

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARE LİGAMAN PERFORASYON SAK MODELİNDE
SQUALENE ADENOZİN NANOPARÇALARININ BEYİN KAN
AKIMI VE NÖROLOJİK SKORLARA ETKİSİ**

Dr. Ahmet İlkey IŞIKAY

**İleri Nörolojik Bilimler Programı
DOKTORA TEZİ**

ANKARA

2019

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARE LİGAMAN PERFORASYON SAK MODELİNDE
SQUALENE ADENOZİN NANOPARÇALARININ BEYİN KAN
AKIMI VE NÖROLOJİK SKORLARA ETKİSİ**

Dr. Ahmet İlkay IŞIKAY

**İleri Nörolojik Bilimler Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Melike Mut AŞKUN**

**ANKARA
2019**

FARE LİGAMAN PERFORASYON SAK MODELİNDE SQUALENE
ADENOZİN NANOPARÇALARININ BEYİN KAN AKIMI VE NÖROLOJİK
SKORLARA ETKİSİ

Ahmet İlkay Işııkay


Danışman: Prof. Dr. Melike Mut Aşkun

Bu tez çalışması 30/5/2019 tarihinde jürimiz tarafından "İleri Nörolojik Bilimler
Doktora Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Mustafa Berker <i>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji A.B.D.</i>	(imza) 
Üye:	Prof. Dr. Burçak Bilginer <i>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji A.B.D.</i>	(imza) 
Üye:	Prof. Dr. Halil Kamil Öge <i>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji A.B.D.</i>	(imza) 
Üye:	Prof. Dr. Hakan Sabuncuoğlu <i>Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji A.B.D.</i>	(imza) 
Üye:	Prof. Dr. Hakan Emmez <i>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji A.B.D.</i>	(imza) 

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

10 Haziran 2019


Prof. Dr. Diclehan ORHAN
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmişti

...29 / ...7 / ...2019

Dr.Ahmet İlkay IŞIKAY

i

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanının Ünvanı, Adı SOYADI danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dr. Ahmet İbrahim İSİKAY

TEŐEKKÖR

Doktora eğitimim boyunca bana olan inançlarını kaybetmeyen ve benden hiçbir desteği esirgemeyen sevgili eőime ve aileme çok teşekkür ederim.

ÖZET

Işıkay, A. İ., Fare Ligaman Perforasyon SAK modelinde Squalene Adenozin Nanoparçaların Beyin Kan Akımı ve Nörolojik Skorlara Etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İleri Nörolojik Bilimler Doktora Tezi, Ankara, 2019. Bu tez çalışmasında amaç, fare filaman perforasyon SAK modelinde, ilk 24 saat içinde serebral kan akımı (SKA) değişikliklerini incelemek, squalene ile konjüğe edilmiş adenozinin SAK sonrası SKA, farelerin fonksiyonel ölçütleri ve serebral histolojik bulgularına etkisini incelemektir. Tez çalışmasında her bir grupta (kontrol SAK, sham, squalene, düşük doz adenozin, yüksek doz adenozin, düşük doz squalene adenozin ve yüksek doz squalene adenozin) 6'şar olmak üzere toplam 42 Swiss albino fare kullanıldı. Sham grubu dışındaki gruplarda SAK oluşturuldu. Lazer beneklenme kontrast görüntüleme (LSCI) yöntemi kullanılarak farelerin bazal, SAK sonrası erken dönem ve 24. saat SKA değerleri incelendi. 24 saat sonunda açık alan testi ile lokomotor aktiviteleri değerlendirildi. Fonksiyonel değerlendirmeleri yapılan deneklerin beyinleri cresyl violet, TUNEL ve Masson's trichrome boyamasına tabi tutuldu. SAK sonrası erken dönemde, kanama gruplarında SKA'nın global ve ciddi derecede azaldığı görüldü. Yüksek doz squalene adenozin tedavisi uygulanan grupta SKA değerlerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde yüksek doz squalene adenozin tedavisi uygulanan grubun açık alan testi ile elde edilen lokomotor aktivite skoru daha yüksek bulundu. Histolojik incelemelerde, yüksek doz tedavi grubunda daha az yoğun olmak üzere tüm kanama gruplarında nöronal dejenerasyon, apoptoz ve intravasküler fibrin tıkaçları görüldü. Sonuçta, LSCI ile SAK'a bağlı SKA değişimlerinin değerlendirilebildiği, yüksek doz squalene adenozin uygulanmasının SAK sonrası SKA seviyesini düzelttiği bu değişimin fonksiyonel değerlendirmeye yansıdığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Erken beyin hasarı, LSCI, serebral vazospazm, subaraknoid kanama, squalene adenozin.

ABSTRACT

Işıkay, A. İ., The effect of Squalene Adenosine Nanoassemblies on Cerebral Blood Flow and Neurologic Scores in Mouse Filament Perforation SAH Model. Hacettepe University Graduate School Health Sciences, Advanced Neurological Sciences Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2019. The aim of this study is to investigate the cerebral blood flow (CBF) changes in the first 24 hours following SAH, the effect of intravenous squalene-adenosine on CBF, functional outcome of mice and cerebral histologic findings in mice filament perforation SAH model. A total of 42 Swiss albino mice were used (6 in each of the following groups: control SAK, sham, squalene, low-dose adenosine, high-dose adenosine, low-dose squalene adenosine and high-dose squalene adenosine). SAH was induced in all groups other than Sham group. Laser speckle contrast imaging (LSCI) was used to measure basal, immediate post SAH and 24th hour CBF levels. After 24 hours, locomotor activities were evaluated by open field test. The brains of the subjects who underwent functional evaluations were subjected to cresyl violet, TUNEL and Masson's trichrome staining. In the early period after SAH, CBF was found to be decreased globally and severely in the bleeding groups. In the high dose squalene adenosine treatment group, CBF values were significantly higher than the control group. Similarly, the locomotor activity score obtained by open field test was higher in the group which received high dose squalene adenosine. Histological examinations revealed neuronal degeneration, apoptosis and intravascular fibrin plugs in all bleeding groups, which were less intense in the high-dose treatment group. In conclusion, it was observed that LSCI can accurately evaluate CBF changes after SAH. Intravenous application of high-dose squalene adenosine improves CBF after SAH, which in turn was reflected in functional evaluation.

Key Words: Early brain injury, LSCI, cerebral vasospasm, subarachnoid bleeding, squalene adenosine.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Vazospazm ve Kanama Sonrası Serebral İskemi	3
2.2. Erken Beyin Hasarı Kavramı	4
2.3. Serebral İskeminin Nedeni Olarak Mikrodolaşım Bozuklukları	4
2.4. Serebral İskemi Nedeni Olarak Mikrotromboz	5
2.5. Kan Beyin Bariyeri Harabiyeti	6
2.6. Kortikal Yayılan Depolarizasyonlar	6
2.7. Fare Filaman Perforasyon Subaraknoid Kanama Modeli	7
2.8. Bir Nöromodülatör Olarak Adenozin	11
2.9. Squalene Adenozin	13
2.10. Lazer Beneklenme Kontrast Görüntüleme	15
2.11. Açık Alan Lokomotor Aktivite Testi	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	18

3.1.	Deney Grupları	18
3.2.	Subaraknoid Kanamanın Eş Zamanlı İntrakranial Basınç ve Beyin Kan Akımı Ölçümü ile Doğrulanması	18
3.3.	Bazal Beyin Kan Akımının Değerlendirilmesi	20
3.4.	Subaraknoid kanama oluşturulması	22
3.5.	Subaraknoid Kanama Sonrası Beyin Kan Akımının Değerlendirilmesi ve İntravenöz Enjeksiyonlar	25
3.6.	Açık Alan Labirent Testi ile Lokomasyonun Değerlendirilmesi	25
3.7.	Yirmi Dördüncü Saat Kan Akımının Değerlendirilmesi	27
3.8.	Sakrifikasyon Perfüzyon ve Beyinlerin Ekstraksiyonu	27
3.9.	Parafin Kesitlerin Alınması ve İmmünohistokimya	27
3.10.	İstatistik Analiz	27
3.11.	Etik Kurul Onayı	27
4.	BULGULAR	28
4.1.	Eş Zamanlı Beyin Kan Akımı ve İntrakranial Basınç Ölçüm Sonuçları	28
4.2.	5/0 Naylon Filaman İskemik Depolarizasyona Yol Açmaktadır.	29
4.3.	LSCI sonuçları ve Subaraknoid Kanama Varlığı	30
4.4.	İntrakranial Basınç Ölçüm Problemlerinin LSCI kayıtlarına etkisi	34
4.5.	Kanama Sonrası Kan Akımı Değerleri	36
4.6.	Tedavi Gruplarında 24. Saat Kan Akımı Değerleri	41
4.7.	Açık Alan Lokomoyon Testi Sonuçları	45
4.8.	Kortikal Nöronal Dejenerasyon	47
4.9.	Kortikal Nöronal Apoptoz	50
4.10.	Kortikal Dokuda İntravasküler Fibrin Tıkaçları	52
4.11.	Gruplardaki Kilo Kaybı	54

5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ	64
7. KAYNAKLAR	65
8. EKLER	
EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi	
EK-2: Dijital Makbuz	
EK-3: Orijinallik Raporu	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR

ACA	Anterior cerebral artery
aSAK	Anevrizmal subaraknoid kanama
BT	Bilgisayarlı tomografi
CCA	<i>Common carotid artery</i>
ECA	<i>External carotid artery</i>
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
ICA	<i>Internal carotid artery</i>
ICP	İntrakranial basınç
L-ACA	Sol anterior serebral arter
L-MCA	Sol orta serebral arter
LDF	<i>Laser doppler flowmetry</i>
LSCI	Lazer beneklenme kontrast görüntüleme
MR	Magnetik rezonans
MTC	Masson's trichrome
R-ACA	Sağ anterior serebral arter
R-MCA	Sağ anterior serebral arter
SAK	Subaraknoid kanama
SKA	Serebral kan akımı
TUNEL	<i>Terminal deoxyribonucleotidyl transferse (TdT)-mediated biotin-16-dUTP nick-end labelling</i>

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.7.1. Fare Willis Poligonu ve perforasyon bölgesi	7
2.8.1. Adenozin oluşumu ve beynin farklı türdeki hücrelerinde adenozin etkisini gösteren şema	12
2.9.1. Squalene-adenozin molekülünün şematik gösterimi	14
2.10.1. Basit bir LSCI yöntemi düzeneği	16
3.1.1. Deney protokolünde uygulanan işlem basamaklarının özet gösterimi	18
3.2.1. İntrakranial basınç probu yerleştirildikten sonra kafanın görüntüsü	19
3.3.1. Farede skalp insizyonu	21
3.3.2. Drillenmiş ve drillenmemiş parietal kemiklerin görüntüsü	21
3.4.1. İnternal karotid artere filaman yerleştirilmesindeki diseksiyon ve işlem aşamaları	24
3.6.1. Açık alan testi için kullanılan siyah kutu	26
4.1.1. Sol MCA sulama alanına ait serebral kan akımı değerleri	28
4.2.1. İskemik depolarizasyona bağlı LSCI sinyalinde azalma	29
4.3.1. Sham ve kontrol gruplarında SAK indüksiyonun takip eden 5-30. dakikalar arası sağ ve sol hemisfere ait kan akımı değerlerinin ortalaması	31
4.3.2. Sham ve kontrol beyin resimleri	31
4.3.3. Çini mürekkebi ile perfüzyon	33
4.4.1. ICP probunun etkisi	35
4.5.1. Dört farklı sulama alanına ait bazal, kanama sonrası 5. dk ve kanama sonrası 24. saat serebral kan akımı düzeylerinin seyri	37
4.5.2. Renk kodu verilmiş serebral kan akımı verisi	37
4.5.3. Sağ hemisfere ait 5. dakika ortalama serebral kan akımı değerleri	38

4.5.4.	Sol hemisfere ait 5. dakika ortalama serebral kan akımı değerleri	39
4.5.5.	Kanama sonrası 5. dakika serebral kan akımı düzeylerinin istatistiki karşılaştırılması	40
4.6.1.	Sağ hemisfere ait 24. saat ortalama serebral kan akımı değerleri	42
4.6.2.	Sol hemisfere ait 24. saat ortalama serebral kan akımı değerleri	43
4.6.3.	Kanama sonrası 24. saatte serebral kan akımı düzeylerinin istatistiki karşılaştırılması	44
4.7.1.	Kontrol, sham, yüksek ve düşük doz squalene gruplarında farelerin açık alan lokomasyon testinde katettikleri mesafeleri gösteren grafik	46
4.7.2.	Kontrol, sham, yüksek ve düşük doz squalene gruplarında farelerin açık alan lokomasyon testinde katettikleri yolların izleri	46
4.8.1.	Sham grubuna ait cresyl violet boyaması	48
4.8.2.	Sham grubu dışında kalan gruplarda cresyl violet boyaması	49
4.9.1.	TUNEL boyaması	51
4.10.1.	Deney gruplarında intraluminal fibrin tıkaçlar	53
4.11.1.	Gruplardaki kilo kaybı	54
5.1.	Kontrol SAK grubu farelerden birine ait serebral kan akımı değişim grafiği	56
5.2.	Fare kafatasına epidural bölgeye ICP probu yerleştirilmesi	59

TABLÖLAR

Tablo		Sayfa
2.7.1.	Fare filaman perforasyon SAK modelleri	9
3.1.	Deney gruplarına uygulanan işlemler	18
5.3.	Nörolojik değerlendirme skorları ve standart sapma değerleri	63

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Intrakranial anevrizmalara bağlı olarak gelişen spontan subaraknoid kanamalar, tüm inmelerin yalnızca %5'lik bir kısmından sorumlu olsalar da görece daha genç yaş grubunda görülmeleri ve ölüm oranlarının yüksek olması nedeniyle neredeyse iskemik inmeyle eşdeğer sosyoekonomik yüke sebep olmaktadır (1). Anevrizmal subaraknoid kanama (aSAK) geçiren hastaların yaklaşık %15'i daha hastaneye ulaşmadan kaybedilmektedir (2). Geri kalan hastalar, kanamaya neden olan anevrizma başarılı bir şekilde tedavi edilip tekrar kanamanın önüne geçilse bile, ilk kanamanın beyinde yol açtığı hasarlar ve devam eden patofizyolojik süreçler nedeniyle ciddi mortalite ve morbidite riski devam etmektedir. Anevrizmal subaraknoid kanama geçiren hastaların üçte biri, olayı takip eden ilk bir ayda kaybedilmekte, taburcu olabilenlerin de önemli bir kısmı eski işlerine dönememektedir (3).

İlk tanımlanmasının ardından 40 yılı aşkın süre geçmesine rağmen, aSAK'ın ikincil hasarlarını tedavi etmede ya da önlemede ciddi bir ilerleme sağlanamamıştır. Merkezi sinir sistemine etki edecek terapötik maddelerin hızla metabolize edilmesi ve kandan temizlenmesi, bunun yanı sıra terapötik maddelerin kan beyin bariyerinden kolayca geçememeleri, merkezi sinir sistemi için ilaç geliştirilmesinin önündeki önemli engellerdendir. Subaraknoid kanama geçiren hastalarda meydana gelen gecikmiş serebral iskeminin altında yatan patofizyolojik süreçlerin tam olarak anlaşılammış olması ya da sonuçlar ile nedenler arasında isabetli ilişki kurulamaması, bu ciddi hastalığa uygun tedaviler geliştirilememiş olmasına katkı sağlamaktadır.

Yakın zamanda yapılan bir çalışma *squalene* ile konjüge edilmiş adenosin moleküllerinin deneysel fare inme ve spinal kord travma modellerinde, nöronal koruma sağladığını ve farelerin nörolojik fonksiyon skorlarını iyileştirdiğini göstermiştir (4).

Bu tez çalışmasında filaman perforasyon yöntemi ile oluşturulan fare subaraknoid kanama modelinde squalene adenozin nano parçalarının lazer beneklenme kontrast görüntüleme (*LSCI-laser speckle contrast imaging*) yöntemi kullanılarak ölçülen serebral kan akımı (SKA) seviyelerine etkisi, erken beyin hasarının histolojik bulgularına katkısı ve bunların farelerin fonksiyonel skorları ile ilişkisini incelemek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Vazospazm ve Kanama Sonrası Serebral İskemi

Arteriyel kanın subaraknoid mesafeye dolması sonucunda, intrakranial basınçta ani ve çok şiddetli bir yükselme meydana gelir ve serebral perfüzyon basıncı düşer. İntrakranial basınçtaki bu yükseklik uzun süre devam edecek olursa, global serebral iskemi nedeniyle hastada bilinç kaybına, hatta ölüme yol açabilir. Anevrizmal subaraknoid kanama geçiren hastaların yaklaşık beşte biri, daha hastaneye ulaşmadan ölmektedir (5). Hastaneye ulaşabilen ve anevrizması başarılı bir şekilde kapatılan hastalar için de mortalite tehlikesi geçmiş değildir, zira aSAK oluşmasını takip eden ilk bir ay içerisinde mortalite riski %30 civarındadır. Bu hastalarda mortalite nedeninin yaygın serebral enfarktlar olduğu uzun yıllar önce ortaya konulmuş (6) ve bu enfarktların nedeninin, aSAK geçiren hastaların %40 %60'ında görülen ve kanama sonrası 7 ila 10. günde ortaya çıkan büyük arter spazmları olduğu düşünülmüştür (7).

Son yıllarda, subaraknoid kanama sonrası gelişen mortalite ve morbiditeden sorumlu etkenin büyük damarlarda gelişen anjiyografik vazospazm olduğundan şüphe duyulmasına neden olacak birkaç bulgu ortaya konulmuştur. Örneğin anjiyografik vazospazm gelişen geniş arterlerin sulama alanları ile beyin parenkiminde oluşan yama tarzındaki enfarkt alanlarının yerleri örtüşmemektedir (8, 9). Ayrıca, anjiyografik olarak vazospazmı azalttığı gösterilmiş olan endotelin reseptör antagonisti *clazosentan*'ın, randomize kontrollü bir çalışmada plasebo ile kıyaslandığında subaraknoid kanama sonrası mortalite ve morbidite oranlarını değiştirmedeği gösterilmiştir(10). Yakın zamanlı klinik ve deneysel çalışmalarda, intrakranial basıncın normale dönüp serebral perfüzyon basıncının tekrar sağlanmasına rağmen daha kanamanın ilk gününden itibaren serebral kan akımında düşüklük olabildiği gösterilmiştir (11, 12). Bu bulgular, subaraknoid kanama sonrası iskeminin patofizyolojisinde büyük damar vazospazmından daha başka

mekanizmalar olabileceğini düşündürmüş ve erken beyin hasarı kavramının öne sürülmesine yol açmıştır.

2.2. Erken Beyin Hasarı Kavramı

İlk kez 2004 yılında, subaraknoid kanama (SAK) geçiren hastalarda daha vazospazm gelişmeden önce, ilk 72 saatte oluşan akut patofizyolojik olayları açıklamaya yönelik ‘erken beyin hasarı’ (*early brain injury*) kavramı ortaya atılmıştır (13). Günümüzde erken beyin hasarının, SAK sonrası olumsuz sonuçlar açısından belirleyici olarak görülen serebral vazospazmdan daha önemli olduğu görüşü geçerlilik kazanmaktadır (14). Bu bağlamda, klasik olarak serebral iskeminin asıl nedeni olarak kabul edilen büyük arterlerin vazospazmı kavramına alternatif olarak yeni mekanizmalar öne sürülmektedir.

2.3. Serebral İskeminin Nedeni Olarak Mikrodolaşım Bozuklukları

Yukarıda da bahsedildiği üzere, aSAK geliştikten kısa süre sonra (yaklaşık 15 dakika içinde) intrakranial basınç, kanama sonrası meydana gelen intrakranial hematoma boyutuna bağlı olarak değişmekle beraber kanama öncesi ya da kanama öncesine yakın değerlere geri döner ve serebral perfüzyon basıncı restore edilir. Klinik ve deneysel çalışmalarda, henüz büyük arterlerde vazospazmın görülmediği bu erken dönemde serebral perfüzyon basıncının yeterli olmasına rağmen, serebral kan akımının bozuk olduğuna dair bulgular ortaya konulmuştur. Bu bulgular, serebral kan akımı bozukluğunun patofizyolojisinde daha küçük çapta damarların rol oynadığını düşündürmektedir (15).

Serebral damarları saran kanın akut vazokonstriksiyon yapabildiği Herz tarafından 1975’te ortaya konulduktan sonra, daha yakın tarihli deneysel sıçan subaraknoid kanama modellerinde subaraknoid mesafedeki damarlarda histolojik yöntemler kullanılarak benzer spazmlar gösterilmiştir. Yine bu deneylerde serebral perfüzyon basıncından bağımsız olarak, vazokonstriksiyonun düşük serebral perfüzyon basıncı, artmış kanama boyutu ve inatçı olarak yüksek seyreden ekstraselüler glutamat düzeyleri ile ilişkisi ortaya konulmuştur (16). Klinik olarak da

Uhl ve Pennings, aSAK geçiren hastalarda direkt olarak serebral mikrosirkülasyonu ve pial damarlarda inci kolye şeklindeki vazokonstriksiyonu gözlemleyen ilk araştırmacılar olmuşlardır (17, 18). Deneysel SAK modellerinde, kanamadan sonraki ilk saatlerde içinde başlamış olup, 72 saate kadar devam eden oldukça benzer vazokonstriksiyon örüntüleri gözlenmiştir. Kan akımının %60-%80 oranında azalmasına neden olan bu mikrovazospazmlar, en belirgin olarak 10-20 µm çaplı arteriollerde gözlenirken, pial venül ya da venlerde hiç gözlenmemiştir (19).

Kanama sonrası gelişen mikrovazospazmın altında yatan patofizyolojik mekanizmalar açık değildir; ancak, klinik ve deneysel veriler, ortamdaki azalmış *nitrik oksit*'in (NO) bunda önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir. Normal fizyolojik koşullarda, kanda CO₂ basıncı arttığında, NO aracılıklı bir vazodilatasyon görülmesi beklenirken, aSAK geçiren hastalarda, CO₂ reaktivitesinin azaldığı görülür. Subaraknoid kanamada, NO ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) seviyelerinin akut olarak düştüğünün gösterilmesi NO eksikliği ile vazospazm arasında ilişki kuran hipotezi desteklemektedir (20).

Mikrovasküler düzeyde meydana gelen vazospazmdan sorumlu olabilecek diğer bir mekanizma ise, K⁺ ve homeostazındaki bozukluk ve voltaj bağımlı Ca⁺⁺-kanal aktivitesinde artışa bağlı olarak meydana gelen parenkimal arteriolar miyositlerin kasılmasıdır (21).

2.4. Serebral İskemi Nedeni Olarak Mikrotromboz

Mikrodolaşımdaki bozulmaya katkı sağlayan bir diğer mekanizmanın da mikrovasküler yapılarda meydana gelen mikrotrombüsler olduğu ileri sürülmektedir. Deneysel çalışmalar trombozun kanama sonrası ilk 10 dakikada ve 24. saatte olmak üzere en üst noktaya çıktığı iki zaman dilimi olduğunu, 48 saat sonunda ise mikrotrombüslerin kaybolduğunu ortaya koymaktadır (22). Mikrotrombüsler yalnızca, vazospazm sonucu daralmış damarlarda görüldüğünden, trombüs oluşumunda altta yatan sebebin akımın yavaşlamasıyla beraber spontan trombosit agregasyonu olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra fizyolojik koşullarda trombosit agregasyonunu inhibe eden NO'nun, SAK sonrası seviyesinin azalmasına bağlı

olarak mikrotrombüs geliştigi düşünölmektedir. Agrege olan ve bunun sonucunda aktive olan trombositlerden salinan *thromboxane* de vazokonstriksiyonun konsolide olmasına katkıda bulunmaktadır. Bu mekanizmalardan başka, trombosit agregasyonu, endotel hasarına sebep olarak kan beyin bariyerinin bozulmasına yol açmaktadır.

2.5. Kan Beyin Bariyeri Harabiyeti

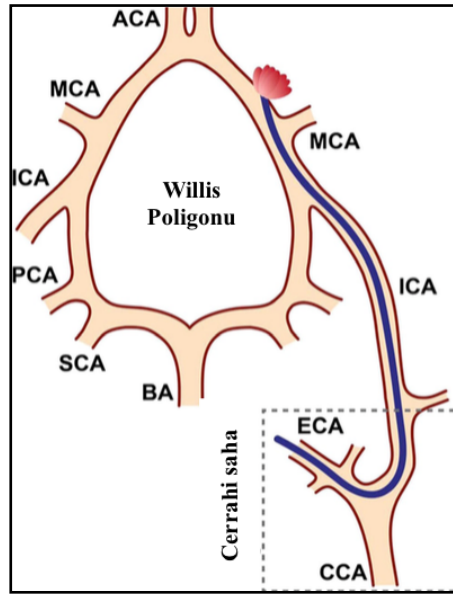
Mikrovasköler hasarın diğer bir özelliği de, kanama sonrası üç saat kadar erken bir sürede başlayıp, 72 saat kadar süren, vazojenik ödeme bağlı beyin su içeriğinde artışa yol açan kan beyin bariyeri harabiyetidir (23). Beyin su içeriğinin artması, intrakranial basıncın yükselmesine, dolayısıyla beyin perfüzyonunun bozulmasına yol açar. Artmış basıncın mikrovasköler yapılarda kollapsa yol açması ve astrosit son ayaklarının şişmesi sonucu kapiller damarlarda meydana gelen daralma yine aynı şekilde dolaşımın bozulmasına yol açar (24). Kan beyin bariyeri harabiyetinin altında yatan moleköler mekanizmalar arasında, *matrix metalloproteinase*'lar, özellikle de *matrix metalloproteinase-9*, *aquaporin* miktarında artış, *hypoxia-inducible factor 1- α* , *endothelial growth factor* ve *mitogen-activated protein kinase* bulunmaktadır.

2.6. Kortikal Yayılan Depolarizasyonlar

Kortikal yayılan depolarizasyonlar, serebral korteks üzerinde dakikada 2 ila 6 mm hızında ilerleyen depolarizasyon dalgalarıdır. Normal fizyolojik koşullarda, depolarize olmuş olan nöronların repolarizasyonu için gerekli olan enerji bölgesel kan akımının artmasına eşlik eder. Kanama olan beyindeyse, depolarizasyona eşlik etmesi gereken kompensatuvar hiperemi, örneğin ortamda bulunan hemoglobinin NO'yu bağlaması ya da NOS inhibisyonu nedeniyle gözlenemez; aksine kortikal yayılan depolarizasyona, kortikal yayılan iskemi eşlik eder. Dolayısıyla, aSAK sonrası meydana gelen bu tür bir iskeminin beyin hasarında bir rolü olduğu düşünölmektedir (25).

2.7. Fare Filaman Perforasyon Subaraknoid Kanama Modeli

Fare filaman perforasyon modeli, kafatası açılmadan, herhangi bir enjeksiyon yapılmadan, görece az invaziv şekilde *anterior cerebral artery* (ACA)'nin intraluminal olarak perforasyonuna dayanan, insanda meydana gelen aSAK'ı taklit eden bir SAK modelidir. Esasen sıçan filaman perforasyon modelinin bir modifikasyonudur. Kanama sonrası üçüncü günde maksimum düzeyde vazospazm oluşması, ani intrakranial basınç artışı meydana gelmesi ve kortikal nöronal dejenerasyona neden olması nedeniyle, insandaki durumu iyi bir şekilde modelleyen bir yöntemdir (26). Bu modelde, supin pozisyonda yatan farede boyun diseksiyonu yapıldıktan sonra, *common carotid artery* (CCA), *external carotid artery* (ECA) ve *internal carotid artery* (ICA) ortaya konularak, ECA güdüğünden ICA'ya naylon filaman ilerletilmesi ile ACA'da kanama oluşturulur (Şekil 2.7.1).



Şekil 2.7.1. Fare Willis Poligonu ve perforasyon bölgesi. Bühler ve ark. (27)'dan değiştirilerek alınmıştır.

Filaman perforasyon modeli, sisternal kan enjeksiyonu modelinde mümkün olmayan, ani ve uzamış bir intrakranial basınç artışını mümkün kılar. Yine bu modelde kanın klinikte görülene benzer şekilde subaraknoid mesafeye yayıldığı görülür. Bu nedenle, filaman perforasyon modeli, vazospazm ve nöronal dejenerasyon çalışmaları için en uygun model olarak görülmektedir. Transgenik ve

knock-out farelerin üretilmesinde kaydedilen ilerleme, farelerde uygulanan bu modeli pek çok moleküler çalışmanın tasarlanmasına da olanaklı kılmaktadır (3).

Tablo 2.7.1'de literatürde fare filaman perforasyon modeli kullanılarak yapılan deneysel çalışmalar sıralanmıştır (28-30).

Tablo 2.7.1. Fare filaman perforasyon SAK modelleri

Yazar, yıl	Soy	Ağırlık	Filaman	İncelenen parametre	Örnekleme	Mortalite
Kamii, 1999	C57BL/6	35-40 gr	5/0 naylon	SOD'un CVS'a etkisi	4, 24, 72 saat; 7, 14 gün	%27
Saito, 2001	CD-1	35-40 gr	5/0 naylon	CuZn-SOD'un iNOS'a etkisi	24, 72 saat; 7 gün	%19
McGirt, 2002	C57BL/6	-	5/0 naylon	Simvastatin'in eNOS'a etkisi	72 saat	-
McGirt, 2002	C57BL/6	25±2 gr	5/0 naylon	SOD'un CVS'ye etkisi	72 saat	%9
Parra, 2002	C57BL/6	33±4 gr	5/0 naylon	Model tanımlama	72 saat	-
Borel, 2002	C57BL/6	-	5/0 naylon	CVS ve vasküler hücre proliferasyonu ilişkisi	3, 24, 72 saat	-
Mino, 2003	CD-1	35-40 gr	5/0 naylon	Nörogenez	1-30 gün	%29
Gao, 2006	C57BL/6	-	5/0 naylon	CVS ile Apolipoprotein E4 ilişkisi	72 saat	%18-38
Mesis, 2006	C57BL/6	-	5/0 naylon	Nimodipine etkisi	72 saat	-
Liu, 2007	C57BL/6	-	5/0 naylon	NADPH oxidase aracılı oksidatif stress	24 saat	%15
Ishikawa, 2009	C57BL/6	21-25 gr	6/0 naylon	İntravital flöresan mikroskopisi	30 dakika; 2, 8 saat	%100
Sozen, 2009	CD-1	35-40 gr	4/0 naylon	IL-1 ve erken beyin hasarı	24, 72 saat	%11-38
Suzuki, 2009	CD-1	35-40 gr	4/0 naylon	Caspase-1 inhibitörü ile nörojenik pulmoner ödem ilişkisi	24 saat	%11-38
Wakade, 2009	CD-1	-	5/0 naylon	Curcumin ile CVS/enfarkt ilişkisi	72 saat	%13
Feiler, 2010	C57BL/6	-	5/0 polipropilen	Model tanımlama	24, 72 saat; 7 gün	%30
Sehba, 2010	C57BL/6	20-25 gr	5/0 poly dioxanone	Adenozin A2A reseptörleri ve erken vasküler yanıt ilişkisi	1, 3, 6 saat	%35
Ayer, 2011	CD-1	20-25 gr	5/0 naylon	COX-2 inhibisyonunun nöron koruyucu etkisi	72 saat	%14
Friedrich, 2011	C57BL/6	23-25 gr	5/0 naylon	In-vivo uzun süreli mikroarteriyel konstriksiyon ve mikrotromboz	3, 6, 72 saat	%29
Pisapia, 2011	C57BL/6	18-25 gr	5/0 naylon	Mikropıhtıların zamanla değişimi	1, 2, 3, 4 gün	%33

Tablo 2.7.1. Devamı

Yazar, yıl	Soy	Ağırlık	Filaman	İncelenen parametre	Örnekleme	Mortalite
Sheng, 2011	C57BL/6	20-25 gr	5/0 naylon	Etil nitrit inhalasyonunun S-nitrosilated hemoglobin üzerine etkisi	72 saat	%20-40
Scholler, 2011	C57BL/6	20-25 gr	5/0 polipropilen	Bradikinin B1 ve B2 reseptörlerinin rolü	24 saat; 7 gün	%0-82
Vellimana 2011	C57BL/6	-	5/0 naylon	<i>Preconditioning</i> 'in nörovasküler koruyucu etkisi	48 saat	%6-7
Altay, 2012	CD-1	30-38 gr	4/0 naylon	İzofloranın erken beyin hasarı üzerinde koruyucu etkisi	24, 72 saat	%20-50
Altay, 2012	CD-1	30-38 gr	4/0 naylon	İzofloranın KBB'yi koruyucu etkisi	24 saat	%23-39
Egashira, 2015	C57BL/6	22-30 gr	5/0 naylon	MR ile derecelendirme	24 saat	-
Pang, 2016	C57BL/6J C57BL/6	18±0.4 gr	5/0 naylon	Apolipoprotein ve erkebe beyin hasarı ilişkisi	72 saat	%29-39
Peng, 2017	C57BL/6	-	5/0 naylon	LncRNA, mRNA ve inflamasyon ilişkisi	24 saat	-

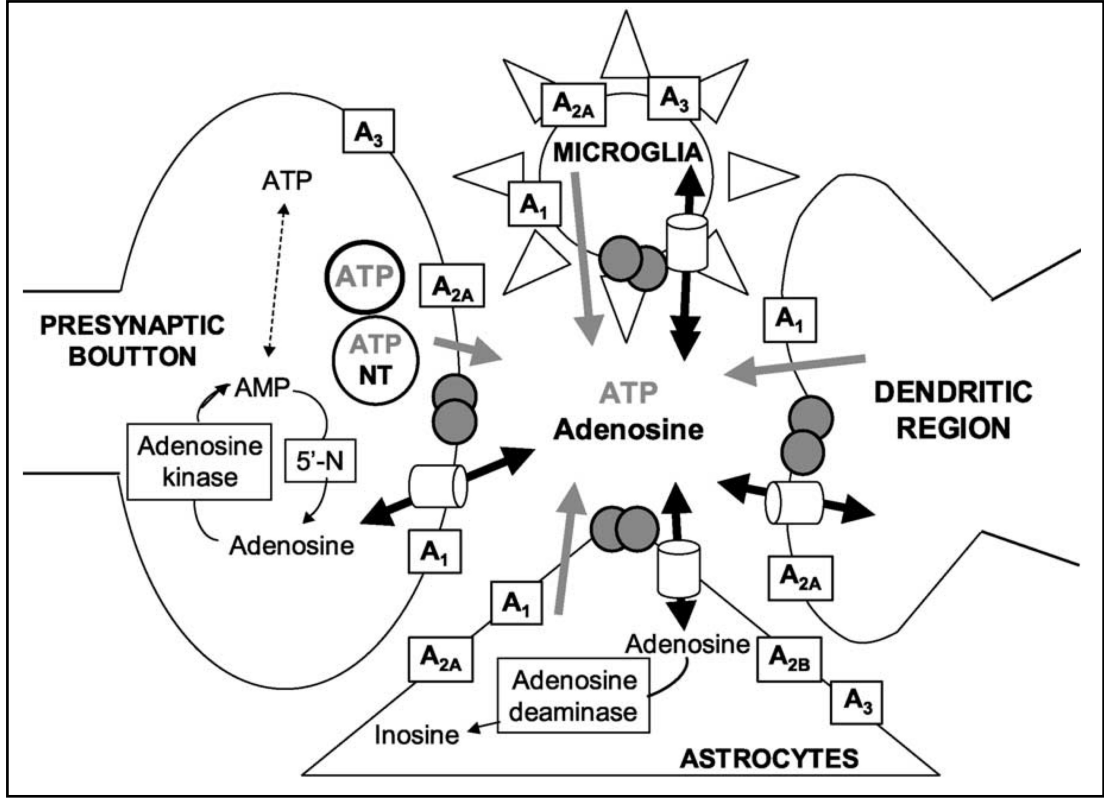
2.8. Bir Nöromodülatör Olarak Adenozin

Adenozin, merkezi sinir sisteminde pek çok işlevi olan endojen bir nöromodülatördür. Beyindeki enerji gereksinimi ile enerji iletimi arasında bir dengesizlik olduğunda adenozin seviyesi yükselir. Bu nedenle, artmış nöronal aktivite, özellikle de iskemi ve hipoksi durumlarında adenozin seviyesinin belirgin derecede yükseldiği görülür (31).

Adenozin klasik bir nörotransmitter gibi işlev görmez: veziküllerde depolanmaz, eksositoz ile salınmaz ya da presinaptik bölgeden postsinaptik bölgeye tek yönlü bir sinyal iletimi sağlamaz. Bunun yerine, hem homeostatik transselüler bir mesajcı (*messenger*) hem de nörotransmitter salınımını ve nöronal uyarılabilirliği kontrol eden bir nöromodülatör olarak işlev görür (31).

Adenozinin işlevleri yüksek afiniteli A_1 , A_{2A} ; düşük afiniteli A_{2B} ya da seyrek A_3 reseptörlerinin uyarılması ile yürütülür. Reseptörlerin inhibitör (A_1 , A_3) ya da stimülatör (A_{2A} , A_{2B}) G-proteinlerine eşleşebilmesi ve beynin farklı bölgelerinde farklı reseptör tiplerinin olması nedeniyle adenozinin çok farklı fonksiyonlar göstermesine olanak sağlar.

Adenozinin sinaptik aralıktaki seviyelerinin kontrolü astrositler tarafından düzenlenir (Şekil 2.8.1) (32, 33). Fizyolojik koşullarda sinaptik aralıktaki adenozinin kaynağı, astrositik veziküllerden salgılanan ATP'dir. Açığa çıkan adenozin *ectonucleotidase*'ler yoluyla degrade edilir. İntraselüler olarak ise adenozin, adenozin kinaz tarafından hızla fosforile edilerek AMP'ye dönüştürülür. Adenozin kinaz, erişkin beyninde en yaygın olarak astrositlerde eksprese edilen, adenozin metabolizmasının anahtar enzimidir.



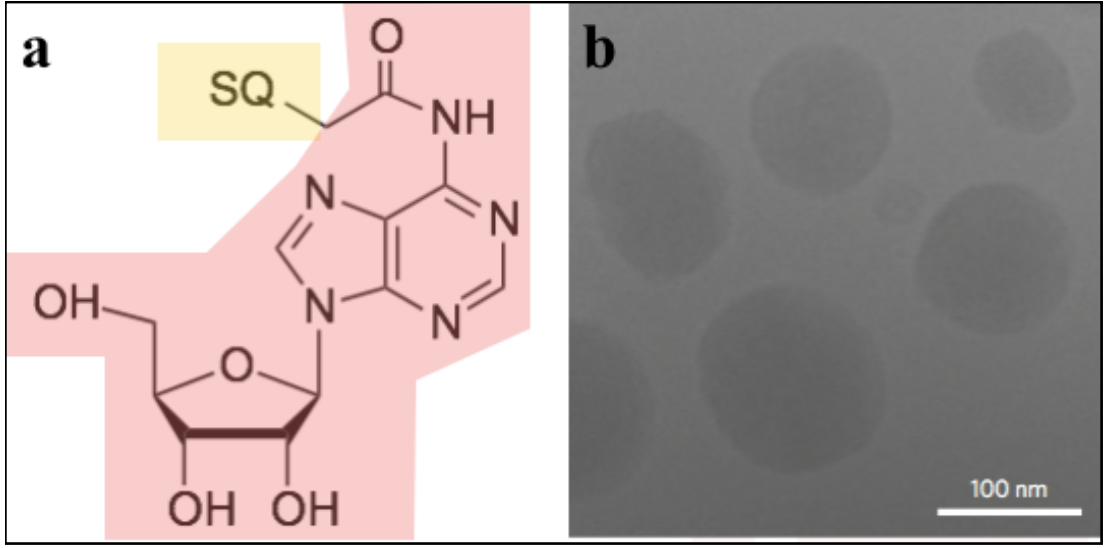
Şekil 2.8.1. Adenosin oluşumu ve beynin farklı türdeki hücrelerinde adenosin etkisini gösteren şema. Farklı hücreler (mikroglia, astrosit) ve hücre içi kompartmanlar (presinaptik buton, nöronların dendritik bölgeleri) hem adenosin trifosfat (gri çizgiler) hem de adenosin (siyah çizgiler) salabilir. Bu hücreler *ectonucleotidase* aktivitesine sahip olup, ATP'yi adenosine çevirebilir ve adenosin taşıyıcıları vasıtasıyla (silindirler) plazma membranından hücre içine ya da dışına doğru adenosin taşıyabilirler. Tüm bu kompartmanlar bir ya da birden fazla adenosin reseptörü çeşidi (A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃; dikdörtgenler) ile donatılmıştır. Tüm hücre tipleri, ATP ve AMP'yi birbirine çevirebilir (Presinaptik butonda kesikli çizgi). Adenosinin ortamdan uzaklaştırılması, astrositlerde adenosin deaminaz yoluyla olurken, sinir hücrelerinde adenosin kinaz yoluyla olur. (Fredholm ve ark (31)'dan alınmıştır)

Serebral iskemeiye akut cevabın bir parçası olarak adenozin seviyesinin yükselmesi, onun endojen nöroprotektif mekanizmanın bir parçası olduğunu göstermektedir. Adenozinin, 'iskemik tolerans' adı verilen beyni koruyucu *ischemic preconditioning*'in erken fazında rol alıyor olması muhtemeldir (34). Yakın zamanlı bir çalışma, fare orta serebral arter oklüzyon modelinde, oklüzyonu takip eden ilk 3 saatte astrosit kökenli adenozin kinaz enziminin miktarının azaldığını göstermiştir (35). Adenozin kinaz enzimi miktarındaki düşüş, ortamdaki adenozin miktarında belirgin bir artışa yol açtığından, bunun beyin hasarına karşı endojen bir koruma mekanizmasına işaret ettiği söylenebilir. Bu hipotezi destekleyecek diğer bir bulgu da, adenozin kinaz gen ifadesinin artmış olduğu transgenik farelerde, orta serebral arter oklüzyonuna bağlı hücre ölümüne duyarlılığın artmış olmasıdır (36). Aksine, adenozin kinazdan yoksun nöral ya da glial progenitör hücrelerin, orta serebral arter oklüzyonu yapılmadan bir hafta önce striatuma transplante edildiği fare grubunda, hasarlı beyin hacminde belirgin azalma gözlenmiştir (37). Bu bulgular, iskemi nedeniyle meydana gelen hücre ölümünün, adenozin aktivitesi ile sıkı bir biçimde dengelendiğine işaret etmektedir.

2.9. Squalene Adenozin

Adenozin, çeşitli nörolojik bozukluklarda ciddi bir fayda potansiyelinin olmasının yanı sıra, kısa plazma yarı ömrü, ciddi yan etkileri ve kan beyin bariyerini geçemiyor olması nedeniyle serebral hastalıklarda kullanım alanı bulamamıştır (38).

Adenozin molekülü, doğal ve biyo-uyumlu bir yağ olan *squalene* ile presipite edildiğinde her bir molekülü amfifilik özellikte bir ön-ilaç olan ve spontan olarak bir araya gelerek yaklaşık 120 nm çaplı nanoküreler oluşturan biyokonjüгатlar oluşturur (4) (Şekil 2.9.1). Bu sayede adenozinin hızla metabolize edilmesi önlenmiş, nörovasküler ünite ile daha uzun süre etkileşmesi sağlanmış ve sistemik toksisitenin önüne geçilmiş olur. Squalene ile konjüğe edilmiş adenozin molekülünün, fare orta serebral arter oklüzyon inme ve fare spinal kord travma modelinde nöronkoruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (4).



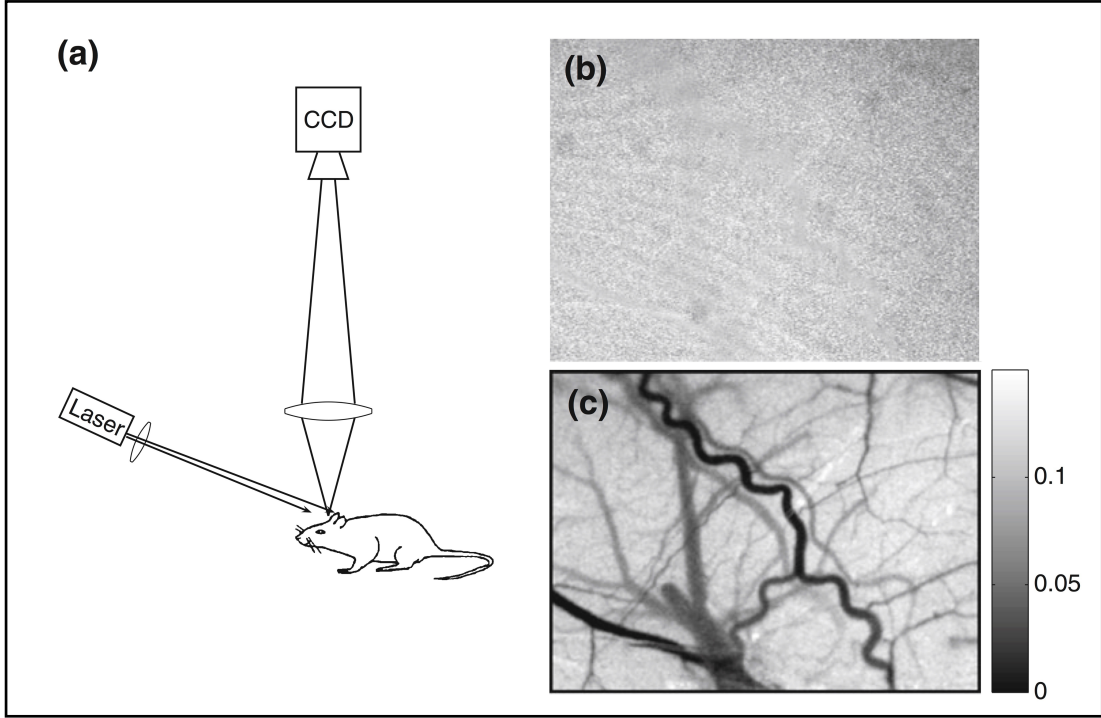
Şekil 2.9.1. Squalene-adenozin molekülünün şematik gösterimi (a). Konjügasyon sonrası squalene-adenozin molekülü spontan olarak yaklaşık 120 nm çapında nanoküreler oluşturur. Şekilde (b) nanokürelerin cryoTEM ile görüntülemesine bir örnek verilmiştir. (Gaudin ve ark. (4)'dan değiştirilerek alınmıştır)

2.10. Lazer Beneklenme Kontrast Görüntüleme

Dinamik olarak *in vivo* kan akımının gösterilmesi, pek çok uygulama alanı ve pek çok hastalık durumu için faydalı bir yöntemdir. Klinikte kan akımının değerlendirilmesi için magnetik rezonans (MR), bilgisayarlı tomografi (BT) ve ultrason kullanılırken, araştırma ortamında lazer dopler, beneklenme kontrast görüntüleme (*speckle contrast imaging*) ve foton korrelasyon spektroskopisi gibi, dinamik ışık saçılımına dayalı yöntemler kullanılmaktadır (39).

Laser Doppler Flowmetry, iyi oturmuş bir yöntem olmasına karşın, tek bir uzaysal lokalizasyondan veri alabilmesi kullanımını sınırlamaktadır. Daha yakın zamanda kullanılmaya başlayan LSCI geniş bir yüzeyden kan akımı verisi toplayabilir (39).

Herhangi bir obje, koherent lazer demeti ile aydınlatıldığında, objeden yansıyor kameradaki her bir piksele ulaştığında ışınların izlediği yollarda çok küçük de olsa uzunluk farkları olduğundan, kamerada bir beneklenme örüntüsü oluşur. Aydınlatılan obje, hareketli bir obje olduğunda (ör. eritrosit), oluşan beneklenme zamanla değişen bir dalgalanma gösterir (Şekil 2.10.1). Kameranın pozlama süresi, benek yoğunluğu dalgalanmalarının zaman ölçeğinden daha uzun olduğunda (biyolojik dokularda bu süre tipik olarak 1 ms'nin altındadır), benek deseninin bulanıklaşmasına neden olur. Hızlı hareket olan bölgelerde, bulanıklaşma daha belirgin olup, bu bölgelerde beneklenmenin uzaysal kontrastı azalır (39). Bu prensip kullanılarak, pek çok dokudan gerçek zamanlı kan dolaşımı verisi elde etmek mümkündür.



Şekil 2.10.1. Basit bir LSCI yöntemi düzeneği, bir lazer kaynağı, görüntülenecek obje ve bir kameradan oluşur (a). Sıçan (ya da fare) korteksinin ham görüntüsü, pek az bilgi içeriyor gibi gözükse de (b), beneklenme kontrastı hesaplandığında, görüntü alanında saçılma neden olan parçacıkların hareketine dair önemli miktarda veri elde edilebilir (c). (Dunn'dan (39) alınmıştır)

2.11. Açık Alan Lokomotor Aktivite Testi

Açık alan testi ilk olarak 1934 yılında, kemirgenlerin duygusal durumlarını değerlendirmek için geliştirilmiştir (40); ancak günümüzde kemirgenlerde inme sonrası motor fonksiyonu ve arayıcı hareketleri değerlendirmede yaygın olarak kullanılmaktadır (41). Fare iskemi modellerinde, iskeminin akut evresinde farelerin hipoaktif fenotip geliştirdiği bilinmektedir (42). Bu hipoaktif evrenin ne kadar süreceği, uygulanan iskemi modeline, prosedürün şiddetine ve kullanılan fare soyuna bağlı olarak değişebilir. Hipoaktif evreden sonraki birkaç gün içinde başlayıp aylarla ifade edilen sürelerle varabilen hiperaktif bir evrenin başladığını gözlemleyen bazı çalışmalar da mevcuttur (42, 43). Sonuç olarak, iskemi sonrasında farelerde gelişen bu aktivite değişiklikleri ve çeşitli terapötik ajanların aktivite durumunda yaptığı değişimleri açık alan lokomasyon testi ile değerlendirmek mümkündür.

Bu test için, düşük ortam ışık koşullarında, farenin içine yerleştirildiğinde kendisini serbest hissedeceği kadar geniş (genellikle bir kenarı 45 50 cm uzunluğunda kare ya da çapı 45 50 cm olan daire), duvarları farenin kaçamayacağı kadar yüksek (40-50 cm), kutular kullanılmaktadır (40). Bunun yanında kutunun içinde, engel teşkil edecek ya da deneği distrakte edecek obje bulunmaz. Farenin lokomotor aktivitesi, kısa ya da uzun süreli kayıt alınacak şekilde fotosel ve ışın demetleri, kameralar ya da video takip sistemi ile kayıt altına alınıp analiz edilebilir (44).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

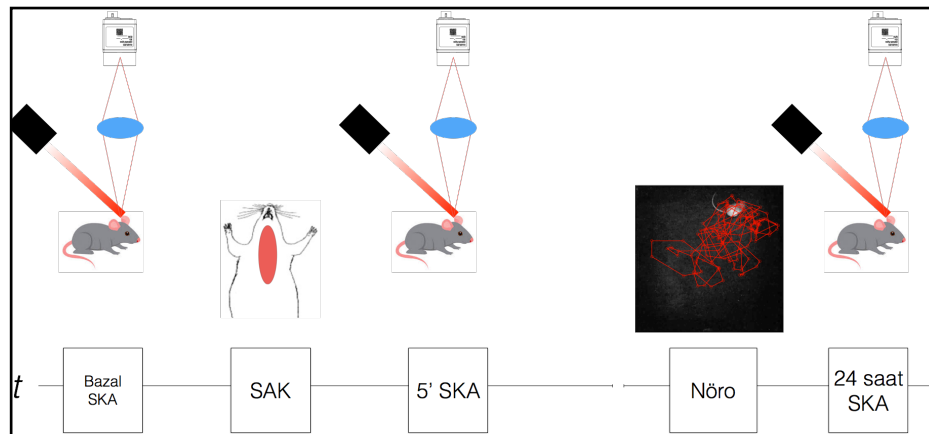
3.1. Deney Grupları

Deneylerde vücut ağırlığı 25 ile 35 gram arasında değişen Swiss Albino cinsi fareler kullanıldı. Fareler 12 saat gece 12 saat gündüz ışık şartları sağlanan standart kafeslerde barındırılıp ve gerektiği kadar yem ve suya ulaşım sağlandı. Tablo 1’de deney grupları ve her bir grupta uygulanan işlemler ve şekil 3.1.1’de işlemlerin akış şeması görülmektedir.

Tablo 3.1. Deney gruplarına uygulanan işlemler.

Deney Grubu	Bazal kan akımı ölçümü	SAK	i.v. enjeksiyon	Kontrol kan akımı ölçümü
Sham	+	-	%5 Dekstroz	+
Kontrol	+	+	%5 Dekstroz	+
Squalene	+	+	Squalene 9,50 mg/kg	+
Düşük doz adenozin	+	+	Adenozin 2,75 mg/kg	+
Yüksek doz adenozin	+	+	Adenozin 5,50 mg/kg	+
Düşük doz squalene-adenozin	+	+	Squalene-adenozin 7,50 mg/kg	+
Yüksek doz squalene-adenozin	+	+	Squalene-adenozin 15,00 mg/kg	+

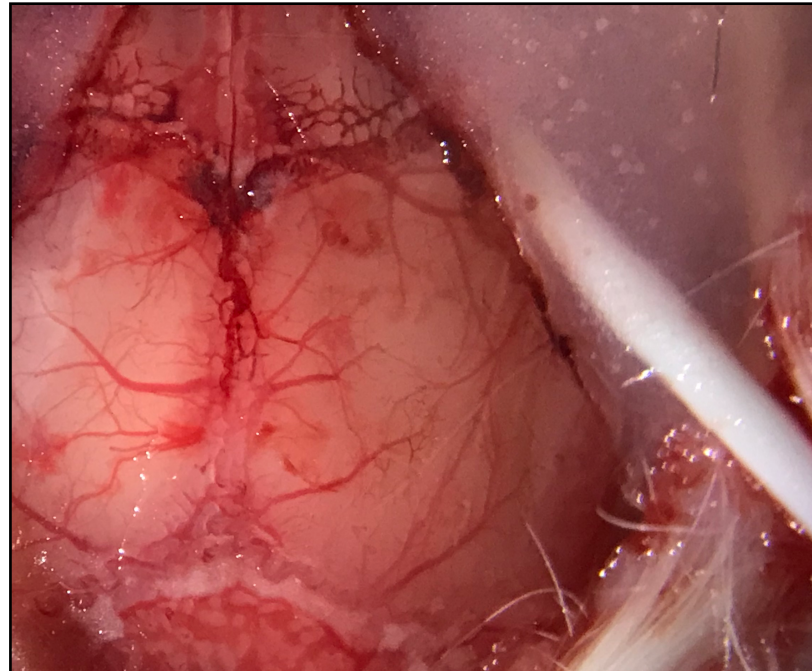
SAK: Subaraknoid kanama.



Şekil 3.1.1. Deney protokolünde uygulanan işlem basamaklarının özet gösterimi. SKA: serebral kan akımı, SAK: subaraknoid kanama, Nöro: nörolojik değerlendirme

3.2. Subaraknoid Kanamanın Eş Zamanlı İntrakranial Basınç ve Beyin Kan Akımı Ölçümü ile Doğrulanması

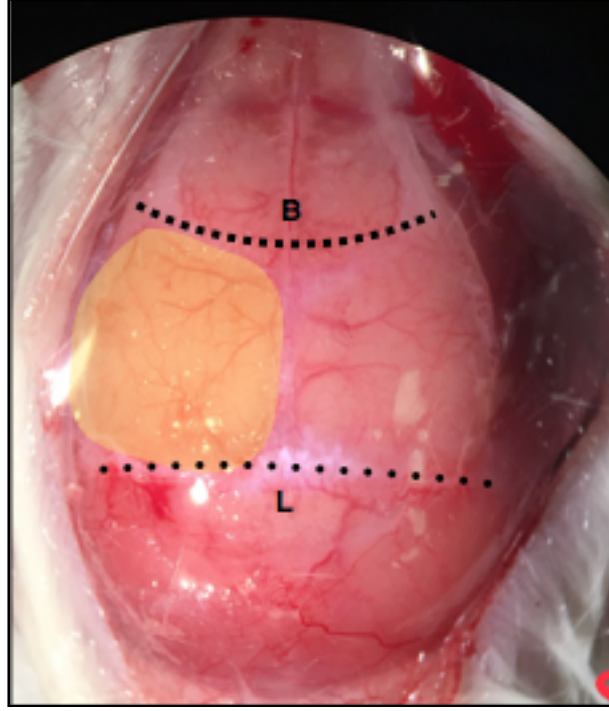
Deney gruplarında planlanan işlemler (bazal kan akımı değerlendirilmesi, filaman perforasyon yöntemi ile SAK oluşturulması, bkz. Bölüm 3.3 ve 3.4) uygulanmadan önce, LSCI ile ölçülen serebral kan akımı değerlerinin SAK oluşumunu tutarlı bir şekilde gösterip gösteremediğini belirlemek amacıyla 3 adet farede, eş zamanlı intrakranial basınç monitörizasyonu (Şekil 3.2.1) altında filaman perforasyon işlemi uygulandı. Bu amaçla, farelerde vertikal skalp insizyonu yapılarak frontal ve parietal kemikler ortaya konuldu. Cilt her iki yana ekarte edilerek, sağ temporal adele ortaya konuldu ve *linea temporalis superior*'dan diseke edilerek sağ temporal kemik ortaya konuldu. Bu noktada kemik drillenerek epidural mesafeye ulaşıldı ve açıklıktan epidural mesafeye intrakranial basınç ölçüm probu yerleştirildi (Codman ICP Express, Integra LifeSciences, NJ, USA). Bu işlemden sonra, Bölüm 3.2, 3.3 ve 3.4'te anlatılan yöntemler kullanılarak serebral kan akımı değerleri ölçüldü.



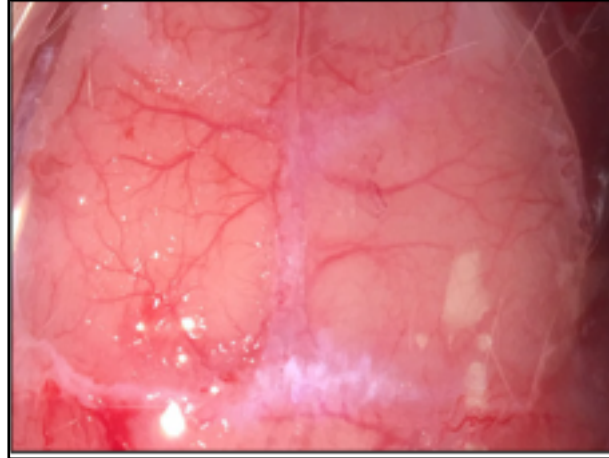
Şekil 3.2.1. İntrakranial basınç probu yerleştirildikten sonra kafanın görüntüsü.

3.3. Bazal Beyin Kan Akımının Değerlendirilmesi

Deneklere %5 izofloran 2 lt/dk oksijen karışımı solutularak anestezi indüksiyonu verildi ve nazal kanül ile %2 izofloran ve 2 lt/dk oksijen solutularak anestezi idame ettirildi. Fareler stereotaktik çerçeveye (Stoelting Co., IL, USA) yerleştirildi. İzofloran anestezisi altında skalpte yapılan vertikal insizyon ile bregma ve lamda görülecek şekilde cilt ve periost diseke edilip bilateral parietal kemikler ortaya konuldu (Şekil 3.3.1). Ardından her iki parietal kemik, durada herhangi bir kanamaya yol açmayacak şekilde yüksek hızlı drill kullanılarak dikkatlice inceltildi. Drilleme sırasında termal hasara engel olmak için drillenen yüzey devamlı olarak soğuk salin ile irrigate edildi. Kortikal damarlar berrak şekilde görülecek hale geldiğinde drillemeye son verildi. Kemiğin tam kat drillenip duranın ekspozite olmamasına özen gösterildi (Şekil 3.2.2).



Şekil 3.3.1. Farede skalp insizyonu. Kesikli çizgi koronal sütürü, noktali çizgi ise lamdoid sütürü göstermektedir. Sarı boyalı alan sol parietal kemiği, B bregmayı, L lamdayı temsil etmektedir.



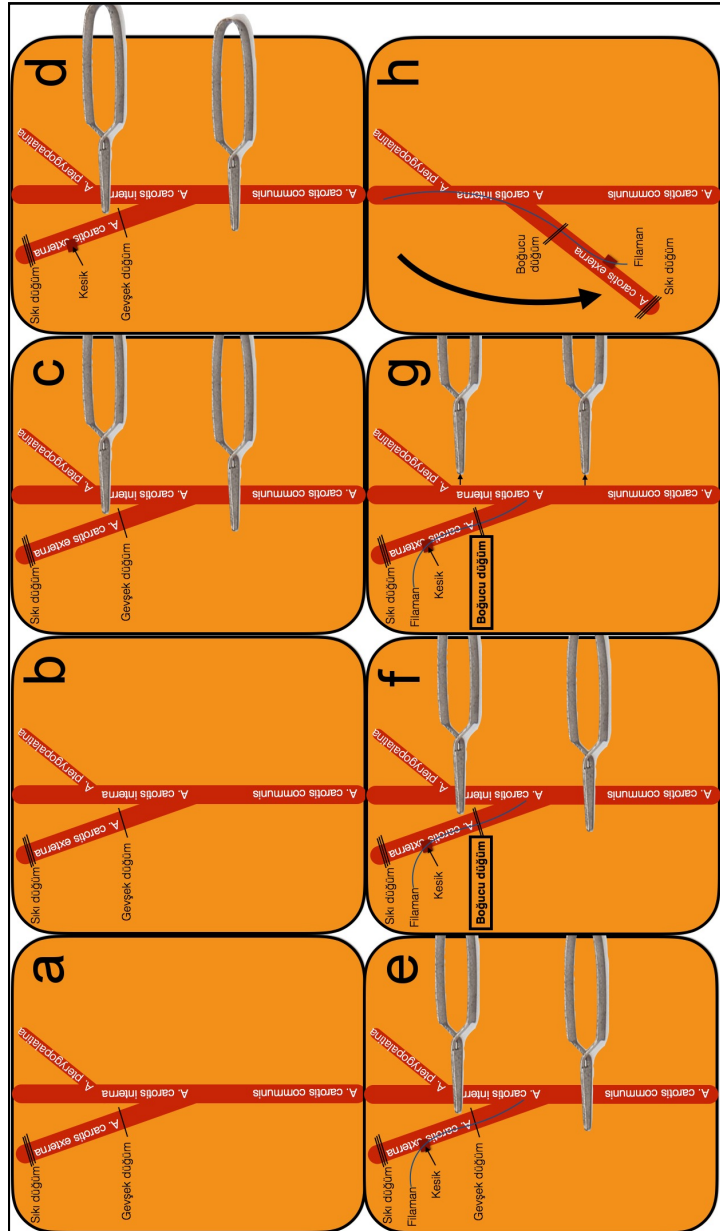
Şekil 3.3.2. Drillenmiş (sol) ve drillenmemiş (sağ) parietal kemiklerin görüntüsü. Drillenen tarafta kortikal vasküler yapılar daha net seçilebilmektedir.

Drillemenin ardından denekler stereo cerrahi mikroskop (Nikon Instruments, Japan) altına yerleştirilerek ekspozite edilmiş kemiğe mineral yağı (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) uygulandı. Bu sayede kemik üzerinde, lazer ışığının homojen şekilde geçirilmesini sağlayan bir film tabakası oluşturuldu. *Laser speckle contrast imaging* tekniği (39, 45) kullanılarak farenin baş kısmına her iki parietal kemiği aydınlatacak şekilde 450 nm dalga boyunda lazer demeti düşürüldü ve yansıyan lazer stereo mikroskoba bağlı kızılötesi CCD kamera (Basler Instruments, Germany) ile kaydedildi. Lazer saçılım örüntüsü özel bir yazılım (ImageJ) kullanılarak analiz edildi ve serebral kan akımı değişiklikleri belirlendi. Serebral kan akımı değerleri 3 dakika boyunca kaydedildi. Skalp dikilip fare stereotaktik çerçeveden çıkarıldı.

3.4. Subaraknoid kanama oluşturulması

Bazal kan akımları ölçülen denekler, anestezi kesilmeksizin supin pozisyona alındı. Sternum ile çene kemiği arasında orta hat insizyonu yapılarak derin boyun fasyası açıldı. M. digastricus venter posterior ve m. sternocleidomastoideus laterale ekarte edilmesi ile CCA görüldü. CCA'nın distale doğru takip edilmesi ile karotid bifurkasyon, ECA ve ICA görüldü. ECA distale doğru takip edilerek bifurkasyon yaptığı yerin hemen proksimalinden bağlandı. Yine ECA üzerinde, daha proksimale gevşek bir düğüm bırakıldı. ICA da yine distale doğru takip edilerek, a. pterygopalatina'nın çıkış noktası görüldü. Tüm bu arteriyel yapıların ortaya konulmasının ardından CCA ve bifurkasyonun hemen distaline olacak şekilde ICA'ya geçici klip yerleştirildi. ECA üzerine, gevşek düğümün distalinde, kalıcı düğümün proksimalinde olacak şekilde bir kesi yapılarak damarda bir açıklık meydana getirildi. Bu açıklıktan 12 mm uzunluğunda 6/0 naylon filaman akım yönünün tersinde ilerletilerek gevşek düğümün proksimaline geçildi (Pilot çalışmalarda aynı yöntem kullanılarak 5/0 naylon filaman da kullanıldı). Bu düğüm, naylon filamanın hareketine izin verecek kadar gevşek; ancak kan sızıntısına müsaade etmeyecek kadar sıkı olarak oturtuldu ve arter, içindeki naylon filaman ile boğuldu. Ardından CCA ve ICA üzerindeki geçici klipler kaldırıldı. ECA, kalıcı düğümün distalinden kesildi ve serbestleştirildi. ECA'nın proksimalde kalan güdüğü,

karotid bifurkasyon pivot noktası olacak şekilde döndürülerek ECA ve içindeki naylon filaman, ICA ile aynı doğrultuya getirildi. Birbirine hizalanan arterlerin içindeki naylon filaman ICA'ya doğru ilerletildi. Naylon filamanın a. pterygopalatina hizasını geçmesinin ardından filaman karotid kanala yönlendirildi. Bu seviyede intrakranial kompartmana geçmiş olan filaman dirençle karşılaşılan kadar ilerletildi ve bu direnç noktasından 2 mm daha ittirilerek kanama gerçekleştirildi (Şekil 3.4.1). Sham grubunda tüm işlem basamakları uygulandı ancak kanamanın oluşturulduğu son basamak uygulanmadan naylon filaman damarın içinden geri çekildi. Kanama esnasında deneğin solunumunun geçici bir süre (4 5 saniye) durduğu ya da oldukça yavaşladığı gözlemlendi. Kanama oluşturulduktan sonra naylon filaman geri çekildi ve aynı anda a. carotis externa üzerinde naylon filamanı boğmuş olan düğüm tam olarak sıkılarak retrograd kanama engellendi. Bu işlemin ardından boyun insizyonu kapatıldı ve denek serebral kan akımı ölçümünün tekrarı için stereotaktik çerçeveye alındı.



Şekil 3.4.1. İnternal karotid artere filaman yerleştirilmesindeki diseksiyon ve işlem aşamaları. (a) Boyundaki kasların diseksiyonunun ardından CCA, ECA, ICA ve a. pterygopalatina ortaya konuldu. (b) ECA olabildiğince distalden düğümlenerek kapatıldı. Bifurkasyonun hemen distalinde gevşek bir düğüm hazırlandı. (c) CCA ve ICA üzerine geçici klip yerleştirildi. (d) ECA üzerinde, iki düğüm arasında kalacak şekilde bir insizyon yapılarak lümen açıldı. (e) Bu insizyondan lümen içerisine akımın aksi yönünde 6/0 naylon filaman gönderildi. (f) ECA üzerindeki proksimal düğüm, filamanın hareketine izin verecek ölçüde gevşek ancak kanın dışarı sızmasına engel olacak kadar sıkı bir biçimde boğuldu. (g) CCA ve ICA üzerindeki geçici klipler alındı ve ECA distaldeki düğümün distalinden kesilerek ayrıldı. (h) Distal ucu serbest hale gelen ECA, ICA ile hizalanarak içerisinden naylon filaman ilerletildi ve intrakranial ICA perfore edilerek SAK oluşturuldu.

3.5. Subaraknoid Kanama Sonrası Beyin Kan Akımının Değerlendirilmesi ve İntravenöz Enjeksiyonlar

Stereotaktik çerçevede pron pozisyonda yatırılan fare, skalpteki sütürlerin açılmasının ardından madde 3.2’de anlatılan teknik tekrar edilerek bu kez 40 dakika boyunca kan akımı değerleri ölçüldü. Kan akımı ölçüm işleminin ilk 5 dakikası geçtikten sonra halen ölçüm devam ederken, Tablo 1’de gösterilen gruplara uygun şekilde, deneklere kuyruk veni yoluyla tedavi uygulandı. İşlemin ardından skalp tekrar suture edildi ve ayılması için denek termal battaniyenin üzerine alındı.

Tamamen uyanan denekler serbest olarak yem ve suya ulaşabilecekleri barınaklarına taşındı.

3.6. Açık Alan Labirent Testi ile Lokomasyonun Değerlendirilmesi

Kanama oluşturulmasını takip eden 24. saatte kontrol, sham, düşük doz squalene adenozin ve yüksek doz squalene adenozin grubundaki denekler, loş ortam ışığı bulunan sessiz bir odada, 45 cm x 45 cm genişliğinde, 30 cm derinliğinde siyah bir kutuda (Şekil 3.6.1) açık alan labirent testi ile lokomasyon incelemesine tabi tutuldu (44, 46). Her bir denek ayrı ayrı test edildi. Kutu %10 alkol solüsyonu ile deneği distrikte edebilecek koku uyaranlarından arındırıldıktan sonra denek kutunun merkezine yerleştirildi ve 5 dk boyunca hareketleri video kamera ile kaydedildi. Bu kayıtlar ImageJ programı kullanılarak deneklerin 5 dakika içindeki katettikleri toplam mesafe ve hareket hızları ölçüldü. Deneklerin habituasyonun etkisi ile kutu içindeki arama davranışları azalabileceği için test sadece bir kez yapıldı ve denekler test öncesinde kutu içine hiç yerleştirilmedi.



Şekil 3.6.1. Açık alan testi için kullanılan 45 x 45 x 30 cm ölçülerinde siyah kutu.

3.7. Yirmi Dördüncü Saat Kan Akımının Değerlendirilmesi

Açık alan labirent testinin hemen ardından denekler yukarıda anlatılan şekilde izofluran anestezisi ile uyutuldu ve pron pozisyonda stereotaktik çerçeveye yerleştirilerek skalp insizyonu açıldı. Yukarıda anlatılan LSCI tekniği kullanılarak 10 dakika boyunca 24. saat beyin kan akımları ölçüldü.

3.8. Sakrifikasyon Perfüzyon ve Beyinlerin Ekstraksiyonu

Yirmi dördüncü saat beyin kan akım değerleri elde edilen denekler son vücut ağırlıkları ölçüldükten sonra letal dozda kloralhidrat anestezisi ile sakrifiye edildi. Deneklere 20 ml %5 heparin, ardından 20 ml %4 paraformaldehit solüsyonu kullanılarak kardiyak perfüzyon yapıldı. Perfüzyonun ardından kafatası açılan farelerin beyinleri zedelenmeden, tek bir parça halinde çıkarılarak %4 paraformaldehid içinde muhafaza edildi.

3.9. Parafin Kesitlerin Alınması ve İmmünohistokimya

Paraformaldehid solüsyonu içinde muhafaza edilmiş olan beyinler 2 mm kalınlığında kesitler alınarak parafin bloklar haline getirildi. Bu bloklardan mikrotom ile 5 µm kalınlıkta kesitler elde edildi. Bu kesitler üç gruba ayrıldı. Her bir grup sırasıyla *cresyl violet*, *Masson's Trichrome* (MTC) ve *Terminal deoxyribonucleotidyl transferse (TdT)-mediated biotin-16-dUTP nick-end labelling* (TUNEL) boyaları ile boyandı. Bu kesitler mikroskop altında incelenerek nöronal dejenerasyon/nöron kaybı, intravasküler fibrin tıkaçları ve apoptoz açısından değerlendirildi.

3.10. İstatistik Analiz

İstatistik analiz SPSS v. 23.0 yazılımı ile yapıldı. Gruplar arası farkın karşılaştırılmasında, parametrik değerler için ANOVA, parametrik olmayan değerler için Kruskal-Wallis testleri kullanıldı. Post-hoc analizler için Bonferoni düzeltmesi uygulanmış Mann-Whitney U test ve t-test yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

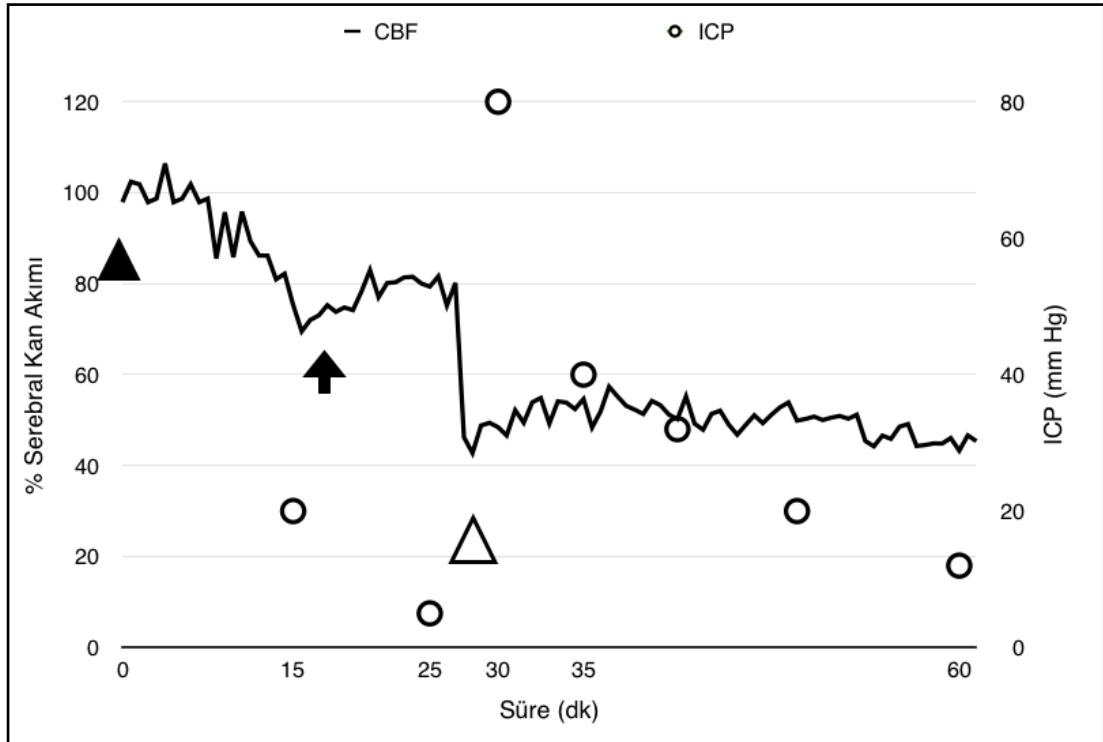
3.11 Etik Kurul Onayı

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu tarafından 30.1.2018 tarih ve 2018/01-05 karar numarası ile Hayven Deneyleeri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunmuştur.

4. BULGULAR

4.1. Eş Zamanlı Beyin Kan Akımı ve İntrakranial Basıç Ölçüm Sonuçları

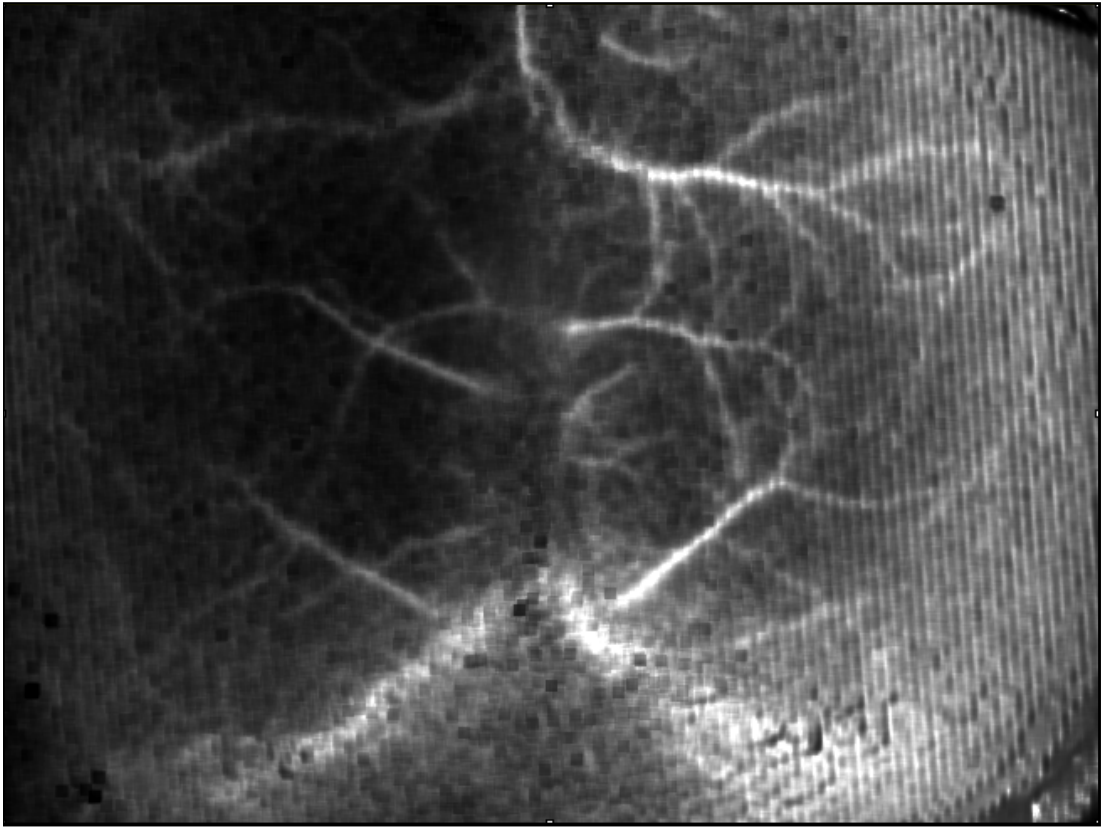
Subaraknoid kanama indüksiyonu sırasında kaydedilen intrakranial basınç değerleri ve bölgesel serebral kan akım düzeyleri, filaman perforasyonu sonucu intrakranial basıncın hızla arttığını bununla eş zamanlı olarak beyin kan akımının bazal değerlerin altına indiğini gösterdi (Şekil 4.1.1).



Şekil 4.1.1. Sol MCA sulanama alanına ait serebral kan akımı değerleri. Değerler bazalin yüzdesi olarak verilmiştir. Siyah ok başı: bazal, siyah ok: ICP probu yerleştirildikten sonra, beyaz ok: kanama oluşturulduktan sonra. Daireler eş zamanlı ICP değerlerini vermektedir.

4.2. 5/0 Naylon Filaman İskemik Depolarizasyona Yol Açmaktadır

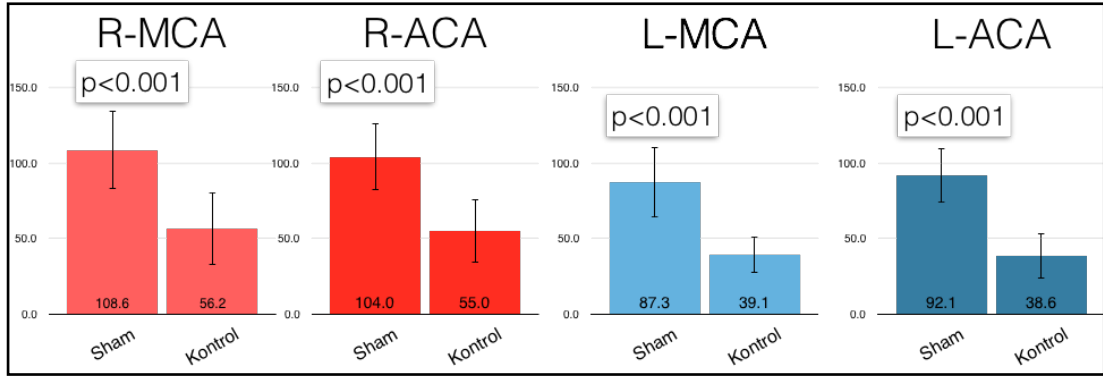
Subaraknoid kanama modelinin optimize edilmesi esnasında, literatürde çeşitli yöntemlerin kullanıldığı bilgisine dayanılarak, pilot çalışmalarda hem 5/0 hem de 6/0 naylon suture intravasküler olarak ilerletilerek kanama oluşturuldu. 5/0 naylon suture kullanılan deneklerde, subaraknoid kanama ile uyumlu olmayan, daha çok damarın total oklüzyonunu (bazalin %20'si) andıran LSCI kan akımı değerleri elde edildi aynı zamanda deneklerde yayılan iskemi dalgaları gözlemlendi (Şekil 4.2.1).



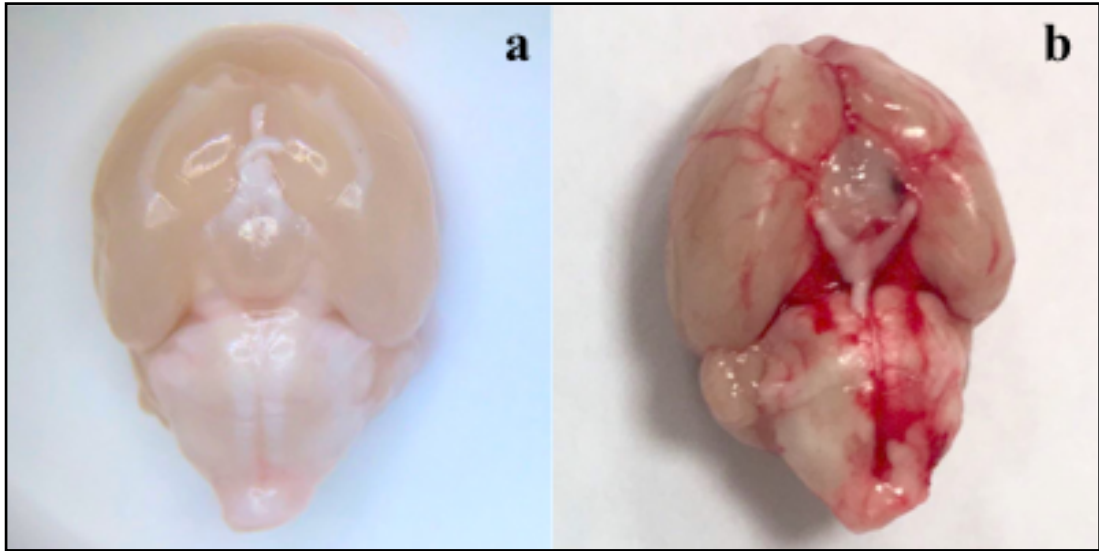
Şekil 4.2.1. İskemik depolarizasyona bağlı LSCI sinyalinde azalma. Kan akımındaki azalmaya bağlı olarak sol hemisferde iskemi düzeylerinde sinyal azalması izlenmektedir.

4.3. LSCI sonuçları ve Subaraknoid Kanama Varlığı

Subaraknoid kanamanın oluşturulduğu 6 gruptan toplam 36 farenin, arter perforasyonunu takip eden 5. dakikada elde edilen bölgesel beyin kan akımı (rCBF post-SAH) değerleri, *sham* grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulundu. *Sham* cerrahi işlemi sonrasında elde edilen ortalama kan akımları, sol MCA, sol ACA, sağ MCA ve sağ ACA alanları için sırasıyla, bazal değerlerin %87,3, %92,1, %108,6 ve %104,0'ı olarak ölçüldü. Buna karşılık SAK oluşturulan kontrol grubunda işlem sonrası kan akım düzeyleri, sol MCA, sol ACA, sağ MCA ve sağ ACA alanları için sırasıyla bazal düzeyin, %39,1, %38,6, %56,2, %55,0'ı olarak bulundu. Diğer deney gruplarına ait SAK indüksiyonu sonrası elde edilen sağ ve sol hemisfer kan akım düzeyleri Şekil 4.3.1'de görülebilir. Buna göre, *sham* grubunda uygulanan *sham* işlemi serebral kan akımı değerlerini önemli ölçüde etkilemezken, kontrol grubunda kan akımı değerleri *sham* grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulundu. Kanama sonrası ölçülen serebral kan akımı değerlerine, SAK eşlik edip etmediği, SAK indüksiyonu sonrası sakrifiye edilen bir grup denekte SAK varlığı gösterilerek konfirme edildi (Şekil 4.3.2).

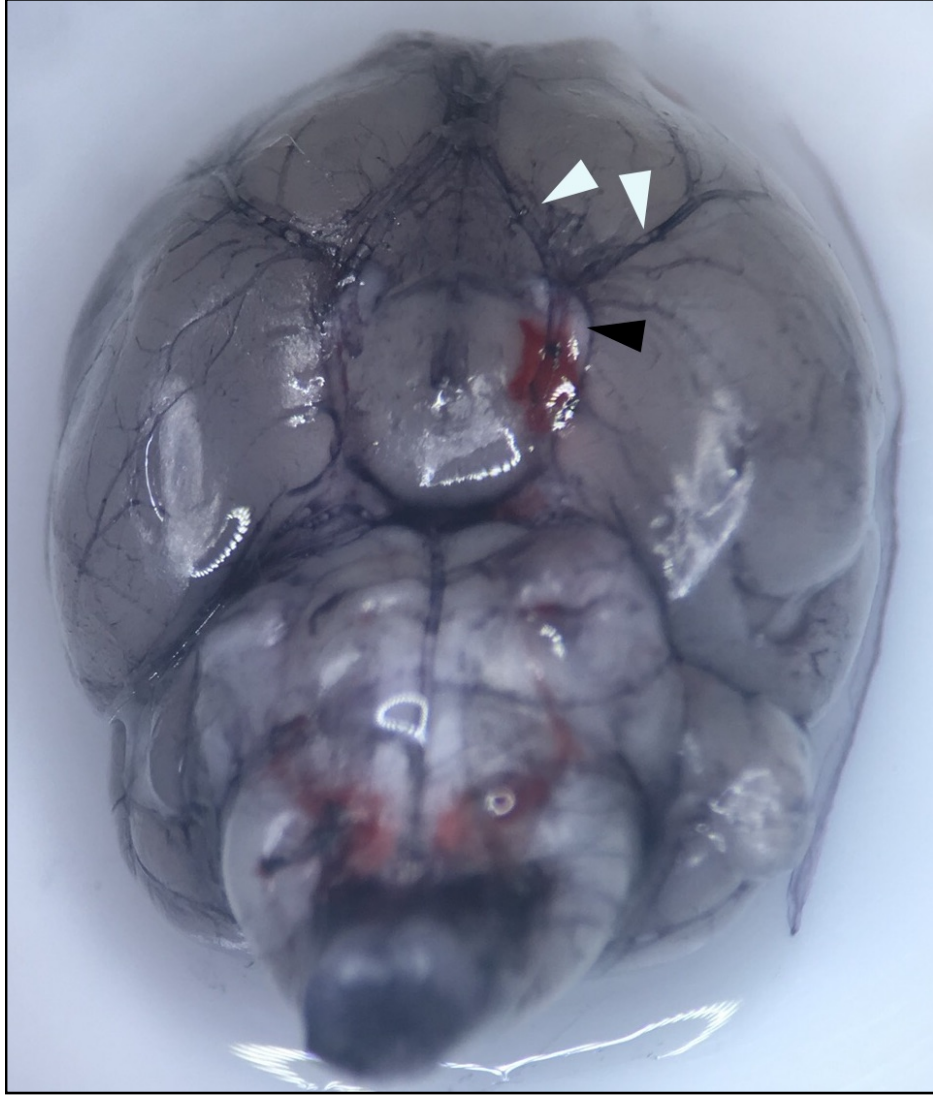


Şekil 4.3.1. Sham ve kontrol gruplarında bazal ve SAK indüksiyonu takip eden 5-40. dakikalar arası sağ ve sol hemisferlere ait kan akımı değerlerinin ortalaması. Değerler bazalin yüzdesi olarak verilmiştir. R-MCA: sağ orta serebral arter, R-ACA: sağ ön serebral arter, L-MCA: sol orta serebral arter, L-ACA: sol ön serebral arter.



Şekil 4.3.2. Sham ve kontrol grubu beyin resimleri. Sham grubunda perfüzyon sonrası beyinde SAK izlenmezken (a), SAK oluşturulan gruplarda perfüzyon sonrası yaygın kanama görülmektedir (b).

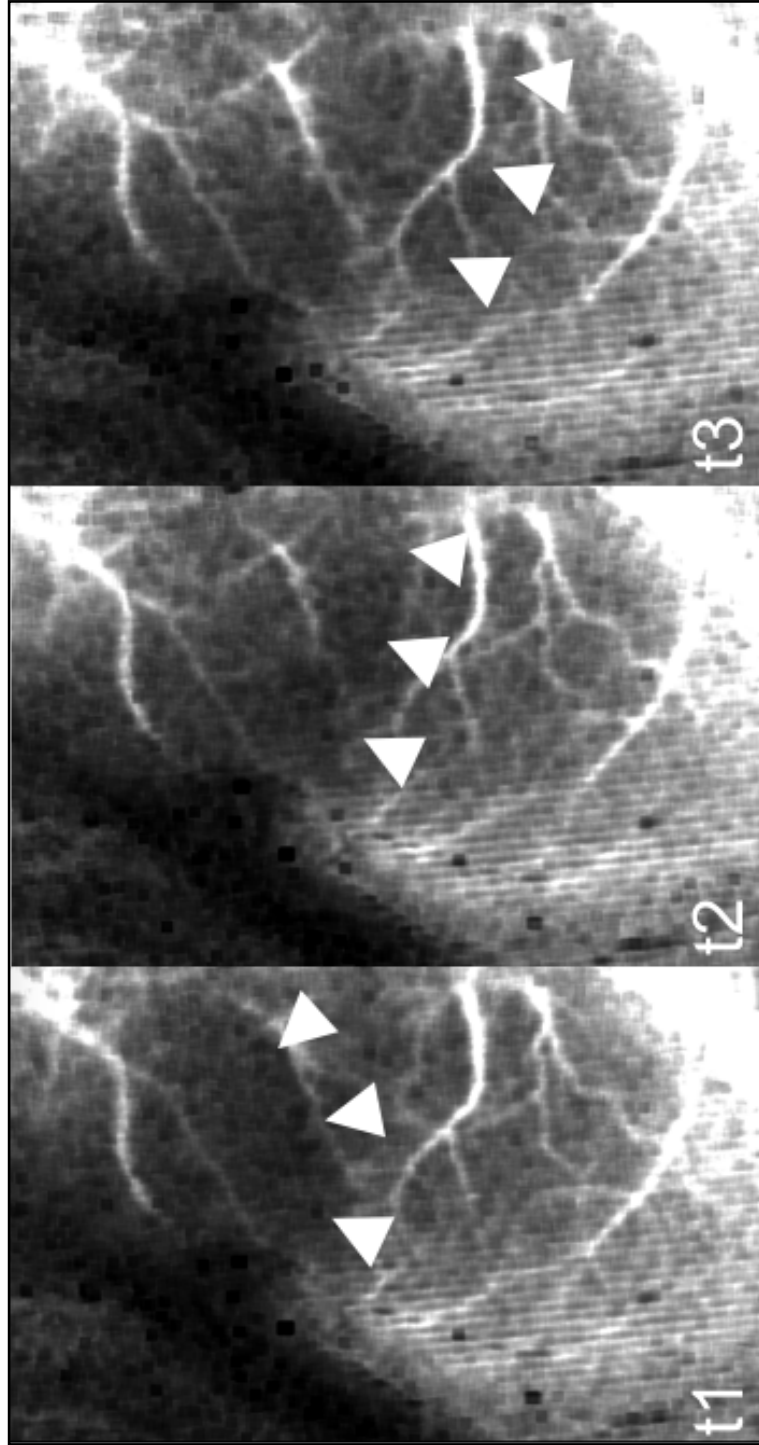
Serabral kan akımındaki azalmanın arteriyel sistemde meydana gelen endotel hasarı ya da kanama sonrası ICA bifurkasyonunda ya da civarında meydana gelebilecek bir hematoma bağı arteriyel tıkanmadan mı, yoksa filaman perforasyonu ile subaraknoid kanama oluşumuna mı bağı olduğunun gösterilebilmesi için, SAK indüksiyonunu takiben, deney gruplarının dışında bırakılan üç adet denekte perfüzyon işlemi sırasında çini mürekkebi kullanıldı(47). Çini mürekkebi ile perfüze edilen farelerde, perforasyon olan arteriyel bölgenin distalinde de boyanma izlendi (Şekil 4.3.3).



Şekil 4.3.3. Çini mürekkebi ile perfüzyon. SAK işlemi sonrası 24. saatte çini mürekkebi ile perfüze edilen beyinlerden bir örnek. Arteriyel perforasyon ve kanama alanı (siyah ok başı) ve bu bölgenin distalinde çini mürekkebi ile boyanmış olan sol ACA ve sol MCA (beyaz ok başları) görülebilmektedir.

4.4. İnrakranial Basınç Ölçüm Problarının LSCI kayıtlarına etkisi

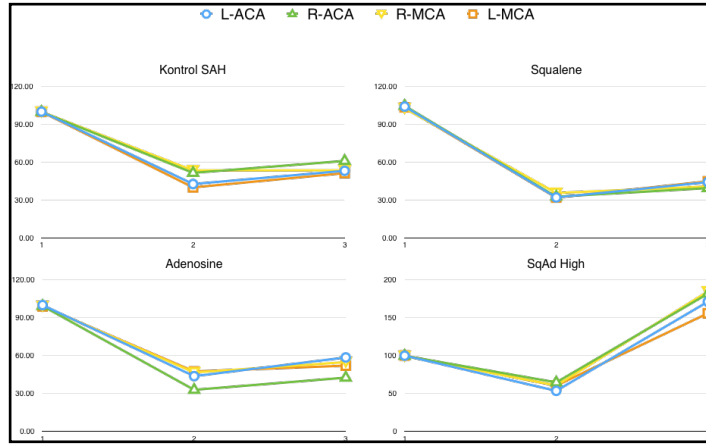
Model optimizasyonu sırasında, SAK oluştuğunun doğrulanması amacıyla, beyin kan akımı ölçümlerinin yanı sıra intrakranial basınç izlemi de yapıldı. Subaraknoid kanama indüksiyonunun intrakranial basıncı arttırdığı bilgisinden yola çıkılarak, sağ temporal bölgeye yöntem kısmında anlatıldığı gibi intrakranial basınç (ICP) kateteri yerleştirildi. Bu farelerde henüz SAK oluşturulmadan LSCI ile ölçülen serebral kan akımlarında bozulma tespit edildi. Bu bozulmaya ilerleyici bir iskemi dalgasının eşlik ettiği görüldü (Şekil 4.4.1).



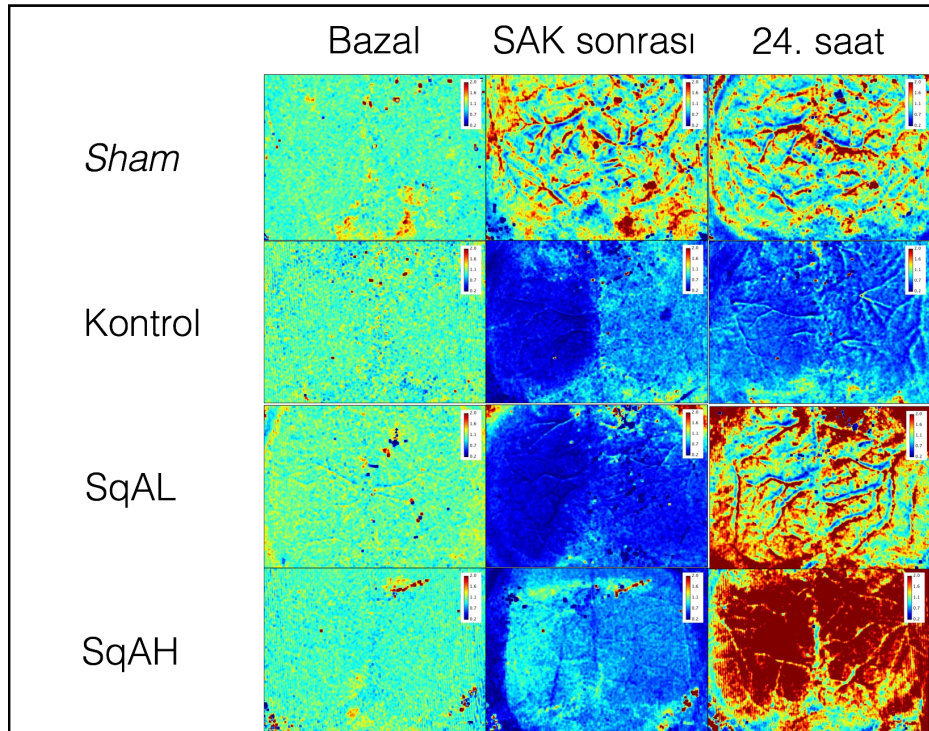
Şekil 4.4.1. ICP probunun etkisi. İntrakranial basınç probu yerleştirilmiş ancak henüz SAK oluşturulmamış olan farede, iskemi dalgasının ilerlediği görülmektedir (Beyaz ok başları).

4.5. Kanama Sonrası Kan Akımı Değerleri

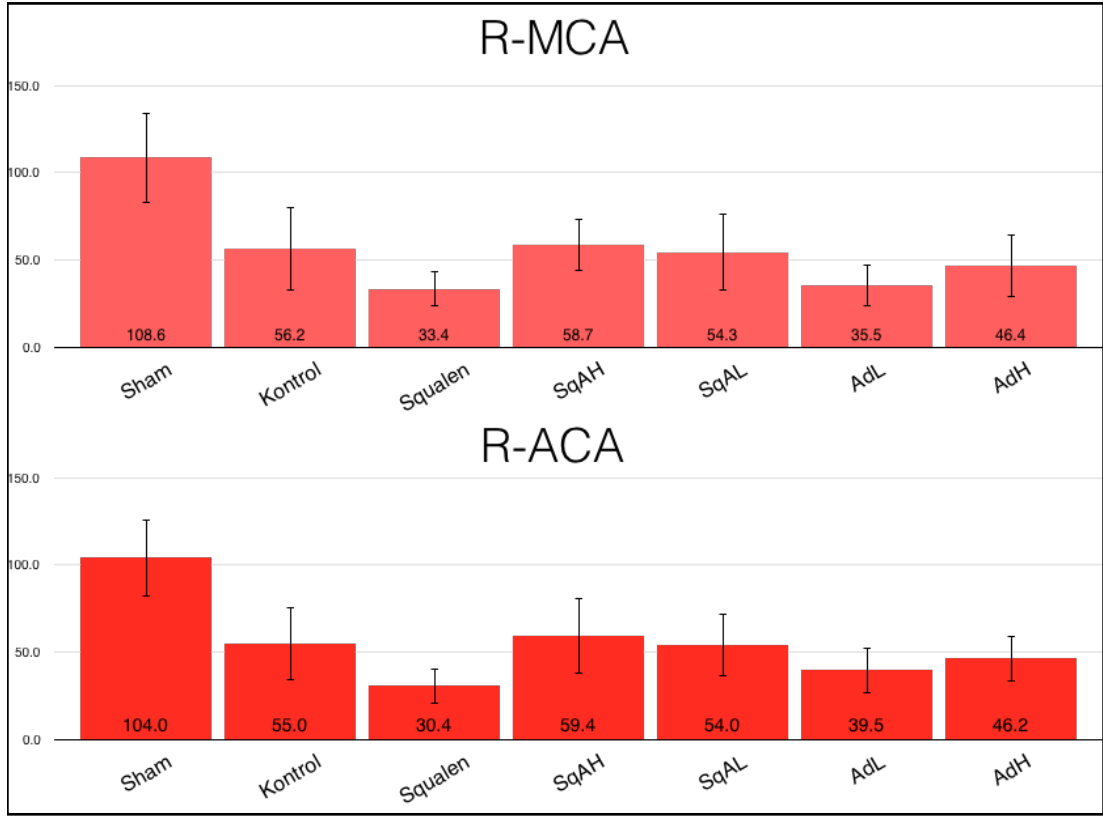
Subaraknoid kanama oluşturulmasını takip eden 24. saatte ölçülen serebral kan akım değerleri, SAK'ın oluşturulmasını takip eden dakikalarda ölçülen değerlere kıyasla bir miktar düzelmekle birlikte, bazal düzeylerin altında kaldı. Örneğin kontrol SAK grubunda, SAK'tan hemen sonra 4 farklı sulama alanından ölçülen serebral kan akım hızlarının ortalaması, sağ MCA, sağ ACA, sol MCA ve sol ACA için sırasıyla %56, %55, %39 ve %38 olarak bulundu. Kanamayı takip eden yirmidördüncü saatte aynı sulama alanlarına ait serebral kan akımı değerleri sırasıyla %53, %57, %51 ve %50. Benzer şekilde squalene adenozin ile tedavi verilen iki deney grubunda da, SAK sonrası 24. saat serebral kan akımı düzeyleri, SAK sonrası 5. dakikada ölçülen kan akımına kıyasla yükselme gösterdi. Yüksek doz squalene adenozin verilen grupta sağ MCA, sağ ACA, sol MCA ve sol ACA sulama alanlarında bahsedilen iki zaman noktası için ölçülen kan akımı değerleri sırasıyla şu şekildedir: %58, %59, %45, %45; %139, %144, %135, %152. Tüm deney gruplarındaki 5. dk ve 24. saat serebral kan akımlarının seyri Şekil 4.5.1'de ve örnek deneklere ait renk kodu verilmiş serebral kan akımı verisi Şekil 4.5.2'de görülebilir. SAK sonrası 5. dakika ortalama serebral kan akımı değerleri sağ hemisfer için Şekil 4.5.3'de, sol hemisfer için Şekil 4.5.4'te verildi. Dört farklı arteriyel sulama alanından ölçülen serebral kan akımı düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 4.5.5'te görülebilir. Buna göre, *sham* grubunun serebral kan akımı değerleri, diğer tüm gruplara kıyasla yüksek bulundu. Kanama oluşturulan grupların *post-hoc* analizinde kan akımı düzeyleri açısından fark gösterilemedi.



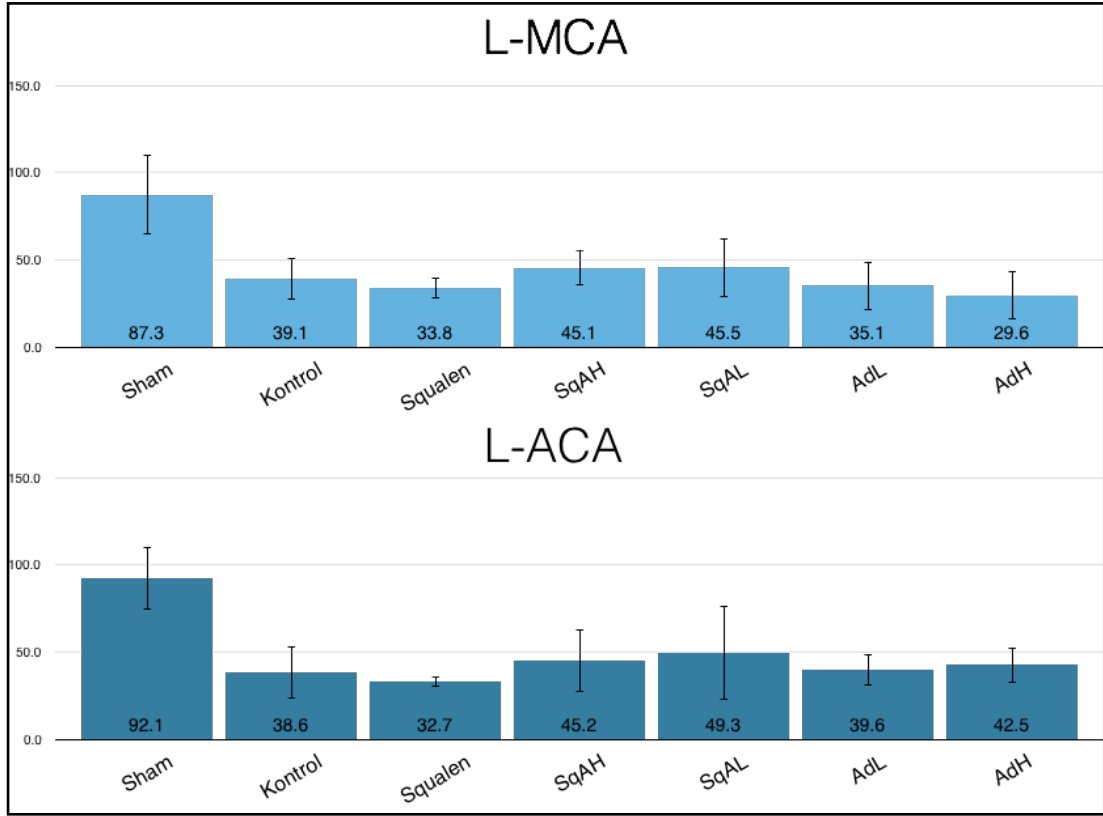
Şekil 4.5.1. Dört farklı sulama alanına ait bazal, kanama sonrası 5. dk ve kanama sonrası 24. saat serebral kan akımı düzeylerinin seyri. L-ACA: sol *anterior cerebral artery*, R-ACA: sağ *anterior cerebral artery*, R-MCA: sağ *middle cerebral artery*, L-MCA: sol *middle cerebral artery*, SAH: subaraknoid kanama, SqAd High: yüksek doz squalene adenosin verilen grup.



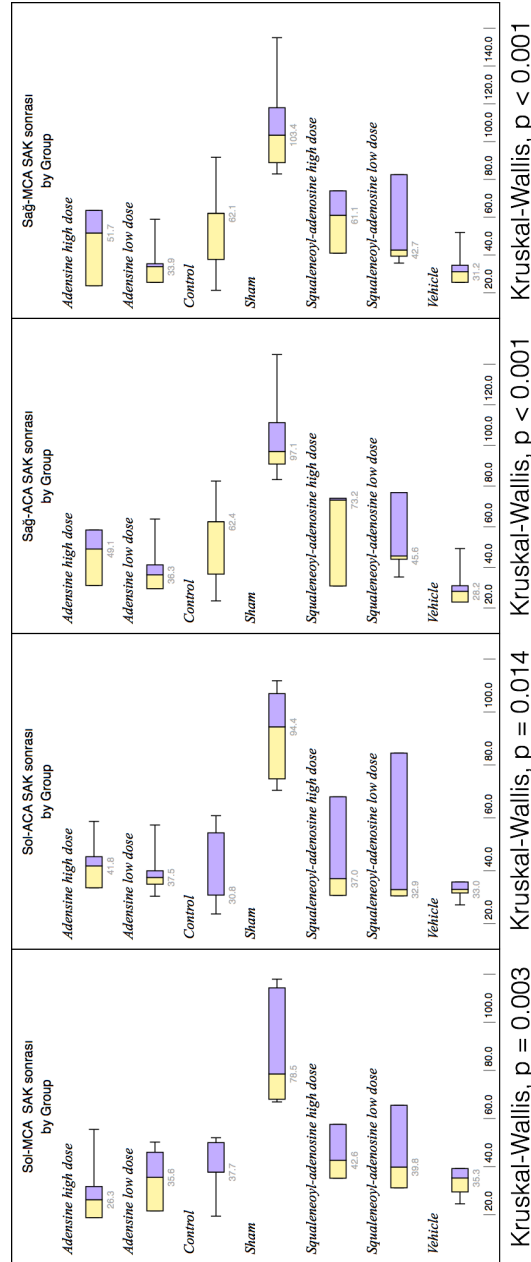
Şekil 4.5.2. Renk kodu verilmiş serebral kan akımı verisi. SAK sonrası sham grubunda belirgin bir düşüş izlenmezken kanama gruplarında serebral kan akımı azaldı. Yirmidört saat sonunda yüksek doz tedavi grubunda (SqAH) kontrol grubuna kıyasla serebral kan akımında artış izlendi.



Şekil 4.5.3. Sağ hemisfere ait 5. dakika ortalama serebral kan akımı değerleri. R-MCA: sağ *middle cerebral artery*, R-ACA: sağ *middle cerebral artery*



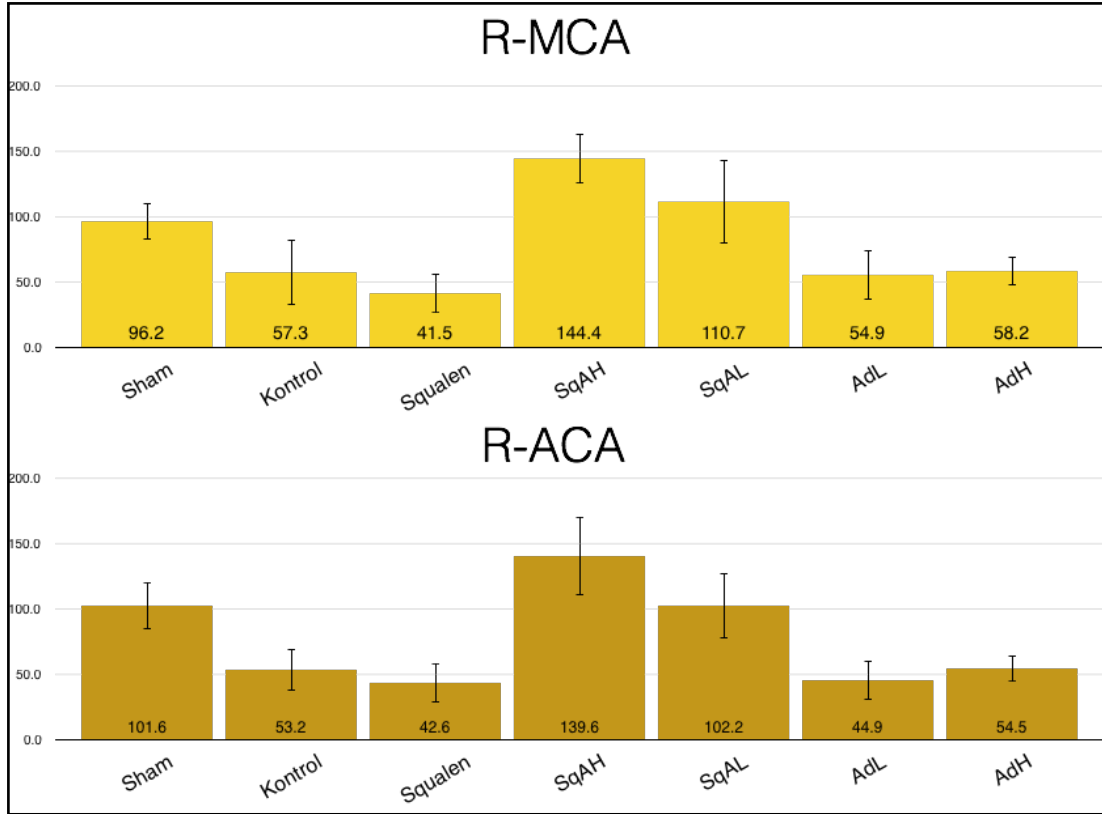
Şekil 4.5.4. Sol hemisfere ait 5. dakika ortalama serebral kan akımı değerleri. L-MCA: sol *middle cerebral artery*, L-ACA: sol *middle cerebral artery*



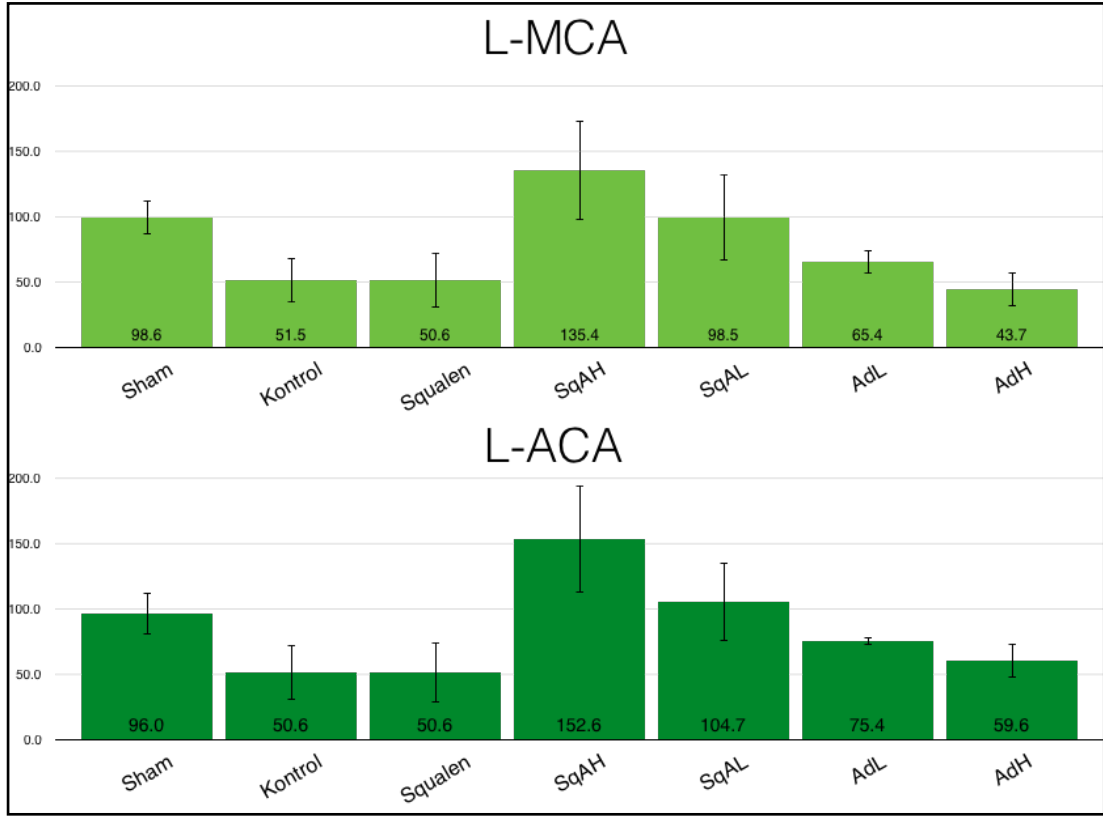
Şekil 4.5.5. Kanama sonrası 5. dakika serebral kan akımı düzeylerinin istatistikî karşılaştırılması. Bütün sulama alanlarında sham grubu kan akımları diğer gruplara kıyasla yüksek bulundu (p=0.044)

4.6. Tedavi Gruplarında 24. Saat Kan Akımı Değerleri

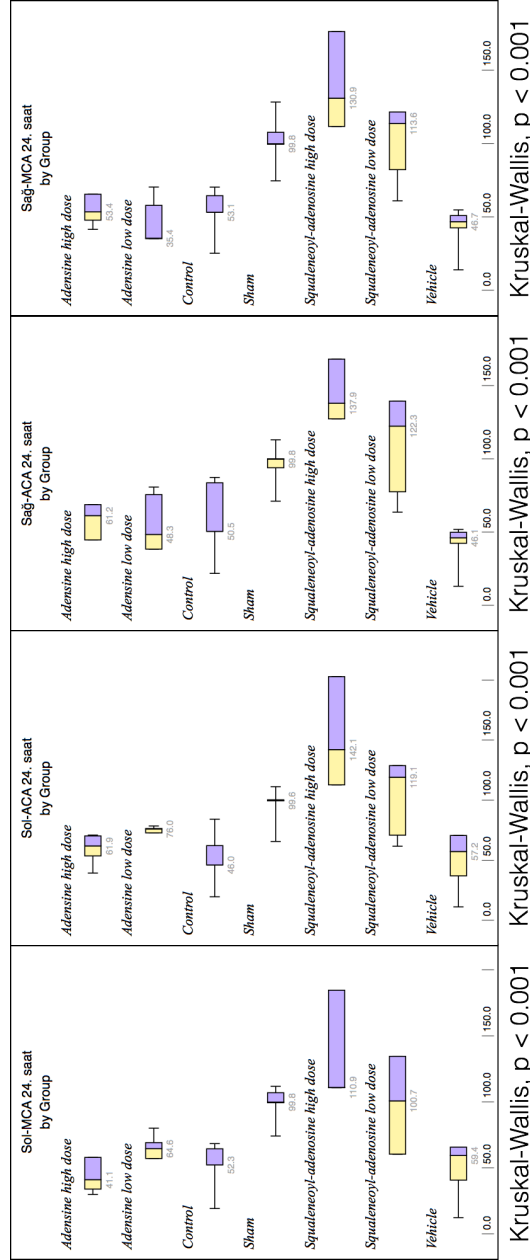
Yukarıda bahsedildiği gibi, 24. saat serebral kan akımı düzeylerinin bazal değerlere kıyasla bir miktar yükseldiği izlendi; ancak yüksek doz squalene grubunda serebral kan akımı seviyeleri diğer kanama gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu. Kontrol SAK grubunda 24. saat serebral kan akımı düzeyleri R-MCA, R-ACA, L-MCA ve L-ACA sulama alanları için sırasıyla şu şekildeydi: %53, %57, %52, %51. Buna karşılık yüksek doz squalene adnozin verilen grupta aynı sulama alanlarına ait değerler sırasıyla, %140, %144, %135, %153 şeklinde bulundu. Benzer şekilde, düşük doz squalene adenozin tedavisi uygulanan grupta da 24. saat kan akımı düzeyleri yükselme eğilimi gösterdi ancak fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmadı. Bu grupta R-MCA, R-ACA, L-MCA ve L-ACA sulama alanları için kan akımı değerleri sırasıyla %102, %111, %99, %105 şeklinde bulundu. Tüm gruplara ait 24. saat serebral kan akımı değerleri sağ hemisfer için Şekil 4.6.1’de, sol hemisfer için Şekil 4.6.2’de verilmiştir. Kan akımı değerlerinin gruplar arası istatistiksel karşılaştırılması Şekil 4.6.3’te verilmiştir.



Şekil 4.6.1. Sağ hemisfere ait 24. saat ortalama serebral kan akımı değerleri. R-MCA: sağ *middle cerebral artery*, R-ACA: sağ *middle cerebral artery*



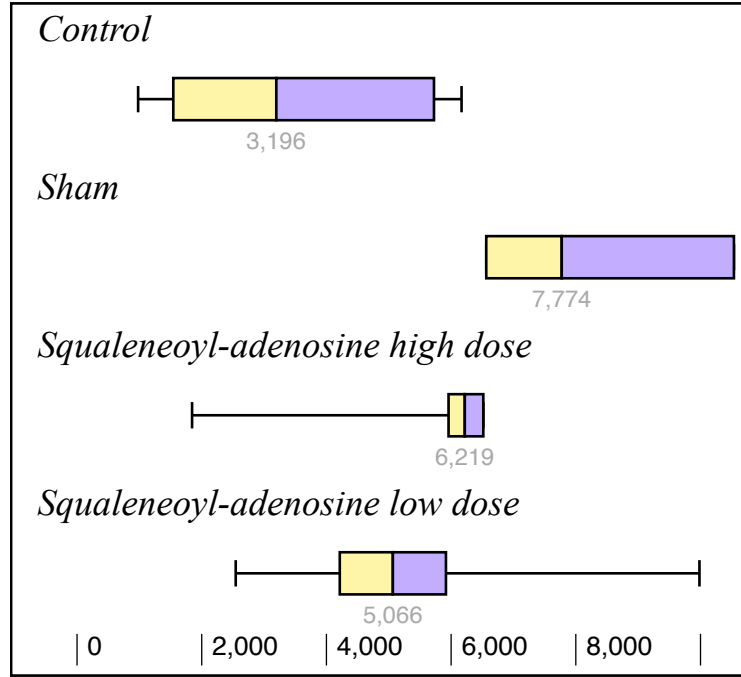
Şekil 4.6.2. Sol hemisfere ait 24. saat ortalama serebral kan akımı değerleri. L-MCA: sol middle cerebral artery, L-ACA: sol middle cerebral artery



Şekil 4.6.3. Kanama sonrası 24. saatte serebral kan akımı düzeylerinin istatistiki karşılaştırılması. Tüm sulama alanlarında yüksek doz squalene-adenozin grubu serebral kan akımları kontrol grubuna kıyasla yüksek bulundu ($p=0.044$). Düşük doz tedavi grubunda serebral kan akımı düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yükselme eğilimi olsa da fark anlamlı değildi ($p=0.167$).

4.7. Açık Alan Lokomoyon Testi Sonuçları

Bölüm 3.6'da anlatılan açık alan lokomoyon testinde, yüksek doz squalene adenozin ile tedavi edilen grubun, test süresince kat ettiği mesafe, kontrol grubunda ortalama kat edilen mesafeye kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.041$). Açık alan testinde sham, kontrol, yüksek doz squalene adenozin ve yüksek doz squalene adenozin grupları için katedilen ortanca mesafe değerleri sırasıyla şu şekildedir: 3196 mm, 7774 mm, 6219 mm, 5066 mm. Düşük doz squalene grubunda katedilen mesafe kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olmak ile beraber, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Gruplara ait grafik gösterim Şekil 4.7.1'de, farelerin açık alan testinde katettikleri yolu gösteren örnekler ise Şekil 4.7.2'de verilmiştir.



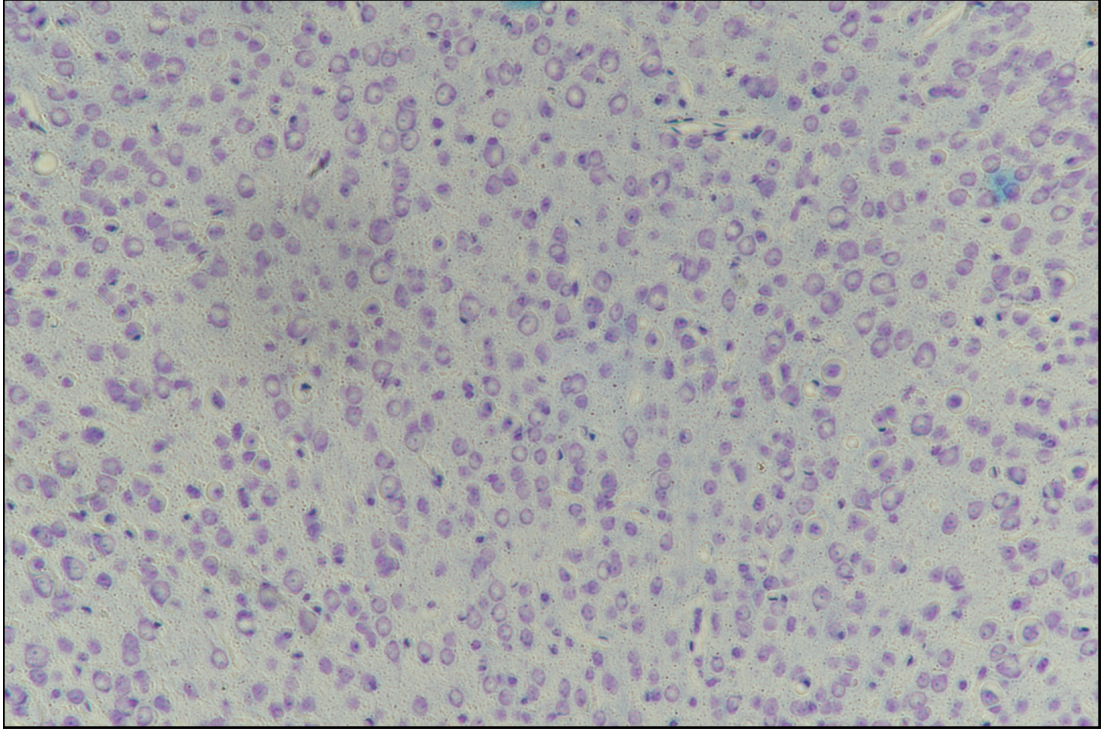
Şekil 4.7.1. Konrol, sham, yüksek ve düşük doz squalene gruplarında farelerin açık alan lokomasyon testinde katettikleri mesafeleri gösteren grafik. Yüksek doz tedavi grubu, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede daha uzun mesafe katetmiştir. ($p=0,041$). Control: Kontrol SAK grubu, Squaleneoyl-adenosine high dose: yüksek doz tedavi grubu, Squaleneoyl-adenosine low dose: düşük doz tedavi grubu.



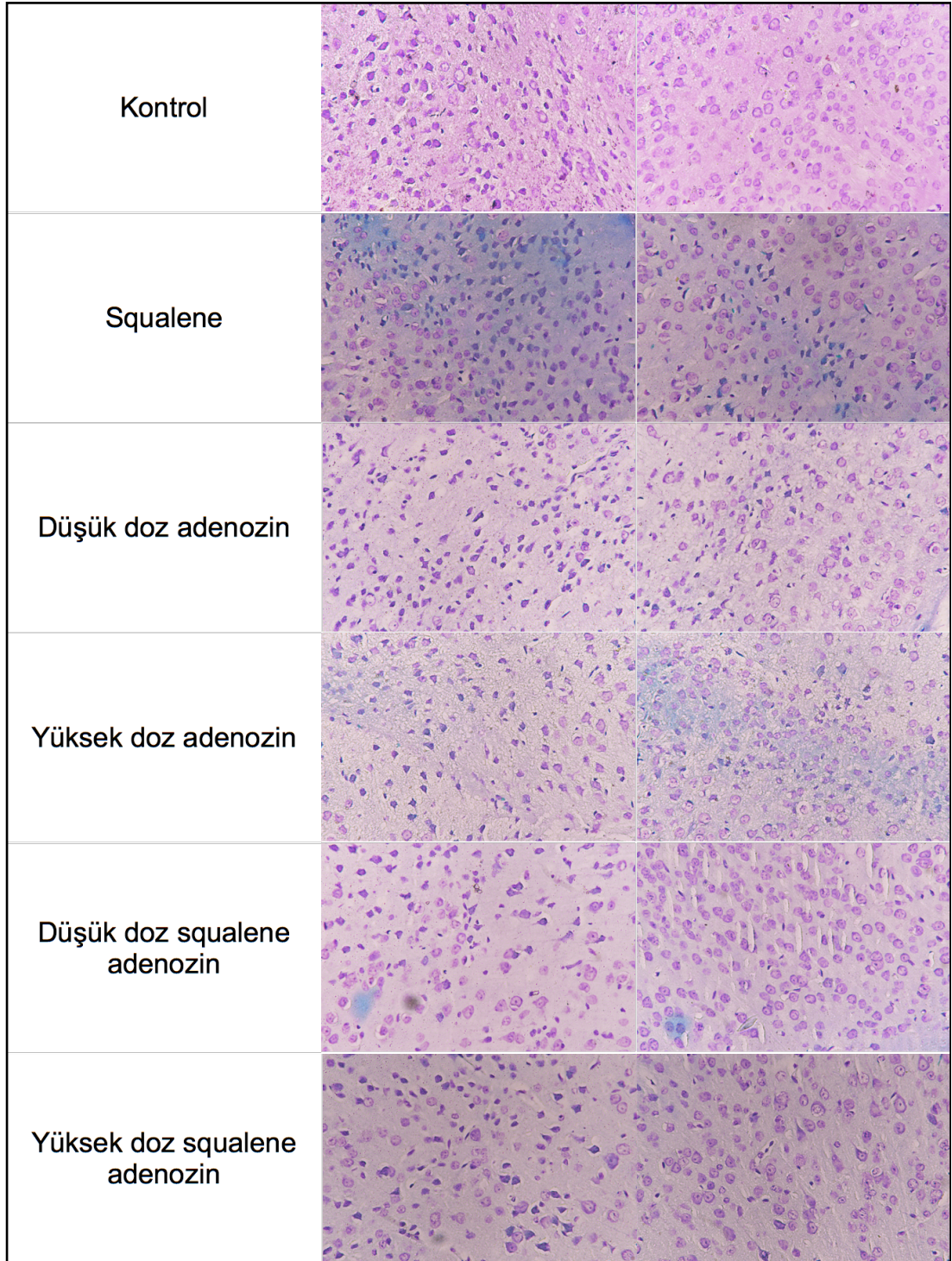
Şekil 4.7.2. Konrol, sham, yüksek ve düşük doz squalene gruplarında farelerin açık alan lokomasyon testinde katettikleri yolların izlerine örnek.

4.8. Kortikal Nöronal Dejenerasyon

Denekler kanamanın 24. saatinde letal dozda klorhidrat uygulandıktan sonra perfüze edilip beyinleri çıkarıldı. *Sham* grubunda kortikal nöronal dejenerasyona işaret eden bir bulguya rastlanmazken (Şekil 4.8.1) subaraknoid kanama oluşturulan grupların tümünde *cresyl violet* boyaması ile az ya da çok kortikal nöronal dejenerasyon gösterilebildi. Kontrol SAK, düşük ve yüksek doz adenzin ve squalene gruplarında, kortikal nöronal dejenerasyonun, yaygın bir örüntüden ziyade tüm kortikal alanlara yayılmış; ancak yer yer korunmuş kortikal nöron gruplarının da görüldüğü, birbiri arasında geçişe sahip olan yama tarzında bir görüntü ile temsil edildiği gözlemlendi. Benzer bir örüntü, tedavi gruplarında da; ancak bu sefer subjektif olarak daha hafif kortikal nöronal dejenerasyon bulgularının eşlik ettiği şekliyle gözlemlendi (Şekil 4.8.2).



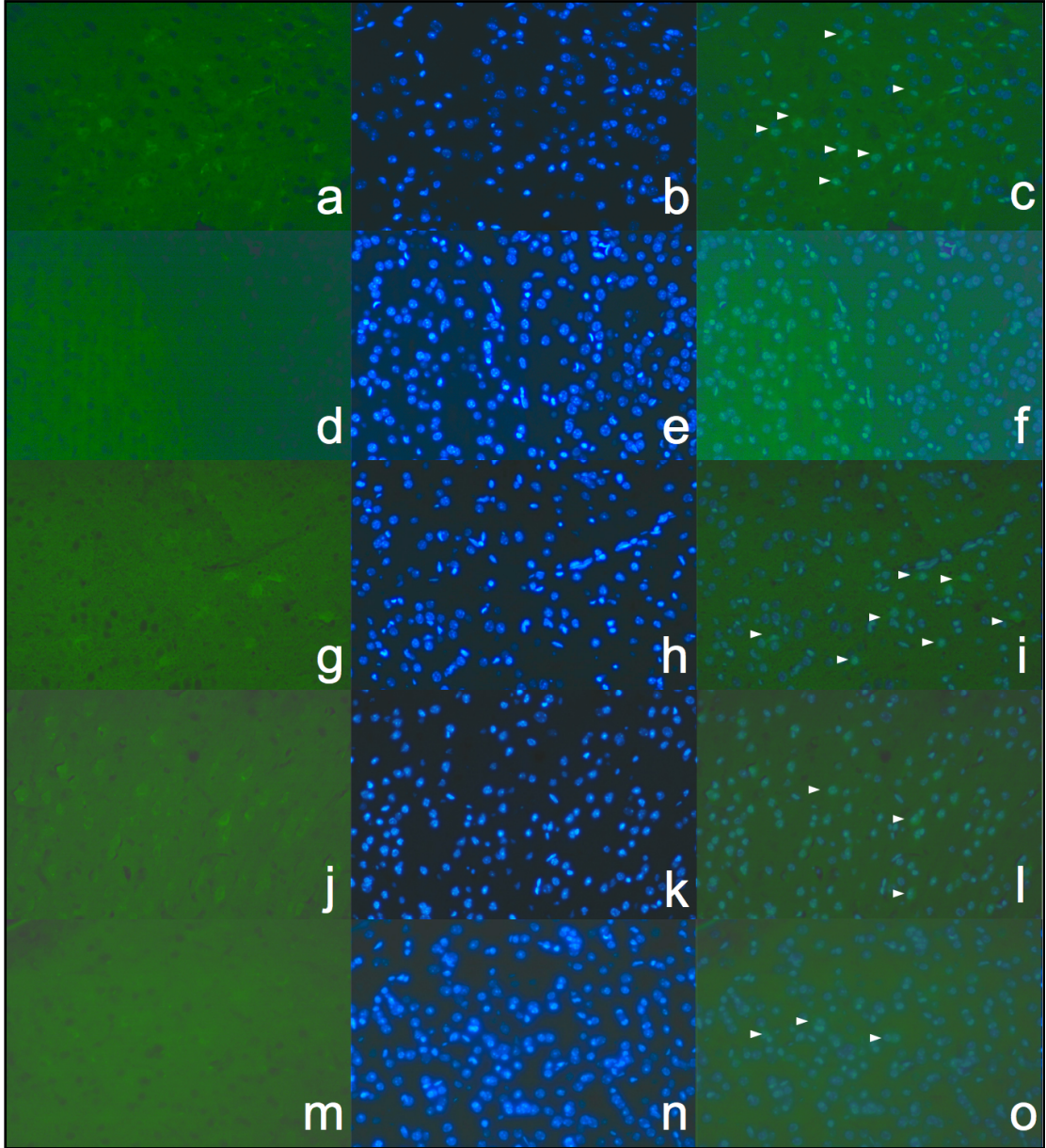
Şekil 4.8.1. Sham grubuna ait cresyl violet boyaması. Belirgin nöronal dejenerasyon görülmemektedir.



Şekil 4.8.2. Sham grubu dışında kalan gruplarda cresyl violet boyaması. Sol sütun kortikal dejenerasyonun yoğun olarak görüldüğü, sağ sütun ise nisbi olarak daha az dejenerasyonun görüldüğü bölgelere örnek olarak verilmiştir.

4.9. Kortikal Nöronal Apoptoz

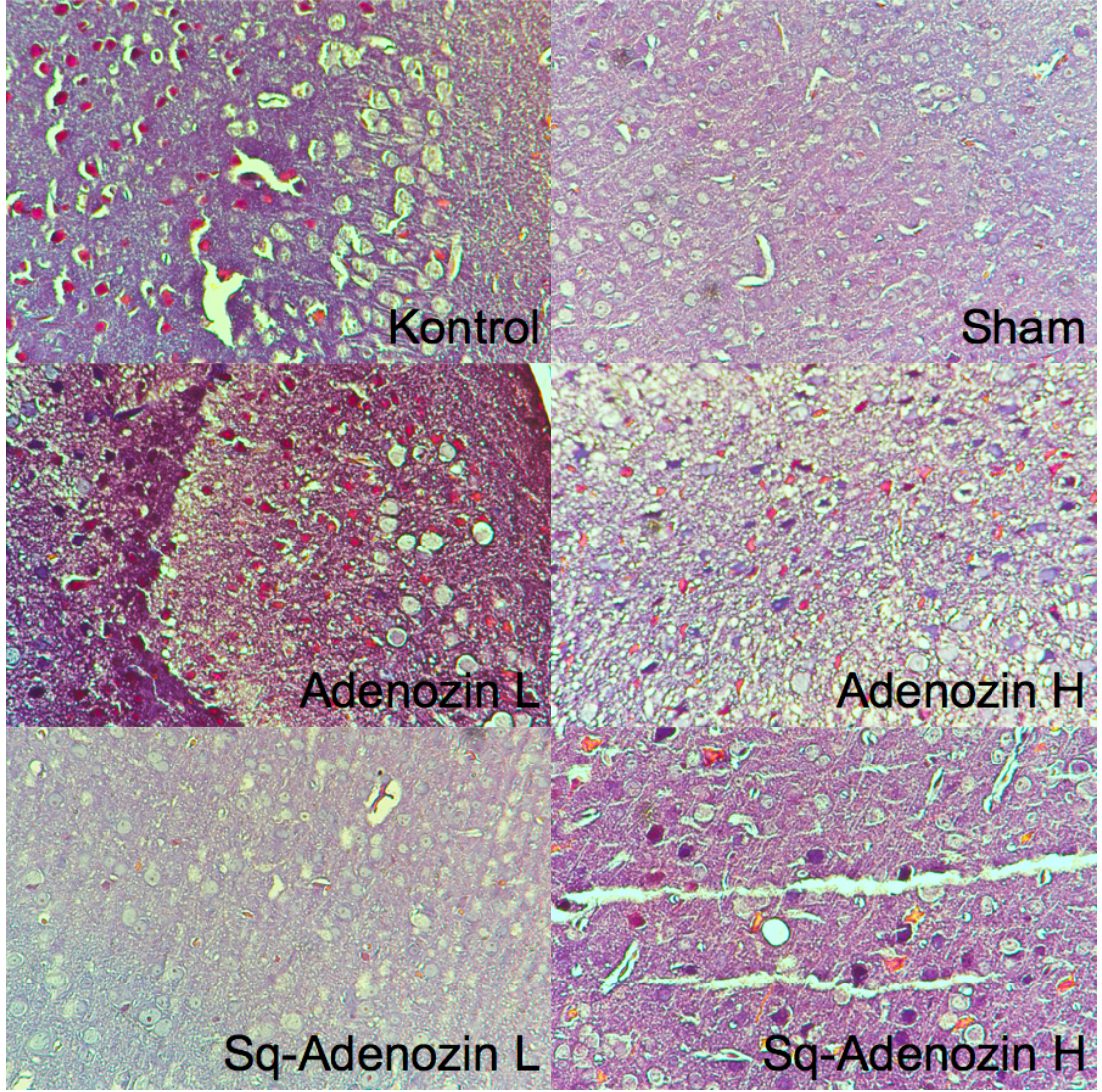
Kanama indüksiyonunun 24. saatinde sakrifiye edilen denekler perfüze edildikten sonra çıkartılan beyinler Cresyl Violet boyasının dışında, nöronal apoptozun değerlendirilmesi amacıyla TUNEL boyası ile boyandı. TUNEL boyası ile boyanan beyinlerde, *cresyl violet* ile boyanmada görünen örüntüye benzer şekilde, kortekse yayılmış, dağınık apoptotik odaklar görüldü. Sham grubunda apoptotik odak görülmezken, apoptoz bulgularının, kontrol SAK, squalene ve adenozin grubunda, squalene adenozin gruplarına kıyasla daha belirgin olduğu bulundu. Şekil 4.9.1’de TUNEL boyaması yapılan örnek kesitler görülmektedir.



Şekil 4.9.1. TUNEL boyaması. Sol sütun TUNEL, orta sütun DAPI ve sağ sütun füzyon yapılmış görüntüleri içermektedir. Kontrol SAK grubunda (a, b, c) çok sayıda apoptotik hücre görülürken, *sham* grubuna ait örneklerde (d, e, f) belirgin bir apoptoz bulgusu yoktur. Adenozin grubundaki (g, h, i) apoptoz bulguları, düşük doz (j, k, l) ve yüksek doz (m, n, o) squalene adenozin grubuna kıyasla daha belirgindir.

4.10. Kortikal Dokuda İnvasküler Fibrin Tıkaçları

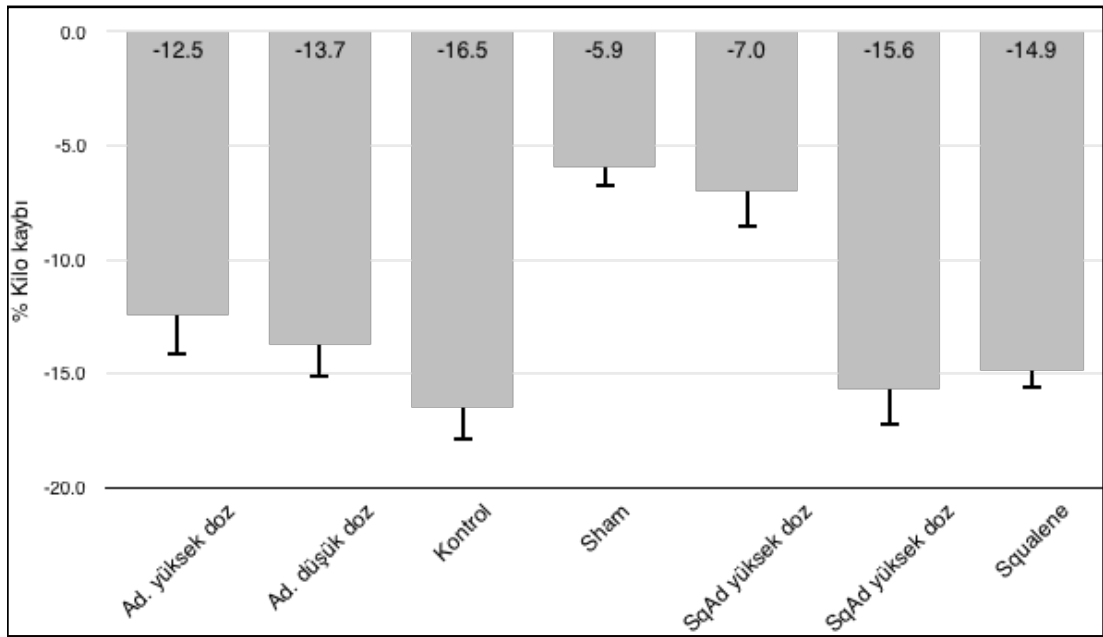
Subaraknoid kanamayı takip eden 24. saat sonunda, deney grupları arasında ortaya çıkan serebral kan akımı farklılıklarının nedeninin ortaya konulması, bu farklılıklar ile mikrovasküler düzeyde meydana gelen bozukluklar arasında ilişki aranması amacıyla beyinler Masson's trichrome (MTC) tekniği ile boyandı ve invasküler fibrin tıkaçlarının varlığı araştırıldı. Şekil 4.10.1'de MTC ile boyanan kesitlere ait örnekler görülmektedir. Sham grubunda, MTC ile neredeyse hiç fibrin tıkaçı görülmezken, SAK oluşturulan gruplarda kortikal mikrovasküler yapılarda intraluminal fibrin tıkaçlarına rastlandı. Squalene adenozin ile tedavi edilen farelerde, invasküler fibrin tıkaçlarının sayısının diğer gruplara kıyasla daha az olduğu görüldü.



Şekil 4.10.1. Deney gruplarında intraluminal fibrin tıkaçları.

4.11. Gruplardaki Kilo Kaybı

Deneklerin başlangıçtaki ve sakrifiye edilmeden önce ölçülen vücut ağırlığı değerlerinde elde edilen değişim yüzdeleri Şekil 4.11.1’de görülebilir. Buna göre, gruplar arasında vücut ağırlığındaki değişim anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Post-hoc analizde, sham grubu ve yüksek doz squalene adenozin grubundaki vücut ağırlığı kaybı diğer gruplara kıyasla düşüktü (sırasıyla $p = 0.002$, $p = 0.030$). Düşük doz squalene adenozin grubunda ise diğer gruplara kıyasla anlamlı fark izlenmedi.

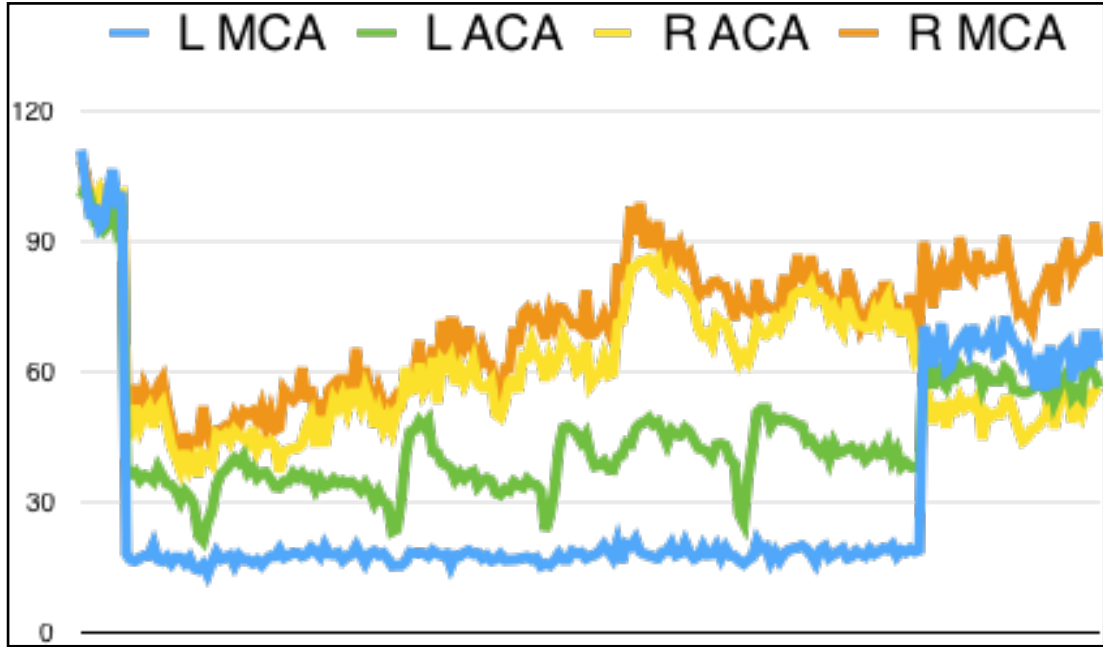


Şekil 4.11.1. Gruplardaki kilo kaybı. Ad: adenozin, SqAd: squalene adenozin

5. TARTIŞMA

Anevrizmal subaraknoid kanama sonrası gelişen nörolojik kötüleşmeden klasik olarak sorumlu tutulan büyük arter vazospazmı, bu ölümcül hastalık hakkındaki bilgi birikimimiz arttıkça, yerini patofizyolojik süreçte daha çok sorgulanmaya başlayan erken beyin hasarı ve mikrodolaşımdaki bozukluklara bırakmaya başlamıştır (48). Bu nedenle serebral mikrodolaşımda hemen SAK sonrası ve takip eden ilk 72 saat içerisinde meydana gelen değişikliklerin hem zamansal hem de uzaysal çözünürlüğü yüksek yöntemlerle incelenmesi patofizyolojik süreçlerin anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

Bu tez çalışmasında, yukarıda sayılan gerekliliklerden dolayı, literatürde daha evvel SAK modellerinde kullanılmamış olan LSCI yöntemi kullanılarak, SAK sonrası ilk bir saat içinde ve daha sonra SAK'ı takip eden 24. saat sonunda meydana gelen değişiklikleri tüm serebral kortikal yüzeyi incelemeye olanak verecek şekilde değerlendirme imkanı bulunmuştur. Serebral kortikal kan akımı, yine benzer şekilde, *Laser Doppler Flowmetry* (LDF) yöntemi kullanılarak da değerlendirilebilmektedir; ancak bu şekilde serebral korteksin belirli bir noktasından ölçüm yapabileceği için, SAK gibi global olarak tüm beyni ilgilendiren patofizyolojik bir süreçte LSCI'nin, LDF'ye üstün olduğu düşünülmüştür. Şekil 5.1'de SAK sonrası elde edilen kayıtlardan bir örnek verilmiştir. Bu örnekte, LDF ile değerlendirilmesi ancak kafatasında çok sayıda pencere açılarak ve eş zamanlı olarak birden çok prob yerleştirilerek mümkün olabilecek olan, serebral kortekste dört farklı arteriyel sulama alanının zaman içinde değişen serebral kan akım grafiği verilmiştir. Sayılan nedenlerden ötürü çalışmamızda serebral kan akımı LSCI tekniği ile değerlendirilmiştir.



Şekil 5.1. Kontrol SAK grubu farelerden birine ait serebral kan akımı değişim grafiği. L MCA: sol orta serebral arter, L ACA: sol anterior serebral arter, R ACA: sağ anterior serebral arter, R MCA: sağ orta serebral arter.

Çalışmada, bazal serebral kan akım değerleri kaydedildikten sonra, SAK oluşturulmuş ve kanama indüksiyonunun ardından ilk 40 dakika boyunca serebral kan akımının değerlendirilmesine devam edilmiştir. Çalışma protokolünde bu sürenin belirlenmesinde iki neden gözetilmiştir. Yapılan pilot çalışmalar ve Hidayetov ve ark. tarafından daha önce gerçekleştirilmiş, kanama sonrası birinci saati değerlendiren tez çalışmasında, serebral kan akımının, SAK indüksiyonunun yaklaşık 15. dakikasında başlayıp 40-60. dakikalarda, bazal düzeyin altında plato değerlerine ulaşmış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca genel anestezi süresinin gereksiz yere uzatıldığında hemodinamik parametreleri etkileyerek serebral kan akımını bozacağı da düşünüldüğünde, bazal kan akımı ölçümünü takiben SAK sonrası ilk 40 dakika ölçüme devam edilerek denekler uyandırılmış ardından 24. saat sonunda serebral kan akımı değerlendirmesi tekrar edilmiştir.

Bu çalışma protokolü ile ilgili olarak tartışılabilir bir diğer konu da kanama modeli olarak filaman perforasyon tekniğinin seçilmiş olmasıdır. Subaraknoid kanama sonrası patofizyolojik süreçler esasen pek çok hayvan türü ve pek çok yöntem kullanılarak değerlendirilebilmektedir. Küçük boyutları, kolay üretilibilmeleri, bakım ve barınma maliyetlerinin düşük olması, transgenik ve *knock-out* soyların üretilmesi nedeniyle, subaraknoid kanama modellerinde fare kullanılması oldukça avantajlıdır (49). Buna ek olarak, serebral kan akımının tüm serebral korteksten ölçülmesi planlandığından, görece ince ve kolayca drillenerek kullanılan lazer ışığı dalga boyu için homojen biçimde geçirgen hale getirilebilecek bir kafatasına sahip olduğundan mevcut tez çalışmasının fareler ile yapılmasını gerekli kılmıştır.

Günümüze kadar pek çok grup, sisterna magna içine kan enjeksiyonu(50), intrasisternal ven perforasyonu (51) veya eksternal karotid arterden intraluminal olarak ilerletilen bir filaman ile Willis poligonunda perforasyon yapmak suretiyle (52-55) farede SAK modeliyle çalışmalar yayımlamıştır. İntraluminal perforasyon modeliyle yapılan öncü çalışmalar farelerde gecikmiş serebral vazospazm (52, 56, 57), nörolojik disfonksiyon (55, 57, 58), beyin ödemi formasyonu (53, 55) ve klinikte görülene benzer olarak %30 civarında mortalite elde etmiştir (53, 55, 57). Bu bulgulara dayanılarak, filaman perforasyon yönteminin, insanda meydana gelen aSAK'ı diğer metodlara kıyasla daha benzer şekilde simüle ettiği düşünüldüğünden, mevcut tez çalışmasında da fare filaman perforasyon modeli kullanılmıştır.

Literatüre bakıldığında (Bkz. Tablo 2.7.1), fare SAK modellerinde Ishikawa ve ark. (54) dışında 6/0 naylon kullanılarak SAK oluşturulmadığı, sıklıkla 5/0 naylon sütür kullanıldığı görülmektedir. Bu tez çalışmasında yapılan pilot deneylerde, 5/0 naylon sütür kullanılarak oluşturulan kanama modellerinde, LSCI ile ölçülen kan akımı değerlerinin damar oklüzyonunda görülene benzeyen derin iskemik seviyelerde olduğunun tecrübe edilmesi nedeniyle, deney protokolüne 6/0 naylon sütür kullanılarak devam edilmesine karar verilmiştir. Literatürde serebral kan akımı ölçümlerinin daha önce hep LDF ile yapıldığı düşünüldüğünde, 5/0 naylon kullanılarak yapılan çalışmalarda kan akımı değişikliklerinin farkedilememiş olması

ihtimali olduğu gibi, bulgularımızın önceki çalışmalarla tam bir karşılaştırması da mümkün gözükmemektedir; ancak SAK'ı simüle edecek bir modelde kullanılması en uygun olan filaman kalınlığına karar verilmeden önce bu çalışmadan elde edilen serebral kan akımı sonuçlarının da akılda tutulması gerektiği kanaatindeyiz.

Filaman perforasyon modelinin bir dezavantajı, işlemin kafatası kapalıyken yapılıyor olması nedeniyle, damar içerisinden ilerletilen filamanın, arter perforasyonuna yol açıp açmadığının ve kanama oluşup oluşmadığının kesin olarak bilinmemesidir. Her ne kadar, kendi deneylerimizde, filamanın uygun derinlikte olduğu ve tam kanama olduğunu düşündüğümüz sırada farede birkaç saniye süren solunum depresyonu geliştiğini gözlemlemiş olsak da, aynı belirsizlik gerekçesi ile Plesnila grubu, intrakranial basınç monitörizasyonu altında kanama indüksiyonu tarif ettikleri bir yöntem tarif etmiştir (59). Tarif edilen bu metotta, kanama oluşturulmadan önce, farenin kafatasına hem LDF probu hem de epidural mesafede kalacak şekilde ICP probu (Codman ICP Express, Integra LifeSciences, NJ, USA) yerleştirilmektedir (Şekil 5.2). Kendi çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz pilot deneylerdeki gözlemlerimiz, esasen insanda klinik kullanım için geliştirilmiş bu ICP problemlerinin farede kullanıma çok uygun olmadığı yönündeydi. Nitekim, yine kendi pilot çalışmalarımızda, ICP probu yerleştirilen farelerde LSCI ile ölçülen serebral kan akımının bazal değerlerin altına indiğini gözlemledik. Literatürde kanama konfirmasyonu için ICP monitörizasyonu kullanılan çalışmalarda serebral kan akımında değişimi not edilmemiş olmasının nedeni, bu çalışmalarda, serebral kan akımının yine LDF ile tek bir noktadan değerlendirilmiş olması olabilir. Oysa LSCI ile serebral korteksin geniş bir alanından alınan kan akımı verisi, ICP probu yerleştirildiğinde meydana gelen değişimleri gösterebilmektedir. Şekil 4.1.1'de ICP probu yerleştirilmesi sonrasında ve ardından kanama oluşturulması ile sol MCA sulama alanında meydana gelen değişiklikler verilmiştir. ICP probunun yerleştirilmesi ile olan serebral kan akımı değişikliğinin nedeni, ICP probunun uyguladığı lokal basınç nedeniyle olabileceği gibi, dura mater - kalvaryum ilişkisinin bozulması nedeniyle meydana gelen optik değişiklikler de olabilir.



Şekil 5.2. Fare kafatasına epidural bölgeye ICP probu yerleştirilmesi. Prob büyüklüğünün fare kafatası ile olan ilişkisine dikkat ediniz. (Schuller ve ark.(59)'dan alınmıştır)

Subaraknoid kanama modellerinde, özellikle intraluminal filaman perforasyon modellerinde, ICP monitörizasyonunun kanamanın konfirme edilmesi için her ne kadar gerekli görülse de, çalışmamızda vurguladığımız şekilde, LSCI ile yüksek uzaysal ve zamansal çözünürlükle izlenebilen serebral kan akımı değerleri de kanamayı yüksek hassasiyet ile doğrulamaktadır (Bkz. Şekil 4.3.1 ve 4.3.2). Burada tartışılması gereken konu, kanama şiddeti ile serebral kan akımı değişiklikleri arasındaki ilişkidir; zira kanama indüksiyonu ile elde edilen daha yüksek ICP değerlerinin daha şiddetli bir kanamaya yol açtığı çıkarımı yapılabılırken,

çalışmamızda bu çıkarımla analogi gösterecek bir değerlendirme yapılmamıştır. İleride, serebral kan akımındaki değişimler ile kanamanın hemen sonrasında sakrifiye edilen hayvanlarda örneğin Sugawara skoru (60) ile değerlendirme yapılarak kan akımı değişimi-kanama şiddeti ilişkisini gösterecek çalışmalar planlanabilir.

Literatüre baktığımızda, adenozin'in hızla metabolize edilmesi nedeniyle, adenozin ile ilgili yolaklar ve subaraknoid kanamaya etkisi ile ilişkili çalışmaların, ya adenozin analogları ile ya da adenozin reseptörleri üzerinden yapıldığını görmekteyiz (61-64). Lin ve ark. sıçan sisternal enjeksiyon SAK modelinde adenozin A_{2A} reseptör analogu olan CGS 21680'nin, kanamanın 48. saatinde değerlendirilen vazospazm bulgularını hafiflettiğini ve *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) ekspresyonundaki baskıyı azalttığını bildirmiştir(62). Benzer şekilde adenozin 2_A reseptörlerinde agonist etki gösteren ATL-146e de rodent femoral arter vazospazm modelinde, vazospazm bulgularında azalmaya neden olmuştur(61). Luo ve ark. SAK ve adenozin A₃ reseptörleri üzerinden inflamasyonun etkilerini araştırdıkları çalışmada, A₃ agonisti olan *2-chloro-N6-(3-iodobenzyl)-adenosine-50-N-methyluronamide* (CL-IB-MECA) ile mikroglial aktivitede düşüş göstermiş, TNF-alpha ve IL-beta ekspresyonunda azalma olduğunu belirtmişlerdir. Bu sayede nörolojik hasarda ve beyin ödeminde azalma sağlayabilmişlerdir(63). Bu bulguların aksine, Sehba ve ark. A_{2A} adenozin reseptör - *knockout* fareler ve *wild-type* fareler üzerinde gerçekleştirdikleri SAK modelinde, *knock-out* farelerde vazospazm sonucu damar çaplarındaki daralmanın ve tip IV kollajene ait boyanmanın daha az olduğunu göstermişlerdir(64). Literatürde verilen bu bulgular çelişkili görünmekle birlikte, ortaya çıkan sonuç farklılıkları esasen adenozin reseptör agonistlerinin farklı adenozin reseptör tipleri ile farklı derecelerde etkileşime geçmesine ve selektif etkinin var olmamasına bağlı olabilir. İn-vitro çalışmalarda, ligand-reseptör etkileşimini araştırmak açısından afinite-bazlı ayırım yapılması nisbi olarak kolayken, in-vivo çalışmalarda reseptör seçiciliğini değerlendirmek daha zordur. Adenozin analogları yerine, intrinsik bir molekül olan adenozinin kullanılması bu bağlamda daha faydalı olabilir.

Gaudin ve ark. adenzini doğal bir lipit olan squalene ile konjüge ederek adenzinin hızla metabolize edilmesinin önüne geçmiş ve nörovasküler ünite ile uzun süre etkileşim halinde kalmasına olanak sağlamıştır. Bu sayede, iskemik inme modelinde farelerde meydana gelen enfarkt hacimlerinde azalma sağlamış ve kontrol grubuna kıyasla yüksek nörolojik işlev skorları bildirmiştir (4).

Bu tez çalışmasında SAK oluşturulan tüm gruplarda, SAK sonrası serebral kan akımı global olarak %60 civarında bir düşüş göstermiştir. Yirmidördüncü saat sonrasında elde edilem serebral kan akımı değerleri, kontrol gruplarında hafif bir yükselme gösterse de bazal değerlerin altında kalmıştır. Bunun aksine yüksek doz squalene-adenzin verilen gruplarda, 24. saat kan akımı değerlerinin anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda, histolojik bulgular, serebral kan akımı verileri ile paralellik göstermektedir. Kontrol gruplarında Cresyl violet, TUNEL ve MTC boyaları ile elde edilen nöronal dejenerasyon, apoptoz ve intraluminal pıhtı tıkaçlarına ait bulgular literatürde verilen örneklerle benzerdir (4, 65). Bununla beraber tedavi gruplarında, nöronal dejenerasyon, apoptoz ve intravasküler tıkaç bulguları var olmakla beraber daha az yoğunlukta izlenmiştir. Yine Gaudin'in (4) çalışmasındaki bulgularla paralellik gösterecek şekilde, mevcut çalışmada açık alan lokomasyon testi ile değerlendirilen fonksiyonel ölçütler, yüksek doz tedavi grubunda daha iyi bulunmuştur. Düşük doz tedavi grubunda, serebral kan akımı değerleri ve lokomotor aktivite skorlarında bir düzelme eğilim olsa da kontrol grubu ile arasında anlamlı fark gösterilememiştir. Bunun nedeni squalene adenzinin doz bağımlı bir etki göstermesi olabileceği gibi, deney grubu sayısının fazla olması nedeniyle post-hoc analizlerde alpha değerinin çok düşmesi de sonucu etkiliyor olabilir. Bu nedenle ileride, bu çalışmalarda elde edilen veriler ışığında daha az grup sayısı ile deneyler tasarlanabilir.

Bu çalışmada, kullanılan fonksiyonel ölçüt, deneklerin kanamayı takip eden 24. saatteki lokomotor aktivitesidir. Deneyde farelerin nörolojik skorlarının değerlendirilmesinde, literatürde yaygın olarak bildirilen ölçütlerin neden kullanılmadığı noktasında haklı bir eleştiri gelebilir. Esasen inme modelleri için geliştirilmiş pek çok fonksiyonel ölçüt mevcuttur. Modifiye Bederson skoru, Katz

skoru, Garcia Skoru ve Parra skoru pek çok skorlama sisteminden birkaçıdır(66); ancak nörolojik skorlama sistemleri ile ilgili en önemli sorunlardan biri, bunların fokal iskemi, en sık da orta serebral arter iskemi modelleri için geliştirilmiş olmalarıdır. Subaraknoid kanama modeliyle, deneklerde fokal iskemi bulguları nadiren gelişebilmekle beraber, çoğu denekte fokal nörolojik bulgulardan ziyade hafıza, görsel-uzamsal anlamlandırma (*visuospatial construction*) ve yürütme işlevlerinde (*executive function*) defisitler oluşmaktadır (67). Gerçekten de, çalışmamızda Garcia skoru ile değerlendirilen gruplar arasında belirgin fark saptanmamıştır (paylaşılmamış veri). Bunun nedeni iskemi modellerinde kullanılan test skorlarındaki standart sapmanın büyük olması ile açıklanabilir (Şekil 6.3). Açık alan testi ise, oldukça az kullanılmış ve nörodavranışsal değerlendirme konusunda heyecan verici fırsatlar vaadeden bir testtir (68). Literatürde, sıçan SAK modelinde açık alan testi kullanılan iki (69, 70), fare SAK modelinde açık alan testi kullanılan bir çalışma mevcuttur (71). Bu çalışmaların ikisi, SAK sonrası ambulatuvar aktivitenin *sham* grubuna kıyasla düşük olduğunu göstermiştir. Mevcut tez çalışmasındaki lokomotor aktivite bulguları, literatürdeki kısıtlı sayıda örnekle paralellik göstermektedir. Bu bulgular, her ne kadar validasyon gerektirse de ileriki çalışmalarda, açık alan lokomasyon testi, nörolojik skorlama yöntemleri ve kanama şiddeti arasındaki ilişkiyi gösterecek çalışmalar için öncü olabilir.

Deneklerin vücut ağırlığındaki değişimler de kısmen beslenme ve içme davranışlarındaki oluşan değişiklikleri yansıtması açısından önemlidir (67). Örneğin sıçanlarda sisternal kan enjeksiyonu sonrası iştahın azaldığı ve 3 ila 5 gün içinde normale dönme eğilimi gösterdiği bildirilmiştir (67). Bizim çalışmamızda da *sham* ve yüksek doz squalene adenozin tedavi gruplarında vücut ağırlıklarında diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede daha düşük düzeyde azalma görülmüştür. Bu bulgular genel olarak deneğin iyilik halini yansıtıyor olabilir.

Scoring System	Mean	SD
Modified Bederson Score		
Day 1		
Sham	4.923	0.2774
SAH	3.350	1.568
Day 2		
Sham	4.923	0.2774
SAH	3.667	2.093
Day 3		
Sham	5.000	0.000
SAH	4.000	1.604
Katz Score		
Day 1		
Sham	5.231	8.604
SAH	28.27	23.51
Day 2		
Sham	1.000	1.915
SAH	24.67	24.39
Day 3		
Sham	1.000	1.915
SAH	16.92	1.115
Garcia Neuroscore		
Day 1		
Sham	16.92	1.124
SAH	11.15	5.008
Day 2		
Sham	16.69	1.377
SAH	11.73	5.849
Day 3		
Sham	16.85	1.625
SAH	12.40	5.422
Parra Neuroscore		
Day 1		
Sham	25.56	1.315
SAH	19.60	5.795
Day 2		
Sham	25.44	1.365
SAH	19.13	6.589
Day 3		
Sham	26.19	0.9106
SAH	19.93	6.829

Tablo. 5.3. Nörolojik değerlendirme skorları ve standart sapma değerleri (Matsumura ve ark. (66)'dan alınmıştır).

6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında

1. LSCI kullanılarak serebral kan akımı ölçümü ile, filaman perforasyon modelinde kanama konfirmasyonu yapılabildiği,
2. Subaraknoid kanama oluşturulan deneklerde, hiperakut dönemde serebral kan akımında %60' a varan düşüş gözlemlendiği,
3. Kanamayı takip eden 24. saatte serebral kan akımının, hemen kanama sonrası değerlere kıyasla bir miktar düzeldiği; ancak bu düzelmenin sadece yüksek doz tedavi grubunda anlamlı düzeylere ulaştığı,
4. Kanama sonrası uygulanan açık alan testi ile değerlendirilen lokomotor aktivitenin *sham* grubu ile kanama grupları arasında anlamlı derecede farklı olduğu, tedavi gruplarında ise fonksiyonel ölçütlerde düzelme şeklinde bir eğilim olduğu,
5. Cresyl-violet, TUNEL ve MTC boyamaları ile kanama oluşturulan gruplarda, *sham* grubundan farklı olarak nöronal dejenerasyon, apoptoz ve intravasküler fibrin tıkaçları gösterilebildiği, bu bulguların tedavi gruplarında daha hafif olduğu

gösterilmiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Terpolilli NA, Brem C, Buhler D, Plesnila N. Are We Barking Up the Wrong Vessels? Cerebral Microcirculation After Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*. 2015;46(10):3014-9.
2. Schievink WI, Wijndicks EF, Parisi JE, Piepgras DG, Whisnant JP. Sudden death from aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurology*. 1995;45(5):871-4.
3. Cahill J, Calvert JW, Zhang JH. Mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2006;26(11):1341-53.
4. Gaudin A, Yemisci M, Eroglu H, Lepetre-Mouelhi S, Turkoglu OF, Donmez-Demir B, et al. Squalenoyl adenosine nanoparticles provide neuroprotection after stroke and spinal cord injury. *Nat Nanotechnol*. 2014;9(12):1054-62.
5. Huang J, van Gelder JM. The probability of sudden death from rupture of intracranial aneurysms: a meta-analysis. *Neurosurgery*. 2002;51(5):1101-5; discussion 5-7.
6. Robertson G. Cerebral lesions due to intracranial aneurysms. *Brain*. 1949;72(2):150-85.
7. Stornelli SA, French JD. Subarachnoid Hemorrhage--Factors in Prognosis and Management. *J Neurosurg*. 1964;21:769-80.
8. Ohkuma H, Manabe H, Tanaka M, Suzuki S. Impact of cerebral microcirculatory changes on cerebral blood flow during cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2000;31(7):1621-7.
9. Weidauer S, Vatter H, Beck J, Raabe A, Lanfermann H, Seifert V, et al. Focal laminar cortical infarcts following aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Neuroradiology*. 2008;50(1):1-8.
10. Macdonald RL, Higashida RT, Keller E, Mayer SA, Molyneux A, Raabe A, et al. Clazosentan, an endothelin receptor antagonist, in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage undergoing surgical clipping: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial (CONSCIOUS-2). *Lancet Neurol*. 2011;10(7):618-25.
11. Bederson JB, Germano IM, Guarino L. Cortical blood flow and cerebral perfusion pressure in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat. *Stroke*. 1995;26(6):1086-91; discussion 91-2.
12. Honda M, Sase S, Yokota K, Ichibayashi R, Yoshihara K, Sakata Y, et al. Early cerebral circulatory disturbance in patients suffering subarachnoid hemorrhage prior to the delayed cerebral vasospasm stage: xenon computed tomography and perfusion computed tomography study. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2012;52(7):488-94.

13. Kusaka G, Ishikawa M, Nanda A, Granger DN, Zhang JH. Signaling pathways for early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004;24(8):916-25.
14. Suzuki H. What is early brain injury? *Transl Stroke Res.* 2015;6(1):1-3.
15. Schubert GA, Seiz M, Hegewald AA, Manville J, Thome C. Hypoperfusion in the acute phase of subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl.* 2011;110(Pt 1):35-8.
16. Bederson JB, Levy AL, Ding WH, Kahn R, DiPerna CA, Jenkins AL, 3rd, et al. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 1998;42(2):352-60; discussion 60-2.
17. Uhl E, Lehmborg J, Steiger HJ, Messmer K. Intraoperative detection of early microvasospasm in patients with subarachnoid hemorrhage by using orthogonal polarization spectral imaging. *Neurosurgery.* 2003;52(6):1307-15; discussion 15-7.
18. Pennings FA, Bouma GJ, Ince C. Direct observation of the human cerebral microcirculation during aneurysm surgery reveals increased arteriolar contractility. *Stroke.* 2004;35(6):1284-8.
19. Friedrich B, Muller F, Feiler S, Scholler K, Plesnila N. Experimental subarachnoid hemorrhage causes early and long-lasting microarterial constriction and microthrombosis: an in-vivo microscopy study. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012;32(3):447-55.
20. Sehba FA, Schwartz AY, Cheresnev I, Bederson JB. Acute decrease in cerebral nitric oxide levels after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2000;20(3):604-11.
21. Wellman GC, Koide M. Impact of subarachnoid hemorrhage on parenchymal arteriolar function. *Acta Neurochir Suppl.* 2013;115:173-7.
22. Sehba FA, Mostafa G, Friedrich V, Jr., Bederson JB. Acute microvascular platelet aggregation after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2005;102(6):1094-100.
23. Kamiya K, Kuyama H, Symon L. An experimental study of the acute stage of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1983;59(6):917-24.
24. Sehba FA, Friedrich V. Cerebral microvasculature is an early target of subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl.* 2013;115:199-205.
25. Fabricius M, Fuhr S, Willumsen L, Dreier JP, Bhatia R, Boutelle MG, et al. Association of seizures with cortical spreading depression and peri-infarct depolarisations in the acutely injured human brain. *Clin Neurophysiol.* 2008;119(9):1973-84.
26. Chen J. *Animal models of acute neurological injuries.* Totowa, NJ: Humana Press; 2009. xxi, 498 p. p.

27. Buhler D, Schuller K, Plesnila N. Protocol for the induction of subarachnoid hemorrhage in mice by perforation of the Circle of Willis with an endovascular filament. *Transl Stroke Res.* 2014;5(6):653-9.
28. Egashira Y, Shishido H, Hua Y, Keep RF, Xi G. New grading system based on magnetic resonance imaging in a mouse model of subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2015;46(2):582-4.
29. Pang J, Wu Y, Peng J, Yang P, Kuai L, Qin X, et al. Potential implications of Apolipoprotein E in early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage: Involvement in the modulation of blood-brain barrier integrity. *Oncotarget.* 2016;7(35):56030-44.
30. Peng J, Wu Y, Tian X, Pang J, Kuai L, Cao F, et al. High-Throughput Sequencing and Co-Expression Network Analysis of lncRNAs and mRNAs in Early Brain Injury Following Experimental Subarachnoid Haemorrhage. *Sci Rep.* 2017;7:46577.
31. Fredholm BB, Chen JF, Cunha RA, Svenningsson P, Vaugeois JM. Adenosine and brain function. *Int Rev Neurobiol.* 2005;63:191-270.
32. Haydon PG, Carmignoto G. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling. *Physiol Rev.* 2006;86(3):1009-31.
33. Martin ED, Fernandez M, Perea G, Pascual O, Haydon PG, Araque A, et al. Adenosine released by astrocytes contributes to hypoxia-induced modulation of synaptic transmission. *Glia.* 2007;55(1):36-45.
34. Gidday JM. Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7(6):437-48.
35. Pignataro G, Maysami S, Studer FE, Wilz A, Simon RP, Boison D. Downregulation of hippocampal adenosine kinase after focal ischemia as potential endogenous neuroprotective mechanism. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2008;28(1):17-23.
36. Pignataro G, Simon RP, Boison D. Transgenic overexpression of adenosine kinase aggravates cell death in ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27(1):1-5.
37. Pignataro G, Studer FE, Wilz A, Simon RP, Boison D. Neuroprotection in ischemic mouse brain induced by stem cell-derived brain implants. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27(5):919-27.
38. Gomes CV, Kaster MP, Tome AR, Agostinho PM, Cunha RA. Adenosine receptors and brain diseases: neuroprotection and neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1808(5):1380-99.
39. Dunn AK. Laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow. *Ann Biomed Eng.* 2012;40(2):367-77.
40. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *J Vis Exp.* 2015(96):e52434.

41. Balkaya M, Krober JM, Rex A, Endres M. Assessing post-stroke behavior in mouse models of focal ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013;33(3):330-8.
42. Winter B, Juckel G, Viktorov I, Katchanov J, Gietz A, Sohr R, et al. Anxious and hyperactive phenotype following brief ischemic episodes in mice. *Biol Psychiatry.* 2005;57(10):1166-75.
43. Kilic E, Kilic U, Bacigaluppi M, Guo Z, Abdallah NB, Wolfer DP, et al. Delayed melatonin administration promotes neuronal survival, neurogenesis and motor recovery, and attenuates hyperactivity and anxiety after mild focal cerebral ischemia in mice. *J Pineal Res.* 2008;45(2):142-8.
44. York JM, Blevins NA, McNeil LK, Freund GG. Mouse short- and long-term locomotor activity analyzed by video tracking software. *J Vis Exp.* 2013(76).
45. Ponticorvo A, Dunn AK. How to build a Laser Speckle Contrast Imaging (LSCI) system to monitor blood flow. *J Vis Exp.* 2010(45).
46. Carter M, Shieh JC. Guide to research techniques in neuroscience. Second edition. ed. Amsterdam: Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier; 2015. xxviii, 388 pages p.
47. Xue S, Gong H, Jiang T, Luo W, Meng Y, Liu Q, et al. Indian-ink perfusion based method for reconstructing continuous vascular networks in whole mouse brain. *PLoS One.* 2014;9(1):e88067.
48. Sehba FA, Pluta RM, Zhang JH. Metamorphosis of subarachnoid hemorrhage research: from delayed vasospasm to early brain injury. *Mol Neurobiol.* 2011;43(1):27-40.
49. Feiler S, Friedrich B, Scholler K, Thal SC, Plesnila N. Standardized induction of subarachnoid hemorrhage in mice by intracranial pressure monitoring. *J Neurosci Methods.* 2010;190(2):164-70.
50. Lin CL, Calisaneller T, Ukita N, Dumont AS, Kassell NF, Lee KS. A murine model of subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *J Neurosci Methods.* 2003;123(1):89-97.
51. Altay T, Smithason S, Volokh N, Rasmussen PA, Ransohoff RM, Provencio JJ. A novel method for subarachnoid hemorrhage to induce vasospasm in mice. *J Neurosci Methods.* 2009;183(2):136-40.
52. Kamii H, Kato I, Kinouchi H, Chan PH, Epstein CJ, Akabane A, et al. Amelioration of vasospasm after subarachnoid hemorrhage in transgenic mice overexpressing CuZn-superoxide dismutase. *Stroke.* 1999;30(4):867-71; discussion 72.
53. Liu S, Tang J, Ostrowski RP, Titova E, Monroe C, Chen W, et al. Oxidative stress after subarachnoid hemorrhage in gp91phox knockout mice. *Can J Neurol Sci.* 2007;34(3):356-61.

54. Ishikawa M, Kusaka G, Yamaguchi N, Sekizuka E, Nakadate H, Minamitani H, et al. Platelet and leukocyte adhesion in the microvasculature at the cerebral surface immediately after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2009;64(3):546-53; discussion 53-4.
55. Sozen T, Tsuchiyama R, Hasegawa Y, Suzuki H, Jadhav V, Nishizawa S, et al. Role of interleukin-1beta in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in mice. *Stroke*. 2009;40(7):2519-25.
56. McGirt MJ, Parra A, Sheng H, Higuchi Y, Oury TD, Laskowitz DT, et al. Attenuation of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in mice overexpressing extracellular superoxide dismutase. *Stroke*. 2002;33(9):2317-23.
57. Gao J, Wang H, Sheng H, Lynch JR, Warner DS, Durham L, et al. A novel apoE-derived therapeutic reduces vasospasm and improves outcome in a murine model of subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2006;4(1):25-31.
58. Parra A, McGirt MJ, Sheng H, Laskowitz DT, Pearlstein RD, Warner DS. Mouse model of subarachnoid hemorrhage associated cerebral vasospasm: methodological analysis. *Neurol Res*. 2002;24(5):510-6.
59. Schuller K, Buhler D, Plesnila N. A murine model of subarachnoid hemorrhage. *J Vis Exp*. 2013(81):e50845.
60. Sugawara T, Ayer R, Jadhav V, Zhang JH. A new grading system evaluating bleeding scale in filament perforation subarachnoid hemorrhage rat model. *J Neurosci Methods*. 2008;167(2):327-34.
61. Chang CZ, Dumont AS, Simsek S, Titus BJ, Kwan AL, Kassell NF, et al. The adenosine 2A receptor agonist ATL-146e attenuates experimental posthemorrhagic vasospasm. *Neurosurgery*. 2007;60(6):1110-7; discussion 7-8.
62. Lin CL, Shih HC, Lieu AS, Lee KS, Dumont AS, Kassell NF, et al. Attenuation of experimental subarachnoid hemorrhage--induced cerebral vasospasm by the adenosine A2A receptor agonist CGS 21680. *J Neurosurg*. 2007;106(3):436-41.
63. Luo C, Yi B, Tao G, Li M, Chen Z, Tang W, et al. Adenosine A3 receptor agonist reduces early brain injury in subarachnoid haemorrhage. *Neuroreport*. 2010;21(13):892-6.
64. Sehba FA, Flores R, Muller A, Friedrich V, Chen JF, Britz GW, et al. Adenosine A(2A) receptors in early ischemic vascular injury after subarachnoid hemorrhage. Laboratory investigation. *J Neurosurg*. 2010;113(4):826-34.
65. Muroi C, Fujioka M, Okuchi K, Fandino J, Keller E, Sakamoto Y, et al. Filament perforation model for mouse subarachnoid hemorrhage: surgical-technical considerations. *Br J Neurosurg*. 2014;28(6):722-32.
66. Matsumura K, Kumar TP, Guddanti T, Yan Y, Blackburn SL, McBride DW. Neurobehavioral Deficits After Subarachnoid Hemorrhage in Mice: Sensitivity

Analysis and Development of a New Composite Score. *J Am Heart Assoc.* 2019;8(8):e011699.

67. Jeon H, Ai J, Sabri M, Tariq A, Shang X, Chen G, et al. Neurological and neurobehavioral assessment of experimental subarachnoid hemorrhage. *BMC Neurosci.* 2009;10:103.

68. Turan N, Miller BA, Heider RA, Nadeem M, Sayeed I, Stein DG, et al. Neurobehavioral testing in subarachnoid hemorrhage: A review of methods and current findings in rodents. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017;37(11):3461-74.

69. Boyko M, Azab AN, Kuts R, Gruenbaum BF, Gruenbaum SE, Melamed I, et al. The neuro-behavioral profile in rats after subarachnoid hemorrhage. *Brain Res.* 2013;1491:109-16.

70. Hollig A, Weinandy A, Liu J, Clusmann H, Rossaint R, Coburn M. Beneficial Properties of Argon After Experimental Subarachnoid Hemorrhage: Early Treatment Reduces Mortality and Influences Hippocampal Protein Expression. *Crit Care Med.* 2016;44(7):e520-9.

71. Siler DA, Berlow YA, Kukino A, Davis CM, Nelson JW, Grafe MR, et al. Soluble Epoxide Hydrolase in Hydrocephalus, Cerebral Edema, and Vascular Inflammation After Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke.* 2015;46(7):1916-22.

8. EKLER

EK-1: Etik Kurul İzin Belgesi



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 52338575 - 09

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 30.01.2018 (SALI)
TOPLANTI SAYISI	: 2018/01
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2018/01
KARAR NUMARASI	: 2018/01-05
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Prof. Dr. Melike Mut AŞKUN
HAYVAN DENEYLERİNDEN	
SORUMLU ARAŞTIRMACI	: Yrd. Doç. Dr. Ahmet İlkay IŞIKAY
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	:
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: 42 Adet Swiss Albino Fare (4-6 Ay)

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. . Dr. Melike Mut AŞKUN'un araştırma yürütücüsü olduğu 2018/01 kayıt numaralı "*Deneyel Fare Subaraknoid Kanama Modelinde Squalene Adenosin Nanoparçalarının Serebral Kan Akımı ve Kanama Sonrası Süreçlere Etkisinin İncelenmesi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Araştırma yürütücüsü Kurulumuza araştırma projesinin bitiş tarihini bildirmek ve proje sonuç raporunu sunmak ile yükümlüdür.

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ
Başkan

EK-2: Dijital Makbuz**Dijital Makbuz**

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Ahmet İlkay Işııkay
Ödev başlığı: PhD Tezi
Gönderi Başlığı: Tez
Dosya adı: Dosya boyutu:29.94 M
Sayfa sayısı: 85
Kelime sayısı: 11,620
Karakter sayısı: 76,978
Gönderim Tarihi: 18-Haz-2019 04:31PM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1144904027

T.C.
BACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARE LİGAMAN PERFORASYON SAK MODELİNDE
SQUALENE ADENOZİN NANOPARÇALARININ BEYİN KAN
AKIMI VE NÖROLOJİK SKORLARA ETKİSİ

Dr. Ahmet İlkay İSİKAY

İleri Nörolojik Bilimler Programı
DOKTORA TEZİ

ANKARA
2019

EK-3: Orijinallik Raporu

Tez

ORIJINALLIK RAPORU

% 19 BENZERLIK ENDEKSI	% 18 İNTERNET KAYNAKLARI	% 17 YAYINLAR	% 15 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	---------------------------------------	-------------------------	---------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	link.springer.com İnternet Kaynağı	% 3
2	Bühler, Dominik, Kathrin Schüller, and Nikolaus Plesnila. "Protocol for the Induction of Subarachnoid Hemorrhage in Mice by Perforation of the Circle of Willis with an Endovascular Filament", Translational Stroke Research, 2014. Yayın	% 1
3	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	% 1
4	www.frontiersin.org İnternet Kaynağı	% 1
5	eprints.ucm.es İnternet Kaynağı	% 1
6	d-nb.info İnternet Kaynağı	% 1
7	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1

9. ÖZGEÇMİŞ

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Tıp Fakültesi (İngilizce)	Hacettepe Üniversitesi	1996-2002
Tıpta Uzmanlık	Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilimdalı	Hacettepe Üniversitesi	2002-2009
İleri Nörolojik Bilimler Doktora Programı	Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü	Hacettepe Üniversitesi	2011-2019
Dr. Öğr. Üyesi	Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilimdalı	Hacettepe Üniversitesi	2015-Halen

Uzmanlık Tez Başlığı: Deneysel subaraknoid kanama modelinde intrasisternal olarak verilen Zn(II) protoporphyrin IX'un vazospazm sürecine etkisi.

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler

1. Türk Nöroşirürji Derneği
2. Türk Tabipler Birliği

Yazışma Adresi:

Ahmet İlkay IŞIKAY

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Sıhhiye /ANKARA 06100

e-mail: isikay@hacettepe.edu.tr

ESERLER LİSTESİ

A.Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Bildiriler

A1. Türk CÇ, Özdöl Ç, **Işıkay I**, Atilla P, Müftüoğlu S, Oruçkaptan H. Evaluation of Histological and Functional Differences of Interpositional Carotid Bypass Grafts in an Experimental Rat Model. Journal of Neurological Sciences-Turkish 2015 (SCIE)

A1. Akbay A, **Işıkay I**, Orunoglu M. Occipitocervical fixation using occipital bone hooks and cervical lateral mass screws: analysis of 16 cases. Turk Neurosurg. 2014

A2. Bilginer B, Narin F, **Işıkay I**, Oguz KK, Söylemezoglu F, Akalan N. Thalamic tumors in children. Childs Nerv Syst. 2014 (SCI)

A3. Colpak AI, Işıkay I, Mut M, Soylemezoglu F, Kansu T, Foroozan R. Acute visual loss: just the beginning? Surv Ophthalmol. 2014 (SCI)

A4. Kose N, Muezzinoglu O, Bilgin S, Karahan S, **Işıkay I**, Bilginer B. Early rehabilitation improves neurofunctional outcome after surgery in children with spinal tumors. Neural Regeneration Research 2014 (SCIE)

A5. Berker M, **Işıkay I**, Berker D, Bayraktar M, Gürlek A. Early promising results for the endoscopic surgical treatment of Cushing's disease. Neurosurg Rev 2013 (SCI)

A6. **Işıkay I**, Bilginer B, Narin F, Söylemezoğlu F, Akalan N. The effect of intracisternal Zn (II) protoporphyrin IX on vasospasm process in the experimental subarachnoid hemorrhage model. Acta Neurochir Suppl. 2011 (SCI)

A7. Narin F, Bilginer B, **Isikay AI**, Onal MB, Soylemezoglu F, Akalan N. The effect of phosphodiesterase inhibitor tadalafil on vasospasm following subarachnoid hemorrhage in an experimental rabbit model. Acta Neurochir Suppl. 2011 (SCI)

A8. Onal MB, Civelek E, Kircelli A, Solmaz I, Ugurel S, Narin F, **Isikay I**, Bilginer B, Yakupoglu H. Comparison of nimodipine delivery routes in cerebral vasospasm

after subarachnoid hemorrhage: an experimental study in rabbits. Acta Neurochir Suppl. 2011 (SCI)

A9. Işıkay I, Berker M, Balcı S, Cila A. Somatotroph adenoma cells may populate paranasal sinus mucosa. Acta Neurochir (Wien). 2010 (SCI)

A10. Oruçkaptan H, Oğuz KK, **Işıkay I**, Ruacan S. Amyloidoma of the temporal bone and upper cervical spine; presentation of a rare clinical entity with a brief literature review. Turk Neurosurg. 2009 (SCIE)

A11. Ozişik PA, **Işıkay I**, Oruçkaptan H, Söylemezoğlu F, Ozcan OE. Unusual massive spinal metastasis of an intracranial oligodendroglioma. Turk Neurosurg. 2008 (SCIE)

B.Kitap Bölümü-Editörlük

B1. Greenberg Nöroşirürji El Kitabı. Güneş Tıp Kitabevleri Türkçe Baskı Çeviri **Editör Yardımcılığı**. 2012. Editör: H Oruçkaptan.

C.Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve kongre kitabında basılan sözlü bildiriler

C1. Işıkay I, Bilginer B, Narin F, Söylemezoğlu F, Akalan N. ‘The effect of intracisternal ZnPP on vasospasm process in the experimental subarachnoid hemorrhage model’. The 10th International Conference on Vasospasm, 2009, Chongqing, China.

C2. Narin F, Bilginer B, **Işıkay I**, Önal B, Söylemezoğlu F, Akalan N. ‘The effect of phosphodiesterase inhibitor tadalafil on vasospasm following subarachnoid hemorrhage in an experimental rabbit model’. The 10th International Conference on Vasospasm, 2009, Chongqing, China.

C3. Onal MB, Civelek E, Kircelli A, Solmaz I, Ugurel S, Narin F, **Isıkay I**, Bilginer B, Yakupoglu H. Comparison of Nimodipine Delivery Routes in Cerebral Vasospasm After Subarachnoid Hemorrhage: An Experimental Study in Rabbits. The 10th International Conference on Vasopasm, 2009, Chongqing, China.

D.Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve kongre kitabında basılan sözlü

bildiriler

D1. Berker M, Çağıltay N, **Işıkay A. İlkay**, Tuner E, Ünal B, Erol B. Simulation in Endoneurosurgery Education: a case study in Pituitary Surgery. Third Simulation in Medical Education Conference, 2014, Ankara, Turkey.

D2. Işıkay A. İlkay, Hanalioğlu S, Bozkurt G. Dejeneratif lomber omurga hastalıklarında transforaminal interbody füzyon (TLIF) ile enstrümantasyonlu posterolateral füzyonun (PLF) klinik ve radyolojik sonuçlarının karşılaştırılması Türk Nöroşirürji Derneği 28. Bilimsel Kongresi, 2014, Antalya, Türkiye

D3. Işıkay A. İlkay, Akbay A, Yücel T. Baziler invajinasyon ile birlikte seyreden Chiari tip 1 malformasyonunda endoskopik transnazal odontoidektomi ve posterior oksipitoservikal füzyon. Yılın ilk on bildirisini Türk Nöroşirürji Derneği 25. Bilimsel Kongresi, 2011, Antalya, Türkiye.

D4. Işıkay A. İlkay, Berker M, Gürlek A, Erbaş M, Bayraktar M. “56 Cushing vakasında endoskopik hipofiz cerrahisi sonuçları”. Türk Nöroşirürji Derneği 24. Bilimsel Kongresi, 2010, Antalya, Türkiye.

D5. Işıkay A. İlkay, Bahadır S, Bilginer B, Akalan N. “Pi kraniotomi: Sagittal sinostozlu 7 olgu sunumu”. Türk Nöroşirürji Derneği 22. Bilimsel Kongresi, 2008, Antalya, Türkiye

D6. Berker M, **Işıkay A. İlkay**, Palaoglu S. “Lomber Stenoz Cerrahisinde Minimal İnvaziv Yaklaşım; Tek Taraflı Laminotomi, Bilateral Dekompresyon”. Türk Nöroşirürji Derneği 21. Bilimsel Kongresi, 2007, Antalya, Türkiye

D7. Işıkay A. İlkay, Özışık P, Oruçkaptan H, Benli K. “Oligodendrogliomlarda spinal ekilim metastazı”. Türk Nöroşirürji Derneği 20. Bilimsel Kongresi, 2006, Antalya, Türkiye

E. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve kongre kitabında basılan poster bildirileri

E1. Işıkay A. İlkay, Ayhan S, Berker M, Palaoğlu S. “Büyüme hormonu salgılayan hipofiz adenomunun ekilim metastazı”. Türk Nöroşirürji Derneği 22. Bilimsel Kongresi, 2008, Antalya, Türkiye.

E2. Işıkay A. İlkay, Berker M. “Endokrin inaktif hipofiz adenomunun spontan regresyonu”. Türk Nöroşirürji Derneği 22. Bilimsel Kongresi, 2008, Antalya, Türkiye.

E3. Işıkay A. İlkay, Bahadır S, Berker M. “Chiari I Malformasyonuna Eşlik Eden C1 Posterior Ark Defekti”. Türk Nöroşirürji Derneği 21. Bilimsel Kongresi, 2007, Antalya, Türkiye.

F.Katıldığı uluslararası-ulusal toplantı ve kurslar

- 2.Nöropatik Ağrı Sempozyumu, 2005, İstanbul, Türkiye.
- “Kavernöz Sinüs”, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, 2005, Ankara, Türkiye.
- “Beyin Tümörleri”, Türk Nöroşirürji Derneği Temel Nöroşirürji Öğretim ve Eğitim Kursu, 2005, Kuşadası, Türkiye.
- “Hipofiz Anatomisi ve Cerrahisi”, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, 2006, Ankara, Türkiye.
- Türk Nöroşirürji Derneği Spinal Cerrahi Yaz Okulu, 2006, Bolu, Türkiye.

- Türk Nöroşirürji Derneği 20. Bilimsel Kongresi, 2006, Antalya, Türkiye.
- “Hidrocefali ve Spinal Disrafizm”, Türk Nöroşirürji Derneği Pediatrik Nöroşirürji Eğitim ve Öğretim Grubu Pediatrik Nöroşirürji Kursu, 2007, Mersin, Türkiye.
- Türk Nöroşirürji Derneği 21. Bilimsel Kongresi, 2007, Antalya, Türkiye.
- Türk Nöroşirürji Derneği 22. Bilimsel Kongresi, 2008, Antalya, Türkiye.
- 6. Nöropatik Ağrı Sempozyumu, 2009, Antalya, Türkiye.
- Türk Nöroşirürji Derneği 23. Bilimsel Kongresi, 2009, Girne, KKTC.
- The 10th International Conference on Vasopasm, 2009, Chongqing, China.
- ESPN, Pediatrik Nöroşirürji Kongresi, 2010, Antalya, Türkiye.
- Türk Nöroşirürji Derneği 24. Bilimsel Kongresi, 2010, Antalya, Türkiye.
- Türk Nöroşirürji Derneği 25. Bilimsel Kongresi, 2011, Antalya, Türkiye.
- Türk Nöroşirürji Derneği 26. Bilimsel Kongresi, 2012, Antalya, Türkiye.
- Türk Nöroşirürji Derneği 26. Bilimsel Kongresi, 2013, Antalya, Türkiye.
- Türk Nöroşirürji Derneği 26. Bilimsel Kongresi, 2014, Antalya, Türkiye.
- Eğitimcilerin Eğitimi Kursu, 2014, Ankara, Türkiye
- Laboratuvar Hayvanları Kullanım Kursu, 2014, Ankara, Türkiye