,34 $\pm$ 2,75   | 11,71 $\pm$ 2,96   | 9,32 $\pm$ 2,63    | P>0,05                                                     |

SD: standart sapma \*: belirtilen gruplar arasında P değerleri



**Grafik 1: Serumda biyokimyasal parametrelerin gruplara göre dağılımı.**



**Grafik 2: Beyin dokusunda biyokimyasal parametrelerin gruplara göre ortalama dağılımı.**

Serum TNF değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $10,62 \pm 2,17$  pg/dl, 2. Grup ortalama değeri  $10,53 \pm 1,92$  pg/dl, 3. Grup ortalama değeri  $10,19 \pm 1,50$  pg/dl ve 4. Grup ortalama değeri  $8,95 \pm 2,60$  pg/dl.

Gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P>0.005$ ).

Serum IL-1B değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $24,41\pm15,92$  pg/ml, 2. Grup ortalama değeri  $46,31\pm29,96$  pg/ml, 3. Grup ortalama değeri  $44,42\pm22,15$  pg/ml ve 4. Grup ortalama değeri  $30,67\pm15,32$  pg/ml.

Gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P>0.005$ ).

Serum GPx değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $231,83\pm58$   $\mu\text{mol/dk/dl}$ , 2. Grup ortalama değeri  $186,12\pm77$   $\mu\text{mol/dk/dl}$ , 3. Grup ortalama değeri  $150,71\pm79,31$   $\mu\text{mol/dk/dl}$  ve 4. Grup ortalama değeri  $181,40\pm26,48$   $\mu\text{mol/dk/dl}$ .

Gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P>0.005$ ).

Serum SOD değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $341,76\pm18,63$  u/dl, 2. Grup ortalama değeri  $364,56\pm20,21$  u/dl, 3. Grup ortalama değeri  $380,19\pm30,78$  u/dl ve 4. Grup ortalama değeri  $391,43\pm30,74$  u/dl.

Gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ( $P=0.06$ ). 1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (0.5 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı. ( $P=0.033$ ) ve 1. Grup (kontrol) ile 4. Grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $P=0.007$ ). Diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P>0.005$ ).

Serum MDA değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $18,06\pm6,76$   $\mu\text{mol/l}$ , 2. Grup ortalama değeri  $17,87\pm8,92$   $\mu\text{mol/l}$ , 3. Grup ortalama değeri  $13,24\pm1,24$   $\mu\text{mol/l}$  ve 4. Grup ortalama değeri  $8,56\pm1,13$   $\mu\text{mol/l}$ .

Gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ( $P<0.001$ ). 2. Grup (SAK) ile 3. Grup (0.5 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı. ( $P=0.020$ ) ve 2. Grup (SAK) ile 4. Grup (2 mg/kg 2APB) arasında belirgin anlamlı farklılık saptandı ( $P=0.001$ ). Diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P>0.005$ ).

Beyin TNF değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $113,15 \pm 33,73$  pg/g, 2. Grup ortalama değeri  $102,95 \pm 36,39$  pg/g, 3. Grup ortalama değeri  $118,38 \pm 39,43$  pg/g ve 4. Grup ortalama değeri  $8,34 \pm 9,83$  pg/g.

Gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P > 0.005$ ).

Beyin IL-1B değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $81,44 \pm 18,90$  ng/g, 2. Grup ortalama değeri  $77,15 \pm 18,09$  ng/g, 3. Grup ortalama değeri  $74,32 \pm 22,92$  ng/g ve 4. Grup ortalama değeri  $52,97 \pm 12,73$  ng/g.

Gruplar arasında değerlendirme yapıldığında anlamlı farklılık saptandı ( $P = 0.022$ ).

1. Grup (Kontrol) ile 4. Grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $P = 0.031$ ). Diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P > 0.005$ ).

Beyin GPx değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $36,51 \pm 7,61$   $\mu\text{mol/dk/g}$ , 2. Grup ortalama değeri  $41,57 \pm 9,95$   $\mu\text{mol/dk/g}$ , 3. Grup ortalama değeri  $48,17 \pm 9,94$   $\mu\text{mol/dk/g}$  ve 4. Grup ortalama değeri  $33,30 \pm 7,65$   $\mu\text{mol/dk/g}$ .

Gruplar arasında değerlendirme yapıldığında anlamlı farklılık saptandı ( $P = 0.022$ ). 3. Grup (0,5 mg/kg 2APB) ile 4. Grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $P = 0,017$ ).

Beyin SOD değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $14,42 \pm 3,56$  u/mg, 2. Grup ortalama değeri  $13,28 \pm 4,13$  u/mg, 3. Grup ortalama değeri  $14,08 \pm 6,87$  u/mg ve 4. Grup ortalama değeri  $7,19 \pm 0,95$  u/mg.

Gruplar arasında değerlendirme yapıldığında anlamlı farklılık saptandı ( $P = 0.005$ ). 1. Grup (kontrol) ile 4. Grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $P = 0.009$ ). 2. Grup (SAK) ile 4. Grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $P = 0,033$ ). 3. Grup (0,5 mg/kg 2APB) ile 4. Grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $P = 0,031$ ). Diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P > 0.005$ ).

Beyin MDA değerlendirdiğimizde 1. Grup ortalama değeri  $10,72 \pm 2,90$   $\mu\text{mol/g}$ , 2. Grup ortalama değeri  $10,34 \pm 2,75$   $\mu\text{mol/g}$ , 3. Grup ortalama değeri  $11,71 \pm 2,96$   $\mu\text{mol/g}$  ve 4. Grup ortalama değeri  $9,32 \pm 2,63$   $\mu\text{mol/g}$ .

Gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P > 0.005$ ).

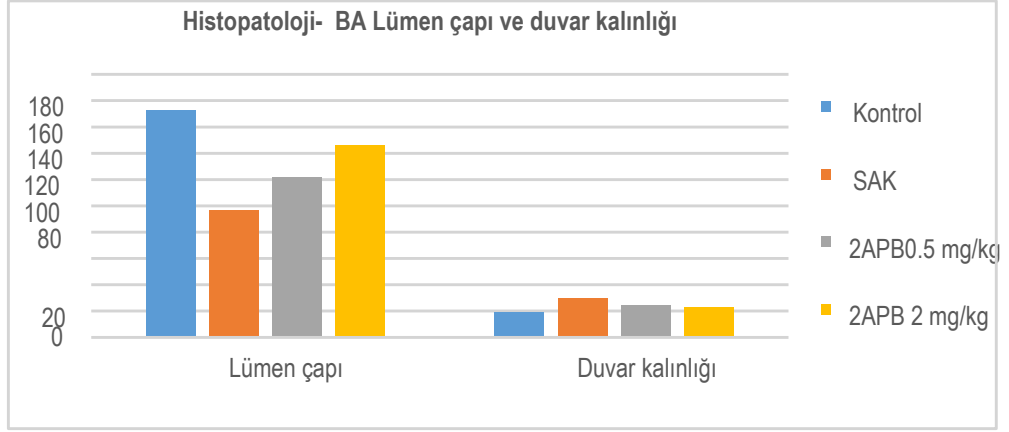
#### IV.B. Histopatolojik Bulgular:

##### IV.B.1. Baziler arter lümen çapı ve duvar kalınlığı:

**Tablo 7: Baziler arter lümen çapı ve duvar kalınlığının değerleri.**

|                                  | Kontrol            | SAK                 | 2-APB<br>0.5mg/kg  | 2-APB<br>2mg/kg    | P<br>değerleri                                                                    |
|----------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Lümen çapı<br>$\mu\text{m}$      | $172.91 \pm 26.12$ | $96.76 \pm 10.66^*$ | $123.32 \pm 15.19$ | $147.88 \pm 12.12$ | $P < 0,001$<br>*G1-3<br>$P: 0,026$<br>*G1-2<br>$P < 0,001$<br>*G2-4<br>$P: 0,002$ |
| Duvar kalınlığı<br>$\mu\text{m}$ | $19.45 \pm 3.65$   | $29.61 \pm 1.06$    | $24.62 \pm 1.30$   | $23.09 \pm 0.99$   | $P < 0,001$<br>*G1-2<br>$P < 0,001$<br>*G2-4<br>$P: 0,006$<br>*G1-3<br>$P: 0,031$ |

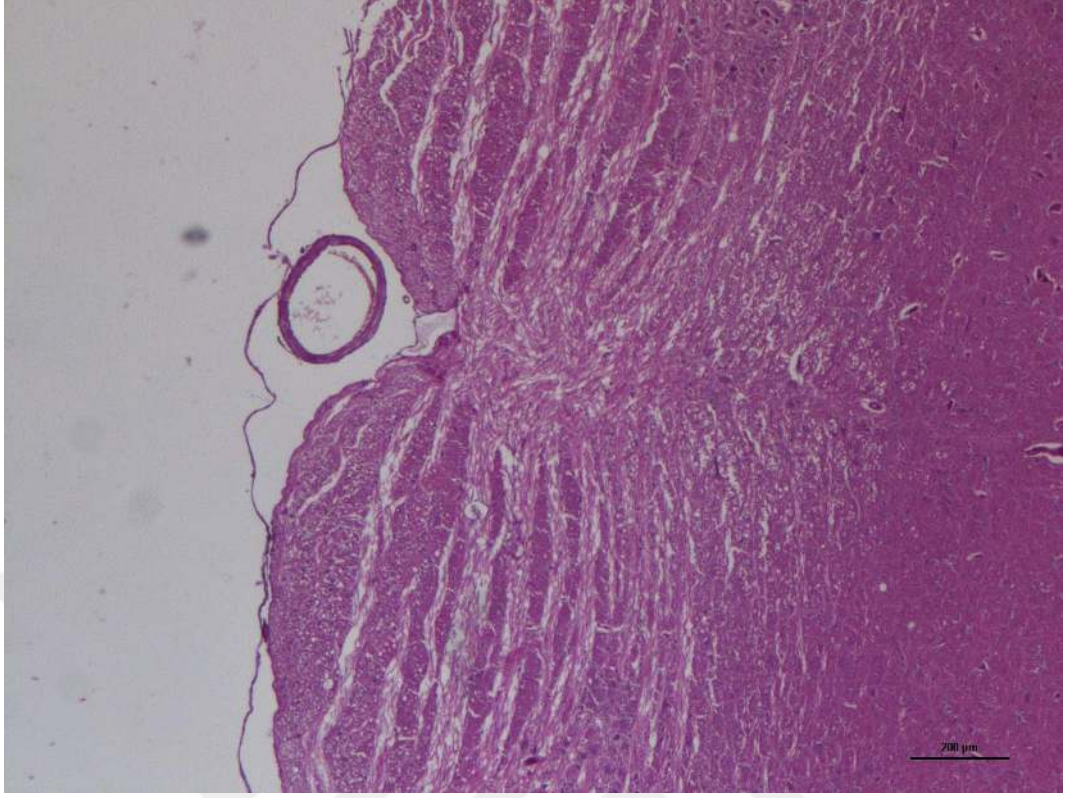
\*belirtilen gruplar arasında P değerleri SD: standart sapma



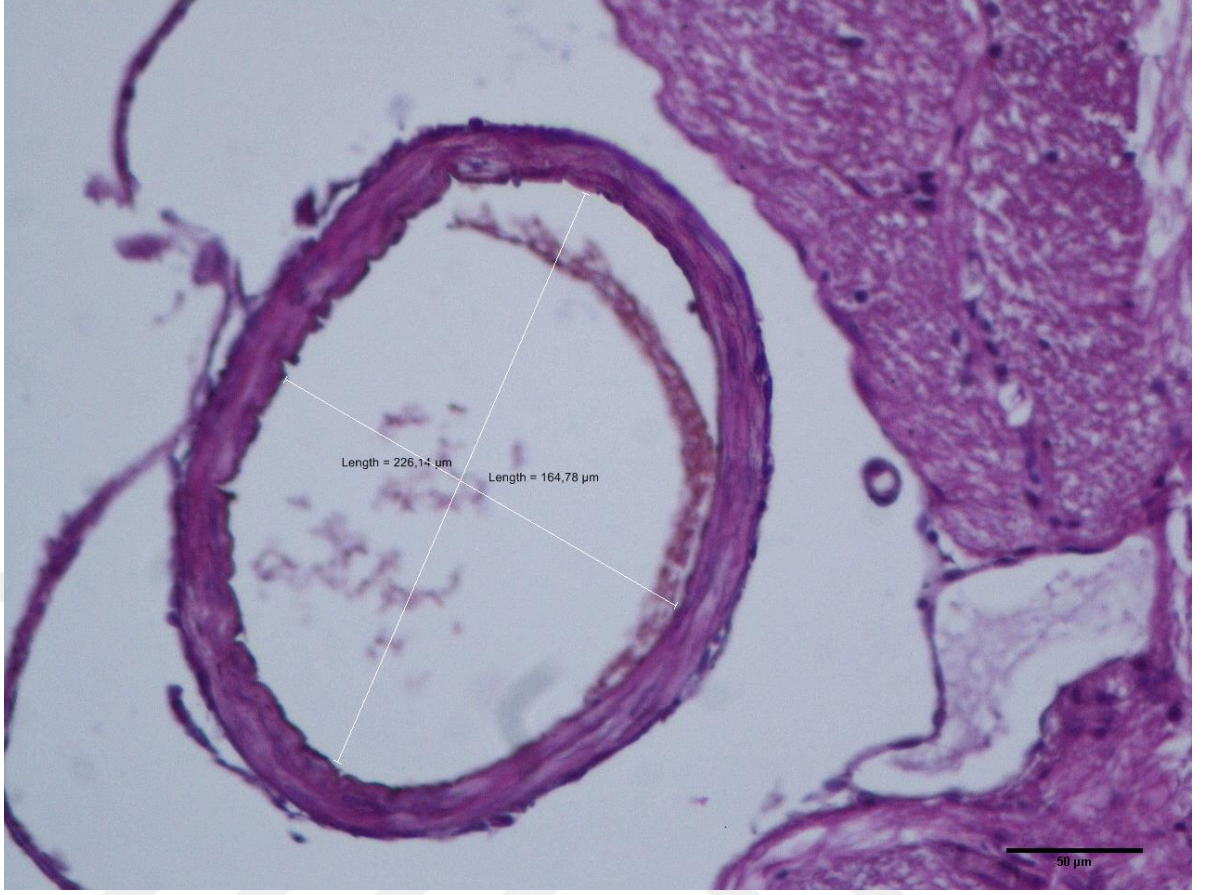
**Grafik 3: Baziler artel lümen çapı ve duvar kalınlığının gruplara göre Dağılımı.**

BA'in lümen çapı ortalama değerleri incelediğimizde 1.grup  $172,91 \pm 26,12 \mu\text{m}$ , 2.grup  $96,76 \pm 10,66 \mu\text{m}$ , 3.grup  $123,32 \pm 15,19 \mu\text{m}$  ve 4.grup  $147,88 \pm 12,12 \mu\text{m}$ .

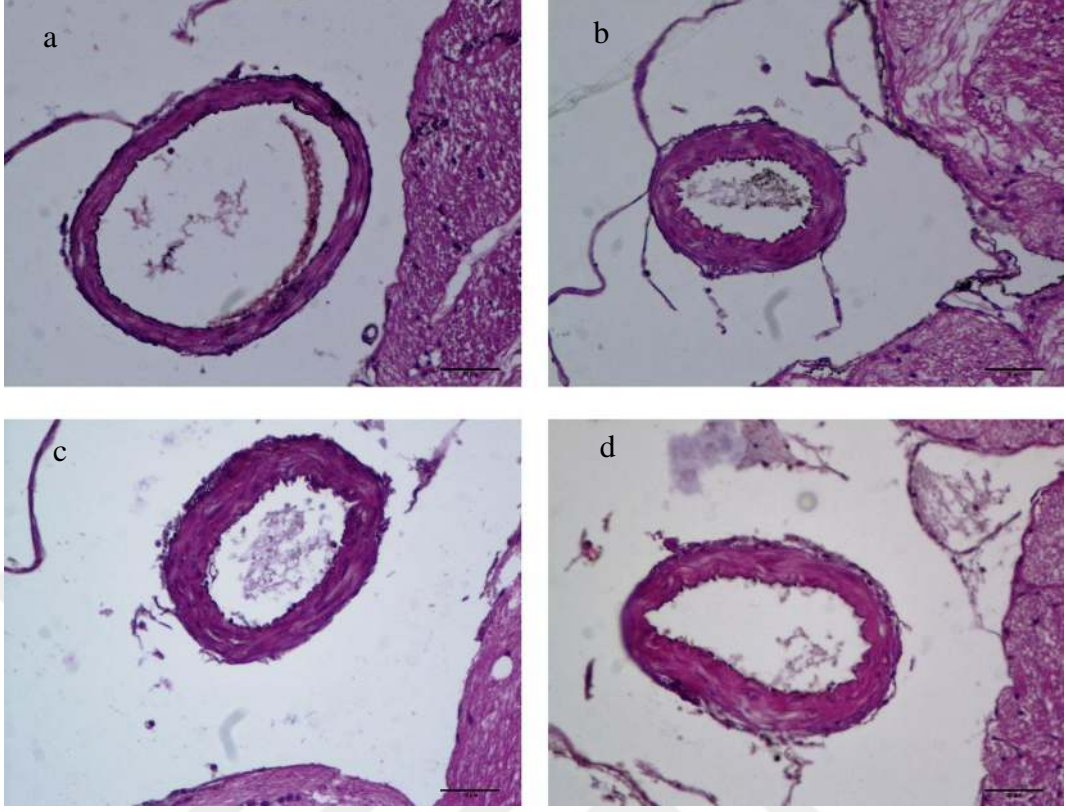
Gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.001$ ). 1.grup (Kontrol) ile 3.grup (0.5 mg/kg 2APB) arası anlamlı farklılık saptandı ( $p = 0.026$ ). 2.grup (SAK) ile 4.grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $p = 0.002$ ). 1.grup (Kontrol) ile 2.grup (SAK) arasında belirgin anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.001$ ).



**Resim 7: Beyin sapı ve baziler arter kesiti**



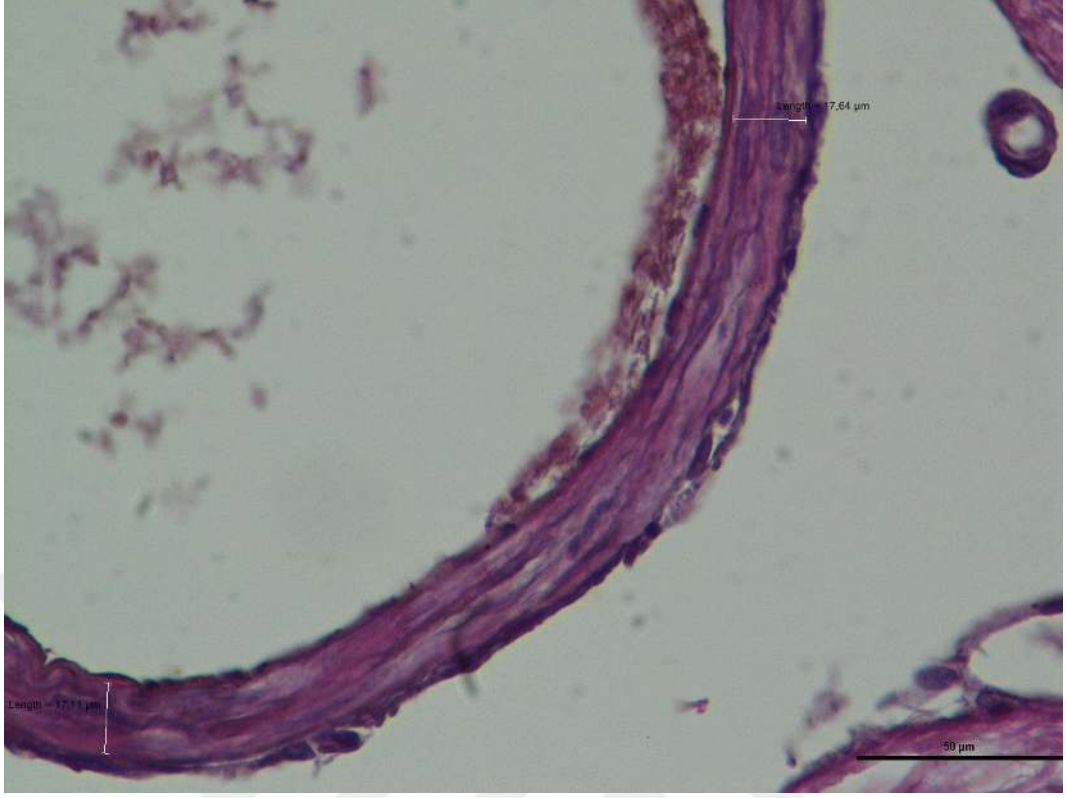
**Resim 8: Kontrol grubunda baziler arter lümen çapı ölçümü.**



**Resim 9: Deney gruplarından alınan baziler arterlerin histolojik görüntüsü. a: 1. grup (Kontrol) b: 2. grup (SAK) c :3. grup (0.5 mg/kg 2APB) d: 4. grup (2 mg/kg 2APB)**

BA'in duvar kalınlığı ortalama değerleri incelediğimizde 1.grup  $19,45 \pm 3,65 \mu\text{m}$ , 2.grup  $29,61 \pm 1,06 \mu\text{m}$ , 3.grup  $24,62 \pm 1,30 \mu\text{m}$  ve 4.grup  $23,09 \pm 0,99 \mu\text{m}$ .

Gruplar arasında belirgin anlamlı farklılık vardır ( $p < 0.001$ ) 1.grup (Kontrol) ile 2.grup (SAK) arası belirgin anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.001$ ). 2.grup (SAK) ile 4.grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $p = 0.006$ ). 1.grup (Kontrol) ile 3.grup (0,5 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $P = 0,031$ ). Diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P > 0.005$ ).



**Resim 10: Baziler arter duvar kalınlığı ölçümü**



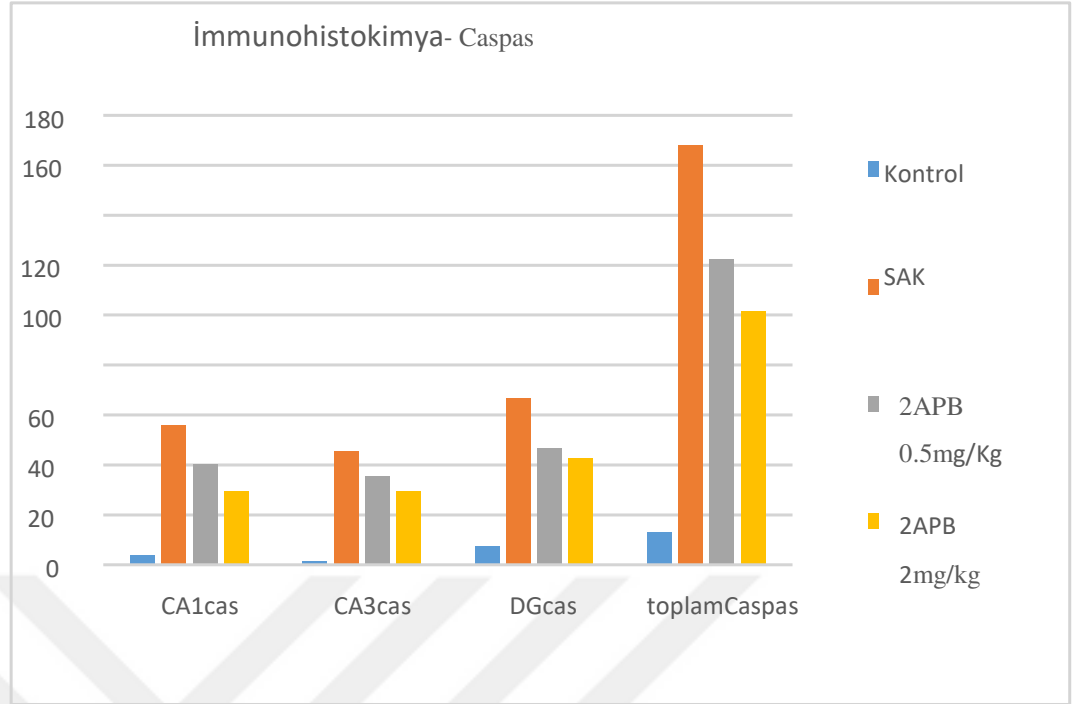
**Resim 11: SAK grubunda baziler arter duvar kalınlığı ölçümü**

#### IV.B.2. İmmunohistokimya

**Tablo 8: Caspasların gruplara göre değerleri**

|          | Kontrol     | SAK           | 2-APB 0.5mg/kg | 2-APB 2mg/kg | P değerleri                                                            |
|----------|-------------|---------------|----------------|--------------|------------------------------------------------------------------------|
| CA1cas   | 4.00 ± 2.56 | 55.88 ± 9.58  | 40.38±14,09    | 30,00±4.38   | P<0,001<br>*G1-3<br>P: 0,005<br>*G1-2<br>P< 0,001<br>*G2-4<br>P: 0,041 |
| CA3cas   | 1.50 ± 1.77 | 45.50 ± 10.66 | 36,75±11.20    | 29.25±5,55   | P<0,001<br>*G1-3<br>P: 0,005<br>*G1-2<br>P< 0,001                      |
| DGcas    | 7.38 ± 4.14 | 66.63±13.08   | 47,63 ±10,57   | 41.63±8.73   | P<0,001<br>*G1-3<br>P: 0,012<br>*G1-2<br>P< 0,001                      |
| TotalCas | 12.88±7.49  | 168.00±23.74  | 124,75±23.06   | 100,88±9,16  | P<0,001<br>*G1-3<br>P: 0,009<br>*G1-2<br>P< 0,001<br>*G2-4<br>P: 0,016 |

SD: standart sapma \*: belirtilen gruplar arasında p değerleri



**Grafik 4: Apoptozis verilerinin gruplara göre dağılımı.**

CA1cas ortalama değerleri incelediğimizde 1.grup  $4,00 \pm 2,56$  , 2.grup  $55,88 \pm 9,58$  , 3.grup  $40,38 \pm 14,09$  ve 4.grup  $30,0 \pm 4,38$ .

Gruplar arasında belirgin anlamlı farklılık vardır ( $p < 0.001$ ). 1.grup (Kontrol) ile 2.grup (SAK) arası belirgin anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.001$ ). 1.grup (Kontrol) ile 3.grup (0.5 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $p = 0.005$ ). 2.grup (SAK) ile 4.grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı  $p = 0,041$ . diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

CA3cas ortalama değerleri incelediğimizde 1.grup  $1,50 \pm 1,77$  , 2.grup  $45,50 \pm 10,66$  , 3.grup  $36,75 \pm 11,20$  ve 4.grup  $29,25 \pm 5,55$ .

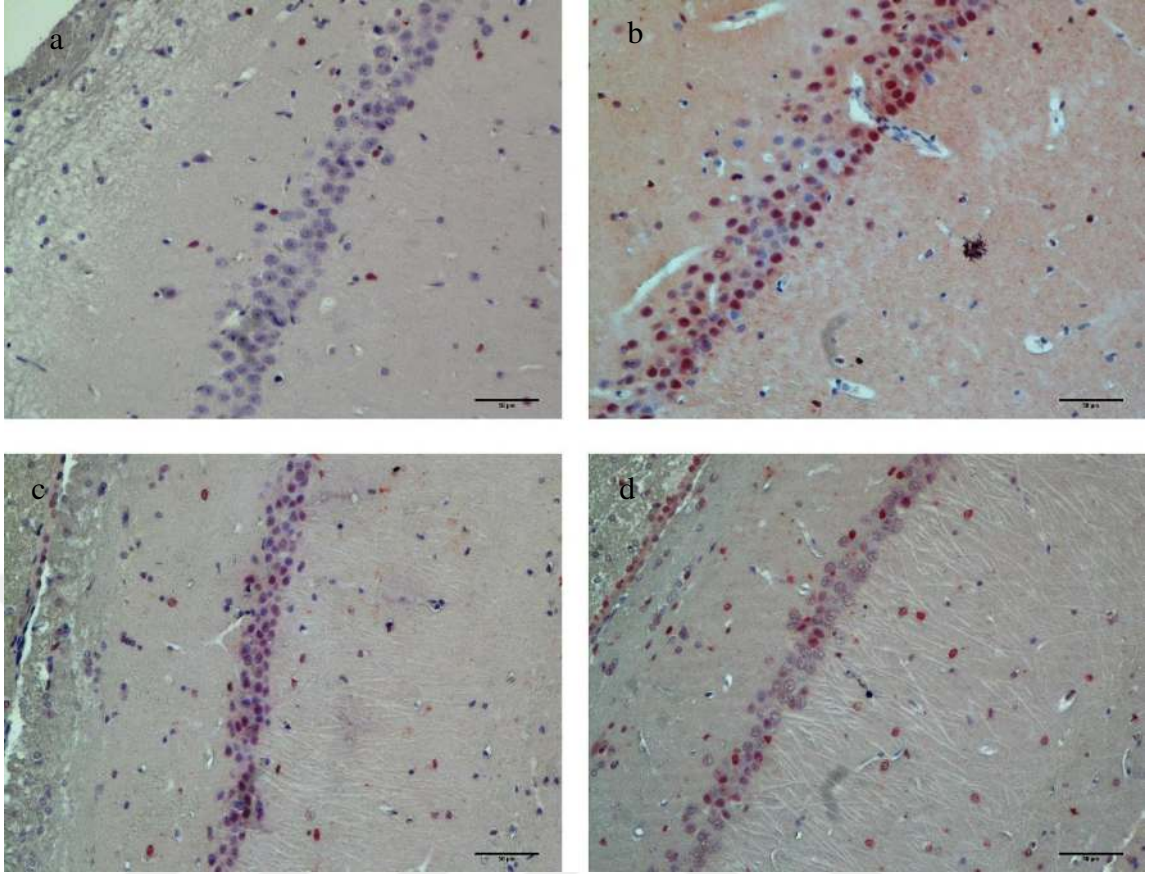
Gruplar arasında belirgin anlamlı farklılık vardır ( $p < 0.001$ ). 1.grup (Kontrol) ile 2.grup (SAK) arası belirgin anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.001$ ). 1.grup (Kontrol) ile 3.grup (0.5 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $p = 0.005$ ). Diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P > 0.005$ ).

DGcas ortalama değerler incelediğimizde 1.grup  $7,38\pm4,14$  , 2.grup  $66,63\pm13,08$  , 3.grup  $47,63\pm10,57$  ve 4.grup  $41,63\pm8,73$ .

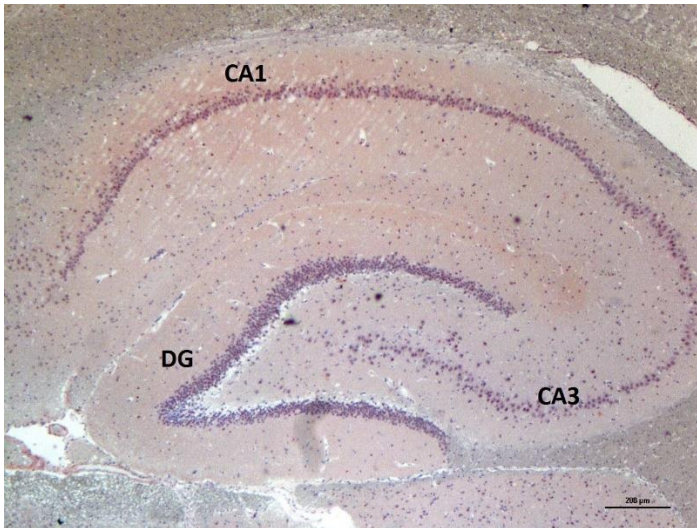
Gruplar arasında belirgin anlamlı farklılık vardır ( $p<0.001$ ). 1.grup (Kontrol) ile 2.grup (SAK) arası belirgin anlamlı farklılık saptandı ( $p<0.001$ ). 1.grup (Kontrol) ile 3.grup (0.5 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $p=0.012$ ). Diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P>0.005$ ).

ToplamCaspas ortalama değerleri incelediğimizde 1.grup  $12,88\pm7,49$  , 2.grup  $168,00\pm23,74$  , 3.grup  $124,75\pm23,06$  ve 4.grup  $100,88\pm9,16$ .

Gruplar arasında belirgin anlamlı farklılık vardır ( $p<0.001$ ). 1.grup (Kontrol) ile 2.grup (SAK) arası belirgin anlamlı farklılık saptandı ( $p<0.001$ ). 1.grup (Kontrol) ile 3.grup (0.5 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı ( $p=0.009$ ). 2.grup (SAK) ile 4.grup (2 mg/kg 2APB) arasında anlamlı farklılık saptandı  $P= 0,016$ . Diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ( $P>0.005$ ).



**Resim 12: Hipokampusta caspase 3 immun boyaması** a: 1. grup (Kontrol) b: 2. grup (SAK) c: 3. grup (0.5 mg/kg 2APB) d: 4. grup (2 mg/kg 2APB)



**Resim 13: Apoptozis ölçümü yapılan hipokpamusta bölgeler**

DG: Dental gyrus

## V. TARTIŞMA

1950'lerin başında SAK sonrası SVS ilk tanımlamadan bu yana birçok çalışma yapılmasına rağmen SVS patogenezi tam olarak açıklanmamıştır. Büyük serebral arterlerin lümen çaplarında fokal ve diffüz daralmayla sonuçlanan olay halen kompleks ve multifaktöriyel bir problem olma özelliğini korumaktadır.

Anevrizma rüptürüne bağlı oluşan SAK sonrasında gelişen gecikmiş iskemik defisit'ler den birinci derecede sorumlu olup mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir (103,173,174). SAK sonrası ilk iki hafta içinde SVS varlığı mortaliteyi 1,5 kattan 3 kata kadar arttırır (61). SVS anevrizmal subaraknoid kanamalı hastaların %70'inde görülürken, %30-40'ında semptomatik serebral iskemi görülür (20,175). Vazospazm için medikal tedavde henüz istenilen yanıt elde edilmemesi, klinik ve deneysel çalışmalara devam edilmesi gerekliliğini göstermektedir.

İnsan damarlarının invivo deneylerde kullanılamaması ve ölüm sonrası vazospastik insan arterlerinin incelenmesinden sınırlı bilgi alınması nedeni ile hayvanlar üzerinde bazı deney modelleri geliştirilmiştir.

Sıçanlar ile yapılan çalışmalarda, SAK sonrası baziler arterde daralmanın insanlarda gelişen vazospazmı aynı özellikleri gösterdiği kabul edilmiş ve baziler arterin anjiyografik ve morfometrik ölçümlerinin birbirine yakın olduğu saptanmıştır (103,176). Ayrıca sıçanlar ucuz ve kolay elde edilebilir olmaları yanında SVS oluşturma kolaylığı nedeniyle çalışmamızda sıçanlar tercih edilmiştir.

Deneysel SAK oluşturma tekniği olarak 3 ana yöntem mevcuttur. Baziler arter veya büyük bir arterin delinmesi suretiyle etrafta kan toplanmasının sağlandığı teknik; arterin cerrahi olarak diseke edildiği, başka bir arterden alınan otolog kanın arter etrafına yerleştirildiği teknik; subaraknoid boşluğa otolog arteriyel kanın enjekte edildiği teknik; üç ana tekniği oluşturur (177). Bu teknikler baz alınarak, bir çok farklı yöntem geliştirilmiştir. Subaraknoid boşluğa otolog arteriyel kanın enjekte edilmesi ile SAK oluşturma tekniği çalışmalarda en sık kullanılan tekniktir. Çalışmamızda da bu teknikle sıçanlarda SAK oluşturulmuştur.

Şuana kadar kullanılan birçok ajan SVS'ı açıklayan faktörlerden ancak bir ya da bir kaçına etkili olabileceği düşünülerek kullanılmış, fakat istenilen sonuca varılamamıştır (20,29,175).

Ca<sup>2+</sup> kanal blokeri olan nimodipin'in klinik etkinliği zayıf derecede olmasına rağmen klinik kullanımı yaygındır. SAK sonrası 21. güne kadar her 4 saatte bir 60 mg dozunda verilmektedir. Diğer Ca<sup>2+</sup> kanal blokerleri olan nikardipin ve diltiazem de çalışılmıştır, Günümüzde yalnızca nikardipinin kontrollü kullanımı mevcuttur (178).

Özellikle son 30 yılda çeşitli ajanların SVS üzerine olası etkinliğini göstermeyi amaçlayan çok sayıda klinik ve deneysel çalışma yapılmış ve yapılmaya da devam etmektedir. Vazospazmın yan etkilerini önlemede potansiyel rolü en umut verici ajanlar trilazad mezilat, endotelin reseptör antagonistleri, magnezyum, statinler, protein kinaz inhibitörleri (fasudil) ve fosfodiesteraz inhibitörleri (milrinon) gibi görülmektedir(179–184).

Teorik olarak SVS tedavi etmek için kullanılacak ajanın vazospazmın erken ve geç döneminde vazospazma yol açtığı düşünülen etkileri bloke edebilecek özelliklere sahip olması gereklidir.

Bu amaçla TRP ile Ca<sup>2+</sup> salımı yapan diğer antagonistlerden farkı, plazma membranı veya intrasellüler veziküllerde bulunan Ca<sup>2+</sup> kanallarını inhibe etmemesi özelliğe sahip olan 2-APB kullanılmıştır. Literatürde bizim çalışmamızla paralellik gösteren, deneysel SAK modelinde 2APB 'nin SVS üzerindeki etkileri hiç araştırılmadığı saptandı.

Bizim çalışmada 0.1 cc BOS boşaltıldıktan sonra sol femoral arterden alınan 0.2 cc arteriyel kan sisterna magnaya yavaşca enjekte edilerek deneysel SAK oluşturuldu. 2-APB 0.5 mg/kg ve 2 mg/kg intraperitoneal yolla verildi. Denekler 24. saatte sakrifiye edildi.

Biz çalışmamızda oksidatif stresi ve inflamatuvar yanıtı değerlendirmek için deneklerin serumunda ve beyin dokusunda TNF, İL-1B, GPx, SOD ve lipid peroksidasyon son ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) değerlerini ölçtük.

Hücre membranlarında hasar oluşturan reaktif oksijen türevlerinin aracılık ettiği lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA endotel ve düz kas hücrelerinde toksik hasar oluşturur (185). Dolayısıyla, MDA lipid peroksidasyonunun ve SVS'nin duyarlı bir belirleyicisi olarak kullanılabilir(186,187). Ancak bizim çalışmamızda serumda da beyin dokusunda da MDA kontrol ile sak grupları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. SAK sonrası serum ve beyin dokusunda MDA, SOD, GPx, TNF, IL-1B saptanan değişiklikler anlamlı bulunmadı. Bu durum oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtın SVS etyolojisinde etkin rol oynamadığını düşündürmektedir.

2-APB IP uygulaması sonrası serum SOD, MDA ve beyin IL-1B, GPx ve SOD değerlerinde saptanan anlamlı değişiklikler 2-APB'in oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt üzerine vasospasmdan bağımsız etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

2-APB 2 mgr IP kullanımı beyin dokusunda IL-1B düzeyini azaltmaktadır. 2-APB 2mgr IP uygulanmasının antienflamatuvar etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Ancak elde edilen sonuçlara bakıldığında antienflamatuvar yanıtı SVS tedavi edilmesinde etkin rol oynamadığını düşündürmektedir.

Hematoksilen – Eozin (H-E) ile boyanan histolojik kesitlerde baziler arterlerin transvers kesitleri histopatolojik yönden değerlendirildi. baziler arterin lümen çapı ve damar duvar kalınlığı ölçüldü. Kontrol grubunda beyin dokusu normal histolojik görünümde izlendi (Resim 7,8,9a,10). SAK grubuna ait H-E ile boyanan beyin doku örneklerinde piamater tabakasında konjesyon ve hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon hücre infiltrasyonu ve hemoraji gözlemlendi.

Ancak 2-APB uygulamasının SAK modeli oluşturulan gruptaki histopatolojik hasarı azalttığı, bu olumsuz etkileri anlamlı derecede giderdiği saptandı. özellikle yüksek doz (2 mg/kg) 2-APB uygulamasının düşük doz (0,5mg/kg) 2-APB uygulamasına göre oluşan histolojik hasarı daha anlamlı düzeyde ve olumlu yönde değiştirdiği belirlendi.

Daha önce bahsedildiği gibi çalışmamızda baziler arter yapısının normal histolojik görünümde olduğu gözlemlendi. İçten dışa doğru intima, media ve adventisya tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu izlendi. Tek sıra yassı endotel hücreleri sirküler seyirli düz kas hücreleri ve bu yapıları çevreleyen bağ dokusu normal histolojik görünümde idi. SAK grubunda baziler arter ve baziler arterin lümen çapında anlamlı derecede azalma, buna karşın damar duvar kalınlıklarında artış olduğu belirlendi. Lamina elastika internanın kıvrımlarında azalma, media tabakasının düz kas hücrelerinin kontraksiyonunda artış tespit edildi. Ayrıca düz kas hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon belirlendi. (Resim 9)

Bununla birlikte 2-APB uygulamalarının baziler arterde meydana gelen ve SAK'ın neden olduğu değişiklikleri doza bağlı olarak anlamlı düzeyde tersine çevirdiği belirlendi. Şöyleki araştırma mikroskobu ile incelemelerde damar duvar kalınlıklarındaki artışın gerilediği ve baziler arter çapı ve lümen çapında artış olduğu gözlemlendi. (Resim 9)

İmmunohisto-morfometrik analizi olarak ölçülen başka bir parametre SAK'larda artışı ile bilenen apoptozis hadisesidir. Bizim çalışmada SAK öncesi ve sonrası hipokampustan alınan dokuda Kaspas 3 çalışıldı. SAK sonrası apoptozis arttığı gözlemlendi. Apoptozis ve BA lümen çapı arasında negatif, lümen duvar kalınlığı ile pozitif bir korelasyon tespit edildiği gibi vazospazm ile apoptozis arasında güçlü pozitif korelasyon tespit edildi. SAK sonrası IP 2-APB uygulaması apoptozisi belirgin bir şekilde azalttığı da tespit edildi. Şöyle ki yüksek doz (2 mg/kg ) 2-APB uygulamasının düşük doz (0,5mg/kg) 2-APB uygulamasına göre oluşan apoptozis hadisesi daha anlamlı düzeyde ve olumlu yönde değiştirdiği belirlendi.

Histopatolojik incelemelerde 2-APB kullanıldığında serebral vazodilatasyon yaptığı ve apoptozu önlediği saptanmıştır. 2-APB bu etkileri, Nimodipin, Nikorandil ve Sildenafil ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ancak sildenafil apoptozu önlememiştir (188). Bu nedenle, 2-APB genel olarak değerlendirildiğinde beyin damarlarında vazodilatatör etkilerinden dolayı SAK'a bağlı vazospazm tedavisinde etkili bir ilaç olabileceği, yapılacak olan yeni çalışmalar ile güncel ilaç uygulamaları arasına girebileceğini söyleyebiliriz.

## VI. SONUÇ

2-APB'in sıçan baziler arter ve beyin sapında, subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazmı doz bağımlı etkilerini ortaya koymaya yönelik olarak yaptığımız bu çalışmada aşağıda maddeler halinde sıralanan sonuçlar elde edilmiştir.

1. Sıçanlarda sisterna magnaya otolog arteriyel kan enjeksiyonu (SAK) sonrası vazospazm gelişmektedir.

2. SAK sonrası apopitozis artmaktadır.

3. Apopitozis ve BA lümen çapı arasında negatif, lümen duvar kalınlığı ile pozitif bir korelasyon vardır.

4. Vazospazm ile apopitozis arasında güçlü pozitif korelasyon vardır.

5. SAK sonrası IP 2-APB uygulaması apopitozisi belirgin azaltmaktadır.

6. SAK sonrası 2-APB IP uygulanması ile lümen çapında artış, lümen duvar kalınlığında azalma olmaktadır. 2-APB doz artışı ile bu etkiler pozitif yönde değişmektedir.

2-APB 2 mgr IP uygulanması, 2-APB 0,5 mgr a göre lümen çapında vazospazmı tedavi edici veya önleyici etkisi daha belirgindir.

7. Sıçanlarda SAK sonrası 2 mgr 2-APB IP uygulanması ile BA lümen çapı ve duvar kalınlığı değerleri SAK olmayan deneklerle yakın düzeydedir.

8. SAK sonrası IP 2mg 2-APB uygulaması CA1cas. ve Total cas. apopitozis sayı değerleri SAK olmayan grubun değerlerine yakın saptanmıştır.

9. SAK sonrası serum ve beyin dokusunda MDA, SOD, GPx, TNF, IL-1B saptanan değişiklikler anlamlı bulunmadı.

Bu durum oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtın vazospazm etyolojisinde etkin rol oynamadığını düşündürmektedir.

10. 2-APB IP uygulaması sonrası serum SOD, MDA ve beyin IL-1B, GPx ve SOD değerlerinde saptanan anlamlı değişlikler 2-APB'in oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt üzerine vasospasmdan bağımsız etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

2-APB 2 mg/kg IP uygulanması vazospazmı engellemektedir. vazospazm etyolojisinde TRP kanallarının etkinliğinin tahmin edilenden daha fazla olabileceğini düşündürmektedir. Tüm bu bulguların ışığında 2-APB'in deneysel SAK modelinde ortaya çıkan vazospazmın önlenmesinde olumlu etkilerinin olduğu ve bu konuda daha çok araştırma yapılması gerektiği söylenebilir.



## VII. ÖZET

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Serebral vazospazm SAK'lı hastalarda mortalite ve morbiditeyi etkileyen en önemli komplikasyon olarak nöroşirurji için ciddi bir sorun olmaya devam etmektedir. Çalışmamız, 2-APB kullanarak  $Ca^{+2}$ 'un TRP kanallarının etyolojide oynamış olduğu rolün gösterilemesi vazospazmın sınırlamasını sağlayabilecek daha önce çalışılmamış bir farmakolojik ajanın olası etkin doz aralığının bulunması amaçlandı.

**YÖNTEM:** Deneysel çalışma 4 grup altında toplam 32 adet Sprague-Dawley Sıçan üzerinde yapıldı. Grup 1: Sham (n=8) Grup 2: SAK: sağ femoral arter den alınan otolog kan sisterna magnaya enjekte edildi Grup 3: 2APB 0.5mg (n=8) SAK + 0.5mg/kg 2-APB IP yolla verildi, Grup 4: 2APB 2mg (n=8): SAK + 2mg/kg 2-APB IP yolla verildi. 24 saat sonra sakrifiye edildi ve beyin dokusu ve serumda SOD, GPx, MDA, TNF, IL1B çalışıldı. Beyin dokusu histopatolojik incelemesinde Baziller arter (BA) lümen çapı ve BA duvar kalınlığı ölçüldü, Caspas yöntemi boyanarak hipokampus apoptotik hücre sayıları ölçüldü.

**BULGULAR:** Sıçanlarda sisterna magnaya otolog arteriyel kan enjeksiyonu SAK sonrası vazospazm gelişmektedir. Sıçanlarda SAK sonrası 2 mgr/kg 2-APB IP uygulanması ile BA lümen çapı ve duvar kalınlığı değerleri SAK olmayan deneklerle yakın düzeydedir.

**TARTIŞMA VE SONUÇ:**2-APB 2 mg/kg IP uygulanması vazospazmı engellemektedir. vazospazm etyolojisinde TRP kanallarının etkinliğinin tahmin edilenden daha fazla olabileceğini düşündürmektedir. 2-APB'in deneysel SAK modelinde ortaya çıkan vazospazmın önlenmesinde olumlu etkilerinin olduğu ve bu konuda daha çok araştırma yapılması gerektiği kanaatindeyiz

**Anahtar kelimeler:** Serebral vazospazm, Erken beyin hasarı, 2-APB, Subaraknoid hematom

## VIII. ABSTRACT

**INTRODUCTION AND AIM:** Cerebral vasospasm remains to be a serious problem that affects morbidity and mortality in patients with SAH in neurosurgery. Our study aimed to demonstrate the role of TRP channels of  $Ca^{++}$  in the etiology by using 2-APB and to determine the effective dose range of an unstudied pharmacological agent that can limit vasospasm.

**METHOD:** Experimental study was performed in 32 Sprague-Dawley rats in 4 groups. Group 1: Sham (n=8), Group 2: SAH; blood drawn from right femoral artery was injected into cisterna magna. Group 3: 2APB 0.5 (n=8), SAH + intraperitoneal administration of 0.5mg/kg 2-APB. Group 4: 2APB2 (n=8), SAH + intraperitoneal administration of 2mg/kg 2-APB. Rats were sacrificed after 24 hours and SOD, GPx, MDA, TNF, IL1B was measured in the brain tissue and the serum. In the histopathological investigation of brain tissue, the diameter and wall thickness of basilar artery (BA) was measured, and apoptotic cells were counted in hippocampus after staining with Caspas method.

**RESULTS:** Autologous arterial blood injection (SAH) into cisterna magna lead to vasospasm in rats. BA lumen diameter and wall thickness in rats, which received 2 mg 2-APB intraperitoneally, were comparable to those in rats without SAH.

**DISCUSSION AND CONCLUSION:** Intraperitoneal administration of 2-APB 2 mg/kg prevents vasospasm. We think that the role of TRP channels in the etiology of vasospasm may be more than expected. We think that 2APB has favorable effects and prevents vasospasm in experimental SAH model and further studies on this issue are warranted.

**Keywords:** Cerebral vasospasm. Early brain injury. 2-APB. Subarachnoid hemorrhage,

## IX. KAYNAKLAR

1. Weir B. Patients with small, asymptomatic, unruptured intracranial aneurysms and no history of subarachnoid hemorrhage should be treated conservatively: against. *Stroke*. 2005 Feb;36(2):410–1.
2. Alexander TD, Macdonald RL, Weir B, Kowalczyk A. Intraoperative angiography in cerebral aneurysm surgery: a prospective study of 100 craniotomies. *Neurosurgery*. 1996 Jul;39(1):10-7-8.
3. Linn FH, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J. Incidence of subarachnoid hemorrhage: role of region, year, and rate of computed tomography: a meta-analysis. *Stroke*. 1996 Apr;27(4):625–9.
4. Kassell NF, Torner JC, Haley EC, Jane JA, Adams HP, Kongable GL. The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery. Part 1: Overall management results. *J Neurosurg*. 1990 Jul;73(1):18–36.
5. Ruigrok YM, Rinkel GJE. Genetics of intracranial aneurysms. In: HR W, editor. *Stroke*. 5th ed. New York. NY: Saunders; 2008. p. 1049–55.
6. Ayhan KOÇAK. Subaraknoid Kanamalar. *Türkiye Klin J Surg Med Sci*. 2007;3(37):16–22.
7. Inagawa T. What are the actual incidence and mortality rates of subarachnoid hemorrhage? *Surg Neurol*. 1997 Jan;47(1):47-52-3.
8. Schievink WI. Genetics of intracranial aneurysms. *Neurosurgery*. 1997 Apr;40(4):651-62-3.
9. Kocaeli H KE. Anevrizmal subaraknoid kanama ve komplikasyonları. In: Korfalı E ZM, editor. *Temel Nöroşirürji*. Ankara; 2010. p. 803–14.
10. Ingall TJ WJ. Epidemiology of subarachnoid hemorrhage. In: Yanagihara T, Piepgras DG AJ, editor. *Subarachnoid hemorrhage*. New York. NY: Marcel Dekker Inc; 1998. p. 63–78.

11. Pakarinen S. Incidence, aetiology, and prognosis of primary subarachnoid haemorrhage. A study based on 589 cases diagnosed in a defined urban population during a defined period. *Acta Neurol Scand.* 1967;43:Suppl 29:1-28.
12. Lanzino G, Kassell NF, Germanson TP, Kongable GL, Truskowski LL, Torner JC, et al. Age and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: why do older patients fare worse? *J Neurosurg.* 1996 Sep;85(3):410–8.
13. Vinall PE, Maislin G, Michele JJ, Deitch C, Simeone FA. Seasonal and latitudinal occurrence of cerebral vasospasm and subarachnoid hemorrhage in the northern hemisphere. *Epidemiology.* 1994 May;5(3):302–8.
14. Wilkins RH. Update-subarachnoid hemorrhage and saccular intracranial aneurysms. *Surg Neurol.* 1981 Feb;15(2):92–101.
15. Krueger C, Weir B, Nosko M, Cook D, Norris S. Nimodipine and chronic vasospasm in monkeys: Part 2. Pharmacological studies of vessels in spasm. *Neurosurgery.* 1985 Feb;16(2):137–40.
16. MacDonald R, Weir B. Perioperative management of subarachnoid hemorrhage. In: HR W, editor. *Youmans Neurological Surgery*, vol 2. 5th ed. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2004. p. 1823.
17. Farag E, Ebrahim Z, Traul D, Katzan I, Manno E. Perioperative management of intracranial aneurysm and subarachnoid hemorrhage. *Curr Pharm Des.* 2013;19(32):5792–808.
18. Kawachi I, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Manson JE, Rosner B, et al. Smoking cessation and decreased risk of stroke in women. *JAMA.* 1993 Jan 13;269(2):232–6.
19. Bromberg JE, Rinkel GJ, Algra A, Limburg M, van Gijn J. Outcome in familial subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 1995 Jun;26(6):961–3.

20. Hijdra A, Vermeulen M, van Gijn J, van Crevel H. Respiratory arrest in subarachnoid hemorrhage. *Neurology*. 1984 Nov;34(11):1501–3.
21. Kurtsoy A, Tucer B, Menkü A, Basaslan K, Kemal Koc R, Akdemir H. Surgical treatment of distal anterior cerebral artery aneurysms with horizontal head position. *Minim Invasive Neurosurg*. 2005 Oct;48(5):264–7.
22. Mayberg MR, Batjer HH, Dacey R, Diringer M, Haley EC, Heros RC, et al. 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*. 1994 Nov;25(11):2315–28.
23. Linn FH, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J. Headache characteristics in subarachnoid haemorrhage and benign thunderclap headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998 Nov;65(5):791–3.
24. W B. Vascular disease of central nervous system. In: Edward Arnold, editor. *Greenfield's Neuropathology*. London; 1971. p. 71–137.
25. Bassi P, Bandera R, Loiero M, Tognoni G, Mangoni A. Warning signs in subarachnoid hemorrhage: a cooperative study. *Acta Neurol Scand*. 1991 Oct;84(4):277–81.
26. Hauerberg J, Andersen BB, Eskesen V, Rosenørn J, Schmidt K. Importance of the recognition of a warning leak as a sign of a ruptured intracranial aneurysm. *Acta Neurol Scand*. 1991 Jan;83(1):61–4.
27. Leblanc R, Lozano AM. Graves' disease and subarachnoid hemorrhage: a possible familial association. *Can J Neurol Sci*. 1987 Nov;14(4):638–41.
28. Mayer PL, Awad IA, Todor R, Harbaugh K, Varnavas G, Lansen TA, et al. Misdiagnosis of symptomatic cerebral aneurysm. Prevalence and correlation with outcome at four institutions. *Stroke*. 1996 Sep;27(9):1558–63.

29. Inagawa T, Yamamoto M, Kamiya K, Ogasawara H. Management of elderly patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1988 Sep;69(3):332–9.
30. Weir B. *Subarachnoid Hemorrhage: Causes and Cures.* New York. NY: Oxford University Press; 1998.
31. Kiriş T, Sencer A, Sahinbaş M, Sencer S, Imer M, Izgi N. Surgical results in pediatric Spetzler-Martin grades I-III intracranial arteriovenous malformations. *Childs Nerv Syst.* 2005 Jan;21(1):69-74-6.
32. Kırıs T SA. Subaraknoid kanamanın komplikasyonları. In: K A, editor. *Temel Nörosirürji.* 1st ed. TND; 2005. p. 448–53.
33. Inagawa T, Hirano A. Autopsy study of unruptured incidental intracranial aneurysms. *Surg Neurol.* 1990 Dec;34(6):361–5.
34. DeLong WB. The diagnostic pitfalls of subarachnoid hemorrhage from intracranial aneurysms. *West J Med.* 1975 Aug;123(2):92–100.
35. Teddy PJ, Briggs M, Adams CB. Lumbar puncture in spontaneous subarachnoid hemorrhage. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1983;286(January):143.
36. Papke K, Kuhl CK, Fruth M, Haupt C, Schlunz-Hendann M, Sauner D, et al. Intracranial aneurysms: role of multidetector CT angiography in diagnosis and endovascular therapy planning. *Radiology.* 2007 Aug;244(2):532–40.
37. Vermeulen M, van Gijn J. The diagnosis of subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1990;53:365–72.
38. Strayle-Batra M, Skalej M, Wakhloo AK, Ernemann U, Klier R, Voigt K. Three-dimensional spiral CT angiography in the detection of cerebral aneurysm. *Acta Radiol.* 1998 May;39(3):233–8.

39. Young N, Dorsch NW, Kingston RJ, Markson G, McMahon J. Intracranial aneurysms: evaluation in 200 patients with spiral CT angiography. *Eur Radiol.* 2001;11(1):123–30.
40. Uysal E, Oztora F, Ozel A, Erturk SM, Yildirim H, Basak M. Detection and evaluation of intracranial aneurysms with 16-row multislice CT angiography: comparison with conventional angiography. *Emerg Radiol.* 2008 Sep;15(5):311–6.
41. Li Q, Lv F, Li Y, Luo T, Li K, Xie P. Evaluation of 64-section CT angiography for detection and treatment planning of intracranial aneurysms by using DSA and surgical findings. *Radiology.* 2009 Sep;252(3):808–15.
42. Wintermark M, Uske A, Chalaron M, Regli L, Maeder P, Meuli R, et al. Multislice computerized tomography angiography in the evaluation of intracranial aneurysms: a comparison with intraarterial digital subtraction angiography. *J Neurosurg.* 2003 Apr;98(4):828–36.
43. Uysal E, Etfal Ş, Hastanesi A, Kliniği R. İntrakranyal Anevrizmaların Tanısında Çok Kesitli Kranyal BT Anjiyografi. :34–9.
44. Edlow JA, Caplan LR. Avoiding pitfalls in the diagnosis of subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med.* 2000 Jan 6;342(1):29–36.
45. Kassell NF, Helm G, Simmons N, Phillips CD, Cail WS. Treatment of cerebral vasospasm with intra-arterial papaverine. *J Neurosurg.* 1992 Dec;77(6):848–52.
46. Kassell NF, Peerless SJ, Durward QJ, Beck DW, Drake CG, Adams HP. Treatment of ischemic deficits from vasospasm with intravascular volume expansion and induced arterial hypertension. *Neurosurgery.* 1982 Sep;11(3):337–43.
47. Ohman J, Heiskanen O. Timing of operation for ruptured supratentorial aneurysms: a prospective randomized study. *J Neurosurg.* 1989 Jan;70(1):55–60.

48. Hunt WE, Hess RM. Surgical risk as related to time of intervention in the repair of intracranial aneurysms. *J Neurosurg.* 1968 Jan;28(1):14–20.
49. Yasargil MG. *Microneurosurgery.* Yasargil MG, editor. Georg Thieme Verlag; 1984.
50. Aksoy K, Palaoglu S, Pamir N TR. Temel nörosirürji. *TND*; 2005. 441-457 p.
51. Report of World Federation of Neurological Surgeons Committee on a Universal Subarachnoid Hemorrhage Grading Scale. *J Neurosurg.* 1988 Jun;68(6):985–6.
52. Teasdale GM, Drake CG, Hunt W, Kassell N, Sano K, Pertuiset B, et al. A universal subarachnoid hemorrhage scale: report of a committee of the World Federation of Neurosurgical Societies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1988 Nov;51(11):1457.
53. Rabinstein AA, Wijdicks EFM. Cerebral Vasospasm in Subarachnoid Hemorrhage. *Curr Treat Options Neurol.* 2005 Mar;7(2):99–107.
54. Handa Y, Hayashi M, Takeuchi H, Kubota T, Kobayashi H, Kawano H. Time course of the impairment of cerebral autoregulation during chronic cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in primates. *J Neurosurg.* 1992 Mar;76(3):493–501.
55. Kassam A, Horowitz M, Chang Y-F, Peters D. Altered arterial homeostasis and cerebral aneurysms: a review of the literature and justification for a search of molecular biomarkers. *Neurosurgery.* 2004 May;54(5):1199-11-2.
56. Kassam AB, Horowitz M, Chang Y-F, Peters D. Altered arterial homeostasis and cerebral aneurysms: a molecular epidemiology study. *Neurosurgery.* 2004 Jun;54(6):1450-60-2.
57. Jannett S. Cerebral Blood Flow and Metabolism. In: RH W, editor. *Yumans Neurological Surgery.* 1990. p. 4–25.

58. Harrod CG, Bendok BR, Batjer HH. Prediction of cerebral vasospasm in patients presenting with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a review. *Neurosurgery*. 2005 Apr;56(4):633-54-54.
59. Suzuki J, Ohara H. Clinicopathological study of cerebral aneurysms. Origin, rupture, repair, and growth. *J Neurosurg*. 1978 Apr;48(4):505–14.
60. Weir BK, R.L. M. Intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage: an overview. In: Wilkins, Robert H. and SSR, editor. *Neurosurgery* (Wilkins RH, Rengachary SS) - McGraw-Hill. New York. NY: McGraw-Hill; 1996. p. 2191–221.
61. Kumral K. Serebrovasküler hastalıklar. K K, editor. İzmir: Ege Üniversitesi Matbaası; 1975.
62. Waga S, Otsubo K, Handa H. Warning signs in intracranial aneurysms. *Surg Neurol*. 1975 Jan;3(1):15–20.
63. Mayberg MR. Cerebral vasospasm. *Neurosurg Clin N Am*. 1998 Jul;9(3):615–27.
64. Allcock JM, Drake CG. Ruptured intracranial aneurysms--the role of arterial spasm. *J Neurosurg*. 1965 Jan;22:21–9.
65. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery*. 1980 Jan;6(1):1–9.
66. Asano. Oxyhemoglobin as the principal cause of cerebral vasospasm: a holistic view of its actions. *Crit Rev Neurosurg*. 1999 Sep 24;9(5):303–18.
67. Allen GS, Bahr AL. Cerebral arterial spasm: part 10. Reversal of acute and chronic spasm in dogs with orally administered nifedipine. *Neurosurgery*. 1979 Jan;4(1):43–7.

68. Osaka K. Prolonged vasospasm produced by the breakdown products of erythrocytes. *J Neurosurg.* 1977 Sep;47(3):403–11.
69. Bohman LE, Winn HR LP. Surgical decision making for the treatment of intracranial aneurysms. In: Winn HR, editor. *Youmans Neurological Surgery.* 5th ed. 2011. p. 3756–71.
70. Solenski NJ, Haley EC, Kassell NF, Kongable G, Germanson T, Truskowski L, et al. Medical complications of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a report of the multicenter, cooperative aneurysm study. Participants of the Multicenter Cooperative Aneurysm Study. *Crit Care Med.* 1995 Jun;23(6):1007–17.
71. Macdonald RL, Higashida RT, Keller E, Mayer SA, Molyneux A, Raabe A, et al. Randomized trial of clazosentan in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage undergoing endovascular coiling. *Stroke.* 2012 Jun;43(6):1463–9.
72. Iberti TJ. Treatment of ischemic deficits from vasospasm with intravascular volume expansion and induced arterial hypertension. *Neurosurgery.* 1983 Jun;12(6):705–6.
73. Allcock JM. Arterial spasm in subarachnoid haemorrhage. A clinical and experimental study. *Acta Radiol Diagn (Stockh).* 1966;5:73–82.
74. Dumont AS, Dumont RJ, Chow MM, Lin C-L, Calisaneller T, Ley KF, et al. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery.* 2003 Jul;53(1):123-33-5.
75. Aydin MV, Caner H, Sen O, Ozen O, Atalay B, Cekinmez M, et al. Effect of melatonin on cerebral vasospasm following experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res.* 2005 Jan;27(1):77–82.
76. Park S, Yamaguchi M, Zhou C, Calvert JW, Tang J, Zhang JH. Neurovascular protection reduces early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2004 Oct;35(10):2412–7.

77. Ecker A, Riemenschneider PA. Arteriographic demonstration of spasm of the intracranial arteries, with special reference to saccular arterial aneurysms. *J Neurosurg.* 1951 Nov;8(6):660–7.
78. Pool JL. Cerebral vasospasm. *N Engl J Med.* 1958 Dec 25;259(26):1259–64.
79. Fletcher TM, Taveras JM, Pool JL. Cerebral vasospasm in angiography for intracranial aneurysms. Incidence and significance in one hundred consecutive angiograms. *Arch Neurol.* 1959 Jul;1:38–47.
80. Du Bouley G. Distribution of spasm in the intracranial arteries after subarachnoid haemorrhage. *Acta Radiol Diagn.* 1963;1(1):257–66.
81. Wilkins RH, Alexander JA, Odom GL. Intracranial arterial spasm: a clinical analysis. *J Neurosurg.* 1968 Aug;29(2):121–34.
82. Maspes PE, Marini G. Intracranial arterial spasm related to supraclinoid ruptured aneurysms. *Acta Neurochir (Wien).* 1962 Dec 12;10:630–8.
83. Farhat SM, Schneider RC. Observations on the effect of systemic blood pressure on intracranial circulation in patients with cerebrovascular insufficiency. *J Neurosurg.* 1967 Nov;27(5):441–5.
84. Liszczak TM, Varsos VG, Black PM, Kistler JP, Zervas NT. Cerebral arterial constriction after experimental subarachnoid hemorrhage is associated with blood components within the arterial wall. *J Neurosurg.* 1983 Jan;58(1):18–26.
85. Kosnik EJ, Hunt WE. Postoperative hypertension in the management of patients with intracranial arterial aneurysms. *J Neurosurg.* 1976 Aug;45(2):148–54.

86. Niizuma H, Kwak R, Otabe K, Suzuki J. Angiography study of cerebral vasospasm following the rupture of intracranial aneurysms: Part II. Relation between the site of aneurysm and the occurrence of the vasospasm. *Surg Neurol.* 1979 Apr;11(4):263–7.
87. Grubb RL, Raichle ME, Eichling JO, Gado MH. Effects of subarachnoid hemorrhage on cerebral blood volume, blood flow, and oxygen utilization in humans. *J Neurosurg.* 1977 Apr;46(4):446–53.
88. 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 Neurosurg.* 1981 Mar;54(3):357–65.
89. Aaslid R, Huber P, Nornes H. Evaluation of cerebrovascular spasm with transcranial Doppler ultrasound. *J Neurosurg.* 1984 Jan;60(1):37–41.
90. Connolly ES, Rabinstein AA, Carhuapoma JR, Derdeyn CP, Dion J, Higashida RT, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2012 Jun;43(6):1711–37.
91. Zubkov YN, Nikiforov BM, Shustin VA. Balloon catheter technique for dilatation of constricted cerebral arteries after aneurysmal SAH. *Acta Neurochir (Wien).* 1984;70(1–2):65–79.
92. Ozsüer H, Görgülü A, Kiriş T, Cobanoğlu S. The effects of memantine on lipid peroxidation following closed-head trauma in rats. *Neurosurg Rev.* 2005 Apr;28(2):143–7.
93. Findlay JM, Weir BK, Steinke D, Tanabe T, Gordon P, Grace M. Effect of intrathecal thrombolytic therapy on subarachnoid clot and chronic vasospasm in a primate model of SAH. *J Neurosurg.* 1988 Nov;69(5):723–35.

94. Sekhar LN, Heros RC. Origin, growth, and rupture of saccular aneurysms: a review. *Neurosurgery*. 1981 Feb;8(2):248–60.
95. Kolias AG, Sen J, Belli A. Pathogenesis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: putative mechanisms and novel approaches. *J Neurosci Res*. 2009 Jan;87(1):1–11.
96. Weir B, Grace M, Hansen J, Rothberg C. Time course of vasospasm in man. *J Neurosurg*. 1978 Feb;48(2):173–8.
97. Varsos VG, Liszczak TM, Han DH, Kistler JP, Vielma J, Black PM, et al. Delayed cerebral vasospasm is not reversible by aminophylline, nifedipine, or papaverine in a “two-hemorrhage” canine model. *J Neurosurg*. 1983 Jan;58(1):11–7.
98. Feigin VL, Rinkel GJ, Algra A, Vermeulen M, van Gijn J. Calcium antagonists in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *Neurology*. 1998 Apr;50(4):876–83.
99. Rinkel GJ, Wijdevicks EF, Vermeulen M, Hasan D, Brouwers PJ, van Gijn J. The clinical course of perimesencephalic nonaneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Ann Neurol*. 1991 May;29(5):463–8.
100. Shishido T, Suzuki R, Qian L, Hirakawa K. The role of superoxide anions in the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke*. 1994 Apr;25(4):864–8.
101. Suzuki R, Masaoka H, Hirata Y, Marumo F, Isotani E, Hirakawa K. The role of endothelin-1 in the origin of cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1992 Jul;77(1):96–100.
102. Pluta RM, Oldfield EH, Boock RJ. Reversal and prevention of cerebral vasospasm by intracarotid infusions of nitric oxide donors in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1997 Nov;87(5):746–51.

103. Liu-Deryke X, Rhoney DH. Cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an overview of pharmacologic management. *Pharmacotherapy*. 2006 Feb;26(2):182–203.
104. Weir B, Macdonald RL, Stoodley M. Etiology of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir Suppl*. 1999;72:27–46.
105. Pluta RM, Afshar JK, Boock RJ, Oldfield EH. Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and methemoglobin after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1998 Mar;88(3):557–61.
106. Macdonald RL, Weir BK. A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke*. 1991 Aug;22(8):971–82.
107. Aoki T, Takenaka K, Suzuki S, Kassell NF, Sagher O, Lee KS. The role of hemolysate in the facilitation of oxyhemoglobin-induced contraction in rabbit basilar arteries. *J Neurosurg*. 1994 Aug;81(2):261–6.
108. 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*. 2004 Jan;24(1):75–83.
109. Gülşen S. Ratlarda deneysel subaraknoid kanama ile oluşturulan serebral vazospazma raloksifenin etkisi. Hacettepe Üniversitesi; 2004.
110. Dietrich HH, Dacey RG. Molecular keys to the problems of cerebral vasospasm. *Neurosurgery*. 2000 Mar;46(3):517–30.
111. Ignarro LJ. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1990;30:535–60.
112. Winder SJ, Allen BG, Clément-Chomienne O, Walsh MP. Regulation of smooth muscle actin-myosin interaction and force by calponin. *Acta Physiol Scand*. 1998 Dec;164(4):415–26.

113. Inscho EW, Mitchell KD, Navar LG. Extracellular ATP in the regulation of renal microvascular function. *FASEB J*. 1994 Mar 1;8(3):319–28.
114. Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res*. 1987 Dec;61(6):866–79.
115. Myers PR, Guerra R, Harrison DG. Release of NO and EDRF from cultured bovine aortic endothelial cells. *Am J Physiol*. 1989 Apr;256(4 Pt 2):H1030–7.
116. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987;327(6122):524–6.
117. Xu J, Qu ZX, Moore SA, Hsu CY, Hogan EL. Receptor-linked hydrolysis of phosphoinositides and production of prostacyclin in cerebral endothelial cells. *J Neurochem*. 1992 May;58(5):1930–5.
118. Chen G, Suzuki H, Weston AH. Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *Br J Pharmacol*. 1988 Dec;95(4):1165–74.
119. Parsaee H, McEwan JR, Joseph S, MacDermot J. Differential sensitivities of the prostacyclin and nitric oxide biosynthetic pathways to cytosolic calcium in bovine aortic endothelial cells. *Br J Pharmacol*. 1992 Dec;107(4):1013–9.
120. Bolton TB, Lang RJ, Takewaki T. Mechanisms of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea-pig anterior mesenteric artery. *J Physiol*. 1984 Jun;351:549–72.
121. Paternò R, Faraci FM, Heistad DD. Role of Ca(2+)-dependent K<sup>+</sup> channels in cerebral vasodilatation induced by increases in cyclic GMP and cyclic AMP in the rat. *Stroke*. 1996 Sep;27(9):1603–7–8.

122. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Nature of endothelium-derived relaxing factor: are there two relaxing mediators? *Circ Res.* 1987 Nov;61(5 Pt 2):II61-7.
123. Schubert R, Serebryakov VN, Mewes H, Hopp HH. Iloprost dilates rat small arteries: role of K(ATP)- and K(Ca)-channel activation by cAMP-dependent protein kinase. *Am J Physiol.* 1997 Mar;272(3 Pt 2):H1147-56.
124. Schiffrin EL, Touyz RM. Vascular biology of endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998;32 Suppl 3:S2-13.
125. Mombouli J V, Vanhoutte PM. Kinins and endothelial control of vascular smooth muscle. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1995;35:679–705.
126. Rubanyi GM, Polokoff MA. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev.* 1994 Sep;46(3):325–415.
127. Macdonald RL. Pathophysiology and molecular genetics of vasospasm. *Acta Neurochir Suppl.* 2001;77:7–11.
128. Kwan AL, Solenski NJ, Kassell NF, Lee KS. Inhibition of nitric oxide generation and lipid peroxidation attenuates hemolysate-induced injury to cerebrovascular endothelium. *Acta Neurochir (Wien).* 1997;139(3):240-7-8.
129. Steele JA, Stockbridge N, Maljkovic G, Weir B. Free radicals mediate actions of oxyhemoglobin on cerebrovascular smooth muscle cells. *Circ Res.* 1991 Feb;68(2):416–23.
130. Vollrath B, Chan P, Findlay M, Cook D. Lazaroids and deferoxamine attenuate the intracellular effects of oxyhaemoglobin in vascular smooth muscle. *Cardiovasc Res.* 1995 Oct;30(4):619–26.
131. Treggiari-Venzi MM, Suter PM, Romand JA. Review of medical prevention of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a problem of neurointensive care. *Neurosurgery.* 2001 Feb;48(2):249-61-2.

132. Edwards DH, Byrne J V, Griffith TM. The effect of chronic subarachnoid hemorrhage on basal endothelium-derived relaxing factor activity in intrathecal cerebral arteries. *J Neurosurg.* 1992 May;76(5):830–7.
133. Hongo K, Ogawa H, Kassell NF, Nakagomi T, Sasaki T, Tsukahara T, et al. Comparison of intraluminal and extraluminal inhibitory effects of hemoglobin on endothelium-dependent relaxation of rabbit basilar artery. *Stroke.* 1988 Dec;19(12):1550–5.
134. Gibson QH, Roughton FJ. The kinetics and equilibria of the reactions of nitric oxide with sheep haemoglobin. *J Physiol.* 1957 May 23;136(3):507–24.
135. Hino A, Tokuyama Y, Weir B, Takeda J, Yano H, Bell GI, et al. Changes in endothelial nitric oxide synthase mRNA during vasospasm after subarachnoid hemorrhage in monkeys. *Neurosurgery.* 1996 Sep;39(3):562–7–8.
136. Vermeulen M. Subarachnoid haemorrhage: diagnosis and treatment. *J Neurol.* 1996 Jul;243(7):496–501.
137. Hino A, Tokuyama Y, Kobayashi M, Yano M, Weir B, Takeda J, et al. Increased expression of endothelin B receptor mRNA following subarachnoid hemorrhage in monkeys. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1996 Jul;16(4):688–97.
138. Clozel M, Watanabe H. BQ-123, a peptidic endothelin ETA receptor antagonist, prevents the early cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage after intracisternal but not intravenous injection. *Life Sci.* 1993;52(9):825–34.
139. Zuccarello M, Boccaletti R, Romano A, Rapoport RM. Endothelin B receptor antagonists attenuate subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *Stroke.* 1998 Sep;29(9):1924–9.

140. Alabadí 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*. 1997 Jul;41(1):245-52-3.
141. Katusić ZS, Shepherd JT. Endothelium-derived vasoactive factors: II. Endothelium-dependent contraction. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 1991 Nov;18(5 Suppl):III86-92.
142. Sercombe R, Dinh YRT, Gomis P. Cerebrovascular inflammation following subarachnoid hemorrhage. *Jpn J Pharmacol*. 2002 Mar;88(3):227–49.
143. Tran Dinh YR, Debdi M, Couraud JY, Creminon C, Seylaz J, Sercombe R. Time course of variations in rabbit cerebrospinal fluid levels of calcitonin gene-related peptide- and substance P-like immunoreactivity in experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1994 Jan;25(1):160–4.
144. Findlay JM, Weir BK, Kanamaru K, Espinosa F. Arterial wall changes in cerebral vasospasm. *Neurosurgery*. 1989 Nov;25(5):736-45-6.
145. Kassell NF, Sasaki T, Colohan AR, Nazar G. Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 16(4):562–72.
146. Song JK, Elliott JP, Eskridge JM. Neuroradiologic diagnosis and treatment of vasospasm. *Neuroimaging Clin N Am*. 1997 Nov;7(4):819–35.
147. Alksne JF, Branson PJ. Prevention of experimental subarachnoid hemorrhage-induced intracranial arterial vasonecrosis with phosphodiesterase inhibitor phthalazinol (EG-626). *Stroke*. 10(6):638–44.
148. Tani E, Yamagata S, Ito Y. Intercellular granules and vesicles in prolonged cerebral vasospasm. *J Neurosurg*. 1978 Feb;48(2):179–89.

149. Haley EC, Kassell NF, Torner JC. The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery. The North American experience. *Stroke*. 1992 Feb;23(2):205–14.
150. Mayberg MR, Batjer HH, Dacey R, Diringer M, Haley EC, Heros RC, et al. 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. *Circulation*. 1994 Nov;90(5):2592–605.
151. Weir B, Menon D, Overton T. Regional cerebral blood flow in patients with aneurysms: estimation by Xenon 133 inhalation. *Can J Neurol Sci*. 1978 Aug;5(3):301–5.
152. Powers WJ, Grubb RL, Baker RP, Mintun MA, Raichle ME. Regional cerebral blood flow and metabolism in reversible ischemia due to vasospasm. Determination by positron emission tomography. *J Neurosurg*. 1985 Apr;62(4):539–46.
153. Brown RD, Whisnant JP, Sicks JD, O’Fallon WM, Wiebers DO. Stroke incidence, prevalence, and survival: secular trends in Rochester, Minnesota, through 1989. *Stroke*. 1996 Mar;27(3):373–80.
154. Giménez-Muñoz A, Ara JR, Abad Díez JM, Campello Morer I, Pérez Trullén JM. Trends in stroke hospitalisation rates and in-hospital mortality in Aragon, 1998-2010. *Neurologia*. 2016 Aug 20;
155. Inouye S, Jin D, Cen S, Nguyen P, Renda N, Amar AP, et al. Trends in the use of pulmonary artery catheterization in the aneurysmal subarachnoid hemorrhage population. *J Clin Neurosci*. 2016 Sep;31:133–6.
156. Kassell NF, Torner JC, Adams HP. Antifibrinolytic therapy in the acute period following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Preliminary observations from the Cooperative Aneurysm Study. *J Neurosurg*. 1984 Aug;61(2):225–30.

157. Satoh M, Date I, Nakajima M, Takahashi K, Iseda K, Tamiya T, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase attenuates cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Stroke*. 2001 Jan;32(1):225–31.
158. Mizukami M, Kawase T, Usami T, Tazawa T. Prevention of vasospasm by early operation with removal of subarachnoid blood. *Neurosurgery*. 1982 Mar;10(3):301–7.
159. Ogilvy CS, Barker FG, Joseph MP, Cheney ML, Swearingen B, Crowell RM. Transfacial transclival approach for midline posterior circulation aneurysms. *Neurosurgery*. 1996 Oct;39(4):736–41; discussion 742.
160. Pickard JD, Murray GD, Illingworth R, Shaw MD, Teasdale GM, Foy PM, et al. Effect of oral nimodipine on cerebral infarction and outcome after subarachnoid haemorrhage: British aneurysm nimodipine trial. *BMJ*. 1989 Mar 11;298(6674):636–42.
161. Sen J, Belli A, Albon H, Morgan L, Petzold A, Kitchen N. Triple-H therapy in the management of aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Lancet Neurol*. 2003 Oct;2(10):614–21.
162. Haley EC, Kassell NF, Torner JC. A randomized controlled trial of high-dose intravenous nicardipine in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A report of the Cooperative Aneurysm Study. *J Neurosurg*. 1993 Apr;78(4):537–47.
163. Levy ML, Rabb CH, Zelman V, Giannotta SL. Cardiac performance enhancement from dobutamine in patients refractory to hypervolemic therapy for cerebral vasospasm. *J Neurosurg*. 1993 Oct;79(4):494–9.
164. Maruyama T, Kanaji T, Nakade S, Kanno T, Mikoshiba K. 2APB, 2-aminoethoxydiphenyl borate, a membrane-penetrable modulator of Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-induced Ca<sup>2+</sup> release. *J Biochem*. 1997 Sep;122(3):498–505.

165. Soulsby MD, Wojcikiewicz RJH. 2-Aminoethoxydiphenyl borate inhibits inositol 1,4,5-trisphosphate receptor function, ubiquitination and downregulation, but acts with variable characteristics in different cell types. *Cell Calcium*. 2002 Oct;32(4):175–81.
166. Bootman MD, Collins TJ, Mackenzie L, Roderick HL, Berridge MJ, Peppiatt CM. 2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) is a reliable blocker of store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry but an inconsistent inhibitor of  $\text{InsP}_3$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$  release. *FASEB J*. 2002 Aug;16(10):1145–50.
167. Enfissi A, Prigent S, Colosetti P, Capiod T. The blocking of capacitative calcium entry by 2-aminoethyl diphenylborate (2-APB) and carboxyamidotriazole (CAI) inhibits proliferation in Hep G2 and Huh-7 human hepatoma cells. *Cell Calcium*. 2004 Dec;36(6):459–67.
168. Dietrich A, Kalwa H, Gudermann T. TRPC channels in vascular cell function. *Thromb Haemost*. 2010 Feb;103(2):262–70.
169. Montell C. The TRP superfamily of cation channels. *Sci STKE*. 2005 Feb 22;2005(272):re3.
170. Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, et al. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell*. 2002 Mar 8;108(5):705–15.
171. Di A, Malik AB. TRP channels and the control of vascular function. *Curr Opin Pharmacol*. 2010 Apr;10(2):127–32.
172. Putney JW. The enigmatic TRPCs: multifunctional cation channels. *Trends Cell Biol*. 2004 Jun;14(6):282–6.
173. Bederson JB, Levy AL, Ding WH, Kahn R, DiPerna CA, Jenkins AL, et al. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 1998 Feb;42(2):352-60-2.

174. Keyrouz SG, Diringer MN. Clinical review: Prevention and therapy of vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Crit Care*. 2007;11(4):220.
175. Drake CG. Progress in cerebrovascular disease. Management of cerebral aneurysm. *Stroke*. 12(3):273–83.
176. 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*. 16(1):58–64.
177. Lynch JR, Wang H, McGirt MJ, Floyd J, Friedman AH, Coon AL, et al. Simvastatin reduces vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of a pilot randomized clinical trial. *Stroke*. 2005 Sep;36(9):2024–6.
178. Adams HP. Calcium antagonists in the management of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a review. *Angiology*. 1990 Nov;41(11 Pt 2):1010–6.
179. Zhang S, Wang L, Liu M, Wu B. Tirilazad for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane database Syst Rev*. 2010 Feb 17;(2):CD006778.
180. Jang YG, Ilodigwe D, Macdonald RL. Metaanalysis of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2009;10(1):141–7.
181. Lin C-L, Shih H-C, Dumont AS, Kassell NF, Lieu A-S, Su Y-F, et al. The effect of 17beta-estradiol in attenuating experimental subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *J Neurosurg*. 2006 Feb;104(2):298–304.
182. Lin C-L, Winardi W, Jeng AY, Kwan A-L. Endothelin-converting enzyme inhibitors for the treatment of subarachnoid hemorrhage-induced vasospasm. *Neurol Res*. 2006 Oct;28(7):721–9.

183. Shih H-C, Lin C-L, Lee T-Y, Lee W-S, Hsu C. 17beta-Estradiol inhibits subarachnoid hemorrhage-induced inducible nitric oxide synthase gene expression by interfering with the nuclear factor kappa B transactivation. *Stroke*. 2006 Dec;37(12):3025–31.
184. Dorhout Mees SM, Algra A, Wong GKC, Poon WS, Bradford CM, Saver JL, et al. Early Magnesium Treatment After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Individual Patient Data Meta-Analysis. *Stroke*. 2015 Nov;46(11):3190–3.
185. Erşahin M, Toklu HZ, Cetinel S, Yüksel M, Erzik C, Berkman MZ, et al. Alpha lipoic acid alleviates oxidative stress and preserves blood brain permeability in rats with subarachnoid hemorrhage. *Neurochem Res*. 2010 Mar;35(3):418–28.
186. Gül S, Celik SE, Kalayci M, Taşyürekli M, Cokar N, Bilge T. Dose-dependent neuroprotective effects of melatonin on experimental spinal cord injury in rats. *Surg Neurol*. 2005 Oct;64(4):355–61.
187. Kaptanoglu E, Tuncel M, Palaoglu S, Konan A, Demirpençe E, Kiliç K. Comparison of the effects of melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg*. 2000 Jul;93(1 Suppl):77–84.
188. Aydın, Hasan Emre. "Sıçanlarda curcuminin subaraknoid kanamaya bağlı oluşan vazospazma etkisinin ve bunun mekanizmalarının incelenmesi." (2013). URL: <http://hdl.handle.net/11684/875>



T.C.  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
(AKUHADYЕК)

Sayı: 49533702/17

Tarih : 25/02/2016

**Konu:** AKUHADYЕК-17-16-Referans nolu araştırma  
Yrd. Doç Dr. Mehmet Gazi BOYACI  
AKÜ. Tıp Fakültesi

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na sunmuş olduğunuz "*Deneyisel Subaraknoid Kanama Sonrası Serebral vazospazm ve Erken Beyin Hasarı oluşturulan sıçanlarda 2-APB nin doz bağımlı etkisi*" isimli araştırma projesi AKUHADYЕК yönetmeliğine ve evrensel etik ilkelere uyumlu olduğuna karar verilmiş ve **onaylanmıştır**.

| Görevi | Adı                                      | İmza | Görevi | Adı                                         | İmza |
|--------|------------------------------------------|------|--------|---------------------------------------------|------|
| Başkan | Prof. Dr. Yahya KUYUCUOĞLU               |      | Üye    | Yrd.Doç. Dr. Murat YEŞİL                    |      |
| Üye    | Prof. Dr. Zülfükar Kadir SARITAŞ         |      | Üye    | Vet. Hekim Engin GÖKSEL                     |      |
| Üye    | Prof. Dr. Hatice ÇİÇEK                   |      | Üye    | (sivil toplum kuruluş üyesi)<br>Hünel KARGA |      |
| Üye    | Doç.Dr.Saliha Handan YILDIZ<br>(Görevli) |      | Üye    | (Halk üyesi) Yunus DOLU                     |      |
| Üye    | Doç.Dr.Murat Şen AKOSMAN                 |      |        |                                             |      |

Gazlıgöl yolu üzeri A.N.S kampüsü 03200 AFYONKARAHİSAR