

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

**UZMANLIK TEZİ**  
**18 $\beta$ -GLYCYRRHETİNİK ASİD'İN DENEYSEL**  
**SUBARAKNOİD KANAMA MODELİNDE VAZOSPAZM**  
**ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. AHMET YARDIM**  
**BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Yrd. Doç. Dr. M. NAMIK ÖZTANIR**

**MALATYA-2015**

## TEŞEKKÜR

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince bilgi, görgü ve deneyimlerinden her aşamada faydalandığım, başta tez çalışmalarım boyunca destek ve katkılarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. M. Namık Öztanır olmak üzere, değerli hocalarım Prof. Dr. A. Önder, Prof. Dr. S. Çağatay Önal, Doç. Dr.M. Arif. Aladağ ve Yrd. Doç. Dr. M. Akif Durak'a, kliniğimizden ayrılan Prof. Dr. Ayhan Koçak, Prof.Dr. S. Rüştü Çaylı'ya, tez aşamasında biyokimyasal çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç Dr. Osman Çiftçi'ye, preperatların hazırlanması ve histopatolojik değerlendirilmesinde yardımlarından dolayı Histoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Aslı Çetin'e, beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma, ayrıca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim eşim Güneş, oğlum Savrun ve kızım Yağmur'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| TEŞEKKÜR.....                                             | i  |
| İÇİNDEKİLER.....                                          | ii |
| TABLOLAR, ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ.....               | iv |
| RESİMLER DİZİNİ.....                                      | v  |
| KISALTMALAR.....                                          | vi |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ.....                                     | 1  |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                    | 4  |
| 2.1. Subaraknoid Kanama.....                              | 4  |
| 2.1.1 Tanım.....                                          | 4  |
| 2.1.2 Epidemiyoloji.....                                  | 4  |
| 2.1.3 Subaraknoid Kanama İçin Risk Faktörleri.....        | 5  |
| 2.1.4 Etiyolojik Faktörler.....                           | 5  |
| 2.1.5 Klinik Belirtiler.....                              | 6  |
| 2.1.6 Subaraknoid Kanamanın Komplikasyonları.....         | 7  |
| 2.1.7 Tanı Ve Ayırıcı Tanı.....                           | 7  |
| 2.1.8 Subaraknoid Kanamalı Hastaya Yaklaşım.....          | 8  |
| 2.2 Serebral Vazospazm.....                               | 9  |
| 2.2.1 Tanım.....                                          | 9  |
| 2.2.2 Tarihçe.....                                        | 10 |
| 2.2.3 Epidemiyoloji.....                                  | 11 |
| 2.2.4 Vazospazmın Patofizyolojisi.....                    | 11 |
| 2.2.5 Klinik Özellikler.....                              | 17 |
| 2.2.6 Tanı.....                                           | 17 |
| 2.2.7 Tedavi.....                                         | 18 |
| 2.3 Serbest Radikal Reaksiyonu, Lipid Peroksidasyonu..... | 20 |
| 2.3.1 Serbest Oksijen Radikalleri.....                    | 20 |
| 2.3.2 Lipid Peroksidasyonu.....                           | 21 |
| 2.3.3 Antioksidan Savunma Sistemleri.....                 | 22 |
| 2.3.4 18-β Glycyrrhetinik asit.....                       | 22 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                   | 25 |
| 3.1. Anestezi.....                                        | 25 |
| 3.2. Subaraknoid Kanama Modeli ve Uygulanması.....        | 26 |

|                                                      |           |
|------------------------------------------------------|-----------|
| 3.3. Deney Grupları.....                             | 26        |
| 3.4. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması..... | 27        |
| 3.4.1. Sakrifikasyon işlemi.....                     | 27        |
| 3.4.2. Doku Örneklerinin Hazırlanması.....           | 28        |
| 3.4.3. Biyokimyasal incelemeler.....                 | 28        |
| 3.4.4. Histopatolojik incelemeler.....               | 29        |
| İstatistiksel Analiz.....                            | 29        |
| <b>4. BULGULAR.....</b>                              | <b>30</b> |
| 4.1.Biyokimyasal bulgular.....                       | 30        |
| 4.2. Histopatolojik Bulgular.....                    | 31        |
| <b>5.TARTIŞMA.....</b>                               | <b>39</b> |
| <b>6. SONUÇ.....</b>                                 | <b>45</b> |
| <b>7. ÖZET.....</b>                                  | <b>47</b> |
| <b>8. SUMMARY .....</b>                              | <b>48</b> |
| <b>9. KAYNAKLAR.....</b>                             | <b>49</b> |

## TABLolar, ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo- 1.</b> Hunt-Hess Sınıflaması.....                                                                                                    | 8  |
| <b>Tablo-2.</b> WFNS Sınıflaması.....                                                                                                          | 8  |
| <b>Tablo-3.</b> Fischer Sınıflaması.....                                                                                                       | 9  |
| <b>Tablo-4.</b> Hidrojen Peroksid Oluşumu.....                                                                                                 | 20 |
| <b>Tablo-5.</b> Haber – Weiss Reaksiyonu.....                                                                                                  | 20 |
| <b>Tablo-6.</b> Fenton Reaksiyonu.....                                                                                                         | 20 |
| <b>Tablo 7.</b> SAK oluşturulmuş ve GA verilmiş sıçanlardaTBARS, GSH, SOD, CAT ve GPx düzeyleri.....                                           | 30 |
| <b>Tablo 8.</b> SAK ve GA uygulanan gruplarda baziller arter çapı, baziller arter lümen çapı ve baziller arter duvar kalınlığı değerleri.....  | 38 |
| <br>                                                                                                                                           |    |
| <b>Şekil 2.1.</b> Hücre İçi Kalsiyum Artışı ve Vasküler Düz Kas TonusununRegulasyonu.....                                                      | 13 |
| <b>Şekil 2.2.</b> Basıncı gerilime Duyarlı kanallardan Kalsiyum İnf ksiyonu.....                                                               | 13 |
| <b>Şekil 2.3.</b> Stimülatör ve inhibitör G proteinlerinin aktivasyonu.....                                                                    | 14 |
| <b>Şekil 2.4.</b> 18-  Glycyrrhetinik asidin yapısı.....                                                                                       | 23 |
| <br>                                                                                                                                           |    |
| <b>Grafik 1.</b> SAK oluşturulmuş ve GA verilmiş sıçanlarda TBARS, GSH, SOD, CAT ve GPx düzeyleri.....                                         | 30 |
| <b>Grafik 2.</b> SAK ve GA uygulanan gruplarda baziller arter çapı, baziller arter lümen çapı ve baziller arter duvar kalınlığı değerleri..... | 38 |

## RESİMLER DİZİNİ

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Resim 3.1.</b> Foramenmagnum üzerinde kalan serebrum, serebellum ve beyin sapı |    |
| Görüntüsü.....                                                                    | 28 |
| <b>Resim 4.1.</b> Hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon.....                    | 33 |
| <b>Resim 4.2.</b> Purkinje hücrelerinde dejenerasyon.....                         | 34 |
| <b>Resim 4.3.</b> Purkinje hücrelerinde dejenerasyon.....                         | 35 |
| <b>Resim 4.4.</b> Baziller arter kesitleri.....                                   | 36 |
| <b>Resim 4.5.</b> Baziller arter kesitleri.....                                   | 37 |

## KISALTMALAR

|             |                                              |
|-------------|----------------------------------------------|
| <b>Ach</b>  | : Asetilkolin                                |
| <b>ADMA</b> | : Asimetrik DimetilArjinin                   |
| <b>ADP</b>  | : Adenozindifosfat                           |
| <b>ATP</b>  | : Adenozintrifosfat                          |
| <b>AVM</b>  | : ArteriovenözMalformasyon                   |
| <b>BBT</b>  | : Bilgisayarlı Beyin Tomografisi             |
| <b>cGMP</b> | : Siklik GuanozinMonofosfat                  |
| <b>DDAH</b> | : Dimetil-ArgininDimetilaminohidrolaz        |
| <b>DSA</b>  | : Dijital Subtraksiyon Anjiyografisi         |
| <b>EDCF</b> | : Endotelyal Kaynaklı Vazokonstriktör Faktör |
| <b>EDRF</b> | : Endotelyal Kaynaklı Relaksasyon Faktör     |
| <b>ENOS</b> | : Endotelyalnitrikoksidsentaz                |
| <b>ET</b>   | : Endotelin                                  |
| <b>FAD</b>  | : FlavinAdeninDinükleotid                    |
| <b>GPx</b>  | : GlutatyonPeroksidaz                        |
| <b>GR</b>   | : GlutatyonRedüktaz                          |
| <b>GS</b>   | : Guanilatsiklaz                             |
| <b>GST</b>  | : Glutatyon Molekülleri                      |
| <b>ICAM</b> | : İntercelüler Adezyon molekülü              |
| <b>MDA</b>  | : Malonildialdehit                           |
| <b>MLC</b>  | : Miyozin Hafif Zincir                       |
| <b>MLCK</b> | : Miyozin Hafif Zincir Kinaz                 |
| <b>MRA</b>  | : Manyetik Rezonans Anjiyografi              |
| <b>MRG</b>  | : Manyetik Rezonans Görüntüleme              |
| <b>NAD</b>  | : NiasinNikotinamidDinükleotid               |
| <b>NO</b>   | : Nitrikoksit                                |
| <b>NOS</b>  | : NitrikoksitSentetaz                        |
| <b>PDE</b>  | : Fosfodiesteraz                             |
| <b>PET</b>  | : PositronEmissionTomography                 |
| <b>PG</b>   | : Prostaglandinler                           |
| <b>ROT</b>  | : Reaktif Oksijen Türevleri                  |

|              |                                              |
|--------------|----------------------------------------------|
| <b>SAK</b>   | : Subaraknoid Kanama                         |
| <b>SAM</b>   | : S-AdenozilMetiyonin                        |
| <b>SF</b>    | : Serum fizyolojik                           |
| <b>SPECT</b> | : SinglePhotonEmissionComputerizedTomography |
| <b>SSS</b>   | : Santral Sinir Sistemi                      |
| <b>SVS</b>   | : SerebralVazospazm                          |
| <b>TKA</b>   | : Trikarboksilik Asit Siklusu                |

## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Kranial ya da spinal bölgede; piamater ile araknoid zar arasındaki beyin omurilik sıvısının bulunduğu subaraknoid boşlukta, çeşitli nedenlere bağlı olarak oluşan kanamalar subaraknoid kanama (SAK) olarak isimlendirilmektedir (1,2,3).

SAK'ın en sık sebebi travmalardır. Travma dışı etyolojiye sahip SAK lar primer SAK veya spontan SAK olarak isimlendirilir ve spontan SAK lar bir çok farklı etyoloji sonucunda oluşabilir. Spontan SAK ların en sık sebebi anevrizma rüptürleridir(4). Farklı popülasyonlarda, farklı yaşam tarzı, genetik yapı ve çeşitli risk faktörleri nedeniyle insidansı hakkında fikir birliği mevcut değildir.

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 bağlı 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, SAK sonrası serebral arterlerde ortaya çıkan patolojik daralmalardır. Serebral vazospazm tanısı, klinik olarak SAK sonrası beynin bir kısmında ortaya çıkan iskemi, infarkta bağlı olarak gelişen nörolojik kötüleşme ve radyolojik olarak serebral arterin lümenindeki daralmanın gösterilmesi ile konulabilir. Serebral vazospazm klinik bir tanıdır ve radyolojik olarak gösterilmesi tek başına tanı koydurmaz. Sadece klinik tanıyı destekler.

Serebral vazospazmda; patolojik vazokonstrüksiyona bağlı daralan arterin distalinde, beyin perfüzyonunda azalma olduğu ve bunun sonucunda da iskemi/reperfüzyona bağlı beyin dokusunda oksidatif stres olduğu bilinmektedir. Oksidatif

stres sırasında beyin doku hasarından hipoksik zeminde oluşan serbest oksijen radikalleri primer sorumlu olarak görülmektedir.

Serebral vazospazmın fizyopatolojisi birçok çalışmaya konu olmasına rağmen tam olarak aydınlatılamamıştır. Fizyopatoloji ile ilgili farklı hipotezler ortaya atılmıştır. Ortaya atılan ve kabul gören hipotezlerden bir tanesi, subaraknoid mesafede eritrositlerin yıkımı ile oksihemoglobin oluşması ve oluşan oksihemoglobininde serebral vazospazmda ana sorumlu spazmojen olduğu yönündedir (5,6). Oksihemoglobinin methemoglobine dönüşümü sırasında serbest oksijen radikalleri oluşur. Serbest radikallerde vasküler ve nöronal yapılarda lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Lipid peroksidasyonu sonucunda lipid radikalleri oluşur. Oluşan lipid radikalleri, serbest radikaller ve oksihemoglobin hücre membran yapısının bozulmasına neden olurlar. Hücre membran yapısı bozulması sonucunda hücre membran potansiyeli oluşamaz ve hücre içi kalsiyum birikimi ile hücre ölümü olur. Vasküler endotel hücrelerinin ölümünde, vasküler permeabiliteyi artırır. Bunun sonucunda vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon dengesi bozulur. Nitrik oksit (NO) üretiminde azalma, süperoksid üretiminde artma olur. Süperoksidler NO i peroksinitrite dönüştürür. Sonuç olarak hem oksihemoglobinin üretiminin artması, hemde NO tükenmesi nedeniyle (-) feed-back etkisi ortadan kalkar. Normalde vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli faktör olan NO/endotelin dengesi bozulur. Serebral damarlar üzerinde endotelinin vazokonstriksiyon etkisi vardır. Özellikle endotelin-1 (ET-I) bilinen en güçlü vazokonstriktör ajandır (7,8).

Çalışmamızda kullandığımız 18 $\beta$ -Glycyrrhetic asid (GA) glyserininin hidrolize edilmiş bir metabolitidir. GA; Glycyrrhiza glabra(meyan kökü) bitkisinde bulunan (9), meyan kökü özü olarakta bilinen, geleneksel Çin ve Japon alternatif tıbbında geniş kullanım alanı bulan bir maddedir. Son çalışmalar GA'in güçlü anti-kanser, anti-inflamatuar ve antioksidan özelliğinin olduğunu göstermiştir.(10,11).

Vucudumuzdaki antioksidan savunma sistemleri serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı vücudumuzu korumaktadır. Antioksidan savunma sistemleri ortamdaki serbest oksijen radikallerini azaltır. Bu özellikleriyle de serebral vazospazmda beyin dokusunda olan iskemi/ reperfüzyon hasarını azaltıcı etkileri mevcuttur. Serebral vazospazmın kabul gören patofizyoloji hipotezlerinden biri olan oksihemoglobinin methemoglobine dönüşümü sırasında oluşan serbest oksijen radikallerinin

vazokonstriksiyon yapıcı etkisini antioksidanlar engellemektedirler. Tarafımızca, GA'in antioksidan savunma sistemlerini indükleme özelliğinin olmasından dolayı; SAK hastalarındaki serebral vazospazmı önleme ve oluşan serebral vazospazmı iskemik/reperfüzyona bağlı beyin doku hasarını azaltıcı etkisinin olacağı düşünülmüştür.

Bu çalışmada, bir antioksidan olan 18β-Glycyrrhetic asit (GA)'ın deneysel SAK oluşturulan sıçanlarda gelişen vazospazm üzerine terapötik etkinliğini incelemeyi amaçladık.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Subaraknoid Kanama**

#### **2.1.1 Tanım**

Beyin, beyincik, beyin sapı veya omurilik yüzeyindeki sıklıkla arter ve daha nadiren ven ve kapillerlerin, çeşitli nedenlerle kanaması ve kanın beyin omurilik sıvısı (BOS) dolanım yollarına girmesi veya beyin parankimi içerisindeki bir kanamanın beyin korteksi yönünde yüzeye açılması veya ventriküllere geçerek yine BOS'a karışması nadiren de subdural mesafedeki kanın, araknoid membranı delerek subaraknoid aralığa geçmesi sonucunda ortaya çıkan tabloya subaraknoid kanama (SAK) adı verilir.

#### **2.1.2 Epidemiyoloji**

SAK'ın gerçek insidans ve prevalansını söylemek farklı nedenlerden dolayı imkansızdır. Bu nedenlerden bir tanesi ırk, coğrafya ve iklim gibi faktörlerin SAK prevalans ve insidansını etkilemesidir. Dünyanın değişik bölgelerinde yapılan farklı çalışmalarda farklı rakamlar bildirilmiştir. SAK görülme sıklığı her 100 000 kişilik nüfusta senede Amerika Birleşik Devletleri'nde 16, yine aynı ülke için başka bir çalışmada 12, İngiltere'de 10,3, Finlandiya'da 15,7, Hollanda'da 16, Danimarka'da 3,4 olarak bildirilmiştir. Bildirilen çok farklı rakamlar olmasına rağmen kabaca SAK görülme sıklığının her 100 000 kişilik popülasyonda 10 – 16 arasında değiştiği söylenebilir. (12,13,14,15,16,17)

SAK prevalans ve insidansını saptamada karşımıza çıkan diğer bir zorluk ise, SAK hastalarının değişken semptomatoloji göstermesidir. Ağır bir klinik tablo ile hastalar tanı konulamadan kaybedilebilir yada bu hastalara silik semptomlar varlığında yanlış tanı konulabilir.

Yapılan çalışmalarda kadınların erkeklere oranla 1,6 kat daha fazla SAK riski taşıdıkları, SAK'ların erkeklerde geç sonbaharda ve kadınlarda ise geç ilkbaharda daha fazla görüldüğü gösterilmiştir.(18,19) Bütün bunların yanı sıra zenci ırkta, beyaz ırka nazaran 2,1 kat daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar vardır (20)

SAK tüm kanamaya neden olan inmelerin %5-10'unun nedenidir (21). Bu durumun toplam mortalite oranı %30-70'tir ve sağ kalanların %10-20'sinde ciddi nörolojik bozukluklar görülür (22). SAK sonrası izlenen klinik tabloda hastaların %10-15'i medikal tedavi almadan kaybedilirken, tedavi edilmeyenlerin %40-60'ı ilk 30 gün içerisinde kaybedilmektedir (23,24).

### **2.1.3. Subaraknoid Kanama İçin Risk Faktörleri:**

**-Genetik faktörler:** Hastaların %5-20'sinde pozitif aile hikayesi vardır.(25),

**-Hipertansiyon,**

**-Alkol,**

**-Sigara:** Sigarayı bırakanlarda, içenlere oranla daha az SAK görüldüğü gösterilmiştir.(26),

**-Oral kontraseptif kullanımı:** SAK ve oral kontraseptif kullanımı arasındaki ilişki diğer risk faktörlerinden bağımsız çalışma olmadığı için net değildir.(27),

**-Madde bağımlılığı.**

### **2.1.4 Etyolojik Faktörler**

SAK'ın en sık sebebi travmalardır.Travma dışı SAK' lar primer SAK veya spontan SAK olarak isimlendirilmektedir. Spontan SAK' ların yaklaşık %80 gibi bir sıklıkla rüptüre anevrizma nedeniyle oluştuğu bilinmektedir. Anevrizmalardan sonra gelen en sık spontan SAK nedeni ise arteriyovenöz malformasyonlardır.Bir çok farklı etyolojik faktör spontan SAK'a neden olabilir.Arteriovenöz fistül, kavernom, kapiller hemanjiom ve venöz anjiom gibi diğer damar anamolileri; meningioma, kordoma,

glioma, ependimoma, osteokondroma, nörofibroma, koroid pleksus papillomu, bronşial karsinoma, melanoma, koryokarsinoma, hipofiz adenomu, sarkoma gibi tümörler; bakteriyel menenjit, tüberküloz menenjiti, fungal menenjit, leptospirozis, listeriozis, brusellosiz, malarya, tifo, antraks, viral ensefalitler, sitomegalik inklüzyon hastalığı, paraziter etkenler gibi infeksiyonlar; dev hücreli arterit, lupus eritamatozis, fokal vasküler nekroz, amiloidozis, takayasu hastalığı, poliarteritis nodosa, Wegener granülomatozisi, tromboangiitis obliterans gibi vaskülitler; amfetamin, alkol gibi intoksikasyonlar; hemofili, lösemi, aplastik anemi, lenfoma gibi hematolojik hastalıklar; dalgıç hastalığı, eklampsi gibi çok çeşitli hastalıklar SAK'a neden olabilir.

Bir grup hastada ise etyolojik neden bulunamaz. Nedeni saptanamayan SAK olguları, etyolojisi saptanan SAK'lara göre daha selim seyirlidir. Kanamanın tekrarına bağlı mortalite oranı %3'ün altındadır (28). İlk araştırmada nedeni saptanamamasına rağmen şüpheli olgularda araştırmanın 3-6 hafta sonra tekrarlanması durumunda dörtte bir olguda SAK nedeninin ortaya konulabileceği gösterilmiştir (29,30,31,32).

### **2.1.5 Klinik Belirtiler**

SAK olgularında klinik belirtiler çok değişken olabilir. SAK'a ait belirtiler ön belirtiler ve asıl belirtiler olmak üzere iki farklı grupta incelenebilir.

Ön belirtilerin olduğu dönemde SAK oluşmamıştır. Ön belirtiler daha çok uyarıcı nitelikteki belirtilerdir. Ön belirtilerin; hastaların %34 ile %59'u arasında ortaya çıktığını gösteren çalışmalar vardır (33,34,35). Ön belirtilerin nedeninin iskemik olaylar olması, anevrizmanın genişlemesi, sızıntı şeklinde kanaması muhtemeldir (34). Baş ağrısı, görme bozuklukları, bulantı, ense ve sırt ağrıları, kranial sinir tutulumları, fotofobi, letarji, geçici iskemik ataklar, fokal nörolojik defisitler; SAK hastalarında olabilecek ön belirtilere örnek verilebilir.

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.

Asıl belirtiler ise kanamanın ağırlığına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Ani ve şiddetli baş ağrısı, bulantı, kusma, ense sertliği, geçici bilinç kaybı, hemiparezi, vertigo, fenalık hissi, konfüzyon, konvülsiyon, işitme kaybı, fotofobi, görme kayıpları, diplopi,

koma, sırt ve bacak ağrıları, konuşma bozuklukları, ataksi SAK olgularında asıl belirtiler olabilir.

#### **2.1.6. Subaraknoid Kanamanın komplikasyonları**

- 1-Yeniden kanama,
- 2-Hidrocefali,
- 3- Vazospazm,
- 4- Serebral iskemi, enfarkt
- 5- Nöbet
- 6- Serebral ödem
- 7-Nöropsikiyatrik bozukluklar
- 8- Kardiyak komplikasyonlar (disritmiler, miyokard infarktüsü ve nekrozu)
- 9-Pulmoner komplikasyonlar (pulmoner emboli, aspirasyon pnömonisi, nörojenik pulmoner ödem, iatrojenik pulmoner ödem )
- 10- Gastrointestinal bozukluklar (motilite değişiklikleri, kanama)
- 11- Terson Sendromu
- 12- Elektrolit imbalansı (serebral tuz kaybı, uygunsuz ADH sendromu, diabetes insipidus)

#### **2.1.7. Ayırıcı Tanı**

SAK olgularına değişken semptomatoloji nedeniyle özellikle uyarıcı nitelikteki ön belirtilerin olduğu dönemde yanlış tanı konulabilmektedir. SAK’da konulan yanlış tanıları bildiren çalışmalar mevcuttur (36). Akut gastroenterit, gıda zehirlenmesi, peptik ülser, akut apendisit ve akut miyokard infarktüsü gibi bulantı-kusmanın eşlik edebileceği hastalıklar; migren, sinüzit, gerilim tipi baş ağrısı, hipertansiyon, subdural hematom gibi baş ağrısı ile seyreden hastalıklar, servikal artroz, servikal disk hernisi, menenjit gibi ense sertliğinin bulunduğu hastalıklar; serebral iskemik olay 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 hastalarına konulabilecek yanlış tanılardır.

### 2.1.8. Subaraknoid Kanamalı Hastaya Yaklaşım

SAK nedenleri göz önüne alındığında birçoğu cerrahi tedavi gerektiren patolojilerdir. Cerrahi tedavinin primer amacında etyolojiyi ortadan kaldırmaktır.

Geçmişte SAK'lı olgularda anevrizma cerrahisi; kanama sonrası ikinci haftaya kadar ertelenirken, günümüzde birçok merkezde mümkün olduğu kadar erken dönemde cerrahi tedavi yapılmaktadır. Erken dönemde cerrahi tedavinin birinci nedeni tekrar kanama ihtimalini ortadan kaldırmaktır. Erken cerrahi tedavide rüptüre anevrizma çevresindeki pıhtının ve sisternlerdeki kanın temizlenmesinde gelişebilecek serebral vazospazm riskini azaltmaktadır. Ayrıca cerrahi tedavi sonrası normotansif, normovolemik takip tercih edilmemişse bu hastalara 3H (hipervolemi, hemodilüsyon, hipertansiyon) tedavisi agresif şekilde uygulanabilmektedir(37,38,39). Başvuru anında yapılan anjiyografide radyolojik olarak vazospazmın dökümente edildiği ,genel durumu bozuk ve 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. Yaygın olarak kullanılanları; Botterel, Hunt-Hess(Tablo-I ), Yaşargil ve son olarak Dünya Nöroşirurji Federasyonu (WFNS) (Tablo-II ) SAK sınıflandırmalarıdır (40,41) .

**Tablo- I. Hunt-Hess Sınıflaması**

|               |                                                                  |
|---------------|------------------------------------------------------------------|
| <b>Evre 1</b> | Aseptomatik, hafif başağrısı ve ense sertliği                    |
| <b>Evre 2</b> | Orta veya şiddetli başağrısı, ense sertliği, kranial sinir felci |
| <b>Evre3</b>  | Uykuya eğilim, hafif fokal nörolojik defisit                     |
| <b>Evre 4</b> | Stupor, orta veya ciddi hemiparezi, rijidite, vejetatif bozukluk |
| <b>Evre 5</b> | Derin koma ve deserebrasyon rijiditesi                           |

**Tablo-II. WFNS Sınıflaması**

|               |                                                  |
|---------------|--------------------------------------------------|
| <b>Evre 1</b> | Glaskow Koma Skalası (GKS) 15, Motor defisit yok |
| <b>Evre 2</b> | GKS 13-14, Motor defisit yok                     |
| <b>Evre 3</b> | GKS 13-14, Motor defisit var                     |
| <b>Evre 4</b> | GKS 7-12, Motor defisit var veya yok             |
| <b>Evre 5</b> | GKS 3-6, Motor defisit var veya yok              |

SAK'lı hastada bilgisayarlı tomografi görüntüsünü baz alan derecelendirmede Fischer tarafınca yapılmıştır (Tablo III).

**Tablo-III.** Anevrizmal Subaraknoid Kanamada Fisher BT Derecelendirme Skalası

|                 |                                                      |
|-----------------|------------------------------------------------------|
| <b>1.Derece</b> | Saptanabilen subaraknoid kan yok                     |
| <b>2.Derece</b> | 1mm kalınlıktan daha ince ve diffüz kan              |
| <b>3.Derece</b> | 1 mm veya daha fazla kalınlıkta ve/veya lokalize kan |
| <b>4.Derece</b> | İntraserebral veya intraventriküler kan              |

SAK'lı hastanın takibinde karanlık, sessiz odada takip edilmesi, mutlak yatak istirahati yapılması, başının 30 derece elevasyonda olması, ziyaretçi kısıtlanması yapılması, derin ven trombozuna yönelik olarak alt ekstremitelere intermitant pnömotik kompresyon uygulanması, genel durumu bozuk hastalarda idrar sonda uygulanması ,yine genel durumu bozuk hastalarda enteral beslenmeyi sağlamak için nazogastrik veya nazojejunal kateter uygulanması gibi hasta bakımı uygulamaları önerilmektedir.

SAK'lı hastalarda genel ilaç tedavisinde antikonvülzanlar, antiemetikler, analjezikler, İntravenöz 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, ventrikülostomi ile intrakranial basınç takibi ve BOS drenajı,bilgisayarlı tomografi,transkranyal dopler (TCD), serebral oksimetre ve serebral mikrodializ önerilen monitorizasyon ve tekniklerdir.

## **2.2. Serebral Vazospazm**

### **2.2.1. Tanım**

Serebral vazospazm, beynin tabanındaki büyük çaplı arterlerinin geç dönem geri dönüşümlü,patolojik daralmasıdır.Sıklıkla arter distalinde perfüzyon azalması mevcuttur.Serebral vazospazm klasik olarak anevrizma rüptürüne bağlı SAK'ın

komplikasyonu olmasına rağmen %5-10 oranında ağır kafa travması ve daha az oranlarda meningeal enfeksiyon ve diğer serebrovasküler hastalıklarda da görülebilir (42,43).

### **2.2.2. Tarihçe**

Ecker ve Riemenschneider 1951 yılında ilk defa anjiografik vazospazmı tanımlamışlar ve serebral vazospazmın SAK'lı hastalarda prognozda etkili olduğunu göstermişlerdir(44). Bu çalışmadan yaklaşık 10 yıl sonra Pool, Maspes ve Marini , Du Boulay, Allcock ve Drake, Wilkins ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarla vazospazmın kanamış intrakranial anevrizmaların seyrinde mortalite ve morbiditeyi etkileyen önemli bir sebep olduğunu göstermişlerdir (45,46,47,48,49,50).

1960'ların başından itibaren nöroşirürjikal çalışma laboratuvarlarında hayvanlar üzerinde deneysel SAK modelleri ile vazospazmı önlemek veya tedavi etmek için birçok başarılı olamayan ilaç denemeleri yapılmıştır (51). Kosnik ve Hunt 1976 yılında, Giannota ve arkadaşları ise 1977 yılında vazospazm nedeniyle gelişen iskemik nörolojik defisitinin tedavisinde hipertansiyonun etkisini bildirmişlerdir(52,53). Kassel ve arkadaşları 1982 yılında standart hipervolemik ve hipertansif tedavinin vazospazma bağlı geç iskemi tedavisindeki olumlu etkilerini göstermişlerdir (38). 1979 yılında Niziuma ve arkadaşları vazospazmın en sık orta serebral arterde görüldüğünü bildirmişlerdir.(54) Sasaki ve arkadaşları, 1980'li yıllarda oksihemoglobinin ootoksidasyon ile methemoglobine dönüşmesi sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin membran fosfolipidlerinde peroksidasyona yol açtığını bildirmişlerdir (55). Bununla serebral vazospazmın etyopatogenezinde önemli bir rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Fischer ve arkadaşları, 1980 yılında bilgisayarlı beyin tomografisinde subaraknoid mesafedeki pıhtı kalınlığının vazospazm gelişme ihtimali ile yakından ilişkili olduğunu göstermişlerdir (56). 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. (57). Zubkov ve arkadaşları, 1984 yılında vazospastik serebral arterleri genişletmek için translüminal balon anjioplastiyi kullanmışlardır(58).

### **2.2.3. Epidemiyoloji:**

Serebral vazospazm, anjiyografik vazospazm ve semptomatik vazospazm olarak ikiye ayrılır. Semptomatik vazospazm SAKlı hastaların %20-30'unda görülürken, anjiyografik vazospazm ise %30 ile %70'inde görülmektedir (59, 60). Sonuç olarak anjiyografik vazospazm görülen olguların yaklaşık yarısında semptomatik vazospazm görülmektedir.

1997 yılında yapılmış çok merkezli bir çalışmada tirilazad mesilat'ın vazospazm üzerine etkisi araştırılmış ve çalışmanın kontrol grubunda olguların %33'ünde semptomatik vazospazm geliştiği ve yine bu hastaların %24'ünde vazospazm nedeniyle gecikmiş nörolojik kötüleşme olduğu saptanmıştır (61).

Anjiyografik vazospazm ve semptomatik vazospazm süreleri paralellik göstermektedir. Anjiyografik vazospazm SAK sonrası 3-5. günlerde başlar, arteriyel lümen daralması maksimum 5-14. günlerde görülür ve 2-4 hafta arasında yavaşça azalır(61).

### **2.2.4. Vazospazmın Patofizyolojisi**

Serebral vazospazmın temel patofizyolojisi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Ancak serebral vazospazm patofizyolojisinin multifaktöryel olması nedeni ile tam olarak aydınlatılamamıştır (62). Konu ile ilgili farklı teoriler ortaya atılmıştır. Bu farklı teorilerin patofizyolojik temelleri 4 ana başlık altında toplanmaktadır.

#### **1. Kan Ürünlerinin Yıkımı:**

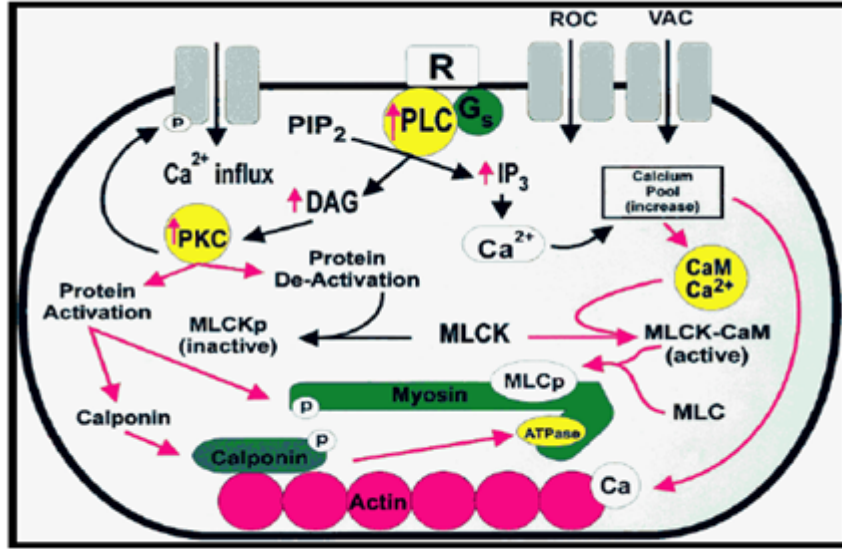
Bu teoriye göre;ekstravaze olmuş trombosit ve eritrositlerin yıkımı sonucu spazmojenler üretilir.Ortaya çıkan spazmojenlerde (serotonin, prostaglandinler, katekolaminler, histamin, anjiotensin, oksihemoglobin) serebral vazospazmı tetikler (63).Yapılan çalışmalar bu spazmojenler arasında vazospazmı en etkili spazmojenin oksihemoglobin olduğunu göstermiş olmasına rağmen, bu spazmojenlerden hiç birisinin tek başına serebral vazospazmı başlatmada yeterli olmadıkları görülmüştür. Ayrıca izole olarak nötralize edildiklerinde de serebral vazospazmın engellenmesi sağlanamamıştır (64,65).

SAK sonrası hemen hemoliz başlar. BOS'un eritrositlerden tamamen temizlenmesi ise birkaç gün ile bir ay arasında bir sürede gerçekleşmektedir. (63). Kan pıhtısı içindeki eritrositlerin tek başlarına serebral vazospazma neden olduğu, beyaz kan hücreleri; trombositler ve plazmanın tek başına böyle bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (66). Bütün bu bulgular asıl spazmojenik faktörün hemoglobin olduğunu düşündürse de,eritrosit hemozilatlarının izole halde hemoglobinden daha güçlü vazokonstriktör etkiye sahip olduklarıda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (67).

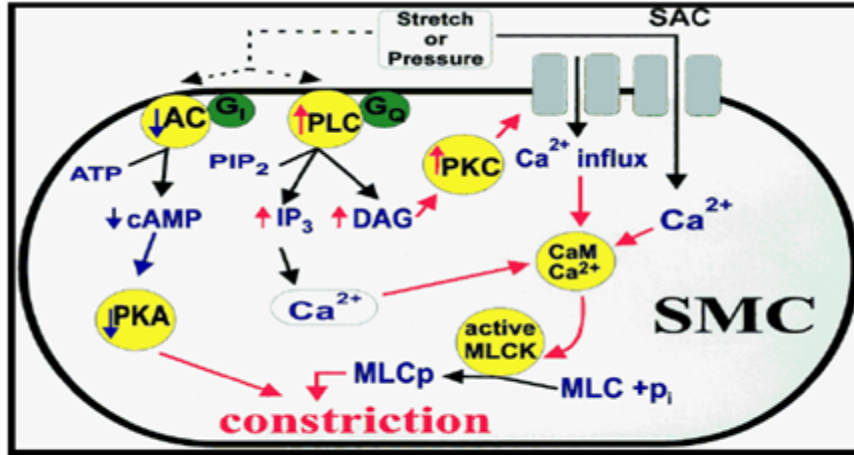
## **2. Uzamış Arteriyel Kontraksiyon**

Uzamış arteriyel kontraksiyon, vazospazm gelişiminde halen en fazla kabul gören teorilerdendir. Vasküler düz kaslar yavaş, tonik ve uzun süreli kasılırlar. Kasılmalarında mekanik, elektriksel ve kimyasal uyarılar rol oynar. Mekanik olarak damar duvarında transmural basınç artınca damarda sekonder dilatasyon gelişir. Basınç düşünce tekrar kasılma olur. Buradaki mekanik etkiye göre düz kasın kendisi tarafından düzenlenen kasılma-gevşeme reaksiyonlarına vasküler düz kasın miyojenik cevabı denmektedir. Vasküler düz kas hücrelerinin elektriksel uyarımı ise L ve T tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından L-tipi kalsiyum kanallarının açılmasına, membranin depolarize olmasına ve hücre içi kalsiyumun artarak damarda kontraksiyon gelişmesine neden olur. Hücre içi kalsiyum arttığında hem ekstrasellüler mesafeden kalsiyum kanal yolları ile hemde hücre içi kalsiyum depolarından (sarkoplazmik retikulum) sağlanır. Hücre içi kalsiyum artışı olmasıyla 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 neden olur(68,69).(Şekil 3.1)

Kalsiyumun primer kaynağı sarkoplazmik retikulum ve ekstraselüler alandır. Voltaj veya reseptör bağımlı mekanizmalarla ekstraselüler kalsiyum kalsiyum kanallarından girer. (Şekil 3.1) Ayrıca ekstraselüler kalsiyum girişi mekanik gerilme ve basınca duyarlı mekanizmalarla da olabilir. (Şekil 3.2) Sarkoplazmik retikulumdan hücre içine kalsiyum salınımı, intrasellüler 1, 4, 5 trifosfat artışı veya ryanodine duyarlı reseptörler aracılığı ile olabilir(70). (.Şekil 3.1)



ŞEKİL 2.1 : Hücre içi kalsiyum artışı ile vasküler düz kas tonusunun regülasyonu (70)

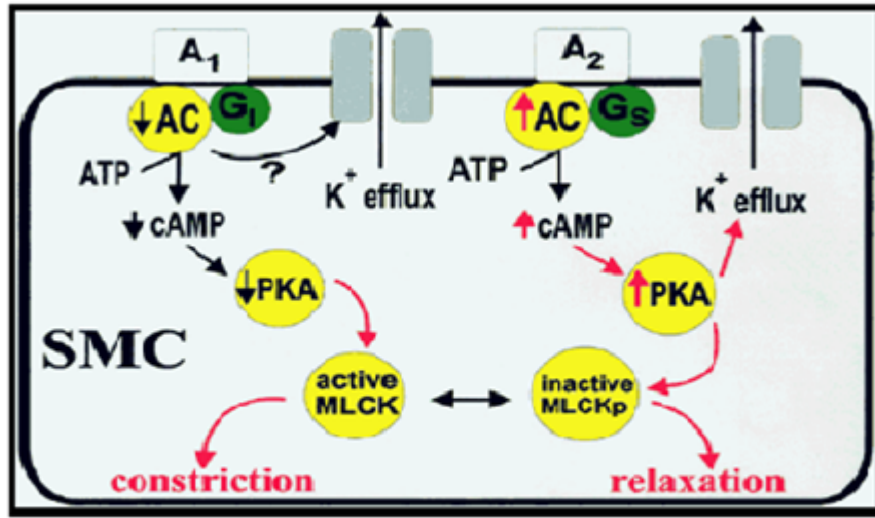


ŞEKİL 2.2 : Basınç ve gerilime duyarlı kanallardan kalsiyum influksiyonu sonucu oluşan vasküler düz kas kasılması (70)

Hücre içi kalsiyum azaltılması sıklık guanozin monofosfat (cGMP)'ın sarkoplazmik membrana bağımlı kalsiyum pompalarını aktive etmesi ile mümkün olur. Bu sayede düz kas hücresinde relaksasyon gerçekleşir (71). 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 değişmeksizin vasküler tonusu regüle eden başka mekanizmalarda vardır. Bunlar protein fosforilasyon/ defosforilasyonu yoluyla gerçekleşen mekanizmalardır. Bunlar miyozinin serine 19 dışında başka bir pozisyonda fosforilasyonu, protein kinaz C (PKC) ile aktin düzenleyici proteinler olan caldesmon veya calponinin fosforilasyonu, miyozin hafif zincir kinazın fosforilasyonu nedeniyle deaktivasyonu gibi mekanizmaları içerir (72).

Vasküler düz kas hücresinin tonusunu reseptör bağımlı mekanizmalarla etkileyebilen birçok agonist tanımlanmıştır. Bunlar özellikle stimülatör veya inhibitör G proteinlerine bağılı reseptörleri aktive ederek etkilerini gösterirler. Aynı madde, etkilediği reseptörlere göre stimülatör veya inhibitör G proteinlerini kullanarak birbirine zıt etkiler ortaya çıkarabilir. Örneğin A<sub>2</sub> reseptörlerinin uyarımı ile stimülatör G proteinlerinin aktivasyonu relaksasyon oluştururken, A<sub>1</sub> reseptörlerinin uyarımı inhibitör G proteinleri üzerinden vazokonstriksiyonla sonuçlanır (73) (Şekil 3.3).



**ŞEKİL 2.3 :** Stimülatör ve inhibitör G proteinlerinin aktivasyonu ve sinyal transdüksiyonu ile gelişen reseptör bağımlı mekanizma (70)

Endotelial hücreler hem endotelial kaynaklı konstriktör faktörlerini (EDCF) hemde endotelial kaynaklı relaksasyon faktörlerini (EDRF) salgırlarlar. (70)

EDRF grubunun en önemlileri ;NO , başta prostasiklin olmak üzere bazı prostaglandinler, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF)'dür (74, 75, 76, 77,78). İntraselüler kalsiyum artışı NO sentaz ve siklooksijenaz enzimlerini aktive eder (79). NO düz kas hücresine geçerek GS'ı aktive eder. Artan cGMP sayesinde sitozolik kalsiyum sarkoplasmik retikuluma alınır. NO yapımı hücre içi kalsiyum düzeyi 200 nmol/L gibi bir değere ulaşana kadar uyarılır. Daha yüksek değerler prostaglandin kökenli maddelerin üretimini tetikler (79). Prostaglandin kökenli EDRF'ler düz kas hücresinin potasyum kanallarını veya adenilat siklaz enzimini aktive ederler (80,81). Henüz kesin olarak tanımlanamamakla birlikte EDHF'ün sitokrom P450 kaskadından kaynaklandığı ve düz kas hücresini hiperpolarize ederek hücre dışına kalsiyum atılımını sağladığı düşünülür (82). Prostosiklin ise potasyum kanallarını aktive ederekve MLCK'ı inaktive ederek damar düz kasında relaksasyon sağlar (81,83).

EDCF'lerin en iyi bilinenleri endotelin (ET), anjiotensin II ve tromboksanlardır. ET; endotel hücresi, düz kas hücresi ve ekstraselüler alanda da üretilen bir peptiddir (84). ET, hem endotel hem de düz kas hücresi üzerindeki ETA ve ETB reseptörleriyle etki gösterir. 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 bağlanabilir de ET-III sadece ETB reseptörüne bağlanabilir. ET-I'in SAK sonrası vazospazm'da esas rol alan endotelin tipi olduğu bilinmektedir (84,85,86).

Anlatılan mekanizmaların pek çoğu damar düz kasında kontraksiyona yol açarak subaraknoid kanama sonrası vazospazm gelişiminde etkili olmaktadır. Oksihemoglobinin tetiklediği uzamış düz kas kasılması, vazospazm gelişiminde önemli rol oynar (87). 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 etki edebilir (88). In vitro çalışmalar hemoglobinin ürettiği oksijen radikallerinin endotel ve düz kas hücrelerine zarar verdiğini ortaya koymuştur (89,90,91). Oksijen radikalleri endotelial geçirgenliği artırarak hücre içi kalsiyum ve 1,4,5 trifosfat miktarını yükselterek ve hücre depolarizasyonunu sağlayarak etki gösterirler. (89,90,91) Ayrıca serbest radikaller bir vazokonstriktör olan prostaglandin E2 ve bir vazodilatör olan prostoglandin I2 arasındaki dengeyi prostaglandin E2 lehine değiştirirler (92).

Yapılan deneysel SAK modellerinde baziler arterde endotel bağımlı relaksasyonun bozulduğu gösterilmiştir (93,94). Endoteldeki patolojik sürece en etkili spazmojen daha önce belirtildiği gibi oksihemoglobindir (95). Bunun nedeni oksihemoglobinin ortamdaki nitrik oksidi (NO) düşürmesidir. Böylece guanilat siklazı (GC) inaktive etmesi veya serbest oksijen radikal üretimini artırmasıdır. Hemoglobin NO'ı bağlar ve sonucunda, azalmış GC aktivitesi vazokonstriksiyonla sonuçlanır (96). Hino ve arkadaşları maymunlarda SAK sonrası GC ve nöronal nitrik oksid sentaz miktarı değişmezken, endotelial nitrik oksid sentaz (eNOS)'da %56 oranında azalma olduğunu göstermişlerdir (97).

Vermeulen 1996 da SAK sonrası insan BOS unda ET içeriğinin arttığını, aynı sene Hino ve arkadaşları SAK sonrası maymun serebral arterlerinde ET reseptörlerinin arttığını göstermiştir. (98,99) Yapılan çalışmalarda tavşan ve ratlarda ET reseptör blokajının vazospazmı yavaşlattığı da gösterilmiştir (100,101) . SAK sonrası artmış ET

etkisi ve azalmış endotelial NO, vazospazm gelişiminde etkili olabilir (102 ). SAK sonrası ortaya çıkan hipoksi gibi faktörler; EDCF ve EDRF'lerin normal fizyolojik dengesini değiştirerek indirekt olarak prostasiklin üretimini azaltıp, tromboksan sentezinin aktivasyonu ve NO temizleyen oksijen radikallerinin üretimini sağlayarak vazospazm gelişimine katkıda bulunabilirler (103).

### **3. İnflamatuvar Yanıt**

SAK sonrası görülen vazospazmın patolojisi hem nörojenik ve hem de klasik inflamatuvar yanıt neticesinde meydana gelmektedir (104).

Yapılan çalışmalarda SAK sonrası BOS'da substance P ve kalsitonin gen ile ilişkili peptid konsantrasyonlarında artış olduğu gösterilmiştir (105). Bu maddeler nörojenik inflamatuvar yanıttan sorumludurlar. Histamin, bradikinin, 5-hidroksitriptamin ve ET-I ile beraber kan-beyin bariyerinin bozulmasına yol açarak etkilerini gösterirler (104).

SAK sonrası ekstravaze olan kan bir takım mekanizmalarla klasik inflamatuvar yanıtın oluşmasına neden olmaktadır. Bu mekanizmalar;

- 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 üretimi,
- Kompleman ve trombinin protrombotik ve proinflamatuvar etkileri,
- Perivasküler ve intramural makrofaj ve granülositlerin adhezyon molekülleriyle etkileşimleri,
- ET-I'in etkileri gibi basamakları içerir (104).

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

Arter duvarındaki değişiklikler olayın nedeninden daha çok sonucudur. Arteriyel hiperplazi, ödem ve trombosit agregasyonu sonucu gelişen yapısal değişiklikler serebrovasküler rezistansı artırarak serebral kan akımını azaltırlar. 1989 yılında maymunlarda deneysel SAK modelinde arter duvar değişikliklerini Findlay ve arkadaşları çalışmışlardır. Çalışmada elektron mikroskopu kullanmışlar ve 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 kontraksiyon dışında endotel ve vasküler düz kas hücrelerindeki dejeneratif değişikliklerin de tabloya eşlik ettiğini göstermişlerdir(106).

#### **2.2.5. Klinik Özellikler**

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 gösterir. 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 plandadır (107). Anjiyografik serebral vazospazm tesbit edilen hastaların yarısı asemptomatik olabilmektedir (61).

#### **2.2.6. Tanı**

Serebral vazospazmın teşhisinde klinik ve radyolojik değerlendirmenin beraber olması gerekmektedir. Anjiyografi vazospazmı saptamada altın standart tanı yöntemidir. Anjiyografide saptanan vazospazm radyolojik vazospazm tanısı koydursada; radyolojik vazospazm tesbit edilen hastaların sadece yarısında semptomatik vazospazm tablosu görülmektedir. Bu nedenle radyoloji tanı koydurmaktan çok tanıyı destekler niteliktedir. Transkranyal doppler ultrasonografide tanıda kullanılabilir. TCD serebral vasküler akım hızını ölçebilen güvenli ve non-invaziv tanı yöntemidir. Middle serebral arter akım hızının 20 cm/sn.'den yüksek olduğu hastalar daha fazla klinik vazospazm riskine sahiptirler. 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 (61).

### 2.2.7. Tedavi

Anevrizmal kanama sonrası hastanın kliniğinin kötüleşmesinin vazospazma bağlı olduğunu, kliniğini bozan diğer nedenleri eledikten sonra söyleyebiliriz. Bu nedenlere hiponatremi, sepsis, hipoksi, hidrosefali ve postiktal paralizi ile birlikte olan nöbetler örnek olarak verilebilir.

**3-H Tedavisi:** Cerrahi veya endovasküler tedavi sonrası semptomatik serebral vazospazm gelişen hastalara uygulanacak tedavide öncelikle intravenöz sıvı replasmanını arttırmak vardır. İlk olarak 1976 yılında Kosnik ve Hunt tarafından hipervolemi, hemodilüsyon ve hipertansiyonun vazospazma bağlı gelişen nörolojik defisitlerin düzeltme etkisini bildirmiştir (52). Sıvı replasmanı tansiyonu, kardiyak outputu ve serebral perfüzyon basıncını artırır. 3H tedavisinin yararı henüz tam olarak teyid edilememiştir. Fakat bu tarz tedaviyle bildirilen başarılı sonuçlar alınan vaka serileri bulunmaktadır. Ancak bu yayınlar vazospazm tedavisinde rehber olacak yeterli kanıtı barındırmamaktadır (108,109). 3 H tedavisi sırasında miyokard iskemisi, pulmoner ödem, hiponatremi başta olmak üzere elektrolit bozuklukları, serebral hemoraji, serebral ödem ve güven altına alınmamış anevrizmanın rüptüre olması gibi ciddi komplikasyonlar da görülebilir. Bu sebeble bazı klinikler 3H tedavisi yerine normotansif, normovolemik takibi tercih etmektedirler (110,111). Tedaviye genellikle vazospazm için tehlikeli olan dönem geçene kadar veya vazospazmın klinik ve transkranyal doppler inceleme ile geçtiğinin ortaya konmasına kadar devam edilir (110).

**Vazodilatatör Tedavi:** Nicardipin ve intraarteriyel papaverin uygulamasının semptomatik vazospazmı etkin şekilde düzelttiği bildirilmiştir (112,113).

**Kalsiyum Kanal Blokörleri:** Kalsiyum antagonistleri üç H tedavisine ek olarak birçok klinik çalışmada değerlendirilmiş ve serebral vazospazmın temel tedavilerinden birini oluşturmuştur. Kalsiyum antagonistleri vazospazm önlenmesi ve düzeltilmesinde etkili bulunmuş ve nöroprotektif özelliklere sahip olduğunda gösterilmiştir (114 ). İntravenöz kalsiyum kanal antagonisti kullanımı ile birlikte, vazospazma bağlı ölüm ve kalıcı defisitlerde %1'den %10'a kadar azalma olduğu bir çok çalışmada bildirilmiştir (115,116,117). Oral kalsiyum kanal blokleri olan, nimodipin bir çok çalışmada kullanılmıştır (114,118,119,120). Bu çalışmaların özellikleri şu şekilde sıralanabilir : 1) Oral nimodipin her evredeki hastalarda vazospazma bağlı kötüleşmeyi belirgin olarak azaltmıştır; 2) Çalışmaların bir tanesi haricinde, semptomatik vazospazm insidansı

nimodipin tedavisinden etkilenmemiştir ; 3) Nimodipin tedavisi ile anjiyografideki damar çapı etkilenmemiştir; 4) İlacın komplikasyon ve yan etkileri minimaldir. Bir retrospektif analizde nimodipinin ucuz ve minimal yan etkilere sahip bir ilaç olduğu gösterilmiştir (121). Nimodipin, sağkalımı iyilestirir ve anjiyografik vazospazm insidansını azaltmamaktadır (122). British anevrizma nimodipin çalışmasında, nimodipin kullanan hastalarda serebral infarkt oluşma sıklığı %33'den %22'ye düşmüş ve hastaların kötü gidişlerinde %40 azalma sağlanmıştır (118). SAK sonrasında bu ilacın profilaktik kullanımının iyi gidiş ihtimalini arttırmada etkili olduğu gösterilmiştir (123). Böylece nimodipinin anevrizmal SAK'ya bağlı semptomatik vazospazm tedavisinde güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda ise intravenöz nicardipin ile tedavi edilen hastalarda semptomatik ve anjiyografik vazospazmda belirgin azalma gözlenmiş ancak üçüncü ayda gruplar arasında belirgin fark saptanmamış ve nörolojik sonuçlar üzerine hiçbir yararı olmadığı belirtilmiştir (124,125). Rinkel ve ark, bu ilaçların anevrizmal SAK sonrası sekonder iskemi oranını ciddi oranda azaltsa da (%40'dan %27'ye) rüptüre bağlı yüksek mortalite oranını azaltmadığını belirtmişlerdir (126). Magnezyum eklamptik vazospazm tedavisinde kullanılmaktadır. Son dönemde yapılan birçok çalışmada, magnezyumun antivazospastik bir ajan olarak serebral vazospazm tedavisinde etkili konsantrasyonlarında bile vazospazmı engellemediğini bildirmişlerdir (127,128). Veyna ve ark, anevrizmal SAK'lı olup postop magnezyum alan ve almayan iki grup hastayı karşılaştırdıklarında serebral vazospazm sıklığında farklılık saptamamışlardır (129). Yeni bir randomize çalışmada Bergh ve ark, Mg'un geç serebral iskemiye azaltıp sonuçları iyileştirdiğini göstermişlerdir (130).

**Balon Anjioplasti:** Balon anjioplastiyle yararlı sonuçlar bildirilmiştir. Fakat işleme bağlı mortalitenin, %2-5 civarında olması, bu yöntemin vazospazm tedavisinde yaygın olarak kullanılmasını engellemiştir (131,132).

**Antiinflamatuvar Tedavi:** Deneysel çalışmalarda birçok antiinflamatuvar ilaç kullanılmış olmasına rağmen bu maddelerin çoğu klinik etkinlik gösterememiştir.

Mayberg ve ark, vazospazm tedavisinde özet ve öneri olarak; başta oral nimodipin olmak üzere diğer oral veya intravenöz kalsiyum antagonistlerini vazospazma bağlı kötü gidişatı önlemek için önermişlerdir. Üç H tedavisini vazospazmın iskemik komplikasyonlarının önlenmesi ve tedavisinde, hemodinamik fonksiyonları, yoğun bakım koşullarında takip edilmek şartıyla daha sınırlı önerirken

intrasternal fibrinolizis, antioksidan ve antiinflamatuvar ajanları ve bunlardan fayda görmemiş hastalarda da transluminal anjioplastiyi önermişlerdir (133).

## 2.3 Serbest Radikal Reaksiyonu, Lipid Peroksidasyonu

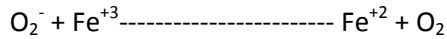
### 2.3.1 Serbest Oksijen Radikalleri

Oksijenden oluşan radikaller, biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikallerdir. SAK sonrasında eritrositlerin parçalanmasıyla açığa çıkan oksihemoglobinin methmoglobine dönüşümü sırasında süperoksidler ( $O_2^-$ ) oluşur. Oksijen molekülünün bir elektron alıp indirgenmesi veya indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu ile süperoksid ( $O_2^-$ ) radikali oluşur (134). Süperoksid ( $O_2^-$ ) radikali de süperoksid dismutaz enzimi ile hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'ye dönüşür (135).

**Tablo-4:** Hidrojen Peroksid Oluşumu

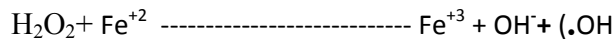


**Tablo-5:** Haber – Weiss Reaksiyonu



Oluşan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) kanama sonucu ortamda bulunan eritrositlerin parçalanmasıyla açığa çıkan demir ile reaksiyona girer ve hidroksi radikallerin ( $OH^-$ ) oluşumuna neden olur. Hidroksi radikallerinin ( $OH^-$ ) önemi ise,  $O_2^-$  radikali veya Fe gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek hidroksil ( $\cdot OH$ ) radikalini oluşturmaktır.

**Tablo-6:** Fenton Reaksiyonu

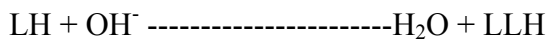


Hidroksil radikali; son derece reaktif bir oksijen radikalidir. Oluştığı yerde büyük hasara sebep olur(136). En önemli üç serbest radikal süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil iyonlarıdır . Bu toksik bileşikler hücrenin çeşitli yerlerinde sitozol, mitokondri, lizozom, peroksizom ve plazma membranı gibi çeşitli oksidatif enzimlerin aktivitesi ile üretilebilirler. Reaktif oksijen türevleri (ROT) aerobik canlılar için gerekli birçok reaksiyonda yer alırlar ve bunlar endojen antioksidan sistemlerle ortadan kaldırılırlar. Normalde ROT ile endojen antioksidan mekanizmalar arasında var olan denge ortadan kalkarsa oksidatif stres gelişir(137). Oksidatif stres hücre DNA'sının parçalanmasına, hücre membranı iyon transportunu sağlayan protein yapıların ve diğer protein yapıların yıkımına neden olur. Bunun neticesinde hasarlanmış hücre içine kalsiyum birikimi olur ve hücre içi yıkım enzimleri etkinleşir (138).

### 3.3.2 Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikaller bütün biyomolekülleri etkiler. Fakat lipidler biyomoleküllerden en hassas olanlarıdır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve sonucunda dönüşümsüz membran hasarı oluşturur .Lipid peroksidasyonunda en etkili olan serbest radikal hidroksil radikalidir(139).

Lipid peroksidasyonu sonucunda lipid radikali oluşumu olur. Lipid radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksiradikaline dönüşür. Peroksiradikalde lipid hidrokside indirgenir. Bunun neticesinde hücre membranı destabilize olup membran potansiyeli oluşturamaz hale gelir. Vasküler endotelyal hücrelerde gelişen lipid peroksidasyonu sonucunda hücre yapısında hasar oluşur, vasküler permeabilite artışı neticesinde hücre içi kalsiyum birikimi olur.



*Lipid, OH-: Hidroksiradikal*

Direkt membran yapısına ve indirekt reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda malonil dialdehit (MDA) meydana gelmektedir. MDA membranda, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir (139).

Membran yapısı bozulduğu için geçirgenlik artar ve transmembran proteinlerinde hasar oluşturur. Lipid membranın destrüksiyonu hücrede iyon ve enzim dengesizliğine, bu da kalsiyum akımına, hücre ödemi ve nekroza yol açar. (140)

### 2.3.3 Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest oksijen radikallerinin hasar yapıcı özelliklerine karşı vucutta antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Antioksidanlar, ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonlarının istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Antioksidanlar; lipidlerin, proteinlerin, nükleik asitlerin ve daha birçok hedef molekülün koruyucusudurlar. (141,142,143)

#### **Başlıca Enzimatik Antioksidanlar;**

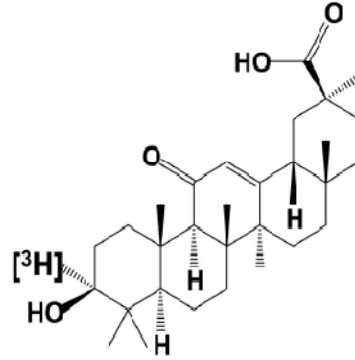
**Katalaz (CAT);** Hidrojenperoksidi su ve moleküler oksijene çevirir. Ortamdaki hidrojenperoksit konsantrasyonu artışı CAT miktarını artırır (143).

**Süperoksit Dismutaz (SOD);** SOD ,süperoksit radikallerinin daha az toksik etkili hidrojen perokside ve oksijene dönüşmesini katalize etmektedir.

**Glutasyon Peroksidaz (GPx);** GPx, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur. Eritrositlerde de GPx, oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. Glutasyon s-transferaz (GST), glutasyon Redüktaz (GR) ve myeloperoksidaz diğer enzimatik antioksidanlardır. Glutasyon (GSH), A, E ve C non enzimatik antioksidanlara örnek gösterilebilir.

### 2.3.4 18B-Glycyrrhetinik Asit

18B-glycyrrhetinik asit gliserininin aglikon hali olup gliserinin bir komponentidir. 11. pozisyonunda keton grubu olan bir kimyasal yapıdır (Şekil3.4).



**Şekil 2.4.**18β- glycyrrhetinik asidin yapısı

GA aynı zamanda meyan kökü özü olarakta bilinir. Oral olarak gliserinin, uygulandıktan sonra bağırsak florasında β-glukuronidaz aktivitesi ile GA'e metabolize olur. Ardından GA ince bağırsakta emilip sistemik dolaşıma katılır. GA'in anti-inflamatuvar, anti-allerjik, anti-gastrik ülser, anti-hepatit ve anti-hepatotoksik, antioksidan aktivite gibi birçok farmakolojik özelliği mevcuttur. Son çalışmalar GA türevlerinin sıçanlarda iskemi/reperfüzyon beyin hasarını, deneysel otoimmün ensefaliti, amiyotrofik lateral sklerozu ve Alzheimer hastalığının olumsuz etkilerini azaltıcı etkisi olduğunu göstermiştir (144,145,146,147,148).

Bu bulgular GA'in bazı moleküller ile aksiyone olup santral sinir sisteminde farmakolojik etkisini gösterdiğini güçlü bir şekilde desteklemektedir. Aynı zamanda GA'in 11β-hidroksisteroid dehidrojenaz-1 mineralokortikoid reseptörüne ve gap-janctionına bağlandığı ve bunların çoğu beyin hücrelerinde bulunduğu da gösterilmiştir (149,150).

GA glycyrrhiza glabra (meyan kökü) bitkisinde bulunur. Gliseriza uzun zamandır bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır. Mesela geleneksel Japon ilacı olan yokukansan içinde bulunan 7 bitkisel ilaçtan biri gliserizadır. Bu ilacın Japon sağlık bakanlığı tarafınca; nöroz, insomnia, gece ağlamaları, çocuk huzursuzluğu gibi klinik durumlarda kullanılması onaylanmaktadır. Son zamanlarda klinik çalışmalar bu ilacın demansın agresiflik, ajitasyon, anksiyete, halüsinasyon, uyku bozukluğu, psikotik bozukluk gibi davranışsal ve fizyolojik semptomlarını belirgin bir yan etkisi olmadan düzenlediğini göstermiştir. Bu etkinin altında yatan mekanizmanın glutamatla uyarılmış nöral eksitasyon olduğu düşünülmektedir. GA in astrositlerde glutamatın hücre dışına atılımını artırıp glutamat transport aktivitesini hücrede yükselttiği düşünülmektedir. Böylece GA'in glutamatla uyarılmış nörotoksititeyi kortikal nöronlarda azalttığı

gösterilmiştir. Diğer bir taraftan, son çalışmalar oral alınan GA in kana emildikten sonra kan-beyin bariyerini geçtiği yönündedir. Genellikle bileşikler farmakolojik etkilerini reseptör, kanal, enzim gibi hedef molekülle temas ederek gösterirler. Fakat GA in beyindeki hedef molekülü ve GA in beyinde spesifik olarak bağlandığı yer net olarak belli değildir. (151,152,153,154).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi ve Deney Hayvanları Etik Kurulu kararıyla 23.05.2014 tarihinde 2014/A-51 protokol numarasıyla onaylanmış olup, Haziran 2014-Temmuz 2014 tarihleri arasında yapılmıştır. Çalışmada daha önce herhangi bir deneyde kullanılmamış ortalama ağırlıkları 250 gr olan Spraque-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışmanın deneysel bölümü, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Preparatların hazırlanması, baziler arter çap ölçümleri ve histopatolojik incelemeleri Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, immünokimyasal ölçümler Farmakoloji 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 ( $22\pm3^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve  $62\pm7\%$  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.

#### **3.1. Anestezi**

Deney hayvanlarının anestezisi, 12 saat önceden aç bırakılarak, spontan solunumda Ketamin Hidroklorür (60 mg/kg) (Ketalar, Parke Davis) ve Xylazine Hidroklorür (10mg/kg) (Rompun-%2 Bayer) karışımının intraperitoneal enjeksiyonu ile

sağlandı. Anestezi sıçanlar ağrıya yanıtsız olacak ve deney sırasında spontan solunumlarına devam edecek şekilde ayarlandı. Gerektiğinde Xylazine ile ek doz anestezi yapıldı. Deney sırasında sıçanların vücut ısısı rektal ısı probu ile kontrol edilerek 37 °C sabit tutulmuştur. Çalışma sonrası sıçanlar normal oda ısısında (20-22 °C) tutuldu.

#### **4.2. Subaraknoid Kanama Modeli ve Uygulanması**

Anestezi sağlandıktan sonra, tüm sıçanların inion ile atlas arası traş edildi. Batikon ile saha temizliği yapıldıktan sonra, inion ile atlas arasında yaklaşık 2 cm'lik cilt bölgesi hazırlandı. Takibinde kontrol grubu dışındaki tüm gruplardaki sıçanlar supine pozisyona getirildi. Batın bölgesinin batikon ile saha temizliği yapıldı ve cilt insizyonunun ardından abdominal aortası ortaya kondu. Abdominal aorta kateterize edilerek, 0.3 ml nonheparinize arteiel kan alındı. Ardından sıçanlar yeniden prone pozisyonuna getirildi. Baş hiperfleksiyona getirilerek atlanto-oksipital mesafeden PPD enjektörü ile sisterna magnaya girildi. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplardaki sıçanlardan eşit miktarda (0,2 ml) BOS boşaltıldı. Yine aynı sıçanlara , abdominal aortadan alınan nonheparinize kan eşit miktarda (0,2ml) yavaşça enjekte edildi . Bu işlemi takiben sıçanlar 15 dakika süreyle daha önceden hazırlanan sehpa üzerinde trendelenburg pozisyonunda tutularak kanın prepointin sisternaya yayılması sağlandı. Sıçanlar tamamen uyandıktan sonra kafeslerine alındı.

#### **3.3. Deney Grupları**

Bu çalışmada, kontrol grubu (SAK yapılmayan) (n=7), SAK yapılan (n=7), SAK yapıp gavajla GA 50 mg/kg/12h (n=7), SAK yapıp gavajla GA 100 mg/kg/12h (n=7) verilen toplam 28 adet Spraque-Dawley cinsi erişkin sıçan kullanıldı.

Çalışmamızda GA (Sigma-Aldrich, Ürün No: G10105) kullanıldı. İlaç dozları GA miktarları hesaplanıp, 1 ml'de 25 mg olacak şekilde mısır yağında çözülerek hazırlandı.

##### **1. Grup (Kontrol,Sham ) (n=7)**

Bu gruptaki sıçanlara , hiçbir işlem uygulanmadan 48 saat sonunda biyokimyasal ve histopatolojik örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildi.

## **2. Grup (SAK ) (n=7)**

Bu gruptaki sıçanlara , SAK işleminden sonra hiçbir tedavi verilmedi. 48 saat sonunda biyokimyasal ve histopatolojik örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildi.

## **3. Grup(SAK +GA 50 ) (n=7)**

Bu gruptaki sıçanlara, SAK işleminden sonra başlamak sureti ile 30. dakikada, 12. saatte ve 24. saatte olmak üzere gavaj (PO) yoluyla, mısır yağında çözülmüş 0.5 ml/12.5 mg GA verildi. 48 saat sonunda biyokimyasal ve histopatolojik örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildiler.

## **4. Grup (SAK +GA 100) (n=7)**

Bu gruptaki sıçanlara SAK işleminden sonra başlamak sureti ile 30. dakikada, 12. saatte ve 24. saatte olmak üzere gavaj (PO) yoluyla, mısır yağında çözülmüş 1 ml/25 mg GA verildi. 48 saat sonunda biyokimyasal ve histopatolojik örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildi.

### **3.4 Örneklerin Alınması ve Hazırlanması**

#### **3.4.1. Sakrifikasyon İşlemi:**

48 saat sonunda tüm sıçanlara, spontan solunumda Ketamin Hidroklorür (60 mg/kg) (Ketalar, Parke Davis) ve Xylazine Hidroklorür (10mg/kg) (Rompun-%2 Bayer) karışımının İP enjeksiyonu ile anestezi sağlandı. Anestezi sonrasında tüm sıçanlara torakotomi yapıldı. Torakotomi sonrasında, kan alma işlemine geçildi. Sol ventrikül içerisine girilerek tüm deneklerden ortalama 6-7 cc kan alındı. Kan alınması işlemini takiben 5 dakika süreyle intrakardiyak serum fizyolojik verilerek doku perfüzyonu yapıldı. Böylece beyin dokusu kan elemanlarından arındırılmış oldu. Ardından tüm deneklere bilateral fronto-parieto-okspital kraniektomi yapıldı. Foramen magnum üzerinde kalan serebrum, serebellum ve beyin sapı total olarak anatomik bütünlüğü korunacak şekilde çıkarıldı. (resim 3.1)



**Resim 3.1.** Foramen magnum üzerinde kalan serebrum, serebellum ve beyin sapı total çıkarılmış sıçan beyinlerinin alttan görünüşü. (resim 4.1)

Makroskopik olarak, SAK yapılan tüm deneklerde beyin sapı bazal yüzeyinde vertebral arterler ve baziler arter çevresinde yaygın subaraknoid kanama izlendi. Baziler arteri içine alan beyin dokusu kesitleri alındı. Alınan kesitler %10 formaldehit içerisinde alınarak fiksede edildi. Doku homejenatlarının hazırlanması amacıyla alınan örnekler alüminyum folyo içerisinde  $-30^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

#### **3.4.2. Homojenatların Hazırlanması:**

Alınan dokular tartılarak cam tüplere konuldu. Üzerine 1/10 (g/h) oranında dilüsyon olacak şekilde %1,15'lik potasyum klorür ilave edildikten sonra soğuklukları muhafaza edilerek cam-teflon derin dondurucudan homojenizatörde 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika homojenize edildi. Hazırlanan bu homojenatlarda doku protein tayinleri yapıldı. Geri kalan homojenat  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 45 dakika süreyle 3500 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Bu süpernatantlarda GSH ve protein düzeyleri ile GSH-Px ve CAT enzim aktiviteleri ölçüldü. Geri kalan süpernatant kısmına kloroform/etanol (3/5, h/h) karışımından oluşan ayraç 1/1 (h/h) oranında ilave edildi ve vorteks yardımıyla karıştırıldı. Daha sonra 45 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi. Üstte kalan kloroform/etanol fazında SOD enzim aktivitesi ve protein ölçümleri tekrar yapıldı.

#### **3.4.3. Biyokimyasal İncelemeler:**

Doku süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümünde; enzim aktivitesi Sun ve ark. tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı.(155)

Doku glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivite ölçümünde; aktivite tayini Beutler tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı. (156)

Doku katalaz (CAT) enzim aktivitesinin ölçümünde; aktivite tayini Aebitarafından tarif edilen metoda göre yapıldı. (157)

Doku redükte glutasyon (GSH) ölçümünde; aktivite Ellman tarafından ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim metodu olarak tanımlanan yöntemle göre tayin edildi. (158)

Doku Protein Ölçümünde(TBARS) ;Homojenat ve süpernatantlardaki protein miktarı tayinleri Lowry ve ark. tarafından tarif edilen yöntemle göre ölçüldü.(159)

#### **3.4.4. Histolojik İncelemeler:**

Deney süresi sonunda sıçanlar ketamin/ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen sıçanlardan beyin doku örnekleri alındı. Alınan doku örnekleri %10'luk formaldehit içerisinde 48 saat süre ile tespit edildi. Tespit işleminden sonra doku örneklerine histolojik doku takip prosedürü uygulandı ve parafin bloklar içerisine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 5µm kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E) boya metodu ile boyandı ve Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz Sistemi (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) ile incelenerek fotoğraflandı.

Hematoksilen – Eozin (H-E) ile boyanan histolojik kesitlerde baziler arterlerin transvers kesitleri ışık mikroskopik olarak histopatolojik yönden değerlendirildi. Baziler arterlerin çapı, baziler arterin lümen çapı ve damar duvar kalınlığı Leica Q Win Görüntü Analiz Sistemi kullanılarak ölçüldü.

#### **İstatistiksel Analizler**

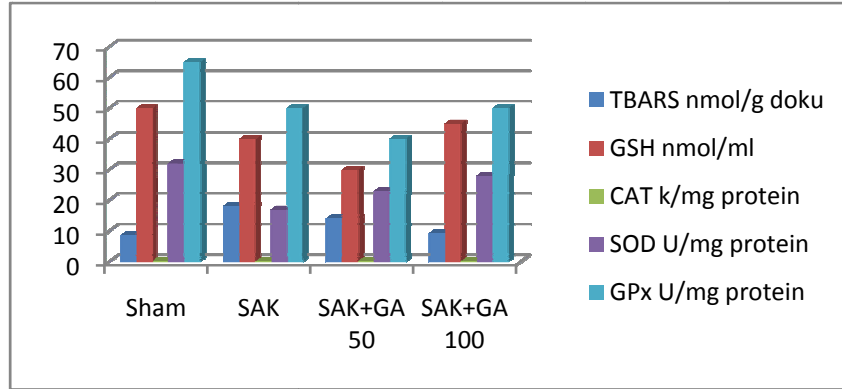
İstatistiksel değerlendirmeler, “SPSS for Windows 12.0” paket programı kullanılarak yapıldı. Normallik testi yapıldıktan sonra veriler non-parametrik test varsayımlarına uyduğu için grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis H varyans analizi kullanıldı. Önemlilikler, Mann-Whitney U testi ile ikili karşılaştırmalar yapılarak değerlendirildi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edildi ve  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Bulgular

**Tablo VII:** SAK oluşturulmuş ve GA verilmiş sıçanlarda TBARS, GSH, SOD, CAT ve GPx düzeyleri (ort±SD n=8) Aynı sütundaki a,b,c ve d harfleri gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ( $p \leq 0.01$ ) göstermektedir

|                       | <i>TBARS<br/>nmol/g doku</i> | <i>GSH nmol/ml</i>      | <i>CAT k/mg<br/>protein</i> | <i>SOD U/mg<br/>protein</i> | <i>GPx U/mg<br/>protein</i> |
|-----------------------|------------------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <i>Sham</i>           | 8.62±0.46 <sup>a</sup>       | 219.8±6.73 <sup>a</sup> | 0.024±0.0012 <sup>a</sup>   | 32.60±1.23 <sup>a</sup>     | 280.6±12.3 <sup>a</sup>     |
| <i>SAK</i>            | 18.2±0.93 <sup>b</sup>       | 113.9±8.12 <sup>b</sup> | 0.011±0.0013 <sup>b</sup>   | 17.16±1.91 <sup>b</sup>     | 165.4±11.2 <sup>b</sup>     |
| <i>SAK+GA<br/>50</i>  | 14.1±1.21 <sup>c</sup>       | 158.8±11.9 <sup>c</sup> | 0.012±0.0018 <sup>b</sup>   | 23.81±1.86 <sup>c</sup>     | 203.6±19.6 <sup>c</sup>     |
| <i>SAK+GA<br/>100</i> | 9.3±0.96 <sup>a</sup>        | 201.1±9.12 <sup>a</sup> | 0.018±0.0016 <sup>c</sup>   | 28.15±2.19 <sup>d</sup>     | 255.4±17.5 <sup>d</sup>     |



**Grafik I:** SAK oluşturulmuş ve GA verilmiş sıçanlarda TBARS, GSH, SOD, CAT ve GPx düzeyleri (ort±SD n=8)

TBARS, SOD, CAT, GSH ve GPx düzeylerine ait değerler Tablo VII ve Grafik I de verilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda SAK oluşturulmuş sıçanlarda oksidatif hasarın göstergesi olan TBARS düzeyinin kontrol ve diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi. Ayrıca, aynı deney grubunda SAK oluşturulmasına bağlı olarak antioksidan savunma sistemi elemanları olan GSH,

SOD, GPx ve CAT düzeylerinde istatistik olarak önemli düzeyde azalmaya neden olduğu belirlendi.

Bununla birlikte GA tedavisinin SAK'ın neden olduğu TBARS artışında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma ve bu azalmanın doz bağımlı olarak şekillendiği saptandı. Şöyleki 50 mg/kg doz ile tedavi edilen gruba kıyasla 100 mg/kg dozunda tedavi verilen grupta TBARS düzeyindeki azalma ve SAK'ın etkilerinin tersine çevrilmesi daha belirgindi. Yüksek doz GA verilen gruptaki TBARS değeri kontrol grubunun değerine yaklaşmış ve iki grup arasında istatistiksel açıdan fark kalmadığı gözlemlendi. Ayrıca, GA tedavisinin yine doz bağımlı olarak antioksidan savunma sistemlerinde SAK'ın oluşturduğu değişiklikleri kısmen tersine çevirdiği saptandı. GSH, SOD ve GPx düzeylerinde düşük doz GA tedavisinin SAK grubuna göre anlamlı düzeyde parametreleri normale yaklaştırdığı ancak yalnızca CAT düzeyinde düşük doz GA ile bir düzelmenin olmadığı belirlendi. Yüksek doz GA tedavisinde ise tüm parametrelerde SAK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artışların olduğu ve bu artışlar sonucu değerlerin kontrol grubuna yaklaştığı saptandı.

Yüksek doz ve düşük doz GA grupları kıyaslandığında meydana gelen değişimlerin tüm parametrelerde doza bağlı olarak değiştiği ve yüksek doz GA verilen gruplarda düşük doz GA uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların bulunduğu belirlendi.

#### **4.2. Histopatolojik Bulgular:**

**1. Kontrol grubu:** SAK yapılmayan grup(n=7)

**2. SAK grubu :** SAK yapılan grup (n=7)

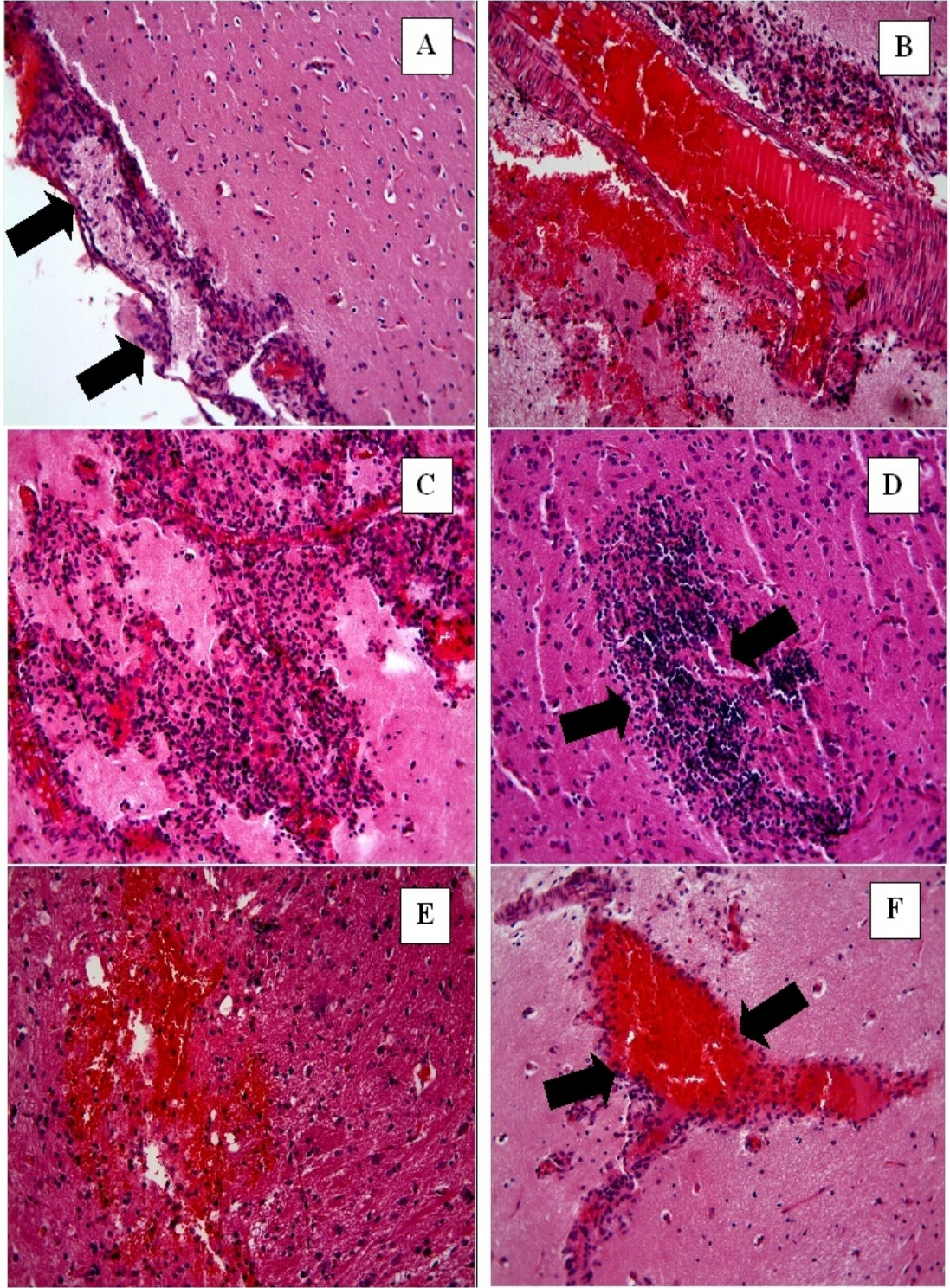
**3.SAK + GA50 grubu(n=7)**

**4.SAK + GA100 grubu(n=7)**

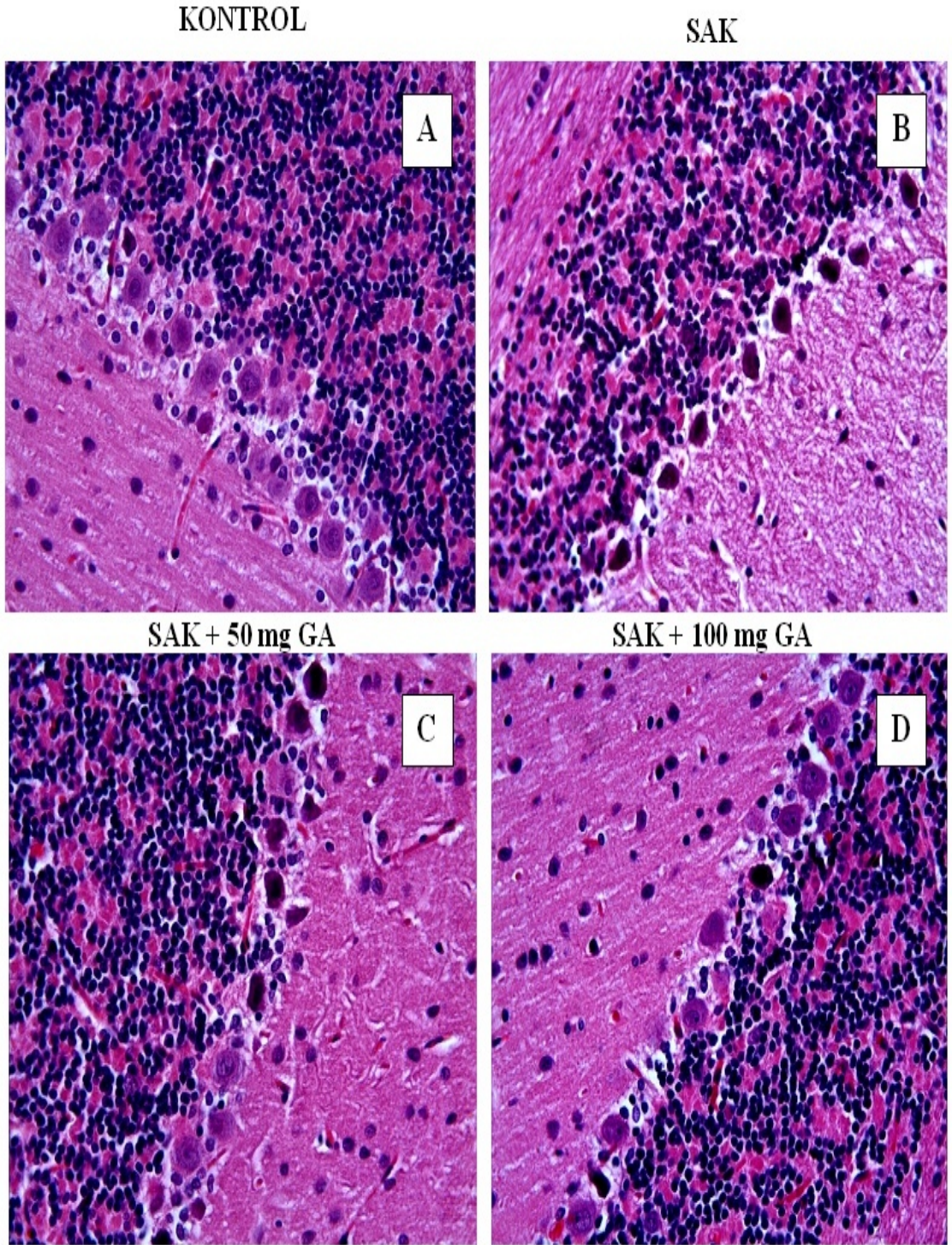
Kontrol grubunda beyin dokusu normal histolojik görünümde izlendi. SAK grubuna ait H-E ile boyanan beyin doku örneklerinde piamater tabakasında konjesyon ve hücre infiltrasyonu (Resim 6.1A), vasküler konjesyon (Resim 6.1B), hücre infiltrasyonu (Resim 6.1B,6.1C,6.1D,6.1F) ve hemoraji (Resim 6.1E,6.1F) gözlemlendi. Ancak GA uygulamasının, SAK modeli oluşturulan gruptaki histopatolojik hasarı azalttığı, bu olumsuz etkileri anlamlı derecede giderdiği saptandı. Şöyleki yüksek doz

(100mg/kg) GA uygulamasının düşük doz (50mg/kg) GA uygulamasına göre oluşan histolojik hasarı daha anlamlı düzeyde olumlu yönde değiştirdiği belirlendi. Kontrol grubunda beyin korteksinde bulunan nöronların normal histolojik görünümde olduğu izlendi (Resim 6.2A). SAK grubunda (Resim 6.2B) ise bu nöronlarda oldukça fazla dejenerasyon olduğu, ancak 50 mg (Resim 6.2C) ve 100 mg (Resim 6.2D) 18 $\beta$ -Glycrrhetinic acid uygulamasının, oluşan nöron hasarında doz bağımlı olarak belirgin derecede azalmaya sebep olduğu tespit edildi. Buna ilaveten beyincik bölgesi incelendiğinde kontrol grubunda (Resim 6.3A) purkinje hücrelerinin normal histolojik görünümde olduğu, SAK modeli oluşturulan grupta (Resim 6.3B) ise purkinje hücrelerinde belirgin dejenerasyon olduğu saptandı. Yine GA'nın doz bağımlı olarak 50 mg (Resim 6.3C) ve 100 mg (Resim 6.3D) dozlarında oluşan hücre hasarını anlamlı düzeyde tersine çevirdiği belirlendi.

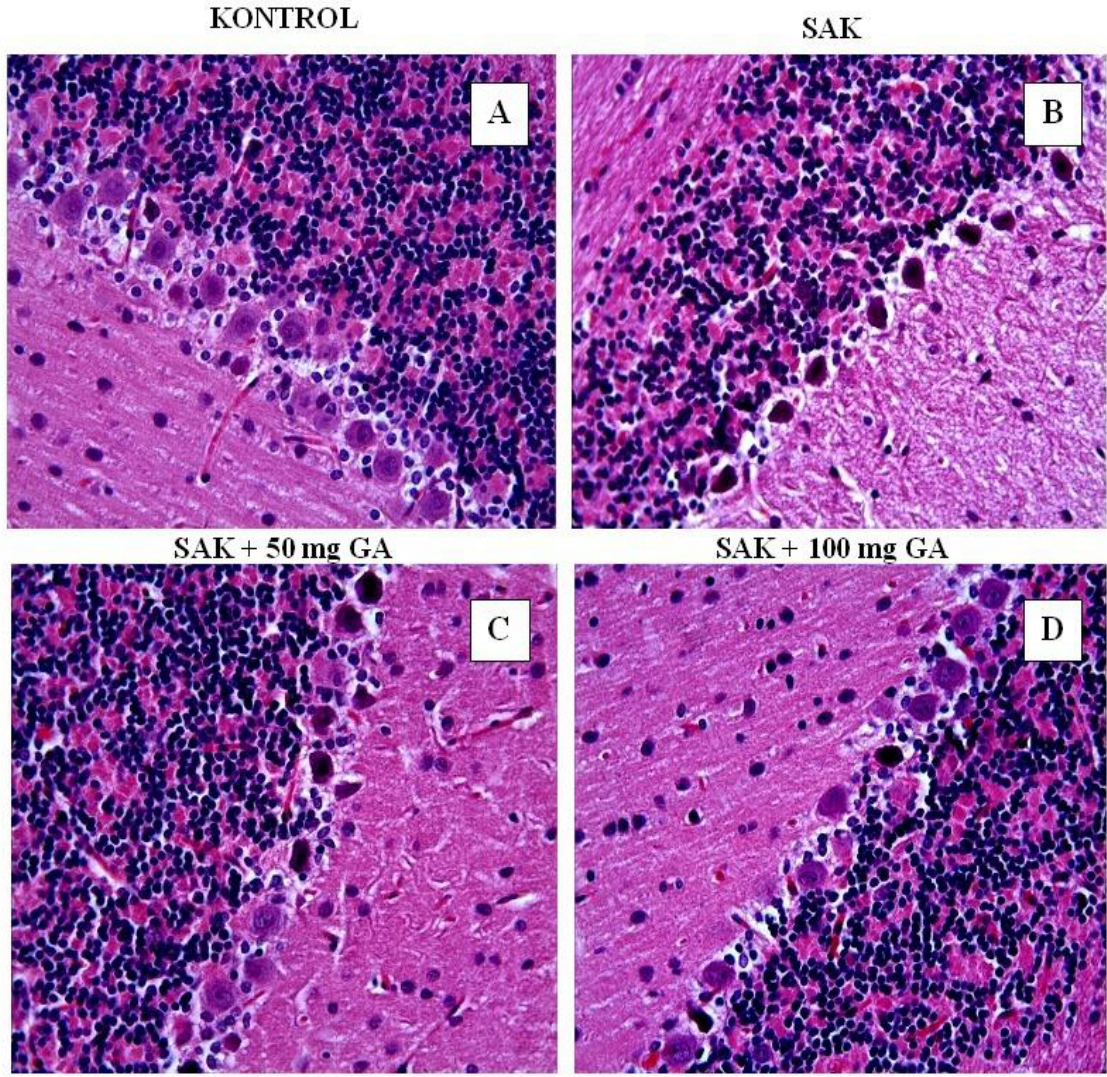
# SAK



**Resim 4.1:**SAK grubu: Piamater tabakasında hücre infiltrasyonu ve konjesyon (oklar) (A), Beyin dokusunda vasküler konjesyon (B) ve hücre infiltrasyonu (B, C, D, F), hemoraji (E, F). A, B, C, E, F:H-E;x20, D:H-E;x40.



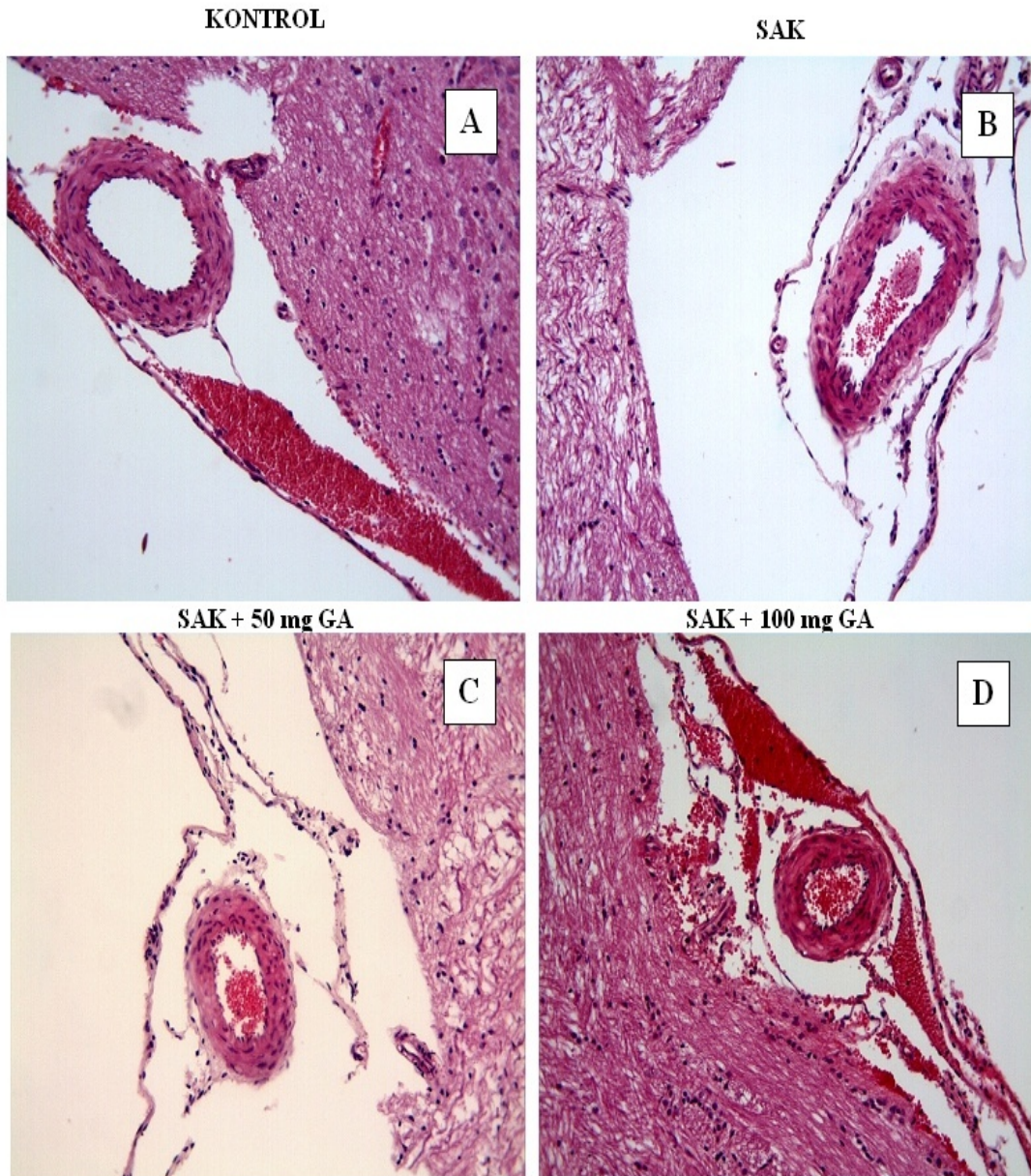
**Resim 4.2:**Kontrol grubu; (A) Normal histolojik görünümde Purkinje hücreleri. SAK grubu; (B) dejenere purkinje hücreleri, SAK+ GA50 (C) ve SAK+GA100 (D); dejenere hücrelerde azalma. A,B,C,D: H-E; x40.



**Resim 4.3 :**Kontrol grubu; (A) Normal histolojik görünümde Purkinje hücreleri. SAK grubu; (B) dejenere purkinje hücreleri, SAK+ GA50 (C) ve SAK+GA100 (D); dejenere hücrelerde azalma. A,B,C,D: H-E; x40.

**Baziler Arter:**Kontrol grubunda ışık mikroskobu incelemesinde 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 belirgindi. Bununla birlikte GA uygulamalarının baziler

arterde meydana gelen ve SAK'ın neden olduğu değişiklikleri doz bağlı olarak anlamlı düzeyde tersine çevirdiği belirlendi. Şöyleki ışık mikroskobu ile incelemelerinde damar duvar kalınlıklarındaki artışın gerilediği ve baziler arter çapı ve lümen çapında artış olduğu gözlemlendi. Ayrıca GA uygulamasının düz kas hücrelerinde minimal kontraksiyon, sitoplazmik vakuolizasyonda belirgin derecede azalmaya neden olduğu izlendi. Buna ilaveten 100 mg GA uygulanan grupta düzgün görünümlü endotel yapısı ve düz kas hücrelerinde minimal vakuolizasyon olduğu belirlendi.



**Resim 4.4:** Kontrol grubu (A), SAK grubu (B), SAK + 50 mg GA (C), SAK + 100 mg GA (D) gruplarında baziler arter kesitleri. H-E; x20.

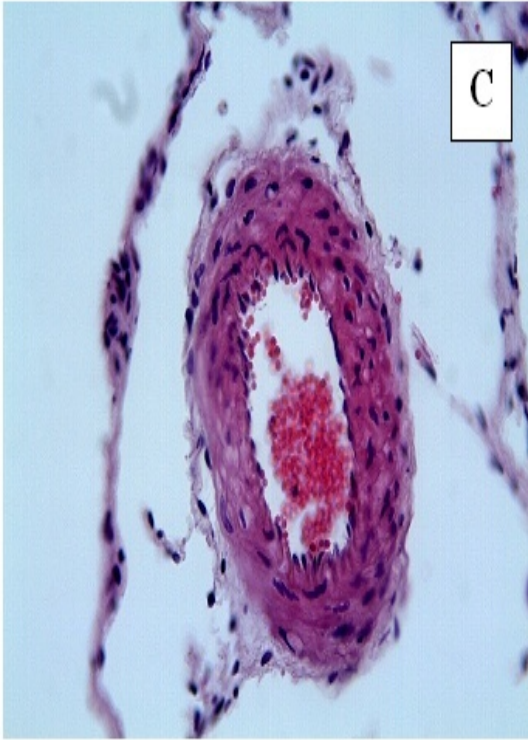
KONTROL



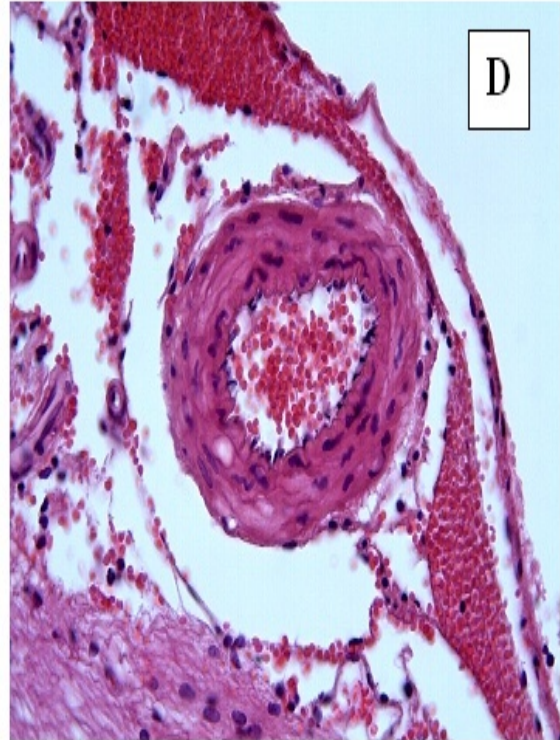
SAK



SAK + 50 mg GA



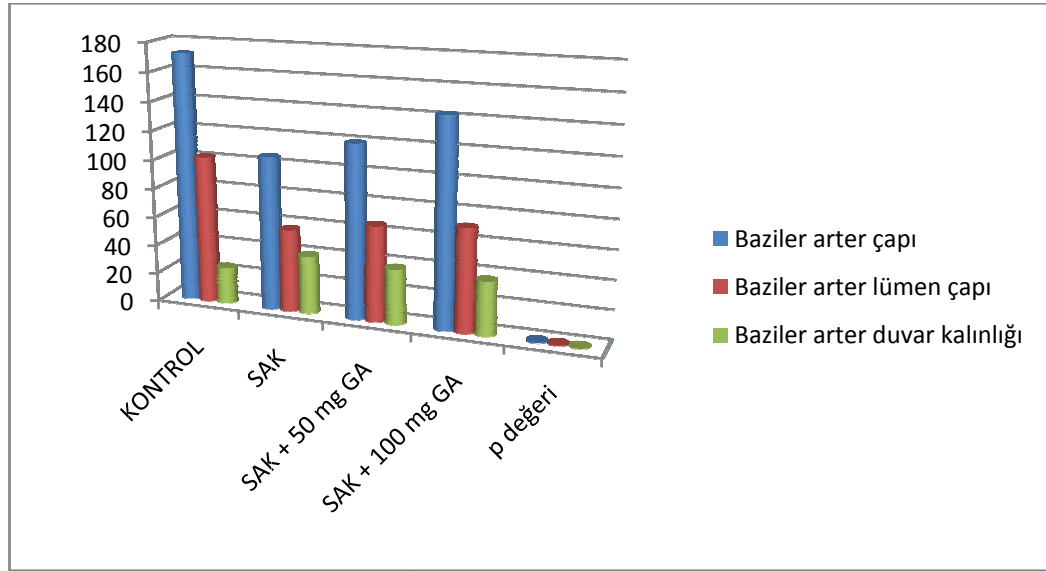
SAK + 100 mg GA



**Resim 4. 5:** Kontrol grubu (A), SAK grubu (B), SAK + 50 mg GA (C), SAK + 100 mg GA (D) gruplarında baziler arter kesitleri. H-E; x40.

**Tablo VIII:** SAK ve GA uygulanan gruplarda baziller arter çapı, baziler arter lümen çapı ve baziler arter duvar kalınlığı değerleri. (n=8) (Ort  $\pm$  SD) a,b harfleri aynı sütundaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

| GRUPLAR         | Baziler arter çapı              | Baziler arter lümen çapı        | Baziler arter duvar kalınlığı |
|-----------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| KONTROL         | 172.98 $\pm$ 35.00 <sup>a</sup> | 102.32 $\pm$ 23.45 <sup>a</sup> | 25.01 $\pm$ 1.50 <sup>a</sup> |
| SAK             | 106.57 $\pm$ 11.66 <sup>b</sup> | 57.65 $\pm$ 7.76 <sup>b</sup>   | 39.95 $\pm$ 9.67 <sup>b</sup> |
| SAK + 50 mg GA  | 120.57 $\pm$ 10.91 <sup>b</sup> | 65.69 $\pm$ 2.08 <sup>b</sup>   | 38.40 $\pm$ 4.34 <sup>b</sup> |
| SAK + 100 mg GA | 143.48 $\pm$ 3.81 <sup>a</sup>  | 71.10 $\pm$ 9.84 <sup>b</sup>   | 36.84 $\pm$ 3.87 <sup>b</sup> |
| p değeri        | p=0.0227                        | p=0.0499                        | p=0.0002                      |



**Grafik II:** SAK ve GA uygulanan gruplarda baziller arter çapı, baziler arter lümen çapı ve baziler arter duvar kalınlığı değerleri. (n=8) (Ort  $\pm$  SD)

## 5. TARTIŞMA

Serebral vazospazm, beyin tabanındaki büyük çaplı arterlerin geç dönem geri dönüşümlü patolojik daralmasıdır. Bu patolojik daralma, daralan arterin distalindeki beyin dokusunda perfüzyon azalmasına ve sonuç olarakta iskemik beyin hasarına neden olmaktadır. Anevrizma rüptürüne bağlı oluşan subaraknoid hemoraji sonrasında gelişen serebral vazospazm, anevrizma hastalarında geç iskemik nörolojik defisitlerden birinci derecede sorumlu olup mortalite ve morbiditenin en önemli sebebidir (160,161,162).

SAK sonrası ilk iki hafta içinde serebral vazospazm varlığı mortaliteyi 1,5 kattan 3 kata kadar arttırır(163). Vazospazm anevrizmal subaraknoid kanamalı hastaların %70'inde görülürken, %30-40'ında semptomatik serebral vazospazm- iskemi görülür. Ortak anevrizma çalışmasında anjiyografik vazospazm insidansının %50'den fazla, semptomatik vazospazmın ise hastaların %32'sinde olduğu bildirilmiştir (160,163,164).

Serebral vazospazmın anevrizma rüptürüne bağlı gelişen SAK' lı hastalarda mortalite ve morbitidenin primer sorumlusu olarak görülmesi nedeni ile serebral vazospazmın patofizyolojisi ve tedavisi anjiyografik vazospazmın ilk olarak tanımlandığı 1951'den bu zamana kadar, birçok araştırmaya konu olmuştur. Birçok çalışma yapılmasına rağmen serebral vazospazmın fizyopatolojisi ve medikal tedavisi multifaktöryel etyolojili olması nedeniyle henüz tam olarak ortaya konulamamıştır. Ortaya konulamaması nedeniyle klinik ve deneysel çalışmalar devam etmektedir. Bu deneysel çalışma vazospazma farmakolojik tedavi alternatifi geliştirmek için planlanmıştır (160,161,162).

İnsanlarda serebral arterlerde deneysel çalışma yapma imkansızlığı nedeniyle çalışmalar hayvan modelleri üzerinde yapılmaktadır. İdeal denekler uygulanan tedavinin

etkinliğine ve toksitesine dayanıklı olmalıdır.Uygulanan SAK modeli insanlardaki anevrizma rüptürü sonrası gelişen subaraknoid kanamaya yakın bir şekilde gerçekleşmelidir. Sıçan SAK modelleri için pahalı olmayan ve büyük laboratuvar hayvanlarına göre kullanımı daha kolay olan ideal bir tercihtir. Solomon ve ark, sıçanlarda SAK öncesi ve sonrası serebral kan akımını karşılaştırmışlar ve sıçanların SAK çalışmaları için potansiyel bir deneysel model olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmaya göre SAK sonrası sıçan baziler arterindeki vazospazmın insandaki vazospazm ile aynı özellikleri gösterdiğini bildirmişlerdir. (165) Bu çalışmada kolay bulunması, ucuz olması, bakımının kolay olması ve halen geçerli bir model olması nedeniyle sıçan tercih edilmiştir.

Sıçanlarda akut vazospazm 48. saatte maksimuma ulaşmaktadır. Bu sebeple çalışmamızda sıçanlar 48. saatte sakrifiye edilmişlerdir. İnsanlarda maksimuma 7.günde ulaşmaktadır.Sıçanlarda insanlara göre vazospazma bağlı nörolojik defisit oranı düşüktür.Bunun nedeni sıçan beyinlerindeki kollateral dolaşımdır.

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 (166). 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 bu teknikle sıçanlarda SAK oluşturulmuştur.

Çalışmamızda daha önce Yu-shu Dong ve ark. Kullandığı SAK oluşturulmasından sonra 30.dakikada, 12.saatte, 24.saatte ilaç uygulama ve 48.saatte sakrifikasyonun yapıldığı yöntem kullanılmıştır.

Serebral vazospazmda; patolojik vazokonstruksiyona bağlı daralan arterin distalinde, beyin perfüzyonunda azalma olduğu ve bunun sonucunda iskemi/reperfüzyona bağlı beyin dokusunda oksidatif stres olduğu bilinmektedir. Oksidatif stres sırasında beyin doku hasarından primer sorumlu hipoksik zeminde oluşan serbest oksijen radikalleri olarak görülmektedir. (167,168)

Serebral vazospazmın fizyopatolojisi yapılan birçok çalışmaya rağmen tam olarak aydınlatılamamıştır. Fizyopatoloji ile ilgili farklı hipotezler ortaya atılmıştır. Ortaya atılan ve kabul gören hipotezlerden bir tanesi, subaraknoid mesafedeki

eritrositlerin yıkılmaya başlaması ile ortaya çıkan oksihemoglobinin serebral vazospazmda ana sorumlu olduğu yönündedir (5,6) Oksihemoglobinin methemoglobine dönüşümü sırasında serbest oksijen radikal oluşumu olur. Serbest radikallerde vasküler ve nöronal yapılarda lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Lipid peroksidasyonu sonucunda lipid radikalleri oluşur. Oluşan lipid radikalleri ,serbest radikaller ve oksihemoglobin hücre membran yapısının bozulmasına neden olurlar. Hücre membran yapısı bozulması sonucunda hücre membran potansiyeli oluşamaz ve hücre içi kalsiyum birikimi ile hücre ölümü olur. Vasküler endotel hücrelerinin ölümünde, vasküler permeabiliteyi artırır. Bunun sonucunda vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon dengesi bozulur. NO üretiminde azalma , süperoksid üretiminde artma olur. Süperoksidler NO i peroksinitrite dönüştürür. Sonuç olarak hem oksihemoglobinin üretiminin artması hemde NO tükenmesi nedeniyle (-) feed-back etkisi oradan kalkar. Normalde vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli faktör olan NO/endotelin dengesi bozulur. Serebral damarlar üzerinde endotelinin vazokonstriksiyon etkisi vardır. Özellikle ET-I bilinen en güçlü vazokonstriktör ajandır (7,8).

Çalışmamızda gliserininin aglikon hali olan 18 $\beta$ -glycyrrhetinik asit kullanılmıştır. GA gliseriza glabra(meyan kökü) bitkisinde bulunmaktadır. Gliseriza özellikle Çin ve Japon alternatif tıbbında kullanım alanı olan bir bitkidir. GA in santral sinir sisteminde etki mekanizması tam anlaşılamamakla birlikte, son çalışmalar GA türevlerinin sıçanlarda iskemi/reperfüzyon beyin hasarını,azaltıcı etkisinin olduğunu göstermiştir.GA iskemi/reperfüzyon beyin hasarını azaltıcı etkisini lipid peroksidasyonunda belirgin azaltıcı etkisi,enzimatik ve non enzimatik antioksidan savunma sistemlerini indüklemeye etkisi ile yapmaktadır (169). Antioksidan özeliği nedeni ile GA'in SAK sonrası oluşan serebral vazospazmda iskemi/reperfüzyon hasarını azaltıcı etkisi ve vazokonstriksiyonu önleyici etkisi olacağı düşünülmüştür. Bu sebeple GA çalışmamızda kullanılmıştır..

Hematoksilen – Eozin (H-E) ile boyanan histolojik kesitlerde baziler arterlerin transvers kesitleri ışık mikroskopik olarak histopatolojik yönden değerlendirildi. Baziler arterlerin çapı, baziler arterin lümen çapı ve damar duvar kalınlığı ölçüldü.

Kontrol grubunda beyin dokusu normal histolojik görünümde izlendi. SAK grubuna ait H-E ile boyanan beyin doku örneklerinde piamater tabakasında konjesyon ve hücre infiltrasyonu (Resim 6.1A), vasküler konjesyon (Resim 6.1B), hücre

infiltrasyonu (Resim 6.1B,6.1C,6.1D,6.1F) ve hemoraji (Resim 6.1E,6.1F) gözlemlendi. Ancak GA uygulamasının SAK modeli oluşturulan gruptaki histopatolojik hasarı azalttığı, bu olumsuz etkileri anlamlı derecede giderdiği saptandı. Şöyleki yüksek doz (100mg/kg) GA uygulamasının düşük doz (50mg/kg) GA uygulamasına göre oluşan histolojik hasarı daha anlamlı düzeyde ve olumlu yönde değiştirdiği belirlendi. Kontrol grubunda beyin korteksinde bulunan nöronların normal histolojik görünümde olduğu izlendi (Resim 6.2A). SAK grubunda (Resim 6.2B) ise bu nöronlarda oldukça fazla dejenerasyon olduğu, ancak 50 mg (Resim 6.2C) ve 100 mg (Resim 6.2D) GA uygulamasının oluşan nöron hasarında doz bağımlı olarak belirgin derecede azalmaya sebep olduğu tespit edildi. Buna ilaveten beyincik bölgesi incelendiğinde kontrol grubunda (Resim 6.3A) purkinje hücrelerinin normal histolojik görünümde olduğu, SAK modeli oluşturulan grupta (Resim 6.3B) ise purkinje hücrelerinde belirgin dejenerasyon olduğu saptandı. Yine GA'nın doz bağımlı olarak 50 mg (Resim 6.3C) ve 100 mg (Resim 6.3D) dozlarında oluşan hücre hasarını anlamlı düzeyde tersine çevirdiği belirlendi.

Çalışmamızda Işık mikroskopik incelemede 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 belirgindi. Bununla birlikte GA uygulamalarının baziler arterde meydana gelen ve SAK ın neden olduğu değişiklikleri doza bağlı olarak anlamlı düzeyde tersine çevirdiği belirlendi. Şöyleki ışık mikroskobu ile incelemelerinde damar duvar kalınlıklarındaki artışın gerilediği ve baziler arter çapı ve lümen çapında artış olduğu gözlemlendi. Ayrıca GA uygulamasının düz kas hücrelerinde minimal kontraksiyon, sitoplazmik vakuolizasyonda belirgin derecede azalmaya neden olduğu izlendi. Buna ilaveten 100 mg GA uygulanan grupta düzgün görünümlü endotel yapısı ve düz kas hücrelerinde minimal vakuolizasyon olduğu belirlendi.

Vazospazm patofizyolojisinde en popüler hipotez, kan ürünlerinin yıkımı sonucunda vazospazm gelişmesine dayanan hipotezdir. Bu hipoteze görede kan

hücrelerinin yıkımının başlattığı vasküler hücre membran harabiyeti ,serbest radikal üretimi, NO azalması, lipid peroksidasyonu, endotelin miktarının artması, vasküler hücre membran harabiyeti neticesinde intrasellüler kalsiyum birikimi gibi iç içe geçmiş birçok reaksiyonlar zinciri serebral vazospazmı oluşturur.

Serebral vazospazmı beyin dokusunda oksidatif stres gelişir. Oksidatif stres sürecinde beyin dokusunda serbest oksijen radikalleri oluşur. Oluşan serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu gelişimine neden olur. Lipid peroksidasyonu sonucundada doku TBARS seviye yüksekliğinin olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca oluşan serbest oksijen radikallerinin, SOD, CAT, GPx, GSH’ıda içeren antioksidan savunma sistemi elemanlarında azalmaya neden olduğuda bilinmektedir (170).

Çalışmamızda değişen seviyeleri ile serebral vazospazmı oluşan oksidatif stresin göstergesi olduğu düşünülerek TBARS, SOD, CAT, GPx, GSH değerleri çalışılmıştır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde SAK oluşturulan sıçanlarda oksidatif hasarın göstergesi olan TBARS düzeyinin kontrol ve diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi. Ayrıca, aynı deney grubunda SAK oluşturulmasına bağlı olarak antioksidan savunma sistemi elemanları olan GSH, SOD, GPx ve CAT düzeylerinde istatistik olarak önemli düzeyde azalmaya neden olduğu belirlendi. GA tedavisinin SAK’ın neden olduğu TBARS artışında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı ve bu azalmanın doz bağımlı olarak şekillendiği saptandı. Şöyleki 50 mg/kg doz ile tedavi edilen gruba kıyasla 100 mg/kg dozunda tedavi verilen grupta TBARS düzeyindeki azalma ve SAK’ın etkilerinin tersine çevrilmesi daha belirgindi. Yüksek doz GA verilen gruptaki TBARS değeri kontrol grubunun değerine yaklaşmış ve iki grup arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı gözlemlendi. Ayrıca, GA tedavisinin yine doz bağımlı olarak antioksidan savunma sistemlerinde SAK’ın oluşturduğu değişiklikleri kısmen tersine çevirdiği saptandı. GSH, SOD ve GPx düzeylerinde düşük doz GA tedavisinin SAK grubuna göre anlamlı düzeyde parametreleri normale yaklaştırdığı ancak yalnızca CAT düzeyinde düşük doz GA ile bir düzelmenin olmadığı belirlendi. Yüksek doz GA tedavisinde ise tüm parametrelerde SAK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artışların olduğu ve bu artışlar sonucu değerlerin kontrol grubuna yaklaştığı saptandı. (Tablo VII, Grafik I)

Bununla birlikte yüksek doz ve düşük doz GA grupları kıyaslandığında meydana gelen değişimlerin tüm parametrelerde doza bağlı olarak değiştiği ve yüksek tedavi

verilen gruplarda düşük doz GA uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların bulunduğu belirlendi. (Tablo VII)

Biz de çalışmamızda bir antioksidan olan GA'in oluşan vazospazmı çözme ve vazospazma bağlı beyin doku hasarını azaltıcı etkisi olup olmadığını araştırmak istedik. GA alan her iki grupta histopatolojik ve morfometrik olarak lümen kesit alanı ortalamaları diğer gruplardan anlamlı derecede farklıydı. Aynı şekilde biyokimyasal değerlerde GA alan gruplarda almayan gruba göre anlamlı derecede farklıydı. Elde ettiğimiz bu sonuçlarda GA in vazospazm tedavisinde bir alternatif ajan olarak denenebileceğini göstermektedir.

## 6. SONUÇ

Konu ile ilgili bir çok çalışma yapılmasına rağmen serebral vazospazmın medikal tedavisi, multifaktöryel etyolojili olması nedeniyle henüz tam olarak ortaya konulamamıştır. Serebral vazospazmda daralan arterin distalinde perfüzyon azalması olmaktadır. Perfüzyon azalmasıda beyin dokusunda iskemi/reperfüzyona, iskemi/reperfüzyonda oksidatif strese neden olmaktadır. Oksidatif streste serbest oksijen radikallerinin oluşmasına ve serbest oksijen radikalleride beyin doku hasarına neden olmaktadır. Ayrıca SAK hastalarında vazokonstrüksiyondan ana sorumlu spazmojen olarak oksihemoglobin suçlanmaktadır. Oksihemoglobin methemoglobine dönüşürken serbest oksijen radikalleri oluşur. Serbest oksijen radikalleride lipid peroksidasyonunu başlatarak vazokonstrüksiyonun oluşmasında büyük öneme sahiptir. GA'nın antioksidan savunma sistemi indüksiyonu yoluyla serebral vazospazmda oluşan iskemi/reperfüzyona bağlı beyin doku hasarını azaltıcı ve vazokonstrüksiyon oluşmasını engelleyici etkisi mevcuttur. Bu nedenle GA in vazospazm gibi yüksek mortalite ve morbiditeye sahip bir duruma karşı kullanılması çok efektif olarak kabul edildi.

Çalışmamızda sisterna magna ponksiyonu ile otolog kan verilerek SAKyapılan sıçanlara 24 saat boyunca 12 saatte bir gavaj yolu ile GA verildi.48.saatte sıçanlar sakrifiye edildi. Baziler arter kesitleri, beyin dokusu ve serum örnekleri alındı. Hazırlanan preparatlar mikroskop ile histopatolojik olarak incelendi. Histopatolojik incelemede GA uygulamalarının baziler arterde meydana gelen ve SAK'ın neden olduğu değişiklikleri doz bağlı olarak anlamlı düzeyde tersine çevirdiği belirlendi. Işık mikroskobu ile incelemelerinde damar duvar kalınlıklarındaki artışın gerilediği ve baziler arter çapı ve lümen çapında artış olduğu görüldü. Elde edilen sonuçların

istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve çalışmamız sonucunda elde edilen biyokimyasal değerlerle korelasyon içinde olduğu görüldü.

Tüm bu bulguların ışığında GA'in antioksidan savunma sistemi indüksiyonu özelliği göz önüne alınarak, bu ajanın deneysel SAK modelinde ortaya çıkan vazospazmın önlenmesinde olumlu etkilerinin olduğu ve bu konuda daha çok araştırma yapılması gerektiği söylenebilir.

## 7.ÖZET

Bu çalışmada, antioksidan savunma sistemini indükleme özelliği olan GA'in, deneysel subaraknoid kanama modelinde meydana gelen vazospazmı engelleyici ve vazospazma bağlı oluşacak iskemi/reperfüzyon beyin hasarını azaltıcı etkisini görmeyi amaçladık.

Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 250 gr olan 28 adet Spraque-Dawley cinsi sıçan kontrol, SAK, SAK+GA50, SAK+GA100 gruplarına ayrılarak; SAK, SAK+GA50, SAK+GA 100 gruplarındaki sıçanlara sisterna manga ponksiyonu yapıldı. SAK+GA100 grubuna 100 mg/kg; SAK+GA50 grubuna 50 mg/kg olacak şekilde GA verildi. Sıçanlara 30.dakika, 12.saat. 24.saatte gavaj yolu ile mısır yağında çözülmüş GA verildi. Sıçanlar 48.saatte sakrifiye edildi.

Histopatolojik incelemede GA uygulamalarının baziler arterde meydana gelen ve SAK'ın neden olduğu değişiklikleri doz bağlı olarak anlamlı düzeyde tersine çevirdiği belirlendi. Işık mikroskobu ile incelemelerinde damar duvar kalınlıklarındaki artışın gerilediği ve baziler arter çapı ve lümen çapında artış olduğu görüldü. Elde edilen sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve çalışmamız sonucunda elde edilen biyokimyasal değerlerle korelasyon içinde olduğu görüldü.

Biz tüm bu bulgular ışığında, çalışmamızda GA'in deneysel SAK modelinde oluşan vazospazm medikal tedavisinde efektif olabileceğini düşünmekteyiz.

## 8. SUMMARY

Cerebral vasospasm following SAH is the most important complication which effects mortality and morbidity of patients with intracranial aneurysm. In spite of conducted researchs, the etiopathogenesis of cerebral spasm is not understood exactly and there is not an effective therapy method yet.

There are a lot of theories about the formation of vasospasm. One of the most widely accepted theory is that, oxyhemoglobin with  $\text{Fe}^{++}$  enhances lipid peroxidation and catalyzes the formation of oxygen free radicals. This process results in endothelial damage and leads to increased intracellular  $\text{Ca}^{+2}$  and this results in vasoconstriction. We investigated the effect of 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid on vasospasm which is an antioxidant.

Rats were divided into three groups (each n=7): Group 1, control group having no spasm; Group 2, SAH group; Group 3, treatment group with 50 mg/kg i.p after SAH. Group 4 treatment group with 100mg/kg i.p after SAH. The experimental SAH was induced by injection of autologous blood into the cisterna magna. Group 3 GA 50 mg/kg, and 100 mg of GA Group 4 \ kg was administered intraperitoneally in 0 - 12 and 24 hours. TBARS,GSH, CAT, SOD, GPx levels were quantified in the serum before the rats had been sacrificed. The rats were sacrificed 48 hours after SAH. After large craniectomy performed brain, cerebellum, and brain stems were removed globally. And, then the basilar arteries of all animals photographs were taken of these sections were obtained. In these sections basilar artery lumen cross-sectional basilar artery areas and wall thickness were measured.

The results of morphometrical and histopathological findings showed that 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid has a therapeutical effect on the cerebral vasospasm after SAH.

## 9.KAYNAKLAR

1. Weir B, Macdonald RL. Intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage. An overview. In: Wilkins DH, Regechary SS, eds. Neurosurgery. 2<sup>nd</sup> ed. New York. 1996; 26: 91- 211.
2. Linn FH, Rinkel GS, Algra A, van Gijn. Incidence of subarachnoid hemorrhage. Role of region, year and rate of computerised tomography: A meta analysis. Stroke 1996; 27: 625-9.
3. Pfohman M, Criddle LM. Epidemiology of intra cranial aneurysm and subarachnoid hemorrhage. J Neurologic surg 2001; 33: 39-40.
4. Hacıyakupoğlu S. Subaraknoid kanamanın medikal tedavisi. Temel Noroşirurji. Turk Noroşirurji Derneği Yayını 1997; 16: 1-32.
5. Weir BKA, McDonald RL, Stoodley M: Etiology of cerebral vasospasm. Acta Neurochir (Wien) 72: 27-46, 1999
6. Pluta RM, Afshar JK, Boock RJ, Oldfield EH. Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and methemoglobin after subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 1998; 88:557-561.
7. McGirt MJ, Blessing R, Alexander MJ, Nimjee SM, Woodworth GF, Friedman AH, Graffagnino C, Laskowitz DT, Lynch JR. Risk of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage reduced by statin therapy: A multivariate analysis of an institutional experience. J Neurosurg. 105 (5):671-4, 2006
8. Aihara Y, Jahromi BS, Yassari R, Nikitina E, Agbaje-Williams M, Macdonald RL. Molecular profile of vascular ion channels after experimental subarachnoid hemorrhage. J Cereb Blood Flow Metab. 24 (1):75-83, 2004
9. Kim YJ, Lee CS (2008) Glycyrrhizin attenuates MPTP neurotoxicity in mouse and MPP-induced cell death in PC12 cells. Korean J Physiol Pharmacol 12:65–71
10. Matsui S, Matsumoto H, Sonoda Y, Ando K, Aizu-Yokota E, Sato T, Kasahara T (2004) Glycyrrhizin and related compounds down-regulate production of inflammatory chemokines IL-8 and eotaxin 1 in a human lung fibroblast cell line. Int Immunopharmacol 4:1633–1644
11. Agarwal MK, Iqbal M, Athar M (2005) Inhibitory effect of 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid on 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate-induced cutaneous oxidative stress and tumor promotion in mice. Redox Rep 10:151–157. Biology 108:101–106

12. Bailey WL, Loeser JD: Intracranial aneurysms, JAMA 216:1993-1996, 1971.
13. Kassel MF, Drake CG: Review of the management of saccular aneurysms. Neurological Clinics, 1:73-86, 1983.
14. Garaway JM, Whishnant JP, Furlan AJ, Phillips LH, Kurland LT, O'Fallon WM: The declining incidence of stroke. N Engl. J Med, 300:449-452, 1979.
15. Pakarinen S: Incidence, etiology, and prognosis primary subarachnoid hemorrhage. A study based on 589 cases diagnosed in a defined urban population during a defined period Acta Neurol Scand. 43 (Suppl 29):1-28,1967.
16. Van der Werf AJ: Clinical aspects of subarachnoid hemorrhage and significance of vasospasm. Psychiat. Neurol Neurochir, 75:411-415, 1972.
17. Rasmussen P, Busch J, Haase J, Hansen et al.: Intracranial saccular aneurysms. Results of treatment in 851 patients. Acta Neurochir, 53:1-17, 1980.
18. Linn FH, Rinkel GJ, Algra A, Gijin J: Incidence of subarachnoid hemorrhage: Role of region, year, and rate of computed tomography-meta analysis. Stroke 27:625-629, 1996.
19. Chyatte D, Chen TL, Bronstein K, Brass LM: Seasonal fluctuation in the incidence of intracranial aneurysm rupture and its relationship to changing climatic conditions. J Neurosurg 81:525-530,1994.
20. Broderick DB, Brott T, Tomsick T, Huster G, Miller R: The risk of subarachnoid and intracerebral hemorrhage in blacks as compared with whites. N Engl J Med 326:733-736,1992.
21. Takahashi M, Macdonald RL. Subarachnoid hemorrhage. Contemporary Neurosurgery 2006;Vol 28 No 15.
22. Ingall TJ, Whisnant JP: Epidemiology of subarachnoid hemorrhage, in Yanagihara T, Piepgras DG, Atkinson JLG (eds): Subarachnoid hemorrhage. New York, Marcel Dekker Inc., 1998, pp 63-78.
23. Broderick JP, Brott TG, Duldner JE, Tomsick T, Leach A: Initial and recurrent bleeding are the major causes of death following subarachnoid hemorrhage. Stroke 25: 1342-1347, 1994.
24. Hop JW, Rinkel GJ, Algra A, Van Gijn J: Case fatality rates and functional outcome after subarachnoid hemorrhage: a systematic review. Stroke 28: 660-664,1997.

25. Schievink WI. Genetics of intracranial aneurysms. (Review) *Neurosurg* 40:651-662,1997.
26. Kawachi I, Coldichz GA, Stamfer MJ, et al: Smoking cessation and decreased risk of stroke in women. *JAMA* 269: 232-236, 1993.
27. Mayberg MR, Batjer EH. Dacey R. et al: Guidelines for the management to aneurysmal subarachnoid hemorrhage, *Stroke* 25:2315-2328,1994.
28. Roach MR, Drake CG: Ruptured cerebral aneurysms caused by micro-organisms. *N Engl J Med*. 273: 240-244, 1965.
29. Gilbert JW, Lee C, Young B: Repeat cerebral panangiography in subarachnoid hemorrhage. *Surg. Neurol* 33: 19-21, 1990.
30. Giombini S, Bruzzone MG, Pluchino F: Subarachnoid hemorrhage of unexplained cause. *Neurosurgery* 22: 313-316, 1988.
31. Iwanaga H, Wakai S, Ochiai C, Narita J, Inoh S, Nagai M: Ruptured cerebral aneurysms missed by initial angiographic study. *Neurosurgery* 27: 45-51, 1990.
32. Kawamura S, Yasul N: Clinical and long-term follow-up study in patients with spontaneous subarachnoid hemorrhage of unknown aetiology. *Acta Neurochir* 106: 110-114, 1990.
33. King RB, Saba MI: Forewarnings of major subarachnoid hemorrhage due to congenital berry aneurysm. *NY State J Med* 74:638-639, 1974.
34. Okawara SH: Warning signs prior to rupture of an intracranial aneurysm. *J Neurosurg* 38:575-580, 1973.
35. Waga S, Ohtsubo K, Handa H: Warning signs in intracranial aneurysms. *Surg Neurol* 3: 15-20, 1975.
36. DeLong WB: The diagnostic pitfalls of subarachnoidal hemorrhage from intracranial aneurysms. *West J Med* 123: 92, 1975.
37. Kassell NF, Helm G, Simmons N : Treatment of cerebral vasospasm with intra-arterial papaverine. *J Neurosurg* 77: 848-852, 1992.
38. Kassel NF, Peerless SJ, Durward QJ: Treatment of ischemic deficits from vasospasm with intravascular volume expansion and induced arterial hypertension. *Neurosurgery* 11: 337-343, 1982.
39. Ohman J, Heiskanen O: Timing of operation for ruptured supratentorial anerysm: A prospective randomized study. *J Neurosurg* 70: 55-60, 1989.

40. Aksoy K, Palaoglu S, Pamir N, Tuncer R (Ed): Temel nörosirürji, Türk Nörosirürji Derneği yayınları Cilt 1 2005; 441-457
41. Drake CG: Report of World Federation of Neurological Surgeons Committee on a universal subarachnoid hemorrhage grading scale. J Neurosurg 1988; 68:985-986
42. Allen GS, Bahr AL: Cerebral arterial spasm. Part 10. Reversal of acute and chronic spasm in dogs with orally administered nifedipine. Neurosurgery 4: 43, 1979.
43. Kunihiro O: Prolonged vasospasm produced by the breakdown products of erythrocytes. J Neurosurg. 47: 403-411, 1977.
44. Ecker A, Riemenschneider PA: Arteriographic demonstration of spasm of the intracranial arteries: With special reference to saccular arterial aneurysm. J Neurosurg 8: 660-667, 1951.
45. Pool JL: Cerebral vasospasm. N Engl J Med 259: 1259-1264, 1958.
46. Fletcher TM, Taveras JM, Pool JL: Cerebral vasospasm in angiography for intracranial aneurysm: Incidence and significance in one hundred consecutive angiograms. Arch Neurol 1: 38-47, 1959.
47. Maspeles GE, Marini G: Intracranial arterial spasm related to supracallosal ruptured aneurysms. Acta Neurochir 10: 630-638, 1962.
48. Du Boule G: Distribution of spasm in intracranial arteries after subarachnoid haemorrhage. Acta Radiol Diagn 1: 257-266, 1963.
49. Allcock JM, Drake CG: Ruptured intracranial aneurysm – the role of arterial spasm. J Neurosurg 22: 21-29, 1965.
50. Wilkins RH, Alexander JA, Odom GL: Intracranial arterial spasm: A clinical analysis. J Neurosurg 29: 121-134, 1968.
51. Farhat SM, Schneider RC: Observations on the effect of systemic blood pressure on intracranial circulation in patients with cerebrovascular insufficiency. J Neurosurg 27: 441-445, 1967.
52. Kosnik EJ, Hunt WE: Postoperative hypertension in management of patients with intracranial arterial aneurysms. J Neurosurg 45: 148-154, 1976.
53. 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. 11: 263-267, 1979.

54. Sasaki T, Wakai S, Asano T, Watanabe T, Kirino T, Sano K. The effect of a lipid hydroperoxide of arachidonic acid on the canine basilar artery. An experimental study on cerebral vasospasm. *J.Neurosurgery* 54: 357-365, 1981.
55. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM: Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery* 6: 1-9, 1980.
56. Aaslid R, Huber P, Nornes H: Evaluation of cerebrovascular spasm with transcranial Doppler ultrasound. *J Neurosurg* 60: 37-41, 1984.
57. Mayberg MR, Batjer HH, Dacey RG Jr, Diringer M, Haley EC Jr, Heros RC, Sternau LL, Torner J, Adams HP Jr, Feinberg W, Thies W: Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A statement of healthcare professionals from a special writing group of Stroke Council, American Heart Association. *Circulation* 90: 2592-2605, 1990.
58. Zubkov YN, Nikiforov BM, Shustin VA: Balloon catheter technique for dilatation of constricted cerebral arteries after aneurysmal SAH. *Acta Neurochir (Wien)* 70: 65-79, 1984.
59. Haley EC Jr, Kassell NF, Torner JC: The international cooperative study on the timing of aneurysm surgery: The North American experience. *Stroke* 23: 205-214, 1992.
60. Haley EC Jr, Kassell NF, Apperson-Hansen C, Maile MH, Alves WM: A randomized, double blind, vehicle controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A cooperative study in North America. *J neurosurg* 86: 467-474, 1997.
61. Kassel NF, Sasaki T, Colohan AR, Nazar G: Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 16: 562-572, 1985
62. Liu-Deryke X, Rhoney DH. Cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an overview of pharmacologic management. *Pharmacotherapy* 2006 45Feb; 26(2):182-203
63. Weir BKA, Macdonald RL, Stoodley M: Etiology of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir (Wien)* 72: 27-46, 1999.
64. Pluta RM, Afshar JK, Boock RJ, Oldfield EH. Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and methemoglobin after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1998; 88:557-561

65. Weir B, Stoodley M, Macdonald R. Etiology of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir* 1999; 72:27-42
66. Macdonald RL, Weir BKA: A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke* 22: 971-982, 1991
67. Aoki T, Takenaka K, Suzuki S, Kassell NF, Sagher O, Lee KS: The role of hemolysate in the facilitation of oxyhemoglobin-induced contraction in the rabbit basilar arteries. *J Neurosurg* 81: 261-266, 1994.
68. Aihara Y, Jahromi BS, Yassari R, Nikitina E, Agbaje-Williams M, Macdonald RL. Molecular profile of vascular ion channels after experimental subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 24 (1):75-83, 2004,
69. Dr. Salih Gülşen. Ratlarda deneysel subaraknoid kanama ile oluşturulan serebral vazospazma ralksifenin etkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilimdalı uzmanlık tezi 2004
70. Dietrich HH, Dacey RG Jr: Molecular keys to the problems of vasospasm. *Neurosurgery* 46: 517-530, 2000.
71. Ignarro LJ: Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 30: 535-560, 1990.
72. Winder SJ, Allen BG, Clément-Chomienne O, Walsh MP: Regulation of smooth muscle actin-myosin interaction and force by calponin. *Acta Physiol Scand* 164: 415-426, 1998.
73. Inscho EW, Mitchell KD, Navar LG: Extracellular ATP in the regulation of renal microvascular function. *FASEB J* 8: 319-328, 1994.
74. 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* 61: 866-879, 1987.
75. Myers PR, Guerra R Jr, Harrison DG: Release of NO and EDRF from cultured bovine endothelial cells. *Am J Physiol* 256: H1030-H1037, 1989.
76. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide accounts for the biological activity of endothelium-dependent relaxing factor. *Nature* 327: 524-526, 1987.
77. 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* 58: 1930-1935, 1992.

78. Chen G, Suzuki H, Weston AH: Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *Br J Pharmacol* 95:1165–1174, 1988.
79. 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* 107:1013–1019, 1992.
80. Bolton TB, Lang RJ, Takewaki T: Mechanisms of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea-pig anterior mesenteric artery. *J Physiol (Lond)* 351:549–572, 1984.
81. Paternò R, Faraci FM, Heistad DD: Role of  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent  $\text{K}^{+}$  channels in cerebral vasodilatation induced by increases in cyclic GMP and cyclic AMP in the rat. *Stroke* 27:1603–1607, 1996.
82. Rubanyi GM, Vanhoutte PM: Nature of endothelium-derived relaxing factor: Are there two relaxing mediators? *Circ Res* 61:II61–II67, 1987.
83. Schubert R, Serebryakov VN, Mewes H, Hopp HH: Iloprost dilates rat small arteries: Role of KATP- and KCa-channel activation by cAMP-dependent protein kinase. *Am J Physiol* 272:H1147–H1156, 1997.
84. Schiffrin EL, Touyz RM: Vascular biology of endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol* 32[Suppl 3]:S2–S13, 1998.
85. Mombouli JV, Vanhoutte PM: Kinins and endothelial control of vascular smooth muscle. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 35:679–705, 1995.
86. Rubanyi GM, Polokoff MA: Endothelins: Molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev* 46:325–415, 1994.
87. Macdonald RL: Pathophysiology and molecular genetics of vasospasm. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 77: 7–11, 2001.
88. Dietrich HH, Dacey RG Jr: Molecular keys to the problems of cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 46: 517–530, 2000.
89. 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)* 139:240–248, 1997.

90. Steele JA, Stockbridge N, Maljkovic G, Weir B: Free radicals mediate actions of oxyhemoglobin on cerebrovascular smooth muscle cells. *Circ Res* 68:416–423, 1991.
91. Vollrath B, Chan P, Findlay M, Cook D: Lazaroids and deferoxamine attenuate the intracellular effects of oxyhaemoglobin in vascular smooth muscle. *Cardiovasc Res* 30:619–626, 1995.
92. Treggiary-Venzi MM, Suter PM, Romand JA: Review of medical prevention of vasospasm after subarachnoid hemorrhage: A problem of neurointensive care. *Neurosurgery* 48: 249 – 262, 2001. 46
93. Edwards DH, Byrne JV, Griffith TM: The effect of chronic subarachnoid hemorrhage on basal endothelium-derived relaxing factor activity in intrathecal cerebral arteries. *J Neurosurg* 76:830–837, 1992.
94. Hongo K, Ogawa H, Kassell NF, Nakagomi T, Saski T, Tsukahara T, Lehman RM: Comparison of intraluminal and extraluminal inhibitory effects of hemoglobin on endothelium-dependent relaxation of rabbit basilar artery. *Stroke* 19:1550–1555, 1988.
95. Pluta RM, Afshar JK, Boock RJ, Oldfield EH: Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and methemoglobin after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 88:557–561, 1998.
96. Gibson QH, Roughton FJW: The kinetics and equilibria of the reactions of nitric oxide with sheep haemoglobin. *J Physiol (Lond)* 136:507–526, 1957.
97. Hino A, Tokuyama Y, Weir B, Takeda J, Yano H, Bell GI, Macdonald RL: Changes in endothelial nitric oxide synthase mRNA during vasospasm after subarachnoid hemorrhage in monkeys. *Neurosurgery* 39:562–568, 1996.
98. Vermeulen M: Subarachnoid haemorrhage: Diagnosis and treatment. *J Neurol* 243:496–501, 1996.
99. Hino A, Tokuyama Y, Kobayashi M, Yano M, Weir B, Takeda J, Wang X, Bell GI, Macdonald RL: Increased expression of endothelin B receptor mRNA following subarachnoid hemorrhage in monkeys. *J Cereb Blood Flow Metab* 16:688–697, 1996.
100. 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* 52:825–834, 1992.

101. Zuccarello M, Boccaletti R, Romano A, Rapoport RM: Endothelin B receptor antagonists attenuate subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *Stroke* 29:1924–1929, 1998.
102. Alabadi JA, Torregrosa G, Miranda FJ, Salom JB, Centeno JM, Alborch E: Impairment of the modulatory role of nitric oxide on the endothelin-1-elicited contraction of cerebral arteries: A pathogenetic factor in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage? *Neurosurgery* 41:245–253, 1997.
103. Katusic ZS, Shepherd JT: Endothelium-derived vasoactive factors: Part II—Endothelium-dependent contraction. *Hypertension* 18:III86–III92, 1991.
104. Sercombe R, Tran Dinh YR, Gomis P: Cerebrovascular inflammation following subarachnoid hemorrhage. *Jpn J Pharmacol* 88:227 – 249, 2002.
105. 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* 25: 160 – 164, 1994.
106. Findlay JM, Weir BKA, Kanamaru K, Espinosa F: Arterial wall changes in cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 25: 736 – 745, 1989.
107. Rinkel GS, Wijdicks EF, Vermulan M, Hasan D, Brouwes PJ, van Gijn J. The clinical course of perimesencephalic non aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Ann Neurol* 1991; 29: 463-8.
108. Findlay JM, Weir BKA, Kassel NF. Intracisternal recombinant tissue plasminogen activator after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 75:181-188, 1991
109. Sasahi T, Kawakami M. Urokinase cisternal irrigation therapy for prevention of symptomatic vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A study of urokinase concentration and the fibrinolytic system. *Stroke* 31:1256-1262, 2000
110. Levy M, Giannotta S. Cardiac performance indices during hypervolemic therapy for cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 1991; 75:27-31
111. Solenski NJ, Haley EC Jr, Kassell NF, Kongable G, Germanson T, Truskowski L, Torner JC: 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; 23:1007-1017

112. Flamm ES, Adams HP, Beck DW: Dose-escalation study of intravenous nicardipine in patients with aneurysmal SAH. *J Neurosurg* 68: 393 – 400, 1988.
113. H. Bevan J, Bevan RD, Frazee JG: Functional arterial changes in chronic cerebral vasospasm in monkeys: an invitro assessment of contributing to arterial narrowing. *Stroke* 18: 472 – 481, 1987
114. Donhout, Rinkel G, Feigin V, Algra A, van den Bergh W, Vermeulen M, van Gijn J. Calcium antagonists for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* 2007. Jul 18;(3):CD000277
115. Auer L. Acute operation and preventive nimodipine improve outcome in patients with ruptured cerebral aneurysms. *Neurosurgery* 1984; 15:57-66
116. Gilsbach JM, Harders AG. Morbidity and mortality after early aneurysm surgery: a prospective study with nimodipine prevention. *Acta Neurochir (Wien)*.1989; 96:1-7
117. Gilsbach J, Reulen H, Ljunggren B. Early aneurysm surgery and preventive therapy with intravenously administered nimodipine: a multicenter, doubleblind, dose-comparison study. *Neurosurgery* 1990; 26:458-464
118. Pickard JD, Murray GD, Illingworth R, Shaw MD, Teasdale GM, Foy PM, Humphrey PR, Lang DA, Nelson R, Richards P: Effect of oral nimodipine on cerebral infarction and outcome after subarachnoid haemorrhage: British aneurysm nimodipine trial. *Br Med J*. 1989; 298:636-642
119. Ailen G, Ahn H, Preziosi T. Cerebral arterial spasm: a controlled trial of nimodipine in patients with subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med* 1983; 308:619- 624
120. Petruk KC, West M, Mohr G. Nimodipine treatment in poor-grade aneurysm patients: results of a multicenter double-blind placebo-controlled trial. *J Neurosurg* 1988; 68:505-517
121. Karinen P, Koivukangas P, Ohinmaa A, Koivukangas J, Ohman J: Costeffectiveness analysis of nimodipine treatment after aneurysmal subarachnoidhemorrhage and surgery. *Neurosurgery* 1999; 45:780-785
122. Tettenbom D, Dycka J: Prevention and treatment of delayed ischemicdysfunction in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1990; 21 (Suppl 4):85-89

123. Barker FG II, Ogilvy CS: Efficacy of prophylactic nimodipine for delayed ischemic deficit after subarachnoid hemorrhage: a metaanalysis. *J Neurosurg* 1996;84:405-414
124. 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; 78:537-547
125. Haley EC, Kassell NF, Torner JC. A randomized trial of nicardipine in subarachnoid hemorrhage: angiographic and transcranial Doppler ultrasound results: a report of the Cooperative Aneurysm Study. *J Neurosurg.* 1993; 78:548-553
126. Rinkel GJ, Feigin VL, Algra A, van den Bergh WM, Vermeulen M, van Gijn J: Calcium antagonists for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev*: 2005 CD000277
127. Wong GK, Chan MT, Poon WS, Boet R, Gin T: Magnesium therapy within 48 hours of an aneurysmal subarachnoid hemorrhage: neuro-panacea. *Neurol Res* 2006;28:431-435
128. Macdonald RL, Curry DJ, Aihara Y, Zhang ZD, Jahromi BS, Yassari R: Magnesium and experimental vasospasm. *J Neurosurg* 2004; 100:106-110
129. Veyna RS, Seyfried D, Burke DG, Zimmerman C, Mlynarek M, Nichols V, Marrocco A, Thomas AJ, Mitsias PD, Malik GM: Magnesium sulfate therapy after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2002; 96:510-514
130. Van den Bergh WM, Algra A, van Kooten F, Dirven CM, van Gijn J, Vermeulen M, Rinkel GJ: MASH Study Group. Magnesium sulfate in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a randomized controlled trial. *Stroke* 2005; 36:1011-1015
131. Bejjani GK, Bank WO, Olan WJ, Sekhar L: The efficacy and safety of angioplasty for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 42:979 – 982, 1998.
132. Eskridge JM, McAuliffe W, Song JK, Mayberg MR, Winn HR: Balloon angioplasty for the treatment of vasospasm: Results of first 50 cases. *Neurosurgery* 42:510 – 516, 1998.
133. Mayberg MR, Batjer HH, Dacey R, Diringer M, Haley EC, Heros RC, Sternau LL, Torner J, Adams HP Jr, Feinberg W: Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1994; 25: 2315-2322

134. Smith C, Marks DA, Lieberman M: Marks' Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach (ed 2), Lippincott Williams & Wilkins, 2005
135. Peiro C, Angulo J, Rodriguez-Manas L, Llergo JL, Vallejo S, Cercas E, Sanchez-Ferrer CF. Vascular smooth muscle cell hypertrophy induced by glycosylated human oxyhaemoglobin. *Br J Pharmacol.* 125 (4):637-44, 1998
136. Akkuş İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri (ed 1). Konya, Mimoza Yayınları, 1995
137. Haley EC Jr, Kassell NF, Torner JC: The international cooperative study on the timing of aneurysm surgery: The North American experience. *Stroke* 23: 205-214, 1992.
138. Hinder RA. Oxygen –derived free radicals . *Arch Surg* 1991; 126: 104-105
139. Akyol Ö, İşçi N, Temel İ, et al. The relationship between plasma and erythrocyte antioxidant enzymes and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 68:31 1-7,2001
140. Tamer L, Polat G, Eskandari G, Ercan B, Atik U. Serbest radikaller. *Mersin Üniv Tıp Fak Der*, 2000; 1 (1): 52-58.
141. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189: 41–54
142. Çiçek D. Exercise and oxidative stress. *Ana Kar Der* 2006; 6:141–142
143. Amorim AM, Gasques MD, Andreus J, Scharf M. The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. *An Acad Bras Cienc.* 2002; 74: 433-436
144. Takeda S, Ishihara K, Wakui Y, Amagaya S, Maruno M, et al. (1996) Bioavailability study of glycyrrhetic acid after oral administration of glycyrrhizin in rats; relevance to the intestinal bacterial hydrolysis. *J Pharm Pharmacol* 48:902–905.
145. Asl MN, Hosseinzadeh H. (2008) Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. *Phytother Res* 22: 709–724.
146. Takeuchi H, Jin S, Suzuki H, Doi Y, Liang J, et al. (2008) Blockade of microglial glutamate release protects against ischemic brain injury. *Exp Neurol* 214: 144–146.

147. Jin S, Takeuchi H, Yawata I, Harada Y, Sonobe Y, et al. (2009) Blockade of glutamate release from microglia attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Tohoku J Exp Med* 217: 87–92.
148. Takeuchi H, Mizoguchi H, Doi Y, Jin S, Noda M, et al. (2011) Blockade of gap junction hemichannel suppresses disease progression in mouse models of amyotrophic lateral sclerosis and Alzheimer's disease. *PLoS One* 6: e21108.
149. Ulmann A, Menard J, Corvol P. (1975) Binding of glycyrrhetic acid to kidney mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *Endocrinology* 97: 46–51.
150. Irie A, Fukui T, Negishi M, Nagata N, Ichikawa A. (1992) Glycyrrhetic acid bound to 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in rat liver microsomes. *Biochim Biophys Acta* 1160: 229–234.
151. Hayashi Y, Ishida Y, Inoue T, Udagawa M, Takeuchi K, et al. (2010) Treatment of behavioral and psychological symptoms of Alzheimer-type dementia with Yokukansan in clinical practice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34: 541–545.
152. Iwasaki K, Satoh-Nakagawa T, Maruyama M, Monma Y, Nemoto M, et al. (2005) A randomized, observer-blind, controlled trial of the traditional Chinese medicine Yi-Gan San for improvement of behavioral and psychological symptoms and activities of daily living in dementia patients. *J Clin Psychiatry* 66: 248–252.
153. Monji A, Takita M, Samejima T, Takaishi T, Hashimoto K, et al. (2009) Effect of yokukansan on the behavioral and psychological symptoms of dementia in elderly patients with Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 33: 308–311.
154. Matsuda Y, Kishi T, Shibayama H, Iwata N. (2013) Yokukansan in the treatment of behavioral and psychological symptoms of dementia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Hum Psychopharmacol* 28: 80–86.
155. Sun Y, Oberley LW, Li Y, (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 34: 497-500.
156. Beutler E. (1975). Red cell metabolism. In: *A Manual of Biochemical Methods*. New York: Grune Stroutan Sayfa: 67-69.
157. Aebi H. (1984). Catalase in vitro assay methods. *Methods Enzymol* 105: 121-126.
158. Ellman G. (1959). Tissue sulphydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77.

159. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951). Protein measurement with pholinphenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275
160. Liu-Deryke X, Rhoney DH. Cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an overview of pharmacologic management. *Pharmacotherapy* 2006
161. Bederson JB, Levy AL, Ding WH, Kahn R, DiPerna CA, Jenkins AL III, Vallabhajosyula. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1998; 42:352-360
162. Keyrouz SG, Diringer MN Clinical review: Prevention and therapy of vasospasmin subarachnoid hemorrhage *Crit Care*. 2007 Aug 14;11(4):220
163. reggiari-Venzi MM, Suter PM, Romand JA: Review of medical prevention of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a problem of neurointensive care. *Neurosurgery* 2001; 48:249-262
164. Adams HP Jr, Kassell NF, Torner JC, Haley EC Jr. Predicting cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: influences of clinical condition, CT results, and antifibrinolytic therapy: a report of the Cooperative Aneurysm Study. *Neurology* 1987; 37:1586-1591
165. Solomon RA, Antunes JL, Chen RY, Bland L, Chien S. Decrease in cerebral blood flow in rats after experimental subarachnoid hemorrhage: a new animal model. *Stroke* 1985, 16(1):58-64
166. Lynch JR, Wang H, McGirt MJ, Floyd J, Friedman AH, Coon AL, Blessing R, Alexander MJ, Graffagnino C, Warner DS, Laskowitz DT: Simvastatin reduces vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of a pilot randomized clinical trial. *Stroke* 2005; 36:2024-2026
167. Margaill I, Plotkine M, Lerouet D (2005) Antioxidant strategies in the treatment of stroke. *Free Radic Biol Med* 39:429–443
168. Heo JH, Han SW, Lee SK (2005) Free radicals as triggers of brain edema formation after stroke. *Free Radic Biol Med* 39:51–70
169. Xu M, Chen X, Gu Y, Peng T, Yang D, Chang RC, So KF, Liu K, Shen J (2013) Baicalin can scavenge peroxynitrite and ameliorate endogenous peroxynitrite-mediated neurotoxicity in cerebral ischemia-reperfusion injury. *J Ethnopharmacol* 150:116–124

- 170.** Wang JJ, Cui P (2013) Neohesperidin attenuates cerebral ischemia- reperfusion injury via inhibiting the apoptotic pathway and activating the Akt/Nrf2/HO-1 pathway. *J Asian Nat Prod Res* 15:1023–1037