



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

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA MODELİNDE  
İNTRAVENÖZ OLARAK VERİLEN KARNİTİNİN SEREBRAL  
VAZOSPAZM SÜRECİNE ETKİSİ**

**Dr. Ahmet SOYER**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA**

**2015**



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

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA MODELİNDE  
İNTRAVENÖZ OLARAK VERİLEN KARNİTİNİN SEREBRAL  
VAZOSPAZM SÜRECİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Ahmet SOYER**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Halil Kamil ÖGE**

**ANKARA  
2015**

## TEŞEKKÜR

Tez danışmanım olarak bu çalışmanın planlanması, uygulanması ve sonuçlandırılmasında büyük desteği ve yardımı olan değerli hocam Sayın Doç.Dr. Halil Kamil Öge' ye teşekkürlerimi sunarım.

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı' nda görevli değerli öğretim üyelerim Sayın Prof. Dr. Servet İnci, Sayın Prof. Dr. Mustafa Berker, Sayın Prof. Dr. Atilla Akbay, Sayın Doç. Dr. Melike Mut Aşkun, Sayın Doç. Dr. Burçak Bilginer ve Sayın Uzm. Dr. Ahmet İlkey Işıkay' a mesleki bilgi ve tecrübelerini, uzmanlık eğitimim süresince benimle paylaştıkları için teşekkür ederim. Ayrıca beraber çalışma fırsatı bulduğum bütün araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Histopatolojik incelemeleri yapan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı' ndan Sayın Prof. Dr. Figen Söylemezoğlu'na, biyoistatistik çalışmalarındaki katkıları için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı' ndan Sayın Prof. Dr. Osman Saraçbaşı' ya, çalışmanın her aşamasında katkıları olan araştırma görevlisi arkadaşlarım Sayın Dr. Murat Gökten ve Sayın Dr. Şahin Hanalioğlu' na teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince desteğini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan anneme, babama ve kardeşlerime ve de uzmanlık eğitimim süresince gösterdiği sabır ve anlayış için sevgili eşim Gözde Soyer' e sonsuz teşekkür ediyorum.

## ÖZET

**Soyer A. Deneysel subaraknoid kanama modelinde intravenöz olarak verilen karnitin vazospazm sürecine etkisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara 2015.** Subaraknoid kanama (SAK) sonrası görülen serebral vazospazm üzerinde uzun yıllardır çalışılmasına rağmen önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir. Yaptığımız bu çalışmada, bir çeşit antioksidan olan karnitin vazospazm sürecine etkisini araştırdık. Bu amaçla hazırlanan çalışmada toplam 20 adet erkek Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanıldı. Bu tavşanlar n=5 olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Grup 1 kontrol, grup 2 karnitin, grup 3 SAK, grup 4 SAK + karnitin grupları olarak oluşturuldu. Grup 3 ve 4' teki hayvanların sisterna magnalarına otolog kan verilerek SAK oluşturuldu. Grup 2 ve Grup 4' teki hayvanlara 0, 24 ve 48. Saatlerde intravenöz karnitin verildi. 72 saat sonra bütün hayvanlar sakrifiye edildi. Perfüzyon-fiksasyon işlemi takiben bütün hayvanların beyinleri çıkarıldı ve +4°C' de muhafaza edildi. Ardından tüm hayvanların baziler arterlerinden eşit aralıklarla 4' er kesit alınarak mikroskop altında inceleme yapıldı. Bu kesitlerden elde edilen fotoğraflarda baziler arter lümen çapları ve duvar kalınlıkları SPOT (Windows Version 4.1) programı kullanılarak ölçüldü. Elde edilen değerlerle grup ortalamalarını karşılaştırmak için Kruskal Wallis; bağımsız iki grubu karşılaştırmak için Mann Whitney U testleri kullanıldı. Baziler arter duvar kalınlığı, SAK oluşturulup karnitin verilen grupta sadece SAK oluşturulan gruba göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ( $p<0,05$ ). Baziler arter lümen kesit alanı SAK oluşturulup karnitin verilen grupta, sadece SAK oluşturulan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulundu ( $p<0,05$ )

**Sonuç:** Tavşanlarda subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral vazospazmın çözülmesi üzerine karnitin potansiyel etkinliği mevcuttur.

**Anahtar kelimeler:** karnitin, baziler arter, subaraknoid kanama, serebral vazospazm

## ABSTRACT

**Soyer A. The effect of intravenous carnitine on vasospasm process in the experimental subarachnoid hemorrhage model, Hacettepe University School of Medicine, Department of Neurosurgery, Ankara 2015.** Although there is much work on it for years, cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage (SAH), is still an important cause of morbidity and mortality. In this study we examined the effects of carnitine, an intrinsic antioxidant, on cerebral vasospasm process. Twenty male New Zealand white rabbits weighing 2500-3500 g were assigned randomly to 1 of 4 groups. Animals in group 1 served as control; group 2 were not subjected to SAH and received intravenous carnitine 3 times; group 3 were subjected to SAH only and group 4 were subjected to SAH and treated with 100 mg/kg intravenous carnitine at 0, 24 and 48 hours after SAH. All animals subjected to experimental SAH were euthanized by perfusion-fixation 72 hours after SAH induction. Brains were then removed and stored in fixative +4 degrees overnight. The animals' basilar artery were sectioned from four separate zones and four sections were obtained from each rabbit. Basilar artery luminal section areas and thickness of vessels were measured by using SPOT for Windows Version 4.1 computer programme. Statistical comparisons were performed using Kruskal-Wallis and Mann Whitney U tests. Basilar artery wall thicknesses in group 4 were significantly lower than group 3 ( $p < 0,05$ ). Basilar artery luminal section areas in group 4 were higher than group 3 which were also statistically significant ( $p < 0,05$ )

**Result:** Carnitine has shown to be potentially beneficial on the resolution cerebral vasospasm following SAH.

**Key Words:** carnitine, basilar artery, subarachnoid hemorrhage, cerebral vasospasm

**İÇİNDEKİLER**

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Anevrizmal Subaraknoid Kanama ve Vazospazm	3
2.1.1. Vazospazmın Tarihçesi	5
2.1.2. Vazospazmı Etyolojik Faktörler	5
2.1.3. Vazospazmı Tanı ve Klinik Özellikler	6
2.1.4. Vazospazmın Tedavisi	7
2.1.5. Vazospazmın Patogenezi	10
2.1.6. Karnitin	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Anestezi	24
3.2. Subaraknoid Kanama Oluşturulması	24
3.3. Karnitin Uygulanması	25
3.4. Perfüzyon ve Fiksasyon İşlemi	25
3.5. Tedavi Grupları	26
3.6. Baziler Arter Preparatlarının Hazırlanması	27
3.7. Baziler Arter Ölçümlerinin Yapılması	28
3.8. İstatistik Değerlendirme	31
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ	43
7. KAYNAKLAR	44

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>SAK</b>	Subaraknoid kanama
<b>DCI</b>	Gecikmiş serebral iskemi
<b>DIND</b>	Gecikmiş iskemik nörolojik defisit
<b>OH<sup>-</sup></b>	Hidroksil
<b>OxyHb</b>	Oksihemoglobin
<b>DAG</b>	Diaçilgliserol
<b>AVM</b>	Arteriovenöz malformasyon
<b>BOX</b>	Bilirubin oksidasyon ürünleri
<b>AVF</b>	Arteriovenöz fistül
<b>AHA</b>	American Heart Association
<b>ASA</b>	American Stroke Association
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>MR</b>	Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>EEG</b>	Elektroensefalografi
<b>PKC</b>	Protein kinaz C
<b>MLCP</b>	myosin light-chain phosphatase
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>NOS</b>	Nitrik oksit sentaz
<b>eNOS</b>	endotelial nitrik oksit sentaz
<b>nNOS</b>	nöronal nitrik oksit sentaz
<b>ADMA</b>	asimetrik dimetil arjinin
<b>ET</b>	endotelin
<b>AA</b>	araşidonik asit
<b>COX</b>	siklooksijenaz
<b>PGI<sub>2</sub></b>	prostosiklin
<b>TXA<sub>2</sub></b>	tromboksan A <sub>2</sub>
<b>PG</b>	prostaglandin
<b>LT</b>	lökotrien
<b>HPETE</b>	hidroperoksieikozatetraenoik asit
<b>HETE</b>	hidroksieikozotetraenoik asit
<b>EET</b>	epoksieiksosatrienoik asit

<b>ICAM-1</b>	intercellular adhesion molecule-1
<b>ECAM-1</b>	endothelial adhesion molecule-1
<b>CGRP</b>	calcitonine gene-related peptide
<b>ROS</b>	reaktif oksijen türleri
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	superoksit anyonu
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	hidrojen peroksit
<b>DPPH</b>	2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl
<b>HMG-coA</b>	(3-hidroksi-3-metil-glutaril-Koenzim A)
<b>PIP<sub>2</sub></b>	fosfotidilinozitol 4,5-bifosfat
<b>IP<sub>3</sub></b>	inozitol 1-4-5 trifosfat
<b>CO</b>	karbonmonoksit



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.1.</b>	Vazospazm patogenezi	11
<b>Şekil 2.2.</b>	Düz kas kasılmasının mekanizması	12
<b>Şekil 2.3.</b>	Oksihemoglobinin Vazospazmdaki Rolü	13
<b>Şekil 2.4.</b>	SAK Sonrası Oluşan Serbest Radikallerin Vazospazmdaki Rolü	18
<b>Şekil 2.5.</b>	SAK sonrası serbest radikallerden BOX oluşumu	19
<b>Şekil 2.6.</b>	Heme metabolizması	20
<b>Şekil 2.7.</b>	Bilirubin ve BOX' ların Kimyasal Yapısı	20
<b>Şekil 2.8.</b>	Karnitin	21
<b>Şekil 3.1.</b>	Standart laboratuvar koşulları	23
<b>Şekil 3.2.</b>	Oksiput – C1 aralığının diseksiyonu ve eksplorasyonu	24
<b>Şekil 3.3.</b>	SAK oluşturulması amacıyla sisterna magnadan BOS çekilmesi	25
<b>Şekil 3.4.</b>	Perfüzyon ve fiksasyon işlemi	26
<b>Şekil 3.5.</b>	Beyin – Beyin sapı	27
<b>Şekil 3.6.</b>	SAK oluşumu sonrası beyin sapı ve baziler arter	28
<b>Şekil 3.7.</b>	Baziler arter ( Kontrol grubu)	29
<b>Şekil 3.8.</b>	Baziler arter ( Karnitin grubu)	29
<b>Şekil 3.9.</b>	Baziler arter (SAK grubu) [lamina elastika katlantısında artış, tunika mediada vakuolizasyon, tunika adventisya etrafında kırmızı kan hücreleri)	30
<b>Şekil 3.10.</b>	Baziler arter ( SAK + Karnitin grubu) [SAK grubuna göre lamina elastika katlantısında ve lamina mediadaki vakuolizasyonda azalma mevcuttur]	30
<b>Şekil 4.1.</b>	Grupların Damar Duvar Kalınlıklarının Ortalama Değerleri	37
<b>Şekil 4.2.</b>	Grupların Damar Lümen Alanlarının Ortalama Değerleri	38

**TABLolar DİZİNİ**

<b>Tablo 2.1.</b>	Spontan subaraknoid kanama etyolojisi	5
<b>Tablo 2.2.</b>	Karnitinin antioksidan ve antiradikal etkisi	22
<b>Tablo 2.3.</b>	$\alpha$ -tokoferol, trolox ve farklı dozlardaki karnitinin total antioksidan aktivitesi	22
<b>Tablo 4.1.</b>	Kruskal-Wallis analizi kullanılarak grupların ortalamalarının karşılaştırılması	33
<b>Tablo 4.2.</b>	Tavşanların ağırlıklarının gruplara göre dağılımı	33
<b>Tablo 4.3.</b>	Tavşanların beyin ağırlıklarının gruplara göre dağılımı	34
<b>Tablo 4.4.</b>	Tavşanların kan gazı pH değerlerinin gruplara göre dağılımı	34
<b>Tablo 4.5.</b>	Tavşanların kan gazı pO <sub>2</sub> değerlerinin gruplara göre dağılımı	35
<b>Tablo 4.6.</b>	Tavşanların kan gazı pCO <sub>2</sub> değerlerinin gruplara göre dağılımı	35
<b>Tablo 4.7.</b>	Tavşanların baziler arter duvar kalınlıklarının gruplara göre dağılımı	36
<b>Tablo 4.8.</b>	Tavşanların baziler arter lümen alanlarının gruplara göre dağılımı	37

## 1. GİRİŞ

Subaraknoid kanama (SAK) sonrası görülen serebral vazospazm ve gecikmiş serebral iskemi (DCI) mortalite ve morbiditenin önemli bir nedenidir. Kanamış anevrizma cerrahi ya da endovasküler yolla başarılı bir şekilde kapatılsa dahi vazospazm süreci devam edebilir. Anevrizmal subaraknoid kanama sonrası hastaların %50-90' ında anjiyografik olarak saptanabilen vazospazm mevcuttur (24). Bu hastaların da yaklaşık yarısında vazospazm semptomlara yol açarak gecikmiş iskemik nörolojik defisit (DIND) olarak adlandırılan tabloya neden olmaktadır (65).

Son 30 yılda gerek deneysel gerek klinik olarak yapılmış çalışmalar sonucunda subaraknoid mesafede biriken pıhtının vazospazm patogenezinde rol aldığı ortaya konulmuş olsa da bunun hangi mekanizmalar ile serebral vazospazm ve gecikmiş iskemik nörolojik defisite yol açtığı kesin olarak bilinmemektedir (21).

Serbest radikal reaksiyonları, vazokonstriktör ve vazodilatör maddeler arasındaki dengenin bozulması, inflamatuvar süreçler, vasküler tonus, endotelyal proliferasyon ve apoptozisi regüle eden nöronal mekanizmalardaki değişikliklerin patogeneizde rol alması olasıdır. (54)

Subaraknoid mesafede biriken pıhtı ve bu pıhtının temizlenme miktarı ve süresinin vazospazmın önceden belirlenmesinde en önemli prediktörler olduğu iddia edilmiştir (32, 78). Subaraknoid mesafedeki pıhtıdan BOS' a salınan oksihemoglobin (oxyHb) serebral arter duvarlarının uzamış kasılmasına ve damar lümeninin daralmasına neden olan reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu tetiklemektedir (7). Serbest oksijen radikallerinin en reaktif ürünü olan hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>), oxyHb tarafından katalize edilen reaksiyonlar sonucunda serebral arter duvarında birikerek damar duvarında hasara yol açmaktadır. Daha sonra damar duvarındaki peroksidatif membran hasarı fosfotidilkolin ve fosfotidiletanolamin metabolizmasını hızlandırarak damar duvarında uzamış kasılmaya neden olan DAG (diacylglycerol) ve protein kinaz C oluşmasına neden olmaktadır.

Subaraknoid kanama sonrası mesafede biriken kanın yıkım ürünleri olan heme, biliverdin ve bilirubin ortamdaki yine bahsi geçen serbest radikaller ile oksitlenerek bilirubin oksidasyon ürünleri (BOX) oluşmaktadır (63). Bu ürünlerin de SAK sonrası gelişen vazospazmı indükleyebileceği ortaya konmuştur (19).

Serbest oksijen radikallerinin ortamdaki uzaklaştırılması amacıyla antioksidan maddeler kullanılmaktadır ve antioksidan maddelerin deneysel çalışmalarda vazospazmın tedavisi üzerine olumlu etkiler gösterdikleri ortaya konmuştur. Çalışmamızda daha önceden nöroprotektif etkisi de olduğu bilinen ve endojen bir dipeptit olan karnitin deneysel subaraknoid kanama oluşturulan tavşanlarda vazospazm sürecine etkilerinin izlenmesi amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Anevrizmal Subaraknoid Kanama ve Vazospazm

SAK'ın en sık nedeni travmadır. Travmatik olmayan SAK ise intrakranial kanamaların yaklaşık %15, inmelerin ise yaklaşık %5-10' unu oluşturmaktadır. Spontan subaraknoid kanamaların %85 ini anevrizma rüptürü, %10 unu benign perimezensefalik kanama ve % 5 ini arterivenöz malformasyon kanaması ve diğer nedenler oluşturmaktadır (104). (Tablo: 2.1)

Sakküler anevrizmaların toplumda görülme sıklığı yaklaşık %2' dir (74). Anevrizma rüptürü 40-60 yaş arası insanlarda daha sık görülmektedir. Her ne kadar tüm inmelerin yaklaşık %5-10' unu oluştursa da diğer inmelere göre daha genç hastaları etkilediği için üretken yaşam süresi üzerine oransal olarak daha fazla etki göstermektedir. Kadınlarda erkeklere oranla yaklaşık 1,5 kat daha fazla görülmektedir. Hastalığın ailesel formunun olması (81), polikistik böbrek hastalığı (41) ve Marfan sendromunda (85) insidansının artması, etkilenen bireylerin birinci ve ikinci derece akrabalarında prevalansın yüksek olması (45) genetik faktörlerin de anevrizma oluşumunda rol oynadığını göstermektedir.

Sigara kullanımı, hipertansiyon, aşırı alkol tüketimi ve kokain de hem anevrizma oluşumunda ve hem de rüptüre olmasında rol oynamaktadır (70).

Anevrizma rüptürüne bağlı SAK her yıl 100.000 kişinin 10' unu etkilemektedir (84). SAK ile ilişkili morbidite ve mortalitenin önemli bir kısmı kanamanın ilk anında meydana gelmektedir. Hastaların yaklaşık %12' si hastaneye dahi gelemeden kanamanın ilk anında kaybedilmektedir. Hospitalize edilen hastaların yaklaşık %40' ı bir ay içinde hayatını kaybetmektedir. Geri kalanların 1/3' ünden fazlası major nörolojik defisitle bakıma muhtaç halde hayatlarını sürdürmektedir (107).

Kanamadan yaklaşık 3-7 gün sonra serebral arterlerin vazospazmı sonucu gecikmiş iskemik nörolojik hasar (DIND) denilen tablo ortaya çıkar. Bu süreç 21 güne kadar uzayabilmektedir (111). Serebral vazospazm, hastaların yaklaşık 1/5' inde ölüme, hemen hemen yarısında da kalıcı nörolojik hasara neden olmaktadır.

Vazospazm ve gecikmiş iskemik nörolojik defisit (DIND) ilk defa 1859' da Sir William Gull tarafından tanımlanmıştır ve o dönemden beri gizemini korumaktadır. Vazospazm ve DCI anjiyografik ve klinik olarak ikiye ayrılmaktadır (26). Anjiyografik vazospazm radyolojik bir tanıdır, %50-90 oranında görülür ve fokal veya diffüz olarak serebral arterlerin daralmış olarak görünümü ile karşımıza çıkmaktadır. Vazospazm kanamanın genellikle 3. gününde kendini gösterir 6-8. günlerde maksimal olur ve 2-3 hafta sürebilir.

Klinik ya da semptomatik vazospazm; hidrosefali, yeniden kanama, nöbet, hipoksi ya da metabolik anormallikler ile açıklanamayan, SAK sonrası gecikmiş dönemde ortaya çıkan yeni nörolojik semptomlar ile karşımıza çıkmaktadır (108). Bu nörolojik semptomlar mental durum ve bilinç değişiklikleri ya da fokal nörolojik defisitler şeklinde olabilir. Bununla birlikte vazospazmın varlığı/ciddiyeti, her zaman iskemi/infarktın derecesi ile korele olmayabilir. Anjiyografide ciddi vazospazmı olan hastalar asemptomatik kalabilirken, anjiyografide nisbeten daha hafif vazospazmı olan hastalar semptom verebilmektedir.

Son 3 dekattaki önemli ve kayda değer gelişmeler mortalite ve morbidite oranlarında düşmeye yol açsa da etkin ve kesin bir tedavi yoktur. Devam eden onca çalışmaya rağmen vazospazm ve gecikmiş iskemik nörolojik hasara yol açan patojenik mekanizmalar halen tam olarak aydınlatılmamıştır.

**Tablo 2.1. Spontan subaraknoid kanama etyolojisi (104)**

<ul style="list-style-type: none"> <li>• R�pt�re Anevrizma (%85)</li> <li>• Anevrizmatik olmayan nedenler (%15) <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Perimezensefalik hemoraji</li> <li>○ Diğer nadir nedenler <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ T�m�r</li> <li>▪ Koagulopati</li> <li>▪ Ven�z sinus trombozu</li> <li>▪ Arteryel diseksiyon</li> <li>▪ Vask�ler lezyon <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ AVM, dural AVF, amiloid anjiopati, diğerleri</li> </ul> </li> <li>▪ Vask�litler <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Behet hastalığı, Churg-Strauss, Wegener gran�lomatozis, diğerleri</li> </ul> </li> <li>▪ Orak h�creli anemi</li> <li>▪ Mikotik anevrizmalar</li> <li>▪ İlalar <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Kokain bağımlılığı antikoagulanlar</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>
---

### 2.1.1. Vazospazmın Tarihçesi

Tarihte DIND' i ilk defa 1859 yılında Sir William Gull tariflemiştir (74). O dönemden beri serebral vazospazm ve buna bağlı gecikmiş iskemik nörolojik defisit gizemini korumuştur. 1925 te Florey serebral arterlerin kasılma kapasitelerinin olduğunu göstermiştir. Zucker 1940' larda subaraknoid mesafedeki eritrosit ve oxyHb' in vazospastik etkilerini göstermiştir. Arteriografik olarak gösterilmiş ilk vazospazm olguları ise 1951 yılında Ecker ve Rimenschneider tarafından sunulmuştur. 1977' de Fischer vazospazm ve DIND arasında ilişkiyi yayımlamıştır.

### 2.1.2. Vazospazmda Etyolojik Faktörler

Vazospazm ve buna bağlı gelişen gecikmiş iskemik nörolojik defisit gelişiminde en önemli risk faktörü subaraknoid mesafedeki pıhtının hacmidir (32, 78). Pıhtı miktarı ve pıhtının subaraknoid mesafede kalma süresi arttıkça risk artmaktadır.

Hastaneye başvuru esnasında nörolojik tablo ne kadar kötü olursa vazospazm riski o kadar yüksektir. Ayrıca sigara içme hikayesi, hipertansiyon, kokain kullanımı da prediktif faktörler arasında yer almaktadır (37). Yaş, cinsiyet ve anevrizma lokalizyonu ile vazospazm gelişimi arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

Bir çalışmada endovasküler tedavinin cerrahi tedaviye oranla vazospazm gelişimi açısından daha düşük risk taşıdığı iddia edilmiştir (76) ancak bunu doğrulayan başka bir çalışma mevcut değildir.

### 2.1.3. Vazospazmda Tanı ve Klinik Özellikler

Vazospazmın değerlendirilmesinde altın standart serebral anjiyografidir (24). Ancak invazif özellikte olması, kontrast kullanımı ve çok düşük oranda da olsa (% 0,1) major nörolojik defisite neden olmasından ötürü vazospazm tanısında, değerlendirilmesinde ve takibinde tekrarlayan kullanımları pek mümkün görünmemektedir. Bu sebeple hastaların yakın monitörizasyonu ve nörolojik muayene takibi hayati önem arz etmektedir.

Yatakbaşı yapılan fizik muayene sık sık tekrarlanmalıdır. Mental durumdaki hafif değişiklikler ve lateralize edici bulgular dikkate alınmalıdır. Yeni gelişen nörolojik defisiti olan hastalar hidrosefali, nöbet ve metabolik anomaliler açısından hızlıca incelenmelidir. Ancak anjiyografik vazospazmın klinik vazospazmdan daha önce başlayabileceği unutulmamalıdır.

American Heart Association ve American Stroke Association (AHA/ASA) yayımlanmış kılavuzunda rutin monitörizasyon için transkranyal Doppler ve BT/MR perfüzyon görüntülemeleri önerilmektedir (20). Transkranyal Doppler, MCA daki akımı ölçmektedir. Akım hızı  $<120$  cm/sn olduğunda vazospazm açısından düşük riskli,  $>200$  cm/sn olduğunda vazospazm açısından yüksek riskli kabul edilir. Prediktif değeri %90 civarındadır. Her ne kadar rutin günlük monitorizasyon için önerilse de özellikle 120-200 cm/sn olan vakalarda serebral anjiyografi yaptırılması uygundur (1).

Perfüzyon BT/MR ise vazospazmın öngörülmesinde kullanımı artan ve rutin olarak önerilen tetkiklerdir (33). Ancak fiyatları ve ciddi hastalığı olanlarda uygulama zorluğu olduğu için kullanımı sınırlı kalmaktadır.



Bununla birlikte mikrodializ (103), devamlı EEG monitorizasyonu (77), juguler venöz oksijen saturasyonu monitorizasyonu (40) ve near infrared spektroskopi (67) de vazospazmın öngörülmesi ve değerlendirilmesinde kullanılabilir ancak kullanımları sınırlıdır.

Anjiyografik vazospazmın varlığı vazospazm gelişimi açısından kötü prognostik bir faktördür ancak daha önce de belirtildiği gibi hastaların yaklaşık yarısında klinik vazospazm gelişmektedir. Gecikmiş iskemik nörolojik hasarın semptomları, SAK' ın şiddetine ve subaraknoid mesafedeki pıhtının yerine bağlı değişiklik göstermektedir. Damar duvarındaki kalınlaşmanın şiddeti, lokalizasyonu, hastanın yaşı ve klinik durumu, intrakranial basınç, eşlik eden intrakranial ve metabolik patolojiler (hidrosefali, intraserebral hematoma, hiponatremi, hipovolemi, hipotansiyon), kollateral dolaşımın durumuna bağlı olarak vazospazm kliniğini etkilemektedir (46).

#### **2.1.4. Vazospazmın Tedavisi**

##### **2.1.4.1 Anevrizmanın Kapatılması**

Anevrizmanın cerrahi ya da endovasküler yolla kapatılması esastır. Bu tedavinin zamanlaması konusunda kesin bir mutabakat sağlanmamış olsa da son yıllarda giderek yaygınlaşan görüş mümkün olduğunca erken dönemde anevrizmanın cerrahi ya da endovasküler yolla tam olarak kapatılmasıdır (20). Tedavi olarak hangi yöntemin kullanılacağı konusu da tartışmalıdır. Ancak multidisipliner yaklaşımla vakalar teker teker ele alınarak tedaviye karar verilmesi uygun görülmektedir. Erken tedavi ile anevrizmanın yeniden kanama riski ortadan kalktığı için vazospazma yönelik tedavilerin (hipervolemi, hipertansiyon, hemodilüsyon vb.) uygulanması kolaylaşacaktır.

##### **2.1.4.2 Nimodipin**

Kalsiyum kanal blokörü olarak kullanılan nimodipin profilaktik olarak uzun zamandır vazospazm tedavisinde kullanılmaktadır. Her ne kadar anjiyografik çalışmalarda vazospazmı azalttığına dair anlamlı veriler olmasa da (72), randomize

çalışmaların meta-analizi göstermiştir ki nimodipin kullanılan hastalarda nörolojik hasar ve serebral infarkt oranı daha az görülmektedir (79).

#### **2.1.4.3 Triple H Tedavisi**

Vazospazmın medikal tedavisinde yıllardır kullanılan tedavi şeklidir. Hiperdinamik tedavi olarak da bilinir. Hipertansiyon, hemodilüsyon ve hipervoleminin birlikte uygulanmasıdır. Son dönemde yapılan çalışmalar hipertansiyonun, hipervolemi ve hemodilüsyona göre daha güçlü etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Diğer taraftan SAK olan hastaların önemli bir kısmı kardiyolojik patolojileri olan hastalardır. Bu durum triple H tedavisinin kullanımını sınırlamaktadır (20).

#### **2.1.4.4 Statinler**

HMG-coA (3-hidroksi-3-metil-glutaril-Koenzim A) redüktaz enzim inhibitörleri olarak da bilinen statinler kolesterol seviyesini düşürmenin yanında; endotel fonksiyonunu iyileştirme, pıhtı oluşumunu azaltma, inflamatuvar yanıtı değiştirme hatta serebral kan akımını artırma özelliklerine de sahiptir. Çeşitli randomize çalışmalar; özellikle simvastatinin vazospazm ve gecikmiş iskemi riskini azalttığını göstermektedir. Ancak karşıt görüşte olan çalışmalar da mevcuttur (100). Daha geniş bir faz III çalışması (STASH: Simvastatin in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage) halen devam etmektedir.

#### **2.1.4.5 Endotelin Reseptör Antagonistleri**

Endotelinler güçlü ve uzamış vazokonstriksiyon oluştururlar ve anevrizmal SAK sonrası gelişen serebral vazospazmdan sorumlu tutulmaktadırlar. Buradan yola çıkarak endotelin reseptör antagonisti olan klazosentanın serebral vazospazmı önleyebileceği öne sürülmüştür (58). Ancak klazosentan; anjiyografik olarak vazospazm üzerine belirgin olumlu etki göstermiş olsa da klinik olarak 3 aylık kullanım sonrasında nörolojik olarak sadece minimal bir iyileşme etkisinde bulunmuştur. Devam eden çalışmalarda ise anlamlı iyileşme göstermediği ortaya konmuştur.

Anjiyografik olarak belirgin etki göstermese de klinikte düzelme yapan nimodipinin aksine klazosentan anjiyografik olarak anlamlı etkiler göstermiş ancak klinik olarak anlamlı etkide bulunmamıştır (59). Sadece vazospazmın düzeltilmesine yönelmenin yanlış olduğunu, başka faktörlerin de gecikmiş nörolojik hasar üzerine etkili olabileceği ve uzun dönemdir gündemde olan ‘spazmosentrik’ görüşten uzaklaşılması gerektiğini savunan çalışmalar mevcuttur.

#### **2.1.4.6 Magnezyum Sülfat**

Magnezyumun nöroprotektif etkisi bilinmektedir. Anevrizmal SAK sonrası iskemik hasarın önlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda anlamlı sonuçlar bulunmamıştır (115). Daha geniş bir randomize çalışma devam etmektedir.

#### **2.1.4.7 Pıhtının Temizlenmesi**

Subaraknoid mesafede biriken pıhtının çeşitli yöntemler ile temizlenmesi vazospazmın azaltılması ve önlenmesi açısından ümit vericidir. Doku plazminojen aktivatörünün intratekal uygulanmasının faydası gösterilmiştir (47, 50, 3). Cerrahi esnasında lamina terminalisin fenestrasyonu bazı cerrahlar tarafından pıhtının temizlenmesi ve hidrosefali oluşumunun önlenmesi açısından anlamlı bulunmaktadır (4).

#### **2.1.4.8 Endovasküler Anjioplasti**

Proksimal serebral arterlerde semptoma yol açan belirgin vazospazmda, perkütanöz transluminal balon anjioplasti kullanılabilir. Bu şekilde distale giden kan akımı artmaktadır. Ancak bu tekniğin klinik etkinliği henüz tartışmalıdır (44, 99). Kılavuzlarda medikal tedaviye (özellikle de hipertansif tedaviye) hızlı bir şekilde yanıt vermeyen semptomatik hastalarda kullanımı kabul görmektedir (20).

#### **2.1.4.9 Endovasküler İnfüzyon**

Geçmişte papaverin vazodilatör etkinliğinden dolayı kullanılmaktaydı ancak nörotoksik etkisi nedeniyle gözden düşmüştür (91). Onun yerine kalsiyum kanal blokerlerinden nikardipin ve verapamil (48), milrinon (6, 31), fasudil hidroklorid (96) ve son dönemde nitrik oksit donörleri kullanılabilir. İntraarteryel

vazodilatör infüzyonları da tıpkı balon anjioplasti gibi hipertansif tedaviye refrakter semptomatik hastalarda kullanılabilir (20). Kullanımları genellikle güvenlidir. Ancak verapamilin yeni nöbetler ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (109).

#### **2.1.4.10 Aortik Balon Tedavisi**

İntraaortik balon tedavisi kardiyojenik şok olan hastalarda kan basıncını ve diastolik akımı iyileştirmek yoluyla etkili olmaktadır (5, 69). Böylece eşlik eden kardiyak yetmezliği olan hastalarda serebral kan akımının artması söz konusudur.

#### **2.1.4.11 Servikal Sempatik Blok**

Hayvan modelleri ve sınırlı sayıda vaka ipsilateral superior servikal ganglionun lokal anestezi ile bloke edilmesinin serebral kan akımını artırıcı özelliği gösterilmiştir (16, 101). Ancak bunu teyit edecek herhangi bir klinik çalışma mevcut değildir.

#### **2.1.4.12 Antiinflamatuvar Ajanlar**

SAK oluştuğunda ortamdaki pıhtıya karşı oluşan inflamatuvar yanıtın engellenmesinin vazospazm gelişimini engelleyebileceği öne sürülmüştür. Antiinflamatuvar ajanlar olan metilprednizolon ve ibuprofenin vazospazm oluşumunu azaltabileceği gösterilmiştir ancak klinik düzeyde etkileri sınırlıdır (35).

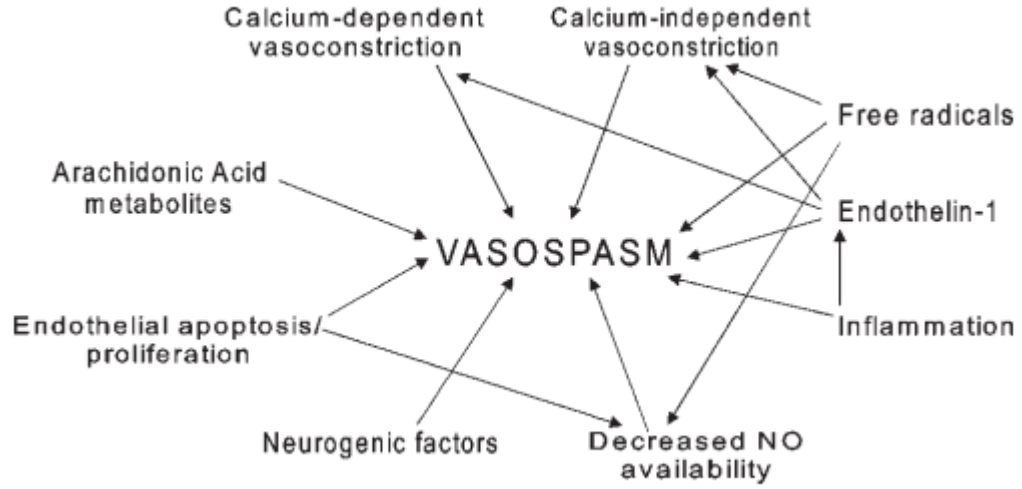
### **2.1.5. Vazospazmın Patogenezi**

SAK sonrası gelişen vazospazm ve gecikmiş iskemik nörolojik hasarın patogenezi tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu karmaşık antite üzerine yapılan çalışmalar birçok faktörün etkili olabileceği öne sürülmüştür. (Şekil 2.1)

#### **2.1.5.1. Düz Kas Kasılması**

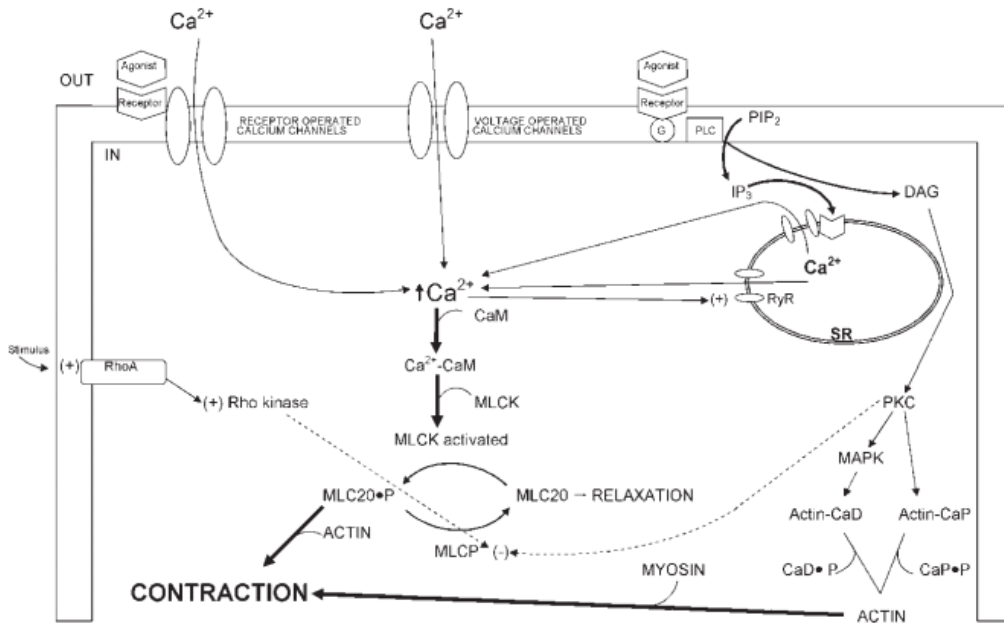
Normal serebrovasküler fizyolojide vasküler düz kaslarda vazodilatör ve vazokonstriktör etkiler dengededir. Vazospazm bu denge konstriksiyon lehine bozulmaktadır. İntrasellüler serbest  $Ca^{++}$  'un düz kas kasılmasında esas rolü oynadığı bilinmektedir (40). Deneysel çalışmalar  $Ca^{++}$  bağımlı ve bağımsız

vazokonstriksiyonun olduğunu göstermektedir. (Şekil: 2-2) Ancak serebral vazospazmda hangisinin rol oynadığı kesin bilinmemektedir.



**Şekil 2.1.** Vazospazm patogenezi (54)

$Ca^{++}$  bağımlı kasılmada; subaraknoid mesafedeki kan ürünleri G-protein-coupled reseptörler ve tirozin kinaz reseptörlerini stimüle ederler. Vasküler düz kas hücrelerindeki tirozin kinaz yolunun aktivasyonu ile ekstrasellüler alandan  $Ca^{++}$  girişi olur. G-protein-coupled reseptörler fosfolipaz C' yi üretirler, bu da membran fosfolipidi olan fosfotidilinozitol 4,5-bifosfat ( $PIP_2$ )' i, inozitol 1,4,5- trifosfat ( $IP_3$ ) ve diaçilgliserol ( $DAG$ )' a ayrıştırır ve kasılmaya yol açar (97). Vazospazmda  $Ca^{++}$  un sürekli artışı ve 20-kD hafif zincirli miyozin ( $MLC_{20}$ ) in fosforilasyonunun rolü Tani ve Matsumoto tarafından öne sürülmüştür (98). SAK sonrası  $Ca^{++}$  regülasyonunun bozulmasının da vazospazm da rol alabileceği öne sürülmüştür. Kalsiyum kanal blokerleri de bu mekanizma üzerinden tedavide kullanılabilir. Kalsiyum kanal blokerleri de bu mekanizma üzerinden tedavide kullanılabilir.



**Şekil 2.2.** Düz kas kasılmasının mekanizması (54)

$Ca^{++}$  bağımsız vazokonstriksiyonda rho kinaz sistemi takiben de MLC20 defosforilasyonu inhibe olmaktadır ve damar düz kası kasılmaktadır (17). Rho kinaz enzim inhibitörü olan fasudilinin klinik çalışmalarda serebral vazospazmı azalttığı gösterilmiştir (88). Bununla birlikte, protein kinaz C (PKC)' nin de kaldezmon, kalponin ve MLCP (myosin light chain phosphatase) fosforilasyonu ile kasılma dolayısıyla da vazospazm etyolojisinde rol aldığı bilinmektedir (55).

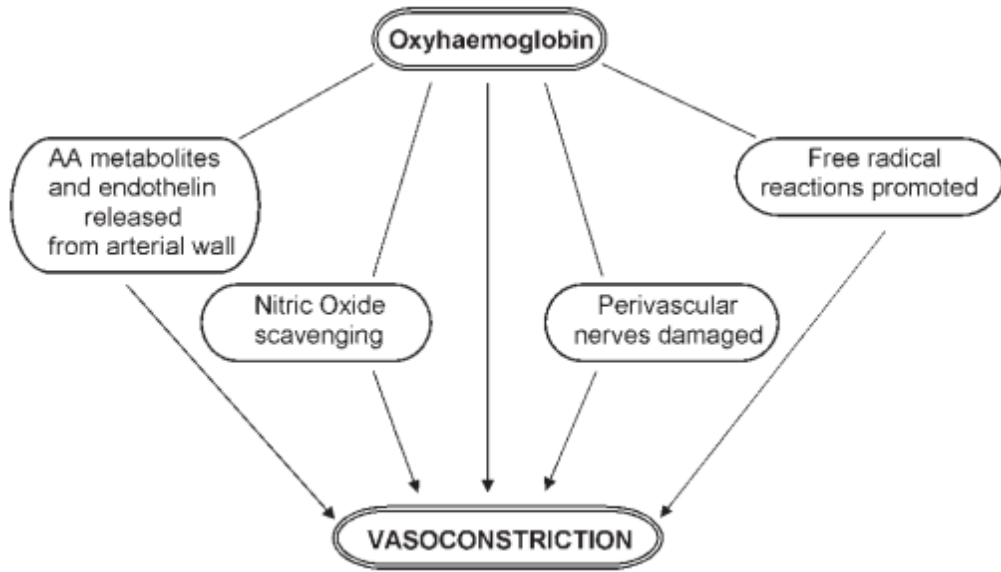
Kalpainer de  $Ca^{++}$  artışına bağlı olarak aktive olan nötral proteazlardır. Hücre iskeletini oluşturan spektrin gibi proteinler ve kalponin, kaldezmon gibi proteinlerin bozulmasına yol açarak damar düz kasında kasılmaya yol açarlar (60). Kalpain inhibitörü olan kalpeptin hayvan deneylerinde vazospazma karşı kullanılmıştır (54).

### 2.1.5.2. Spazmojenler

Subaraknoid mesafedeki kanın yıkım ürünlerinin SAK sonrası serebral vazospazmda rol aldığı bir gerçektir. Bunu gösteren bazı çalışmalar mevcuttur. Hayvan modellerinde subaraknoid mesafedeki kan volumu arttıkça anjiyografik olarak vazospazmın şiddeti artmaktadır (113). Maymunlarda yapılan başka bir çalışma ise subaraknoid mesafedeki kanın temizlenmesi ile anjiyografik vazospazm geri

dönebileceğini göstermektedir (114). Fisher ise SAK tanısı olan hastaların BT'lerinde kan miktarı ile serebral vazospazmın ilişkisini ortaya koymuştur (30).

Serebral vazospazm gelişiminde oxyHb molekülünün (ferröz hemoglobin) primer spazmojenik ajan olduğu bilinmektedir (60, 7). OxyHb, serebral vazospazmı olan hastaların beyin omurilik sıvılarında yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. Vazospazm gelişimi için en önemli komponent kırmızı kan hücreleridir ve burada olan oxyHb en vazoaktif ajandır. OxyHb konsantrasyonu ile serebral vazospazm arasında kuvvetli bir korelasyon mevcuttur. OxyHb; arter duvarından araşidonik asit ve metabolitlerinin salınması, vazodilatör bir ajan olan NO in temizlenmesi, perivasküler hücre hasarı yapması ve serbest radikal reaksiyonlarını destekleyerek vazospazma farklı yönlerden katkıda bulunur (54). (Şekil: 2.3)



**Şekil 2.3.** Oksihemoglobinin Vazospazmdaki Rolü (54)

Vazospazmın başlangıcında oxyHb çok önemli bir ajan olsa da; başka faktörler de söz konusudur. Araşidonik asit, serbest radikaller, serotonin, adenozin ve bilirubin oksidasyon ürünleri (BOX) serebral vazospazm oluşumunda rol oynayabilecek ajanlardır (108). Bunlardan bir kısmı arterlerde yapısal değişikliklere neden olarak vazospazm oluşumuna katkıda bulunmaktadır.

### 2.1.5.3. Endotelyal Faktörler

SAK sonrasında endotel kaynaklı vazodilatör (prostosiklin ve NO içeren bileşikler gibi) ve vazokonstriktör (araşidonik asidin siklooksijenaz ürünleri ve endotelinler gibi) faktörler arasındaki dengenin vazokonstriktör lehine bozulması serebral vazospazm gelişiminde önemli rol oynamaktadır (82).

### 2.1.5.4. Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO) yarı ömrü saniyeler süren serbest radikal bir gazdır. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile arjinin aminoasidinden sentezlenmektedir. Damar düz kasında gevşemeye neden olmaktadır. Nitrik oksit sentaz enziminin endotelyal (eNOS) ve nöronal (nNOS) olmak üzere iki tipi vardır. Nitrik oksit; nitrik oksit sentaz enzimi ve asimetrik dimetil arjinin (ADMA) tarafından negatif feedback mekanizma ile kontrol edilir (74). Ayrıca protein kinaz C (PKC) tarafından nitrik oksit sentazın fosforilasyonu da enzimatik aktiviteyi ve NO sentezini azaltmaktadır (63).

OxyHb tarafından nitrik oksidin temizlenmesi ve/veya nöronal nitrik oksit sentazın kaybı sonucu ortamdaki nitrik oksidin azalması serebral vazospazma neden olabilmektedir. Nitrik oksidin aşırı üretimi de OH<sup>-</sup> radikallerinin oluşumuna ve sonuçta vazospazma neden olabilmektedir (110, 86).

### 2.1.5.5. Endotelinler

Endotelin (ET) 21 aminoasit içeren peptid yapıda bir maddedir ve doğal güçlü vazokonstriktör etki göstermektedir (112). Çalışmalar vazospazm patogeneğinde rol aldığını göstermektedir (74). Bilinen 4 izoformundan en güçlüsü olan ET-1 vazokonstriksiyonda önemli rol oynar (15). Endotel ile birlikte nöronlar ve astrositler tarafından da üretilebilmektedir. Vazokonstriksiyondan başka fibrozis, endotelyal ve düz kas proliferasyonundan ve inflamasyonundan sorumlu tutulmaktadır. ET-1 in endotelin reseptörü ile etkileşimi sonucu fosfolipaz C aktive olur. Bu da arşidonik asit, DAG aktivasyonu ve damar düz kasında kasılma sonucu vazospazma neden olmaktadır. Ayrıca SAK sonrasında serebral damarların ET-1' e daha hassas hale geldikleri gösterilmiştir (66).



Bu amaçla endotelin reseptör antagonistleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Nonselektif ET reseptör antagonisti olan TAK-044' ün DIND insidansını azalttığı gösterilmiştir (87). ET reseptör antagonisti olan klazosentan ise anjiyografik çalışmalarda olumlu sonuçlar verirken, klinik çalışmalarda belirgin fayda göstermemiştir (59).

#### **2.1.5.6. Araşidonik Asit ve Metabolitleri**

Araşidonik asit (AA) poliansatüre yağ asididir ve membran fosfolipidlerinin yapısal komponentini oluşturmaktadır. Fosfolipaz A2 tarafından mobilize edildikten sonra siklooksijenaz (COX), lipooksijenaz ve sitokrom P450 (CYP) yolları ile çeşitli metabolitler oluşturur. COX yolağı sonucunda prostasiklin (PGI<sub>2</sub>), tromboksan (TXA<sub>2</sub>), primer prostaglandinler (PG) oluşur. Bunlardan tromboksan ve primer prostaglandinler vazokonstriktör etki gösterirken, prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) vazodilatör etki göstermektedir (56). SAK sonrasında vazodilatör ve vazokonstriktör maddeler arasındaki denge vazokonstriktörler lehine bozulmakta ve sonuçta vazospazm oluşmaktadır. Vazospazmda PGI<sub>2</sub> seviyesinde azalma gözlenmiştir (12).

Lipooksijenaz yolak sonucunda lökotrienler (LT), hidroperoksieikozatetraenoik asit (HPETE) ve hidroksieikazotetraenoik asit (HETE) oluşur. Bunlardan HETE vazoaktif bir ajandır (56).

CYP yolağı sonucunda 20-HETE ve epoksieiksosatrienoik asit (EET) oluşur. 20- HETE vazokonstiktör yapıda iken; EET vazodilatör etki göstermektedir (80).

Sonuç olarak araşidonik asit kendisi de oxyHb in endotelyal hücreler üzerine etkisini düzenleyerek (95) ve protein kinaz C (PKC) yolunu aktive ederek (49) vazospazm etyopatogenezinde rol oynamaktadır.

#### **2.1.5.7. İnflamasyon**

Subaraknoid kanama geçiren olguların BOS ve serumlarının biyokimyasal incelemeleri sonucunda ICAM-1, ECAM-1, selektin gibi inflamasyonda rol oynayan adezyon moleküllerinin seviyelerinde artış gösterilmiştir (25). Bu adezyon molekülleri inflame dokuda lökosit agregasyonunda rol oynamaktadırlar. ICAM-1'e karşı oluşturulan monoklonal antikörlerin tavşanlarda serebral vazospazmı azalttığı

gösterilmiştir (9). Diğer taraftan inflamasyonda rol oynayan aktive komplemanların subaraknoid mesafedeki eritrositlerin lizisini artırarak spazmojen moleküllerin salınımını hızlandırdığı gösterilmiştir. Kompleman aktivasyonunun baskılanmasının da deneysel çalışmalarda vazospazmı engellediği gösterilmiştir.

SAK sonrası kasılan arterlerde inflamasyonla ilgili genlerin up-regulasyonu gösterilmiştir. Ayrıca SAK olan hastaların BOS undan elde edilen aktive lökositlerin ET-1 sentez ettiği gösterilmiştir (29).

#### **2.1.5.8. Nörojenik Faktörler**

Serebral arterlerin sempatik, parasempatik ve sensorial innervasyonları mevcuttur (107). Yapılan bir çalışma SAK olan hastalarda nöronal düzenlemede bozulmanın serebral vazospazma neden olabileceği saptanmıştır. SAK' ın beyin sapından kaynaklı lokal refleksi aktive ettiği ve bu reflekslerin vazospazma neden olabileceği öne sürülmüştür (94).

Trigeminal sinir, anterior sirkulasyonun tamamına ve posterior sirkulasyonun büyük kısmına sensorial dallar vermektedir (89). Bu esnada vasküler tonun ayarlanması CGRP (calcitonine gene-related peptide) ve substance-P yoluyla olmaktadır. SAK sonrası CGRP' nin azalması sonucunda arterler kasılarak vazospazma uğrayabilmektedir (27). Tavşan deneylerinde CGRP' nin vazospazmı geri çevirdiği gözlenmiştir (42).

Weir ve arkadaşları nörojenik faktörlerin vazospazm patogenezinde santral bir rolden ziyade yan faktör olduğu hipotezini öne sürmüşlerdir (108).

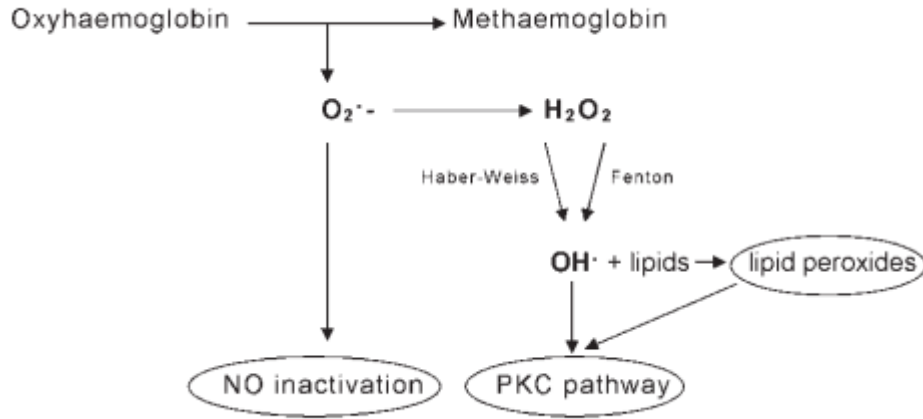
#### **2.1.5.9. Yapısal Etkiler**

SAK ve serebral vazospazm etkilerini damar duvarının bütün tabakalarında (adventisya, media ve intima) göstermektedir (74). Burada arter duvarındaki proliferasyon ve endotelial hücrelerde apoptoz dikkate değerdir (116). Subaraknoid mesafede oluşan pıhtıda biriken trombositlerden salınan mediatörler arter duvarının kalınlaşmasına neden olabilmektedir (11).

### 2.1.5.10 Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren moleküller olarak tanımlanabilir. Reaktif oksijen türleri (ROS) hem oksijen radikallerini (superoksit ve hidroksil gibi) hem de oksijen türevlerini (hidrojen peroksit gibi) kapsayan bir tanımdır (36).

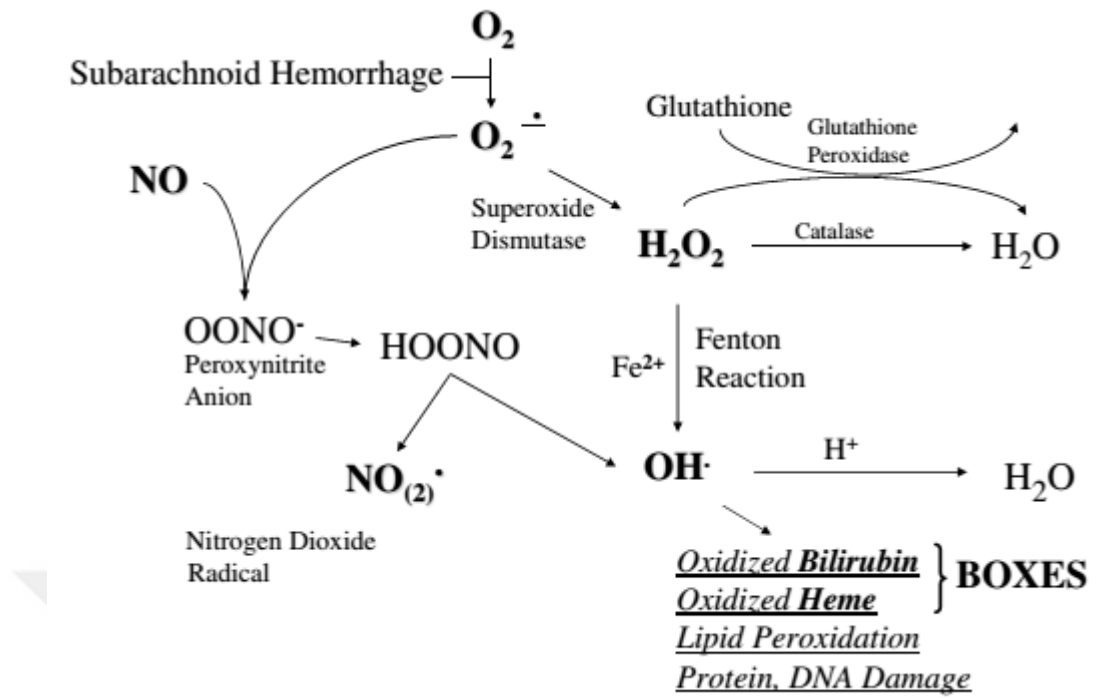
Reaktif oksijen türleri hücredeki lipid, protein ve nükleik asitlerde hasara yol açabilme potansiyeli olan moleküllerdir.(Şekil: 2.4) SAK sonrası ortamda olan reaktif oksijen ürünlerinden hidroksil iyonları (OH<sup>-</sup>) özellikle lipid peroksidasyonu yaparak arter duvarında hasara ve kasılmaya neden olur (61). Bu durumun vazospazmdan sorunlu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca ROS hem doğrudan hem de dolaylı olarak protein kinaz C (PKC) yolağını aktive ederek damar duvarında kasılmaya dolayısıyla da vazospazma yol açmaktadır. Subaraknoid mesafede biriken pıhtıdaki eritrositlerin lizisi sonucu oxyHb salınımı olmakta ve oxyHb de bir ROS ürünü olan superoksit anyonu ortaya çıkarmaktadır. Superoksit anyonu (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) superoksit dismutaz enzimi ile yine bir ROS olan hidrojen peroksite dönüşmektedir. Hidrojen peroksiti suya çeviren antioksidan etkili katalaz enzimi ortamda olmadığında serbest radikallerin aktivitesi devam etmektedir. Hidrojen peroksit ve superoksit anyonunu içeren Haber-Weiss reaksiyonu da hidroksil iyonu üreterek lipid peroksidasyonu ve sonuçta vazospazma katkıda bulunmaktadır. Haber-Weiss reaksiyonunda katalizör olarak demir rol almaktadır. Demir bağlayıcı bir ajan olan deferoksaminin deneysel çalışmalarda vazospazmı azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca hidrojen peroksit ortamda bulunan oxyHb katalizörlüğünde hidroksil iyonuna dönüşmektedir. Sonuçta serbest oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan hidrojen peroksit, hidroksil ve superoksit molekülleri vazospazm oluşumunda çeşitli mekanizmalar ile rol almaktadırlar (8). (Şekil 2.4) Buradan yola çıkarak deneysel ve klinik olarak kullanılan antioksidan etkili maddelerin (ör. Ebselen, tirilazad vb.) vazospazm üzerine olumlu etkiler gösterdiğini belirten çalışmalar mevcuttur (93).



**Şekil 2.4:** SAK Sonrası Oluşan Serbest Radikallerin Vazospazmdaki Rolü (54)

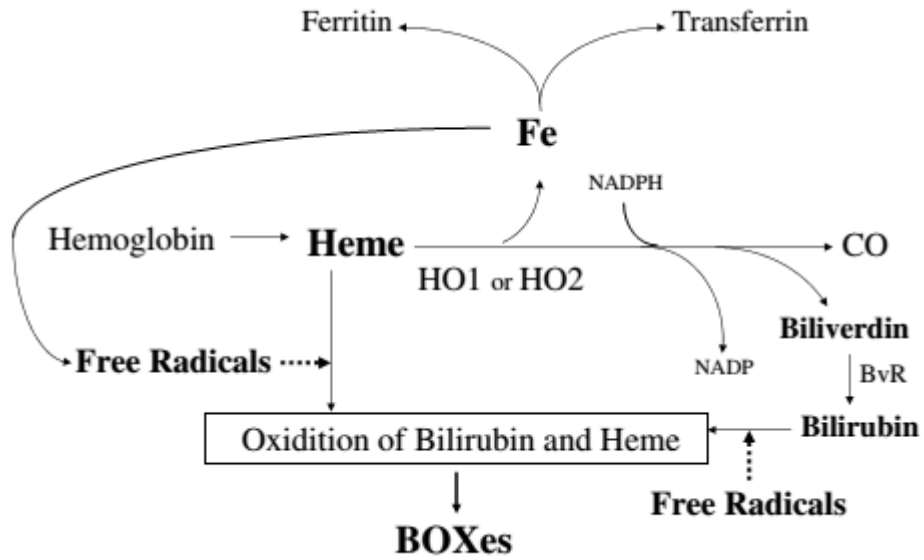
#### 2.5.5.11. Bilirubin oksidasyon ürünleri (BOX)

Subaraknoid kanamanın ardından ortamda biriken kanın hemolizi sonucunda ortama çeşitli maddeler salınmaktadır. Bu maddelerden altı çizilmesi gerekenlerden biri de “bilirubin” dir. Aslında bilirubinin kendisi serebral vazospazma yol açmamaktadır hatta antioksidan özellik göstermektedir. SAK sonrası vazospazm görülmeye başlanması ile BOS’ ta bilirubin düzeyinin yükselmesi hemen hemen aynı döneme denk gelmektedir. Bilirubin tek başına vazospazma rol açmadığı için bilirubinden bağımsız ancak bilirubin ile ilişkili bileşiklerin vazospazmda rol oynayabileceği sonucuna varılabilir. Buradan yola çıkarak bilirubinin ortamdaki serbest oksijen radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan bilirubin oksidasyon ürünlerinin (BOX) vazoaktif ajanlar olduğu ve vasospazma neden olabileceği sonucuna ulaşılabilir (75, 19). (Şekil 2.5)



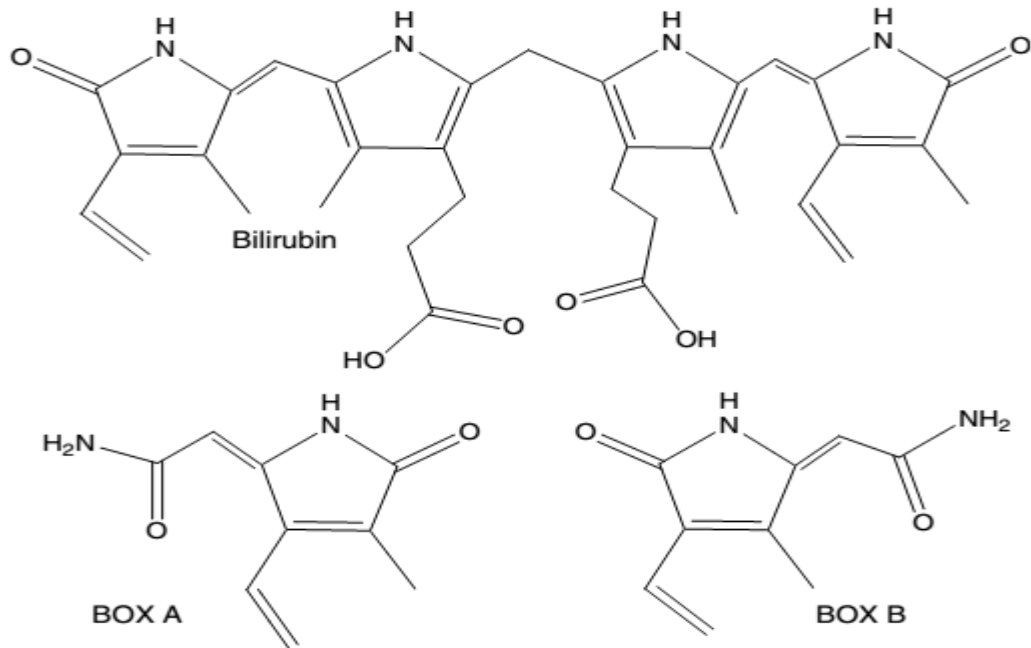
Şekil 2.5. SAK sonrası serbest radikallerden BOX oluşumu (19)

Subaraknoid mesafedeki kan heme oksijenaz enzim sistemi yolu CO (karbonmonoksit) ve biliverdine dönüşür. Biliverdin; biliverdin redüktaz enzimi ile bilirubine dönüşmektedir. Bu reaksiyonlar sonucunda oluşan bilirubinin ortamdaki oksidatif strese maruziyeti sonucu vazospazmdan sorumlu olduğu düşünülen bilirubin oksidasyon ürünleri (BOX) oluşmaktadır (51). (Şekil 2.6)



Şekil 2.6. Heme metabolizması (19)

BOX' ların hayvan deneylerinde vasküler düz kas hücrelerinde kasılmaya yol açtığı tespit edilmiştir (18). Kendisi vazospazmda rol oynamayan bilirubinin oksidasyonunun engellenmesi BOX' lar üzerinden vazospazmın engellenmesinde rol oynayabilir.



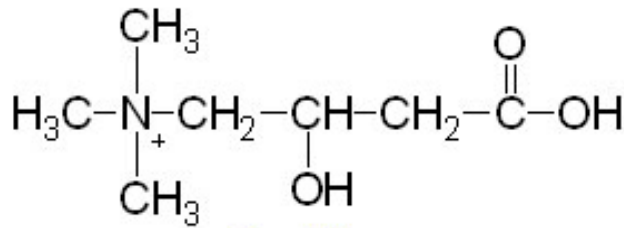
Şekil 2.7. Bilirubin ve BOX' ların Kimyasal Yapısı (19)

### 2.1.6. Karnitin

SAK sonrası ortamdaki oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri serebral vazospazmın oluşmasında ve ilerlemesinde önemli rol oynamaktadırlar. Bu amaçla bu stresi ve radikallerin ortamdaki uzaklaşmasını sağlayacak “antioksidan” etkili maddelerin vazospazmı önleyebileceği öne sürülmüştür ve bu konu üzerine çalışmalar yapılmıştır. Alfa lipoik asit (28), N-asetil sistein (71), askorbik asit (53), curcumin (106), edaravon (68), melatonin (2), selenyum (52) gibi antioksidan etkili maddeler bu çalışmalarda kullanılmış ve vazospazm üzerine olumlu etkiler gösterdiği tespit edilmiştir.

Antioksidan etkili bir madde olan karnitin; lizin ve metionin aminoasitlerinden sentez edilen endojen bir aminoasittir (43). (Şekil 2.8) Vücutta karaciğer ve böbrekte sentez edilebilmekte; iskelet kası, beyin, kalp ve spermde depolanabilmektedir. Kırmızı et ve süt ürünleri temel karnitin kaynaklarıdır. Ayrıca balık, tavuk, kuşkonmaz, buğday, avokado ve yerkıstığı yağında da karnitin bulunmaktadır. Temel görevi lipidlerden enerji elde etmektir ve vücutta lüzum halinde sentezlenir. Suda çözünebilme özelliğinden ötürü intravenöz olarak kullanılabilir. Antioksidan özelliği nedeniyle çeşitli patolojilerin tedavisinde deneysel ve klinik kullanımı mevcuttur. Angina pectoris (22), periferik damar hastalıkları (13), diabetik nöropati (38), Alzheimer hastalığı (73), hafıza bozuklukları (73), erkek infertilitesi (90), erektil disfonksiyon (14) ve hipertiroidizm (10) üzerine olumlu etkiler gösterdiği yayımlanmıştır.

Karnitin türevi olan asetil L- karnitin; travmatik beyin hasarı olan ratlarda 100 mg/kg dozda (travmadan sonraki 1-4-12-23. saatlerde) uygulandığında nöroprotektif etki gösterdiği yayımlanmıştır (83).



Şekil 2.8. Karnitin (43)

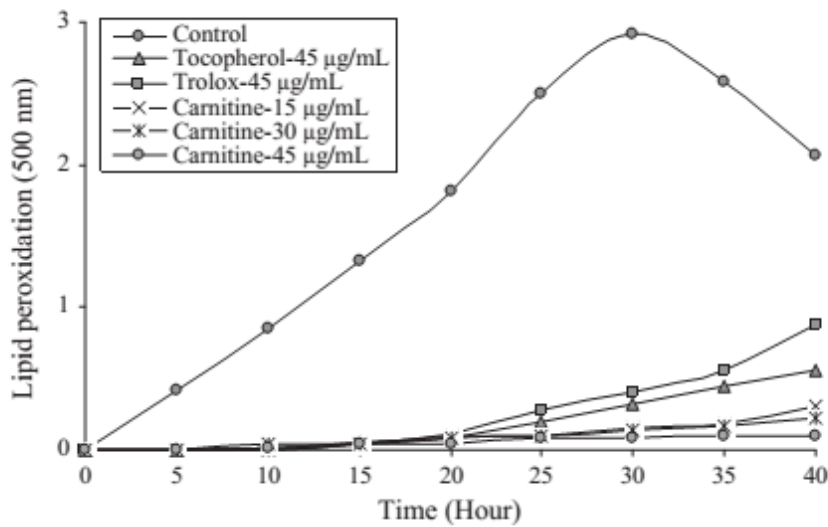
Antioksidan ve antiradikal etkinlik özellik biyokimyasal olarak çeşitli deneysel yöntemler ile ölçülmektedir (34). karnitine ait özellikler Tablo 2.2' de özetlenmektedir.

Karnitinin diğer antioksidan maddeler olan  $\alpha$ -tokoferol ve trolox ile karşılaştırmalı total antioksidan aktivitesi Tablo 2.3' te özetlenmiştir. Karnitin; SAK sonrası vazospazm patogenezinde kritik bir süreç olan lipid peroksidasyonunu engelleme bakımından bahsi geçen diğer antioksidanlara göre daha güçlü antioksidan etkide bulunmuştur (34).

**Tablo 2.2.** Karnitinin antioksidan ve antiradikal etkisi (34)

	YÖNTEM	ETKİNLİK
Total antioksidan aktivite	Ferrik tiyosiyanat	%97
Total redüksiyon kapasitesi	Potasyum ferrosiyamid	Efektif
Ferröz iyon şelasyon kapasitesi	-	%80,7
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> süpürücü aktivite	-	% 63
Radikal süpürücü aktivite	DPPH	%38,2
Superoksit anyon süpürücü aktivite	-	%72,4

**Tablo 2.3.**  $\alpha$ -tokoferol, trolox ve farklı dozlardaki karnitinin total antioksidan aktivitesi (34)





### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya ait deney protokolü Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından incelendi ve 18.11.2014 tarihli oturumda 2014/55-02 Karar numarası ile onaylandı.

Bu çalışmada ağırlıkları 2500 ile 3500 gram arasında değişen 20 adet erkek Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanıldı. Deney süresince hayvanlar, standart laboratuvar koşullarında tutuldu ve standart yem ile beslendi. (Şekil 3.1)



**Şekil 3.1.** Standart laboratuvar koşulları

Deney planında 4 grup belirlendi:

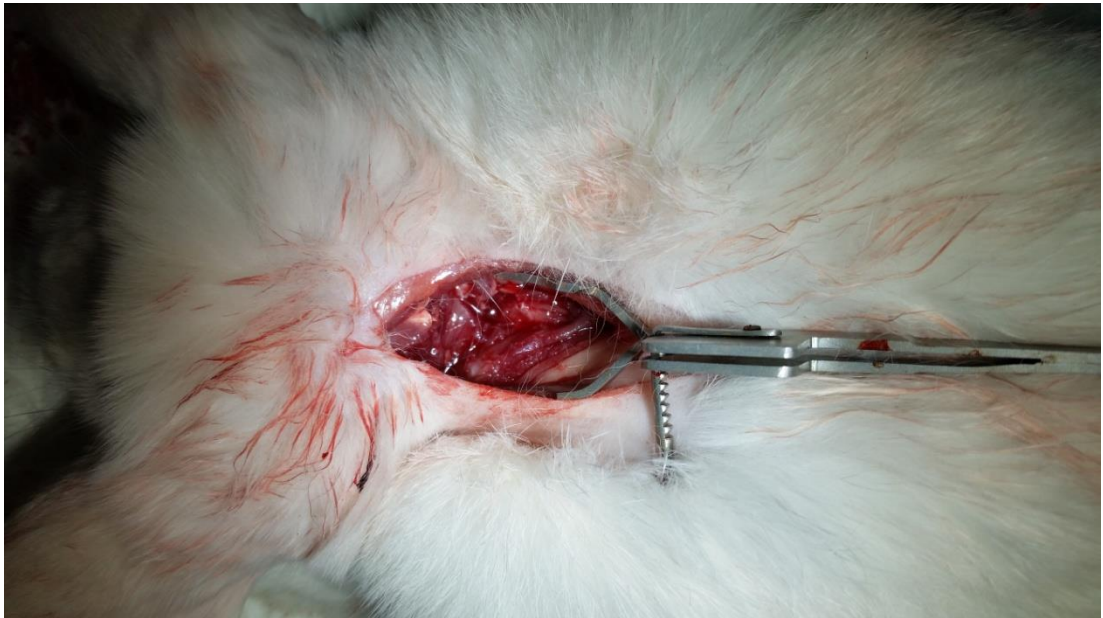
- Grup 1: Kontrol Grubu                      5 adet
- Grup 2: Karnitin Grubu                    5 adet
- Grup 3: SAK grubu                         5 adet
- Grup 4: SAK + Karnitin Grubu         5 adet

### 3.1. Anestezi

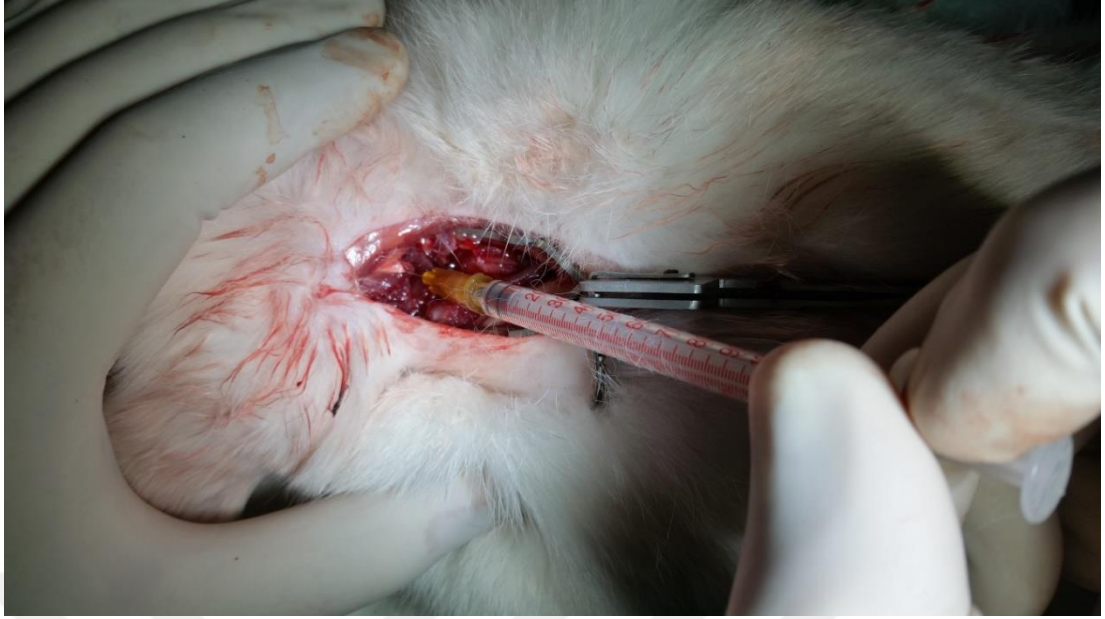
Bir gece önceden aç bırakılan hayvanlara genel anestezi sağlamak amacıyla 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Alfamin®) ve 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne®) intramüsküler yolla enjekte edildi. Anesteziden sonra denekler kendi solunumlarına bırakıldı.

### 3.2. Subaraknoid Kanama Oluşturulması

Deneklerde genel anestezi sağlandıktan sonra baş hafifçe fleksiyona getirilerek oksiput ile C1 vertebra arası palpasyonla bulundu. Bu bölge traş edildi ve yaklaşık 2 cm lik cilt insizyonu yapıldı. Adaleler disseke edildi ve oksiput – C1 vertebra aralığı ortaya kondu (Şekil 3.2). Bu aralıktan insülin enjektörü ile sisterna mangaya girilerek BOS gelişi görüldü. 1 cc lik BOS boşaltıldı ve hayvanın kulak arterinden alınan 1 ml kan sisterna mangaya enjekte edildi. (Şekil 3.3) Oluşturulan SAK sonrasında hayvanlar 45 derecelik Trendelenburg pozisyonunda 15 dakika bekletilerek enjekte edilen kanın sisterna magna içerisinde dağılması sağlandı.



Şekil 3.2. Oksiput – C1 aralığının diseksiyonu ve eksplorasyonu



**Şekil 3.3.** SAK oluşturulması amacıyla sisterna magnadan BOS çekilmesi

### **3.3. Karnitin Uygulanması**

Grup 2 ve Grup 4 'teki hayvanlara genel anestezi uygulandıktan sonra karnitin 100 mg/kg dozunda intravenöz yoldan 0-24-48. saatlerde verildi.

### **3.4. Perfüzyon ve Fiksasyon İşlemi**

72 saat sonrasında denekler sakrifiye edildi. Genel anesteziyi takiben torakotomi yapılan hayvanların inen aortaları eksplere edilerek klemple kapatıldı. Sol ventrikülleri 14F nelaton sonda ile kanüle edildi. Daha sonra sağ atrium açıldı. Sol ventrikülden bolus olarak verilen yaklaşık 1000 cc lik ringer laktat solusyonu ile beyin perfüzyonu sağlandı. Ardından 100 ml %2 lik gluteraldehit solusyonu verilerek vasküler yapıların fiksasyonu sağlandı. (Şekil 3.4 )



**Şekil 3.4:** Perfüzyon ve fiksasyon işlemi

### 3.5. Tedavi Grupları

**Grup 1 ( Kontrol, n=5) :** Bu gruptaki hayvanlarda SAK oluşturulmadı ve etkisi araştırılan madde olan karnitin uygulanmadı. Genel anestezi sonrası perfüzyon ve fiksasyon işlemini takiben geniş kraniektomi yapılarak beyin ve beyin sapı bir bütün olarak çıkarıldı. Çıkarılan dokular formaldehit solusyonu içerisinde konularak +4°C' de muhafaza edildi.

**Grup 2 ( Karnitin, n=5) :** Bu gruptaki hayvanlara 0-24-48. saatlerde intravenöz yoldan karnitin verildi. 72 saat sonrasında genel anestezi sonrası yapılan perfüzyon ve fiksasyon işlemini takiben geniş kraniektomi yapılarak beyin ve beyin sapı bir bütün olarak çıkarıldı. Çıkarılan dokular formaldehit solusyonuna konularak +4°C' de muhafaza edildi.

**Grup 3 (SAK, n=5) :** Bu gruptaki hayvanlarda yukarıda anlatılan teknikle SAK oluşturuldu ve 72 saat sonrasında genel anestezi altında perfüzyon ve fiksasyon işlemini takiben geniş kraniektomi yapıldı. Beyin ve beyin sapı bir bütün olarak çıkarıldı. Çıkarılan dokular formaldehit solusyonuna konularak +4°C' de muhafaza edildi.



**Grup 4 ( SAK + Karnitin, n=5) :** Bu gruptaki hayvanlara yukarıda anlatılan teknik kullanılarak SAK oluşturuldu ve 0-24-48. saatlerde intravenöz yoldan 100 mg/kg dozda karnitin verildi. SAK oluşturulduktan 72 saat sonra genel anestezi altında yapılan perfüzyon ve fiksasyon işlemini takiben geniş kraniektomi yapıldı. Beyin ve beyin sapı bir bütün olarak çıkarıldı. Çıkarılan dokular formaldehit solusyonuna konularak +4°C’ de muhafaza edildi.

### 3.6. Baziler Arter Preparatlarının Hazırlanması

Yukarıda anlatılan perfüzyon ve fiksasyon işlemini takiben hayvanlara geniş kraniektomi yapılarak beyin ve beyin sapı bir bütün olarak çıkarıldı. (Şekil 3.5 – 3.6) Çıkarılan dokular Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’ na ulaştırıldı. Laboratuvarda beyin ve beyin sapı birbirinden dikkatli bir şekilde ayrıldı. Daha sonra her bir örnekten baziler arteri içeren 5x4 mm’ lik preparatlar alınarak parafine gömüldü. Parafin bloklar hazır hale geldikten sonra her bir örnekten 0,5 mikron kalınlığında 4 adet kesit alındı. Bu kesitlerin her biri hematoxilen eozin boyasıyla boyanarak mikroskopik incelemeye hazır hale getirildi.



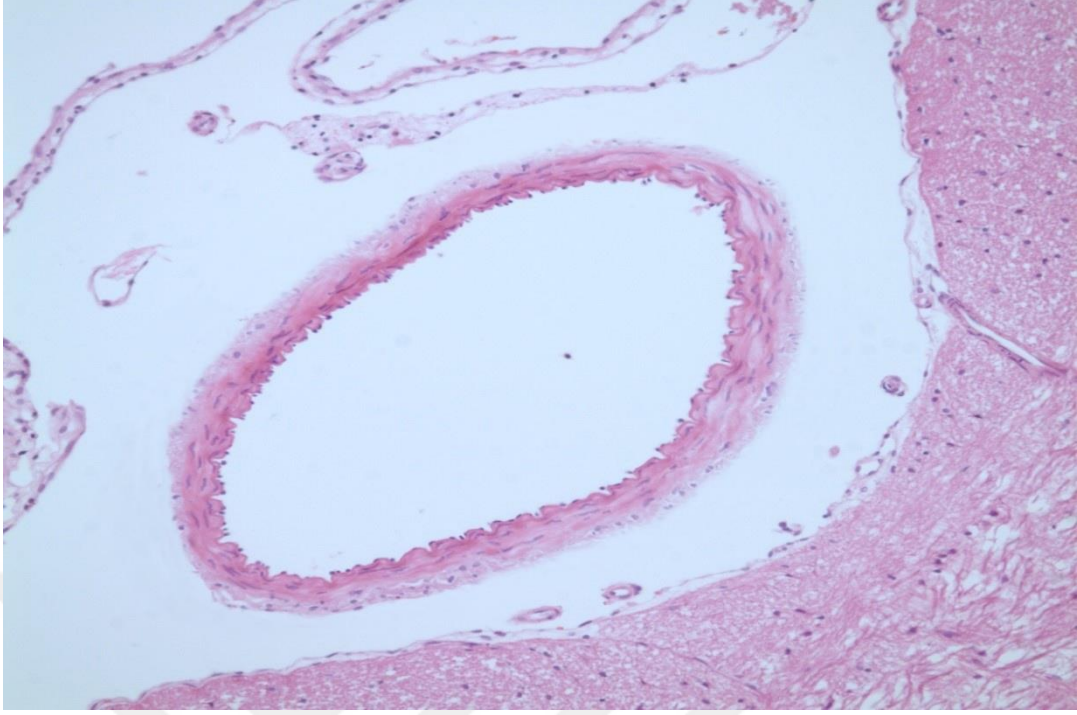
**Şekil 3.5.** Beyin – Beyin sapı



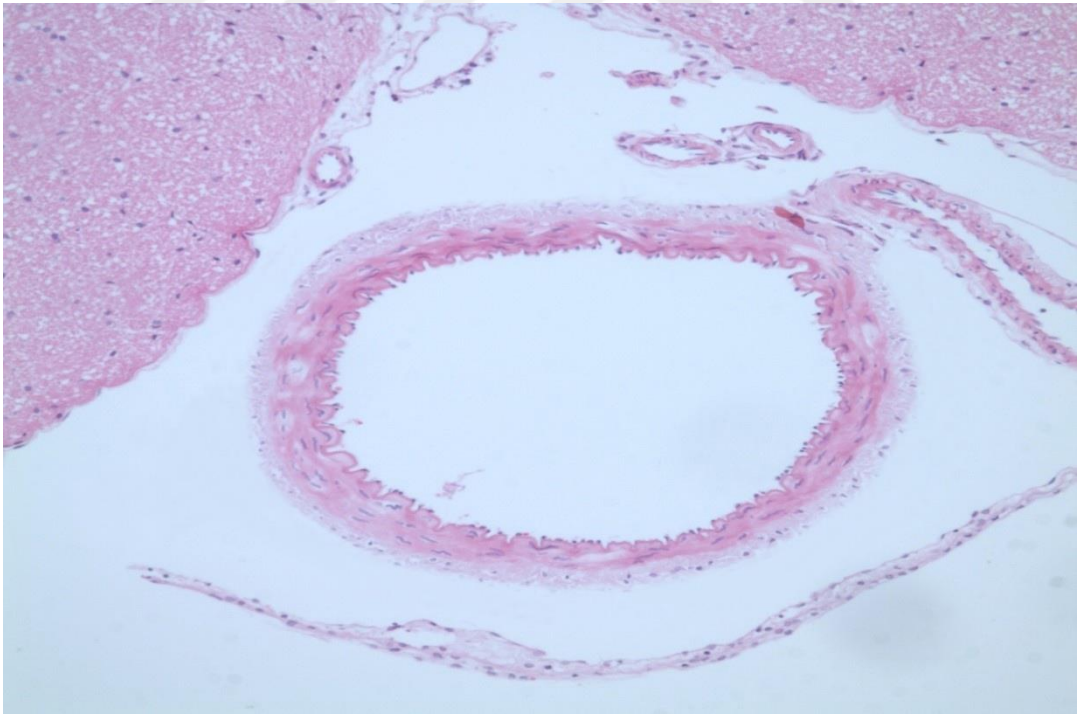
**Şekil 3.6.** SAK oluşumu sonrası beyin sapı ve baziler arter

### **3.7. Baziler Arter Ölçümlerinin Yapılması**

Hazırlanan preparatlar Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda mikroskop altında 20X büyütmede incelendi ve bütün kesitlerin fotoğrafları çekildi. ( Şekil 3.7 – 3.8 – 3.9 – 3.10) Çekilen fotoğraflar üzerinden baziler arter çapları mikrometre ( $\mu\text{m}$ ) ve baziler arter lümen alanları mikrometrekare ( $\mu\text{m}^2$ ) olarak ölçüldü. Ölçümler için SPOT (Windows: Version 4.1) isimli bilgisayar programı kullanıldı.

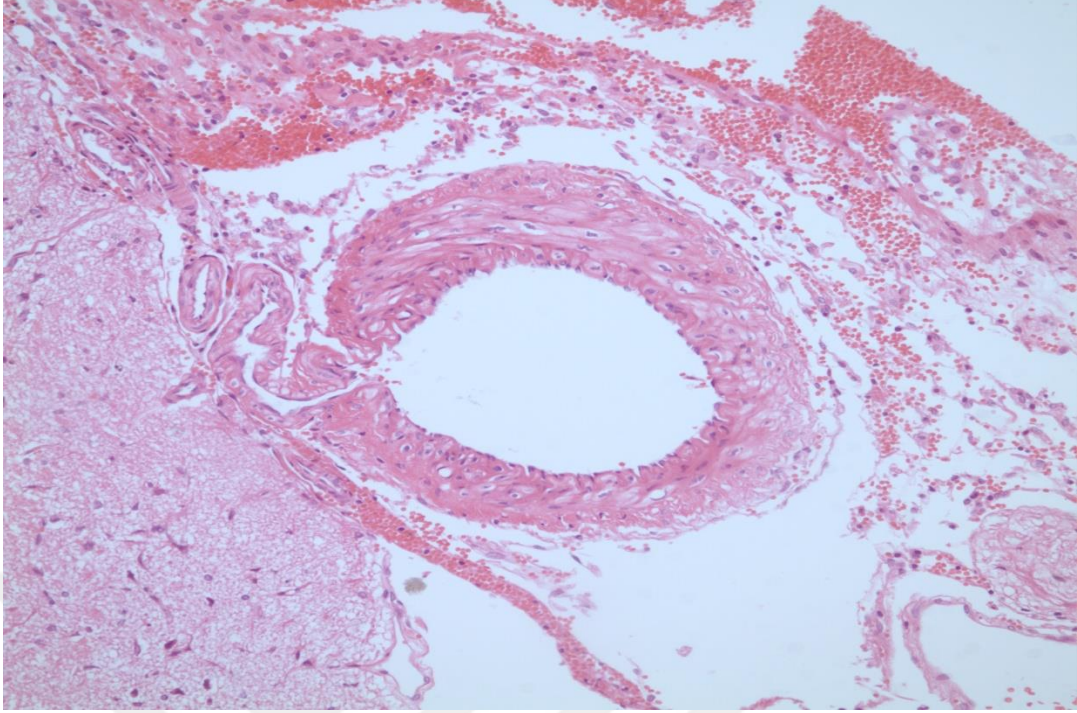


**Şekil 3.7.** Baziler arter ( Kontrol grubu)

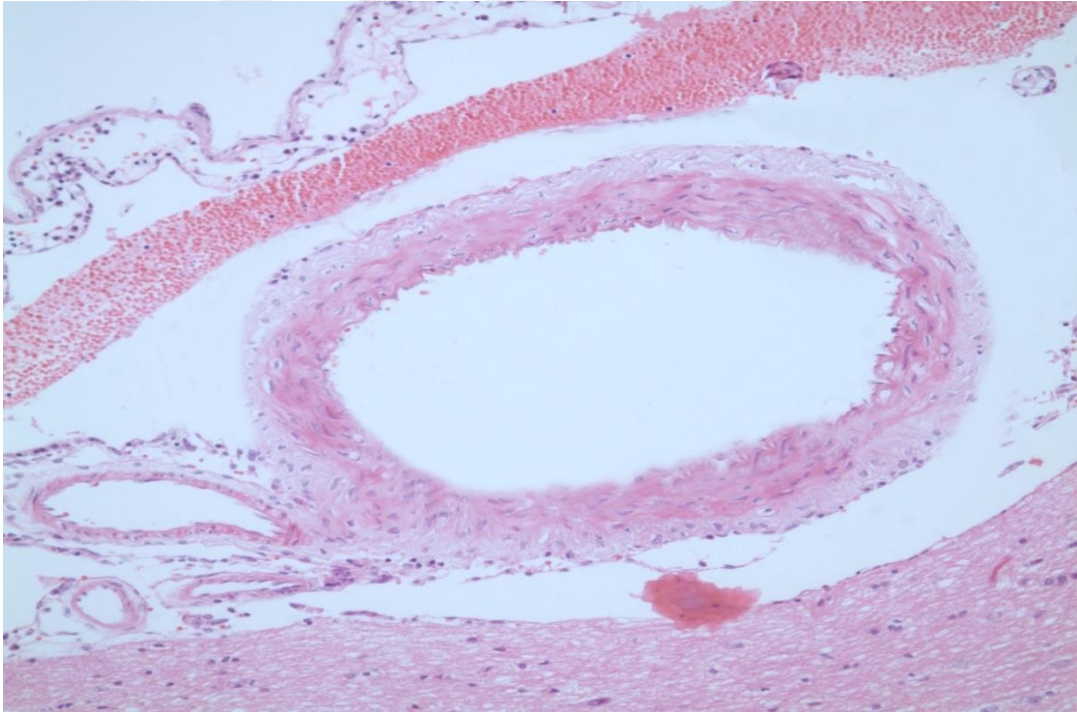


**Şekil 3.8.** Baziler arter ( Karnitin grubu)





**Şekil 3.9.** Baziler arter (SAK grubu) [lamina elastika katlantısında artış, tunika mediada vakuolizasyon, tunika adventisya etrafında kırmızı kan hücreleri)



**Şekil 3.10.** Baziler arter ( SAK + Karnitin grubu) [SAK grubuna göre lamina elastika katlantısında ve lamina mediadaki vakuolizasyonda azalma mevcuttur]



### 3.8. İstatistik Değerlendirme

Elde edilen verilerin değerlendirilmesi için SPSS for Windows 22 programı kullanıldı. Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis, bağımsız iki grup ortalamalarının karşılaştırılmasında ise Mann Whitney U testleri kullanıldı.



#### 4. BULGULAR

Çalışmada toplam 20 adet Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanıldı. Bu hayvanlar her bir grupta 5 adet tavşan olacak şekilde 4 gruba ayrıldılar. Bütün deneklerden elde edilen baziler arterlerden alınan 4'er adet kesit mikroskop altında incelenerek baziler arter duvarı kalınlığı ve lümen alanları ölçüldü. Ölçülen verilerin ortalamaları alınarak her hayvan için tek bir değer elde edildi. Toplam 20 tavşanın vücut ağırlıkları, beyin ağırlıkları, kan gazı parametreleri (pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>), baziler arter duvar kalınlıkları ve lümen kesit alanları ölçüldü.

Histopatolojik incelemede spazma uğrayan damarda; lamina elastika tabakası kıvrımlarında ve katlanmasında artış, tunika mediada vakuolizasyon ve tunika adventisya etrafında kırmızı kan hücreleri ve inflamatuvar hücrelerin birikimi karakteristik özelliklerdir (9). (Şekil 3.7 – 3.8 – 3.9 – 3.10)

Deneysel subaraknoid kanama (SAK) modeli ile oluşturulan serebral vazospazma intravenöz yolla uygulanan karnitinin etkisini incelemek amacıyla dört grup tavşanda istatistiksel inceleme yapılmıştır. Tavşanlar kontrol grubu, karnitin grubu, SAK grubu ve SAK + karnitin grubu olmak üzere 4 gruba ayrılmış ve elde edilen veriler bu gruplara göre incelenmiştir. Deneysel süreçten önce bütün deneklerin vücut ağırlıkları değerlendirilmeye alınmıştır. (Tablo 4.2) Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; gruplar arasında tavşanların vücut ağırlıklarının dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. (p=0,886) (Tablo 4.1) Bu durum; grupların başlangıçta farklı olmadığını, tavşanları ayırmada taraf tutulmadığını göstermektedir.

**Tablo 4.1.** Kruskal-Wallis analizi kullanılarak grupların ortalamalarının karşılaştırılması

	<b>p</b>
Tavşan ağırlığı	0,886
Beyin ağırlığı	0,253
pH	0,446
pO <sub>2</sub>	0,189
pCO <sub>2</sub>	0,416
Damar duvar kalınlığı	0,001
Damar lümen alanı	0,001

**Tablo 4.2.** Tavşanların ağırlıklarının gruplara göre dağılımı

<b>GRUPLAR</b>	<b>Vücut Ağırlığı (gram)</b>	
	<b>Min - Max</b>	<b>Ortalama ± SD</b>
<b>Kontrol ( n=5)</b>	2520 – 3240	2884 ± 340,7
<b>Karnitin ( n=5)</b>	2540 – 3320	2928 ± 296,7
<b>SAK (n=5)</b>	2510 – 3410	2906 ± 342,9
<b>SAK + Karnitin (n=5)</b>	2750 – 3390	3026 ± 261,6

Deneysel süreç tamamlanıp sakrifiye edildikten sonra tavşanlardan çıkarılan beyinlerin ağırlıkları değerlendirilmeye alınmıştır. (Tablo 4.3) Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; gruplar arasında tavşanların beyin ağırlıklarının dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. (p=0,253) (Tablo 4.1)

**Tablo 4.3.** Tavşanların beyin ağırlıklarının gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	Beyin Ağırlığı (gram)	
	Min - Max	Ortalama $\pm$ SD
<b>Kontrol ( n=5)</b>	8,8 – 9,6	9,2 $\pm$ 0,31
<b>Karnitin ( n=5)</b>	8,6 – 9,4	8,8 $\pm$ 0,31
<b>SAK (n=5)</b>	8,8 – 9,4	9,0 $\pm$ 0,23
<b>SAK + Karnitin (n=5)</b>	8,6 – 9,1	8,8 $\pm$ 0,19

Deneysel süreçte tavşanlardan elde edilen arteriyel kan gazının pH değerleri değerlendirmeye alınmıştır. (Tablo 4.4) Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; gruplar arasında tavşanların kan gazı pH değerlerinin dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. (p= 0,446) (Tablo 4.1)

**Tablo 4.4.** Tavşanların kan gazı pH değerlerinin gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	pH	
	Min - Max	Ortalama $\pm$ SD
<b>Kontrol ( n=5)</b>	7,38 – 7,42	7,39 $\pm$ 0,01
<b>Karnitin ( n=5)</b>	7,38 – 7,41	7,40 $\pm$ 0,01
<b>SAK (n=5)</b>	7,39 – 7,43	7,41 $\pm$ 0,01
<b>SAK + Karnitin (n=5)</b>	7,39 – 7,43	7,41 $\pm$ 0,01

Deneysel süreçte tavşanlardan elde edilen arteriyel kan gazının pO<sub>2</sub> değerleri değerlendirilmeye alınmıştır. (Tablo 4.5) Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; gruplar arasında tavşanların kan gazı pO<sub>2</sub> değerlerinin dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. (p= 0,189) (Tablo 4.1)

**Tablo 4.5.** Tavşanların kan gazı pO<sub>2</sub> değerlerinin gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	pO <sub>2</sub>	
	Min - Max	Ortalama ± SD
<b>Kontrol ( n=5)</b>	103 – 110	106,4 ± 2,50
<b>Karnitin ( n=5)</b>	105 – 111	107,4 ± 2,30
<b>SAK (n=5)</b>	102 – 111	107,4 ± 3,78
<b>SAK + Karnitin (n=5)</b>	101 - 106	104,2 ± 2,16

DeneySEL süreçte tavşanlardan elde edilen arteriyel kan gazının pCO<sub>2</sub> değerleri değerlendirmeye alınmıştır. (Tablo 4.6) Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; gruplar arasında tavşanların kan gazı pCO<sub>2</sub> değerlerinin dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. (p=0,416) (Tablo 4.1)

**Tablo 4.6.** Tavşanların kan gazı pCO<sub>2</sub> değerlerinin gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	pCO <sub>2</sub>	
	Min - Max	Ortalama ± SD
<b>Kontrol ( n=5)</b>	40,6 – 41,1	40,8 ± 0,21
<b>Karnitin ( n=5)</b>	40,6 – 41,2	40,9 ± 0,24
<b>SAK (n=5)</b>	40,8 – 41,2	41,0 ± 0,15
<b>SAK + Karnitin (n=5)</b>	40,9 – 41,2	41,0 ± 0,15

DeneySEL süreç sonunda histopatolojik olarak her bir grubun baziler arter damar duvarı kalınlıkları incelenmiştir. (Tablo 4.7, Şekil 4.1) Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis, bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Mann Whitney U testleri kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testinde baziler arter damar duvarı kalınlıklarının dağılımında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edilmiştir. (p=0,001) (Tablo 4.1) Mann Whitney U testiyle yapılan gruplar arası ikili karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubu ile karnitin grubu arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. (p=0,841) Kontrol grubu ile SAK grubu karşılaştırıldığında, SAK grubunda damar duvarı kalınlıklarının

ortalaması kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. ( $p=0,008$ ) Bu bulgu SAK sonrası vazospazmın geliştiğini desteklemektedir. SAK grubu ile SAK + karnitin grubu arasındaki karşılaştırmada ise; damar duvarı kalınlıklarının, SAK + karnitin grubunda SAK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu gözlenmiştir. ( $p=0,009$ ) Bu sonuçlarla SAK sonrası karnitin uygulanmasının vazospazmı anlamlı ölçüde azalttığı anlaşılmıştır.

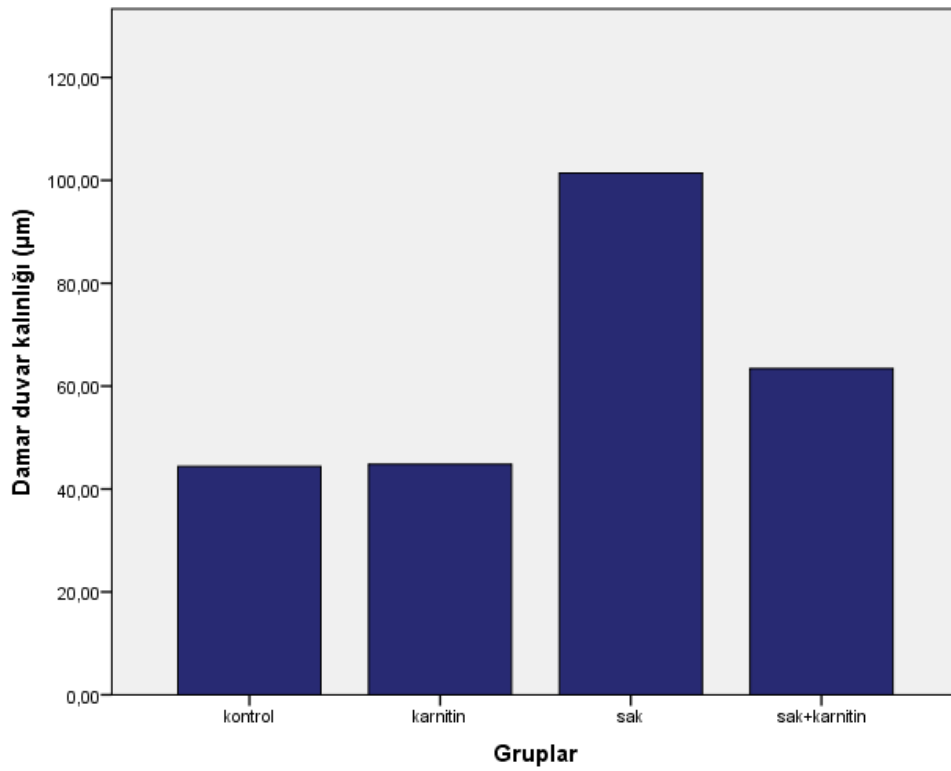
**Tablo 4.7.** Tavşanların baziler arter duvar kalınlıklarının gruplara göre dağılımı

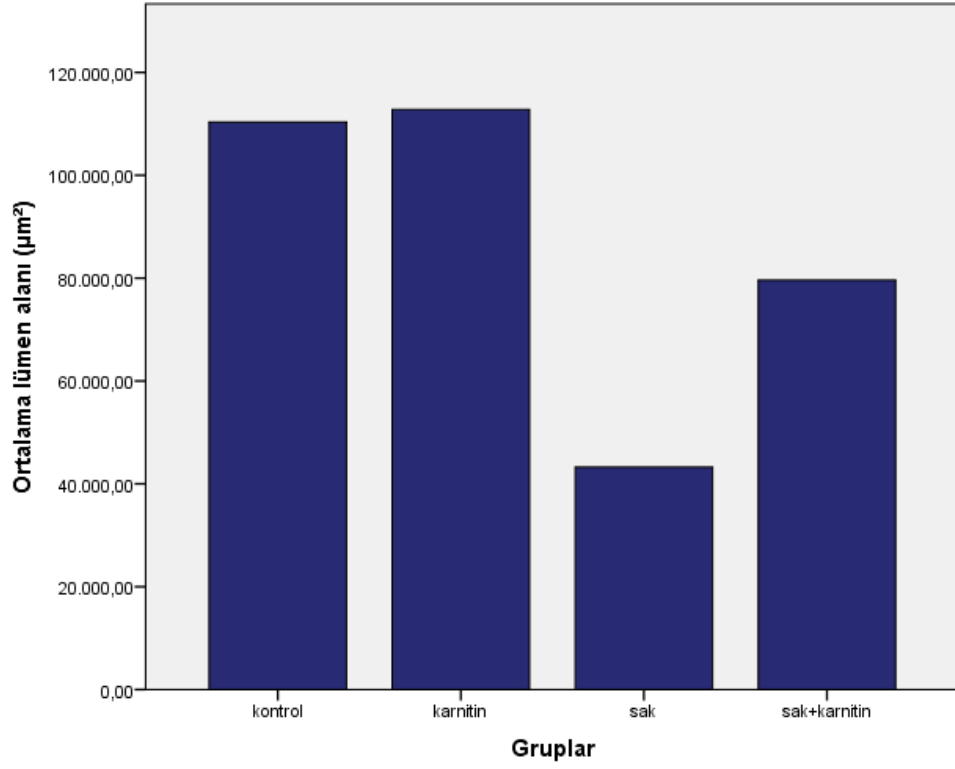
GRUPLAR	Baziler Arter Duvar Kalınlığı ( $\mu\text{m}$ )	
	Min - Max	Ortalama $\pm$ SD
<b>Kontrol ( n=5)</b>	39 – 50	44,4 $\pm$ 4,61
<b>Karnitin ( n=5)</b>	39 – 52	44,8 $\pm$ 5,16
<b>SAK (n=5)</b>	97 – 110	101,4 $\pm$ 5,12
<b>SAK + Karnitin (n=5)</b>	59 – 68	63,4 $\pm$ 3,64

Deneysel süreç sonunda histopatolojik olarak her bir grubun baziler arter lümen alanları incelenmiştir. (Tablo 4.8, Şekil 4.2) Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis, bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Mann Whitney U testleri kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testinde baziler arter lümen alanlarının dağılımında, gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edilmiştir. ( $p=0,001$ ) (Tablo 4.1) Mann Whitney U testiyle yapılan gruplar arası ikili karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubu ile karnitin grubu arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. ( $p=0,916$ ) Kontrol grubu ile SAK grubu karşılaştırıldığında, SAK grubunda lümen alanlarının ortalaması kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. ( $p=0,009$ ) Bu bulgu SAK sonrası vazospazmın geliştiğini desteklemektedir. SAK grubu ile SAK + karnitin grubu arasındaki karşılaştırmada ise; lümen alanlarının, SAK + karnitin grubunda SAK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir. ( $p=0,008$ ) Bu sonuçlarla SAK sonrası karnitin uygulanmasının vazospazmı anlamlı ölçüde azalttığı anlaşılmıştır.

**Tablo 4.8.** Tavşanların baziler arter lümen alanlarının gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	Lümen Alanı ( $\mu\text{m}^2$ )	
	Min - Max	Ortalama $\pm$ SD
<b>Kontrol ( n=5)</b>	99829 – 120613	110338,40 $\pm$ 8021,80
<b>Karnitin ( n=5)</b>	105117 – 118562	112788,80 $\pm$ 5915,10
<b>SAK (n=5)</b>	38150 – 46465	43265,20 $\pm$ 3260,30
<b>SAK + Karnitin (n=5)</b>	75613 – 83101	79618,80 $\pm$ 3091,66

**Şekil 4.1.** Grupların Damar Duvar Kalınlıklarının Ortalama Değerleri



Şekil 4.2. Grupların Damar Lümen Alanlarının Ortalama Değerleri



## 5. TARTIŞMA

Subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral vazospazm ve takiben ortaya çıkan serebral iskemi uzun yıllardır üzerinde yapılan çalışmalara rağmen halen morbidite ve mortalitenin major belirleyicisidir. Subaraknoid kanama sonrası ortaya çıkan birçok faktörün serebral vazospazm patogenezinde rol aldığı ortaya konmuştur. Bu faktörler esasen SAK sonrası subaraknoid mesafede biriken pıhtı ve pıhtının metabolizması sonrası ortaya çıkan vazoaaktif maddelerdir (proinflamatuvar, proapopitotik, vazokonstriktör vb.). Hastalığın multifaktöryel doğası nedeniyle serebral vazospazma yönelik etkin bir tedavi yöntemi geliştirilememiştir. Serebral vazospazm ve DIND patofizyolojisinin tam olarak anlaşılması kilit önemde olduğu için bu konu hakkında deneysel çalışma yapmak bir gerekliliktir. İnsan fizyolojisi ve anatomisinin en yakın olduğu denek grubu primatlardır (100). Ancak maliyet, barındıracak fiziki koşulların organizasyonunun güçlüğü ve anestezi tekniği ile ilgili komplikasyonlar nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Maliyetlerinin düşük olması, güvenli bir şekilde serebral vazospazmı oluşturabilmeleri nedeniyle tavşanlar sık kullanılan deneklerdir. Bu nedenle biz de çalışmamızda tavşan modelini kullanmayı uygun bulduk.

Kulak arterinden alınan otolog kanın, oksiput – C1 arası mesafeye girilip sisterna magna'ya enjeksiyonu sonucu tavşanda subaraknoid kanama modeli oluşturulmaktadır. Enjeksiyonu takiben deneğin Trendelenburg pozisyonunda bekletilmesi ile enjekte edilen kan bazal sisternler boyunca yayılmış olur. Literatürde sisternal enjeksiyonun birden fazla uygulandığı bildirilmiş olsa da bu durumun serebral vazospazm oluşumuna çok önemli bir katkı yapmadığı gösterilmiştir (92,105).

Subaraknoid kanama modeli oluşturulan tavşanlarda kanamanın 2. Gününde serebral anjiyografide vazospazma dair belirtiler gözlenmiştir. Başka bir çalışmada vazospazmın tavşanlarda 2-5. günlerde olduğu gösterilmiştir (92). Ayrıca 3. günde maksimal düzeye ulaştığını gösteren bir çalışma da mevcuttur (105). Bu bilgiler ışığında, biz de çalışmamızda bir defaya mahsus intrasisternal enjeksiyon yapmayı ve denekleri kanama modeli oluşturduktan 72 saat sonra sakrifiye etmeyi uygun bulduk.

Subaraknoid kanama sonrası ortamdaki serbest radikaller ve oksidatif stresin çeşitli mekanizmalar ile damar düz kasında harabiyete yol açtığı; sonuçta serebral vazospazm ve DIND' e yol açtığı gösterilmiştir. Ortamdaki serbest oksijen radikallerinin oluşmasını engelleyen ya da oluşan radikalleri ortamdaki uzaklaştırma özelliğinde olan antioksidan maddelerin vazospazm üzerine olumlu etkiler gösterdiği bilinmektedir. Biz de bu çalışmayı planlarken antioksidan ve antiradikal etkisi ispatlanan karnitin serebral vazospazma etkisini araştırmaya değer bulduk.

Karnitin endojen olarak lizin ve metionin aminoasitlerinden, karaciğer ve böbrekte sentezlenmektedir. Vücutta iskelet kası, beyin, kalp ve spermde depolanabilmektedir. Süt ürünleri ve kırmızı et temel karnitin kaynaklarıdır. Ayrıca balık, tavuk, kuşkonmaz, buğday, avokado ve yerfıstığı yağında da karnitin bulunmaktadır. Temel görevi lipidlerden enerji elde etmek olan karnitin vücutta lüzum halinde sentezlenir. Angina pectoris, periferik damar hastalıkları, diabetik nöropati, Alzheimer hastalığı, erkek infertilitesi, erektil disfonksiyon ve hipertiroidizmde deneysel ve klinik kullanımı mevcuttur. Karnitin kanda dolaşımı mümkün olduğu için intravenöz uygulamanın bu çalışma için uygun olacağını düşündük. Ayrıca karnitin, travmatik beyin hasarı ve periferik sinir hasarı modellenen hayvan deneylerinde 100 mg/kg/günlük dozda uygulandığında anlamlı etkilerinin gözlenmesi üzerine (83) biz de 100 mg/kg/günlük dozun uygun olacağını düşündük.

Subaraknoid mesafedeki pıhtı kaynaklı oksihemoglobin (oxyHb) primer spazmojenik ajandır. OxyHb, reaktif oksijen ürünleri olan hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) ve superoksit ( $\text{O}_2^-$ ) anyonlarını ortaya çıkarmaktadır. Oksidan bir enzim olan superoksit dismutaz vasıtasıyla  $\text{O}_2^-$  anyonu başka bir reaktif oksijen ürünü olan hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dönüşmektedir. Superoksit anyonu ve hidrojen peroksit, lipid peroksidasyonu yaparak damar duvarında harabiyete neden olmakta ve sonuçta vazospazm oluşturarak serebral perfüzyonu bozmaktadırlar. Ayrıca vazokonstriktör maddeler olan endotelin ve arşidonik asit metabolitlerinin damar duvarından salınması, vazodilatör ajan olan nitrik oksit ortamdan temizlenmesi, serbest radikallerin ve bilirubin oksidasyon ürünleri (BOX) nin oluşması damar duvarında harabiyete, damar lümeninde daralmaya ve sonuçta serebral perfüzyonun bozulmasına yol açar.

Karnitin, serbest oksijen radikallerinin oluşmasına neden olan reaksiyonları inhibe ederek veya serbest oksijen radikallerini ( $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{O}_2^\cdot$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) superoksit dismutaz ve katalaz enzimleri vasıtasıyla ortamdan uzaklaştırarak antioksidan ve antiradikal etki göstermektedir. Bu etki sonucunda; serebral damar duvarında harabiyete ve kasılmaya yol açan lipid peroksidasyonunun önüne geçilebilir. Ayrıca yine vazospazm patogenezinde rol aldığı gösterilen bilirubin oksidasyon ürünlerinin (BOX) oluşmasını antioksidan etkisiyle engelleyerek vazospazmı çözücü etki gösterebilir.

Antioksidan ve antiradikal aktiviteyi gösteren çeşitli biyokimyasal testler mevcuttur. Yapılan bir çalışmada karnitinin total antioksidan aktivitesi, total redüksiyon kapasitesi, ferröz iyon şelasyon kapasitesi, hidrojen peroksit süpürücü aktivitesi, radikal süpürücü aktivitesi ve superoksit anyon süpürücü aktivitesi ölçülmüş ve karnitinin bütün bu yöntemlerle ölçülen antioksidan aktivitesinin efektif olduğu gösterilmiştir (34).

Subaraknoid kanama sonrası 100 mg/kg/gün dozunda intravenöz karnitin verilen tavşanlar ile sadece SAK oluşturulan grup karşılaştırıldığında baziler arter duvar kalınlığı SAK sonrası karnitin verilen grupta anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ayrıca SAK sonrası karnitin verilen grupta sadece SAK oluşturulan gruba göre baziler arter lümen kesit alanı istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Bu bulgulara dayanarak; karnitinin SAK sonrası gelişen serebral vazospazmı azalttığı söylenebilir.

Yapılan bu çalışma subaraknoid kanama modelinde karnitinin uygulandığı ilk çalışmadır ve elde edilen sonuçlar bize SAK sonrası vazospazm sürecinde karnitin kullanımının klinik olarak araştırılmaya değer olduğunu göstermektedir. SAK sonrası gelişen vazospazmın yaptığı gecikmiş iskemik nörolojik hasara engel olmak için vazospazm gelişen hastalarda kullanılan altın standart triple H (hipertansiyon, hemodilüsyon, hipervolemi) tedavisidir. Serebral vazospazmın kimyasal yollarla azaltılması çalışmaları birçok madde ile yapılmaktadır. Bu kimyasal maddelerin bir kısmının sistemik yan etkileri bulunmaktadır (Örneğin nimodipinin vazospazmda etkisi gösterilmiştir ancak hipotansiyona da neden olabilmektedir). Buna karşılık endojen bir madde olan ve diyet desteği olarak da kullanılabilen karnitinin gösterilen

bir yan etkisi bilinmemektedir (34). Bu nedenle karnitin, SAK sonrası gelişen vazospazmın kimyasal kontrolünde kullanılacak bir ajan olabileceği kanaatindeyiz. Çalışmamızda da karnitin serebral vazospazm tedavisinde deneysel subaraknoid kanamaya bağlı serebral vazospazm üzerinde çözücü bir etkisinin olduğu gösterilmiştir.



## 6. SONUÇ

Bu çalışmada deneysel subaraknoid kanama modeli oluşturulan tavşanlarda antioksidan bir madde olan karnitin, vazospazm sürecini yavaşlatabileceği hipotezi öne sürülmüştür. Deney sonunda elde edilen histolojik bulgular hipotezin desteklendiği yönündedir. Deneysel subaraknoid kanama modelinde karnitin ilk defa uygulanmıştır. Elde edilen etkin sonuçlar ışığında, karnitin; vazospazm tedavisi üzerine yapılacak klinik deneyler açısından iyi bir aday olacağı öngörülebilir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Aaslid R, Markwalder TM, Nornes H: Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. *J Neurosurg.* 57:769–774, 1982
2. Aladag MA, Turkoz Y, Parlakpınar H, Ozen H, Egri M, Unal SC: Melatonin ameliorates cerebral vasospasm after experimental subarachnoidal haemorrhage correcting imbalance of nitric oxide levels in rats. *Neurochem Res.* 34:1935-1944, 2009
3. Amin-Hanjani S, Ogilvy CS, Barker FG: II. Does intracisternal thrombolysis prevent vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage? A meta-analysis. *Neurosurgery* 254:326–334, 2004
4. Andaluz N, Zuccarello M: Fenestration of the lamina terminalis as a valuable adjunct in aneurysm surgery. *Neurosurgery* 55:1050–1059, 2004
5. Apostolides PJ, Greene KA, Zabramski JM, Fitzgerald JW, Spetzler RF: Intra-aortic balloon pump counterpulsation in the management of concomitant cerebral vasospasm and cardiac failure after subarachnoid hemorrhage: technical case report. *Neurosurgery* 38:1056–1059, 1996
6. Arakawa Y, Kikuta K, Hojo M: Milrinone reduces cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage of WFNS grade IV or V. *NeurolMed Chir (Tokyo)* 44:393–400, 2004
7. Asano T: Oxyhemoglobin as the principal cause of cerebral vasospasm: a holistic view of its actions. *Crit Rev Neurosurg* 9:303–318, 1999
8. Asano T, Matsui T: Antioxidant therapy against cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Cellular and Molecular Neurobiology* 19:31-44, 1999
9. Bavbek M, Polin R, Kwan AL, Arthur AS, Kassell NF, Lee KS: Monoclonal antibodies against ICAM-1 and CD18 attenuate cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Stroke* 29:1930–1935, 1998

10. Benvenga S, Ruggieri RM, Russo A, Lapa D, Campenni A, Trimarchi F: Usefulness of L-carnitine, a naturally occurring peripheral antagonist of thyroid hormone action, in iatrogenic hyperthyroidism: a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.*86:3579-3594, 2001
11. Borel CO, McKee A, Parra A, Haglund MM, Solan A, Prabhakar V, Sheng H, Warner DS, Niklason L: Possible role for vascular cell proliferation in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 34:427–433, 2003
12. Boullin DJ, Bunting S, Blaso WP, Hunt TM, Moncada S: Responses of human and baboon arteries to prostaglandin endoperoxides and biologically generated and synthetic prostacyclin: their relevance to cerebral arterial spasm in man. *Br J Clin Pharmacol* 7:139–147, 1979
13. Carrero JJ, Grimble RF: Does nutrition have a role in peripheral vascular disease? *Br J Nutr.* 95(2):217-229, 2006
14. Cavallini G, Modenini F, Vitali G: Acetyl-L-carnitine plus propionyl-L-carnitine improve efficacy of sildenafil in treatment of erectile dysfunction after bilateral nerve-sparing radical retropubic prostatectomy. *Urology.* 66:1080-1085, 2005
15. Chow M, Dumont AS, Kassell NF: Endothelin receptor antagonists and cerebral vasospasm: an update. *Neurosurgery* 51:1333–1341, 2002
16. Chun-jing H, Shan O, Guo-dong L, Hao-xiong N, Yi-ran L, Ya-ping F: Effect of cervical sympathetic block on cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Acta Cir Bras.* 28:89–93, 2013
17. Chrissobolis S, Sobey CG: Recent evidence for an involvement of rho-kinase in cerebral vascular disease. *Stroke* 37:2174–2180, 2006
18. Clark JF, Reilly M, Sharp FR: Oxidation of bilirubin produces compounds that cause prolonged vasospasm of rat cerebral vessels: a contributor to subarachnoid hemorrhage-induced vasospasm. *J Cereb Blood Flow Metab.* 22:472-478, 2002

19. Clark JF, Sharp FR: Bilirubin oxidation products (BOXes) and their role in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 26:1223-1233
20. Connolly ES Jr, Rabinstein AA, Carhuapoma JR: American Heart Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Clinical Cardiology. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 43:1711–1737, 2012
21. Crowley RW, Medel R, Kassell NF, Dumont AS: New insights into the causes and therapy of cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Drug Discov Today* 13:254-60, 2008
22. DiNicolantonio JJ, Lavie CJ, Fares H, Menezes AR, O'Keefe JH: L-carnitine in the secondary prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc.* 88:544-551, 2013
23. Dion JE: Clinical events following neuroangiography: a prospective study. *Stroke* 18:997-1004, 1987
24. Dorsch NW, King MT: A review of cerebral vasospasm in aneurysmal subarachnoid haemorrhage Part I: Incidence and effects. *J Clin Neurosci.* 1:19-26, 1994
25. Dumont AS, Dumont RJ, Chow MM, Lin CL, Calisaneller T, Ley KF, Kassell NF, Lee KS: Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery* 53:123–133, 2003
26. Dusick JR, Gonzalez NR: Management of arterial vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Seminars In Neurology* 33: 488-497, 2013
27. Edvinsson L, Juul R, Jansen I: Perivascular neuropeptides (NPY, VIP, CGRP and SP) in human brain vessels after subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurol Scand* 90:324–330, 1994



28. Erdi MF, Guney O, Kiyici A, Esen H: The effects of alpha lipoic acid on cerebral vasospasm following experimental subarachnoid hemorrhage in the rabbit. *Turk Neurosurg.* 21:527-533, 2011
29. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, Bertsch T, Schmeck J, Schutt S, Fritzing M, Horn P, Vajkoczy P, Wendel-Wellner M, Ragoschke A, Kuehl S, Brunner J, Schurer L, Schmiedeck P, Hennerici M: Endothelin-1 in subarachnoid hemorrhage: an acute-phase reactant produced by cerebrospinal fluid leukocytes. *Stroke* 31:2971–2975, 2000
30. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM: Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery* 6:1–9, 1980
31. Fraticelli AT, Cholley BP, Losser MR, Saint Maurice JP, Payen D: Milrinone for the treatment of cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 39:893–898, 2008
32. Friedman JA, Goerss SJ, Meyer FB, et al. Volumetric quantification of Fisher grade 3 aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a novel method to predict symptomatic vasospasm on admission computerized tomography scans. *J Neurosurg* 97:401-408, 2002
33. Gonzalez NR, Boscardin WJ, Glenn T, Vinuela F, Martin NA: Vasospasm probability index: a combination of transcranial Doppler velocities, cerebral blood flow, and clinical risk factors to predict cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 107:1101–1112, 2007
34. Gulcin I: Antioxidant and antiradical activities of L- carnitine. *Life Sciences* 78: 803-811, 2005
35. Haley EC: Phase II trial of tirilazad in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A report of the Cooperative Aneurysm Study. *J Neurosurg.* 82:786-790, 1995
36. Halliwell B, Gutteridge MC: Free radicals in biology and medicine. New York: Oxford University Press. p 27, 1999

37. Harrod CG, Bendok BR, Batjer HH: Prediction of cerebral vasospasm in patients presenting with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a review. *Neurosurgery* 56:633-654, 2005
38. Head KA: Peripheral neuropathy: pathogenic mechanisms and alternative therapies. *Altern Med Rev.* 11:294-329, 2006
39. Heran NS, Hentschel SJ, Toyota BD. Jugular bulb oximetry for prediction of vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Can J Neurol Sci.* 31:80–86, 2004
40. Horowitz A, Menice CB, Laporte R, Morgan KG: Mechanisms of smooth muscle contraction. *Physiol Rev* 76:967–1003, 1996
41. Ikeda H, Yoshimoto T: Pathological study of Willis's circle in autopsy cases of polycystic kidney disease. *No To Shinkei* 39:909-13, 1987
42. Imaizumi S, Shimizu H, Ahmad I, Kaminuma T, Tajima M, Yoshimoto T: Effect of calcitonin gene-related peptide on delayed cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Surg Neurol.* 46:263–270, 1996
43. Iwamoto M, Miura Y, Tsumoto H, Tanaka Y, Morisawa H, Endo T, Toda T: Antioxidant effects of carnitine supplementation on 14-3-3 protein isoforms in the aged rat hippocampus detected using fully automated two-dimensional chip gel electrophoresis. *Free Radic Res.* 1:1-8, 2014
44. Jun P, Ko NU, English JD: Endovascular treatment of medically refractory cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *AJNR Am J Neuroradiol* 31:1911–1916, 2010
45. Juvela S, Porras M, Poussa K: Natural history of unruptured intracranial aneurysms: probability of and risk factors for aneurysm rupture. *J Neurosurg.* 93:379-387, 2000
46. Kassell NF: Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 16:562-572, 1985

47. Kawamoto S, Tsutsumi K, Yoshikawa G: Effectiveness of the head-shaking method combined with cisternal irrigation with urokinase in preventing cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.*100:236–243, 2005
48. Keuskamp J, Murali R, Chao KH: High-dose intraarterial verapamil in the treatment of cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 108:458–463, 2008
49. Khan WA, Blobe GC, Hannun YA: Arachidonic acid and free fatty acids as second messengers and the role of protein kinase C. *Cell Signal* 7:171–184, 1995
50. Kramer AH, Fletcher JJ: Locally-administered intrathecal thrombolytics following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review and meta-analysis. *Neurocrit Care* 14:489–499, 2005
51. Kranc, KR: Oxidative degradation of bilirubin produces vasoactive compounds. *Eur J Biochem.* 267:7094-7101, 2000
52. Kocaogullar Y, Ilik K, Esen H, Koc O, Guney O: Preventive effects of intraperitoneal selenium on cerebral vasospasm in experimental subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg Anesthesiol.* 22:53-58, 2010
53. Kodama N, Sasaki T, Kawakami M, Sato M, Asari J: Cisternal irrigation therapy with urokinase and ascorbic acid for prevention of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: Outcome in 217 patients. *Surg Neurol.* 53:110-117, 2000
54. Koliass AG, Sen J, Belli A: Pathogenesis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: putative mechanism and novel approaches. *J Neurosci Res* 87: 1-11, 2009
55. Laher I, Zhang JH: Protein kinase C and cerebral vasospasm. *J Cereb Blood Flow Metab* 21:887–906, 2001
56. Leslie JB, Watkins WD: Eicosanoids in the central nervous system. *J Neurosurg* 63:659–668, 1985

57. Macdonald RL, Higashida RT, Keller E: Clazosentan, an endothelin receptor antagonist, in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage undergoing surgical clipping: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial (CONSCIOUS-2). *Lancet Neurol.*10:618–625, 2011
58. Macdonald RL, Kassell NF, Mayer S: CONSCIOUS-1 Investigators. Clazosentan to overcome neurological ischemia and infarction occurring after subarachnoid hemorrhage (CONSCIOUS-1): randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 dose-finding trial. *Stroke* 39:3015–3021, 2008
59. Macdonald RL, Kassell N, Mayer S, Schmiedek P, Weidauer S, Pasqualin A: Randomized trial of clazosentan for prevention of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 38:462, 2007
60. Macdonald RL, Weir BK: A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke* 22:971–982, 1991
61. Macdonald RL, Weir BK: Cerebral vasospasm and free radicals. *Free Radic Biol Med* 16:633–643, 1994
62. Macdonald RL, Zhang ZD, Takahashi M, Nikitina E, Young J, Xie A, Larkin L: Calcium sensitivity of vasospastic basilar artery after experimental subarachnoid hemorrhage. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290:H2329–H2336, 2006
63. Maines, MD: The heme oxygenase system and its functions in the brain. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 46:573-585, 2000
64. Marin J, Rodriguez-Martinez MA: Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. *Pharmacol Ther* 75:111–134, 1997
65. Mayberg, M.R: Cerebral vasospasm. *Neurosurg Clin N Am.* 9:615-627, 1998
66. Miyauchi T, Masaki T: Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol* 61:391–415, 1999
67. Mutoh T, Ishikawa T, Suzuki A, Yasui N: Continuous cardiac output and near-infrared spectroscopy monitoring to assist in management of symptomatic

- cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care* 13:331–338, 2010
68. Nakagomi T, Yamakawa K, Sasaki T, Saito I, Takakura K: Effect of edaravone on cerebral vasospasm following experimental subarachnoid hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 12:17-21, 2003
  69. Nussbaum ES, Sebring LA, Ganz WF, Madison MT: Intra-aortic balloon counterpulsation augments cerebral blood flow in the patient with cerebral vasospasm: a xenon-enhanced computed tomography study. *Neurosurgery* 42:206–213, 1998
  70. Penn DL, Witte SR, Komotar R, Connolly ES: Pathological mechanisms underlying aneurysmal subarachnoid hemorrhage and vasospasm. *J Clin Neurosci.* 22:1-5, 2015-03-15
  71. Pereira Filho Nde A, Pereira Filho Ade A, Soares FP, Coutinho LM: Effect of N-acetylcysteine on vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Arq Neuropsiquiatr.* 68:918-922, 2010
  72. Petruk KC, West M, Mohr G: Nimodipine treatment in poorgrade aneurysm patients. Results of a multicenter double-blind placebo-controlled trial. *J Neurosurg.* 68:505–517, 1988
  73. Pettegrew JW, Levine J, McClure RJ: Acetyl-L-carnitine physical-chemical, metabolic, and therapeutic properties: relevance for its mode of action in Alzheimer's disease and geriatric depression. *Mol Psychiatry.* 5:616-632, 2000
  74. Pluta RM: Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis, and proposed treatment. *Pharmacol Ther.* 105:23-56, 2005
  75. Pyne GJ, Cadoux-Hudson TA, Clark JF: Cerebrospinal fluid from subarachnoid haemorrhage patients causes excessive oxidative metabolism compared to vascular smooth muscle force generation. *Acta Neurochir (Wien)* 143:59-62, 2001
  76. Rabinstein AA, Pichelmann MA, Friedman JA: Symptomatic vasospasm and outcomes following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a comparison

- between surgical repair and endovascular coil occlusion. *J Neurosurg.* 98:319-325, 2003
77. Rathakrishnan R, Gotman J, Dubeau F, Angle M: Using continuous electroencephalography in the management of delayed cerebral ischemia following subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care* 14:152–161, 2001
  78. Reilly C, Amidei C, Tolentino J, Jahromi BS, MacDonald RL: Clot volume and clearance rate as independent predictors of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 101:255-261, 2004
  79. 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;(1):CD000277
  80. Roman RJ: P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev* 82:131–185, 2002
  81. Ronkainen, A, Hernesniemi J, Tromp G: Special features of familial intracranial aneurysms: report of 215 familial aneurysms. *Neurosurgery* 37:43-46, 1995
  82. Rubanyi GM: Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *J Cell Biochem* 46:27–36, 1991
  83. Scafidi S, Racz J, Hazelton J, McKenna MC, Fiskum G: Neuroprotection by acetyl-L-carnitine after traumatic injury to the immature rat brain. *Dev Neurosci.* 32:480-487, 2010
  84. Schievink WI: Intracranial aneurysms. *N Engl J Med.* 336:28-40, 1997
  85. Schievink, WI: Intracranial aneurysms in Marfan's syndrome: an autopsy study. *Neurosurgery* 41:866-870, 1997
  86. Sercombe R, Dinh YR, Gomis P: Cerebrovascular inflammation following subarachnoid hemorrhage. *Jpn J Pharmacol* 88:227–249, 2002
  87. Shaw MD, Vermeulen M, Murray GD, Pickard JD, Bell BA, Teasdale GM: Efficacy and safety of the endothelin, receptor antagonist TAK-044 in treating subarachnoid hemorrhage: a report by the Steering Committee on behalf of the

- UK/Netherlands/Eire TAK-044 Subarachnoid Haemorrhage Study Group. *J Neurosurg.* 93:992–997, 2000
88. Shibuya M, Asano T, Sasaki Y: Effect of Fasudil HCl, a protein kinase inhibitor, on cerebral vasospasm. *Acta Neurochir Suppl* 77:201–204, 2001
  89. Shiokawa Y, gado-Zygmunt TJ, Arbab MA, Svendgaard NA: Effect of unilateral pre- and postganglionic lesioning of the trigeminal nerve on the development of cerebral vasospasm in the squirrel monkey: angiographic findings. *Br J Neurosurg* 6:445–455, 1992
  90. Sinclair S: Male infertility: nutritional and environmental considerations. *Alt Med Rev.* 5:28-38, 2000
  91. Smith WS, Dowd CF, Johnston SC: Neurotoxicity of intraarterial papaverine preserved with chlorobutanol used for the treatment of cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 35:2518–2522, 2004
  92. Spallone A, Pastore FS: Cerebral vasospasm in a double-injection model in rabbit. *Surg Neurol.* 32:408-4173 1989
  93. Suzuki H, Kanamaru K, Kuroki M, Sun H, Waga S, Miyazawa T: Effects of tirilazad mesylate on vasospasm and phospholipid hydroperoxides in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 30:450–455, 1999
  94. Svendgaard NA, Shiokawa Y, gado-Zygmunt TJ, Arbab MA, Skagerberg G, Brun A: Effect of lesioning of medullary catecholamine neurons or the median eminence on the development of cerebral vasospasm in the squirrel monkey. *Acta Neurochir* 118:137–145, 1992
  95. Takenaka K, Kassell NF, Foley PL, Lee KS: Oxyhemoglobin induced cytotoxicity and arachidonic acid release in cultured bovine endothelial cells. *Stroke* 24:839–845, 1993
  96. Tanaka K, Minami H, Kota M, Kuwamura K, Kohmura E: Treatment of cerebral vasospasm with intra-arterial fasudil hydrochloride. *Neurosurgery* 56:214–223, 2005

97. Tani E: Molecular mechanisms involved in development of cerebral vasospasm. *Neurosurg Focus* 12:ECP1, 2002
98. Tani E, Matsumoto T: Continuous elevation of intracellular Ca is essential for the development of cerebral vasospasm. *Curr Vasc Pharmacol* 2:13–21, 2004
99. Terry A, Zipfel G, Milner E: Safety and technical efficacy of over-the-wire balloons for the treatment of subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *Neurosurg Focus* 21:E14, 2006
100. Titova, E: Experimental models of subarachnoid hemorrhage for studies of cerebral vasospasm. *Neurol Res.* 31:568-581, 2009
101. Treggiari MM, Romand JA, Martin JB, Reverdin A, Rüfenacht DA, de Tribolet N: Cervical sympathetic block to reverse delayed ischemic neurological deficits after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 34:961–967, 2003
102. Tseng MY: Participants in the International Multidisciplinary Consensus Conference on the Critical Care Management of Subarachnoid Hemorrhage. Summary of evidence on immediate statins therapy following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care* 15:298–301, 2011
103. Unterberg AW, Sakowitz OW, Sarrafzadeh AS, Benndorf G, Lanksch WR: Role of bedside microdialysis in the diagnosis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 94:740–749, 2001
104. Van Gijn J, Rinkel GJ: Subarachnoid haemorrhage: diagnosis, causes and management. *Brain* 124: 249-278, 2001
105. Vatter H: Time course in the development of cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage: clinical and neuroradiological assessment of the rat double hemorrhage model. *Neurosurgery* 58:1190-1197, 2006
106. Wakade C, King MD, Laird MD, Alleyne CH Jr, Dhandapani KM: Curcumin attenuates vascular inflammation and cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in mice. *Antioxid Redox Signal.* 11:35-45, 2011



107. Wardlaw JM, White PM: The detection and management of unruptured intracranial aneurysms. *Brain* 123:205-221, 2000
108. Weir B, MacDonald RL, Stoodley M: Etiology of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. 72:27-46, 1999
109. Westhout FD, Nwagwu CI. Intra-arterial verapamil-induced seizures: case report and review of the literature. *Surg Neurol*. 67:483–486, 2007
110. Widenka DC, Medele RJ, Stummer W, Bise K, Steiger HJ: Inducible nitric oxide synthase: a possible key factor in the pathogenesis of chronic vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 90:1098–1104, 1999
111. Wilkins RH: Cerebral vasospasm. *Crit Rev Neurobiol*. 6:51-77, 1990
112. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332:411–415, 1988
113. Zabramski JM, Spetzler RF, Bonstelle C: Chronic cerebral vasospasm: effect of volume and timing of hemorrhage in a canine model. *Neurosurgery* 18:1–6, 1986
114. Zhang ZD, Yamini B, Komuro T, Ono S, Johns L, Marton LS, Weir B, Macdonald RL: Vasospasm in monkeys resolves because of loss of and encasement of subarachnoid blood clot. *Stroke* 32:1868– 1874, 2001
115. Zhao XD, Zhou YT, Zhang X, Zhuang Z, Shi JX: A meta analysis of treating subarachnoid hemorrhage with magnesium sulfate. *J Clin Neurosci*. 16:1394–1397, 2009
116. Zubkov AY, Ogihara K, Bernanke DH, Parent AD, Zhang J: Apoptosis of endothelial cells in vessels affected by cerebral vasospasm. *Surg Neurol* 53:260–266, 2000