

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA MODELİNDE
İNTRAPERİTONEAL TİMOKİNON UYGULAMASININ
SEREBRAL VAZOSPAZMA ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK
VE STEREOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Cengiz ATIŞ

SAMSUN-2015

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA MODELİNDE
İNTRAPERİTONEAL TİMOKİNON UYGULAMASININ
SEREBRAL VAZOSPAZMA ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK
VE STEREOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Cengiz ATIŞ

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Abdullah Hilmi MARANGOZ

SAMSUN-2015

TEŞEKKÜR

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda bulunduğum süre içerisinde uzmanlık eğitimime bilgi ve deneyimleriyle katkısı olan, başta Ana Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Cengiz ÇOKLUK olmak üzere, Tez danışmanlığımı yapan Yrd. Doç. Dr. Abdullah Hilmi MARANGOZ'a, Departmanımızda aktif olarak çalışmakta olan tüm değerli hocalarıma ve eğitimim süresi içerisinde emekli olan ve Üniversite değiştiren saygıdeğer hocalarıma,

Tez çalışmalarımın başlatılması ve yürütülmesinin her aşamasında desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Süleyman KAPLAN ile Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin ÖNGER'e,

Tezimizin hazırlanmasının her aşamasında güler yüzlerini ve yardımlarını eksik etmeyen Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Asistanlarından Arş. Gör. Ömür DENİZ'e ve Arş. Gör. Gamze ALTUN'a,

Zor günlerde birlikte çalıştığım eski ve yeni tüm asistan arkadaşlarıma, eğitim sürecinin servis ve ameliyathane aşamalarında desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, değerli servis sorumlu hemşiresi Özlem BEYAZ nezdinde tüm servis hemşirelerine ve ameliyathane hemşiremiz Tülay Acar YILMAZ başta olmak üzere 7 ve 8 nolu ameliyathanede beraber çalıştığım tüm Anestezi ekibi, hemşire, cerrahi teknisyen ve servisimiz dahil olmak üzere tüm personel arkadaşlara,

Beni yetiştirip bu günlere gelmemde emeği olan başta rahmetli babama ve anneme,

Bu sıkıntılı süreçte tüm kahrımı çekip, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen sevgili eşim ve dünya tatlısı kızlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez projesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından PYO. TIP. 1904. 15. 010 kodu ile maddi olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMALAR	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. SUBARAKNOİD KANAMA.....	3
2.1.1 Tanım	3
2.1.2 Epidemiyoloji.....	3
2.1.3 Etiyoloji ve Doğal Seyri.....	3
2.1.4 Belirti ve Bulgular	5
2.1.5 Laboratuvar ve Radyolojik Bulgular	7
2.1.6 Komplikasyonlar	8
2.2. SEREBRAL VAZOSPAZM	8
2.2.1 Tanım	8
2.2.2 Tarihçe	9
2.2.3 Epidemiyoloji.....	9
2.2.4 Fiziopatogenez	10
2.2.4.1 Vasküler düz kasların kasılma mekanizması	11
2.2.4.2 İnflamasyon.....	12
2.2.4.3 Serbest Radikal Reaksiyonu, Lipid Peroksidasyonu.....	14
2.2.4.4 Endotelin	17
2.2.4.5 Nitrik Oksid.....	18
2.2.4.6. Apoptoz	18
2.2.4.7. İmmünite	20
2.2.5. Klinik Özellikleri	20

2.2.6. Tanı	21
2.2.7. Tedavi.....	22
2.2.7.1. Cerrahi Tedavi.....	22
2.2.7.2. Medikal Tedavi	23
2.2.7.3. Endovasküler Tedavi.....	24
2.3. TİMOKİNON.....	26
2.3.1. Timokinon Özellikleri.....	26
2.3.2. Timokinon farmasötik etkileri	27
2.3.2.1. Anti-Diyabetik etkiler	27
2.3.2.2. Antihiperlipidemik ve Antihiperkolesterolemik Etkisi	28
2.3.2.3. Antitümoral ve Antikanserojenik Etkisi.....	29
2.3.2.4. İmmünomodülatör Etkisi.....	30
2.3.2.5. Antioksidatif Etkisi	31
2.3.2.6. Anti-İnflamatuar Etkiler	34
2.3.2.7. Sindirim Sistemine Etkisi.....	35
2.3.2.8. Sinir Sistemine Etkisi	35
2.3.2.9. Diğer etkiler.....	35
3.GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Anestezi	37
3.2. Subaraknoid Kanama Oluşturulması.....	37
3.3. Timokinonun intraperitoneal uygulanması	41
3.4. Perfüzyon Fiksasyon İşlemi	41
3.5. Tedavi Grupları	42
3.6. Histolojik Takip.....	42
3.6.1 Işık Mikroskobik Takip Protokolü.....	42
3.6.2 Kesit Alma ve Hematoksilen-Eozin Boyama	43
3.6.3 Stereolojik Çalışma	44
3.7 İstatistiksel Çalışma.....	46
4. BULGULAR	46

4.1. Makroskobik bulgular	46
4.2. Stereolojik bulgular	47
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ	58
7. KAYNAKLAR.....	59

KISALTMALAR

µG	Mikrogram
µL	Mikrolitre
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BT	Bilgisayarlı Tomografi
Ca	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenzin monofosfat
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
COX	Siklooksijenaz
DAG	Diaçil gliserol
DOX	Doksozobisin
DSA	Digital subtraksiyon anjiyografi
DCFH-DA	2',7'-diklorfloresan-diasetat
EDRF	Endotelyal Kaynaklı Vazorelaksan Faktörler
EEG	Elektroensefalografi
ET	Endotelin
Gc	Guanil siklaz
GID	Geç İskemik Defekt
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GTP	Guanozin Trifosfat
H&E	Hemotoksilen-Eozin
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HMG-CoAR	3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktaz
3H	Hipervolemi, Hemodilüsyon, Hipertansiyon
IL	İnterlökin
İp	İntraperitoneal
K	Potasyum
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LO	Lipooksijenaz

LPD	Lipid peroksidaz
LPS	Lipopolisakkarit
LT	Lökotrien
MRG	Manyetik Rezorans Görüntüleme
NO	Nitrik oksit
NOO⁻	Peroksinitrit
NOS	Nitrik oksit sentetaz
NS	<i>Nigella sativa</i>
O₂⁻	Süperoksit
OH	Hidroksil radikali
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
PG	Prostoglandin
PKC	Protein Kinaz C
ROS	Reaktif oksijen türleri
SAK	Subaraknoid Kanama
SOD	Süperoksitdismutaz
SPECT	Single Photon Emission Tomografisi
TCD	Transkranyal Doppler Ultrasonografi
TK	Total Kolesterol
TNF	Tümör Nekrotizan Faktör
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

TABLO LİSTESİ

Sayfa no

Tablo 1 : Yaşargil SAK Evrelemesi	6
Tablo 2 : WFNS Evrelemesi.....	6
Tablo 3 : Hunt-Hess sınıflama sistemi	7
Tablo 4 : Anevrizmal SAK'da Fisher BT derecelendirme skalası	7
Tablo 5 : Hunt-Hess derecesi ile klinik vazospazm ilişkisi.....	10
Tablo 6 : Grupların baziller arter lümen alanları.....	48
Tablo 7 : Grupların baziller arter tunica media alanları	51

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa no
Şekil 1 : Hidrojen peroksit oluşumu	14
Şekil 2 : Haber-Weiss Reaksiyonu	14
Şekil 3 : Fenton Reaksiyonu	15
Şekil 4 : Alkil Radikali oluşumu.....	15
Şekil 5 : Serebral vazospazm seyri	19
Şekil 6 : Vazospazm Tedavi Şeması.....	25
Şekil 7 : <i>Nigella sativa</i> bitkisi.....	26
Şekil 8 : Timokinon Kimyasal Yapısı.....	27
Şekil 9 : <i>Nigella sativa</i> yağı ve temel bileşenlerinin anti-oksidan aktiviteleri	34
Şekil 10 : Oksipito-servikal orta hat düz insizyon.....	38
Şekil 11 : Atlanto-oksipital membran görünümü	39
Şekil 12 : Rat Femoral arteri.....	39
Şekil 13 : Sisterna Magnadan BOS boşaltılması	40
Şekil 14 : Sisterna Magnaya otolog kan enjeksiyonu	40
Şekil 15 : Cerrahi işlem tamamlanarak sitüre edilmiş rat.....	40
Şekil 16 : Kardiyak Perfüzyon işlemi yapılan rat	41
Şekil 17 : Cavalier prensibinin uygulanmasını gösteren şekil	45
Şekil 18 : Kontrol grubuna ait beyin ve beyin sapının makroskobik görünümü	46
Şekil 19 : SAK sonrası beyin ve beyin sapının makroskobik görünümü	46
Şekil 20 : Grupların baziller arter lümen alanlarının istatistiksel analizi	48
Şekil 21 : Grupların baziller arter tunika media kalınlıklarının istatistiksel analizi	50
Şekil 22 : Grupların baziller arterler histolojik görüntüleri	52

ÖZET

Amaç. Bu çalışmada ratlarda deneysel subaraknoid kanama (SAK) modelinde, Çörekotu (*Nigella Sativa*) uçucu yağının temel biyoaktif bileşeni olan Timokinon'un intraperitoneal uygulanmasının, serebral vazospazm üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem. Çalışmamızda toplam 30 adet Wistar albino cinsi dişi rat kullanıldı. Ratlar randomizasyon ile 5 gruba ayrıldı. 1. Grup hariç 2. 3. 4. ve 5. Grup ratlara genel anestezi altında oksipitoservikal bileşkeye düz bir insizyon yapıldı. Oksipitoservikal bölgedeki kaslar ekarte edilerek atlantookspital membranlar ortaya kondu. 2-gauge iğne ile atlantookspital membran ve dura geçilerek, sisterna magna ulaşıldı. Yaklaşık 0,1 ml beyin omurilik sıvısı (BOS) drene edildikten sonra ratların femoral arterinden alınan nonheparinize otolog arterial kan (0,1 ml) yavaşça sisterna magna içerisine enjekte edildi. Tedavi gruplarından Grup 3'teki ratlara 3 gün boyunca, Grup 5'teki ratlara ise 8 gün boyunca 24 saatte bir timokinon 10 mg/kg intraperitoneal olarak verildi. 2 ve 4. Gruplara herhangi bir tedavi uygulanmadı. Grup 2 ve 3'teki ratlar 3. gün, Grup 4 ve 5'teki ratlar 8. gün genel anestezi altında perfüzyon fiksasyon işlemine tabi tutularak sakrifiye edildi.

Bulgular. Baziller arter lümen ve media tabakasının stereolojik analiz sonuçlarında Grup 3'ün, Grup 1 ve Grup 2 ile karşılaştırılmasında lümen ve media tabakası arasında istatistiksel bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Grup 5'in Grup 4 ile karşılaştırılmasında baziller arter lümen alanı ölçümlerinde vazodilatasyon lehine anlamlı istatistiksel fark tespit edilirken ($p<0,05$), media tabakaları arasında istatistiksel bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Tüm grupların tunika media tabakaları karşılaştırıldığında hiçbir grup arasında bu parametre bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

Sonuç. Deneysel olarak oluşturulan subaraknoid kanamaya bağlı baziler arter vazospazmında; intraperitoneal olarak 8 gün süreyle Timokinon verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı, Timokinona bağlı vazodilatasyon etkisi gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Subaraknoid kanama, Serebral vazospazm, Timokinon, Baziler arter.

ABSTRACT

Purpose: In this study, it is aimed to investigate potential effects of intraperitoneal administration of thymoquinone, which is the main bioactive component of black cumin (*Nigella sativa*) essential oil, on cerebral vasospasm, in an experimental SAH model on rats.

Materials and Methods: In our study 30 female Wistar albino rats were used. The rats were divided into 5 groups with randomization. A straight incision was performed on occipitocervical junction under general anesthesia in 2nd, 3rd, 4th and 5th groups of rats. Atlantooccipital membranes were revealed, by retracting the muscles of occipitocervical region. Cisterna magna was reached through the atlantooccipital membrane and duramater via a 2-gauge needle. After draining approximately 0,1 ml of cerebrospinal fluid (CSF), nonheparinized autologous arterial blood (0,1 ml), drawn from the femoral artery, was slowly injected into the cisterna magna. In treatment groups, 10 mg/kg/24 hours of thymoquinone is administered intraperitoneally for 3 days to rats in group 3, and for 8 days to rats in group 5. The second and fourth groups did not receive any treatment. The rats in the second and third group on the third day and the rats in the fourth and fifth groups on the eighth day were sacrificed by perfusion fixation under general anesthesia.

Results: There was no statistically significant difference between Group 3 and Group 1 or Group 2 comparing the stereological analysis results of basilar artery lumen and media layer ($p > 0,05$). A statistically significant difference was detected between group 4 and group 5 in favor of vasodilatation comparing basilar artery luminal area ($p < 0,05$), but there was no statistically significant difference comparing basilar artery media layer ($p > 0,05$). When tunica media / lumen ratios of all groups were compared, no statistically significant difference was observed ($p > 0,05$).

Conclusion: This study revealed that intraperitoneal administration of Thymoquinone for 8 days had statistically significant vasodilator effect on basilar artery vasospasm induced by experimental subarachnoid hemorrhage.

Keywords: Subarachnoid hemorrhage, cerebral vasospasm, thymoquinone, basilar artery.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Bir intrakranial anevrizmanın rüptüre olması, subaraknoid mesafeye yaklaşık olarak 150 ml taze kan salınmasına ve arterlerin lokalize olduğu subaraknoid sisternlerin kan ile dolmasına neden olur. Subaraknoid mesafedeki kan miktarı arttıkça vazospazm gelişme riski de artar. Serebral vazospazm; subaraknoid kanamadan günler sonra ortaya çıkan, uzamış ve ağır seyredabilen ama geri döndürülebilir bir durumdur. Serebral vazospazm, subaraknoid kanama sonrası sistern içinde toplanmış kan, kan metabolitleri ve diğer kimyasal maddelerin beyin tabanındaki geniş arterlerde ortaya çıkardığı patolojik daralmalardır ve genellikle etkilenen arterin distalinde azalmış perfüzyon ile birlikte dir.

Anevrizmal subaraknoid kanama sonrasında gelişen en korkutucu komplikasyon tekrar eden kanama iken, erken cerrahinin yaygın olarak uygulanır olması sayesinde bu sorun kısmen çözülmüş ve serebral vazospazm subaraknoid kanamanın mortalite ve morbitide açısından en riskli komplikasyonu haline gelmiştir (28, 47, 58, 72, 76, 173, 189). Subaraknoid kanama sonrası gelişen fokal serebral iskeminin başlıca nedeni serebral vazospazmdır. Klinik olarak diğer iskemik inmelere farkı, ortaya çıkmasının öngörülebilirliği, önlenilebilirliği ve teorik olarak tedavi edilebilirliğidir. İlk kez Ecker ve Reimenschneider tarafından 1951 yılında anjiyografik olarak gösterilmiştir (57). Serebral vazospazm anjiyografik (radyolojik) ve semptomatik (klinik) olarak iki grup altında incelenebilir. Anjiyografik vazospazm ana arter lümeninde bölgesel veya yaygın daralma olmasıdır. Semptomatik vazospazm ise serebral arterlerin daralması sonucu ortaya çıkan iskekiye bağılı görülen klinik tablodur. Anjiyografik vazospazm SAK sonrası 3. günde başlayıp 5-14. günlerde pik yapar ve 2-4 hafta içinde giderek azalır. Serebral vazospazm, olguların %50'sinden fazlasında anjiyografik olarak saptanabilirken ancak %30'unda semptomatik olarak gözlenir. Semptomatik vazospazm geri dönebilen hafif veya orta derecede işlev kaybıyla sonuçlanabileceği gibi iskemik enfarkta bağılı ağır nörolojik kayıplara ve mortaliteye sebep olabilmektedir.

Günümüzde vazospazm gelişiminin multifaktöriyel olduğu düşünölmektedir. SAK sonrasında ortamda bulunan kandaki eritrositlerin parçalanması ile açığa çıkan oksihemoglobinin, methemoglobine dönüşümü sırasında serbest radikal oluşumu

gözlenir. Serbest radikaller vasküler ve nöronal yapılarda lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Lipid peroksidasyonu neticesinde oluşan lipid radikalleri, serbest radikaller ve oksihemoglobin, hücre membran yapısının bozulmasına, böylece hücre membran potansiyelinin oluşamamasına ve hücre içi kalsiyum birikimi ile hücre ölümüne neden olur. Vasküler endotelial hücre hasarı ve hücre ölümleri sonrası endoteliumdan üretilen NO miktarında azalma ile endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesinde ve nitrik oksit (NO) düzeyinde azalma, NO'ın nitrit ve nitrate dönüşümü, serbest oksijen radikal düzeylerinde artma ve bunun sonucunda membran fosfolipidlerinin oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu, endotel hasarı (ölüm vasküler permeabilitenin artmasına, endotelial hücrelerin sağlam olduğu zamanda var olan endoteliuma bağımlı vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon dengesinin bozulmasına neden olur) ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunun indüklenmesi vazospazmın altında yatan ana nedenler olarak kabul edilmektedir (11, 53, 95).

Çörekotu (*Nigella Sativa*) uçucu yağının temel biyoaktif bileşeni olan timokinon (C₁₀H₁₀O₂; 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon) (Bkz. Şekil 8) yapısında olup molekül ağırlığı 164.2' dir, 2000 yılı aşkın süredir antioksidan, anti-inflamatuar ve antineoplastik ilaç olarak kullanılmaktadır (109, 184). Anti-oksidanlar, radikal oluşumunu önleme, tetikleri ve biyokimyasal reaksiyonları engelleme, oluşan radikalleri ortamdaki uzaklaştırma, hasar gören molekülleri onarma ve temizleme gibi radikallere karşı meydana gelmiş mekanizmalardır. Yapılan pekçok çalışma ile timokinonun farklı mekanizmalarla antioksidan etkileri olduğu bildirilmiştir (63). Timokinonun süperoksit radikal anyonu ve hidroksil radikalleri de dahil olmak üzere çeşitli oksijen türleri üzerinde radikal temizleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (20, 144, 157). Yapılan çalışmalarda timokinonun antioksidan etkileri ve serbest radikal süpürücü etkileri sonucunda iskemiye bağlı oluşan serebral nöronal hasarda, serebral vazospazmda koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (1, 68).

Biz de bütün bu bilgiler ışığında çalışmamızda beyin cerrahisi yoğun bakım kliniklerinde, şuuru kapalı hastalarda yeni tedavi modellerinin oluşturulmasına katkıda bulunacağını düşündüğümüz Timokinonun; SAK sonrasında ortaya çıkan ve multifaktöryel patogeneze sahip olduğu kabul edilen serebral vazospazmı önleyici etkisini, baziller arter stereolojik ve histopatolojik çalışmalarıyla incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SUBARAKNOİD KANAMA

2.1.1. Tamm

Damar içindeki kanın çeşitli nedenlerle beyin veya spinal kordda, araknoid mater ile pia mater arasında bulunan ve subaraknoid mesafe olarak adlandırılan bölgeye geçmesine subaraknoid kanama adı verilir. Bu mesafeye geçen kan genellikle arteriyel kaynaklı olup nadiren venöz kaynaklıda olabilir.

2.1.2. Epidemiyoloji

Subaraknoid kanama geçiren hastaların yaklaşık %10-15'i herhangi bir tıbbi müdahale göremeden kaybedildiği için gerçek insidansı tam olarak bilinmemektedir (113). SAK'ın görülme sıklığı coğrafyadan coğrafyaya değişiklik göstermekte olup ortalama 11-16/100.000'dur (190). SAK en sık 40-60 yaş grubunda görülür. Olguların % 20'si ise 15-45 yaşları arasındadır. Bazı çalışmalarda erkeklerde sonbahar, kadınlarda ise ilkbaharda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (146, 224). SAK'ın görülme sıklığı kadınlarda daha fazla olmasına rağmen, hayatın ilk dekadında erkek/kadın oranı 4/1, beşinci dekada erkek/kadın oranı eşit, 6.dekatta ise kadınlarda 10 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir (231).

2.1.3. Etiyoloji ve Doğal Seyri

Subaraknoid kanama nedenleri aşağıdaki şekilde sıralanabilir (155).

1. Anevrizma rüptürü
2. Hipertansiyon ve ateroskleroz'a bağlı hemoraji
3. Vasküler malformasyonlar (Arteriovenöz malformasyon, kavernom)
4. İntrakraniyal tümörler (menenjiom, glioblastoma multiforme)
5. İnflamatuar ve enfeksiyöz hastalıklar (ensefalit, meningoensefalit, menenjit)
6. Kanama bozuklukları (hemo filii, idiopatik trombositopenik purpura)
7. Sistemik hastalıklar (sistemik lupus eritematozus, periarteritis nodosa)
8. Antikoagulan tedavi komplikasyonu (heparin, kumadin)
9. Kafa travması
10. Nedeni bilinmeyenler

SAK'ın en sık sebebi kafa travmalarıdır. Nontravmatik SAK'ın en sık sebebi ise vasküler lezyonlardır. Vasküler lezyonlar içinde anevrizma rüptürü % 75-80 sıklıkla ilk sıradadır. Anevrizmalar ise; etyolojilerine göre konjenital, aterosklerotik veya hipertansif, enfeksiyöz, embolik, arteriovenöz malformasyona bağlı, neoplastik ve diğer durumlarla birlikte olanlar (otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı, fibromusküler displazi, bağ dokusu hastalıkları, aort koarktasyonu, bakteriyel endokardit, Osler-Weber-Rendaü Sendromu) şeklinde ayrılır. Anevrizmalar boyutlarına göre genelde küçük (<10mm), büyük (10-25mm), dev (> 25mm) olmak üzere sınıflandırılır. Şekillerine göre ise sakküler (% 95-98), fuziform ve dissekan olarak üçe ayrılır. Olguların % 20-30'unda anevrizmalar multipldir (138). Kanamadan sonra ilk 24 saat içindeki ağır nörolojik tablo, ileri yaş, anevrizmanın büyüklüğü ve intraparaknimal hematom varlığı; SAK sonrası mortalite ve ağır morbitideyi belirleyici faktörlerdir (132, 186). Kranyal BT'de yaygın serebral ödemin, intraventriküler, intraserebral ve yoğun subaraknoid kanamanın varlığı, kötü nörolojik gelişim ve mortalitenin belirleyici faktörleridir (132). Anevrizmaya bağlı SAK geçiren hastaların % 12'si hastaneye ulaşmadan ve % 25'i ise ilk 24 saat içinde kaybedilir. Yaşayanlardan cerrahi veya endovasküler yöntemlerle tedavi edilemeyenlerde tekrar kanama ana morbitide ve mortalite nedenidir (50). Bu risk ilk iki hafta içinde % 15-20, ilk ayda % 35 ve ilk 6 ay içinde % 50'dir. Erken cerrahi tedavinin amacı özellikle genel durumu ve evresi iyi olan hastalarda yeniden kanama riskini azaltmaktır. Subaraknoid kanamaya, intraserebral hematom (% 20-40), intraventriküler kanama (% 13-28) ve subdural hematom (% 2-5) eşlik edebilir (138).

Tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen SAK günümüzde halen ciddi bir morbidite ve mortalite sebebidir. Ailevi predispozisyon önemli bir risk faktörü olup yapılan çalışmalarda Subaraknoidal kanamalı hastaların birinci ve ikinci derece yakınlarında, SAK geçirme insidansının normal popülasyona göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (33, 49, 78). Polikistik böbrek hastalığı, Ehler Danlos ve Nörofibromatozis gibi hastalıklarda, SAK'ın önemli sebeplerinden olan anevrizma görülme sıklığının normal popülasyona göre daha fazla olduğu literatürde bildirilmiştir (213, 214). Hipertansiyon, sigara, oral kontraseptif kullanımı, aşırı alkol kullanımı, kan basıncındaki diüurnal değişiklikler, genetik bozukluk, gebelik, ileri yaş, antikoagulan ilaç

kullanımı, uyuşturucu madde kullanımı (kokain), anevrizmal hastalarda lomber ponksiyon ve serebral anjiyografi işlemleri, SAK için risk faktörleri olarak kabul edilmekle birlikte tam olarak kanıtlanamamıştır (32, 143, 196, 240).

2.1.4. Belirti ve Bulgular

Anevrizmal SAK'lı olguların % 97'sinde klinik, ani, şiddetli, yaygın veya odaksal başağrısı ile başlar; hastalar bu ağrıyı yaşamlarının en şiddetli ağrısı olarak tanımlarlar.

Kanama ile birlikte bulantı, kusma, bilinçte ani bozulma (% 30) ve/veya nörolojik muayenesinde ilerleyici kötüleşme gelişebilir ve koma ile sonuçlanabilir. Baş dönmesi (% 10), uyuklama hali (% 7), epileptik nöbet (% 6), orbital ağrı (% 7), görme bozukluğu (% 7) görülebilir. Subaraknoid kanamadan 6-24 saat sonra % 98 oranında BOS'daki kan ürünlerinin neden olduğu irritasyona bağlı ense sertliği görülür. Olguların % 15'inde papil ödemi izlenir, % 20-40'ında da oküler kanamalar görülür ki bu SAK için ayırıcı özelliştir. Hastaların çoğunda nörolojik bulgular kesin olarak anevrizma yerini göstermez, ancak bazen lokalizasyon için yardımcı olabilir. Örneğin okülomotor sinir paralizisi (ipsilateral pitoz, diplopi, pupil dilatasyonu) posterior kommünikan ve internal karotid arter bileşkesindeki bir anevrizmayı veya basiler arter anevrizmasını gösterir. Bir veya her iki alt ekstremitede kanama anındaki geçici parezi, anterior kommünikan arter anevrizmasını düşündürür. Hemiparezi veya afazi orta serebral arter anevrizmasını, tek taraflı körlük ise oftalmik arter veya internal karotid arter bifurkasyon anevrizmasına bağlı olabilir. Bilinç bulanıklığı, akinetik mutizm ve abulia (bazen paraparezi ile birlikte) anterior kommünikan arterdeki bir anevrizmanın frontal bölgeye veya hipotalamusa kanamasına ve/veya bu bölgede oluşturduğu iskemiye bağlı olabilir (138). Subaraknoid kanama ile başvuran hastalar, nörolojik muayene bulguları ışığı altında ve BT görünümüne göre değişik derecelendirme ölçeklerine göre değerlendirilebilir (Tablo1, Tablo 2, Tablo 3).

Tablo 1: Yaşargil SAK Evrelemesi

Evre 0a: Yırtılmamış anevrizma, nörolojik defisit yok.

Evre 0b: Yırtılmamış anevrizma ve birlikte nörolojik defisit var. 3. kranyal sinir paralizisi veya ilerleyici hemisendrom gibi kayıplar.

Evre 1a: Subaraknoid kanaması var, ancak nörolojik belirti yok.

Evre 1b: Uyanık, çevresiyle ilgili, meningeal irritasyon bulgusu yok, fakat belirgin nörolojik kayıp var (hemiparezi, afazi, görme alanı kaybı), ancak 3.-4. Kranyal sinir felci gibi bulguları kapsamaz.

Evre 2a: Uyanık, fakat subaraknoid kanamayı takiben baş ağrısı ve meningeal irritasyon bulgusu var.

Evre 2b: Ek olarak fokal nörolojik kayıp.

Evre 3a: Uykuluyor, bilinç bulanık, çevreyle ilgisiz, huzursuz.

Evre 3b: Ek olarak fokal nörolojik defisit.

Evre 4: Yarı komada, ağırlı uyaranlara yanıt var ancak sesli uyarana yok. Ekstansör postür görülür.

Evre 5: Komada, pupiller ışığa yanıt vermez, ağırlı uyarana ekstansör veya hiç yanıt yok, vital bulgular yetersiz.

Tablo 2: WFNS Evrelemesi

	Glasgow Koma Puanı	Fokal Nörolojik Bulgu
Evre 1	15	yok
Evre 2	13-14	yok
Evre 3	13-14	var
Evre 4	7-12	var ya da yok
Evre 5	3-6	var ya da yok

Tablo 3: Hunt-Hess sınıflama sistemi

Evre 1: Aseptomatik, hafif baş ağrısı ve ense sertliği var

Evre 2: Orta veya şiddetli baş ağrısı, ense sertliği, kranial sinir felci var

Evre 3: Uykuya eğilimli, hafif derecede fokal nörolojik defisit var

Evre 4: Stupor, orta veya ağır hemiparezi, rijidite, vejetatif bozukluk var

Evre 5: Derin koma ve deserebrasyon rijiditesi var

2.1.5. Laboratuvar ve Radyolojik Bulgular

Anevrizmal SAK şüphesi bulunan bir hastanın değerlendirilmesinde yapılması gereken tetkikler içerisinde kranyal BT ilk yapılması gereken görüntüleme yöntemidir (160, 225). Eğer BT negatif ise lomber ponksiyon ve tanı koyulduktan sonra DSA yapılmalıdır. Kranyal BT ilk 48 saat içinde yapıldığında olguların % 95'inde kanama tespit edilir ve bu görüntüleme ile kemik yapıları da değerlendirmek mümkündür (12, 232). Lomber ponksiyonda artmış basınçlı, kanlı, pıhtılaşmayan ve rengi üç tüp deneyinde açılmayan, geç evrelerde ise ksantokromik (6 saat-2 gün arasında renk değişir) ve sıklıkla eritrosit içeren (>100.000/mm³) BOS elde edilir. Kranyal BT de ventriküllerin büyüklüğü, hematom, enfarkt, sisterna ve fissürlerdeki kan miktarı, çoğul anevrizmalı olgularda hangi anevrizmanın kanadığı ve anevrizmanın yeri hakkında bilgi verir. Kranyal BT de SAK Fisher derecelendirme sistemine göre dört gruba ayrılır ve derece yükseldikçe vazospazm görülme olasılığı artar (Tablo 4).

Tablo 4 : Anevrizmal subaraknoid kanamada Fisher BT derecelendirme skalası

Grup 1 : Saptanabilen subaraknoid kan yok.

Grup 2 : 1 mm kalınlıktan daha ince yaygın ya da vertikal tabakalar.

Grup 3 : Lokalize pıhtı ve/ya da > 1 mm vertikal tabaka

Grup 4 : Yaygın SAK ile ya da SAK olmaksızın intraserebral veya intraventriküler pıhtı.

Serebral Anjiyografi, anevrizmaların değerlendirilmesinde hala standart tanı yöntemidir ve % 80-85 oranında anevrizmayı, yerini ve eğer varsa radyografik vazospazmı gösterir (225). Kaliteli Serebral Anjiyografilerde anevrizmanın görüntülenememesi olasılığı çok düşüktür (% 1). Buna karşın % 16'ya kadar yanlış negatif anjiyografi olabileceği de yayınlanmıştır. Negatif anjiyografilerde, özellikle Kranyal BT de bazal frontal interhemisferik fissürde pıhtının ve vazospazmın görülmesi anterior kommunikan arter birleşiminde gösterilememiş bir anevrizmanın belirtisi olarak kabul edilmeli ve ilk hafta içinde anjiyografi tekrarlanmalıdır. MRG ilk 24-48 saat içinde SAK için duyarlı değildir. Özellikle flair sekanslarda subakut dönemde BT' si negatif ve lomber ponksiyon yapılamayan veya şüpheli subaraknoid kanamalı olgularda değerlidir. MR Anjiyografi 3 mm'den büyük anevrizmaların tanısında % 86 duyarlılığa sahip iken, BT Anjiyografi ile 2.2 mm büyüklüğündeki anevrizmalarda duyarlılığın % 95, özgüllüğün % 83 olduğu bildirilmiştir (138).

2.1.6. Komplikasyonlar

SAK sonrasında en sık görülen komplikasyonlar; artmış kafa içi basıncı, tekrar eden kanama, intraserebral, subdural ve intraventriküler kanama, vazospazm, hipertansiyon, Terson sendromu, nöropsikolojik bozukluklar, hidrosefali ve nöbetir. Ek olarak kardiyovasküler, gastrointestinal komplikasyonlar ve sıvı elektrolit bozuklukları görülebilir (142). SAK sonrası yeniden kanama riski ilk 24 saat içerisinde % 4 olup ilerleyen günlerde azalarak devam eder. Yeniden kanayan hastaların büyük çoğunluğu kaybedilir. Yeniden kanama, geçmişte SAK sonrası mortalite ve morbiditeyi belirleyen en önemli etkenlerden biriyken anevrizma tedavisinde erken cerrahinin yaygınlaşmasıyla beraber günümüzde yerini vazospazma bırakmaya başlamıştır.

2.2. SEREBRAL VAZOSPAZM

2.2.1. Tanım

Serebral vazospazm, SAK sonrası serebral sisternalar içinde toplanan kan, kan ürünleri ve diğer kimyasal maddelerin beyin tabanındaki büyük arterlerde ortaya çıkardığı patolojik daralmalar sonrası genellikle etkilenen arterin distalinde azalan kan akımı sonrası görülen beyinde iskemi ya da enfarkt gelişmesi sonucu geç başlayan nörolojik kayıp veya her ikisinin beraber olduğu patolojik olaylar zinciridir (14, 28, 47, 58, 72, 76, 85, 108, 161, 173, 189). Genellikle ve en sıklıkla SAK sonrası görülebilirse

de hipofiz veya hipotalamus cerrahisinden sonra oluşması nadir değildir. Kafa travmalarından sonra ve enfeksiyon sonrası da ortaya çıkabilir (206).

2.2.2. Tarihçe

19. Yüzyılın ikinci yarısından itibaren çeşitli semptomların gelişmesinde serebral vazospazmın etkili olduğu düşünülmüştür. Kan yıkım ürünlerinin vazospazma yol açtığı ilk kez 1944'te Zucker tarafından gösterilmiş ve takiben 1951 yılında Ecker ve Reimenschneider serebral vazospazmı ilk kez anjiyografik olarak göstermiştir (57). 1965 yılında Allcock ve Drake, vazospazmın SAK sonrasında görülen morbidite ve mortalitenin asıl sebebi olduğunu göstermişlerdir (13). 1970'li yıllarda yapılan çalışmalarla sistemik kan basıncı ve santral venöz basıncın yükseltilmesi suretiyle hastalarda gelişmiş olan nörolojik kayıpların bazılarının geri döndürülebileceği gösterilmiştir (84). GrubbRL ve ark. (1977) pozitron emisyon tomografisi (PEe) ile yaptıkları çalışmalarında, vazospazm gelişen bölgede serebral kan akımının ve oksijen metabolizma hızının azaldığını göstermişlerdir (90). 1980 yılında Fischer ve arkadaşları bilgisayarlı beyin tomografisindeki kan miktarıyla serebral vazospazmın yakından ilişkili olduğunu göstermişlerdir (74). 1981 yılında Sasaki ve arkadaşları, SAK sonrasında oksihemoglobinin methemoglobine dönüşümü sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin membran fosfolipidlerinde peroksidasyona yol açmak suretiyle serebral vazospazmın etyopatogenezinde önemli bir role sahip olduğunu öne sürmüşlerdir (209).

2.2.3. Epidemiyoloji

Subaraknoid kanama insidansında coğrafi bölge, iklim, ırk gibi faktörlerin etkili olduğu bilinmekle beraber bu vakaların bir kısmının daha hastanelere ulaşmadan ölmeleri nedeniyle SAK'ın gerçek sıklığının belirlenmesi zordur. Anevrizmal SAK insidansı, ABD'de yıllık 6-16/100.000 ve Finlandiya'da 15/100.000 iken bu oran japonya'da 25/100.000'dir (190). SAK sonrası hastaların % 30-70'inde serebral vazospazm görülür ve bu hastaların % 36'sında beyin iskemisi ve enfarkta yol açacak derecede şiddetlidir (29, 131).

Vazospazmın en sık görüldüğü zaman dilimi, SAK'tan sonra 5 - 14. Günler olup daha sonra görülme sıklığı zamanla azalır (97). Weir ve ark. 1978'de serebral vazospazmın SAK'tan sonraki 4 - 12. günler arasında geliştiğini, 6 - 8. günler arasında

pik yaptığını ve 2. hafta içerisinde çözüldüğünü yayınladılar. SAK sonrası 3.-12. günler arası yapılan serebral anjografide radyolojik olarak vazospazm görülme oranı % 16-66'dır. Bununla birlikte Mayberg, SAK'tan sonraki 40. günden itibaren gecikmiş vazospazm görülebileceğini bildirmiştir. Serebral vazospazm gelişimiyle, Fisher derecesi başta (CT'de tespit edilen sisternlerdeki kan kalınlığı 5 mm'den fazla ise vazospazm gelişme ihtimali %96'dır.) olmak üzere, WFNS grade, yaş, sigara kullanımı ve hipergliseminin ilişkili olduğu literatürde belirtilmiştir. Serebral vazospazmın gelişmesinde ve prognozunda etkili iki ana karakteristik özellik saptanmıştır. Bunlardan birincisi, SAK sonrası ilk başvuru anındaki bilinç kaybıdır. İkincisi ise aterosklerotik hastalığıdaki üç ana risk faktörünün varlığıdır (sigara, hipertansiyon ve geçirilmiş strok ve/veya miyokard infarktüsü hikâyesi) (39, 74, 85, 108, 147, 197). Kabuldeki Hunt-Hess derecesi serebral vazospazm gelişme riski ile yakın ilişkilidir. Derece arttıkça vazospazm oranında artar (89).

Tablo 5 : Hunt-Hess derecesi ile klinik vazospazm ilişkisi

Hunt-Hess derecesi	Klinik Vazospazm (%)
1	% 22
2	% 33
3	% 52
4	% 53
5	% 74

2.2.4. Fiziopatogenez

Multifaktöryel olduğu düşünülen serebral vazospazmın fiziopatogenezini bu konuda yapılan geniş araştırmalara rağmen günümüzde halen çok iyi anlayamamıştır (58, 59, 108, 183). Patogenezin altında yatan mekanizmalar arasında endotel hasarı, subaraknoid mesafedeki kanın çözülmesi esnasında ortaya çıkan spazmotik ajanların yol açtığı düz kas kontraksiyonu, damar duvarının inflamatuvar ve immünolojik reaksiyonları sayılabilir.

2.2.4.1. Vasküler düz kasların kasılma mekanizması

Vasküler düz kaslar yavaş, tonik ve uzun süreli kasılırlar. Kasılmalarında mekanik, elektriksel ve kimyasal uyaranlar rol oynar. Mekanik olarak damar duvarında transmural basınç artınca damarda sekonder dilatasyon gelişir. Basınç düşüncü tekrar kasılma olur. Buradaki mekanik etkiye göre düz kasın kendisi tarafından düzenlenen kasılma-gevşeme reaksiyonlarına vasküler düz kasın miyojenik cevabı denmektedir. Vasküler düz kas hücrelerinin elektriksel uyarımı ise L ve T tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından L-tipi kalsiyum kanallarının açılmasına, membranin depolarize olmasına ve hücre içi kalsiyumun artarak damarda kontraksiyon gelişmesine neden olur. Hücre içi kalsiyum artışı hem ekstra sellüler 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 bir protein yapıdır. Kalsiyum-kalmodulin kompleksi, MLCK (myosine light chain kinase) adlı enzimi aktive ederek, myozin hafif zincirlerinin fosforile olmasını sağlar. Fosforilasyon sonrası miyozin başı ve aktin filamentlerinin arasında gerçekleşen çapraz bağ oluşumu vasküler düz kas hücrelerinin kasılmasına neden olur (11, 198).

Ayrıca vasküler düz kas hücrelerinde potasyum (K^+) kanalları mevcuttur. Bu kanallar K_{ir} , K_{ATP} , K_v ve BK kanallarıdır. Vasküler tonusun düzenlenmesinde özellikle BK ve K_v kanalları görev alır. K_v kanalları istirahat halindeki membran potansiyelinin oluşturulmasında ve artmış luminal basınca miyojenik cevaptan sorumludur. Membran depolarize olup kalsiyum artışı olduğu zaman BK kanalları açılır, hücre içindeki (+) yüklü K^+ dışarı çıkar, hücre hiperpolarize olur. Böylece L-tipi kalsiyum kanalları kapanır ve vazodilatasyon gerçekleşir (11, 67, 149, 151).

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

- 1) Fosfoinozitol yolu
- 2) G-protein ile etkileşim yolu
- 3) NO-cGMP yolu

Fosfoinozitol yolu: Çeşitli substratların reseptörleri ile etkileşimi sonucu bu yolak aktive olur. Bu basamakta fosfolipaz C (PLC) aktive olur. Fosfatidil inozitol 4,5'i hidrolize eder ve diaçilgliserol (DAG) ve IP_3 oluşumuna neden olur. DAG protein kinaz

C (PKC)'yi aktive eder ve vasküler kasın devamlı (sustained) kasılmasından sorumludur. IP3 ise hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınmasını sağlar (107, 170).

G-protein ile ilişkili yol: Bu yolda iki tip G proteini bulunmaktadır. Gs ve Gi. Bu G proteinleri ile etkileşim sonucunda Gs adenilat siklazın aktive olmasına, Gi enzimin inhibe olmasına neden olur. cAMP'nin aktive olması MLCK'nın inhibe olmasına neden olarak kasılmayı inhibe eder. cAMP ve cGMP seviyeleri, siklazlar tarafından sentezlenmesi yoluyla, fosfodiesterazlar (PDE) tarafından yıkımı yolu ile dengede tutulur. 11 farklı PDE tanımlanmıştır. PDE 4 ve 7 cAMP'ye, PDE 5, 6 ve 9 cGMP'ye spesifiktir (37, 180).

NO-cGMP yolu: Bu yolda ise L-Arjininden Nitrik oksid sentetaz (NOS) tarafından sentezlenen NO, guanil siklazı (GC) aktive ederek GTP'den cGMP oluşumuna neden olur. Temelde iki farklı guanil siklaz enzimi bulunmaktadır. NO sensitif GC ve membrana lokalize natriüretik activated GC. NO sensitif GC, $\alpha 1\beta 1$ izoformu beyin hariç tüm dokularda sentezlenmektedir. $\alpha 2\beta 1$ izoformu ise sinaptik iletiye spesifiktir. Düz kaslarda NO, $\alpha 1\beta 1$ GC'a bağlanmasıyla, GTP'de cGMP sentezi gerçekleşir. cGMP inozitol reseptörlere etki eder, myoglobulin hafif zincir fosfatazı defosforile eder ve düz kaslarda relaksasyona neden olur. cGMP protein kinaz yoluyla KV kanallarını aktive eder, voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının kapanmasıyla damar dilatasyonu olur (120).

2.2.4.2. İnflamasyon

SAK sonrası kanamanın olduğu bölgeye kan hücrelerinin göç etmesi ve inflamasyona ait belirtilerin görülmesi 3. saatte başlar. İnflamasyonun bu akut döneminde lökositlerle vasküler endotelial hücrelerin arasında bir takım etkileşimler başlar. Bu etkileşimde lökositlerin vasküler hücrelere adhezyonunu sağlayan bir takım adhezyon molekülleri bulunmaktadır. Bunlar ICAM-1 (CD54), VCAM-1 (CD106), Mac-1 9 (CD11b/CD18), LFA ve selektinlerdir. ICAM-1 vasküler endotelial hücrelerden salgılanır. Lökositlerin endotelium boyunca ekstravazyonu ve periadventisyal aralığa geçmesini sağlar. Daha sonra selektinlerden E-selektin, P-selektin ve L-selektin lökositlerin vasküler lümenine toplanmasına ve daha sıkı adhezyonuna neden olur. Lökositlerin bu yerleşimi stabil hale getirilirken kemoatraktan ve kemokin adlı moleküllerle dolaşımdaki diğer lökositlerin bu bölgeye birikimi

sağlanır. Bu arada lökositlerin transendotelyal migrasyonu gerçekleşir. Selektinlerle sağlanan sıkı adhezyonun LFA ve Mac-1 adlı adhezyon molekülleri ile daha kuvvetlenip stabil hale gelmesi sağlanır. Lökositlerin damar duvarı boyunca diapedezi görülür. Kanama sahasında oluşumu iyice kuvvetlenen lökositler aktif oksijen moleküllerini üretilip salgılamaya başlar. Buda endotelyal disfonksiyona ve hücre içine kalsiyum geçişine neden olur (25, 43, 44, 189, 194, 219).

Kanda bulunan diğer hücrelerden granülositler, monositler, lenfositlerde inflamasyon sahasına toplanır ve çeşitli substratların salgılanmaya başlanmasıyla inflamasyonun akut evresi başlamış olur. Bu substratlar TNF α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8'dir. İnflamasyon sahasına toplanmış çeşitli kan hücrelerinden bu inflamatuvar mediatörlerin sentezi ve düzenlenmesi ise normalde hücre stoplazmasında inaktif halde bulunan bir transkripsiyon faktörü, Nükleer Faktör kappaB (NF- κ B) dir. Bir diğer faktör ise SAPKs'lardır. İnaktif halde bulunan NF- κ B diğer reaksiyonlarla üretilmeye başlanan reaktif oksijen türleri (ROS), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksiradikal (OH^-) ve superoksit (O^-) gibi serbest radikaller tarafından aktive edilir. Böylece vazospazmın inflamasyonel kaskadı resmen başlamış olur (31, 53, 81, 228).

Kanama ve inflamasyon alanında salgılanan substratlardan biri olan TNF α trimerik 17kDA polipeptittir. Monositler ve makrofajlar tarafından üretilir. TNF α çoğu hücre için sitotoksik etkisi olan bir inflamatuvar sitokindir. Hedef hücrede reseptör trimerizasyonuna neden olur ve TNFR-1 sinyal kompleksini aktive eder. Aktive olmuş TNFR-1'de apoptotik kaskadlardan zimojen halde inaktif olarak bulunan prokaspaz 8'i kaspaz 8'e çevirerek kaspaz 8'e bağımlı hücre ölümünü başlatır. TNF α ayrıca hipotalamusu uyararak vücut sıcaklığını arttırır. Karaciğerde akut faz reaktanlarının sentezini indükleyerek organizmayı katabolik sürece sokar (72, 179, 193).

IL-1 ortamda bulunan monositler ve makrofajlar tarafından salgılanır. IL-1 β vasküler endotelyal hücrelerde DNA fragmantasyonuna neden olur. Zaten ortamdaki serbest radikaller tarafından aktive olmuş NF- κ B'nin aktive edilmesinde (+) feed-back etkisi vardır (106, 228).

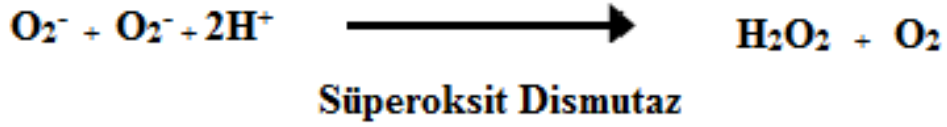
IL-6 vasküler endotelyal hücrelere etkiyerek endotelyal permeabiliteyi arttırır. Yine IL-8'de benzer mekanizmayla endotelyal hücrelere bağlanır ve permeabilite artışına neden olur. İnflamatuvar süreçte, sahadaki kan hücrelerinden eritrositler

kümeleşip trombus formasyonu oluşumuna neden olur. Bu trombüste IL-1 β , TNF α ve IF γ gibi akut faz reaktanları üretilir. Kanamanın ilk 24 saati içinde görülmeye başlanan bu süreç, kanamanın 3-4. gününe gelindiğinde sahada artmış fagositoz, salgılanmaya başlanan IL-1, IL-6 ve IL-8'in seviyelerinin iyice artması ve lökositlerin sonradan degranüle olmasıyla endotelin salınımının olduğu görülür (72, 106).

İnflamasyon süreci vazospazm oluşumundaki en önemli faktörlerden biridir. Liteartürde inflamatuvar reaksiyonlarını önlemeye yönelik yapılan deneysel çalışmalarda vazospazmı önlemede başarılı sonuçlar elde edilmiştir (44, 135, 192).

2.2.4.3. Serbest Radikal Reaksiyonu, Lipid Peroksidasyonu

Subaraknoid kanama sonrası ortama göç eden dolaşımdaki monositlerin, lenfositlerin, lökositlerin, granülositlerin, makrofajların inflamasyona olan etkileri yanında ortamda bulunan eritrositler inflamatuvar reaksiyonlar yanında başka zincirleme reaksiyonları da aktive etmektedir. Subaraknoid aralıktaki eritrositlerin parçalanmasıyla açığa çıkan oksihemoglobin methmoglobine çevrilirken güçlü bir serbest radikal olan superoksidler (O₂⁻) oluşur. Superoksidler superoksid dismutaz (SOD) ile H₂O₂'e çevrilir (95, 192).



Şekil 1. Hidrojen peroksit oluşumu

Oluşan H₂O₂ kanama sonucu ortamda bulunan eritrositlerin parçalanmasıyla açığa çıkan demir ile reaksiyona girer ve hidroksiradikallerin (OH⁻) oluşumuna neden olur. Böylece Haber Weiss ve Fanton reaksiyonu adı verilen serbest radikal reaksiyonu başlamış olur (95).



Şekil 2. Haber-Weiss Reaksiyonu



Şekil 3. Fanton Reaksiyonu

Serbest radikallerin atomik yapılarına bakacak olursak, normalde elektronlar atomik yapıda bir yörüngede bulunurlar. Bir yörüngede en fazla iki adet elektron bulunabilir. Eğer yörüngede bir elektron bulunursa buna eşlenmemiş elektron adı verilir ki, serbest radikaller böyle bir atomik yapıya sahiptirler. Normal biyolojik yapılar iki elektrona sahiptirler ancak ortamda radikallerin varlığında radikaller eşlenmemiş elektronlarını eşlemeye yönelik normal biyolojik yapılarla etkileşime girerek normal yapının elektronunu almaya yönelir. Böylece kendisini kararlı duruma getirirken, normal atomik yapıyı eşlenmemiş elektrona sahip bir radikal haline getirir. Böyle bir reaksiyonun başlaması zincirleme reaksiyon şeklinde diğer yapılara yayılır. Hidrojen atomu bir protonu, bir elektronu olan radikaldir. Bundan dolayı hidrojen atomunun bir biyolojik molekülden çıkarılması biyolojik dokuyu direk karasız hale sokacaktır. İşte hidroksiradikalı lipidler dahil bir çok biyolojik moleküle bu şekilde etkir (55, 95).



LH: Lipit, OH⁻ : Hidroksiradikal

Şekil 4. Alkil Radikalı Oluşumu

Hidroksiradikal çok güçlü bir reaktiftir. Molekül yapısında bulunan hidrojen atomunu biyolojik molekülün yapısından çıkararak serbest radikal zincir reaksiyonunu tetikler. Oluşan bu serbest radikaller neticesinde gelişen 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. Yine hücre membranının yapısındaki yağ asidinin metilen karbonuna bağlı olan hidrojen atomunu yapıdan çıkararak eşlenmemiş elektrona sahip lipid radikalı oluşumuna sebep olur. Lipid radikalı

moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksiradikaline dönüşür. Peroksiradikalde lipid hidrokside indirgenir. Bunun neticesinde hücre membranı destabilize olup membran potansiyeli oluşturamaz hale gelir. Vasküler endotelial hücrelerde gelişen lipid peroksidasyonu sonucunda hücre yapısında hasar oluşur, vasküler permeabilite artışı neticesinde hücre içi kalsiyum birikimi olur (55).

O_2^- ve H_2O_2 gibi invivo üretilen serbest radikaller OH^- 'e göre çok daha az reaktiftirler. Ama bu tamamen zararsız oldukları anlamına gelmez. Özellikle O_2^- vasküler endotelial hücreler tarafından üretilen ve vasküler tonusun devamında rol alan ve vazodilatasyon oluşumu açısından çok önemli bir molekül olan NO ile reaksiyona girer. NO'ü peroksinitrite (NOO^-)'e indirger. Peroksinitrit toksik bir metabolit değildir ancak OH^- oluşturmak üzere ayrışabilir (119, 198, 215).

O_2^- invivo olarak kimyasal reaksiyonlar sırasında örneğin otooksidasyon esnasında istenmeden oluşabilir. Ancak aerobik mekanizmaların bu durumlara karşı savunma sistemleri vardır. O_2^- SOD ile H_2O_2 'e, H_2O_2 'te glutatyon peroksidaz ve katalazlarla zararsız bileşiklere dönüştürülür. SAK sonrası gelişen birçok reaksiyon neticesinde oluşan vazospazm sürecinde dokuların SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi savunma mekanizmaları yeterince fonksiyon yapamaz hale gelir ve vazospazmın gelişiminde en önemli faktörlerden biri olan serbest radikaller etkisiz hale getirilememiş olur. Böylelikle dokular oksidatif strese maruz kalırlar. Oksidatif stres hücre metabolizmasında bir takım bozukluklara neden olur (100, 187, 203, 237).

Bunlar:

- DNA yapısının bozulması
- intrasellüler serbest kalsiyum (Ca^{+2}) miktarında yükselme
- hücre membranı iyon transportunun zarar görmesi
- lipid peroksidasyonu (100).

Intrasellüler kalsiyum artışı ise hücre içinde nükleaz, proteaz, protein kinaz C, fosfolipazların aktive olmasına hücrenin nekrotik ve apoptotik bir sürece girerek ölümüne neden olmaktadır. Tüm bu veriler göz önüne alındığında lipid peroksidasyonu nöronal yapılar ve vasküler dokularda oluşan hasarda çok büyük bir rol almaktadır (165, 212).

SAK sonrası ortamdaki eritrositlerin hidrolizi ile açığa çıkan oksihemoglobinin serbest radikallerin oluşumu ve lipid peroksidasyonu üzerinden vasküler ve nöronal dokularda oluşturduğu hasar dışında daha birçok reaksiyonu başlatarak vazospazma yol açan süreçte yer alır. Bunlardan biride oksihemoglobinin farklı mekanizmalarla vasküler düz kaslarda kalsiyum artışına ve vazokonstriksiyona neden olmasıdır. Oksihemoglobin, IP3 salınımını arttırarak hücre içi depolardan kalsiyumun hücre içine salınımında rol alır.

Ayrıca voltaj bağımsız kalsiyum kanallarını etkileyerek hücre içi kalsiyum artışına neden olur ve bunun neticesinde vasküler dokuda kasılmaya yol açar. Hücre içi kalsiyum artışında oksihemoglobinin aktive ettiği bir başka mekanizma ise, tirozin kinaz ve protein kinaz C enzimleri üzerinden vasküler dokudaki K⁺ kanallarından Kv kanalının inhibe edilmesi ile membran depolarizasyonu ve voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının aktive edilmesi sonucu hücre içi kalsiyum miktarının arttırılması reaksiyonlarıdır. Bu tür bir reaksiyon neticesinde vasküler düz kaslarda uzun süreli kontraksiyon gelişmektedir (114, 115, 181).

Watanabe ve ark. yaptıkları hayvan deney çalışmasında tirozin kinazı farmakolojik olarak bloke etmiş ve vazodilatasyon geliştiğini bildirmiştir (229).

Oksihemoglobin TNF α , IL-1, IL-6 gibi sitokinlerin salınımını attırmaktadır. Bununla beraber oksihemoglobin NO etki mekanizmasında yer alan sGC adlı enzimin heme kısmına bağlanarak enzimi inaktive etmektedir, serbest radikal üretimi yoluyla NO'ü peroksinitrite çevirerek NO miktarını azaltmaktadır (221, 236).

Bu yönde gelişen tüm reaksiyonlar neticesinde normal serebral vasküler tonusun dengelenmesinde endotelial kaynaklı gevşetici faktör NO ile bilinen en güçlü konstriktörlerden endotelin arasındaki denge endotelin lehine olacak şekilde bozulur. Bununla beraber endotelin gen ekspresyonunu arttırarak dokulardaki endotelin hâkimiyetini arttırır (53, 227).

2.2.4.4. Endotelin

Normalde serebral damarlardaki vasküler tonusu, Endotelial Kaynaklı Vazorelaksan Faktörler (EDRF) ile endotelial kaynaklı vazokonstriktör maddeler düzenler. EDRF'ler; NO, Ach, bradikinin, histamin, substans P, nörokinin A, nörokinin B, PGF α ; vazokonstriktör maddeler ise serotonin, PGE2, Trombaksan A2,

norepinefrindir. Ancak çeşitli mekanizmalarla EDRF'lerin özellikle NO'nin miktarının azalmasına paralel olarak serebral vazospazmda bilinen en güçlü vazokonstriktör maddelerden endotelin (Ee) sorumludur. Oksihemoglobin hem nitrik oksite bağlanarak, hem de endotelin salınımını artırarak damar düz kaslarının kasılmasına ve vazospazma yol açar (34, 42, 134, 227).

2.2.4.5. Nitrik Oksid

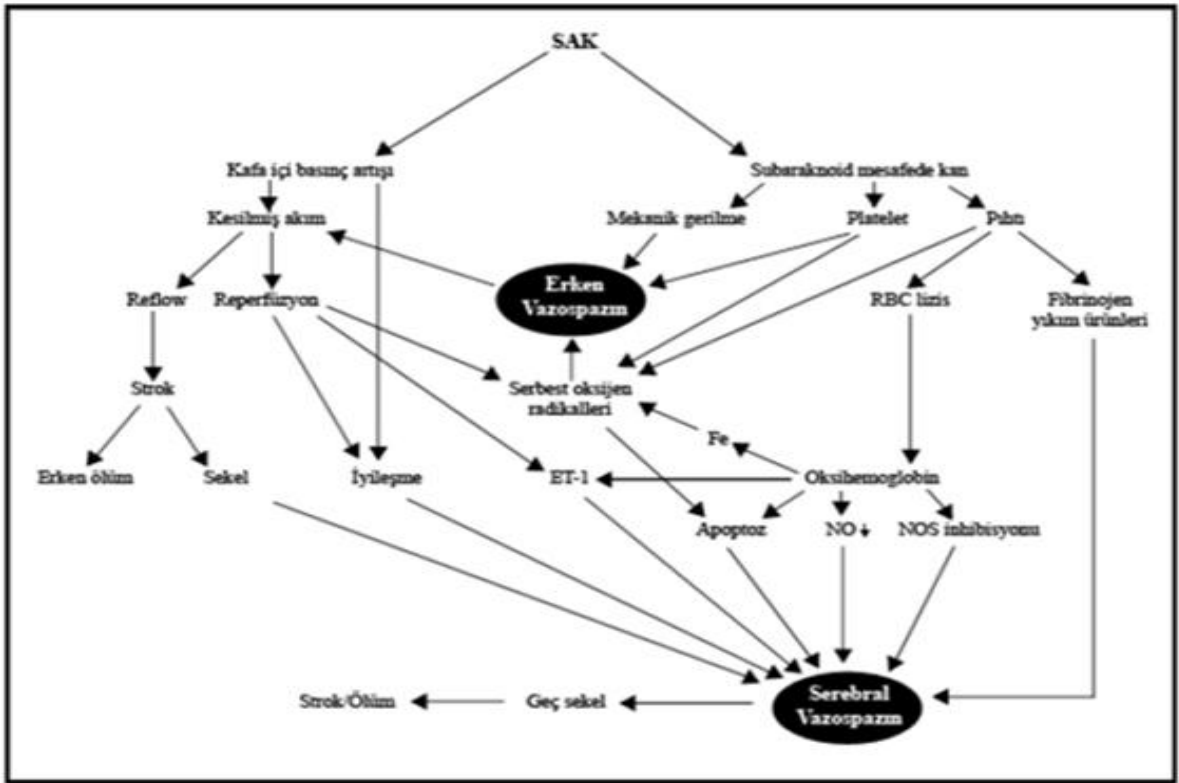
NO, L-Arjiinden NOS enziminin katalize ettiği bir reaksiyonla *invivo* olarak sentezlenir. NO çok kısa yarı ömre, hızlı ve güçlü vazodilatör etkiye sahiptir. NO'nin vazospazm fizyopatolojisindeki rolü ise kesin değildir. Arteriyal duvar boyunca artmış tüketimi, endotelyal hasar sonrası azalmış üretimi, inflamatuvar reaksiyonlarda yer alması veya bunların hepsi olabilir. Ancak en çok kabul edilen görüş, NO'nin oksihemoglobinler tarafından tüketilmesi, yok edilmesi görüşüdür. Oksihemoglobin doğrudan nitrik oksite bağlanarak ya da oluşumuna engel olduğu superoksit anyon radikalinin nitrik oksiti ortadan kaldırmasıyla vasküler tonusu vazokonstriksiyon yönünde etkiler (142). NO azalması lökosit ve plateletlerin adezyonunun artmasına ve var olan inflamasyonun daha da şiddetlenmesine neden olmaktadır. NO adezyon moleküllerinin salınımını inhibe etmektedir. Buna beraber NO'nin azalması miyozin fosfatazi inhibe eden Rho kinazın artışı ile sonuçlanır ki bu durum uzun süren düz kas kontraksiyonu ile sonuçlanır (10, 174, 202, 246).

2.2.4.6. Apoptoz

İntrakranial anevrizmanın rüptürü ve subaraknoid kanama ile kanın yaptığı mekanik basınç yanında; trombositlerin, lökositlerin, granülositlerin, monositlerin, makrofajların ve eritrositlerin gerçekleştirdiği çok çeşitli reaksiyonlarla ve ortama salınan vazoaktif maddelerle inflamasyon, serebral kan akımının otoregülasyonunun bozulması, vasküler endotelyal hücre harabiyeti, endotelin/NO oranının artması, vasküler morfolojik değişiklik ve vazokonstriksiyon gibi daha birçok mekanizmayla nöronlarda ve vasküler dokuda iskemi sürecine girilmiş olur. İskemik süreçle beraber zaten hasarlanmış olan iyonik pompalar ATP yetmezliği sonucu fonksiyonlarını yapamaz hale gelir. ATP'nin tükenmesi sonucu Na/K-ATPaz, 3Na/Ca ve Na/H transport pompaları fonksiyon göremez hale gelir. Na konsantrasyonu hücre içinde artmaya başlar buda L tipi voltaj duyarlı kalsiyum pompalarını açarak hücre içine

kalsiyum girişine neden olur. Buda glutamat gibi eksitator aminoasitlerin sinaptik aralığa salınmasına neden olur. Böylece NMDA reseptörleri aktive olarak kalsiyumun hücre içine girişini hızlandırır. Hücre içi kalsiyum seviyesinin artması lipaz, fosfolipaz, proteaz, endonükleaz gibi yıkıcı enzimlerin artışına neden olur. Bu durum apoptoza yol açan etmenlerin aktivasyonuna yol açar. Netice itibariyle oksihemoglobin, trombin, sitokinler, proteazlar, endonükleazlar, metHb, bilirubin, serbest radikaller apoptoz mekanizmasını harekete geçirirler (51, 148, 217, 218).

Gelişen endotelial apoptozis, endotelial yapının vasküler yapıdan kopmasına ve internal elastik laminanın kollajen yapısının kanla temasına neden olur. Bu da plateletlerin bu alana yapışarak trombus formasyonu oluşturmasına, düz kas hücrelerinin kan dolaşımındaki vazoaaktif ajanlarla direk temasına bağlı damarların konstrikte olmasına neden olur (15).



Şekil 5: Serebral vazospazm seyri (54)

SAK sonrası, dakikalar içerisinde subaraknoid yüzeyde kanın etkisiyle intrakranial basınç artar. Subaraknoid mesafedeki kandan tromboksan ve serotonin gibi

vazoaktif maddelerin salınımı artarak, erken vazospazm başlar. Saatler ya da günler içerisinde BOS'ta endotelin-1 seviyesi artar. SAK'nın 3. gününde subaraknoid mesafedeki kan yavaş yavaş rezorbe olmaya başlayınca oksihemoglobin salınımı artar ve geç serebral vazospazmı başlatır. Endojen nitrik oksit inhibisyonu sonucu azalmış nitrik oksit ve artmış asimetrik-dimetil-L arjinin (ADMA) den dolayı kronik geç serebral vazospazm başlar. Vazospazm ve kortikal yaygın iskemi, klinik olarak geç iskemik defisitleri oluşturur (2).

2.2.4.7 İmmünite

SAK sonrası serebral vazospazmın patogenezinde hümorale immünitenin rolü olduğu bilinmektedir. Hücresele immünitenin araştırıldığı bir çalışmada kronik allerjik reaksiyon olarak otoimmün hastalıklarda görülen bir dizi immünoreaktif hücre cevabı veya geç tipte hipersensitiviteye rastlanmıştır. Sonuçlar serebral vazospazm gelişiminde başlangıçta hücresele immünite ile ilgili cevaplar olduğu, bunu takiben hümorale immünite ve ökazonoid reaksiyonların rol oynadığını göstermiştir. SAK sonrası gelişen hücresele immünite cevapları sadece endotelyal yüzde değildir. Arterin medial yüzünde de immün hasar meydana gelir ve vazospazm patogenezinde katılır (122, 136). Serumdaki immün kompleksler ile vazospazmın korelasyonunun gösterilmesi oluşan reaksiyonların bir otoimmün süreç ile geliştiğini göstermektedir (153). Subaraknoid kanamayı takiben vazospazm patogenezinde enflamasyonun önemli rolü olduğu bilinmektedir (123). Önemli enflamatuar mediatörler ökazonoidler (PG, Lökotrien), immün kompleksler (Ig ve kompleman) (122), ve sitokinlerdir (123). Subaraknoid kanama sonrası klinik ve/veya radyolojik vazospazm gösteren hastalarda, vazospazm gelişmeyenlere oranla, kanlarında yüksek oranda dolaşan immün kompleks varlığı gösterilmiştir (153).

2.2.5. Klinik Özellikleri

Serebral vazospazmdan söz edildiğinde anjiyografik ve klinik vazospazmı ayırmak gerekir. Anjiyografik vazospazm radyolojik olarak serebral damar çapında meydana gelen daralmayı ifade eder. Klinik vazospazm ise son yıllarda daha çok tercih edilen terim olan geç iskemik defisitle (GID) eş anlamlı olarak kullanılır ve serebral damarların ilerleyici daralmasıyla birlikte gelişen iskemik belirti ve bulguların oluşturduğu sendromu tanımlar (2, 23, 52, 58, 59, 98, 142, 207). Nörolojik kaybın

lokalizasyonuna uygun olarak semptom ve bulgular verir. Vazospazmın klinik özellikleri çok karakteristik değildir. Arter daralmasının şiddeti ve lokalizasyonu, hastanın yaşı ve klinik durumu, intrakraniyal basınç yüksekliği, intraserebral hematoma, hidrocefali, hiponatremi, hipovolemi ve hipotansiyon gibi komplike faktörlerin eşlik edip etmemesine ve geniş kollateral dolaşımın varlığına bağlı olarak vazospazm kliniği değişkenlik gösterir. Nitekim anjiyografik serebral vazospazm tespit edilen hastaların yarısı asemptomatik olabilmektedir. Serebral vazospazm klinik olarak SAK sonrası 4. günde başlar, 7-8. Günler arasında en yüksek düzeyine çıkar ve şiddeti azalarak 2. haftanın sonuna doğru düzeler. Klinik tablo majör ve minör bulgular olmak üzere ikiye ayrılır. Vazospazmın bulunduğu bölgeye bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Anterior sirkülasyon semptomları başlıca hemiparezi, hemihipoestezi, görme kaybı, disfazi, bilinç değişiklikleri olurken arka taraf lezyonlarında vertigo, ataksi, diplopi öne çıkarlar. Bilincin kötüleşmesi, motor defisit ya da afazi gibi hemisferik belirti ve bulguların (majör) ortaya çıkması doğrudan vazospazm gelişimini düşündürür. Baş ağrısında artma, subfebril ateş gibi bulguların (minör) varlığında ise serebral vazospazmdan kuşkulandırılmalı ve hasta yakından izlenmelidir. Klinik bulguların erken farkedilmesi serebral vazospazmın etkin tedavisi için önemlidir (131, 142).

2.2.6. Tanı

Serebral vazospazm tanısı; subaraknoid kanamayı takiben beyinde bölgesel iskemi veya infarkta bağlı gelişen nörolojik kötüleşme ile **klinik olarak**; arter duvarı musküler tabakasında kontraksiyon veya endotelial hasar sonucu gözlenen intrakranial arterlerin lümenindeki daralmanın gösterilmesi ile **radyolojik olarak** konulabilir. Anjiyografik vazospazm 7. günde en yüksek noktasına ulaşır. 7. günde hastaların yaklaşık %40-70'inde Willis poligonuna ait bir veya daha fazla damarda veya bunlara ait dallarda damar çapında daralma ortaya çıkar (13, 88).

Anjiyografide arterlerin daralma derecesine göre vazospazm, hafif (%25), orta (%50) ve ağır (%75) olarak sınıflandırılabilir (207).

Klinik vazospazmın ortaya çıkış zamanı anjiyografik vazospazmıla paralellik gösterebilir hastaların %70'inde anjiyografik vazospazm saptanırken sadece %30 hastada klinik vazospazm gözlenir (58,59).

Klinik olarak vazospazmdan kuşkulanan hastada yapılacak başlıca incelemeler BT, transkraniyel dopler ultrasonografi (TCD) ve digital substraksiyon anjiyografidir (DSA). BT iskemik alanları göstermesi ve kötüleşmekte olan bir hastada intrakraniyal hematom, hidrosefali gibi diğer nedenleri ekarte etmek açısından önemlidir. Kontrastlı Beyin tomografileri ile vasküler patoloji varlığı ve küçük damar otonöregülasyonunda bozukluklar ortaya konabilir. BT'deki anormal boyanmalar kan beyin bariyerindeki bozulmaların belirtisi olarak kabul edilirler (89; 121, 142, 210).

TCD ile serebral damarların çapını doğrudan ölçmek mümkün olmaz, ancak ortalama kan akım hızının damar çapıyla ters orantılı olduğu prensibinden hareketle indirekt olarak vazospazmı gösterir. TCD incelemesinde 120 cm/sn üzerindeki değerler vazospazm düşündürür. Yapılan çalışmalarda bu incelemenin özgünlüğü %80-100 arasında değişirken, hassasiyeti % 44-79 arasında bulunmuştur. TCD ile spazm takibi mevcut alternatifler içinde en kolay, en ucuz, riski en az olanıdır (142).

DSA serebral vazospazmın değerlendirilmesinde altın standarttır. İnvaziv bir yöntem olmasına karşın son yıllarda özellikle anevrizmanın tamamen kapanıp kapanmadığını anlamak için anjiyografi yapılması rutin haline gelmiştir. İşlem sırasında veya sonrasında %2 kadar komplikasyon görülebilir (45, 97). DSA'nın bir diğer yararı da endovasküler tedavi yollarını deneme olanağı sağlamasıdır (89, 121, 142).

Özellikle vazospazma bağlı geç iskemik defisitlerin değerlendirilmesinde difüzyon ve perfüzyon ağırlıklı MR incelemelerinin erken tanı açısından yararlı olacağını düşündüren ön çalışmalar mevcuttur (142).

2.2.7. Tedavi

Serebral vazospazmın tedavisinde birçok yöntem olmasına rağmen halen üzerinde mutakabat sağlanmış kesin bir tedavi yöntemi yoktur. Tedavisi hastanın klinik durumuna ve operasyon yapılıp yapılmayacağına göre planlanmalıdır. Erken cerrahinin de vazospazm nedeni olabileceği bilinmektedir (99).

2.2.7.1. Cerrahi Tedavi

Anevrizmal SAK olgularında son yıllarda giderek yaygınlaşan görüş erken cerrahi tedavi ve anevrizmanın kliplenmesi yönündedir (97). Erken cerrahi tedavi ile kanayan damarın kliplenmesi, yeniden kanama riskini azaltmasının yanı sıra vazospazmın en büyük nedeni olan sisternel kanın temizlenmesine, 3H tedavisi,

trombolitik ve anjiyoplastik tedavi gibi agresif medikal tedavi yöntemlerinin uygulanmasına olanak sağlamaktadır (188, 133).

2.2.7.2. Medikal Tedavi

Hiperdinamik "3H" tedavisi uygulanır. Bu tedavi, hipertansiyon, hipervolemi, hemodilüsyonu kapsamaktadır ve kullanılan en yaygın tedavi yöntemidir. Mikrosirkülasyonun düzeltilmesi amacıyla hipervolemi, dekstran ve mannitol kullanılabilir. Kan basıncının arttırılması ve hemodilüsyon ile vazospazma bağlı bulguların azaldığını bildiren değişik çalışmalar vardır (241). Sıvı yüklenmesi ve hemodilüsyon ile kan viskozitesinin azaltılması ve tansiyonun yükseltilmesinin serebral kan akımı, serebral perfüzyon ve mikrosirkülasyonu artırarak hastalarda nörolojik düzelmeye yol açtığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (130, 140, 175).

Süperoksit dismütaz, tropolone ve trilazad, lipid peroksidasyon inhibitörler olup vazospazm morbiditesi üzerine olumlu etkileri bildirilmektedir. Serbest radikallere karşı profilaktik etkisi olan nizofenon, SAK erken döneminde vitamin-E ile birlikte kullanılabilir (150).

Vasküler düz kaslar, çizgili kas ve kalp kasının aksine yavaş, tonik ve uzun süreli kasılırlar. Kasıldıklarında damar boşluğunu daraltacak şekilde organize olmuşlardır. Vasküler düz kasların kasılmasını engellemek amacıyla kullanılan pekçok deneysel ajan klinik çalışmalarda benzer etkinliği gösterememiştir. Ancak nicardipin ve intraarteriyel yüksek doz papaverin uygulamasının erken semptomatik vazospazm tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (27, 73).

Subaraknoid kanama sonrasında oluşan kan yıkım ürünleri membran depolarizasyonuna yol açar ve bunun sonucunda voltaj kontrollü kalsiyum kanallarının açılmasıyla hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) düzeyi artar. Serebral damar kasılmasında intrasellüler kalsiyum düzeyi esas olarak ekstrasellüler mesafedeki kalsiyum miktarına bağlıdır (139). Ca kanal antagonistleri serebral damar düz kaslarının kontraksiyonunu değiştirerek etki ederler. Bu etkileri damarların dilatasyonu, nöronal koruyucu etki, eritrosit elastikiyetinde artış, trombosit agregasyon inhibisyonu ile gerçekleşir. Yapılan çalışmalarla kalsiyum kanal blokörü olan nimodipinin vazospazm sıklığını % 10'un altına indirdiği yönünde olup bu etkisini serebral kan akımı üzerinde vazodilatasyon ile

değil, nöronların iskemi durumunda Ca salınımlarını inhibe ederek vazokonstriksiyonu antagone eder (92).

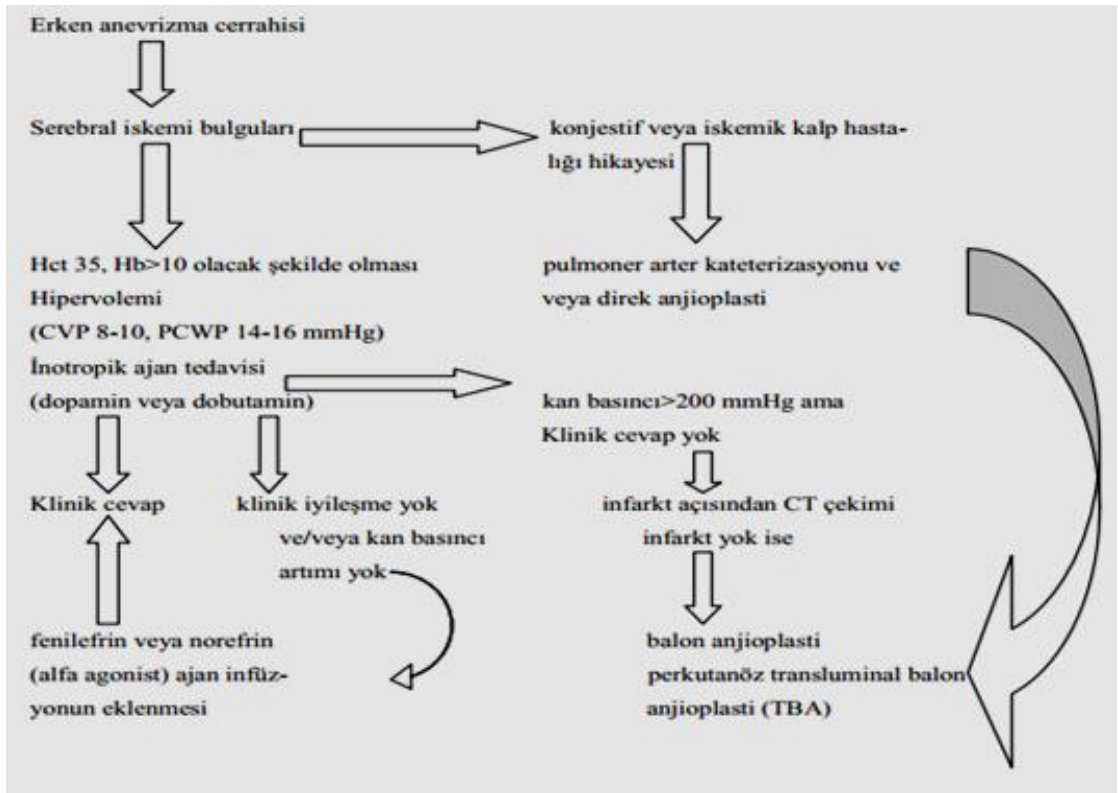
Subaraknoid kanama sonrasında ortamdaki kan pıhtısına karşı sellüler ve moleküler inflamatuvar yanıt gelişir. Antiinflamatuvar birer ajan olan ibuprofen ve metilprednizolon ile antioksidan birer ajan olan 21-aminosteroid ve desferroksaminin vazospazmda etkili oldukları deneysel çalışmalarda gösterilmişse de klinik düzeyde benzer etkileri görülememiştir (27, 73).

Anevrizmal subaraknoid kanama sonrası sisternalara sızan kan ile gelişen vazospazm şiddeti arasında güçlü bir bağ vardır (89, 211). Bunun sebebi oluşan pıhtıdan sızan maddelerin damar cidarındaki etkileşimleridir. Serbest radikaller ve demire bağlı lipidik peroksidasyon bu reaksiyonlara örnektir. Gelişen bu reaksiyonları önlemek amacıyla anevrizmadaki trombüsü stabilize eden antifibrinolitik ajanlar (ε-aminokaproik asit) kullanılabilir. Ancak subaraknoid alandaki arterlerde de trombüsün yıkımını baskıladıklarından vazospazmı arttırabilirler. Antifibrinolitik ajanların kullanımı ile ameliyat öncesi yeniden kanama oranları düşürülmüştür. Ancak geç nörolojik defisitleri arttırması gözden kaçırılmamalıdır (89). Doku plazminojen aktivatörlerinin kullanımı ile ilgili pek çok yayın yapılmaktadır (222, 244). Bu maddelerin intratekal uygulamalarının SAK sonrası ilk 48 saat içinde damar çevresindeki pıhtının uzaklaştırılması yolu ile vazospazmı engellediği bildirilmektedir (208, 230). İntrasisternal uygulamalar ile de olumlu sonuçlar mevcuttur (105). İntraarteriyel papaverin kullanımı ile mekanizması henüz tam aydınlatılamamış bir vazodilatasyon gelişir. Serebral vazospazmda kullanımı ile ilgili çok sayıda yayın bulunmaktadır (46, 104, 124, 133, 242).

2.2.7.3. Endovasküler Tedavi

Son yıllarda gelişen teknik ve teknoloji endovasküler girişimleri serebral vazospazm tedavisinde bir alternatif olarak ortaya çıkarmıştır. Bu yöntemlerden bilinen en önemli ikisi balon anjiyoplasti ve intrarteriyel papaverin uygulamasıdır. Balon anjiyoplasti intravasküler olarak bir balon mekanizması ile daralmış segmentin açılacağı esasına dayanır. Hastaların büyük bölümünde ilk anlarda dramatik klinik iyileşme sağlanır. Bu iyileşme Doppler-USG ile de saptanabilir. Normal damar kalibrasyonunun balon ile idame ettirilerek tekrarlayacak vazospazmı önleyebilmesi

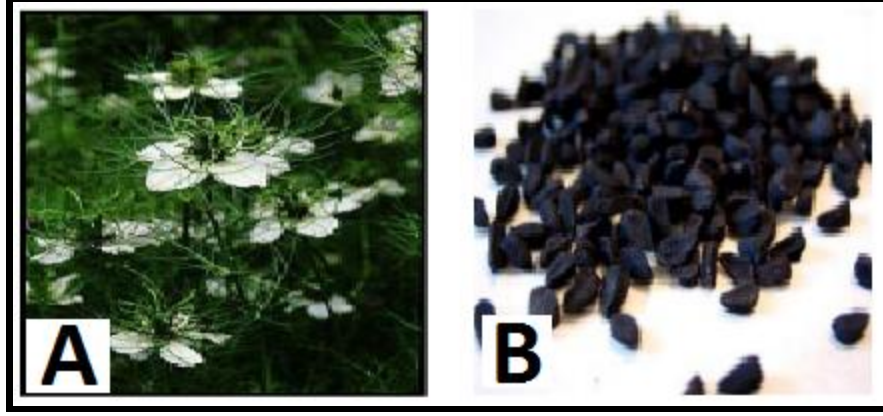
büyük avantaj olmasına rağmen bu uygulamalarda yaklaşık %5 vakada perforasyon gelişebilir. Yöntemin damarda dilatasyon esnasında endotelial hücreleri zedelediği değişik yayınlara desteklenmiştir. Komplikasyon ve perforasyon oranının yüksek olması bu yöntemin yaygın olarak kullanılmasını engellemiştir (26, 69, 75, 118, 137, 235). Yıllardır nöroşirürjiyenler tarafından vazospazmı çözmek üzere topikal olarak kullanılan ve etki mekanizması tam olarak bilinmeyen papaverinin, intraarteriyel selektif enjeksiyonu vazospazm tedavisinde kullanılmaktadır. İntraarteriyel papaverinin spastik damarı açmakta başarılı olduğu, ancak bu etkisinin kısa sürede kaybolduğu ve tekrarlayan enjeksiyonlar yapılması gerektiği bildirilmiştir. İntraarteriyel tedavi ile anjiyografik spazmın açılmasıyla klinikteki düzelmeye arasında zayıf bir korelasyon bulunduğu gösterilmiştir. Papaverin enjeksiyonları sırasında kafa içi basıncın yükseldiği, bununla serebral perfüzyon basıncını düşürüp iskeminin artmasına yol açabileceği, bu nedenle papaverin enjeksiyonlarının intrakraniyal basınç monitörizasyonu altında yapılması gerektiği bildirilmiştir (162, 169, 185).



Şekil 6. Vazospazm tedavi şeması (56)

2.3. TİMOKİNON

Nigella (*Nigella sativa* L.), Ranunculaceae familyasına mensup (4) ve çoğunlukla Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde yetişen otsu bir bitkidir (77). Halk arasında bilinen adıyla çörekotu, *Nigella sativa* türü bitkilerin kapsül içerisinde oluşan tohumudur. *Nigella* tohumu yağının insan sağlığı ve beslenmesinde çok önemli bir yeri vardır.

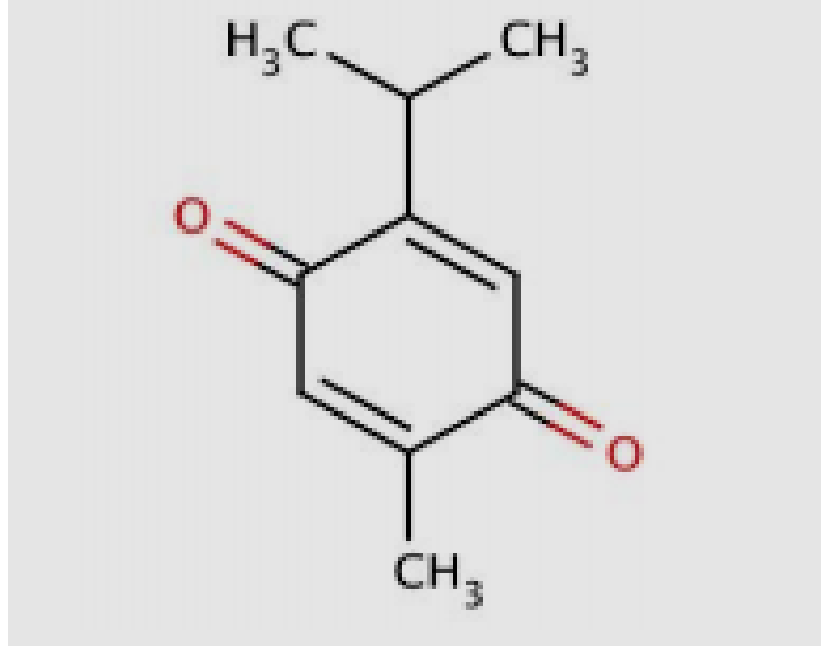


Şekil 7. *Nigella sativa* bitkisi (A) ve tohumu (B) (238).

Çörekotu (*Nigella sativa*) tohumu ve tohumundan elde edilen preparatlar üzerine birçok araştırma yapılmakla birlikte, eskiden olduğu gibi günümüzde de hala Uzakdoğu ve bazı Asya ülkelerinde halk hekimliğinde, soğuk algınlığı, baş ağrısı, astım, gaz giderici, idrar söktürücü, sarılık, çeşitli romatizma ve iltihap hastalıkları ve benzeri pek çok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (6). Bu tohum yağının antioksidan aktivitesi (35), antitümör aktivitesi (233), anti inflamatuvar aktivitesi (111), antiülserojenik (127), hipoglisemik (17, 18), antibakteriyel aktivitesi (171) ve immün sistem üzerine uyarıcı etkisi (204) olduğu rapor edilmiştir.

2.3.1. Timokinon Özellikleri

Çörekotu uçucu yağının temel biyoaktif bileşeni olan timokinon (C₁₀H₁₀O₂; 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon (molekül ağırlığı 164.2) 2000 yılı aşkın süredir antioksidan, anti-inflamatuvar ve antineoplastik ilaç olarak kullanılmaktadır (109, 110). Yapılan çalışmalarda timokinonun pek çok kanser türünde hücre çoğalmasını durdurucu etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 8. Timokinon kimyasal yapısı (191).

2.3.2. Timokinon farmasötik etkileri

Nigella sativa'nın anti-diyabetik, anti-oksidan, anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, anti-tümör, hematolojik ve immünomodülatör etkileri çeşitli çalışmalarla aydınlatılmaya çalışılmıştır.

2.3.2.1. Anti-Diyabetik etkiler

Diyabet organizmadaki insülin sentezi yetersizliği yada direnciden kaynaklanmakta olup kan glikoz düzeyinin yüksekliği ile karakterize metabolik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar Timokinonun hipoglisemik (17, 18, 66, 103) ve antidiyabetik (71) etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Timokinonun insülin sekresyonu üzerindeki moleküler mekanizması henüz aydınlatılmış olmamakla birlikte, insülin sekresyonunu artırarak glikoz kullanımında artışa ve glikoneogenezi engelleyerek kan glikozunun düşmesine neden olduğu belirtilmektedir (71, 191). Yapılan deneysel çalışmalarda Timokinonun diyabetin neden olduğu oksidatif stresin azalmasında ve β -hücre bütünlüğünün korunmasında tedavi edici etki gösterdiği ve bunun sonucunda da Timokinonun oksidatif strese karşı β -hücrelerinin korunmasında klinik olarak kullanımının faydalı olabileceği belirtilmektedir (166).

Karaciğer kan şekeri homeostazında merkezi bir rol oynar. Diyabetik durumda, hekzokinazın ve glukoz-6-fosfat dehidrogenazın aktiviteleri insülin eksikliği veya yetersizliğine bağlı olarak azalmıştır. Timokinon, insülin salınımıyla her iki enziminde hepatik dokulardaki aktivitesini artırır. Buna bağlı olarak glukozun hücresel biyosentezinde kullanımı artar ve plazma glukoz seviyelerinde belirgin bir düşüş gözlenir.

Glikozillenmiş hemoglobin (HbA1C) glikoz ile hemoglobin molekülünün nonenzimatik reaksiyonu sonucu oluşmaktadır ve geçmişe yönelik kan glikozunun takibinde HbA1c düzeyleri klinik önem taşımaktadır (70).

Timokinonun total HbA1C'yi önemli derecede düşürdüğü bildirimleri bulunmaktadır (71, 191). Buna göre, timokinonun, insülin sekresyonu yoluyla uzun süreli hiperglisemi kontrolünde önemli bir etkisi vardır. Timokinon, insülin sekresyonunu artırarak glikoz kullanımında artışa ve hepatik glukoz üretiminde azalışa sebep olur. Böylelikle bozulmuş karbonhidrat metabolizmasını düzeltici yönde, diğer bir deyişle antidiyabetik etki gösterir (191).

2.3.2.2. Antihiperlipidemik ve Antihiperkolesterolemik Etkisi

Günümüzde besinlerde giderek artan yağ içeriğinin, vücut yağ miktarındaki artışa ve obeziteye bağlı olarak hiperleptinemik, hipertrigliseridemik ve hiperkolesterolemik etkilere sebep olduğu bilinmektedir (82, 125).

Moleküler düzeyde kolesterol seviyesinin düzenlenmesi, LDL reseptör geninin ekspresyonu aracılığıyla LDL'nin hücreye alınması ve 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktaz (HMG-CoAR) geninin baskılanmasıyla da kolesterol sentezinin azaltılması olmak üzere başlıca iki mekanizma ile gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalarda diyetle % 1 kolesterol ilave edilerek 8 hafta boyunca beslenen ratlarda ticari Timokinonun (20, 50, 100 mg/kg) ve çörek otu tohumlarından elde edilen zengin fraksiyonlu Timokinonun (0, 1, 1,5 g/kg) her ikisinin de canlı ağırlığını, besin alımını, plazma total kolesterol (TK) ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeyini önemli derecede azalttığı bildirilirken (8, 116) aynı zamanda LDL reseptörü mRNA ekspresyonunun arttığı buna karşın HMG-CoAR'ın mRNA düzeyinin belirgin olarak baskılandığı belirtilmektedir (8). Hiperkolesteroleminin, ateroskleroz, miyokardial enfarktüs ve serebral paralizi gibi hastalıkların gelişiminde bir risk faktörü olduğu

bilinmektedir (41). Dolaşımda yüksek dansiteli lipoproteindeki (HDL) artış dokulardaki kolesterolün azaltılmasını sağlarken, LDL'deki düşüş de kardiovasküler hastalıkların gelişim riskini azaltmaktadır (182). Timokinonun hipokolesterolemik etkisi, antioksidan kapasitesinden ve gen metabolizmasında etkin rol almasından kaynaklanabilir ki, bu tür antioksidan bileşikler kısmen LDL'yi oksidasyona karşı koruyarak etki göstermektedir (8, 116, 226).

Tavşanlarda yapılan çalışmalarda Timokinonun oksidatif stresi ve aterogenezi azalttığı bildirilmektedir (199). İçme suyuna Timokinon ilave edilmesinin, doksorubisinin (DOX) indüklediği proteinüri ve albuminüriyi belirgin olarak engellediği ve nefrotik sendromla ilişkili hiperlipidemi ve proteinüri için Timokinonun koruyucu bir bileşik olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (19).

2.3.2.3. Antitümoral ve Antikanserojenik Etkisi

Hücrelerinin sürekli ve kontrolsüz olarak çoğalması olarak tanımlanan kanser, hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını ve hücre döngüsünü kontrol eden genlerde meydana gelen değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Tümörler malign ve benign olmak üzere iki grupta incelenir. Benign tümörler çevre dokuya veya vücudun diğer bölgelerine yayılmadan meydana geldikleri yerde kalırlar. Buna karşın malign tümörler hem çevre dokuya hem de kan veya lenfatik sistemi kullanarak buldukları yerden uzakta vücudun farklı bölgelerine yayılım gösterirler. Kanser hücrelerinin oluştukları yerden, çevre dokulara ve sonrasında tüm vücuda yayılması metastaz olarak nitelendirilir.

Hücresel düzeyde kanserin gelişimi, mutasyonları içeren çok aşamalı bir süreçtir. Bu süreç sonucunda çoğalma, sağ kalım, invazyon ve metastaz yetenekleri giderek artan hücreler seleksiyona uğramakta ve bu yetenekleri daha çok kazanmış kanser hücreleri yaşamını sürdürürken diğerleri elenmektedir. Kanser gelişiminin ilk aşaması olan tümör başlangıcı tek bir hücrenin mutasyona uğrayarak normal dışı çoğalmasının sonucunda gerçekleşir. Hücre çoğalmasına paralel olarak klonal tümör hücrelerinden oluşan hücre topluluğu giderek büyür. Tümör ilerlemesi, sözkonusu topluluk içindeki hücrelerde yeni mutasyonların gerçekleşmesiyle devam eder (48).

Pek çok *in vivo* ve *in vitro* araştırmalar ile NS tohumlarının ve aktif bileşenlerinin antitümöral etkileri gösterilmiştir. Araştırmalar Timokinonun göğüs ve

yumurtalık adenokarsinomu (216), kolorektal kanser (79), neoplastik keratinositler (79), insan osteosarkomu (200), fibrosarkoma, akciğer karsinomu, prostat kanseri (129) gibi pek çok kanser çeşidinde hücrelerin proliferasyonu üzerine inhibitör etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Timokinon ve ditimokinon, sitotoksik etkisini, hücre G1 fazında iken apoptozisi tetikleyerek durdurmaktadır. Hücre büyümesinin durdurulması ise p53'ün gen ekspresyonu ile protein ekspresyonunun artırılması ve anti-apoptotik Bcl-2 proteininin inhibe edilmesi ile sağlanmaktadır (80).

Farelerde benzopirenin indüklediği ön mide karsinomuna ve kemik iliği hücrelerindeki kromozomal bozukluklarda Timokinonun hasarlı hücreleri ve kromozom bozukluklarının frekansını belirgin olarak azalttığı bildirilmiştir (21). Timokinonun antiproliferatif ve proapoptik etkilerinin insan osteosarkoma hücrelerinde araştırıldığı çalışmada Timokinon, normal osteoblastlara karşı oldukça az toksisite göstermesi nedeniyle umut verici bir bileşik olarak değerlendirilmiştir (200). Ayrıca Timokinonun hepatoselüler karsinoma hücrelerini konsantrasyona bağlı olarak önemli ölçüde yavaşlattığı ve hepatoselüler karsinom tedavisi için umut verici bir antikanser bileşiği olduğu gösterilmiştir (3). Yapılan bir çalışmada Timokinonun insan umbilikal veninde endotel hücre göçünü, invazyonunu, proliferasyonunu ve tüp şekillenmesini inhibe ettiği tespit edilmiştir (239). Bu sonuçlar Timokinonun tümör anjiyogenezisini ve tümör büyümesini inhibe ettiğini ve kanser tedavisi için potansiyel bir ilaç olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Timokinonun nükleer faktör-B'ye bağımlı antiapoptotik genleri azaltarak kemoterapatik bileşikler tarafından indüklenen pankreas hücrelerinin ölümünde etkili olduğu ve antitümoral ilaçlarla Timokinonun birlikte kullanılmasının ise büyüme inhibisyonunu artırdığı gösterilmektedir (22).

2.3.2.4. İmmüno modülatör Etkisi

Bağışıklık, patojen bulaşmış moleküler paternleri tanıyabilen doğal bağışıklık ve spesifik antijenleri tanıyabilen kazanılmış bağışıklık olmak üzere iki çeşide ayrılabilir (164). Doğal bağışıklık, makrofajlar, doğal katil hücreler (natural killers), granülositler gibi spesifik olmayan hücreleri kapsarken kazanılmış bağışıklık, antijen spesifik antikor salgılayan B hücreleri aracılı salgısal bağışıklığı ve CD4⁺ (helper) CD8⁺ (sitolitik) T hücreleri aracılı hücre sel bağışıklığı kapsamaktadır (152). CD4⁺ T helper hücreler immün cevabın düzenlenmesinden sorumluyken CD8⁺ T hücreleri

enfeksiyon veya kanser içeren bölgelere litik etki gösteren öldürücü hücrelerdir. T hücrelerinin bu iki türü enfeksiyonların giderilmesi ve kanserin kontrol altına alınmasında kritik öneme sahip hücrelerdir.

Yapılan çalışmalarda Timokinon uygulanan deneklerde CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri oranının %55 kadar, doğal katil hücrelerin ise %30 kadar arttığı gösterilmiştir (102). Bu sayede *Nigella Sativa* yağının ve Timokinonun T hücrelerine ve immün yanıtta aracılık eden öldürücü hücrelerin artışını sağlayarak önemli immünomodülatör etki gösterdiği ifade edilmektedir (205). Timokinonun T hücrelerinin proliferasyonu üzerinde tetikleyici etki gösterdiği ancak B hücreleri üzerinde tetikleyici etkiye sahip olmadığı ve buna bağlı olarak *Nigella Sativa* yağının ve ana bileşeni olan Timokinonun, T hücre aracılı hücrel bağışıklığı üzerine tetikleyici etki gösterirken diğer bileşenleri B hücre aracılı humoral bağışıklığı baskılamaktadır (223). *Nigella Sativa*, T hücre fonksiyonunun yaşa bağlı olarak azalması üzerinde de iyileştirici etki göstermektedir. *Nigella Sativa*'nın gıdalarla tüketiminin sağlıklı yaşlı kişilerin immün cevabını geliştirdiği ve bu durumun T hücreleri aktivasyonu ile bağlantılı faktörlerdeki değişiklikler ve diyetle alınan lipidlerin miktar ve tipini değiştirmek suretiyle gerçekleştiğini bulmuşlardır (112, 234).

İnflamasyonlu ve otoimmün hastalıklarının iyileştirilmesinde Timokinon'un makrofajlarda nitrik oksit (NO) üretimini azaltarak yararlı olabileceğini ortaya koymuştur. Timokinon, lipopolisakkarit (LPS) tarafından uyarılan makrofajların supernatantlarında nitrit üretimini azaltmış, periton makrofajlarındaki indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) protein düzeyini de konsantrasyona bağlı olarak düşürmüştür (65).

2.3.2.5. Antioksidatif Etkisi

Vücuttaki tüm organlar özellikle merkezi sinir sistemi, serbest radikal hasarına karşı duyarlıdır. Beynin yüksek oksijen tüketimi, kolayca okside olabilen zengin yağ asitlerini barındırması, diğer organlara göre düşük seviyede antioksidan enzim ve antioksidan içermesi onu serbest oksijen radikalleri tarafından birincil hedef haline getirmektedir (38).

En dış orbitallerinde en az bir ortaklanmamış elektronu bulunan atom, atom grubu veya moleküllere serbest radikaller denir (96). Serbest radikaller, söz konusu

ortaklanmamış elektronları nedeniyle oldukça kararsız bir yapı gösterirler ve lipid, protein veya karbohidrat gibi moleküllerle, hücre hasarına sebep olacak şekilde, etkileşerek kararlı yapı kazanmak isterler (145). Hücrelerdeki koruma mekanizmaları da serbest radikal oluşumuna yol açar. Karaciğer, detoksifikasyon için serbest radikalleri kullanırken, nötrofiller patojenleri yok etmek için serbest radikal oluştururlar (154). Büyük ölçüde oksijen ve azot kaynaklı olan serbest radikaller, metabolizma sırasında doğal olarak oluşurlar. Karbon ve kükürt kaynaklı serbest radikaller de vardır. Metabolik faaliyetin yanı sıra radyasyon, ilaçlar, çeşitli kimyasallar gibi dış etkenler de serbest radikal oluşumuna sebep olur.

Oksijen içeren herhangi bir serbest radikal Reaktif Oksijen Türleri (ROS) olarak anılır (163). En yaygın reaktif oksijen türleri süperoksit anyon radikali (O_2^-) ve hidroksil radikalidir (OH^-). O_2^- , oksijen molekülüne bir elektron eklendiğinde meydana gelir ve reaktif oksijen türlerinin en az reaktif olanıdır (201). O_2^- meydana geldikten sonra diğer serbest radikallerin oluşumuna sebep olacak ve H_2O oluşumuyla son bulacak bir reaksiyonlar zincirini başlatır. İnsan vücudunda en fazla oluşan serbest radikal O_2^- 'dir. Vücuttaki O_2^- 'nin en belirgin kaynakları olarak fagositik hücreler olan nötrofiller ve makrofajlar öne çıkmaktadır (96).

Antioksidanlar, dokulardaki oksidasyonun zararlı etkilerini önlemekten sorumlu bileşiklerdir. Antioksidanlar etki mekanizmalarına göre 2 sınıfa ayrılırlar:

(1) zincir kırıcı antioksidanlar, Vitamin E ve β -karoten gibi. Zincir kırıcı antioksidanlar serbest radikale elektron vererek stabilizasyon yaparlar. Böylelikle radikal reaktif formunu kaybeder.

(2) Koruyucu antioksidan olan enzimler. Oksidanları, oksidasyon zincirini başlatmadan temizlerler (145).

Anti-oksidanlar, radikal oluşumunu önleme, biyokimyasal reaksiyonları engelleme, oluşan radikalleri ortamdan uzaklaştırma, hasar gören molekülleri onarma ve temizleme gibi radikallere karşı meydana gelmiş mekanizmalardır. Yapılan pek çok çalışma ile timokinonun farklı mekanizmalarla antioksidan etkileri olduğu bildirilmiştir. Örneğin, timokinonun 5-hidroksieikosa-tetraenoik asit gibi 5-lipooksigenaz ürünlerinin oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (63). Bu moleküller, kolon kanseri hücrelerinin yaşayabilmesi için gereklidir. Timokinonun süperoksit radikal anyonu ve hidroksil

radikalleri de dahil olmak üzere çeşitli oksijen türleri üzerinde radikal temizleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (20, 156). Buna ek olarak, timokinon, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi hepatik antioksidan enzimlerde kayda değer bir azalmaya neden olur. Timokinon doksorubisin-indüklü hiperlipidemik nefropatiden muzdarip sıçanlarda, demire bağımlı mikrozomal lipid peroksidasyonunu etkin bir şekilde inhibe edebilmektedir (19).

Pekçok epidemiyolojik çalışmada antioksidanlarca zengin gıdaların tüketilmesiyle kanser riskinin azaltılabildiği gösterilmiştir (36). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda oksidatif stresin farklı kanserlerin meydana gelmesi ve ilerlemesinde etkili olduğunu göstermektedir. Timokinonun karsinogenezdeki potansiyel koruyucu etkisi üzerine çalışmalar yapılmış olup bu çalışmalar sonucunda timokinonun, lipid peroksidasyonu ve hücrel antioksidan çevreyi modüle ederek karsinogenez prosesini inhibe ettiği gösterilmiştir (18, 21).

Hepatotoksisite ve nefrotoksisite, L-alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), lipid peroksidaz (LPD) ve glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutazı içeren antioksidan temizleme enzim sistemi gibi mediyatörlerin seviye ve aktivitelerindeki değişimlerle ilişkilidir. *Nigella Sativa*'nın anti-oksidan etkileri, tert-bütül hidroperoksit, karbon tetraklorür, doksorubisin, gentamisin, metiyonin, potasyum bromat, sisplatin veya *Schistosoma mansoni* enfeksiyonu ile indüklenen farklı karaciğer ve böbrek toksisiteyi in vivo murin (sıçan) modelleri üzerinde araştırılmıştır (62, 126, 168, 176, 243). Söz konusu in vivo çalışmalarda elde edilen bulgular bir araya getirildiğinde *Nigella sativa* yağının, bileşenlerinin anti-oksidan özelliklerine bağlı olarak, anti-toksik aktivitede gösterdiği ortaya çıkmaktadır.

ROS'un aşırı üretimi hücre hasarı ve ölümü için potansiyel bir faktör olarak görülmektedir. Timokinonun ROS üretimini belirgin biçimde inhibe ettiği gösterilmiştir. ROS'un inhibisyonu hücreleri oksidatif stresten korur (30).

2009 yılında Girard-Lalancette ve arkadaşları tarafından reaktif oksijen türlerinin kullanışlı bir indikatörü olan DCFH-DA'yı kullanan hücre bazlı bir test geliştirilmiştir. Söz konusu test anti oksidan özelliklerinde tespitinde oldukça hassastır. Bourgo ve ark. (2010) çörekotu tohumlarının yağı üzerinde yaptıkları çalışmada *Nigella Sativa* yağı ve etken maddesi timokinonun antioksidan özelliklerini söz konusu

test ile ölçmüş ve *Nigella Sativa* yağının temel etken bileşeni olan timokinonun diğer bileşenlerin aksine ex vivo ortamda yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini aynı çalışmada gösterilmiştir. IC50 bir biyokimyasal süreci yarı yarıya inhibe eden madde miktarını belirtmek için kullanılan değerdir. Kuersetin bilinen bir antioksidandır ve bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Test edilen bileşikler	DCFH oksidasyonunun inhibisyonu (IC ₅₀) (µg/mL)
<i>Nigella sativa</i> yağı	1.00 ± 1.00
Timokinon	0.20 ± 0.16
Kuersetin (pozitif kontrol)	0.20 ± 0.20

Şekil 9. *Nigella sativa* yağı ve temel bileşeni timokinonun anti-oksidan aktiviteleri

2.3.2.6. Anti-İnflamatuvar Etkiler

İnflamasyonun akut ve kronik fazlarının devamlılığı ve ilerlemesi bir miktar mediyatör tarafından sağlanır. Bunlar, eikosanoidler, oksidanlar, sitokin, makrofaj ve nötrofil gibi inflamatuvar hücreler tarafından salgılanan litik enzimlerdir. Başta NO olmak üzere reaktif oksijen türleri, doku harabiyetine sebep olan bol miktarda toksik oksidatif reaksiyonlar başlatır. *Nigella Sativa*'nın anti-inflamatuvar aktiviteleri hücrel NO oluşturma kapasitesinin inhibisyonu yolu ile belirlenmiştir. Pekçok dokuda nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığıyla L-argininden sentezlenen NO pekçok inflamatuvar hastalıkla ilişkilendirilir. Timokinon NO üretimini %95 oranında inhibe etmektedir (30). Timokinonun NO üretimi üzerindeki inhibisyon etkisi uyarılabilir ROS mRNA'sı ve protein ekspresyonunu azaltma yoluyla gerçekleşmektedir (65). Reaktif oksijen türlerinin indüklediği inflamasyona ek olarak, inflamasyona neden olan iki enzim vardır; siklooksijenaz (COX) ve lipooksijenaz (LO). Bunlardan COX yolunda prostaglandinler (PG) ve tromboksan sentezlenirken, 5-LO yolunda ise lökotrienler (LT) sentezlenmektedir. Prostaglandinler ve lökotrienler alerji ve inflamasyonların esas mediyatörü olarak işlev göstermektedir. Prostaglandinler, tromboksanlar ve lökotrienlerin tümüne eikosanoidler denir (91). Timokinon, lökositlerdeki araşidonik

asit metabolizmasının hem COX hem de 5-LO yollarını inhibe etmektedir. Bu yüzden COX ve 5-LO yollarının inhibisyonu, Timokinonun antiinflamatuvar etkilerini düzenleyen anahtar bir faktördür (158). Ayrıca timokinonun polimorfonükleer lökositlerden olan 5-lipooksijenazı ve 5-hidroksieikozatetraenoik asit üretimini inhibe ettiği ve timokinonun inflamatuvar hastalıkların iyileştirilmesinde etkili olabileceği bildirilmektedir (63). Timokinonun beyin fosfolipid lipozomlarındaki enzimatik olmayan peroksidasyonu da inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Timokinon ve diğer *Nigella Sativa* yağı bileşenlerinin Deneysel Otoimmün Ensefalomyelit (EAE) ve kolit gibi bazı inflamatuvar hastalıklarda anti-inflamatuvar etkileri olduğu gösterilmiştir. EAE, merkezi sinir sistemini etkileyen otoimmün sinir lifleri üzerindeki miyelin tabakasını yok eden bir hastalıktır. İnsan multiple sklerozunun bir hayvan modelidir. Hastalığın mediyatörü T hücreleridir ve oksidatif stres de hastalığın oluşum ve devamlılığında merkezi rol oynar (40).

2.3.2.7. Sindirim Sistemine Etkisi

Gastrik mukozal lezyonlara karşı Timokinonun ve NS yağının gastroprotektif etkisi olduğu ve bu etkinin kısmen onların radikal süpürücü etkilerinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (127). Benzer şekilde Timokinonun mide mukozasındaki redoks durumunun korunmasıyla ilişkili olarak gastroprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (60).

2.3.2.8. Sinir Sistemine Etkisi

Yapılan çalışmalar, kronik toluene maruz kalan ratlarda timokinon ve NS verilmesinin hipokampusdaki nörodejenerasyonlarda morfolojik düzelme sağladığını ve tedavi için kullanımlarının faydalı olabileceğini bildirmektedir (128). Benzer şekilde nöral bozuklukların patolojilerinde timokinonun nöroprotektif etkili bir bileşik olduğu bildirilmektedir (7). Yine yapılan çalışmalarda Timokinonun serebro vasküler olaylar sonucunda meydana gelen iskemik beyin hasarında, beyin üzerinde koruyucu etkiye sahip olabileceği bildirilmektedir (24, 68, 167).

2.3.2.9. Diğer etkiler

Yapılan çalışmalar, yukarıda belirtilen etkileri dışında Çörek Otu Yağı ve Timokinonun; dolaşım sistemi üzerinde çeşitli ilaçların kardiyotoksik etkilerini azalttığı, endotel disfonksiyonunu düzelttiği (83, 177), solunum sistemi üzerinde akciğer

dokusunu insan mide suyunun zararlı etkilerinden koruduğu (117), allerjenin indüklediği eozinofilik inflamasyonu ve kadeh hücrelerinden mukus üretimini belirgin olarak inhibe ettiği ve benzer bir çalışmada deneysel astımda antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (64). Timokinonun anti mikrobiyal (30, 94, 101), Nefrotoksisiteye (16) ve böbrek taşı oluşumuna karşı koruyucu etkileri olduğu (93), Hepatotoksik ajanlara karşı koruyucu etkisi (5, 9, 178), antihistaminik etkisi (61) ve kemik iyileşmesini arttırıcı (141) etkileri olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ondokuzmayıs Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu onayı (29.09.2014-2014/35) alındıktan sonra başlandı. Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edilen 30 adet, 280±30 gr ağırlığında Wistar albino cinsi, dişi sıçan kullanıldı. Deneyler, Ondokuzmayıs Üniversitesi deney hayvanları araştırma laboratuvarında yapıldı. Tüm denekler 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklusunda, standart laboratuvar koşullarında tutulup ve standart yem ile beslendi.

Deney planında 5 grup belirlendi:

Grup 1	Kontrol grubu			(N= 6)
Grup 2	SAK (+)	Timokinon (-)	3.gün sakrifiye	(N= 6)
Grup 3	SAK (+)	Timokinon (+)	3.gün sakrifiye	(N= 6)
Grup 4	SAK (+)	Timokinon (-)	8.gün sakrifiye	(N= 6)
Grup 5	SAK (+)	Timokinon (+)	8.gün sakrifiye	(N= 6)

3.1. Anestezi

Bir gece önceden aç bırakılan ratlarda genel anestezi; Ketamin (50 mg/kg) (Ketalar, Eczacıbaşı) ve ksilazin (10 mg/kg), (Rompun %2, Bayer) karışımının, intraperitoneal enjeksiyonu ile sağlandı. Anestezi, ratlar ağrıya yanıtız olacak ve deney sırasında spontan solunumlarına devam edecek şekilde ayarlanarak, yeterli anestezi sağlanamadığı durumlarda ek doz uygulandı. Deney sırasında ratların vücut ısısı rektal ısı probu ile kontrol edilerek, 37°C 'de sabit tutuldu. İşlem sırasında 1,5 lt/dk'dan nazal maske ile O₂ verildi.

3.2. Subaraknoid Kanama Oluşturulması

Genel anestezi sağlandıktan sonra, ratların inion ile atlas arası traş edilip, baş 45 derece fleksiyonda olacak şekilde stereotaktik frame'e yerleştirildi. Polivinilpirolidon iyod ile cerrahi alan temizliği yapıldı. Orta hat oksipitoservikal 2 cm lik düz insizyonla cilt, cilt altı geçildi, oksipital adale ve posterior servikal adaleler disseke edilerek atlantookspital membran ortaya kondu (Şekil 10, 11). Ratlara supine pozisyon verilerek sol inguinal bölgeleri polivinilpirolidon iyod ile temizlendi. Cilt insizyonunun ardından

sol femoral arter ortaya kondu (Şekil 12). Femoral arter kateterize edilip 0,1 ml nonheparinize otolog arteriyel kan alınıp tekrar prone pozisyona geçildi.

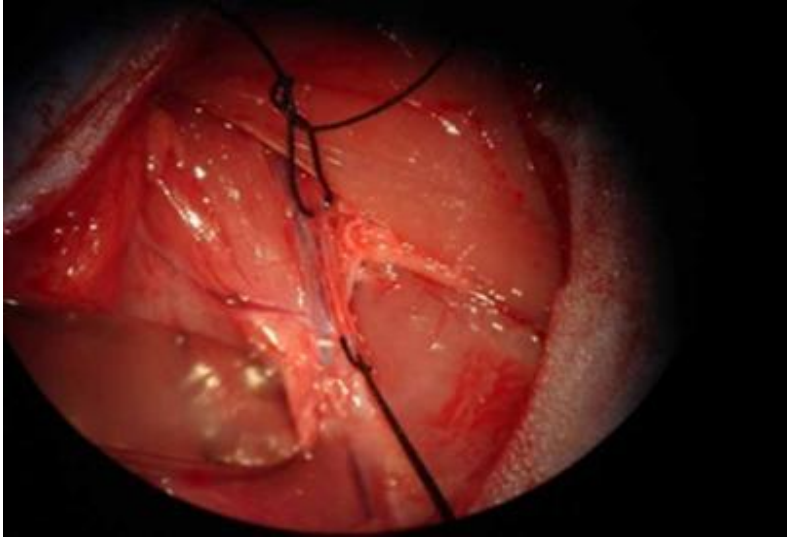
Atlantookspital membrandan 25 gauge iğne ile sisterna magna girildi. 0.1 ml beyin omurilik sıvısı (BOS) boşaltılmasını takiben aynı miktardaki arteriyel kan 30 saniye sürede yavaşça enjekte edildi. Adele dokusu ve cilt sütüre edilerek cerrahi saha kapatıldı. Ratlar intrasisternal kan pıhtı formasyonu oluşması için 15 dakika 45 derece trendelenburg pozisyonunda yatırıldı. Ratlar tamamen uyandıktan sonra kafeslerine alındı. İşlem öncesi bütün deneklere 50 mg/kg sefalosporin intraperitoneal (i.p) profilaktik olarak uygulandı. Deney hayvanları sakrifiye edilene kadar, mevcut cerrahi yaralarına polivinilpirolidon iyod ile günlük pansuman yapıldı.



Şekil 10. Oksipito-servikal orta hat düz insizyon.



Şekil 11. Atlanto-oksipital membran görünümü.



Şekil 12. Rat femoral arteri (54)



Şekil 13. Sistema magnadan BOS boşaltılması.



Şekil 14: Sistema magnaya otolog kan enjeksiyonu.



Şekil 15. Cerrahi işlemi tamamlanarak sütüre edilmiş rat.

3.3. Timokinonun intraperitoneal uygulanması

Subaraknoid kanamanın oluşturulduğu gün 0. gün olarak kabul edildi. İlk doz SAK oluşturulmasından hemen sonra uygulanmak üzere, 24 saatte bir intraperitoneal timokinon Grup 3' teki deneklere 3 kez, Grup 5' teki deneklere 8 kez uygulandı.

3.4. Perfüzyon Fiksasyon İşlemi

Ketamin ve ksilazin ile uygulanan genel anestezisi altında göğüs boşluğu açıldı. Ratların inen aortaları klemple kapatıldı. Sol ventriküle intraket yerleştirildi. Önce 200 ml heparinli serum fizyolojik solüsyonu verildi. Beyin perfüzyonunu takiben kalbe geri dönen sıvı sağ atrium açılarak boşaltıldı. 200 ml % 10' luk formaldehit solüsyonu verilerek vasküler yapıların fiksasyonu sağlandı. Geniş kraniektomi yapılarak beyin ve beyin sapı bütün olarak çıkarıldı. Beyin dokuları stereolojik inceleme için, önceden etiketlenerek; içerisinde % 10' luk formaldehit bulunan kaplara konuldu.



Şekil 16. Kardiyak perfüzyon işlemi yapılan rat

3.5. Tedavi Grupları

-
- **Grup 1: Herhangi bir işlem ve timokinon uygulaması yapılmayan grup (Kontrol grubu).**
 - **Grup 2: Deneysel SAK oluşturulan, timokinon verilmeyen, 3. gün sonunda sakrifiye edilen.**
 - **Grup 3: Deneysel SAK oluşturulan, 3 gün, 24 saat aralıklarla (3 kez) i.p. timokinon uygulanan, 3. gün sonunda sakrifiye edilen.**
 - **Grup 4: Deneysel SAK oluşturulan, timokinon verilmeyen, 8. gün sakrifiye edilen.**
 - **Grup 5: Deneysel SAK oluşturulan, 8 gün boyunca 24 saat aralıklarla (8 kez) i.p. timokinon uygulanıp 8. gün sonunda sakrifiye edilen.**
-

3.6. Histolojik Takip

Tüm gruplardan elde edilen beyin sapı dokuları baziller artere zarar vermeden % 10'luk formol solüsyonu içerisinde saklandı. Histoloji-Embriyoloji bölümüne ulaştırılan dokuların burada ışık mikroskopi takibi yapıldı. Takibi yapılan dokulardan baziller arter yatağında kalacak şekilde örnekler hazırlanarak parafine gömüldü. Parafin bloklar hazır hale geldikten sonra her bloktan mikrotom yardımıyla stereolojinin temel prensiplerinden sistematik rastgele örnekleme prensibine uygun olarak, pilot çalışma sonucu doğrultusunda 10 mikron kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler rutin histolojik takip işlemlerinden sonra Hematoksilen-Eozin (H-E) ile boyandı. Boyanan kesitler üzerinde Cavalier yöntemi kullanılarak damar lümeni ve tunika media tabakasının alanları hesaplandı.

3.6.1. Işık Mikroskopik Takip Protokolü

- %10'luk formaldehit (10 gün)
- Akarsu (20 saat)
- %70'lik alkol (1 saat)
- %80'lik alkol (1 gece)
- %96'lık alkol (1 saat)
- %96'lık alkol (1 saat)
- %100'lük alkol (1 saat)

- %100'lük alkol (1 saat)
- Ksilen (10 dk)
- Ksilen (10 dk)
- Ksilen (10 dk)
- Paraplast (1 saat)
- Paraplast (1 saat)
- Paraplast (1 saat)
- Gömme

3.6.2. Kesit Alma ve Hematoksilen-Eozin Boyama

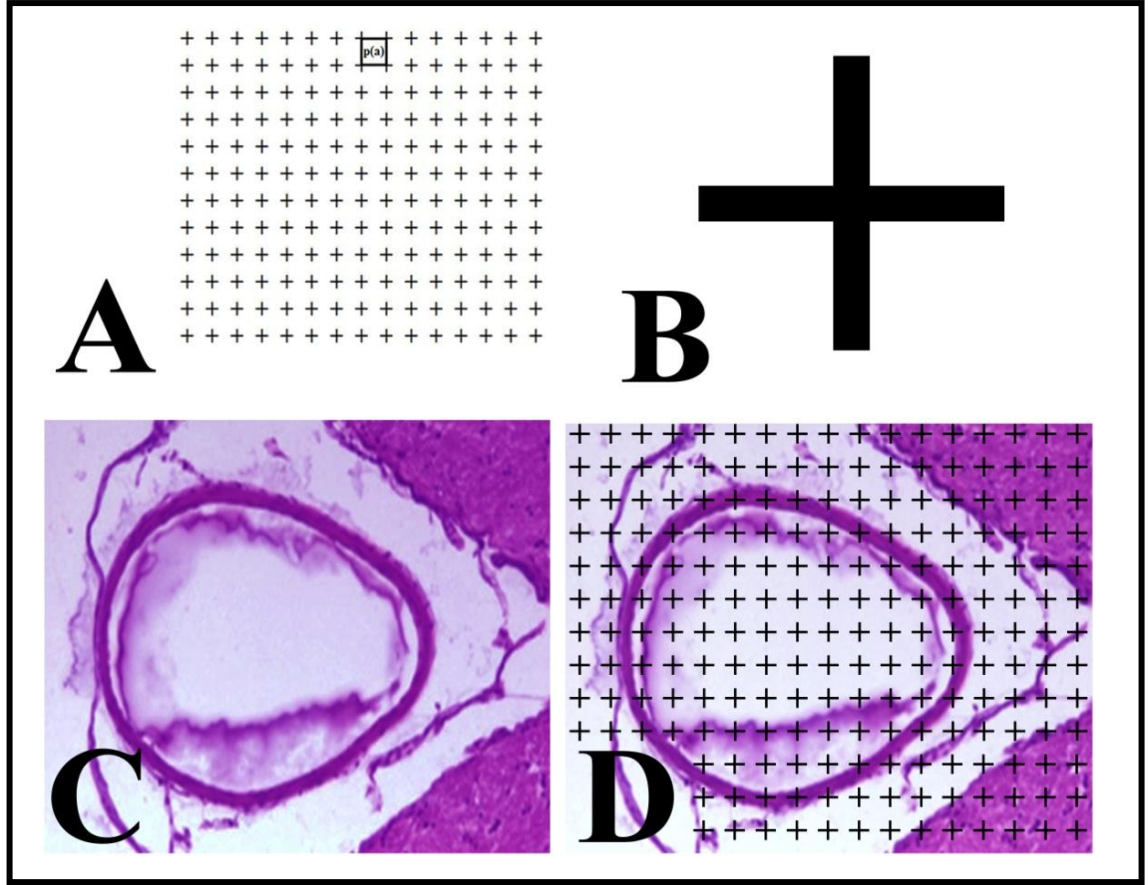
Bloklanan dokulardan mikrotom kullanılarak 10 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesitler jelatinli sıcak su dolu benmari içerisine konularak açılmaları sağlandı ve lamlara alınan kesitler deparafinize edildi.

- Ksilen (10 dk)
- Ksilen (10 dk)
- Ksilen (10 dk)
- % 100'lük alkol (6 dk)
- % 96'luk alkol (6 dk)
- % 80'lik alkol (6 dk)
- % 70'lik alkol (6 dk)
- Akar su
- Hematoksilen boyası (1 dk)
- Asit-alkol karışımı (daldır-çıkart)
- Eozin solüsyonu (10 sn)
- Akar su (5 dk)
- % 80'lik alkol (daldır-çıkart)
- % 96'lik alkol (daldır-çıkart)
- % 96'lik alkol (daldır-çıkart)
- % 100'lük alkol (10 dk)
- % 100'lük alkol (10 dk)

- Ksilen (50 dk)
- Ksilen (50 dk)
- Entellan ile kapama

3.6.3. Stereolojik Çalışma

Yapılan pilot çalışmayla alınacak kesit örnekleme aralığı $\frac{1}{4}$ olarak belirlendi ve kesitler 10 μm olarak alındı. Kesitlerin stereoloji çalışma istasyonunda (Stereoinvestigator 9,0 MicroBrieldfield Colchester; USA) Cavalier metodu kullanılarak alan ölçümleri yapıldı. Bu ölçümler için kesit profiline hesaplandığı alana göre hazırlanmış noktalı alan ölçüm cetveli kullanıldı. Ölçüm cetvelindeki noktalar arası uzaklık yapılan ön çalışmaya göre 5 μm x 5 μm olarak belirlendi. Kesitler üzerinde hesaplamalar yapılırken seri kesit görüntülerindeki ilgili alanlar üzerine noktalı ölçüm cetveli rastgele olarak yerleştirildi ve ilgilenilen yapıyla kesişen tüm noktalar sayıldı. Baziller arter lümeni ve tunika media tabakasına ait alanlar ölçüm yapılması için sınırlandırıldı. İki farklı alan için iki farklı işaretleyici kullanıldı ve alan hesaplaması yapıldı (Şekil 17).



Şekil 17. Cavalier prensibinin uygulanmasını gösteren şekil.

Noktalı alan ölçüm cetvelinin nokta yoğunluğu, uygun Hata katsayısı = coefficient of error (HK)'a göre belirlenmiş seri ışık mikroskopik görüntü sayısı göz önüne alınarak saptandı (87, 159). Pilot çalışmada hesaplanan HK'ya uygun şekilde tespit edilen nokta yoğunluğuna göre tüm gruplarda sayım yapıldı. Elde edilen sayım sonuçları aşağıdaki formülde ilgili alanlara yerleştirilerek adı geçen parametrelerin alanları hesaplandı (86).

$$\text{Alan} = a/p (\mu\text{m} \times \mu\text{m}) \times (\Sigma P) \mu\text{m}^2$$

a/p s iki nokta arasındaki alan

ΣP s İlgilenilen yapıyla kesişen toplam nokta sayısı

3.7. İstatistiksel Çalışma

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 21.0 (windows) programı kullanıldı. Analiz öncesi normallik testi yapıldı. Normallik testi sonucu verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi. Veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ile analiz edildi. Çok yönlü karşılaştırmada ise Tukey testi kullanıldı. Tüm grupların karşılaştırılmasında 0,05 anlamlılık derecesi (p) baz alındı.

4. BULGULAR

4.1. Makroskopik bulgular

Çalışmaya toplam 30 adet Wistar albino cinsi dişi rat dahil edildi. Deneklere ait beyin dokusunun makroskopik incelenmesinde uygun subaraknoid kanama modelinin oluştuğu gözlemlendi.



Şekil 18. Kontrol grubuna ait beyin ve beyin sapının makroskopik görünümü.



Şekil 19. SAK sonrası beyin ve beyin sapının makroskopik görünümü.

4.2. Stereolojik bulgular

Deneklerden elde edilen 10 µm kalınlığındaki baziller arter kesitleri H-E ile boyanıp stereoloji çalışma istasyonunda (Stereoinvestigator 9,0 MicroBrieldfield Colchester SA) Cavalier metodu kullanılarak lümen ve tunica media alan ölçümleri yapıldı.

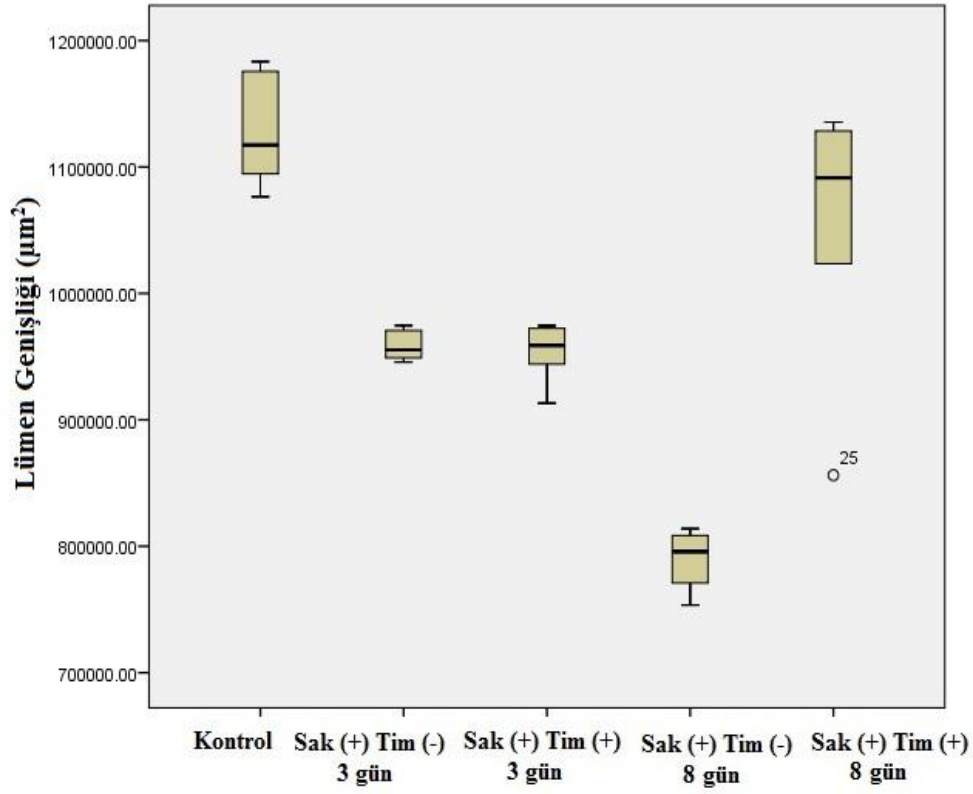
Kontrol grubu ile SAK oluşturulup 3 gün takip edilen grup 2'nin ortalama damar lümen alanları sırasıyla 1127457,00 µm ile 958428,83 µm olarak hesaplandı (Tablo 6). Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). (Tablo 6, Şekil 20).

Kontrol grubu ile SAK oluşturulup 3 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 3'ün ortalama damar lümen alanları sırasıyla 1127457,00 µm ile 953677,33 µm olarak hesaplandı (Tablo 6). Bu iki grubun arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0,05$) (Tablo 6, Şekil 20).

Kontrol grubu ile SAK oluşturulup 8 gün takip edilen grup 4'ün ortalama damar lümen alanları sırasıyla 1127457,00 µm ile 789724,66 µm olarak hesaplandı (Tablo 6). Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 6, Şekil 20).

Kontrol grubu ile SAK oluşturulup 8 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 5'in ortalama damar lümen alanları sırasıyla 1127457,00 µm ile 1054393,66 µm olarak hesaplandı (Tablo 6). Bu iki grubun arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 6, Şekil 20).

Ayrıca; SAK oluşturulup 8 gün takip edilen grup 4 ile SAK oluşturulup 8 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 5'in ortalama damar lümen alanları sırasıyla 789724,66 µm ile 1054393,66 µm olarak hesaplandı (Tablo 6). Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 6, Şekil 20).



Şekil 20. Grupların baziller arter lümen alanlarının istatistiksel analizi.

Tablo 6: Grupların baziller arter lümen alanları.

GRUPLAR	HAYVAN		STANDART	
	SAYISI	ORTALAMA		
	(N)		HATA	
Grup 1	Kontrol	6	1127457,00	17928,425
Grup 2	SAK (+) Tim (-) 3 gün	6	958428,83	4947,548
Grup 3	SAK (+) Tim (+) 3 gün	6	953677,33	9331,985
Grup 4	SAK (+) Tim (-) 8 gün	6	789724,66	9979,982
Grup 5	SAK (+) Tim (+) 8 gün	6	1054393,66	42859,808
TOPLAM		30	976736,30	22959,545

Kontrol grubu ile SAK oluşturulup 3 gün takip edilen grup 2'nin ortalama tunica media kalınlıkları sırasıyla 287996,50 µm ile 275713,83 µm olarak hesaplandı (Tablo 7). Bu iki grup arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0,05$, Şekil 21).

Kontrol grubu ile SAK oluşturulup 3 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 3'ün ortalama tunica media kalınlığı sırasıyla 287996,50 µm ile 280630,33 µm olarak hesaplandı (Tablo 7). Bu iki grup arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p>0,05$, Şekil 21).

Kontrol grubu ile SAK oluşturulup 8 gün takip edilen grup 4'ün ortalama tunica media kalınlığı sırasıyla 287996,50 µm ile 276874,83 µm olarak hesaplandı (Tablo 7). Bu iki grup arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0,05$, Şekil 21).

Kontrol grubu ile SAK oluşturulup 8 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 5'in ortalama tunica media kalınlıkları sırasıyla 287996,50 µm ile 278121,83 µm olarak hesaplandı (Tablo 7). Bu iki grup arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$, Şekil 21).

SAK oluşturulup 3 gün takip edilen grup 2 ile SAK oluşturulup 3 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 3'ün ortalama tunica media kalınlıkları sırasıyla 275713,83 µm ile 280630,33 µm olarak hesaplandı (Tablo 7). Bu iki grup arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0,05$, Şekil 21).

SAK oluşturulup 3 gün takip edilen grup 2 ile SAK oluşturulup 8 gün takip edilen grup 4'ün ortalama tunica media kalınlıkları sırasıyla 275713,83 µm ile 276874,83 µm olarak hesaplandı (Tablo 7). Bu iki grup arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p>0,05$, Şekil 21).

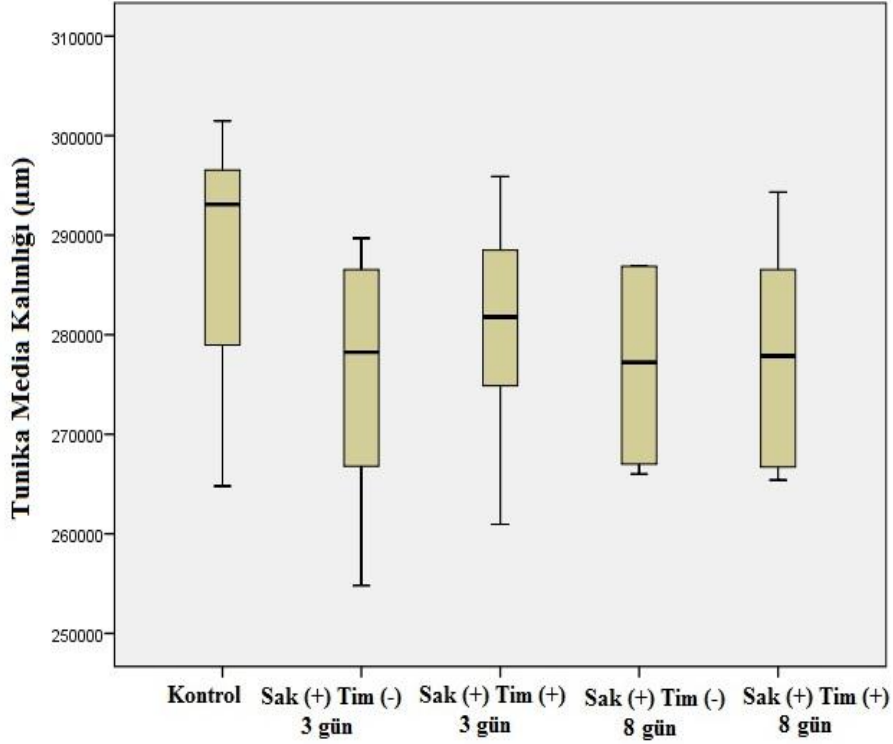
SAK oluşturulup 3 gün takip edilen grup 2 ile SAK oluşturulup 8 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 5'in ortalama tunica media kalınlıkları sırasıyla 275713,83 µm ile 278121,83 µm olarak hesaplandı (Tablo 7). Bu iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$, Şekil 21).

SAK oluşturulup 3 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 3 ile SAK oluşturulup 8 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 5'in ortalama tunica media kalınlıkları

sırasıyla 280630,33 μm ile 278121,83 μm olarak hesaplandı (Tablo 7). Bu iki grup arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0,05$, Şekil 21).

SAK oluşturulup 8 gün takip edilen grup 4 ile SAK oluşturulup 8 gün süre ile günde bir kez 10 mg intraperitoneal timokinon uygulanan grup 5'in ortalama tunica media kalınlıkları sırasıyla 276874,83 μm ile 278121,83 μm olarak hesaplandı (Tablo 7). Bu iki grup arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p>0,05$, Şekil 21).

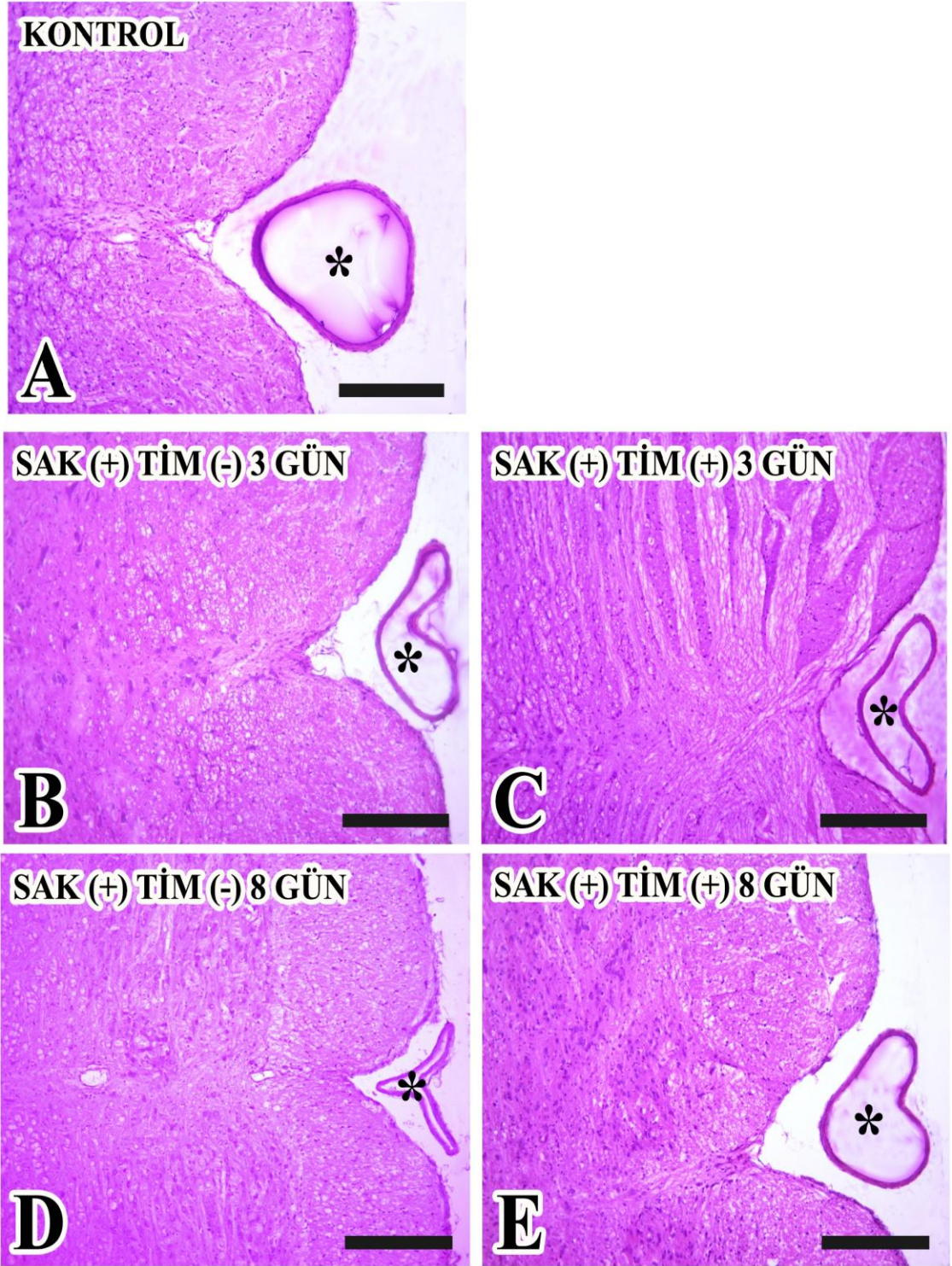
Tüm bu bulgular ışığında; çalışma grupları tunica media kalınlığı bakımından birbirleriyle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.



Şekil 21. Grupların baziller arter tunica media kalınlıklarını gösteren grafik.

Tablo 7. Grupların baziller arter tunica media alanları.

GRUPLAR		HAYVAN SAYISI (N)	ORTALAMA	STANDART HATA
Grup 1	Kontrol	6	287996,50	5561,014
Grup 2	SAK (+) Tim (-) 3 gün	6	275713,83	5314,400
Grup 3	SAK (+) Tim (+) 3 gün	6	280630,33	5045,867
Grup 4	SAK (+) Tim (-) 8 gün	6	276874,83	3750,123
Grup 5	SAK (+) Tim (+) 8 gün	6	278121,83	4589,059
TOPLAM		30	279867,47	2188,805



Şekil 22: Grupların baziller arterlerin histolojik görüntüleri. Yıldız işareti baziller arteri göstermektedir. Barlar 10'luk büyütmede 250 μm 'yi göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Subaraknoid kanama sonrası gelişen fokal serebral iskeminin başlıca nedeni serebral vazospazmdir. Klinik olarak diğer iskemik inmelerden farkı, ortaya çıkmasının öngörülebilirliği, önlenebilirliği ve teorik olarak tedavi edilebilirliğidir. SAK sonrası erken dönemde anevrizmaya yönelik cerrahi tedavinin uygulanması, ikincil kanamayı engellediği gibi vazospazma neden olduğu düşünülen sisternal kanın temizlenmesinde sağlar ancak bu durum yinede, vasospazmı en korkulan morbidite ve mortalite nedeni olmaktan uzaklaştıramamıştır (28, 47, 58, 72, 76, 173, 189).

Serebral vazospazmın, oluşum sebepleri halen net olarak açıklanamamakla birlikte multifaktöryel olduğu kabul edilmektedir. Gelişimindeki en önemli faktörün subaraknoidal mesafedeki kan pıhtısı miktarı olduğu artık kabul edilen bir gerçektir. Kanama nedeniyle intrakranial basınç artışı, serebral kan akımı ve serebral perfüzyon basıncında düşme meydana gelir. Bunun neticesinde serebral vasküler dokular ve nöronlarda oksijen desteğinde azalma, bununla beraber serebral arterlerin beslenmesinin sağlandığı rete vatorium denilen tüm damar tabakasına penetre olan delikçiklerin kan pıhtısı ile kapanması gerçekleşir. Meydana gelen bu olaylar, vasküler ve nöronal dokuların iskemik sürece girmelerinde ilk basamaktır (195).

Ortama bulunan kandaki eritrositlerin parçalanması ile açığa çıkan oksihemoglobinin, methemoglobine dönüşümü sırasında serbest radikal oluşumu gözlenir. Serbest radikaller vasküler ve nöronal yapılarda lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Lipid peroksidasyonu neticesinde oluşan lipid radikalleri, serbest radikaller ve oksihemoglobin hücre membran yapısının bozulmasına böylece hücre membran potansiyelinin oluşamamasına ve hücre içi kalsiyum birikimi ile hücre ölümüne neden olur. Vasküler endotel hücre hasarı ve hücre ölümleri sonrası endoteliumdan üretilen NO miktarında azalma olur. Endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesinde ve nitrik oksit (NO) düzeyinde azalma, NO'in, nitrit ve nitrate dönüşümü, serbest oksijen radikal düzeylerinde artma ve bunun sonucunda membran fosfolipidlerinin oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu, vasküler endotel hücre harabiyeti (ölüm vasküler permeabilitenin artmasına, endotelial hücrelerin sağlam olduğu zamanda var olan endoteliuma bağımlı vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon dengesinin bozulmasına neden olur) ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunun indüklenmesi, vasküler hücre membran harabiyeti

neticesinde intrasellüler kalsiyum birikimi gibi birçok içiçe geçmiş reaksiyonlar, serebral damarlarda vazokonstriksiyon ve spazm gelişimiyle beraber serebral kan akımının, daha da azalmasına neden olarak iskemik süreci hızlandırır. İskemi gelişmesi dokularda apoptotik ve nekrotik hücre ölümüne neden olarak morbidite ve mortalitenin artmasına sebep olur (56, 118). Tüm bu sayılanlar vazospazmın altında yatan ana nedenler olarak kabul edilmektedir (11, 53, 95).

SAK sonrası gelişen birçok reaksiyon neticesinde oluşan vazospazm sürecinde dokuların SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi savunma mekanizmaları yeterince fonksiyon yapamaz hale gelir ve vazospazmın gelişiminde en önemli faktörlerden biri olan serbest radikaller etkisiz hale getirilememiş olur. Böylece dokular oksidatif strese maruz kalırlar. Oksidatif stres hücre metabolizmasında fizyolojik ve biyokimyasal bir takım bozukluklara neden olur (100, 187, 203, 237).

Vazospazmın tedavisindeki zorluk, mevcut tedavilerin birden çok faktörün hepsine karşı etkili olamamasından ve ortaya çıkardığı zararlı etkilerden kaynaklanmaktadır (56, 118).

SAK geçiren insanlardaki asıl sorun kanama sonrası özellikle 3-14. günler arasında gelişen kalıcı vazospazmın neden olduğu, semptomatik beyin iskemisidir. Yapılan birçok çalışmaya rağmen etkin bir tedavi ve önleme yöntemi bulunamamıştır.

SAK sonrası gelişen vazospazm konusunda deneysel araştırmalar tüm hızıyla devam etmektedir, ancak bu araştırmalarda kullanılabilecek tam anlamıyla insan benzeri bir denek yoktur ve bu amaçla en çok sıçan, fare, köpek ve tavşan gibi hayvan modelleri kullanılmaktadır. Vazospazmın patogenezi ve tedavisi konusundaki en ideal çalışma yöntemi, insan serebral arterlerinin kullanılmasıdır. Ancak bu mümkün olmadığından hayvanlar üzerinde bazı deney modelleri geliştirilmiştir. Hayvanlarda yapılan in vitro çalışmalarda incelenecek arter, dekapitasyon işleminden sonra derhal çıkarılmalı ve formolde tespit edilmelidir. Arter, tespitten ardından otolog kanda ortadan kaldırılacak şekilde çeşitli testlere tabi tutulmalıdır. Ancak bu çalışmaların en önemli kısıtlaması arterleri doğal çevrelerinden ayırmayı gerektirdiğinden elde edilecek bilgi de sınırlı olacaktır (172).

Deney hayvanlarında subaraknoid kanama oluşturabilmek için birçok yöntem geliştirilip, kullanılmıştır. Günümüzde bu amaçla bilinen ve en çok

uygulanılanı, sisterna mangaya, başka bir bölgeden alınan kanın enjekte edilmesiyle kanın arter etrafında toplanmasını sağlayan yöntemdir (172). Biz de çalışmamızda en çok tercih edilen ve günümüzde en çok kullanılan yöntem olan sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile subaraknoid kanama modelini uyguladık.

Deneysel SAK modellerinde kullanılan hayvanlarda, subaraknoid boşlukta bulunan intrakraniyel arterlerde periferik sistem arterlerinden farklı olarak adventisya tabakaları iyi gelişmemiştir ve vazovazorumları da bulunmamaktadır. Adventisyadan BOS yoluyla beslenen bu arterlerin kanamayla birlikte porlarına eritrosit infiltrasyonu görülmektedir. Bu nedenle insanlardaki SAK ve vazospazma yakın bir durum sağlanabilmektedir. Ayrıca hayvanlarda kollateral dolaşım iyi geliştiği için vazospazma bağlı nörolojik defisit nadir olarak ortaya çıkar. Baziller arteri kulanmanın bir diğer avantajı da posterior sirkülasyonun iyi gelişmiş olmasıdır (172). Çalışmamızda bu nedenlerden dolayı timokinonun vazospazma olan etkisini araştırmak amacıyla ratlarda deneysel SAK modelini kullandık.

Deneysel vazospazmın değerlendirilmesinde anjiyografi, TCD, histolojik ve stereolojik ölçümler yaygın olarak kullanılan yöntemlerdendir (245), Biz çalışmamızda, güvenilir ve kantitatif sonuçlar elde etmemizi sağlayan bir yöntem olması nedeniyle, stereolojik ölçümlerle değerlendirme yapmayı tercih ettik.

Serebral vazospazm önlemek veya mevcut vazospazmı tedavi etmek amacıyla hastalarda hiperdinamik '3H' tedavisi uygulanır. Bu tedavi hipertansiyon, hemodilüsyon ve hipervolemiyi kapsar. Kan basıncını yükseltmek amacıyla fenilefrin, dopamin norepinefrin kullanılabilir. Hipervolemik tedavide kristaloid ve kolloid (% 5 albumin) solüsyonları verilir (247). Hemodilüsyon kan vizkozitesi ve periferik direnci azaltıp mikrodolaşımı iyileştirir. Bu amaçla mannitol kullanılabilir. 3H tedavisinden sonra gündeme kalsiyum kanal blokerleri gelmiş fakat bu ilaçların yaygın kullanımı etkilenen arterlerde vazodilatasyona yol açmamaları ve hipotansif etkileri nedeniyle sınırlanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan ve çörekotu (*Nigella sativa*) uçucu yağının temel biyoaktif bileşeni olan timokinon (C₁₀H₁₀O₂; 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon) yapısında olup (molekül ağırlığı 164,2) 2000 yılı aşkın süredir antioksidan, anti-

inflatuar ve antineoplastik ilaç olarak kullanılmaktadır (109, 110, 184). Antioksidanlar, radikal oluşumunu önleme, tetikleri ve biyokimyasal reaksiyonları engelleme, oluşan radikalleri ortamdan uzaklaştırma, hasar gören molekülleri onarma ve temizleme gibi radikallere karşı meydana gelmiş mekanizmalardır. Yapılan pekçok çalışma ile timokinonun farklı mekanizmalarla antioksidan etkileri olduğu bildirilmiştir (63). Timokinonun süperoksit radikal anyonu ve hidroksil radikalleri de dahil olmak üzere çeşitli oksijen türleri üzerinde radikal temizleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (20, 144, 157). Ayrıca Timokinonun antioksidan etkileri ve serbest radikal süpürücü etkileri ile iskemiye bağlı oluşan serebral nöronal hasarda, serebral vazospazmda, koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (1, 68).

Sasaki ve ark. (1981) tarafından yapılan çalışmada, lipid peroksidasyonunun ve endotel dejenerasyonunun SAK sonrası oluşan kronik vazospazmda önemli rol oynadığını bildirilmiştir (209).

Silachev ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada iskemik nöronal hasar sonrası ratlarda bitkisel kaynaklı antioksidanların (Timokinon) özellikle düşük dozlarda uzun süreli kullanımlarının nöronal hasarı azalttığını ve iskemik inme tedavilerinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir (220).

Erşahin ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada timokinonun SAK sonrası oluşan oksidatif strese beyin üzerinde koruyucu etkiye sahip olabileceği ve terapötik kullanımının olabileceğini göstermiştir (68).

Badary ve ark. yaptıkları çalışmada timokinonun, serbest olan radikalleri ortamdan uzaklaştırdığını ve güçlü bir süperoksit anyon süpürücüsü olarak hareket ettiğini ve bu özellikleriyle etkili bir antioksidan olduğunu belirtmiştir (20).

Ghada (2010) rat pulmoner arteri üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada, fenilefrin ve serotonin ile daha önceden oluşturulan vazospazmın, timokinon ile engellendiğini göstermiştir. Bu durumda timokinonun, K⁺-ATPaz aktivitesini arttırdığı ve bunun sonucunda da serotonin, α 1 ve endotelin reseptörlerini rekabetsiz engelleyerek aracılık ettiği tespit edilmiştir (83). Çalışmamızda SAK sonrası 8 gün boyunca timokinon uygulanan grupta Kontrol grubu ile baziler arter lümen alanları kıyaslandığında anlamlı fark bulunmamış olması (p>0,05) Ghada ve ark. (2010) nın ortaya koyduğu vazokonstrüksiyonu inhibe edici etkiyi doğrulamaktadır. Ancak

yaptığımız çalışmada uygulanan baziler arter ile Ghada ve ark. (2010) nın çalıştığı pulmoner arterin histolojik yapısının örtüşmüyor olması göz ardı edilmemelidir. Bu amaçla basiler arterde oluşturulan SAK modelinde yeni biyokimyasal, fizyolojik ve elektron mikroskobik analizleri içeren çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

İsmail ve ark. (2010) tarafından hiperkolesterolemik ratlar üzerinde yaptıkları bir araştırmada timokinonun, antioksidasyon reaksiyonlarında önemli görevleri olan SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi önemli enzimlerin plazma düzeylerini arttırdığını ortaya koymuştur. Bu enzimler vazospazm etyolojisinde en önemli faktörlerden biri olan serbest oksijen radikallerinin etkisizleştirilmesinde görev alır (116).

Çalışmamızda Timokinonun, SAK sonrasında ortaya çıkan ve multifaktöryel patogeneze sahip olduğu kabul edilen serebral vazospazmı önleyici etkisini inceledik.

SAK yapılarak 8 gün intraperitoneal timokinon uygulaması yapılan Grup 5'in Grup1 ve Grup 4 ile karşılaştırılmasında baziller arter lümen alanı ölçümlerinde vazodilatasyon lehine anlamlı istatistiksel bir fark tespit edilirken ($p<0,05$), tunika media tabakalarının kalınlıkları arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Çalışmamızda timokinonun, bir haftadan uzun süreli kullanımında vazodilatasyon yapıcı etkisini gözlemledik. Timokinonun vazodilatasyon yapıcı etkisine ek olarak anti-oksidan, antiinflamatuvar ve nöronal hasar azaltıcı etkileri düşünüldüğünde, serebral vazospazmın önlenmesinde ve sonrasında gelişebilecek serebral iskemik nöronal hasarlanmada kullanımı düşünülmelidir. Bu konu üzerinde daha fazla deneysel hayvan modeli çalışmaları planlanmalıdır.

6. SONUÇ

Deneysel çalışmamızdan elde ettiğimiz verileri gözden geçirdiğimizde SAK sonrası vazospazm oluşmasında oksidasyon, inflamasyon, lipid peroksidasyonu, vasküler dokuda ve nöronal hücrelerdeki apoptoz, vasküler düz kas hücre proliferasyonu ve nekrozis gibi birbiriyle bağlantılı bir çok patolojik olayın yer aldığı böylesine kompleks multifaktöriyel bir patolojik süreç sonucunda gelişen vazospazmın tedavisinde deneysel olarak kullandığımız timokinonun, deneysel subaraknoid kanamaya bağlı gelişen baziller arter vazospazmında tekrarlayan dozlarda vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçla timokinon SAK sonrası oluşan vazospazm tedavisinde yer alabilecek ümit verici bir bitkisel ajan olup bu konuda daha fazla deneysel hayvan çalışmalarına ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Abdulkhakeem A.Al-Majed, Fadhel A, Al-Omar, Mahmoud N.Nagi. Neuroprotective effects of Thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology*. Volume 543, issues 1-3, 14. Pages 40-47, 2006.
2. Agustinus S: Roles of nitric oxide and endothelin-1 in delayed cerebral vasospasm produced by aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine* 1: 110-116, 2004.
3. Ahmed WA, Hassan SA, Galeb FM, El-Taweel MA, Abu-Bedair FA. The in vitro promising therapeutic activity of thymoquinone on hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line. *Global Veterinaria*, 2 (5): 233-241, 2008.
4. Al-Gaby AM. Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with *Nigella sativa* (black cumin) cake protein. *Nahrung*; 42: 290-4, 1998.
5. Al-Gharably N, Badary O, Nagi MN, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Rikabi AC, Al-Bekairi AM. Protective effect of thymoquinone against carbontetrachloride induced hepatotoxicity in mice. *Res Commun Pharmacol Toxicol*, 2: 41-50, 1997.
6. Al-Ghamdi MS. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *J Ethnopharmacol*;76: 45-8, 2001.
7. Al-Majed AA, Al-Omar FA, Nagi MN. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology*, 543: 40-47, 2006.
8. Al-Naqeeq G, Ismail M, Yazan LS. Effects of thymoquinone rich fraction and thymoquinone on plasma lipoprotein levels and hepatic low density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase genes expression. *Journal of Functional Foods*, 1(3): 298-303, 2009.
9. Alsaif MA. Effect of thymoquinone on ethanol-induced hepatotoxicity in Wistar rats. *J of Med Sci*, 7(7): 1164-1170, 2007.

11. 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.
12. Alberico RA, Patel M, Casey S, Jacobs B, Maguire W, Decker R: Evaluation of the circle of Willis with three-dimensional CT angiography in patients with suspected intracranial aneurysms. *AJNR* 16: 1571-1580, 1995.
13. Allcock JM, Drake CG: Ruptured intracranial aneurysms-the role of arterial spasm. *J Neurosurg* 22: 21-29, 1965.
14. Anderson GB, Ashforth R, Steinke DE, Findlay JM: CT angiography for the detection of cerebral vasospasm in patients with acute subarachnoid hemorrhage. *AJNR AmJ Neuroradiol.* Jun-Jul; 21 (6): 1011-5, 2000.
15. Aoki K, Zubkov AY, Ross IB, Zhang JH. Therapeutic effect of caspase inhibitors in the prevention of apoptosis and reversal of chronic cerebral vasospasm. *Journal of Clinic Neuroscience* 9 (6): 672-677, 2002.
16. Badary OA, Nagi MN, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Sohaibiani MO, Al-Bekairi AM. Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity. *Can J Physiol Pharmacol* 75: 1356-61, 1997.
17. Badary OA, Al-Shabanah OA, Nagi MN, Al-Bekairi AM, Elmazar MMA. Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice. *Drug Development Research*, 44: 56-61, 1998.
18. Badary OA. Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 67: 135-142, 1999.
19. Badary OA, Abdelnaim AB, Abdel-Wahap MH, Farid MA, Hamada FMA. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143: 219-226, 2000.
20. Badary OA, Taha RA, Gamal el-Din AM, Abdel-Wahab MH. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chem Toxicol* 26: 87-98, 2003.

21. Badary OA, Abd-Ellah, MF, El-Mahdy, MA, Salama, SA, Hamada, FM. Anticlastogenic activity of thymoquinone against benzo(a)pyrene in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 88-92, 2007.
22. Banerjee S, Kaseb AO, Wang Z, Kong D, Mohammad M, Padhye S, Sarkar FH, Mohammad RM. Antitumor activity of gemcitabine and oxaliplatin is augmented by thymoquinone in pancreatic cancer. *Cancer Research*. 69(13): 575-83, 2009.
23. Barker FG, Heros RC: Clinical aspects of vasospasm. *Neurosurg Clin N Am*. Apr;1(2): 277-88, 1990.
24. Bassem Y. Sheikh, Ahmed M. Mohamadin. Thymoquinone a potential therapy for cerebral oxidative stress, issn: 2186-8476, issn: 2186-8468 Print Vol. 1. No. 2. June 2012.
25. 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 (9):1930-5, 1998.
26. Bejjani GK, Bank WO, Olan WJ, Sekhar L: The efficacy and safety of angioplasty for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 42 (5): 979-982, 1998.
27. Bevan JA, Bevan RD, Frazee JG: Functional arterial changes in chronic cerebrovasospasm in monkeys: an invitro assessment of the contribution to arterial narrowing. *Stroke* 18 (2): 472-481, 1987.
28. Bederson JB, Levy AL, Ding WH, Kahn R, DiPerna CA, Jenkins AL, Vallabhajosyula P: Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. Feb; 42(2): 352-60, 1998.
29. Biller J, Godersky JC, Adams HPJr: Management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 19 (10): 1300-1305, 1988.
30. Bourgou S, Pichette A, Marzouk B, Legault J. Bioactivities of black cummin essential oil and its main terpenes from Tunisia. *South African Journal of Botany*; 76: 210-216, 2010.
31. Bowman G, Bonneau RH, Chinchilli VM, Tracey KJ, Cockroft KM. A novel inhibitor of inflammatory cytokine production(CNI-1493) reduces rodent post-hemorrhagic vasospasm. *Neurocrit Care*. 5 (3): 222-9, 2006.

32. Brown E, Prager J, Lee HY, Ramsey RG: CNS complication of cocaine abuse: prevalence, pathophysiology, and neuroradiology. *AJR Am J Roentgenol* 159 (1): 137-147, 1992.
33. Bromberg JE, Rinkel GJ, Algra A, Greebe P, vanDuyn CM, Hasan D, Limburg M, ter Berg H.W, Wijdicks EF, vanGijn J: Subarachnoid haemorrhage in first and second degree relatives of patients with subarachnoid haemorrhage. *BMJ* 311(7000): 288-289, 1995.
34. Burnett M, Danish S: Pathology and pathophysiology of aneurysmal subarachnoid hemorrhage, in P. Leroux, W. Winn & D. Newell (Eds.): *Management of cerebral aneurysms*. Philadelphia, PA, Elsevier, 2004, pp 127-137.
35. Burtis M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*; 14: 323 –328, 2000.
36. Carmia borec *Dietary Antioxidants and Human Cancer Integrative Cancer Therapies* 3: 333, 2004.
37. Cawley SM, Sawyer CL, Brunelle KF, Vliet A, Dostmann WR. Nitric oxide–evoked transient kinetics of cyclic GMP in vascular smooth muscle cells. *Cellular Signalling*. 1-11, 2006.
38. Cemil Özgül, Mustafa Nazıroğlu *Nörolojik hücrelerde TRPM2 katyon kanallarının moleküler mekanizmalardaki rolleri*. *Journal of Experimental and Clinical Medicine Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi. J. Exp. Clin. Med.*, 27: 144-151, 2010.
39. Charpentier C, Audibert G, Guillemin F, Civit T, Ducrocq X, Bracard S, Hepner H, Picard L, Laxenaire MC: Multivariate analysis of predictors of cerebral vasospasm occurrence after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 30(7): 1402-1408, 1999.
40. Chakrabarty, M. Nagata, H. Yasuda, L. Wen, M. Nakayama, S. A. Chowdhury, K. Yamada, Z. Jin, R. Kotani, H. Moriyama, O. Shimozato, H. Yagita & K. Yokono. Critical roles of CD30/CD30L interactions in murine autoimmune diabetes. *Clin Exp Immunol*. 133: 318–325, 2003.
41. Child P, Kuksis A. Critical role of ring structure in the differential uptake of cholesterol and plant sterols by membrane preparations in vitro. *J Lipid Res*. 24(9): 1196-209, 1983.

42. Cirak B, Kiymaz N, Ari HH, Ugras S. The effects of endothelin antagonist BQ-610 on cerebral vascular wall following experimental subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm. *Clin Auton Res.* 14 (3): 197-201, 63, 2004.
43. Clatterbuck RE, Oshiro EM, Hoffman PA, Dietsch GN, Pardoll DM, Tamargo RJ. Inhibition of vasospasm with lymphocyte function-associated antigen-1 monoclonal antibody in a femoral artery model in rats. *J Neurosurg* 97 (3): 676-82, 2002.
44. Clatterbuck RE, Gailloud P, Ogata L, Gebremariam A, Dietsch GN, Murphy KJ, Tamargo RJ. Prevention of cerebral vasospasm by a humanized anti-CD11/CD18 monoclonal antibody administered after experimental subarachnoid hemorrhage in nonhuman primates. *J Neurosurg.* 99 (2): 376-82, 2003.
45. Cloft HJ, Joseph GJ, Dion JE: Risk of cerebral angiography in patients with subarachnoid hemorrhage, cerebral aneurysm, and arteriovenous malformation: a meta-analysis. *Stroke* 30: 317-320, 1999.
46. Clouston JE, Numaguchi Y, Zoarski GH, Aldrich EF, Simard JM, Zitnay KM: Intraarterial papaverine infusion for cerebral vasospasm after subarachnoid haemorrhage. *AJNR Am J Neuroradiol* 16(1): 27-38, 1995.
47. Cook NS: The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential. *Trends Pharmacol Sci.* Jan;9(1):21-8, 1988.
48. Cooper GM, Hausman RE. *Hücre Moleküler Yaklaşım* (M. Sakızlı ve N. Atabey, Çev). İzmir Tıp Kitabevi. 3. Baskı, 2006.
49. De Braekeleer M, Perusse L, Cantin L, Bouchard JM, Mathieu J: A study of inbreeding and kinship in intracranial aneurysms in the Saguenay Lac-Saint-Jean region (Quebec, Canada). *Ann Hum Genet* 60 (Pt 2):99-104, 1996.
50. Dietrich HH and Dacey RC Jr: Molecular keys to the problems of cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 46: 517-527, 2000.
51. Donovan FM, Pike CJ, Cotman CW, Cunningham DD. Thrombin induces apoptosis in cultured neurons and astrocytes via a pathway requiring tyrosine kinase and RhoA activities. *J Neurosci* 15;17 (14):5316-26, 1997.
52. Dorsch NW: Cerebral arterial spasm-a clinical review. *Br J Neurosurg.* 9(3):403-12, 1995.

53. Dr. Salih Gülşen. Ratlarda deneysel subaraknoid kanama ile oluşturulan serebral vazospazma raloksifenin etkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilimdalı uzmanlık tezi. 2004.
54. Dr. Cem Demirel. Deneysel subaraknoid kanama modelinde topikal leptin uygulamasının serebral vazospazma etkisinin histopatolojik ve stereolojik değerlendirilmesi. Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilimdalı uzmanlık tezi. 2013.
55. Dr. Servet İnci. Deneysel subaraknoid kanama ile oluşturulan akut ve kronik vazospazma melatonin etkisi: morfometrik, biyokimyasal, histokimyasal ve endokrinolojik çalışma Hacettepe Üniversitesi Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü Nöro-endokrinoşirürji Doktora Tezi. 1998.
56. Dr. Emre Cemal GÖKCE. Ratlarda Deneysel subaraknoid kanama ile oluşturulan serebral vazospazm etyopatogenezinde rol oynayan apoptozis ve lipid peroksidasyonunun önlenmesinde sildenafil'in rolü. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilimdalı uzmanlık tezi. 2007.
57. Ecker A, Riemenschneider PA: Arteriographic demonstration of spasm of the intracranial arteries, with special reference to saccular arterial aneurysms. J Neurosurg. Nov; 8(6): 660-7, 1951.
58. Egemen N, Turker RK, Sandlidilek, Zorlutuna A, Bilgic S, Baskaya M, Unlü A, Caglar S, Spetzler RF, McCormick JM: The effect of intrathecal sodium nitroprusside on severe chronic vasospasm. Neurol Res. Oct; 15(5): 310-5, 1993.
59. Egemen N, Birler K, Avman N, Turker RK: Experimental cerebral vasospasm: resolution by iloprost. Acta Neurochir (Wien). 95(3-4): 131-5, 1988.
60. El-Abhar H S, Abdallah D M, Saleh S. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. Journal of Ethnopharmacology, 84: 251-258,2003.
61. El-Dakhkhny M. Studies on the Egyptian *Nigella Sativa L.* IV. Some pharmacological properties of seeds active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer. Arzneimitt. Forsch (Drug Res Germ)15: 1227-9, 1965.

62. El-Dakhakhny M, Mady NI, Halim MA. *Nigella sativa* L. Oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzneimittel. Forsch.* 50 (9): 832-6, 2000.
63. El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lembert N, Ammon HP. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J Ethnopharmacol* 81: 161–164, 2002.
64. El Gazzar M, El Mezayen R, Nicolls MR, Marecki JC, Dreskin SC. Down regulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1760: 1088-1095, 2006.
65. El-Mahmoudy A, Matsuyama H, Borgan M A, Shimizu Y, El-Sayed MG, Minamotob N, Takewakia T. Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages. *International Immunopharmacology*, 2: 1603-1611, 2002.
66. El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shima T, Matsuyama H, El-Sayeda M, Takewaki T. Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism. *International Immunopharmacology*. 5: 195-207, 2005b.
67. Erdos B, Miller AW, Busija DW. Alterations in KATP and KCa channel function in cerebral arteries of insulin-resistant rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 283 (6): H2472-7, 2002.
68. Erşahin M, Toklu HZ, Akakin D, Yuksel M, Yeğen BC, Sener G. *Acta*. The effects of *Nigella sativa* against oxidative injury in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *Neurochir* 153; 333-341 DOI 10.1007/s00701-010-0853-9, 2011.
69. Eskridge JM, McAuliffe W, Song JK, Deliganis AV, Newell DW, Lewis DH, Mayberg MR, Winn HR: Balloon angioplasty for the treatment of vasospasm: results of first 50 cases. *Neurosurgery* 42 (3): 510-516, 1998.
70. Ezenwaka CE, Seales D, Surujlal R, Mathura RP. Glycated haemoglobin A1c measurement in stored whole blood sample is reliable for clinical use. *West Indian Med J.* 2009. 58(1): 17-20, 2009.

71. Fararh, KM, Shimizu, Y, Shiina, T, Nikami, H, Ghanem, MM, Takewaki, T. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Research in Veterinary Science*, 79: 219- 223, 2005.
72. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, Bertsch T, Schmeck J, Schutt S Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. Apr;70(4): 534-7, 2001.
73. Flamm ES, Adams HP, Beck DW: Dose-escalation study of intravenous nicardipine in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 68 (3): 393-400, 1988.
74. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM: Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery* 6 (1): 1-9, 1980.
75. Fujiwara N, Hkawa M, Tanabe M, Irie K, Nagao S: The effect of PTA on cerebral vessels in experimental vasospasm; a histopathological study. *Nippon Igaku-Hoshasen-Gakkai-Zasshi* 25: 378-388, 1994.
76. Gabikian P, Clatterbuck RE, Eberhart CG, Tyler BM, Tierney TS, Tamargo RJ Prevention of experimental cerebral vasospasm by intracranial delivery of a nitric oxide donor from a controlled-release polymer: toxicity and efficacy studies in rabbits and rats. *Stroke*. Nov;33(11): 2681-6, 2002.
77. Gad A M, El-Dakhakni M, Hassan M. Studies on the chemical composition of Egyptian *Nigella sativa* L. oil. *Planta Medica*; 11; 134–138, 1963.
78. Gaist D, Vaeth M, Tsiropoulos I, Christensen K, Corder E, Olsen J, Sorensen HT: Risk of subarachnoid haemorrhage in first degree relatives of patients with subarachnoid haemorrhage: follow up study based on national registries in Denmark. *BMJ* 320 (7228): 141-145, 2000.
79. Gali-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltze C, Al-Hmaira J, Hartig R, Roessner A, Schneider-Stock R. Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *Int J Oncol*, 25(4): 857-66, 2004.

80. Galı-Muhtasib HU, Abou Kheir WG, Kheir LA, Darwiche N, Crooks PA. Molecular pathway for thymoquinone-induced cell-cycle arrest and apoptosis in neoplastic keratinocytes. *Anticancer Drugs*, 15: 389-99, 2004.
81. Gallia GL, Tamargo RJ. Leukocyte-endothelial cell interactions in chronic vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*. 28 (7): 750-8, 2006.
82. Garjani A, Fathiazad F, Zakheri A, Akbari NA, Azarmie Y, Fakhrjoo A, Andalib S, Maleki-Dizaji N. The effect of total extract of *Securigera securidaca* L. seeds on serum lipid profiles, antioxidant status, and vascular function in hypercholesterolemic rats. *J Ethnopharmacol*, 126(3): 525-532, 2009.
83. Ghada M. Suddek. Thymoquinone-induced relaxation of isolated rat pulmonary artery. *Journal of Ethnopharmacology* 127; 210–214, 2010.
84. Giannotta SL, Mc Gillicuddy JE, Kint GW. Diagnosis and treatment of postoperative cerebral vasospasm. *Surg Neurol* 8 (4): 286-290, 1977.
85. Goddard AJ, Raju PP, Gholkar A: Does the method of treatment of acutely ruptured intracranial aneurysms influence the incidence and duration of cerebral vasospasm and clinical outcome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. Jun; 75 (6): 868-72, 2004.
86. Gunderson HJ, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc*. 147: 229-63, 1987.
87. Gunderson HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*.96: 379-94, 1988.
88. Graf CJ, Nibbelink DW: Cooperative study of intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage. Report on a Randomized Treatment Study. III. Intracranial surgery. *Stroke*, Jul-Aug; 5(4): 557-601, 1974.
89. Greenberg MS: *Handbook of Neurosurgery*, 6 th edition, Lakeland. Florida, Greenberg Graphics Inc. pp.781-835, 1994.
90. GrubbRL Jr, Raichle ME, Eichling JO, Gado MH. Effects of subarachnoid hemorrhage on cerebral blood volume, blood flow and oxygen utilization in humans. *J Neurosurg* 46 (4): 446-453, 1977.
91. Gürdöl F, Ademoğlu E. *Biyokimya*. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 1. Baskı, 2006.

92. Haddon WS, Prough DS, Kong D, Petrozza P: Effects of nimodipine on the production of TXA₂ following total global cerebral ischemia. *J Neurosurg* 69: 416-420, 1988.
93. Hadjzadeh MAR, Mohammadian N, Rahmani Z, Rassouli FB. Effect of thymoquinone on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. *Urol J*, 5(3): 149-55, 2008.
94. Halawani E. Antibacterial activity of thymoquinone and thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and their interaction with some antibiotics. *Advances in Biological Research*, 3(5-6): 148-152, 2009.
95. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr.* 57 (suppl): 715S-25S, 1993.
96. Halliwell, B., and J. M. C. Gutteridge. *Free radicals in medicine and biology* Clarendon Press, Oxford 1999.
97. Haley EC, Kassell NF, Torner JC. The international cooperative study on the timing of aneurysm surgery: the North American Experience. *Stroke* 23: 205-214, 1992.
98. Handa Y, Kabuto M, Kobayashi H, Kawano H, Takeuchi H, Hayashi M. The correlation between immunological reaction in the arterial wall and the time course of the development of cerebral vasospasm in a primate model. *Neurosurgery*. Apr; 28(4): 542-9, 1991.
99. Handa Y, Weir KA, Nosko M, Mosewich R, Grace M: The effect of clot removal on chronic vasospasm in a primate model. *J Neurosurg* 67: 558-564, 1987.
100. Hanggi D, Steiger HJ. Nitric oxide in subarachnoid haemorrhage and its therapeutic implications. *Acta Neurochir (Wien)*. 148 (6): 605-13, 2006.
101. Hanafy MS and Hatem ME. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *J. Ethnopharmacol*, 34; 275-278, 1991.
102. Haq A, Abdullatif M, Lobo PI, Khabar KS, Sheth KV, al-Sedairy ST. *Nigella sativa*: effect on human lymphocytes and polymorphonuclear leukocyte phagocytic activity. *Immunopharmacology*; 30: 147-55, 1995.
103. Hawsawi ZA, Ali BA, Bamosa AO. Effect of *Nigella sativa* (Black Seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Annals of Saudi Medicine*, 21: 242-244, 2001.

104. Heffez DS, Leong KW: Sustained release of papaverine for the treatment of cerebral vasospasm: in vitro evaluation of release kinetics and biological activity. *J Neurosurg* 77: 783-787, 1992.
105. Heistad DD, Kontos HA: Cerebral circulation, in Shepherd JT, Abboud FM(eds): *Handbook of Physiology. Section: Circulation*. Bethesda, Am Physiol Soc, 1993, vol 3, pp 137-182.
106. Hendryk S, Jarzab B, Josko J. Increase of the IL-1 beta and IL-6 levels in CSF in patients with vasospasm following aneurysmal SAH. *Neuro Endocrinol Lett.* 25 (1-2): 141-7, 2004.
107. Hisatsune C, Nakamura K, Kuroda Y, Nakamura T, Mikoshiba K. Amplification of Ca²⁺ signaling by diacylglycerol-mediated inositol 1, 4, 5-trisphosphate production. *J Biol Chem.* 25; 280 (12): 11723-30, 2008.
108. Hop JW, Rinkel GJ, Algra A: Initial loss of consciousness and risk of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* Nov; 30 (11): 2268-71, 1999.
109. Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine* 11: 56–64, 2004.
110. Hosseinzadeh, H. Karimi, G., Niapoor, M. Antidepressant effects of crocus sativus stigma extracts and its constituents, crocin and safranal, in mice. *J. Med. Plants.* 3, 48–58, 2004.
111. Houghton PJ, Zarka R, De La Heras B, Hoult JRS. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Medica*; 61: 33–36, 1995.
112. Hummell DS. Dietary lipids and immune function. *Prog Food Nutr Sci*; 17: 287–329, 1993.
113. Ingall TJ, Whisnant JP: Epidemiology of subarachnoid hemorrhage, in Yanagihara T, Piepgras DG, Atkinson JLG (eds): *Subarachnoid hemorrhage*. New York, Marcel Dekker Inc, 1998, pp63-78.
114. Ishiguro M, Puryear CB, Bisson E, Saundry CM, Nathan DJ, Russell SR, Tranmer BI, Wellman GC. Enhanced myogenic tone in cerebral arteries from a rabbit model of subarachnoid hemorrhage. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 283 (6): H2217-25, 2002.

115. Ishiguro M, Morielli AD, Zvarova K, Tranmer BI, Penar PL, Wellman GC. Oxyhemoglobin-induced suppression of voltage-dependent K⁺ channels in cerebral arteries by enhanced tyrosine kinase activity. *Circ Res.* 99 (11): 1252-60, 2006.
116. Ismail M, Al-Naqeep G, Wei Chan K. Nigella sativa thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats. *Free Radical Biology & Medicine*, 48: 664-672, 2010.
117. Işık AF, Katib I, Bayram I, Hanefi Ozbek H. A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: thymoquinone. An experimental study in a rat model. *European Journal of ardio-thoracic Surgery*, 28: 301-305, 2005.
118. Jestaedt L, Pham M, Bartsch AJ, Kunze E, Roosen K, Solymosi L, Bendszus M. The impact of balloon angioplasty on the evolution of vasospasm-related infarction after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 62(3): 610-617, 2008.
119. Jewell RP, Saundry CM, Bonev AD, Tranmer BI, Wellman GC. Inhibition of Ca⁺⁺ sparks by oxyhemoglobin in rabbit cerebral arteries. *J Neurosurg.* 100 (2): 295-302, 2004.
120. J. Krumenacker and K. Hanafy et al., Regulation of nitric oxide and soluble guanylyl cyclase, *Brain Res Bull* 62: 505–515, 2004.
121. J.Max Findlay: Cerebral Vasospasm. Ed: H.Richard Winn, MD, Youmans Neurological Surgery, volume 2, pp:1839-1867, Fifth Edition, Saunders, Philadelphia, 2004.
122. John R. Ostergaard MD, Bento. Kristensen MD, Sven-Erik Svehag, DVM, PhD, Borge Teisner MD, and Tomislav Miletic MD. Immune complexes and complement activation following rupture of intracranial saccular aneurysms. *J Neurosurg* 66: 891-897, 1987.
123. John W. Peterson PhD, Buyun-Duk Kwun MD, John D. Hackett BS, and Nicholas T. Zervas MD. The role of inflammation in experimental cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 72: 767-774, 1990.
124. Kaku Y, Yonekawa Y, Tsukahara T, Kazekawa K: Superselective intraarterial infusion of papaverin for the treatment of cerebral vasospasm after subarachnoid haemorrhage. *J Neurosurg* 77: 842-847, 1992.

125. Kalaivanisailaja J, Manju V, Nalini N. Lipid profile in mice fed a high-fat diet after exogenous leptin administration. *Polish J Pharmacol*, 55: 763-769, 2003.
126. Kanter M, Meral I, Dede S, Gunduz H, Cemek M, Ozbek H, Uygan I Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄-treated rats *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 50(7): 383, Sep 2003.
127. Kanter M, Demir H, Karakaya C, Özbek H. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World Journal of Gastroenterology* 11(42): 6662-6666, 2005.
128. Kanter M. *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. *Neurochem Res*, 33: 579-588, 2008.
129. Kaseb AO, Chinnakannu K, Chen D, Sivanandam A, Tejwani S, Menon M, Dou QP, Reddy GP. Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res*, 67: 7782-8, 2007.
130. Kassell NF, Peerless SJ, Durward QJ, Beck DW, Drake CG, Adams HP. Treatment of ischemic deficits from vasospasm with intravascular volume expansion and induced arterial hypertension. *Neurosurgery* 11(3): 337-343, 1982.
131. Kassell NF, Sasaki T, Colohan AR, Nazar G: Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 16 (4): 562-572, 1985.
132. Kassell NF, Torner JC, Haley EC Jr, et al. The international Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery Part 1: Overall management results. *J Neurosurg* 73: 18-36, 1990.
133. Kassel NF, Helm G, Simmons N, Phillips CD, Cail WS: Treatment of cerebral vasospasm with intraarterial papaverine. *J Neurosurg* 77: 848-852, 1992.
134. Kastner S, Oertel MF, Scharbrodt W, Krause M, Boker DK, Deinsberger W. Endothelin-1 in plasma, cisternal CSF and microdialysate following aneurysmal SAH. *Acta Neurochir (Wien)*. 147 (12): 1271-9, 2005.
135. Kawanabe Y, Nauli SM. Involvement of extracellular Ca⁺² influx through voltage-independent Ca⁺² channels in endothelin-1 function. *Cell Signal*. 17 (8): 911-6, 2005.

136. Kazuya Nagata, MD, DMSc, Tomio Sasaki, MD, DMSc, Junichi Iwama, MD, Takashi Mori, DVM, Shoko Iwamoto, DVM, Hisataka Nirel, B.S, Kaori Hamada, B.S, and Takaaki Kirino, MD, DMSc: Failure of FK-506, a new immunosuppressant, to prevent cerebral vasospasm in a canine two-hemorrhage model. *J Neurosurg* 79: 710-715, 1993.
137. Kobayashi H, Ide H, Aradachi H, Arai Y, Handa Y, Kubota Y. Histological studies of intracranial vessels in primates following transluminal angioplasty for vasospasm. *J Neurosurg* 78: 481-486, 1993.
138. Kocaeli H, Korfaı E: Subaraknoid kanama: Anevrizmalar. *Nörobilimde Bugün* 1: 1-6, 2003.
139. Koliass AG, Sen J, Belli A: Pathogenesis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: putative mechanisms and novel approaches. *J Neurosci Res* 87(1): 1-11, 2009.
140. Kosnik EJ, Hunt WE. Postoperative hypertension in the management of patients with intracranial arterial aneurysms. *J Neurosurg* 45(2): 148-154, 1976.
141. Kirui PK, Cameron J, Benghuzzi HA, Tucci M, Patel R, Adah F, Russell G. Effects of sustained delivery of thymoquinone on bone healing of male rats. *Biomed Sci Instrum*, 40: 111-116, 2004.
142. Kırış T, Sencer A. Subaraknoid Kanamanın Komplikasyonları. Ed: Aksoy K, Temel Nöroşirürji. Cilt 1, s: 448-456, Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları, Ankara, 2005.
143. Kissela BM, Saurbeck L, Wood D, et al: Subarachnoid hemorrhage: A preventable disease with a heritable component. *Stroke* 33: 1321-1326, 2002.
144. Kruk, I., Michalska T., Lichszeld K., Kladna, A., Aboul-Enein H. Y., The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species. *Chemosphere* 41, 1059–1064, 2000.
145. Kuhn, Merrily A. PhD, RN. Oxygen Free Radicals and Antioxidants: An overview of how antioxidants protect the body from disease. *AJN, American Journal of Nursing*: April 2003-volume 103-issue 4-pp 58-62.

146. Lanzino G, Kassell NF, Germanson TP, Kongable GL, Truskowski LL, Torner JC, Jane JA: Age and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: why the older patients fare worse. *J Neurosurg* 85 (3): 410-418, 1996.
147. Lasner TM, Weil RJ, Riina HA, King JT Jr, Zager EL, Raps EC, Flamm ES: Cigarette smoking-induced increase in the risk of symptomatic vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 87(3): 381-384, 1997.
148. Lindner H, Holler E, Ertl B, Multhoff G, Schreglmann M, Klauke I, schultz-Hector S, Eissner G. Peripheral blood mononuclear cells induce programmed cell death in human endothelial cells and may prevent repair: role of cytokines. *Blood* 89 (6):1931-8, 1997 67.
149. Liu P, Xi Q, Ahmed A, Jaggar JH, Dopico AM. Essential role for smooth muscle BK channels in alcohol-induced cerebrovascular constriction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 28; 101 (52): 18217-22, 2004.
150. Liszcak TM, Varsos VG, Black PM, Kistler JP, Zervas NT. Cerebral arterial constriction after experimental subarachnoid haemorrhage is associated with blood components within the arterial wall. *J Neurosurg* 58: 18-26, 1983.
151. Lohn M, Lauterbach B, Haller H, Pongs O, Luft FC, Gollasch M. Beta (1)-Subunit of BK channels regulates arterial wall[Ca⁺²] and diameter in mouse cerebral arteries. *J Appl Physiol* 91 (3): 1350-4, 2001.
152. Lucey DR, Clerici M, Shearer GM. Type 1 and type 2 cytokine dysregulation in human infectious, neoplastic, and inflammatory diseases. *Clin Microbiol Rev*; 9:5 32–62, 1996.
153. Luigi Pellettieri MD, PhD, Bo Nilsson MD, PhD, Carl Axel Carlson MD, PhD and Ulf Nilsson MD, PhD: Serum immunocomplexes in patients with subarachnoid haemorrhage. *Neurosurg* 19: 5, 1986.
154. Lunec J, Holloway KA, Cooke MS, Faux S, Griffiths HR, Evans MD. Urinary 8-OXO-2-deoxyguanosine: redox regulation of DNA repair in vivo? *Free Radic Biol Med* ; 33 (7):875-85, 2002.
155. MacDonald RL, Weir B: Perioperative Management of subarachnoid hemorrhage, in Winn HR (ed): *Youmans Neurological Surgery, Fifth Edition*. USA, Volume 2, pp 1813-1838.

156. Mansour MA, Ginawi OT, El-Hadiyah T, El-Khatib AS, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA. Effects of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on 56 carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effects of thymoquinone. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*; 110: 239–251, 2001.
157. Mansour M.A., Nagi M.N., El-Khatib A.S., Al-Bekairi A.M., Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. *Cell Biochem. Funct.* 20, 143–151, 2002.
158. Mansour M, Tornhamre S. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *J Enzyme Med Chem*, 19: 431-6, 2004.
159. Makgay CE, Pakkenberg B, Roberts N, Comparison of compartment volumes estimated from MR images and physical sections of formalin fixed cerebral hemispheres. *Acta Stereol*, 18, 149-59, 1999.
160. Mayberg MR, Batjer HH, Dacey R, Diringer M, Haley EC, Heros RC, Sternau LL, Torner J, Adams HP. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A statement for healthcare professionals from a special writing group of Stroke Council, American Heart Association. *Stroke* 25: 2315-2328, 1994.
161. Mayberg M. Cerebral Vasospasm. *Neurosurg Clin N Am* 9 (3): 615-627, 1998.
162. McAuliffe W, Townsend M, Eskridge JM, Newell DW, Grady MS, Winn HR. Intraarterial pressure changes induced during papaverine infusion for treatment of vasospasm. *J Neurosurg* 83 (3): 430-434, 1995.
163. McDermott, J. H. Antioxidant nutrients: Current dietary recommendations and research update. *J Am Pharm Assoc*, 40(6), 785, 2000.
164. Medzhitov R, Janeway C Jr. Innate immunity. PMID: 10922424; 1. *N Engl J Med*. 2000 Aug 3;343(5):338-44.
165. Meguro T, Klett CP, Chen B, Parent AD, Zhang JH. Role of calcium channels in oxyhemoglobin-induced apoptosis in endothelial cells. *J Neurosurg*. 93 (4): 640-6, 2000.
166. Mehmet Kanter. Protective effects of thymoquinone on β -cell damage In streptozotocin-induced diabetic rats. *Tip Araştırmaları Dergisi*: 7 (2) :64-70), 2009.

167. Erşahin M, Toklu HZ, Akakin D, Yuksel M, Yeğen B C, Sener G. The effects of *Nigella sativa* against oxidative injury in a rat model of subarachnoid hemorrhage, *Acta Neurochir.* 153:333–341 DOI 10. 1007/s00701-010-0853-9, 2011.
168. Meral, I., Z. Yener, T. Kahraman and N. Mert. Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defense system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.* 48: 593-599, 2001.
169. Milburn JM, Moran CJ, Cross DT, Diringner MN, Pilgram TK, Dacey RG: Increase in diameters of vasospastic intracranial arteries by intraarterial papaverine administration. *J Neurosurg* 88 (1): 38-42, 1998.
170. Moneer Z, Pino I, Taylor EJ, Broad LM, Liu Y, Tovey SC, Staali L, Taylor CW. Different phospholipase-C-coupled receptors differentially regulate capacitative and non capacitative Ca^{+2} entry in A7r5 cells. *Biochem J.* 389 (Pt 3): 821-9, 2005.
171. Morsi NM. Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta Microbiologica Polonica*; 49: 641-649, 2000.
172. Megyesi JF, Vollrath B, Cook DA, Findlay JM. In vivo animal models of cerebral vasospasm: a review. *Neurosurgery.* 46(2):448-61, 2000.
173. Motoyoshi Satoh, Isao Date, Masaaki Nakajima. Inhibition of Poly(ADP-Ribose) Polymerase Attenuates Cerebral Vasospasm After Subarachnoid Hemorrhage in Rabbits. *Stroke, Jan*; 32: 225–231, 2001.
174. M. Shibuya and Y. Suzuki et al., Effect of AT877 on cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. Results of prospective placebo-controlled double-blind trial, *J Neurosurg* 76: 571–577, 1992.
175. Muizelaar JP, Becker DP: Induced hypertension for the treatment of cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. Direct effect on cerebral blood flow. *Surg Neurol* 25 (4): 317-325, 1986.
176. Nagi, A.D., Anderson, K. S. and Regan, L. J. *Mol. Biol.*, 286, 257–265, 1999.
177. Nagi MN, Mansour MA. Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: a possible mechanism of protection. *Pharmacological Research*, 41(3): 283-289, 2000.

178. Nagi MN, Almakki HA. Thymoquinone supplementation induces quinone reductase and glutathione transferase in mice liver: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Phytother Res*, 23: 1295-1298, 2009.
179. Nam DH, Kim JS, Hong SC, Lee WH, Lee JI, Shin HJ, Park K, Eoh W, Han DH, Kim JH. Expression of interleukin-1 beta in lipopolysaccharide stimulated monocytes derived from patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage is correlated with cerebral vasospasm. *Neurosci Lett*. 312 (1): 41-4, 2001.
180. Netherton SJ, Maurice DH. Vascular endothelial cell cyclic nucleotidephosphodiesterases and regulated cell migration: Implications in angiogenesis. *Mol Pharmacol* 67: 263-272, 2005.
181. Nishizawa S, Laher I. Signaling mechanisms in cerebral vasospasm. *Trends Cardiovasc Med*. 15 (1): 24-34, 2005.
182. Nofer J. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*, 161(1), 1-16, 2002.
183. Nomura H, Hirashima Y, Endo S, Takaku A. Anticardiolipin antibody aggravates cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Stroke*. May; 29(5): 1014-8, 1998.
184. Trang et al, "Thymoquinone from *Eupatorium ayapana*," *Planta Medica* 59:99, 1993.
185. Numaguchi Y, Zoarski GH, Clouston JE, Zagardo MT, Simard JM, Aldrich EF, Sloan MA, Maurer PK, Okawara SH. Repeat intra-arterial papaverine for recurrent cerebral vasospasm after subarachnoid haemorrhage. *Neuroradiology* 39 (10): 751-759, 1997.
186. Ogilvy CS, Carter BS. Grading system to predict outcome for surgical management of intracranial a proposed comprehensive aneurysms. *Neurosurgery* 43: 572-586, 1998.
187. Ohkuma H, Suzuki S, Ogane K, Fujita S, Shibata S, Ito K, Kimura M. Preventive effect of intracisternal methylprednisolone on symptomatic vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *No Shinkei Geka*. 24 (2): 135-42, 1996.
188. Ohman J, Heiskanen O. Timing of operation for ruptured supratentorial aneurysm. A prospective randomized study. *J Neurosurg* 70 (1): 55-60, 1989.

189. Oshiro EM, Hoffman PA, Dietsch GN, Watts MC, Pardoll DM, Tamargo RJ. Inhibition of experimental vasospasm with anti-intercellular adhesion molecule-1 monoclonal antibody in rats. *Stroke* 28 (10): 2031-7, 1997.
190. Pakarinen S: Incidence, aetiology, and prognosis of primary subarachnoid haemorrhage. A study based on 589 cases diagnosed in a defined urban population during a defined period. *Acta Neurol Scand* 43 (Suppl 29): 1-28, 1967.
191. Pari L, Sankaranarayanan C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sciences*, 85: 830-834, 2009.
192. 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.
193. Peterson JW, Kwun BD, Hackett JD, Zervas NT. The role of inflammation in experimental cerebral vasospasm. *J Neurosurg*. 72 (5): 767-74, 1990.
194. Polin RS, Bavbek M, Shaffrey ME, Billups K, Bogaev CA, Kassell NF, Lee KS. Detection of soluble E-selectin, ICAM-1, VCAM-1, and L-selectin in the cerebrospinal fluid of patients after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 89 (4): 559-67, 1998.
195. Prunell GF, Svendgaard NA, Alkass K, Mathiesen T. Delayed cell death related to acute cerebral flow changes following subarachnoid hemorrhage in the rat brain. *J Neurosurg* 102: 1046-1054, 2005.
196. Qureshi AI, Suri MF, Yahia AM, Suarez JI, Guterman LR, Hopkins LN, Tamargo RJ. Risk factors for subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 49(3): 607-612, 2001.
197. Rabb CH, Tang G, Chin LS, Giannotta SL. A statistical analysis of factors related to symptomatic cerebral vasospasm. *Acta Neurochir (Wien)* 127(1-2): 27-31, 1994.
198. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem*. 266 (7): 4244-50, 1991.
199. Ragheb A, Attia A, Elbarbry F, Prasad K, Shoker A. Attenuated combined action of cyclosporine a and hyperlipidemia on atherogenesis in rabbits by thymoquinone. *Evidence-based Compleme and Alternative Medicine: eCAM*, 1-9, 2009.

200. Roepke M, Diestel A, Bajbouj K, Walluscheck D, Schonfeld P, Roessner A, Schneider-Stock R, Gali-Muhtasib H. Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells. *Cancer Biol Ther*, 6 (2): 160-9, 2007.
201. Kohen R, Nyska A. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification *Toxicologic Pathology*. Vol 30, no 6, pp 620–650, 2002.
202. R. Pluta and B. Thompson et al., Loss of nitric oxide synthase immunoreactivity in cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 84: 648–654, 1996.
203. Saito A, Kamii H, Kato I, Takasawa S, Kondo T, Chan PH, Okamoto H, Yoshimoto T. Transgenic CuZn-superoxide dismutase inhibits NO synthase induction in experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 32 (7): 1652-7, 2001.
204. Salem ML, Hossain MS. In vivo acute depletion of CD8⁺ T cells before murine cytomegalovirus infection upregulated innate antiviral activity of natural killer cells. *International Journal of Immunopharmacology*; 22: 707–718, 2000.
205. Salem ML. Immunomodulatory and immunotherapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*. 5(13-14): 1749-1770, 2005.
206. Sano K. Cerebral vasospasm and aneurysm surgery. *Clin Neurosurg Congress of Neurological Surgeons*. 30: 159, 1982.
207. Sarioğlu AÇ. Subaraknoid Kanama. Cem ofset, İstanbul, 1997.
208. Sasaki T, Ohta T, Kikuch H, Takakura K, Usui M, Kondoh A, Tanabe H, Nakamura J, Yamada K. Preliminary clinical trial of intrathecal rt-PA (TD-2061) for the prevention of cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *No-To-Shinkei* 44: 1001-1008, 1992.
209. Sasaki T, Wakai S, Asano T, Watanabe T, Kirino T, Sano K. The effect of a lipid hydroperoxide of arachidonic acid on the canine basilar artery. An experimental study on cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 54 (3): 357-365, 1981.
210. Sasaki T, Kassel NF, Yamashita M, Fujiwara S, Zuccarello M. Barrier disruption in the major cerebral arteries following experimental subarachnoid haemorrhage. *J Neurosurg* 63: 433-440, 1985.

211. Seifert-Vasospasm: Intrathecal fibrinolysis using recombinant tissue plasminogen activator (rTPA) for prevention of cerebral vasospasm and delayed ischaemic deficits after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. Experimental and clinical data. *Neurol Res* 16: 54-58, 1994.
212. Sen O, Caner H, Aydin MV, Ozen O, Atalay B, Altinors N, Bavbek M. The effect of mexiletine on the level of lipid peroxidation and apoptosis of endothelium following experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res.* 28 (8): 859-63, 2006.
213. Schievink WI, Torres VE, Piepgras DG, Wiebers DO. Saccular intracranial aneurysms in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 3 (1): 88-95, 1992.
214. Schievink WI, Michels VV, Piepgras DG. Neurovascular manifestations of heritable connective tissue disorders. A review. *Stroke* 25 (4): 889-903, 1994.
215. Shishido T, Suzuki R, Qian L, Hirakawa K. The role of superoxide anions in the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke.* 25 (4): 864-8, 1994.
216. Shorëb AM, Elgayyar M, Dudrïck PS, Bell JL, Tithof PK. In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. *Int J Oncol*, 22: 107-13, 2003.
217. Schwartz-Bloom RD, Sah R. Gamma-Aminobutyric acid (A) neurotransmission and cerebral ischemia. *J Neurochem* 77 (2): 353-71, 2001.
218. Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II: Mechanisms of damage and treatment. *J Neurosurg* 77 (3): 337-54, 1992.
219. Sills AK, Clatterbuck RE, Thompson RC, Cohen PL, Tamargo RJ. Endothelial cell expression of intercellular adhesion molecule 1 in experimental posthemorrhagic vasospasm. *Neurosurgery* 41 (2): 453-60, 1997 70.
220. Silachev DN, Plotnikov EY, Zorova LD, Pevzner IB, Sumbatyan NV, Korshunova GA, Gulyaev MV, Pirogov YA, Skulachev VP, Zorov DB. Neuroprotective Effects of Mitochondria-Targeted Plastoquinone and Thymoquinone in a Rat Model of Brain Ischemia/Reperfusion Injury. *Molecules.* 20(8): 14487-503, 2015.
221. Sobey C, Heistad D, et al. Effect of subarachnoid hemorrhage on dilatation of basillary artery in vivo. *Am J Physiol* 271: H126-H132, 1996.

222. Svendgaard NA, Shiokawa Y, Delgado-Zygmundt-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.
223. S.M.K Swamy, B.K.H Tan. Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L.seeds. *Journal of Ethnopharmacology* Volume 70, Issue 1, April 2000, Pages 1-7.
224. Vinall PE, Maislin G, Michele JJ, Deitch C, Simeone FA. Seasonal and latitudinal occurrence of cerebral vasospasm and subarachnoid hemorrhage in the northern hemisphere. *Epidemiology* 5 (3): 302-308, 1994.
225. Van Gijn J, Rinkel GJ. Subarachnoid hemorrhage: Diagnosis, causes and management. *Brian* 124: 249-278, 2001.
226. Zaoui A, Cherrah Y, Alaoui K, Mahassine N, Amarouch H, Hassar M. Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 79: 23-26, 2002.
227. Zimmermann M, Seifert V. Endothelin and subarachnoid hemorrhage: an overview. *Neurosurgery*. 43 (4):863-75, 1998.
228. Zhou ML, Shi JX, Hang CH, Cheng HL, Qi XP, Mao L, Chen KF, Yin HX. Potential contribution of nuclear factor-kappa B to cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. *J Cereb Blood Flow Metab*. Feb 7 2007.
229. Watanabe M, Doi M, Sasaki K, Ogawa A. Modulatory role of protein tyrosine kinase activation in the receptor-induced contractions of the bovine cerebral artery. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 38 (2): 75-81, 1998.
230. Weir BK: Cerebral vasospasm. Experimental study. *Neurochirurgie* 38: 129-133, 1992.
231. Weir B. Aneurysms affecting the nervous system. Baltimore: Williams&Wilkins. 43: 28-56, 1994.
232. Weir B: The Pathophysiology of cerebral vasospasm. *Br J Neurosurg* 9: 375-390, 1995.

233. Worthen DR, Grosheh OA, Crooks PA. The in vitro anti-tumor activity some crude and purified components of blackseed, *Nigella sativa* L. *Anticancer Research*. 18: 1527–1532, 1998.
234. Wu D, Meydani M, Leka LS, Nightingale Z, Handelman GJ, Blumberg JB, ve ark. Effect of dietary supplementation with black currant seed oil on the immune response of healthy elderly subjects. *Am J Clin Nutr*. 70: 536–43, 1999.
235. Yamamoto Y, Smith RR, Bernanke DH: Mechanism of action of balloon angioplasty in cerebral vasospasm. *Neurosurg* 30: 1-5, 1992.
236. Yamato S, Nishizawa S, et al. Subarachnoid hemorrhage impairs cerebral blood flow response to nitric oxide but not to cyclic GMP in large cerebral arteries. *Brain Res*. 757: 1-9, 1997.
237. Yamaguchi M, Zhou C, Heistad DD, Watanabe Y, Zhang JH. Gene transfer of extracellular superoxide dismutase failed to prevent cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 35 (11): 2512-7, 2004.
238. Yanaroğlu Suna. Çörekotunun (*Nigella Sativa* L.) Biyolojik Etkileri Üzerine Bir Araştırma. K.K.T.C. Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Projesi. 2011.
239. Yi T, Cho S-G, Yi Z, Pang X, Rodriguez M, Wang Y, Sethi G, Aggarwal BB, Liu M. Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and ERK signaling pathways. *Mol Cancer Ther*, 7(7): 1789-1796, 2008.
240. Thorogood M, Mann J, Murphy M, Vessey M: Fatal stroke and use of oral contraceptives: findings from a case-control study. *Am J Epidemiol* 136 (1): 35-45, 1992.
241. Touho H, Karasawa J, Ohnishi H, Shishido H, Yamada K, Shibamoto K: Evaluation of therapeutically induced hypertension in patients with delayed cerebral vasospasm by xenon-enhanced computed tomography. *Neurol Med Chir* 32: 671-678, 1992.
242. Tsukahara T, Yoshimura S, Kazekawa K, Hashimoto N: Intra-arterial papaverine for the treatment of cerebral vasospasm after subarachnoid haemorrhage. *J Auton Nerv Syst* 49: 163-166, 1994.

243. Turkdogan, M.K., Z. Agaoglu, Z. Yener, R. Sekeroglu, H.A. Akkan and M.E. Avci, The role of antioxidant vitamins (C and E), selenium and *Nigella sativa* in the prevention of liver fibrosis and cirrhosis in rabbits: New hopes. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 108: 71-73,2001.
244. Usui M,Saito N, Hoya K, Todo T: Vasospasm prevention with postoperative intrathecal thrombolytic therapy: a retrospective comparison of urokinase, tissue plasminogen activator, and cisternal drainage alone. *Neurosurg* 34: 235-244, 1994.
245. Cusin I, Sainsbury A, Doyle P, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. The ob gene and insulin, a relationship leading to clues to the understanding of obesity. *Diabetes.* 44: 1467-70, 1995.
246. A. Wennmalm and G. Bentin et al., Dependence of the metabolism of nitric oxide (NO) in healthy human whole blood on the oxygenation of its red cell haemoglobin. *Br J Pharmacol* 106: 507-508, 1992.
247. Hoh BO, Carter BS, Ogilvy CS: Risk of hemorrhage from unsecured, unruptured aneurysms during and after hypersensitive hypervolemic therapy. *Neurosurgery* 50:1207-1212, 2000