



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**RİOCİGUAT VE MOMORDİCA CHARANTİA (KUDRET
NARI)'NIN TAVŞANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
SUBARAKNOİD KANAMA SONRASI GELİŞEN VAZOSPAZM
ÜZERİNE ETKİLERİ**

DR. BURAK ATLAS
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR 2022



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**RİOCİGUAT VE MOMORDİCA CHARANTİA (KUDRET
NARI)'NIN TAVŞANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
SUBARAKNOİD KANAMA SONRASI GELİŞEN VAZOSPAZM
ÜZERİNE ETKİLERİ**

DR. BURAK ATLAS
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR.TEVFİK YILMAZ

DİYARBAKIR 2022

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi, beceri ve tecrübelerini bizden esirgemeyen bize sadece hocalık yapmayı aynı zamanda bizi her anlamda hayata hazırlayan kliniğimizin duayen ismi sayın Prof.Dr.Adnan CEVİZ'e minnet ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmamın planlanması, hazırlanması ve yapılmasında bana yol gösterici olan; deneyimlerinden faydalandığım, kıymetli tez danışmanım sayın Prof.Dr. Tefvik YILMAZ'a ve değerli tez danışman yardımcım Dr.Öğr.Üyesi İbrahim BAŞAR'a şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Beraber çalışma fırsatı yakaladığım, eğitim sürecimde bilgi, hoşgörü ve sabrını benden esirgemeyen hocalarım Doç.Dr.Yahya TURAN'a ve Doç.Dr. Hüseyin ÖZEVREN'e;

Birlikte çalışmaktan büyük keyif adığım, mesleki becerilerin büyük bir kısmını kendilerinden öğrendiğim ve desteklerini sürekli hissettiğim değerli şeflerim Op. Dr.Kamuran AYDIN'a ve Op.Dr.Bariş ASLANOĞLU'na;

Birlikte çalışmaktan ve aynı ekipte olmaktan onur duyduğum kader arkadaşım, eş kıdemim Dr.Rıdvan ÇETİN'e, Dr.Mehmet Salih ATAMA, Dr.Aziz ÇEVİK, Dr.Abdullah YİĞİT, Dr.Bariş ALTUN, Dr.Muhammed Mazlum KILIÇ, Dr. İsmail Behçet BAZ, bütün hemşire ve personellere;

Tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen, değerli zamanını ayırarak deneyimin histopatolojik incelemesini yapan ve ilgisiyle, fazlaca katkısıyla yanımda olan Dr.Öğr.Üyesi Uğur ŞEKER'e;

Bu günlere gelmemi sağlayan ve her daim yanımda olan başta değerli anneme, babama ve kardeşime;

Zorlu asistanlık sürecinde sık sık yanlarında olamadığım, yorulduğumda ve huysuzluğumda bana katlanan, koşulsuz destek olan, sevgili eşim ve yol arkadaşım Uzm.Dr.Merve ATLAS'a ve hayatı eğlenceli kılan en büyük neşe kaynağımız biricik oğlum Ali Osman'a teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Burak ATLAS

Diyarbakır, 2022

Bu tez çalışması Dicle Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. (Proje No: SBE.22.010)



ÖZET

Amaç: Serebral vazospazm, subaraknoid kanamayı takiben mortalite ve morbiditeyi belirleyen en önemli komplikasyondur. Vazospazm tedavilerinin etkinliği henüz istenilen düzeyde değildir. Pulmoner hipertansiyon (PHT) tedavisinde kullanılan Riociguat bir guanilat siklaz aktivatörüdür. Guanilat Siklaza (GC) direkt etki ederek cGMP'a dönüşümünü sağlar ve GC'nin nitrik oksit (NO) duyarlılığını artırarak etki eder. NO, hücre içi kalsiyum miktarını azaltarak düz kasın gevşemesini sağlar. Ülkemizde kudret narı olarak tanınan dünyada yaygın olarak acı küspe veya acı kavun olarak bilinen Momordica Charantia'nın yapılan çalışmalarda ekstratlarının, güçlü antioksidan ve serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda deneysel SAK modeli ile oluşturulan vazospazm üzerinde uygulanacak ilaçların; baziler arter çapında ki değişikliklerin belirlenmesi ve olası nöroprotektif etkilerinin morfolojik, histopatolojik ve immünohistokimyasal açıdan değerlendirmesi ve araştırılması amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada 2,5-4 kg ağırlığında, erkek, Yeni Zelanda beyaz tavşanları kullanıldı. Kontrol (n:7), SAK (n:7), Riociguat (n:7), M.Charantia (n:7) grupları olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu dışında SAK oluşturulan diğer gruplardan; riociguat grubuna SAK'ı takiben 10 mg/kg Riociguat, 3 gün boyunca, (1x1/24 saatte bir doz) peroral yolla uygulandı, SAK+M.Charantia grubuna SAK sonrası 500 mg/kg 3 gün boyunca, (1x1/24 saatte bir doz) per oral verildi. 72 saatin sonunda perfüzyon ve fiksasyon işlemini yapılarak beyin, beyincik ve beyinsapı çıkarıldı ve histopatolojik incelemeye alındı. Baziler arterin lümen alanı ve duvar kalınlığı, damar duvar yapısı ve serebral doku morfolojik, histopatolojik ve immunohistolojik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Histolojik ve morfometrik incelemede SAK modeli uygulanan hayvanların vasküler yapılarında gözle görülür kontraksiyon, baziler Arter çevresinde yoğun eritrosit birikimi, daralmış arter lümeni ve perivasküler alanda ödem tespit edildi. Riociguat grubunda baziller arter çaplarının kontrol grubuna benzer, etkili vazodilatasyon sağlanmış, eritrosit birikimi ortadan kalkmış ve lümenleri açık izlenmiştir. Momordica Charantia grubunda ise baziller arterde etkin bir dilatasyon ve

doku etrafında hemorajik birikim ve yer yer eritrosit agregasyonları saptanmıştır. Histopatolojik incelemede beyin sapı ve serebral doku kesitlerinde SAK grubunda nöroglial hücreler, nöron çekirdeklerinde piknotik değişiklikler ve kan beyin bariyerinde bozulma görülmüştür. Riociguat deney grubunda genel hücre ve çekirdek yapısının kontrol grubuyla uyumlu olduğu saptanmıştır. Momordica Charantia deney grubunda, SAK grubundaki değişikliklerin bir kısmı izlenmiş ve nöral dokunun genel yapısı kontrol grubuna benzerdir. Hücre yapıları düzensiz olmasına ve çekirdek yapılarındaki değişikliklere rağmen morfolojik yapı korunmuştur. Riociguat grubunun aksine nöral dokuda kısmi hemorajik infiltrasyon bulunmuştur.

Sonuç: Tavşanlarda SAK sonrası gelişen vazospazmda uygulanan Riociguat ve M.Charantia, vazodilatör ve antiinflamatuvar etkileriyle SAK' ın neden olduğu vazospazmın önlenmesi veya etkilerinin geri çevrilmesinde etkinliği ve buna bağlı gelişen iskemide nöroproteksiyon sağladığı görülmüş olup vazospazm tedavi yaklaşımlarında kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Subaraknoid kanama, Vazospazm, Riociguat, Momordica Charantia

ABSTRACT

Effects of Riociguat and Momordica Charantia on Cerebral Vasospasm Following Experimental Subarachnoid Hemorrhage in the Rabbit

Background: Cerebral vasospasm is the most important complication that determines mortality and morbidity following subarachnoid hemorrhage. The effectiveness of vasospasm treatments is not yet at the desired level. Riociguat used in the treatment of pulmonary HT is a guanylate cyclase activator. By acting directly on guanylate cyclase (GC), it provides cGMP a conversion and acts by increasing the NO sensitivity of GC. NO provides relaxation of smooth muscle by reducing the amount of intracellular calcium. It has been shown in studies that the extracts of Momordica Charantia, commonly known as bitter pulp or bitter melon in the world, known as potency pomegranate in our country, have strong antioxidant and free radical scavenging activity. In our study, the drugs to be applied on vasospasm created by the experimental SAH model; It is aimed to determine the changes in the basilar artery diameter and to evaluate and investigate their possible neuroprotective effects in terms of morphological, histopathological and immunohistochemical.

Materials and Methods: Male New Zealand white rabbits weighing 2.5-4 kg were used in this study. They were divided into 4 groups as control (n:7), SAH (n:7), Riociguat (n:7), M.Charantia (n:7) groups. Apart from the control group, other groups with SAH; In the riociguat group, 10 mg/kg Riociguat was administered perorally for 3 days (1x1/24 hour dose) following SAH. At the end of 72 hours, perfusion and fixation were performed and the cerebrum, cerebellum and brainstem were removed and taken for histopathological examination. Lumen area and wall thickness of the basilar artery, vessel wall structure and cerebral tissue were evaluated morphologically, histopathologically and immunohistochemically.

Results: In histological and morphometric examination, visible contraction in the vascular structures of the animals in which SAH model was applied, intense erythrocyte accumulation around the basilar artery, narrowed arterial lumen and edema in the perivascular area were detected. In the riociguat group, basilar artery diameters

were similar to the control group, effective vasodilation was achieved, erythrocyte accumulation was eliminated and their lumens were enlarged. In the Momordica Charantia group, effective dilatation of the basilar artery and hemorrhagic accumulation around the tissue and local erythrocyte aggregation were detected. In the histopathological examination, neuroglial cells, pycnotic changes in neuron nuclei and disruption of the blood-brain barrier were observed in the brain stem and cerebral tissue sections in the SAH group. It was determined that the general cell structures and nuclear structure of the riociguat experimental group was compatible with the control group. In the Momordica Charantia experimental group, some of the changes in the SAH group were observed and the general structure of the neural tissue was similar to the control group. Despite the irregularity of the cell structures and changes in the nuclear structures, the morphological structure was preserved. In contrast to the riociguat group, partial hemorrhagic infiltration was found in the neural tissue.

Conclusion: Riociguat and M.Charantia, applied in vasospasm after SAH in rabbits, have been shown to be effective in preventing or reversing vasospasm caused by SAH with their vasodilator and anti-inflammatory effects, and provide neuroprotection in ischemia that develops after vasospasm and can be used in vasospasm treatment strategies.

Keywords: Subarachnoid Hemorrhage, Vasospasm, Riociguat, Momordica Charantia

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. SUBARAKNOİD KANAMA.....	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.1.3. Etiyoloji.....	3
2.1.4. Risk Faktörleri	4
2.1.5. Klinik Belirti ve Bulgular	4
2.1.6. Evrelemeler	4
2.1.7. Tanı ve Prognoz	6
2.1.8. Komplikasyonlar	9
2.2. SEREBRAL VAZOSPAZM.....	11
2.2.1. Tanım ve Tarihçe	11
2.2.2. Epidemiyoloji.....	11
2.2.3. Bulgular.....	12
2.2.4. Etiyoloji ve Patogenez	12
2.2.5. Tanı ve Tedavi	15
2.2.6. Cerrahi Tedavi	16
2.2.7. Medikal Tedavi	16
2.2.8. Endovasküler Tedavi.....	17
2.3. FARMAKOLOJİK AJANLAR	18
2.3.1. Riociguat	18
2.3.2. Momordica Charantia	19
2.4. DENEY HAYVANLARINDA VAZOSPAZM MODELİ	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23

3.1. Deney Grupları.....	24
3.2. Nörolojik Takip.....	30
3.3. İlaçların Uygulanması.....	31
3.4. Perfüzyon-fiksasyon	31
3.5. Rutin Histolojik Takip	35
3.6. Kesitlerin alınması ve H&E boyama protokolü.....	36
3.7. İmmünohistokimya protokolü.....	36
3.8. İmmünohistokimyasal analiz	37
4. BULGULAR.....	39
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ	60
7. KAYNAKLAR	61

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Hunt-Hess SAK sınıflaması.....	4
Tablo 2: WFNS SAK sınıflaması	5
Tablo 3: Fisher SAK Sınıflaması.	5
Tablo 4: Vazospazm Patogeneğine İlişkin Teoriler	15
Tablo 5 : Deneylerde kullanılan kimyasal/organik maddeler ve farmakolojik ajanlar	24
Tablo 6: Etanollü ekstre hazırlanırken kullanılan bitki, çözücü ve elde edilen ürünlerin miktarları	25



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Riociguat etki mekanizması(128)	19
Şekil 2. A) Yaprak ve çiçekler , B) Olgunlaşmamış meyve	20
Şekil 3: Deneyde yer alan hayvanların mevcut bakım koşulları	23
Şekil 4: Çalışmamızda kullanılan Riociguat	25
Şekil 5: Çalışmamızda kullanılan Momordica Charantia'nın taze meyve ve etanolik ekstrakt hali	26
Şekil 6: Çalışmamızda kullanılan veteriner anestezi ilaçları	27
Şekil 7: Deneklerin oksipitoservikal geçiş bölgesinin traşlanması, prone pozisyona alınması ve steril örtmeyi takiben cilt antisepsisi yapılması	27
Şekil 8: Paravertebral diseksiyonla atlanto-oksipital membranın ortaya konulması	28
Şekil 9: A) Csiterna magnanın ponksiyonu ve BOS boşaltılması B) Kulak arterinden alınan kanın cisterna magnaya enjeksiyonu	29
Şekil 10: İşlem sonrası tabakaların kapatılması ve tekrar antisepsi uygulanması	30
Şekil 11: Tavşanların işlem sonrası Trendelenburg pozisyonunda bekletilmesi.....	30
Şekil 12: Perfüzyon fiksasyon öncesi tavşanlara torakotomi yapılması.....	32
Şekil 13: İnen Aorta ve Vena Kavanın bulunarak klemplenmesi.....	32
Şekil 14: Sol ventrikülün kanüle edilmesi ve sağ atriumun açılması	33
Şekil 15: Perfüzyon ve Fiksasyon işlemlerinin yapılması	34
Şekil 16: Kraniektomi sonrası çıkarılan beyin ve beyin sapı dokularının A) rostral görünümü, B) Ventral görünümü	35
Şekil 17: Kontrol grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin küçük büyütmedeki görüntüsü.	39
Şekil 18: Kontrol grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin büyük büyütmedeki görüntüsü.....	40
Şekil 19: SAK grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin küçük büyütmedeki görüntüsü.	41
Şekil 20: SAK grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin büyük büyütmedeki görüntüsü.....	41
Şekil 21: Riociguat grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin küçük büyütmedeki görüntüsü.	42

Şekil 22: Riociguat grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin büyük büyütmedeki görüntüsü.....	43
Şekil 23: Momordica charantia grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter ve vasküler dalların küçük büyütmedeki görüntüsü.....	44
Şekil 24: Momordica charantia grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin büyük büyütmedeki görüntüsü.	44
Şekil 25: Kontrol grubu beyin sapı kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	45
Şekil 26: SAK grubu beyin sapı kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	46
Şekil 27: Riociguat grubu beyin sapı kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	47
Şekil 28: Momordica charantia grubu beyin sapı kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	48
Şekil 29: Kontrol grubu kesitinde IL-6 immunohistokimya.....	48
Şekil 30: SAK grubu kesitinde IL-6 immunohistokimya.....	49
Şekil 31: Riociguat grubu kesitinde IL-6 immunohistokimya.	49
Şekil 32: Momordica charantia grubu kesitinde IL-6 immunohistokimya.....	50
Şekil 33: Kontrol grubu kesitinde TNF- α immunohistokimya.....	50
Şekil 34: SAK grubu kesitinde TNF- α immunohistokimya.	51
Şekil 35: Riociguat grubu kesitinde TNF- α immunohistokimya.....	51
Şekil 36: Momordica charantia grubu kesitinde TNF- α immunohistokimya.....	52

KISALTMALAR

3D-MRA: Üç boyutlu Manyetik Rezonans Anjiyografi

3H: Hipertansiyon, Hipervolemi, Hemodilüsyon

AchE: Asetilkolin Esteraz

ADLs: Günlük Yaşam Aktiviteleri

ATP: Adenozin Trifosfat

BBT: Beyin Bilgisayarlı Tomografi

Bcl-2 : B hücreli lenfoma-2 protein

BOS: Beyin Omurluk Sıvısı

BQ-123: Endotelin A reseptör antagonisti

BT: Bilgisayarlı Tomografi

C1: servikal 1. vertebra

C3a: Kompleman 3a

Ca⁺⁺: Kalsiyum

cGMP: Siklik Guanozin Monofosfat

c-Jun : Jun protoonkogeni

COX: Siklooksijenaz

DMSO: Dimetil Sülfoksit

DSA: Dijital Substraktif Anjiyografi

eNOS: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz

ET-1: Endotelin 1

ET-A: Endotelin A

EVD: Ekstraventriküler Drenaj

Fas-L: Fas Ligandı

FUT-175: Nafamostat Mesylate

GABA: Gama Aminobütirik Asit

GABA-T: GABA Transaminaz

GC: Guanilat Siklaz

GKS: Glasgow Koma Skoru

H&E: Hematoksilen ve Eozin

Hb: Hemoglobin

HT: Hipertansiyon

ICAM-1: İntrasitoplazmik Adezyon Molekülü-1

ICAMs: İntrasitoplazmik Adezyon Molekülleri

IL-6: İnterlökin 6

IL-1 β : İnterlökin 1 beta

LOX: Lipooksijenaz

LP: Lomber Ponksiyon

M.Charantia: Momordica Charantia

mAb: monoklonal antikor

MAPK: Mitojen Aktif Protein Kinaz

Mg: Magnezyum

MI: Miyokard Enfarktüsü

MRA: Manyetik Rezonans Anjiyografi

MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme

nNOS: nöronal Nitrik Oksit Sentaz

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

O₂: Oksijen

ONOO: Peroksinitrit

P53: Tümör Protein 53 (Geni)

PBS: Fosfatla Tamponlanmış Solüsyon

PET: Pozitron Emisyon Tomografi

PFT: Pifithrin-Alfa

PTA: Pulmoner Tromboemboli

SAK: Subaraknoid Kanama

SD: Standart Sapma

sGC: solubl Guanilat Siklaz

SPECT: Tek Foton Emisyon Bilgisayarlı Tomografi

TAK-044: Endothelin-B reseptör antagonisti

TNF- α : Tümör Nekrozis Faktör alfa

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

WFNS: World Federation of Neurosurgeons Scale

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Subaraknoid kanama (SAK) birçok nedene bağlı, her yaşta görülebilen ve hayatı tehdit eden akut serebrovasküler olaydır. Ani ölümler içerisinde kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır (1,3). Etiyolojisinde ilk sırada anevrizma ve hipertansiyon bulunur, arterio-venöz malformasyon, kanama diyatezleri ve sistemik hastalıklar ise diğer nedenler arasında yer alır (1, 5). Şiddetli başağrısı, ense sertliği ve bulantı-kusma SAK'ın karakteristik klinik triadını oluşturmasına karşın, klinik tablo kanamanın lokalizasyonuna, miktarına, genişliğine ve gelişen komplikasyonlara bağlı baş ağrısından komaya kadar değişir (1, 24). SAK'ın klinik seyrinde en sık gözlenen komplikasyon vazospazmdır (1, 2, 4, 7).

Vazospazm, arter rüptürünü takiben gelişen ve çeşitli derecelerde damar lümeninin daralması ile karakterize mortalitesi ve morbiditesi yüksek fizyopatolojik bir olaydır. Adrenerjik sinir sistemin nörojenik ve arter duvarının primer miyojenik cevabı ile kandan serbest kalan maddelere karşı damar duvarının farmakolojik reaksiyonu olarak belirtilmiştir (4). Vazospazmın ilk dönem yanıtları trombositler tarafından dolaşıma verilen serotonin ile sağlanmaktadır (6). Ayrıca stres ve korku ile artan sempatik aktivitenin de vazospazma katkısı olduğu bildirilmiştir (2,4). Serotoninin etkisi yaklaşık 24-36 saat sonra azalmakta, eritrosit ve hemoglobin yıkım ürünlerinden açığa çıkan spazmojenik proteinler yoluyla vazospazma ve serebral perfüzyon azlığına neden olmaktadır. Son yıllarda özellikle hipotalamusta bulunan endotelin-I adı verilen bir maddenin kan elemanları, trombin, oksihemoglobin ve trombositler ile salınımının uyarılmasıyla, serebral damarlarda çok güçlü vazokonstriksiyon yaptığı bildirilmiştir (3, 4, 6).

Hayvan deneylerinde intratekal endotelin-I uygulanmasıyla da baziler arterde çok güçlü vazokonstriksiyon görülmüş ve ilk kez BQ 123 adı verilen endotelin antagonisti bulunmuştur. Parenteral yoldan verildiğinde serebral arter yapılarında etkisiz olduğu saptanmış iken , intra-sisternal uygulama ile vazospazmın tedavisinde olumlu sonuçlar alınmıştır (4,6).

Vazospazm sonrası gelişen klinik tablo spazmın derecesine, şiddetine, lokalizasyonuna ve yaygınlığına göre değişir. En çok kanama alanı ve çevresindeki damarlarda gelişir. SAK'da vazospazmın gelişmesine en sık 4-14. günler arasında rastlanılır (1-15). Vazospazma bağlı erken dönemde akut iskemik değişikliklere %30 oranında saptanmıştır (1,4). İskemik değişikliklere bağlı olarak hastalar asemptomatik olabileceği gibi yaygın serebral nekroz bulgularıda gösterebilirler. Birçok merkezde yapılan çalışmaların ortalama sonuçlarına göre vazospazma bağlı ölüm ve kalıcı sakatlık oranları %7 olarak belirtilmiştir (4).

SAK'ta klinik özelliklerin ve nörolojik bulguların komplikasyonlar nedeniyle çok sık değişmesi ve vazospazmın yüksek oranda görülmesi sebebiyle birçok merkezde profilaktik tedavi protokolleri uygulanmakta, her geçen günde yeni tedavi modaliteleri ortaya konmaktadır. Günümüzde; klasik tedavide yıllardır kullanılan intravasküler volüm yükleme tedavisi yan etkilerinin fazlalığı nedeniyle artık tercih edilmemekte onun yerine iki temel yenilik olarak kalsiyum (Ca^{++}) kanal blokerleri ve perkutan transluminal angioplastik (PTA) girişimler önerilmektedir (15, 24). Ca^{++} kanal blokerleri yıllar önce keşfedilmesine karşın serebral selektivitesi olmaması sebebiyle uzun süre kullanılmamış, ancak son 10 yıl içinde sayısı giderek artan serebral selektif ilaçların keşfiyle klinik kullanımda ciddi yararlar elde edilmiştir. Ca^{++} kanal blokerlerinin etki yeri vasküler duvar üzerinde olup, Ca^{++} reflüksünü engelleyerek vasküler kontraksiyon ve damar lümeninin daralması önlenir (3, 6, 11, 19, 22). İlk klinik kullanıma giren Ca^{++} kanal blokeri nimodipine ve türevleri olup her geçen gün yeni ilaçlar keşfedilmekte, AT827, AT394 gibi yeni ilaçlarla ve en son ortaya çıkan kalsitonin gene peptid içeren yavaş salımlı tabletlerin (1200 mg/ gün) kullanımı ile anlamlı yararlar bildirilmektedir (19, 20, 22).

Riociguat, NO-Guanilat Siklaz-cGMP yolağına 2 yolla etki eden bir guanilat siklaz aktivatörüdür. Guanilat Siklaza (GC) direkt etki ederek cGMP a dönüşümünü sağlar ve GC 'ın NO duyarlılığını artırarak etki eder. NO, düz kas hücrelerinde GC'ye bağlanarak ikincil haberci olan cGMP dönüşümünü uyarır. cGMP hücre içi kalsiyum miktarını azaltarak düz kasın gevşemesini sağlar (25). Yapılan deneysel bir çalışmada riociguatın kardiyak enfarkt alanını ve post-enfarkt kalp yetmezliğini azalttığı gösterilmiştir (26).

Ülkemizde kudret narı olarak tanınan dünyada yaygın olarak acı küspe veya acı kavun olarak bilinen *Momordica Charantia*, yüz yıllardır kullanılan önemli bir tıbbi bitkidir (27). Meyveleri; tanenler, C vitamini ve flavonoidlerin varlığı nedeniyle güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir (28). Yapılan çalışmalarda *Momordica* ekstratlarının, güçlü antioksidan ve serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (29). Farelerde yapılan bir çalışmada, *Momordica charantia*'nın etanolik ekstraktının, lipid peroksidasyonunu inhibe ederek, endojen antioksidan enzimleri artırarak ve beyindeki asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesini azaltarak nöroprotektif olduğu anti-amnezik aktiviteyi iyileştirmede potansiyel terapötik etkiye sahip olduğunu gösterilmiştir (30).

Çalışmamızda oluşturulan vazospazm üzerinde uygulanacak ilaçların; baziller arter çapı üzerindeki değişikliklerin belirlenmesi ve olası nöroprotektif etkilerinin morfolojik değerlendirilmesi, apoptotik hücrelerin ayrıştırılmasında kullanılan TUNEL yöntemiyle apoptoz üzerine olası etkileri, SAK sonrası perivasküler ve subarknoid alanlarda lökosit infiltrasyonu görülmesinin serebral vazospazm ile bağlantılı bulunmuş olması nedeniyle özellikle proenflamatuar sitokinler olan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α üzerine etkileri ve oluşacak oksidatif stres üzerine etkilerinin NO, MDA, SOD, GSH gibi oksidatif stres markerlarıyla değerlendirilmesi hedeflenmektedir. Bu çalışma ile solubl guanilat siklaz stimülatörü riociguatin ve antioksidan *Momordica Charantia* (Kudret narı)'nın deneysel SAK modeli ile oluşturulan vazospazm üzerindeki nöroprotektif etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SUBARAKNOİD KANAMA

2.1.1. Tanım

Subaraknoid mesafe içinde çeşitli nedenlere bağlı olarak oluşan kanamalar subaraknoid kanama (SAK) olarak adlandırılmaktadır (31). Travmatik olmayan SAK'ın en sık sebebi rüptüre intrakraniyal anevrizmalar olup ciddi mortalite ve morbidite sebebidir (32).

2.1.2. Epidemiyoloji

SAK'ın insidansı çoğu toplumda özellikle gelişmekte olan ülkelerde yıllık 6-7/100000 olduğu bildirilmektedir ve son yıllarda vaka sayılarında azalma olduğu dikkat çekmiştir (33). SAK'ın insidansı ve prevelansı farklı populasyonlarda çeşitli risk faktörleri, genetik yapı ve yaşam tarzına göre değişkenlik göstermektedir (34). Anevrizmal SAK'ların çoğu 40-60 yaşları arasında ortaya çıkmaktadır. Kadınlarda erkeklere göre 1,2 kat daha fazla görülmektedir. Afrikalı Amerikalılar ve Hispanik toplumların daha yüksek SAK insidansına sahip olduğu görülmektedir. Ek risk faktörleri arasında sigara, hipertansiyon, aşırı alkol tüketimi ve kokain gibi semptomimetik ilaçların kullanımını yer alır (35).

2.1.3. Etiyoloji

SAK'ın sebepleri travmatik ve nontravmatik nedenler olmak üzere ikiye ayrılır. Travmaya bağlı beyin hasarı geçiren hastaların %60'ında SAK gelişmiştir. Nontravmatik SAK, spontan subaraknoid kanama olarak nitelendirilir ve %70-80 oranında rüptüre anevrizmaya bağlıdır (36). Spontan SAK'ların ikinci en sık nedenini serebral arteriyovenöz malformasyonlar oluşturmaktadır ve yaklaşık %14-20'sinde altta yatan sebep bulunamamıştır (37).

2.1.4. Risk Faktörleri

Subaraknoid kanamalar günümüzde hala ciddi bir morbidite ve mortalite nedenidir. Risk faktörleri arasında geçirilmiş SAK hikayesi, aile öyküsü, etnik köken, yaş ve cinsiyet yer alır. İleri yaş ve kadın cinsiyet olmak anevrizma rüptürü açısından artmış değiştirilemez risk faktörleridir (38, 39).

2.1.5. Klinik Belirti ve Bulgular

Spontan SAK geçiren olguların en belirgin klinik bulgusu ani başlayan çok şiddetli yaygın baş ağrısıdır. Hastaların büyük bir kısmında fokal nörolojik belirteçler ve bilinç kaybı görülür (40, 41).

Baş ağrısı nedeniyle başvuran hastaların SAK şüphesiyle ileri tetkik edilmesinde standartizasyon yapılabilmesi için Ottawa SAK algoritması kullanılmaktadır. Bu algorithmada ani başlangıçlı şiddetli baş ağrısına ek olarak ; 40 yaş üzeri, ense sertliği bulguları, bilinç durumunda gerileme, hızlı şekilde şiddeti artan baş ağrısı, kısıtlı boyun fleksiyonu gibi bulgulardan en az birinin varlığı durumunda lomber ponksiyon veya kontrastsız beyin tomografisi yapılması önerilir (42).

2.1.6. Evrelemeler

Subaraknoid kanama ağır bir klinik tablo ile kendini gösterir. Hastanın yaşı, başvuru anındaki bilinç durumu ve o esnada yapılan BT görüntülemeindeki kanama hacmi SAK'ın klinik seyri ile ilişkili en değerli prognostik belirteçlerdir. Buna ek olarak bu göstergeler tedavi planının şekillendirilmesinde klavuzluk yapması ve çok merkezi kapsayan bilimsel klinik araştırmalarda uluslararası standartı oluşturması açısından önemlidir (43).

Günümüzde SAK'ın klinik sınıflamasında sıklıkla Fisher Skalası, Hunt-Hess Sınıflaması, World Federation of Neurosurgeons (WFNS) ve Glaskow Koma Skorlaması (GKS) kullanılmaktadır (Tablo 1, Tablo 2, Tablo 3).

Tablo 1: Hunt-Hess SAK sınıflaması

Evre	Nörolojik Durum
Evre-1	Semptom yok veya hafif baş ağrısı mevcut
Evre-2	Orta ve şiddetli baş ağrısı, ense sertliği, kranial sinir paralizisi dışında nörolojik defisit yok
Evre-3	Sersemlik, konfüzyon veya minimal fokal nörolojik defisit
Evre-4	Stupor, orta- şiddetli hemiparezi
Evre-5	Derin koma, deserebre katılık

Hunt-Hess SAK skalasının temel amacı cerrahi riskini değerlendirme ve cerrahın operasyon zamanına karar kılabilmesine destek olmaktır. Skalada genel olarak, SAK'la gelen hastaların en önemli klinik bulguları olan; meningeal inflamatuvar cevabın derecesi, nörolojik bozukluğun şiddeti ve uyanıklık durumunun derecelendirilmesi üzerinde durulmuştur (43).

Tablo 2: WFNS SAK sınıflaması

Evre	Nörolojik Durum
Evre-1	GKS:15, motor defisit yok
Evre-2	GKS:13-14, motor defisit yok
Evre-3	GKS:13-14, motor defisit var
Evre-4	GKS:7-12, motor defisit var veya yok
Evre-5	GKS:3-6, motor defisit var veya yok

1988'de hazırlanan WFNS SAK skalası GKS üzerine temellendirilen ve nörolojik defisit durumu esas alınarak oluşturulmuş beş kademeli bir sınıflamadır. Bu sınıflanmanın GKS ve Hunt-Hess Skalasına göre üstünlüğü bilinç durumu ve nörolojik defisiti birlikte ele almasıyla hem mortaliteyi hem de morbiditeyi bir arada değerlendirmesidir (43).

Tablo 3: Fisher SAK Sınıflaması

Evre	Nörolojik Durum
Evre-1	Tespit edilebilen kanama yok
Evre-2	Kanama 1 mm' den daha ince
Evre-3	Kanama 1 mm' den daha kalın
Evre-4	Diffüz SAK veya kanama olmaması ama; ventrikül içi, intraserebral kanama olması

Fisher SAK sınıflaması, SAK sonrası gelişebilecek olası vazospazmı öngörebilmek amacıyla ortaya konulmuştur (44). Sınıflama, hastaneye başvuru anında yapılan BT görüntülemedeki kan hacmine bağlı olarak derecelenir. Bu skalanın hazırlandığı dönemdeki BT görüntülemenin çözünürlük kalitesi günümüz görüntülemelerinin onda biri kadarı olması nedeniyle yapılan ölçümler görüntüleme üzerinden gerçekleştirilmiş olup gerçek kanama kalınlığını yansıtmamaktadır. Subaraknoid kanamanın 1 mm' den ince olması çok az rastlanan bir durumdur; bu nedenle evre 1 ve evre 2 kanamayla nadir karşılaşmaktadır (43). Ayrıca kanamanın görüntülemedeki dansitesi ve emilim oranı en az volümü kadar değerli olmakla birlikte Fisher skalasıyla değerlendirilememektedir (45).

2.1.7. Tanı ve Prognoz

BT, SAK için mükemmel bir test olsa da; duyarlılığı hem baş ağrısının başlangıcından itibaren olan zamanlamaya hem de kanamanın şiddetine bağlıdır. BT'nin duyarlılığı erken dönemde çok yüksektir ancak zamanla hızla azalır (46). Klinisyenler sıklıkla şimşek çakması şeklinde tariflenen baş ağrısı ve negatif BT taraması olan nörolojik olarak normal hastalarla karşılaşır. Üçüncü nesil tarayıcılar kullanılsa bile, BT tek başına SAK'ı dışlamak için yetersizdir (47). Bu nedenle kılavuzlar, BT taramaları negatif olan veya tanısız olmayan bu hastalarda lomber ponksiyon (LP) yapılmasını önermektedir. LP semptomlar başlangıcından 2.-3. hafta sonrasına kadar tanı koymada değerlidir (48).

LP, benign bir tanı testi olmasına rağmen numune toplaması zamanı gerektirebilir; hastada huzursuzluğa sebep olabilir ve bazen girişim esnasında

travmaya bağlı eritrositler içeren numune oluşması (travmatik tap) nedeniyle tanısız belirsizleğe yol açabilir (49). LP'yi gerçekleştiren kişi tecrübeli olmasa bile üç tüp metodunun kullanılması SAK'ın travmatik kanamadan ayrılmasında önemli katkı sağlayacaktır. İlk tüpe numune alındıktan sonra giderek oransal olarak azalsa da üçüncü tüpe kadar tüm tüplerdeki BOS'ta eritrositin saptanması güvenilir bir biçimde gerçek subaraknaoid kanamayı travmatik kanamadan ayırt etmeye yarayacaktır (50). Fakat en duyarlı tanı yöntemi ksantokromik BOS'un spektrofotometrik incelemesidir. Ksantokromiyi gerçekleştiren SAK oluşumundan yaklaşık 12 saat sonra kendini gösteren ve kan yıkım ürünü olan bilirubindir. Numune alımı esnasında inspeksiyonla ksantokrominin tespitinde duyarlılık % 50'den daha azdır. Hemoglobinin ve bilirubinin spektrofotometrik incelemesi negatif gelmiş ve BBT'de hemoraji bulgusu saptanmamışsa anjiyografi (katater) girişimine ihtiyaç olmadığı tavsiye edilmektedir (51).

SAK tanısında manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yapılması geçmişe kıyasla artmıştır. Proton ağırlıklı sekans görüntüleri ve FLAIR sekans görüntülerinin akut SAK tanısındaki yeri ve başarısı artmaktadır (52). Bununla birlikte MRG'nin SAK'ta kullanımı, acil serviste görüntülemenin güçlkle yapılması, SAK hastalarında izlenen ajitasyon ve meningeal irritasyona sekonder zayıf hasta uyumu, MRG'nin çekim esnasındaki hareketin sebep olduğu artefakta çok duyarlı olup çekim görüntüsünün bozulması ve ucuz olmayan bir görüntüleme olması gibi nedenlerle sınırlı kalmaktadır. Daha çok beyin parankimal dokusuyla ilgili bilgi edinmek ve SAK'ın olası diğer sebeplerini araştırmak amacıyla kullanılmaktadır.

Anevrizmanın anatomik yerleşim yerini göstermede MR anjiyografi kullanımı önceki on yıllara kıyasla artmış olsada henüz katater anjiyografiyi yakalayamamıştır. Anevrizmanın boyutuyla ilişkili olarak 3D-MRA'nın duyarlılığı % 55-93 arasında değişmektedir (53). Bu rakam özellikle anevrizmanın boyutlarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Boyut olarak 5 mm'den daha büyük anevrizma varlığında duyarlılık % 85-100 olarak izlenirken, 5 mm'den küçük anevrizmaların gösterilmesinde sensitivite % 56'ya kadar azalmaktadır. Buna ek olarak cerrahi önem arz eden anevrizmanın boynunun özellikli olarak ve devamı şeklinde uzanan damarlarla ilişkisini göstermede sınırlıdır (54).

SAK'lı hastalarda BT anjiyografi; özellikle anevrizma cerrahisi yapılacak olanlarda anevrizmanın kemik yapılar ve beyin parankimi ile bağlantısını daha detaylı ortaya koyması nedeniyle yarar sağlamaktadır. Bunun dışında lümen içi trombüsü ve anevrizma duvar kalsifikasyonunu göstermede DSA'dan daha üstündür. Lakin anevrizmanın tespitindeki başarısı boyut ile korelasyon göstermektedir. Literatürdeki bazı çalışmalarda duyarlılığı anevrizma boyutu <5 mm için % 83, 5-12 mm için % 90 ve >12 mm için % 100 olarak verilmektedir (55).

Dijital substraksiyon anjiografi (DSA) kraniyal vasküler patolojilerin tanısında hala altın standarttır. Ayrıca tanıyla birlikte eş zamanlı tedavi şansı sunması değerini daha da artırmaktadır (56). Buna karşın görüntülemeye kullanılan kontrast madde ilişkili komplikasyonlar, psödoanevrizma, inguinal defektler gibi lokal komplikasyonlara yol açması ve kontrast maddenin dolum yapıp görüntü sağlayamadığı tromboze anevrizmaları saptayamaması gibi negatif yanları mevcuttur (57).

Literatürde bulunan çalışmalarda sonuçlar farklı dağılım gösterse de anevrizmatik SAK hastalarında ölüm oranı %8-67 olarak görülmektedir (58). SAK'ı takiben gelişen bilişsel işlevlerde bozulma en sık ilk üç ayda izlenmekte ve bu durum 75 ay ve daha uzun süre boyunca devam edebilmektedir (59). Bellek, yönetme kabiliyeti ve konuşma becerisi bilişsel fonksiyonlarda bozulmayla etkilenmektedir. Görsel ve sözel bellek kusurları anevrizmatik SAK'lı hastalarda görülmektedir. Daha fazla sıklıkla gözlenen bilişsel bozukluk sözel bellek etkilenmesidir (60).

Gerçek hayatta, bilişsel alanlar tek başına çalışmaz, aksine davranışı etkilemek için birbirleriyle etkileşime girer. Fonksiyonel sonucun bileşenleri günlük yaşam aktivitelerini, günlük yaşamda araç kullanımını ve kişinin önceki işine geri dönme yeteneğini içerir (61). Günlük yaşam aktiviteleri (ADLs), kişinin kendi kendine bakım için yaptığı aktivitelerdir (62). Örnekleri arasında beslenme, giyinme ve hazırlanma, kişisel hijyen, banyo yapma ve tuvalet ihtiyacını karşılama sayılabilir. (61). Çalışmalar, günlük yaşam aktivitesindeki eksikliklerin anevrizmatik SAK yaşayan hastaların %4 ila %12'sinde mevcut olduğunu ve bazı bilişsel bozukluklarla karşılaştırıldığında o kadar yaygın olmadığını belirtmektedir (63). Hastaneden taburcu olurken sıklıkla

rastlanan durum inkontinansın olması ve kişisel hijyenin sağlanamamasıdır (64). İnsan hayatında fonksiyonların geri kazanımının en önemli bileşenlerinden biri kişinin önceki mesleğine geri dönebilmesidir. Çoğu çalışmada, anevrizmatik SAK'tan önce çalışmakta olan hastaların %40'a varan oranda bir kısmının önceki mesleklerine geri dönemediklerini öngörmektedir (65).

2.1.8. Komplikasyonlar

Non travmatik SAK'ın mortalite ve ciddi morbiditeye neden olması beraberinde önemli komplikasyonları getirmektedir. Bu komplikasyonları iyi bilmek ve süreci doğru yönetebilmek oldukça önemlidir (66).

Tekrar kanama anevrizmatik SAK'ın en önemli mortalite sebebi olan komplikasyondur. Sıklıkla tedavi olmamış anevrizlarda kanamayı takiben ilk 24 saatte %4 oranında görülmekte iken, devamındaki 14 günde bu oran her gün %1-2 artış gösterir (66, 67). Yeniden kanama riskini arttıran durumlar; büyük anevrizmatik odak, ileri yaş, kötü klinik durum, kadın cinsiyet, yüksek kan basıncı olması sayılabilir. Bu nedenle oldukça hızlı bir şekilde cerrahi ya da endovasküler tedavisi yapılmalıdır (66, 67).

Hidrocefali anevrizmatik SAK geçiren hastalarda %15-53 oranında görülen iyi bilinen bir komplikasyondur (68). Bu hastalara kalıcı şant takılma oranı %2-36 olarak bildirilmiştir (68). SAK' a bağlı gelişen hidrocefali komunikan ya da obstrüktif tip olabilir. Parankimal hematoma veya subaraknoid aralıktaki kanın ventriküllere geçmesi obstrüktif hidrocefaliye yol açabilmektedir (69). Araknoid alandaki granülasyon dokusuna bağlı olarak BOS emilimindeki azalmaya bağlı komunikan hidrocefali görülebilir (69). Geçici BOS drenajının sağlanması için eksternal ventriküler drenaj kateteri (EVD) takılması, tekrarlayan LP yapılması veya lomber kateter uygulamaları seçenekler arasında yer alır (70).

Anterior serebral arterin distalinden kaynaklanmış olan anevrizmaların rüptüründe intraserebral hematoma gelişme olasılığı artmaktadır (71). Fakat bu lokasyondaki anevrizmaların daha az görülmesi nedeniyle anterior komunikan arter ve

orta serebral arter anevrizmaları kaynaklı rüptürlerin intraserebral hematom geliştirme riski daha yüksektir (71).

Anevrizmal SAK sonrası ventrikül içi kanamalar klinik serilerde %13-28 oranında görülmüştür. Konumları itibariyle baziler tepe ve anterior kommunikan artet anevrizmaları daha fazla sıklıkla ventrikül içi kanamaya sebep olur. Ventrikül içi kanama mortalite, klinikte progresif kötüleşme ve sekel ile akut/kronik hidrosefali açısından bağımsız bir risk faktörü olmaktadır (72).

Subarakanoid kanamayı takiben görülen ventrikül içi kanama, ventriküllerin dilatasyonu, mevcut intraserebral hematom, iskemiye sekonder parankimal ödem kafa içi basınç artışı yapmaktadır. Altta yatan sebebe bağlı olarak hematomun boşaltılması, gereklilik halinde dekompresif kraniyektomiye başvurulması, ekstrapentriküler katater yerleştirilmesi, antiödem tedavi verilmesi, entübe takip edilen hastalarda ventilatör mod ve ayarlarının kafa içi basınç artışına yol açmayacak şekilde yapılması, derin ve hafif sedatizasyon kullanılabilir. Anevrizma kliplendikten sonra, takılı olan ventriküler drenajdan trombolitik uygulanarak ventriküldeki büyük pıhtıların temizlenmesi sağlanabilir. EVD katateri vasıtasıyla veya LP yapılarak BOS boşaltılarak kafa içi basıncı azaltılabilir (73).

Subarakanoid kanama geçiren hastalarda sıklıkla medikal komplikasyonlar da izlenmektedir. Anemi, aritmiler, hipertansiyon, sıvı-elektrolit düzensizlikleri, akciğer ödemi, pnömoni, atelektazi, karaciğer enzimlerinde artış bunların arasında sayılabilir. Medikal komplikasyonların izlenme sıklığı yaklaşık %40 olarak verilmiştir. Komplikasyon görülme sıklığı kötü klinik durum ile birlikte artmaktadır. Bu komplikasyonların mortaliteye etkisi nörolojik komplikasyonların etkisiyle benzerdir ve bu nedenle komplikasyona özel medikal tedavilerin ivedilikle yapılması önemlidir (73).

2.2. SEREBRAL VAZOSPAZM

2.2.1. Tanım ve Tarihçe

Serebral vazospazm, subaraknoid kanamadan sonra günler içinde yavaş yavaş gelişen serebral arterlerde belirgin daralma yaparak beyinde iskemi ya da enfarkt gelişmesine neden olarak nörolojik fonksiyon kaybı ile sonuçlanabilen geri dönüşü olabilen patolojik olaylar zinciridir (74, 77). SAK sonrası vazospazm ölüm ve nörolojik sekellerin en potansiyel nedenidir. Serebral vazospazm genel olarak anevrizmal subaraknoid kanama komplikasyonu olmasına rağmen %6-10 oranında ağır kafa travması, menenjit ve diğer serebrovasküler hastalıklarda görülebilir (75, 77). 1800'lü yıllardan itibaren bazı semptomların gelişmesinden vazospazm sorumlu tutulmuşsa da ilk kez 1944 yılında Zucker tarafından kan yıkım ürünlerinin vazospazm gelişmesine yol açtığını gösterilmiştir. Serebral vazospazm anjiyografik olarak ise ilk kez 1944 yılında Ecker ve Reimenschneider tarafından gösterilmiştir (78). Vazospazm sonucu gelişen nörolojik fonksiyon kayıplarının bazılarının reversible olabileceği 1970'li yıllarda yapılan çalışmalarda sistemik kan basıncı ve santral venöz basıncın yükseltilmesi ile gösterilmiştir (79). Sasaki ve arkadaşlarının 1981 yılında yaptıkları çalışmada subaraknoid kanama sonrası oksihemoglobinin methemoglobine dönüşmesi esnasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin membran fosfolipidlerinde peroksidasyona yola açarak serebral vazospazm patofizyolojisinde önemli bir role sahip olduğunu iddia etmişlerdir (80).

2.2.2. Epidemiyoloji

Subaraknoid kanama insidasında coğrafi bölge, iklim, ırk gibi faktörler etkili olmakla beraber bu hastaların bir kısmı hastaneye ulaşmadan hayatını kaybetmektedir. Bu durum subaraknoid kanamanın gerçek insidansını belirlemeyi zorlaştırmaktadır. Bazı ülkelerin anevrizmal subaraknoid kanama insidansı şu şekildedir; ABD'de yıllık 6-16/100.000, Finlandiya'da 15-16/100.000 ve Japonya'da ise 25/100.000'dir (81). Vazospazm anjiyografik ve klinik olarak ikiye ayrılır. Anjiyografik vazospazm radyolojik olarak görülen damar çapındaki daralma iken klinik vazospazm ise serebral damarların daralması sonucu gelişen iskemidir ve geç iskemik defisit olarak adlandırılır (82). SAK sonrası anjiyografik vazospazm %30-70 arasında

görülür, bunların %30-40'ı semptomatiktir. Sağ kalanların %25-50'sinde nörolojik defisit görülür. Bu hastaların sadece %30-45'i eski işlerine dönebilir. Tüm SAK hastalarının %10-23 kadarının mortalite nedeni serebral vazospazmdır (83-85). Vazospazm SAK'tan ortalama 3 gün sonra başlar 5-8. günde maksimum seviyeye ulaşır ve 14. günden sonra azalma eğilimindedir (86).

2.2.3. Bulgular

Semptomatik vazospazm geç iskemik defisit olarak adlandırılır ve buna bağlı bulgular ilerleyen günlerde gelişebilir. Klinik vazospazm bulguları; daralan arterin şiddetine ve lokalizasyonuna, hastanın yaşına, kanamasın şiddetine, kafa içi basınç yüksekliğine, hiponatremiye, hipovolemiye ve hipotansiyona bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (81). Hastalarda artan baş ağrısı, ajitasyon veya uykuya meyil vazospazmın habercisi olabilir. Vazospazm şuuru açık hastalarda dikkatin azalmasına, verbal yanıtın bozulmasına yol açabilir. Serebral arterlerde meydana gelen daralmanın lokalizasyonuna bağlı olarak klinik bulgularda değişkenlik gösterir. Orta serebral arter vazospazmlarında monoparezi, hemiparezi, monopleji ve hemipleji gelişebilir. Dominant hemisferde meydana gelen vazospazmda afazi gelişebilir. Anterior serebral arter vazospazmında alt ekstremitelerde güçsüzlük, konfüzyon gelişebilir. Vertebro-baziller sistem vazospazmlarında erken dönemde bilinç bozukluğu ve nörolojik tabloda gerileme meydana gelebilir (87).

2.2.4. Etiyoloji ve Patogenez

Vazospazmın etiolojisinde subaraknoid mesafedeki kan pıhtısı bulunmaktadır. Bununla birlikte, spazmojenik bir mekanizmaya sığınılmamış ; bu durum süregelen arteriyel kontraksiyona neden olan, vazodilatasyonda inhibisyona yapan maddelere, immünoreaktif veya inflamatuvar olaylara, mekanik faktörlere ve arteriyel metabolizmanın azalmasına bağlanmıştır. Bu nedenle vazospazm oldukça karmaşık ve multi-faktöriyel bir durumdur. Patogenezde rol alan mekanizmalar üç başlık altında toplanabilir (88).

Damar Düz kaslarının kasılması

Vazospazm, vasküler düz kas kasılmasının neden olduğu uzun süreli serebral arter daralmasıdır. Subaraknoid kan pıhtılarından salınan hemoglobin, kalsiyumun girişini ve salınmasını ve ardından kalsiyum/kalmodulin bağımlı miyozin hafif zincir kinazın aktivasyonunu tetikler, bu da sırasıyla miyozin hafif zincirinin fosforilasyonuna yol açar; aktin ve miyozin çapraz bağını ve mekanik kısalmayı (düz kas kasılması) indükler. Bu tür bir kasılma, ATP ve kalsiyum gerektirir ve vasküler düz kas, voltaj kapılı ve reseptörle çalışan kalsiyum kanallarından giren hücre dışı kalsiyum depolarını hücre içi kalsiyum kanallarına oranla daha fazla kullanır. Miyofilament aktivasyonu kalsiyum ve yüksek enerjili fosfatlara bağlı olmasına rağmen, günler sonra ortaya çıkan ve birkaç haftaya kadar süren kronik vazospazm bunlara bağlı değildir. Kasılabilir proteinler olan protein kinaz C, Rho kinaz ve protein tirozin kinaz ve bunlara karşılık gelen sinyal iletim yollarının yüksek hücre içi kalsiyum seviyelerinin yokluğunda kasılma mekanizmasını artan kısalmaya doğru kaydırarak aktive olmasıyla vazospazm modellerinde yer almıştır (89, 90). Bu süregelen ikinci faz “kronik” vazospazm, hem hayvan modellerinde hem de intra-arteriyel, farmakolojik vazodilatasyon tedavisi gören insanlarda farmakolojik vazodilatörlerle daha az geri dönüşümlüdür (92). Sürekli vazokonstriksiyon, sadece damarın fonksiyonel bozukluğu ile değil, aynı zamanda endotel hücrelerinin vakuolizasyonu ve hücreler arası sıkı bağlantıların kaybı, internal elastik laminanın bozulması ve tunika mediada yama tarzında miyonekroz dahil olmak üzere vasküler duvar katmanlarında üst yapısal hasar ile ilişkilidir (93).

Endotel Hasarı, Nitrik Oksit ve Endotelin-1

Serebral arterleri saran kan pıhtılarında bulunan oksihemoglobinin oto-oksidasyonu methemoglobin ve süperoksit anyon radikali üretir ve bu da lipid peroksidasyonuna yol açar. Zararlı hidroksil radikalleri ve lipid peroksitler damar duvarına nüfuz ederek endotelial ve düz kas hücrelerine zarar verir (94, 95). Özellikle endotel hasarının, önemli bir vazodilatör ve vasküler tonus düzenleyicisi olan endotelial nitrik oksit (NO) sentezinin kaybı yoluyla ya da güçlü bir vazokonstriktör peptit olan endotelin aşırı üretimi yoluyla vazospazmın oluşmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (96). Bu iki endotel kaynaklı madde ve SAK sonrası üretimlerindeki olası dengesizlik, şu anda deneysel vazospazm araştırmalarının

merkezinde yer almaktadır. Basit molekül olan NO'nun kullanılabilirliğinin aşağıda belirtilen sırayla azalması vazospazm gelişimine katkıda bulunabilir: (1) vazospastik damarlarda endotelial NO sentazın (eNOS) disfonksiyonu, (2) oksihemoglobin tarafından NO'nun süpürülmesi; (3) NO donörleri tarafından vazospazmın tersine çevrilmesi, (4) vazospastik damarların adventisyasında nöronal NO sentaz (nNOS) aktivitesinin kaybolması ve (5) NO sentazın endojen inhibitörü olan asimetrik dimetil-l-arginin seviyelerinin artışı ile birlikte azalmış beyin omurilik sıvısı (BOS) nitrit seviyesidir (94, 98). Endotelin-1 (ET-1), endotelinin baskın izoformudur ve vazokonstriksiyonda en büyük role sahiptir. ET-1, endotelin dönüştürücü enzimin aracılık ettiği son adım olan bir 212 amino asit peptid öncüsünün 21 amino asitli bir parçalanma ürünüdür. Tunika medyanın abluminal tarafında salgınır, komşu vasküler düz kas ETA reseptörlerine etki eder ve derin ve sürekli vazokonstriksiyona neden olur (99). Vazospazm gelişen ve serebral iskemisi olan hastaların BOS'unda ET-1 düzeylerinin yükseldiği bulunmuştur ve ET-1 üretiminin inhibisyonu veya etkisinin antagonizmi hayvan modellerinde vazospazmı önlemiştir (100, 101). Serebral vasküler endotelden NO veya ET-1 üretiminin birinde veya her ikisinde de izlenen düzensizliklerin vazospazmın patogenezinde kritik rol oynaması olası görünmektedir ve bu mekanizmalar yeni vazospazm tedavilerinde tartışılmak üzere araştırılmaktadır (101).

Enflamasyon, Vasküler Remodeling ve Vazospazm

Vazospazmın bir vaskülit türü olmadığı açıklığa kavuşmuş olsa da, inflamatuvar mekanizmaların SAK'dan sonra aktive olduğuna ve bu nedenle muhtemelen vazokontraksiyona katkıda bulunarak veya damar duvarı hücre dışı matriksini ve düz kası modifiye ederek vazospazm gelişiminde rol oynayabileceğine dair kanıtlar vardır. Bu hücre fenotipi vasküler "yeniden şekillenme" olarak bilinen bir süreçtir (89). İnflamatuvar sitokinler, interselüler adezyon molekülleri (ICAMs) ve inflamatuvar, proliferatif ve ekstraselüler matriks düzenleyici genlerin genetik up regülasyonu incelenmiştir (102, 103). İnsanlarda, plazma kompleman C3a ve solubl ICAM-1'deki yükselmeler, sırasıyla kötü prognoz ve vazospazm gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (104).

Eritrositlerin lizisi, Oksi-Hb salımı ile sonuçlanır. Subaraknoid aralıktaki Oksi-Hb'nin ve onun parçalanma ürünlerinin inflamatuvar sinyali başlattığı ve bağışıklık hücrelerini uyardığı gösterilmiştir. Araknoid hücrelerinin, kanlı BOS içinde kaldığında, antijen sunan hücreler olarak görev yaptığı ve T-lenfosit aktivasyonunu arttırdığı gözlenmiştir (105, 106). Bu doğrultuda başka çalışmalarda, Oksi-Hb ile karşılaşmanın; inflamatuvar mediatörlerin, enzimlerin, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), lipooksijenaz (LOX) ve siklooksijenaz (COX), gibi sinyal yollarının artmış ekspresyonuyla neticelendiğini belirtmiştir (105).

Vazospazmın kesin patogenezi hala araştırma konusudur. Ancak, ikinci olarak görülen, kronik faz; deneysel çalışmalarda ve insanlarda görülenlerle en uyumlu olduğu düşünülen birinci fazdan mekanik olarak; uzamış, bifazik bir vazokonstriktif süreç olmasıyla farklıdır. İnflamasyon da dahil olmak üzere ek süreçlerin bu durumun patogeneze katkıda bulunması olasıdır (Tablo 4).

Tablo 4: Vazospazm Patogenezi İlişkin Teoriler

Uzamış, mekanik olarak farklı bifazik vazokonstriksiyon: - Endotelin-1 aşırı üretimi (vazokonstriktör) - Nitrik oksitin az üretimi (vazodilatör)
Enflamasyon aracılı "remodeling" ve arter duvarının daralması
Kombine süreçler

2.2.5. Tanı ve Tedavi

Vazospazm tanısı konulmadan önce hastanın klinik durumunu kötüleştirebilecek diğer nedenleri klinik ve radyolojik tetkikler ile ekarte etmek gerekir (107). Klinik vazospazm düşünülen hastalarda daralan damar içinde kan akım hızının

artmasına bağlı olarak doppler sinyallerinin yayılım ve geri dönüş frekansında artma üzerine çalışan transkraniyal doppler önemli bir tetkiktir (107). Beyin bilgisayar tomografi ve beyin anjio tomografi korele edilip kullanılarak hidrosefali, intraserebral hematoma varlığı, iskemik alanları hızlı ve pratik bir şekilde görüntülenebilir beyin vasküler yapıları incelenebilir. Beyin BT ve beyin anjio BT ayrıca kolay ulaşılabilirdir . MRG, MRA, Xenon BT, PET (Positron Emission Tomography) ve SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) perfüzyon defektini ve iskemik alanları göstermede ayrıca etkili tetkiklerdir (108). DSA, serebral vazospazmı göstermede altın standarttır. DSA ile kanamanın yeri ve nedeni tespit edilebilir, vazospazmın tanısı konulabilir gereğinde daralan artere balon anjioplasti yapılabilir ve intraarterial ilaç verilmesi gerçekleştirilebilir (107, 109).

Vazospazm tedavisinde üzerinde kesin anlaşma sağlanan bir tedavi protokolü olmamakla beraber 3 başlık altında toplanabilir.

2.2.6. Cerrahi Tedavi

Anevrizmal subaraknoid kanama geçiren hastalarda son yıllarda giderek yaygınlaşan görüş erken cerrahi tedavi ve anevrizmanın klipslenmesidir. Anevrizmanın erken dönemde klipslenmesi yeniden kanama riskini azaltmakla beraber ameliyat esnasından temizlenen kan ile vazospazmın en büyük etkeni ortadan kaldırılır ve 3H tedavisinin, trombolitik ve anjioplastik tedavi gibi agresif medikal tedavinin uygulanabilmesine de olanak sağlar (110, 112).

2.2.7. Medikal Tedavi

Vazospazmın en kabul edilen ve en yaygın uygulanan tedavisi 3H olarak bilinen hipervolemi, hemodilüzyon ve hipertansiyon tedavisidir. Yapılan pek çok çalışmada da gösterilmiştir ki sıvı yüklenmesi ve hemodilüzyon ile kan viskozitesi azaltılıp tansiyonun da yükseltilmesi serebral kan akımını, serebral perfüzyonu ve mikrosirkülasyonu artırarak hastalarda nörolojik düzelme sağlanmıştır (113, 115). 3H tedavisine başlarken kardiyopulmoner yetmezlik, beyin ödeminde artma, böbrek yetmezliği, hiponatremi, sepsis ve tedavi edilmemiş anevrizmanın tekrar kanayabileceğine dikkat etmek gerekir (116).

Vasküler düz kaslar yavaş, tonik ve uzun süreli kasılırlar. Kasıldıkları zaman damar lümenini daraltacak şekilde organize olmuşlardır. Vazospazmı azaltmak damar düz kaslarının kasılmasını engellemek amacıyla kullanılan pek çok deneysel ajanın yapılan klinik çalışmalarda benzer etkisi gösterilememiştir. Ancak nicardipin ve intraarteriyel yüksek doz papaverin uygulamasının erken vazospazm tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (117, 118). SAK sonrası oluşan kan yıkım ürünleri hücre bazda membran depolarizasyonuna yol açar , depolarizasyon sonucu voltaj kontrollü kalsiyum kanalları açılır, hücre içine kalsiyum girer. Kalsiyum kanal blokörü olan nimodipinin vazospazm sıklığını %10'un altına indirdiği gösterilmiş olup bu etkisini vazodilatasyondan çok iskemik nöronal hücrelere kalsiyum girişini engelleyerek yapmaktadır (119, 120).

SAK sonrası BOS'a karışan kan ürünlerine karşı inflamatuvar cevap gelişir. Antiinflamatuvar etkisi olan ibuprofen ve metilprednizolonun deneysel olarak etkisi gösterilsede klinik çalışmalarda benzer etki gösterilememiştir. Yine antioksidan ajan olan 21-aminosteroid ve desferroksaminin de deneysel çalışmalardaki vazospazm etkinliği klinik düzeyde gösterilememiştir (117, 118). BOS drenajı, klinik vazospazmın başlangıç bulguları başladığında seri lomber ponksiyon yaparak hem damarlarda vazokonstrüksiyona neden olan BOS'taki kan yıkım ürünlerinin uzaklaştırılması hem de serebral perfüzyonun düzeltilmesi açısından yararlıdır. Bu şekilde vazospazma bağlı gelişebilecek iskemik reaksiyonlar zincirinin önüne geçilmiş olur. Her bir lomber ponksiyonda 20-30cc BOS boşaltmak gerekir. Eksternal lomber drenaj sistemi bu amaçla kullanılabilir. Fakat drenajın sürekli olması sistemleri kollebe edebilir ve bunun sonucunda BOS sirkülasyonunda bozulmaya neden olabilir. Enfeksiyon riskinin artmasına ve hastada immobilizasyona neden olacağı için ön planda düşünülmemelidir (82).

2.2.8. Endovasküler Tedavi

Endovasküler girişimler bir diğer vazospazm tedavi seçeneğidir. En bilinen endovasküler tedavi seçenekleri balon anjioplasti ve intraarterial papaverin uygulamasıdır. Balon anjioplasti ile olumlu sonuçlar alınmıştır ancak girişime bağlı komplikasyon oranı %2-5'tir ve bu oran bu yöntemin yaygınlaşmasını engellemiştir

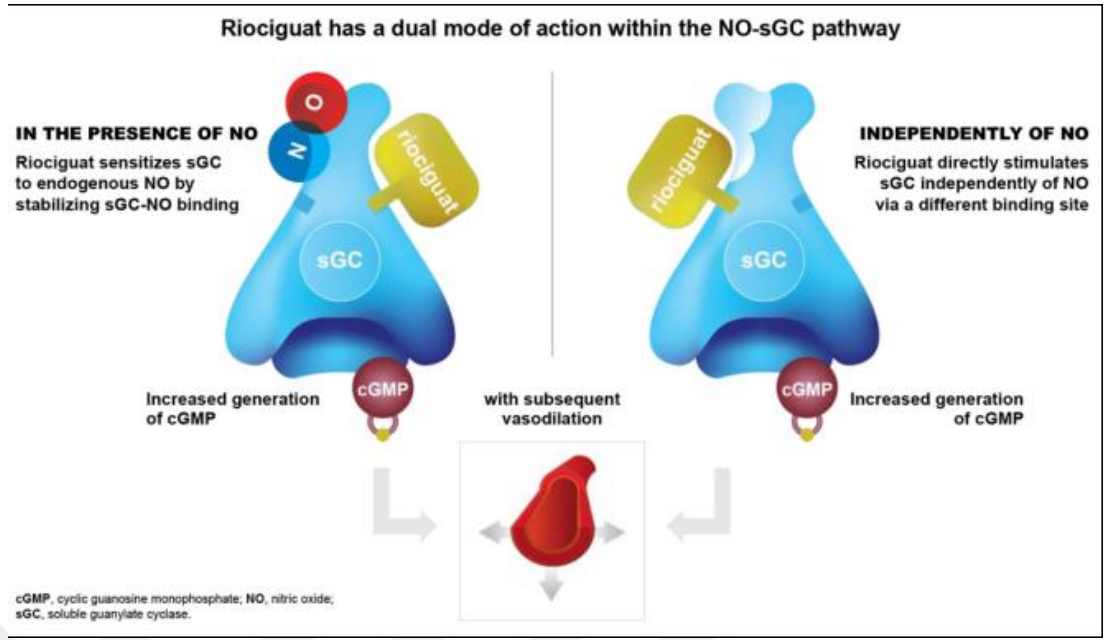
(121, 123). İntraarterial papaverin uygulaması spastik damarı açmakta başarılıdır ancak bu etkisi kısa sürelidir ve tekrarlayan enjeksiyonlar gerektirmektedir ve bu uygulamanın klinik düzelmeye etkisi zayıf olarak gösterilmiştir. Papaverin enjeksiyonu esnasında kafa içi basınç artar bu da serebral perfüzyon basıncını düşürür ve iskemiye neden olur. Bu nedenle papaverin enjeksiyonun intrakranial basınç monitörizasyon kullanılarak yapılması bildirilmiştir (124, 126).

2.3. FARMAKOLOJİK AJANLAR

2.3.1. Riociguat

Guanilat siklaz stimülatörü olan riociguat, düz kasların gevşemesinde rol alır. 422,4 g / mol ağırlığında olan riociguatın yarılanma ömrü hastalarda 12 saat sağlıklı kişilerde 7 saattir. moleküler formülü $C_{20} H_{19} F N_8 O_2$ olup emilimi gıdalardan etkilenmez.

NO , reseptörü olan çözümlü guanilat siklazı (sGC) aktive eder. Aktive olan guanilat siklaz enflamasyonu, vasküler tonusu, proliferasyonu düzenleyen cGMP'yi aktive eder. Riociguat, sGC'yi direkt uyarmasının yanısıra sGC'yi NO'e duyarlı hale getirerek de etkinlik gösterir. Sonuç olarak riociguat NO-sGC-cGMP yolağını uyarır ve vazodilatasyonla birlikte cGMP'yi artırır (127) (şekil 1).



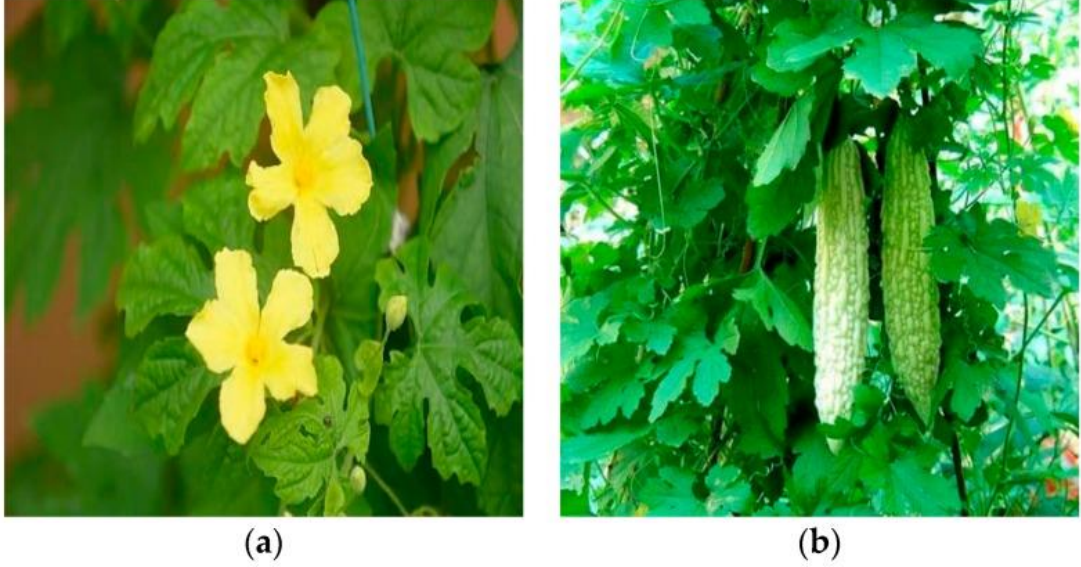
Şekil 1. Riociguat etki mekanizması(128)

Subaraknoid hemorajide ekstravaze kan mikroglia aktivasyonu, periferik immn hücrelerin toplanmasına, güçlü bir antiinflamatuvar yanıtın oluşmasına, kan beyin bariyerinin bozulmasına, endojen vazokonstriktür ve vazodilatasyon yapan ajanlar arasındaki dengesizliğe neden olmaktadır. Bu süreçlerin sonunda doğrudan ya da dolaylı bir şekilde nöron ölümü ve sonuç olarak beyin ölümüne neden olmaktadır (129).

Pulmoner hipertansiyon tedavisinde kullanılan riociguat kardiyak MI'da da deneysel olarak çalışılmış ve kardiyak iskemi alanını azalttığı gösterilmiştir (130).

2.3.2. Momordica Charantia

Malezya, Çin, Tayland, Japonya, Singapur, Vietnam, Amazon, Doğu Afrika, Brezilya, Kolombiya, Küba, Gana, Haiti, Hindistan, Meksika gibi dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilen momordica charantina antik çağlardan beri kullanılmakta olup antihiperglisemik, antibakteriyel, antiviral, antitümör, immünomodülasyon, antioksidan, antimutajenik, antiülser, antilipolitik, antifertilite, hepatoprotektif, ve antienflamatuvar aktiviteleri rapor edilmiştir (131, 132, 133, 134) (Şekil 2).



Şekil 2. A) Yaprak ve çiçekler , B) Olgunlaşmamış meyve

Serebral iskemi reperfüzyon hasarı modelinde yapılan çalışmada *m.carantia*'nın oksijen radikallerini temizleyerek nöroprotektif etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (135). İn vivo çalışmalarda NO ve fagositik aktiviteyi de artırdığı gösterilmiştir (136).

2.4. DENEY HAYVANLARINDA VAZOSPAZM MODELİ

Bagley'nin 1928'de SAK'ı modellemek için köpekleri kullandığını ilk kez bildirdiği yayının ardından çok sayıda hayvan modeli geliştirilmiştir (137). Tüm modeller serebral vazospazm patofizyolojisini anlamamıza katkıda bulunsa da, bunlardan sadece bazıları halen kullanılmaktadır.

Wilkins ve Levitt birkaç farklı SAK indüksiyon tekniğini test etmiş ve bu deneyler esnasında ya arteriyel vazospazmı gözlemleyememiş ya da sisterna magnaya kan enjeksiyonu ile üretilen çok sınırlı fokal spazm bulmuştur. Ek olarak, otopside en fazla subaraknoid kanın bulunduğu bölge ile karotis anjiyogramda en şiddetli spazmın yeri uyumlu görülememiştir. Spazm, enjeksiyondan 10 dakika sonra başlamış ve birkaç saatten birkaç güne kadar sürmüş ve köpeğin bilinç seviyesindeki bir

değişiklikle ilişkili olmadığı görülmüştür. Son olarak, bu modellerde bifazik arteriyel daralma olmadığı sonucuna varılmıştır (138). 1972'de Kuwayama kanın sisterna magnaya enjekte edildiği SAK modelini sunmuştur.. Yazarlar, 30 dakika sonra maksimum ve 120 dakika sonra vazospazmda kısmi iyileşme ile hayvanların %90'ında vazospazmın akut fazını gözlemlemiştir. Bu sırada, arterdeki daralmanın orijinal çapın %29 ila %59 'u arasında değiştiğini; ertesini gün ve sonrasında %25-59 aralığında olduğu kaydedilmiştir (139, 140).

Femoral-cisternal şant modeli tekrarlayan subaraknoid kanamayı simüle etmektedir (141,142). Bu teknik veya farklı türlerdeki modifikasyonları daha sonra başkaları tarafından kullanılmıştır. İntratekal kanama, femoral arterden serebral parankim, sisterna kiazmatika, lateral ventrikül, sisterna magna veya lomber subaraknoid boşluk bölgelerinden birine yapılan bir şant tarafından oluşturulur. Kanamalar, terminal duruma kadar 5 ila 60 dakika aralıklarla tekrarlanır. Tekrarlanan kan enjeksiyonları sırasında ani ölüm ortaya çıkabilir; kural olarak, her ardışık enjeksiyonun gerçekleştirilmesi daha zordur. Çalışmalar, üçüncü kan enjeksiyonunu özellikle zorlaştırdığını göstermektedir (143, 145).

1983 yılında Varsos ve ark. 48 saat arayla iki otolog kan enjeksiyonu kullanarak gecikmiş anjiyografik vazospazmı göstermiştir (146). Anjiyografik olarak gösterilen vazospazmın şiddetinin arttığını ve 1. günden 5. güne kadar vazodilatörlere artan tepki eksikliğini gözlemlemiş ve bu raporda mortalite ve nörolojik defisit belirlenmemiş olsa da, bu modelde son zamanlarda yapılan bir dizi deneyde mortalite meydana gelmemiştir. Yüksek tekrarlanabilirlik, düşük mortalite ve önemli vazospazm şiddeti nedeniyle insan vakalarına benzeyen bu "çift kanama" modeli, şu anda vazospazm çalışmalarında en popüler olanıdır (147, 149).

SAK'ın tavşan modelleri ağırlıklı olarak serebral vazospazmı incelemek için kullanılmıştır. Bu modeller, deney maliyetlerinin düşürülmesi ile anjiyografik olarak güvenilir vazospazm modelinin sürdürülmesi arasındaki bir fikir birliğinin bir örneği olabilir. SAK'ın deneysel modelleri, parasagittal kraniotomi yoluyla Orta Serebral Arter (OSA) dalının ve sagittal sinüsün ponksiyonuyla veya transklival yaklaşımla baziler arterin ponksiyonuyla yapılmaktadır (150, 151). Ponksiyon modelleri,

kafatasını açarak intrakraniyal basınç değişikliğinin vazospazm üzerindeki etkisini azaltır (150). Cerrahi prosedür travmatik olmadıkça, arterin ana gövdesi de bir temporal lobun arkasına saklanmış olması nedeniyle kraniyotomi yoluyla OSA'nın yalnızca bir dalı delinebilir (150). Bununla birlikte, ponksiyon bazal sisternada kan birikmesine neden olmaktadır ve hayvanların küçük bir yüzdesinde vazospazm ile ilişkili serebral enfarkt izlenmiştir (150).

Tek ('tek kanama': SAK tavşan modellerinin çoğu) veya sisterna magnaya çift enjeksiyonlar, karşılaştırılabilir serebrovasküler morfolojik özellikler ve insan vakalarında olduğu gibi vazospazmın benzer zaman süreci nedeniyle vazospazm çalışmak için etkili bir model olduğunu kanıtlamıştır (152-155). Tek kanamalı tavşan SAK modeliyle karşılaştırıldığında, çift kanamalı model, insan vazospazmıyla daha fazla örtüşen vazospazm üretmektedir (156). Vazospazmı semptomatik hale getirmek için, bazı yazarlar iki taraflı ortak karotik arter ligasyonu kullanmış; böylece kollateral akım azaltmıştır (152). Bununla birlikte, karotis ligasyonu, deneyler için gerekli olan hayvan sayısını artıran ve vazospazm ile tıkalıcı iskeminin etkileri arasında tam olarak ayırım yapılmasına izin vermeyen bir yöntemdir ve önemli sayıda tavşanda ciddi defisite neden olmuştur (152).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın etik kurul onayı, Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27.10.2021 tarihli oturumunda incelenmiş ve 2021/33-5 numarasıyla onaylanmıştır. Deneysel kısmı Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma Ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında gerçekleştirdik. Baziler arter çap ölçümleri, histolojik preparatların hazırlanması ve histopatolojik ve immünohistokimya incelemeleri tarafımızca histoloji laboratuvarında yapılmıştır.

Bu çalışmada 2,5-4 kg ağırlığında, 28 adet, erkek, Yeni Zelanda beyaz tavşanları kullanıldı. Tavşanlar tüm çalışma süresi içerisinde her kafeste bir denek bulunacak şekilde standart kafeslerde barındırıldı. Tavşanlar 20 ± 2 °C derece sabit oda sıcaklığında tutularak ad-libitum besleme yapıldı. Hergün kafes temizliği sağlanarak bakımları düzenli olarak yapıldı. Deney süresince tavşanların uygun şekilde ışık almaları sağlanarak 12'şer saatlik gündüz-gece siklusu sağlandı (şekil 3).



Şekil 3: Deneyde yer alan hayvanların mevcut bakım koşulları

3.1. Deney Grupları

1- Kontrol (n=7): Bu gruptaki deneklere SAK yapılmadı ve saf kontrol grubu olarak kabul edildi.

2- SAK grubu (n=7): Bu gruptaki deneklere sisterna magna ponksiyonunu alınan 1 ml/kg BOS yerine takiben 2 dk içerisinde kulak arterinden aynı miktarda alınan kan oldukça yavaş enjeksiyonla verilerek SAK protokolü uygulandı ancak herhangi bir ilaç verilmedi.

3- Riociguat (n=7): Bu gruptaki deneklere SAK protokolü uygulanmış, SAK'ı takiben 10 mg/kg Riociguat (Bionet-Key Organics), 3 gün boyunca, (1x1/ 24 saatte bir doz) peroral uygulandı (Şekil4).

4- Momordica Charantia (n=7): Bu gruptaki deneklere SAK protokolü uygulanmış, SAK'ı takiben 500 mg/kg Momordica Charantia(kudret narı)'nın etanolik ekstraktı , 3 gün boyunca, (1x1/ 24 saatte bir doz) peroral uygulandı (Şekil 5).

Hayvanlar 72 saat sonunda sakrifiye edildi. Deneyde canlı hayvanda kullanılan kimyasal/biyolojik maddeler ve farmakolojik ajanlar tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5 : Deneylerde kullanılan kimyasal/organik maddeler ve farmakolojik ajanlar

AJAN	Doz	Hacim	Veriliş yolu	Veriliş sıklığı	Etki Süresi
Riociguat	10 mg/kg	1-3 cc	Per oral	1 defa/gün	24 saat
M. Charantia	500mg/kg	1cc	Per oral	1 defa/gün	

Momordica Charantia(Kudret Narı)

Kimyasal ve biyolojik etki çalışmalarında kullanılacak olan bitki materyalleri lokal marketten temin edildi ve etüvde (60°C) kurutuldu.

Ekstrelerin Hazırlanması

Kimyasal ve biyolojik etki çalışmalarında kullanılacak olan bitki ekstresini hazırlamak için kurutulmuş bitki materyalleri toz edildi 60 °C’de etanol ilave edilerek 8 saat süre ile rotavaporda hareketli maserasyona tabi tutuldu. Daha sonra süzülme ve vakum altında, 40 °C’de kuruluğa kadar uçuruldu. İşlem üç kez tekrar edildi (Hürkul et al., 2021; Güvenç et al., 2012). Etanollü ekstre hazırlanırken kullanılan kuru bitki miktarı ve çözücü hacmi ile yüzde (%) verim Tablo 6’da belirtilmiştir.

Tablo 6: Etanollü ekstre hazırlanırken kullanılan bitki, çözücü ve elde edilen ürünlerin miktarları

Bitki materyali	Yaş bitki miktarı (g)	Solvan hacmi (mL)	Ekstre miktarı(g)	Verim (%)
M.Charantia (Kudret narı)	3000.00	1000 mL	104.85	%3.5



Şekil 4: Çalışmamızda kullanılan Riociguat



Şekil 5: Çalışmamızda kullanılan Momordica Charantia'nın taze meyve ve etanolik ekstrakt hali

3.2. Anestezi ve Cerrahi Hazırlık

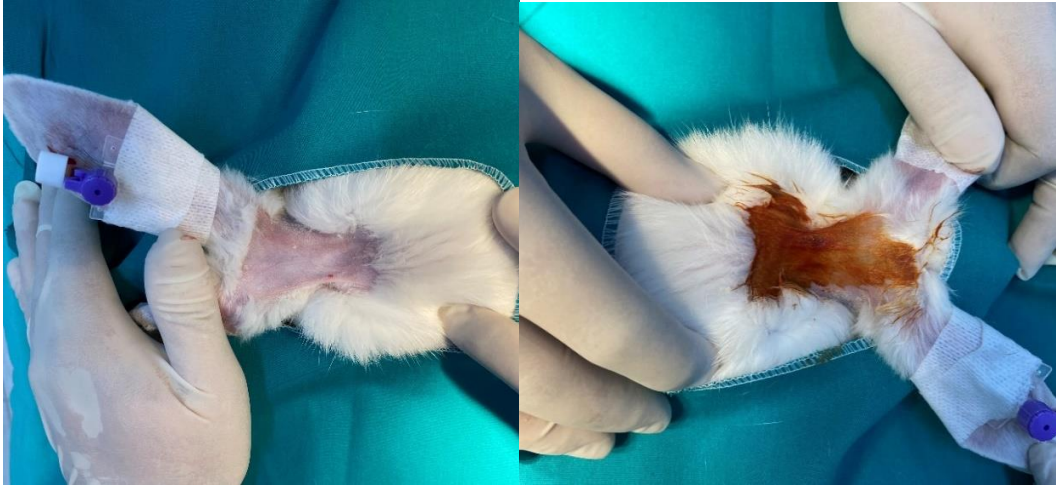
Tavşanlara 8 saatlik bir açlık sağlandıktan sonra, deney günü Ketamin Hidroklorür (70 mg/kg) (Keta-Control, Doğa İlaç) ve Ksilazin Hidroklorür (10mg/kg) (Rompun-%2, Bayer) karıştırılarak intramusküler enjeksiyon ile anestezi sağlandı (şekil 6). Anestezi, tavşanlarda spontan solunum devam edecek ve ağrısız olacak şekilde ayarlandı. Gerekğinde Ketamin ve Ksilazin ile ek doz anestezi yapıldı. İşlem öncesi deneklere sefazolin (50mg/kg) (Cefazolin, Pfizer) Çalışma sonrası ratlar 20 ± 2 °C derece oda sıcaklığında tutuldu.



Şekil 6: Çalışmamızda kullanılan veteriner anestezik ilaçlar

3.3. SAK Modeli Oluşturulması

Tavşanların başı hafif fleksiyonda olacak şekilde prone pozisyon verildi. Oksiput-C1 arası palpasyonla hissedilerek bulundu ve bu bölge traş edildi. Cilt antisepsisini ve steril cerrahi örtünmeyi takiben yaklaşık 3-4 cm uzunluğunda, orta hat, nukal insizyon takiben, katlar anatomik planda disseke edildi (şekil 7).



Şekil 7: Deneklerin oksipitoservikal geçiş bölgesinin traşlanması, prone pozisyona alınması ve steril örtmeyi takiben cilt antisepsisi yapılması

Paravertebral kasların disseksiyonunu takiben, atlanto-oksipital membran ortaya kondu (Şekil8).



Şekil 8: Paravertebral diseksiyonla atlanto-oksipital membranın ortaya konulması

26 gauge anjiyoket iğne ucu ile atlantooksipital membrane, duramater ve araknoidmater geçilerek sisterna magna'ya ponksiyon yapıldı. 1ml/kg BOS aspire edilerek, yerine kulak arterinden alınan eşit hacimde, taze, heparinize olmayan, arteriyel kan, 2 dakika içerisinde enjekte edildi (Şekil 9).



A



B

Şekil 9: A) Csiterna magnanın ponksiyonu ve BOS boşaltılması B) Kulak arterinden alınan kanın cisterna magna enjeksiyonu

Tabakalar usülüne uygun olarak steril şekilde kapatıldı(Şekil 10).



Şekil 10: İşlem sonrası tabakaların kapatılması ve tekrar antisepsi uygulanması

Denekler 30 dakika boyunca, 30 ° trendelenburg (baş aşağı) pozisyonda tutularak otolog enjekte edilen kanın bazal sisternlerde yayılması sağlandı (şekil 11).



Şekil 11: Tavşanların işlem sonrası Trendelenburg pozisyonunda bekletilmesi

Anestezi etkisi tamamen geçtikten sonra, vital bulguları stabil olan tavşanlar, kafeslerine alınarak mevcut bakım koşulları tekrar sağlandı.

3.2. Nörolojik Takip

Denekler günlük olarak görülerek takip edildi ve kafeslerinden çıkarılarak nörolojik muayene açısından değerlendirildi. Tavşanlar, davranış farklılıkları,

konvülziyon durumu, ekstremitelere motor kuvvet muayenesi ve ağrı hassasiyeti, duyu fonksiyonlarının test edilmesi (örn; işitme ve görme), denge durumu, kafada hareketleri ve duruşu, göz hareketleri, koordinasyon bütünlüğünün değerlendirilmesi amacıyla rutin olarak gözlemlendi.

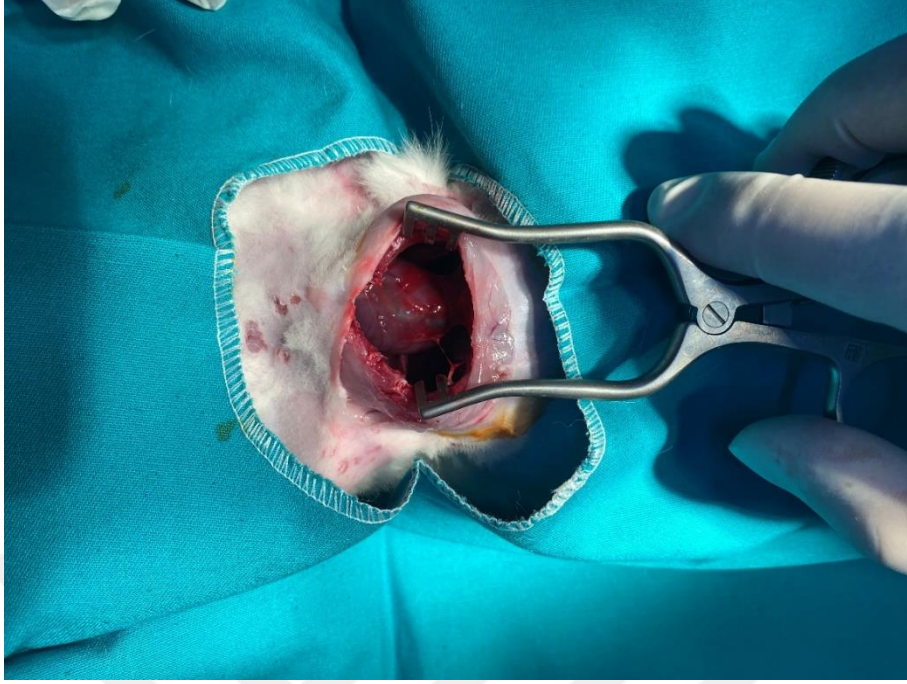
3.3. İlaçların Uygulanması

Deneyde kullanılan Riociguat, Bionet-Key Organics firması tarafından üretilmiştir. Üretici firma tarafından liyofilize halde -20°C’de saklanarak teslim edilen % 98 saflıktaki 250 mg Riociguat, hassas terazi yardımıyla deneklere verilecek total günlük dozlara bölünerek -20 derecede saklandı. Doz uygulanacağı zaman sadece daha önceden bölünmüş olan günlük doz miktarı oda sıcaklığında Dicle Üniversitesi Eczacılık Laboratuvarı’nda dimetil sülfoksit (DMSO) yardımı ile dilüe edildi. Tolerasyonu kolaylaştırmak ve dilüsyon sağlamak amacıyla kullanılan DMSO miktarı kadar tamponlanmış fosfat solüsyonu (PBS) ile seyreltildi. Üçüncü grupta bulunan deneklere SAK oluşturulduktan 2. , 24. ve 48. saatlerde her bir doz 10mg/kg olarak oral yolla uygulandı.

105gr Momordica Charantia (Kudret Narı) etalonik ekstraktı oral ve gastrointestinal tolerasyonu artırmak için musluk suyuyla 105 cc’ye tamamlandı (M. Charantia 1gr/cc). Dördüncü grupta bulunan tavşanlara SAK oluşturulduktan sonra 2., 24. ve 48. saatlerde her bir doz 500 mg/kg olacak şekilde per oral uygulandı. Denekler son ilaç dozu verildikten sonra 24 saat daha takip edildi.

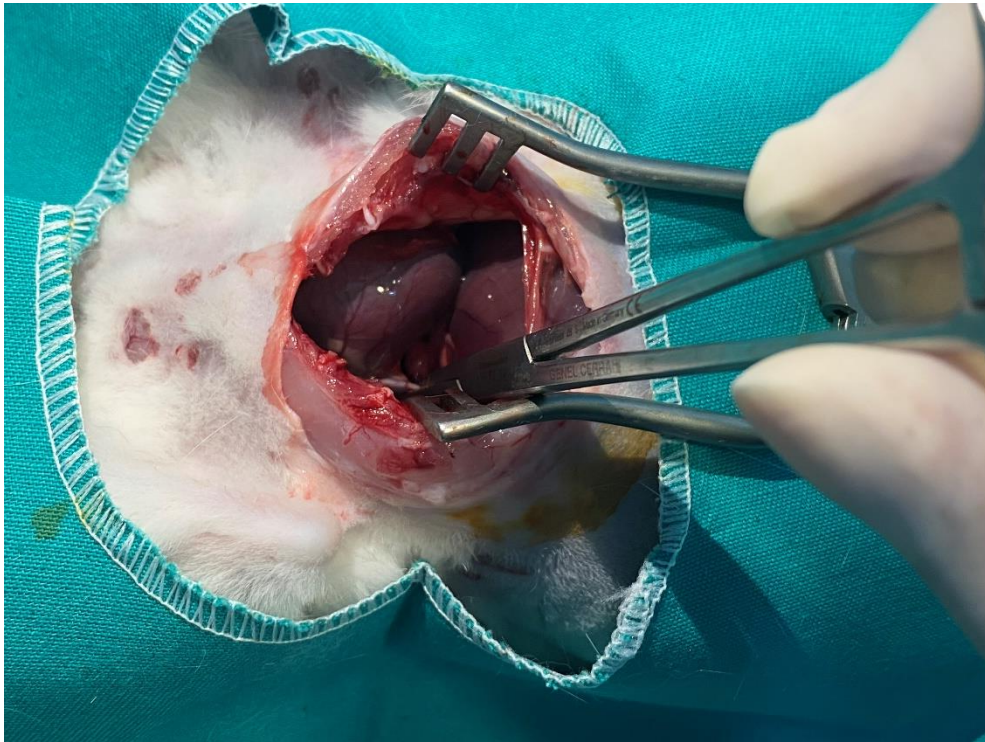
3.4. Perfüzyon-fiksasyon

Tüm hayvanlara 72 saat sonra deney esnasında kullanılan medikasyon (Ketamin-70mg/kg + Ksilazin-10mg/kg) ile anestezi verildi. Takiben perfüzyon işlemine başlamadan tavşanlara genel anestezi altında supin pozisyonda torakotomi yapıldı kan örnekleri biyokimyasal çalışmalar için alındı (Şekil12).



Şekil 12: Perfüzyon fiksasyon öncesi tavşanlara torakotomi yapılması

Sol ventrikül kanüle edildi, sağ atrium genişçe açıldı, desendan aorta ve vena kava kleplendi (Şekil 13) (Şekil(14)).

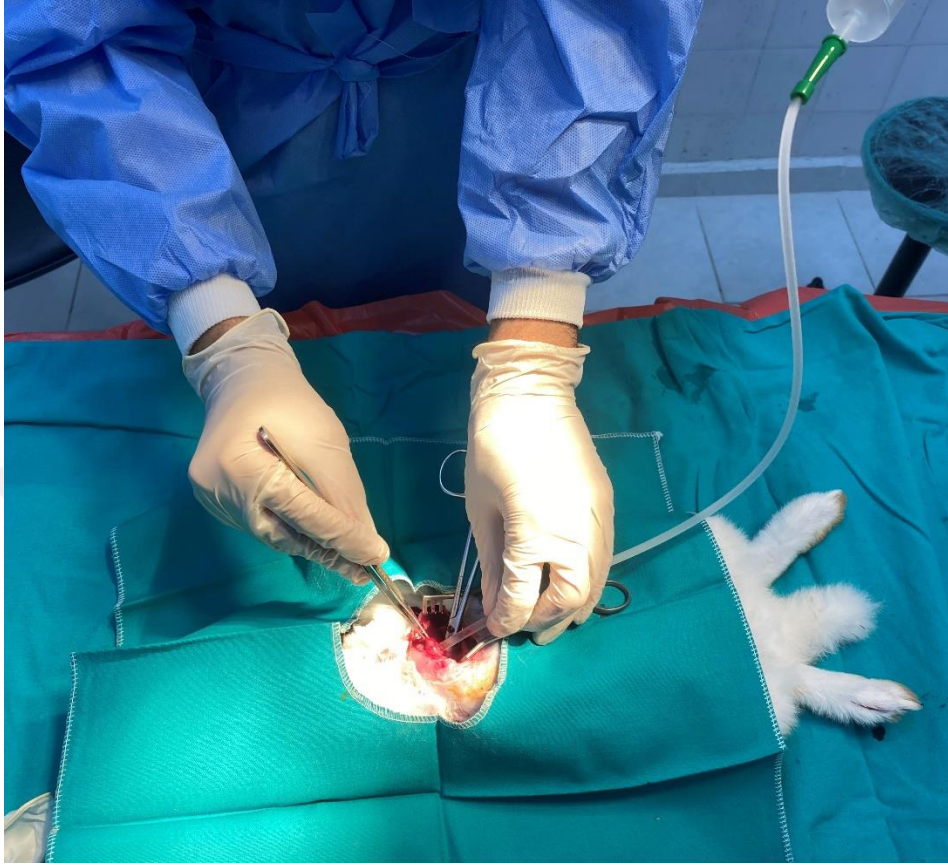


Şekil 13: İnen Aorta ve Vena Kavanın bulunarak klemlenmesi



Şekil 14: Sol ventrikülün kanüle edilmesi ve sağ atriumun açılması

Sol ventriküle yerleştirilen 14 F nelaton sonda kullanılarak 300 ml fizyolojik salin ile perfüzyon işlemini yapıldıktan sonra, 200 ml %10 formalin kullanılarak fiksasyon sağlandı (Şekil 15).



Şekil 15: Perfüzyon ve Fiksasyon işlemlerinin yapılması

Perfüzyon ve fiksasyon işlemleri 100 cm yükseklikten, pompa olmaksızın sağlandı. Tavşanlar prone pozisyona getirilerek ve eski cilt insizyonları kullanılarak foramen magnumdan frontal bölgeye kadar uzanan kraniektomi yapıldı. Baziler arter beyin dokusu ile birlikte nazikçe çıkarıldı (Şekil 16).



A

B

Şekil 16: Kraniektomi sonrası çıkarılan beyin ve beyin sapı dokularının **A)** rostral görünümü, **B)** Ventral görünümü

Çıkarılan dokular %10 formalin solusyonunda, 4 °C’de saklandı.

3.5. Rutin Histolojik Takip

Sakirifye edilen tavşanların total beyin dokuları çıkartıldı ve %10’luk formolde 24 saat süreyle ön fiksasyon gerçekleştirildi. Ön fiksasyon sonrası doku örnekleri küçük parçalara ayrıldı. SAK modeli oluşturulan beyin sapı bölgesi ve beyin sapı bölgesinden alınan doku parçaları tekrar fiksasyona tabi tutuldu ve %10’luk formolde 12 saat süreyle fiksasyon tekrarlandı. Fiksasyon tamamlanan örnekler 12 saat süreyle akar çeşme suyu altında yıkandı ve artan alkol serilerinde (%70, 80, 90, 96 ve 100) dehidre edildi. Dehidre edilen örnekler iki seri ksilen içerisinde 5’er dakika süreyle şeffaflandırıldı. Ksilen ile şeffaflandırılan örnekler daha sonra ksilen ve sıvı parafin karışımı içerisinde inkübatörde 1 saat süreyle bekletildi ve parafin infiltrasyonu başlatıldı. Bir saatlik süre sonunda ksilen parafin karışımı uzaklaştırıldı ve iki seri temiz parafinde 1’er saat süreyle parafin nüfuzu tamamlandı. Hazırlanan örnekler

temiz parafinlere gömülerek bloklay işlemleri tamamlandı. Elde edilen parafin blok kesitleri daha sonra kesitlerin alınması amacıyla uygun ortamda muhafaza edildi.

3.6. Kesitlerin alınması ve H&E boyama protokolü

Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler bir mikrotom yardımıyla alındı ve benmari'ye bırakıldı. Kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı ve 37 °C'lik inkübatörde kurumaya bırakıldı. Elde edilen kesitler hem H&E hem de immunohistokimyasal boyama protokollerinde kullanıldı. H&E boyama için elde edilen kesitler 56 °C'ye ayarlı inkübatörde 30 dakika bekletildi ve parafin depolimerizasyonu gerçekleştirildi. Daha sonra kesitler iki seri ksilen içerisinde 15'er dakika süreyle parafinden arındırıldı. Parafinden arınan doku kesitleri rehidratasyon için azalan alkol serilerinde (%100, 96, 90, 80, 70) 5'er dakika süreyle bekletildi ve son aşamada distile suya getirildi. İki seri distile suda 5'er dakika yıkanan örnekler daha sonra hematoksilin içerisine alındı ve 5 dakika süreyle boyama gerçekleştirildi. Hematoksilin boyanan örnekler akar çeşme suyu altında 5 dakika süreyle yıkandı. Kesitler daha sonraki aşamada alkolik eozin solüsyonuna alındı ve 1 dakika süreyle boyaya tabi tutuldu. Süre sonunda kesitler alkol serilerinde (%70, 80, 90, 96) daldır çıkar yapılmak suretiyle fazla boyadan arındırıldı ve son aşama olarak absolu etanol içerisinde 3 dakika süreyle ekletildi. Alkolde durulanan örnekler iki seri ksilen de 15'er dakika süreyle bekletildi ve entellan ile kapatıldı. Örnekler kurumaya bırakıldı ve incelenmek üzere uygun ortamda muhafaza edildi.

3.7. İmmunohistokimya protokolü

Parafin bloklardan alınan kesitlerde IL-1β ve TNF-α değerlendirmesinin yapılması amacıyla immunohistokimya protokolü uygulandı. Bu amaçla alınan kesitler H&E boyama protokolündeki distile suya getirme aşamalarına tabi tutuldu ve distile suya alındıktan sonra immunohistokimya aşamalarına geçildi. Söz konusu protokol çerçevesinde örnekler üç seri tamponlanmış fosfat solüsyonu (PBS) içerisinde 5'er dakika süreyle yıkandı. Örnekler daha sonra antijen retrieval için sitrat tamponu (ph: 6.0) içerisine alındı ve ısıtma tablası üzerinde antijen retrieval kaynama noktasına gelecek derecede ısıtılana kadar bekletmek suretiyle gerçekleştirildi. Isınan

örnekler ısıtma tablasından alınarak tezgâha bırakıldı ve oda ısısına dönmesi beklendi. Soğuyan örnekler üç seri PBS içerisinde 5'er dakika süreyle yıkandı. Daha sonraki aşamada örnekler endojen peroksidaz blokajı için metanol içerisinde hazırlanan %3'lük H₂O₂ solusyonuna alındı ve 15 dakika süre ile endojenik peroksidaz aktivitesinin inhibisyonu gerçekleştirildi. Bu aşamadan sonra kesitler tekrar üç seri PBS içerisinde 5'er dakika süreyle yıkamaya tabi tutuldu. Yıkanan örneklerin etrafı sınırlayıcı hidrofobik kalem ile çizildi ve kurumamalarına özen gösterildi. Kesitlerin üzerine non spesifik bağlanmanın azaltılması için Ultra V Block (Katalog no: TA-125-UB, Thermo, ABD) damlatıldı ve oda ısısında 7 dakika süreyle inkübasyon yapıldı. İnkübasyon süresi sonunda örneklerin üzerine antibody dilüent içerisinde 1:200 oranında dilüe edilmiş olan IL-1 β (Katalog no: sc-52012, Santa Cruz, ABD) ve TNF- α (Katalog no: sc-1348, Santa Cruz, ABD) antikorları damlatıldı. Antikor uygulanan kesitler +4 °C'de gece boyunca inkübasyona alındı. İnkübasyonu tamamlandıktan sonra örnekler üç seri PBS içerisinde 5'er dakika süreyle yıkandı. Örneklerin üzerine sekonder antikor (Katalog no: TP-125-BN, Thermo, ABD) eklendi örneklerin oda ısısında 15 dakika inkübasyonu sağladın. Daha sonra örnekler üç seri PBS'te yıkandı ve kesitlerin üzerinde streptavidin peroksidaz (Katalog no: TS-125-HR, Thermo, ABD) damlatıldı ve oda ısısında 15 dakika inkübasyon gerçekleştirildi. İnkübasyon süresi sonunda örnekler tekrar üç seri PBS te 5'er dakika süreyle yıkandı. Kromojenik reaksiyonun gerçekleşmesi için örneklerin üzerinde DAB kromojen (Katalog no: 34002, Thermo, ABD) damlatıldı ve örneklerde reaksiyon ışık mikroskobu altında takip edildi. Reaksiyonu durdurmak için örnekler tekrara PBS'e alındı. Artan alkol serilerinde(%70, 80, 90, 96 ve 100) 5 er dk bekletildikten sonra iki seri ksilende 15 er dakika bekletildi ve örnekler entellan ile kapatıldı.

3.8. İmmunohistokimyasal analiz

İmmunohistokimya yapılan kesitlerde IL-1 β ve TNF- α pozitiflik düzeyleri elde edilen kesit görüntülerinde yoğunluk düzeyleri hesaplanarak incelendi. Bu amaçla damar kesitlerinde ve beyin sapı örneklerinde nöron ve glial hücrelerde IL-1 β ve TNF- α immunopozitivite düzeyleri incelendi. Yapılan analizlerde DAB kromojen pozitif kahverengi boyanın total kesit alanında kapladığı alan oranlanarak immunopozitivite düzeyleri Image J (NIH, NY, USA) yazılımında incelendi. Elde edilen yoğunluk

düzeı ve total doku kesit alanları yüzelere dönüştürölerek immunopozitivite yoğunluk oranları elde edildi. Veriler istatistiksel yönden gruplar arasında karşılaştırıldı.



4. BULGULAR

H&E Bulguları

Kontrol grubu kesitlerinde beyin sapından geçen büyük arterlerde normal histolojik görüntü izlendi. Damar lümeninin endotel ile döşeli olduğu, düz kas hücrelerinden oluşan bir intima tabakasının varlığı ve çevre doku ile ilişkili adventisyanın mevcudiyeti kolaylık tespit edildi (Şekil 17 ve Şekil 18).

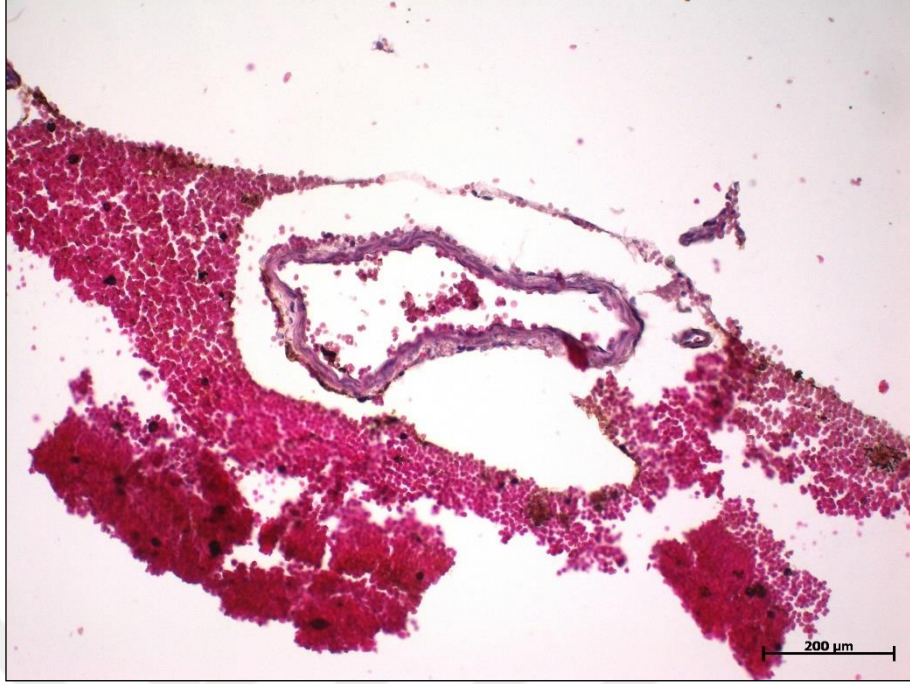


Şekil 17: Kontrol grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin küçük büyütmedeki görüntüsü. Baziler arter ve vasküler dalların dilate görüntüsü izlenmektedir. **Boyama:** H&E, **Bar:** 200 µm.

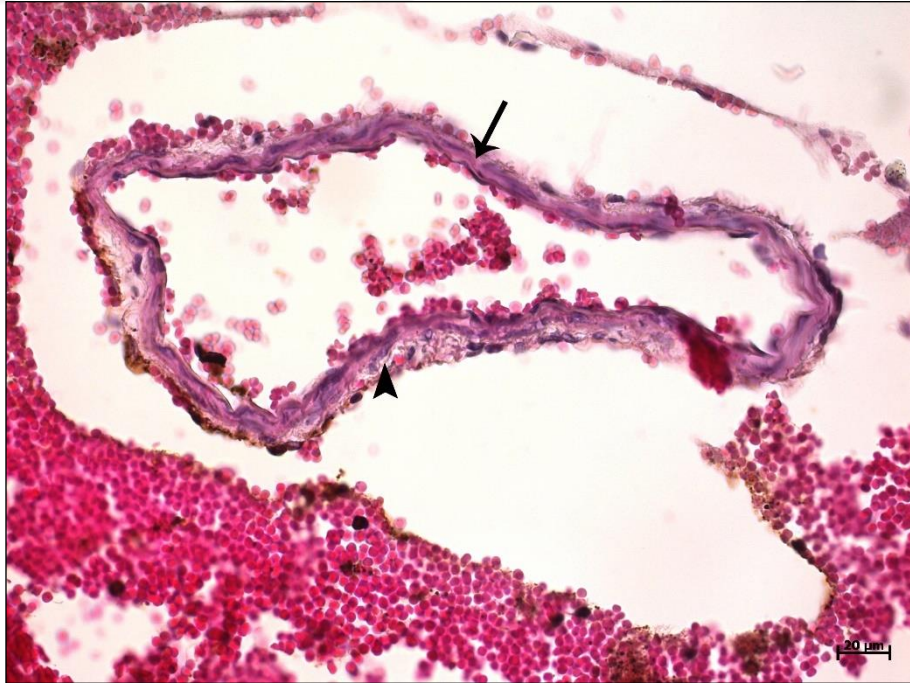


Şekil 18: Kontrol grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin büyük büyütmedeki görüntüsü. Arterlere ait endotel, media ve adventisya tabakaları ile çevre dokuların normal morfolojide olduğu izlenmektedir. **Boyama:** H&E, **Bar:** 20 µm.

SAK modeli uygulanan hayvanların vasküler yapılarında gözle görülür bir kontraksiyon olduğu tespit edildi. Kontraktıl durumdaki damarlarda endotellerin damar lümenine şişkin görüntü oluşturduğu görüldü. Tunika media tabakasını oluşturan düz kas hücrelerinin arasında dağılan liflerin dalgalı bir görüntü oluşturduğu görüldü. Arter kesitlerinin etrafında yoğun hemorajik birikim göze çarpıyordu. Tunika adventisyada yer yer plazma hücrelerinin varlığı ve dar alanlarda perivasküler ödem varlığı tespit edildi (Şekil 19 ve Şekil 20).



Şekil 19: SAK grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin küçük büyütmedeki görüntüsü. Arter çevresinde yoğun eritrosit akümülyasyonunun yanı sıra damarın lümeninde daralma ve lümen çapında gözle görülür azalma izlendi. **Boyama:** H&E, **Bar:** 200 µm.



Şekil 20: SAK grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin büyük büyütmedeki görüntüsü. Damar media tabakasında dalgalı görüntü (ok), perivasküler ödem (ok başı) ve çevre dokuda akümüle olmuş yoğun eritrosit varlığı izlendi. **Boyama:** H&E, **Bar:** 20 µm.

Riociguat grubu kesitlerinde baziler arter çap goruntüsünün kontrol grubuna benzer şekilde olduğu, lümenlerin açık ve eritrosit akümülasyonunun ortadan kalktığı görüldü. Vasküler endotellerin genel goruntüsü kontrol grubuna benzer şekildeydi. Tunika medianın düz kas hücreleri ve aralarındaki lifler düzenli ve tertipli dizilim gösteriyordu (Şekil 21 ve Şekil 22).

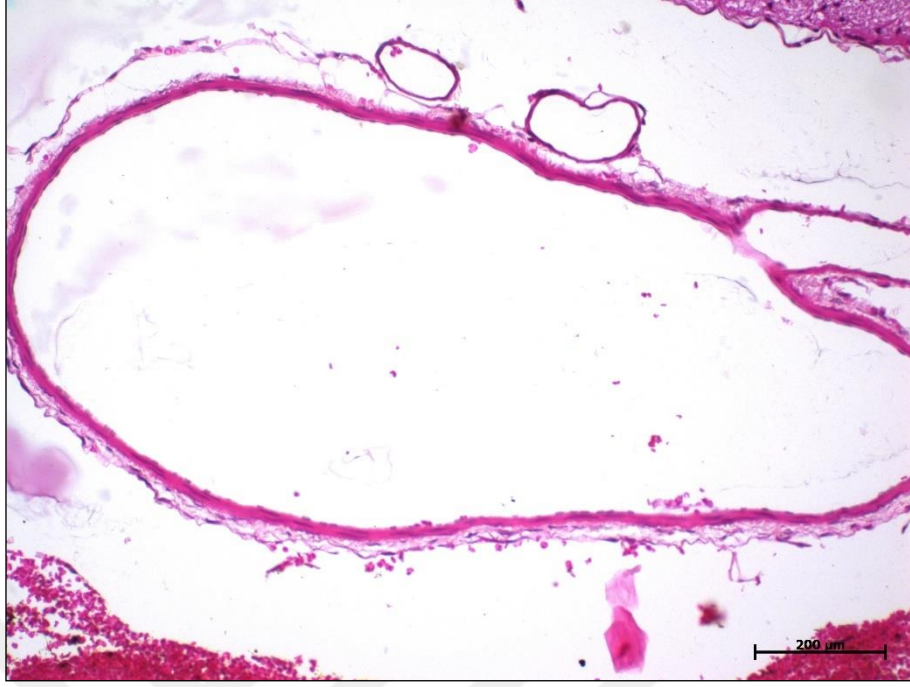


Şekil 21: Riociguat grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin küçük büyütmedeki goruntüsü. Damarın genel yapısının kontrol grubuna benzer olduğu ve eritrosit akümülasyonunun ortadan kalktığı tespit edildi. **Boyama:** H&E, **Bar:** 200 µm.

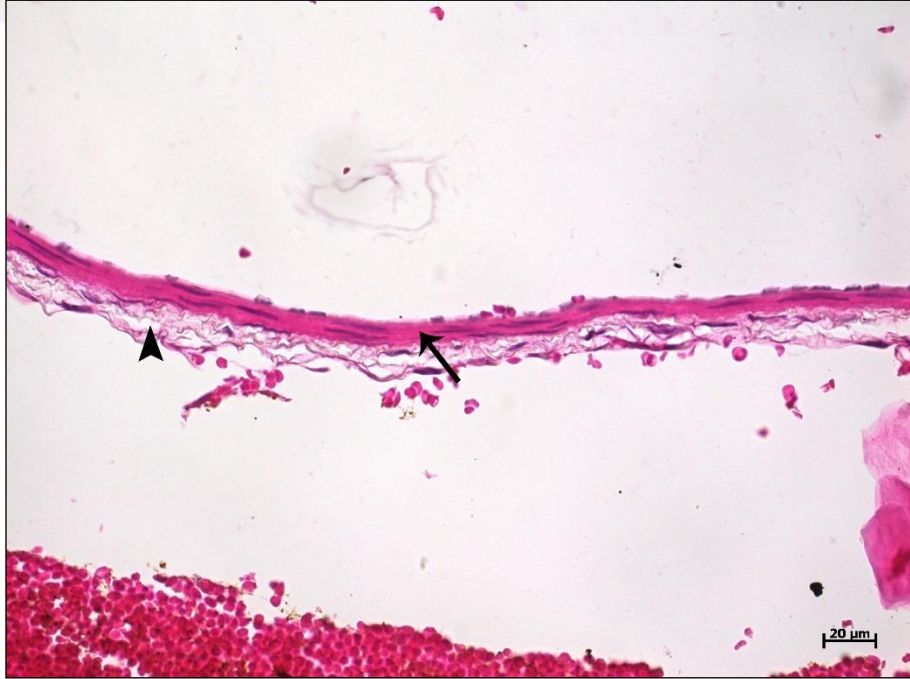


Şekil 22: Riociguat grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin büyük büyütmedeki görüntüsü. Damarın endotel, media ve adventisya tabakalarının kontrol grubuna benzer olduğu görüldü. **Boyama:** H&E, **Bar:** 20 µm.

Momordica charantia uygulanan grupta vasküler yapıda iyileşme görüldü. Her ne kadar doku etrafında hemorajik görüntü izlense de baziler arter dilatasyonu açık bir şekilde gözleniyordu. Damar endotelinin ve media tabakasını oluşturan elemanların yine kontrol grubuna benzer görüntüde olduğu tespit edildi. Kas hücre çekirdekleri mekik şeklinde ve düzenliydi. Adventisya tabakasında eritrosit agregasyonları yer yer izleniyordu (Şekil 23 ve Şekil 24)

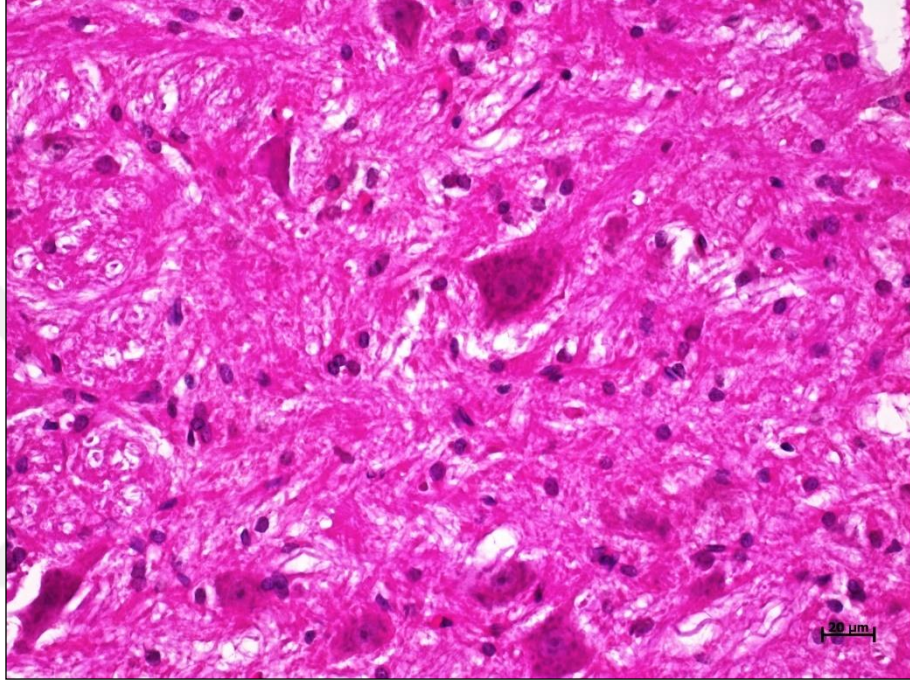


Şekil 23: *Momordica charantia* grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter ve vasküler dalların küçük büyütmedeki görüntüsü. Damar tabakalarının kontrol grubuna kısmen benzer olduğu buna karşın perivasküler eritrosit akümülyasyonunun yoğunluğu tespit edildi. **Boyama:** H&E, **Bar:** 200 µm.



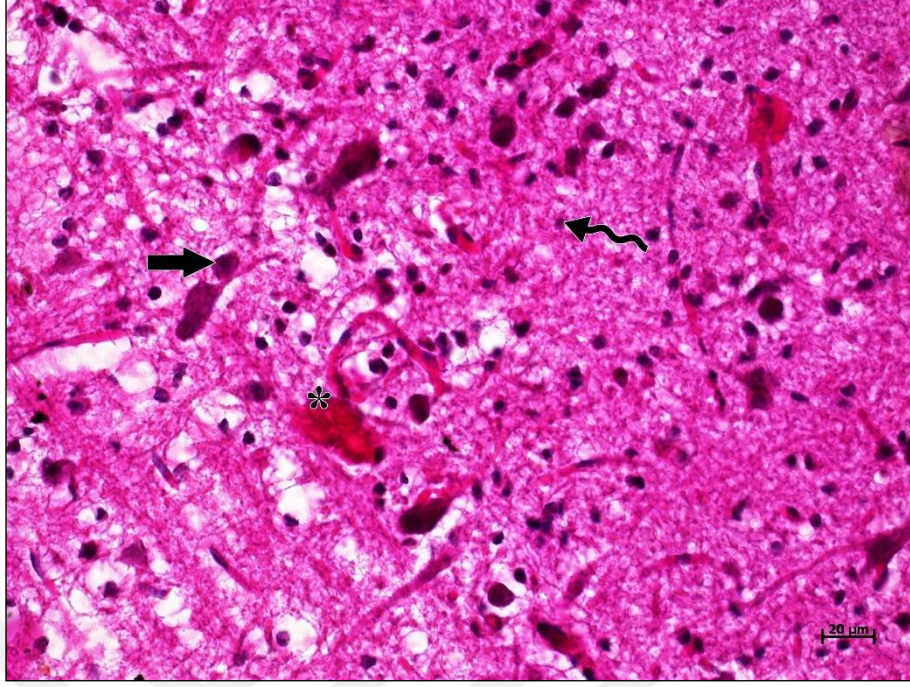
Şekil 24: *Momordica charantia* grubunda beyin sapı bölgesinde yer alan baziler arter kesitinin büyük büyütmedeki görüntüsü. Endotel ve media tabakalarının (ok) normal görüntüsüne rağmen, adventisyada yer yer lokal perivasküler ödem (ok başı) varlığı izlendi. **Boyama:** H&E, **Bar:** 20 µm

Kontrol grubunun beyin sapı histolojik kesitleri incelendiğinde dokuda nöron ve glia hücrelerinin yoğun dağılım gösterdiği görüldü. Bu grubun kesitlerindeki nöronların farklı tiplerde olduğu ve motor nöronlara ait tipik morfolojik yapının varlığı tespit edildi (Şekil 25).



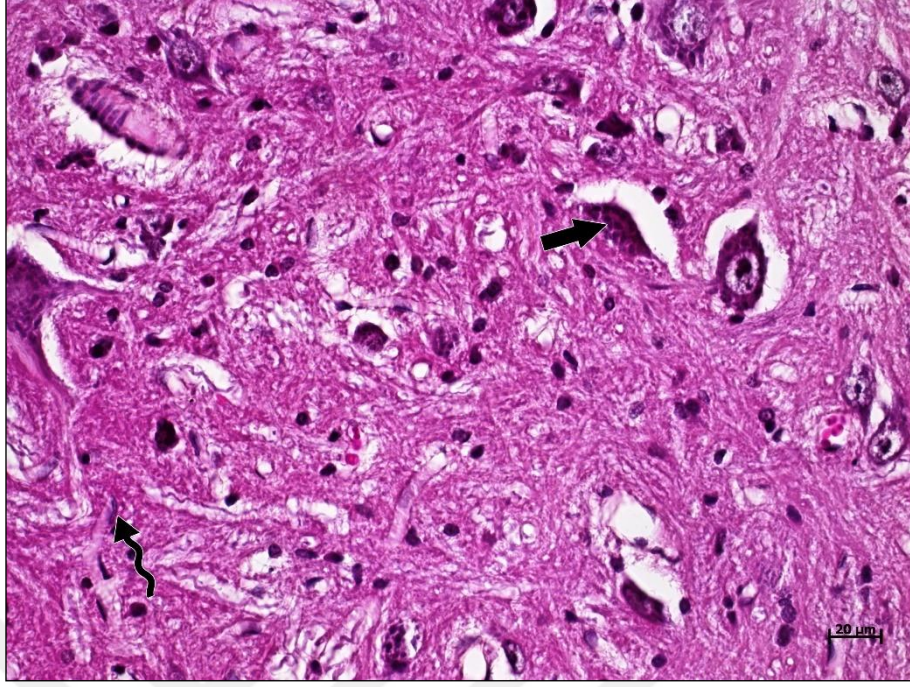
Şekil 25: Kontrol grubu beyin sapı kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. **Boyama:** H&E, **Bar:** 20 µm

SAK grubu beyin sapı kesitlerinde ise motor nöronların tipik multipolar görüntüsünün bozulduğu, sinir liflerinin arasında inflamasyona bağlı yer yer ödemli bir görüntünün olduğu görüldü. Glia hücreleri ve nöronların çekirdeklerinde piknotik görüntü yaygın bir şekilde izlenmekteydi. Sinir dokusunun içerisinde kan dokusunun infiltre olduğu ve kan sinir bariyerinin tahrip olduğu görüldü (Şekil 26).



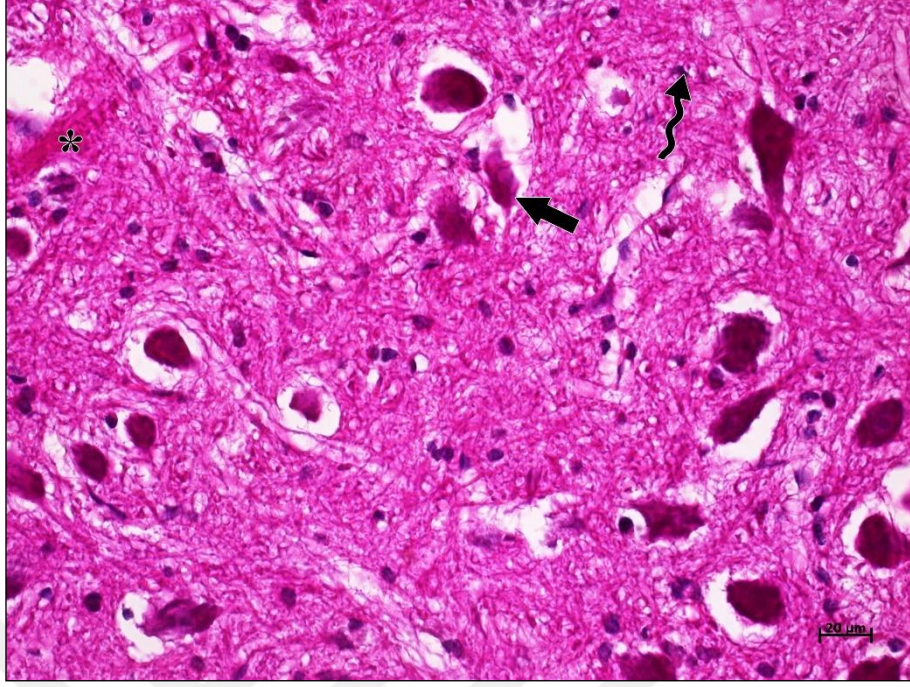
Şekil 26: SAK grubu beyin sapı kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. Nöronlarda (kalın ok) ve nöroglialarda (kıvrımlı ok) düzensizlik ve piknotik çekirdek, sinir dokusunda hemorajik görüntü (*). **Boyama:** H&E, **Bar:** 20 µm

Riociguat grubu beyin sap kesitlerinde nöron ve gliaların kontrol grubuna benzer bir görüntü oluşturduğu tespit edildi. Boyamalarda kontrol grubunda görüldüğü gibi büyük büyütmelelerde nissl granüllerinin dahi seçilebilir olduğu, nükleer yapının ve genel hücre görüntüsünün kontrol grubuyla uyumlu olduğu görüldü. Bu grupta nöroglia hücrelerinin sinir lifleri ve nöronlar arasında kontrol grubunda olduğu gibi düzenli dağıldığı ve SAK grubunda izlenen piknotik çekirdekli sinir doku hücrelerinin neredeyse tamamen ortadan kalktığı tespit edildi (Şekil 27).



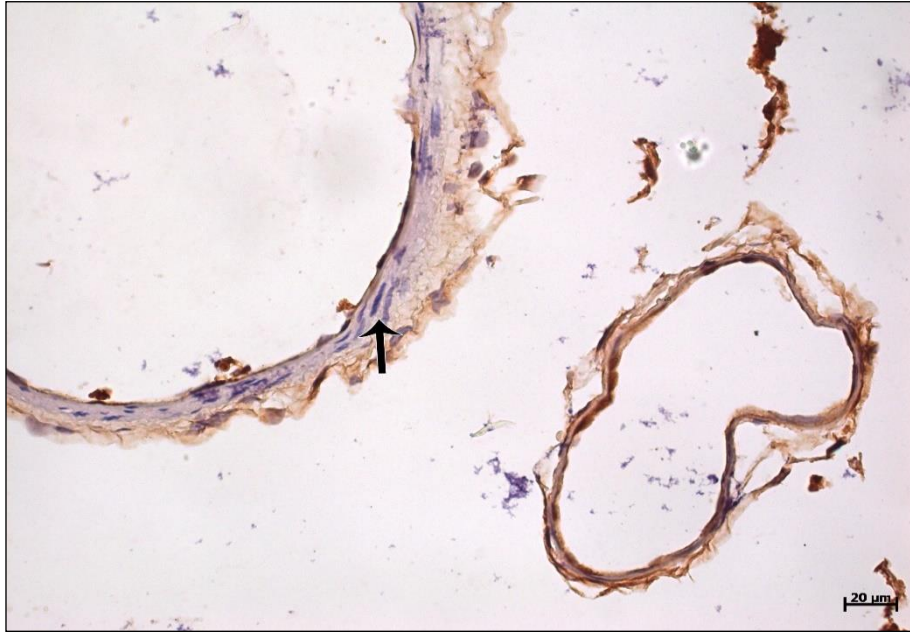
Şekil 27: Riociguat grubu beyin sapı kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. Yer yer izlenen dejenere olmuş nöronların (kalın ok) ve glia hücrelerinin (kıvrımlı ok). **Boyama:** H&E, **Bar:** 20 μ m

Momordica charantia grubunun beyin sapı kesitlerinde de sinir dokusunun genel görüntüsü kontrol grubuna yakın seyrediyordu. Nöronlarda ve glia hücrelerinde yer yer düzensizlik ve piknotik çekirdekli görüntü izleniyor olsa da morfolojik yapının SAK grubuna oranla korunmuş bir yapıda olduğu görüldü. Ayrıca SAK grubunda izlenen sinir dokusuna kan infiltrasyonunun bu grupta da mevcudiyeti kısmen izlendi (Şekil 28).

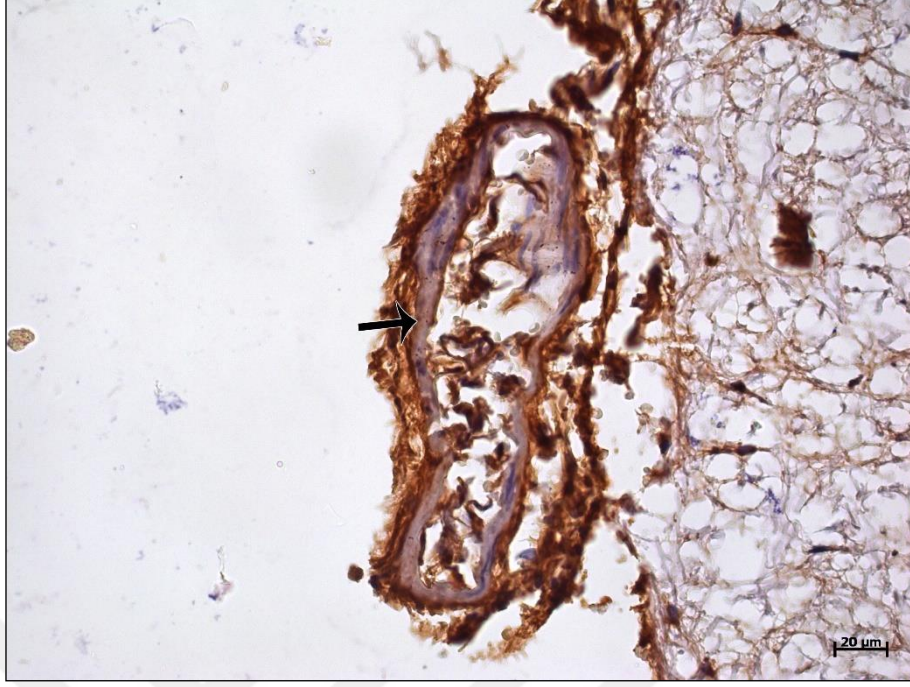


Şekil 28: *Momordica charantia* grubu beyin sapı kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. Nöronlarda düzensiz hücre görüntüsü ile perinöral ödem (kalın ok), glia hücrelerinde düzensiz ve piknotik çekirdek görüntüsü (kıvrımlı ok), sinir dokusunda hemaraji (*). **Boyama:** H&E, **Bar:** 20 µm.

İmmünohistokimya Bulguları



Şekil 29: Kontrol grubu kesitinde IL-6 immünohistokimya. Baziler arter düz kas hücrelerinde düşük düzeyde immünopozitivite (ok). **Boyama:** IL-6 immünohistokimya & Hematoksilen zit boyama. **Bar:** 20 µm.



Şekil 30: SAK grubu kesitinde IL-6 immunohistokimya. Tunika medianın düz kas hücrelerinde immunopozitivitede (ok) yoğunlaşma. **Boyama:** IL-6 immunohistokimya & Hematoksilen zıt boyama. **Bar:** 20 µm.



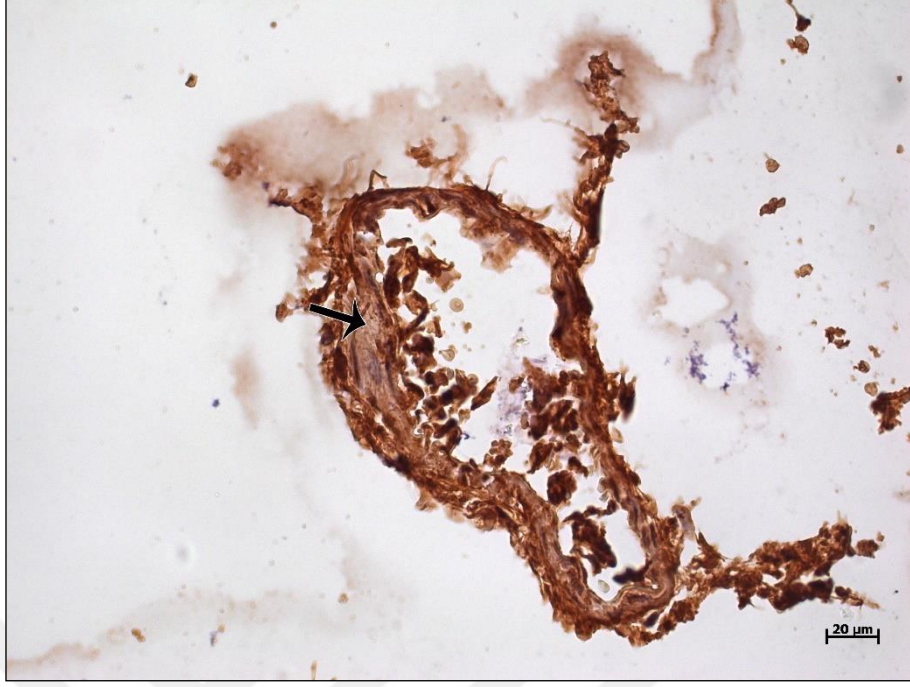
Şekil 31: Riociguat grubu kesitinde IL-6 immunohistokimya. Baziler arter tunika mediasının düz kas hücrelerinde immunopozitivitede (ok) düzeyi kontrol grubuna benzer şekilde izlendi. **Boyama:** IL-6 immunohistokimya & Hematoksilen zıt boyama. **Bar:** 20 µm.



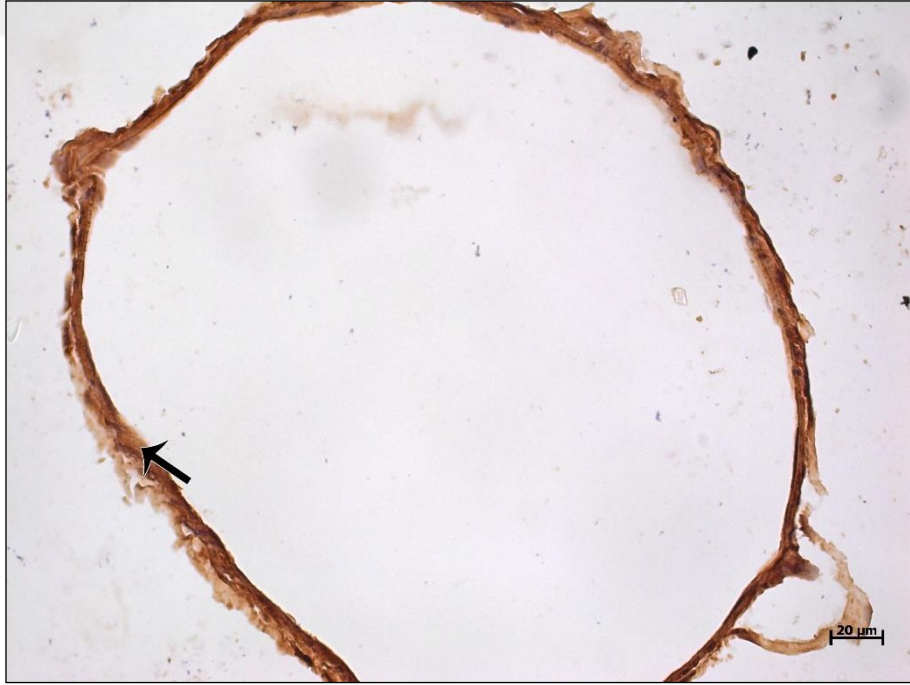
Şekil 32: *Momordica charantia* grubu kesitinde IL-6 immunohistokimya. Baziler arter tunika mediasının düz kas hücrelerinde immunopozitivitenin (ok) orta düzey yoğunlukta olduğu şekilde izlendi. **Boyama:** IL-6 immunohistokimya & Hematoksilen zıt boyama. **Bar:** 20 µm.



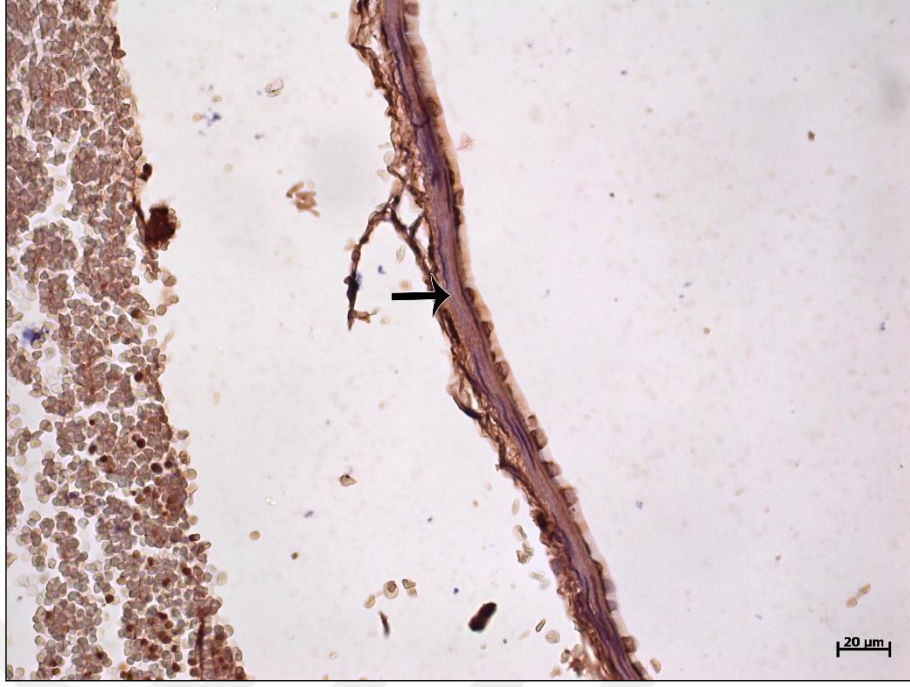
Şekil 33: Kontrol grubu kesitinde TNF- α immunohistokimya. Baziler arter tunika medisinin düz kas hücrelerinde düşük düzeyde immunopozitivite (ok). **Boyama:** TNF- α immunohistokimya & Hematoksilen zıt boyama. **Bar:** 20 µm.



Şekil 34: SAK grubu kesitinde TNF- α immunohistokimya. Tunika mediannın düz kas hücrelerinde çok yoğun immunopozitiflik (ok). **Boyama:** TNF- α immunohistokimya & Hematoksilen zıt boyama. **Bar:** 20 μ m.



Şekil 35: Riociguat grubu kesitinde TNF- α immunohistokimya. Baziler arter tunika mediasının düz kas hücrelerinde orta yoğunlukta immunopozitiflik (ok). **Boyama:** TNF- α immunohistokimya & Hematoksilen zıt boyama. **Bar:** 20 μ m.



Şekil 36: *Momordica charantia* grubu kesitinde TNF- α immunohistokimya. Baziler arter tunika mediasının düz kas hücrelerinde orta yoğunlukta immunopozitiflik (ok). **Boyama:** TNF- α immunohistokimya & Hematoksilen zıt boyama. **Bar:** 20 μ m.

5. TARTIŞMA

Subaraknoid kanama (SAK) birçok nedene bağlı, her yaşta görülebilen ve hayatı tehdit eden akut serebrovasküler olaydır. Ani ölümler içerisinde kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır (1, 3). SAK'ın klinik seyrinde en sık gözlenen komplikasyon vazospazmdir (1, 2, 4, 7).

Serebral vazospazm, subaraknoid kanamadan sonra günler içinde yavaş yavaş gelişen serebral arterlerde belirgin daralma yaparak beyinde iskemi ya da enfarkt gelişmesine neden olarak nörolojik fonksiyon kaybı ile sonuçlanabilen geri dönüşü olabilen patolojik olaylar zinciridir (74, 77). Vazospazm SAK'tan ortalama 3 gün sonra başlar 5-8. günde maksimum seviyeye ulaşır v 14. günden sonra azalma eğilimindedir (86). Tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan SAK modelinde vazospazm 3. günde en üst seviyededir (157). Bu sebeple çalışmamızda deneysel SAK sonrası vazospazmın en çok görüldüğü günü 3. gün kabul ederek, SAK oluşturulduktan sonra 72. saatte tavşanları sakrifiye edip baziler arter, beyin sapı ve serebral dokudan örnekleme yapıldı.

Araştırmalarda kullanılabilen tam anlamıyla insan benzeri bir denek bulunamamıştır. Birçok deney hayvanı SAK modellenmesinde kullanılmıştır. Günümüzde bu amaçla bilinen ve tavşan modellerinde en çok uygulananı, sisterna magnaya, kulak arterinden alınan taze kanın enjekte edilmesi yöntemidir. Hem uygulama kolaylığı hemde sık kullanılması nedeniyle biz de çalışmamızda sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu SAK modelini uyguladık. Bir diğer hususda bu modellemelerde insandakine benzer SAK ve vazospazm oluşturabilmektir. Kullanılan metodlardaki hayvanlarda subaraknoid boşlukta bulunan arterlerde (intrakraniyal) periferik sistem arterlerinden farklı olarak adventisya tabakalarının iyi gelişmemiş olması; vazo vazorumlarının bulunmaması ve bu hayvanlarda kollateral dolaşımın iyi geliştiği için vazospazma bağlı nörolojik defisit nadiren ortaya çıkması insandakine yakın bir durum sağlayabilmektedir. Baziler arteri çalışmanın başka bir faydası da posterior sirkülasyonun iyi gelişmiş olmasıdır (158). Bu nedenlerden yola çıkarak Riociguat ve M. Charantia'nın vazospazma etkisini araştırmak için tavşanlarda deneysel SAK modelini seçtik.

Geçmişten günümüze vazospazm üzerine bir çok deneysel ve klinik araştırma yapılmış olup kesin bir tedavisi ve korunma yöntemi bulunamamıştır. Vazospazmın en kabul edilen ve en yaygın uygulanan tedavisi 3H olarak bilinen hipervolemi, hemodilüsyon ve hipertansiyon tedavisidir. Yapılan pek çok çalışmada da gösterilmiştir ki sıvı yüklenmesi ve hemodilüsyon ile kan viskozitesi azaltılıp tansiyonun da yükseltilmesi serebral kan akımını, serebral perfüzyonu ve mikrosirkülasyonu artırarak hastalarda nörolojik düzelme sağlanmıştır (113, 115).

Güncel vazospazm tedavisinde nimodipin kullanımı dışında tamamen kabul edilmiş medikal tedavi bulunmamaktadır. Kalsiyum kanal blokörü olan nimodipinin vazospazm sıklığını %10'un altına indirdiği gösterilmiş olup bu etkisini vazodilatasyondan çok iskemik nöronal hücrelere kalsiyum girişini engelleyerek göstermektedir (119, 120). HT ve anjina tedavisinde endike olan L tipi kalsiyum kanal blokörü nikardipin oral, intravenöz, intraarteriyel ve intratekal/intraventriküler olarak uygulanabilmektedir (159). Bu ilaç Lu ve arkadaşları tarafından intraventriküler yolla hastalara verilmiş ve nikardipinin vazospazm şiddetini azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir (160).

Alexander ve arkadaşları, köpeklerde yaptıkları deneysel çalışmada, SAK sonrası ilk 24 saat yapılan sisternal irrigasyonun, subaraknoid aralıklıktaki kan ve kan yıkım ürünlerini oldukça azalttığını ancak baziler arterdeki anjiyografik ve morfolojik değişikliklere etkisinin olmadığı; kronik vazospazmın gelişme riskini azaltmadığı; bu nedenle ilk 24 saatte yapılabilecek sisternal lavajın vazospazm mekanizmalarını aydınlatmada yararlı olabileceğini beyan etmiştir (161).

Yanamoto ve arkadaşları, tavşanlarda oluşturulan SAK modelinde, kanama sonrası erken dönemde intravenöz yolla uygulanan sentetik multiserin proteaz inhibitörü olan FUT-175'in plazma serin proteaz kaskadını inhibe ederek, vazospazm gelişmesini önlediğini göstermiştir (162).

Oshiro ve arkadaşları, ratlarda femoral arterde oluşturulan kronik vazospazm modelinde ICAM-1 aracılığıyla gerçekleşen granülosit ve makrofaj infiltrasyonunu,

periadventisyal bölgede tespit etmişler ve sistemik anti ICAM-1 mAb uygulanmasının kronik vazospazmı önemli ölçüde engellediğini ortaya koymuştur (163).

Fassbender ve arkadaşları, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin SAK sonrası inflamasyonu tetikleyerek doku harabiyetine yol açtığını ve bu nedenle vazospazm patogenezinde oldukça önemli rol oynadıklarını göstermiştir. Antiinflamatuvar, antisitokin tedaviler ile SAK'ın hemodinamik komplikasyonlarının önlenileceğini öne sürmüştür (164).

Josko ve ark., ratlarda deneysel SAK modelinde, ET-1 'in uzamış vazospazm ve vazospazmın nöronal hücrelerde oluşturduğu hasardan sorumlu olduğunu ve bu hasardan dolayı VEGF gibi potent anjiogenezis yapan growth faktörlerin salınımının arttığını söylemiştir. VEGF ekspresyonunun SAK sonrası serebral damarlarda ve serebral hemisferler, beyin sapı, serebellumdaki nöronal dokularda arttığı görülmüştür. Bundan dolayı endotelin dönüştürücü enzim inhibitörü (fosforamidon) veya ET-A reseptör antagonisti (BQ-123) uygulanmasının anjiogenezisi ve VEGF ekspresyonunu inhibe ederek vazospazmın geç etkilerini azalttığını ya da önlediğini belirtmiştir (165). Yapılan çalışmada Endotelin reseptör antagonistlerinin (clazosentan, TAK-044, bosentan gibi) anjiografik olarak vazospazm sıklığını azaltmasına karşın vazospazm ilişkili enfarkt gelişimi, gecikmiş serebral hasar, mortalite gibi klinik sonuçları üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmemiştir. Ayrıca pulmoner ödem, hipotansiyon, anemi ve plevral effüzyon gibi ciddi komplikasyonlarına sebep olmalarından dolayı SAK sonrası kullanımlarının tartışılmalı olduğu bildirilmiştir (166).

Zhou ve arkadaşları, köpeklerde deneysel SAK modelinde, p53 inhibitörü olan pifithrin-alfa (PFT)'nin intersisternal uygulanmasıyla, SAK sonrası görülen düz kas hücrelerinde proliferasyonu ve endotelial hücrelerde apoptozisi önlediğini; bu yol vasıtasıyla anjiografik olarak vazospazmı azalttığını göstermiştir. P53 inhibisyonunun serebral vazospazm gelişimini azaltma ve hatta önlemede anahtar rol oynayabileceğini öne sürmüştür (167).

Kertmen ve arkadaşları, tavşanlarda deneysel SAK modeli oluşturarak yaptıkları benzer bir çalışmada, tiyokolşikosid'in GABAerjik aktivite üzerine agonist

ve antagonist etkilerinin olması nedeniyle baziler arterde vazodilastasyona neden olduğunu ve SAK' ın neden olduğu vazospazmı önlemede etkili olabileceğini göstermişlerdir (168).

Satoh ve arkadaşları, ratlarda deneysel SAK modelinde, antisense MAPK oligonükleotid uygulanması ile, vazospazmdaki olası devamlı düz kas kasılmasının sebebi MAPK yolağının inhibe edilmesinin vazospazmı hafiflettiğini ve tedavide rutin kullanılmasıyla vazospazma karşı etkin tedavi planı olabileceğini belirtmiştir (169).

Yunchang ve arkadaşları, tavşan SAK modelinde insan doku kallikrein'in SAK sonrası uygulanmasının; BOS'taki NO seviyelerinde artışa neden olarak vazodilatasyonu indükleyerek ve Bax ekspresyonunu azaltıp, Bcl-2 ekspresyonunu arttırarak apoptoza giden hücreleri azaltarak ,vazospazmı ve etkilerini önlediğini göstermiştir (170).

Lin ve arkadaşlarının tavşanlar üzerinde yaptığı çalışmada, deneysel olarak oluşturulan SAK modelini takiben oral uygulanan simvastatin ve taurine'in IL- β 1, IL-6 ve TNF- α düzeylerinde azalmaya neden olarak antiinflamatuvar etkisiyle, kronik vazospazm oluşumunu azaltıcı etkilerinin olduğunu göstermiştir (171).

Ülkemizde yapılan; Aydın ve arkadaşlarının çalışmasında, ratlarda deneysel olarak oluşturulan SAK sonrası curcumin'in uygun dozlarda intraperitoneal olarak uygulanmasının anti-oksidan etkisiyle serebral arterlerde vazodilatasyona sebep olduğu ve vazospazmın engellemesinde rolü olduğunu ortaya çıkarmıştır (172). Güvenç ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada, tavşanlarda SAK modelinde *Punica granatum* L.(Nar suyu) gavaj yoluyla verilmiş ve anti-oksidan etkisiyle vazodilatasyona neden olduğu ve apoptozisi azaltarak vazospazm ve etkilerini azalttığını belirtmiştir (173). Biz de çalışmamızda antioksidan özellikleri bilinen *Momordica Charantia*'nın benzer etkileri sunacağını düşünerek kullanmayı kararlaştırdık.

Fesli ve arkadaşlarının çalışmasında tavşanlarda SAK modelinde antiepileptik olarak medikal tedavide kullanılan vigabatrin intraperitoneal yolla verilmiş, GABA-T enzimini inhibe eden Vigabatrin'in GABAerjik sistemi aktive ederek vazodilatasyona

neden olduğunu saptamış ve bu etkinin vazospazmı azalttığı, vazospazm kaynaklı iskemik nöronal hasar üzerinde önleyici etkileri olduğunu göstermiştir (174).

Orakdöğen ve arkadaşları rat femoral arterinde yapılan deneysel vazospazm modelinde ozon tedavisini denemişlerdir. Duvar kalınlığı ve lümen çapları ölçümleri, ozonun, vasküler vazospazmın çözülmesinde ve sıçan femoral arterlerinde vasküler lümenin genişletilmesinde önemli bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. Sonuçta ozon tedavisinin, post hemorajik vazospazmın tedavisinde yararlı olabileceğini göstermişlerdir (175). Bu ve bunlara benzer çok sayıda çeşitli araştırma yapılmış ve hali hazırda yapılmaktadır.

Guanilat siklaz stimülatörü olan riociguat, düz kasların gevşemesinde rol alır. NO, reseptörü olan çözünür guanilat siklazı (sGC) aktive eder. Aktive olan guanilat siklaz enflamasyonu, vasküler tonusu, proliferasyonu düzenleyen cGMP'yi aktive eder. Riociguat, sGC'yi direkt uyarmasının yanısıra sGC'yi NO'e duyarlı hale getirerek de etkinlik gösterir. Sonuç olarak riociguat NO-sGC-cGMP yolağını uyarır ve vazodilatasyonla birlikte cGMP'yi artırır (127).

Pulmoner hipertansiyon tedavisinde kullanılan riociguat kardiyak MI'da da deneysel olarak çalışılmış ve kardiyak iskemi alanını azalttığı gösterilmiştir (130). Ayrıca kliniğimizde yapılan bir çalışma ratlarda deneysel orta serebral arter oklüzyonu serebral iskemi modelinde yapılan incelemerde riociguatin güçlü vazodilatasyon durumu gözlemlenmiş ve riociguatin serebral iskemik hasarı azalttığını göstermiştir (176).

Dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilen *M. Charantia* antik çağlardan beri kullanılmakta olup antihiperglisemik, antibakteriyel, antiviral, antitümör, immünomodülasyon, antioksidan, antimutajenik, antiülser, antilipolitik, antifertilite, hepatoprotektif, ve antiinflamatuvar aktiviteleri rapor edilmiştir (131, 132, 133, 134). Gong ve arkadaşlarının ratlarda orta serebral arter oklüzyonu iskemi modelinde yaptığı çalışma bildiğimiz kadarıyla, *M. charantia* polisakkaritinin serebral iskemi/reperfüzyon hasarı sırasında nöroprotektif etkileri olduğuna dair ilk rapordur. Moleküler mekanizmalar, antioksidan özellikleriyle

kısmen O₂, NO ve ONOO (peroksinitrit)'yu temizlemenin ve ardından apoptotik hücre ölümünde hücre sel sinyal yollarında kritik olan JNK3/c-Jun/Fas-L sinyal kaskadlarını ve mitokondriden sitokrom c salınımını inhibe etmeye ve kaspaz-3'ün inhibisyonuna bağlanabilir.

Çalışmamız hem Riociguat hem de Momordica Charantia'nın deneysel subaraknoid kanama modelinde yapılan ilk çalışma olması ve her ikisinin de serebral doku üzerinde neredeyse hiç çalışılmamış olması nedeniyle değerlidir. Histolojik ve morfolojik incelemede SAK modeli uygulanan hayvanların vasküler yapılarında gözle görülür kontraksiyon olduğunu tespit ettik. Baziler arter çevresinde yoğun eritrosit birikimi olduğunu ve arter lümenin daralmış, perivasküler alanın da ödemli olduğunu gördük. Riociguat tedavisi alan deney grubunda baziller arter çaplarının kontrol grubuna benzer şekilde olduğunu ve Riociguatın etkili bir vazodilatasyon sağladığını, eritrosit birikiminin de ortadan kalkmış olduğunu ve lümenlerin açık olduğunu gözlemledik. Momordica Charantia deney grubunda ise baziller arterde etkin bir dilatasyon görmeye beraber doku etrafında hemorajik birikim ve yer yer eritrosit agregasyonları tespit ettik.

Histopatolojik incelemede ise beyin sapı ve serebral dokudan aldığımız kesitlerde SAK grubunda nöroglial hücreleri, nöron çekirdeklerinde piknotik değişiklikleri ve kan beyin bariyerinin bozulduğunu saptadık. Riociguat deney grubunda bu değişikliklerin olmadığını; genel hücre ve çekirdek yapısının kontrol grubuyla uyumlu olduğunu gördük. Momordica Charantia deney grubunda ise SAK grubundaki değişikliklerin bir kısmı izlenmekle birlikte nöral dokunun genel yapısı kontrol grubuna benzerdi. Hücre yapıları düzensiz ve çekirdek yapılarında değişiklikler izlense de morfolojik yapı korunmuştu. Riociguat grubunun aksine nöral dokuda kısmen hemorajik infiltrasyonla karşılaştık.

İmmunhistokimyasal incelemede baziler arter düz kas hücrelerinde IL-6 ve TNF- α düzeylerini inceledik. Kontrol grubunda beklenen üzere düşük immunpozitivite ve SAK grubunda düz kas hücrelerinde immunpozitivite yoğunlaşma saptadık. Riociguat deney grubunda her iki pro-inflamatuar sitokin açısından düşük

ve kontrol grubuna benzer immunopozitivite kaydettik. Momordica Charantia deney grubunda ise IL-6 ve TNF- α immunopozitivitesinin orta yoğunlukta olduğunu gördük.

Tüm bu verilerin ışığında Riociguatın vasküler yapılarda etkin dilatasyon yapması, damar lümeninde belirgin artış sağlaması, eritrosit aggregasyonunu ortadan kaldırması ve parankimal dokuya kan infiltrasyonunu fazlasıyla azaltması ile morfolojik, histopatolojik ve immunhistokimyasal olarak vazospazm üzerine etkilidir. Her ne kadar Riociguat kadar vazospazm üzerine radikal etkili olarak görünmese de M.Charantia kesin olmakla birlikte belirgin düzeyde bir vazodilatasyon ve inflamasyon kaskadında orta düzeyde inhibisyon sağlamaktadır.



6. SONUÇ

Spontan SAK ve tedavisi, hali hazırda nöroşirurji kliniklerinin en önde gelen sorunlarından biridir. Spontan SAK nedenlerinin başında anevrizmalar gelir. Serebral vazospazm, anevrizmatik SAK sonrası morbidite ve mortaliteyi etkileyen en ciddi komplikasyon olmasının yanında patofizyolojisinde aydınlanmamış noktaların bulunmasıyla diğerlerinden ayrılır. Hem patofizyolojisine yönelik hem de SAK sonrası vazospazmi önleme ve gerçekleşmesi durumunda tedavi edilmesi konusunda çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar yapılmaktadır.

Bu çalışma Pulmoner HT tedavisinde kullanılan, guanilat siklaz stimülatörü etkisiyle düz kaslarda gevşeme yapan bir vazodilatör olan Riociguat ve tropikal, subtropikal bölgelerde yaygın yetişen antihiperglisemik, antioksidan, anti-inflamatuvar etkileri bilinen bir bitki olan Momordica Charantia (Kudret Narı) ekstraktının tavşanlarda deneysel SAK modelinde vazospazm üzerine etkileri çalışılmıştır.

Sonuç olarak, Riociguat ve Momordica Charantia SAK sonrası gelişen vazospazmı önlemede ya da etkilerini geri çevirmede faydalı birer ajan olabileceği konusunda umut vadetmektedir. Riociguatın sentetik yapısı ve ciddi sayılabilecek yan etkilerinin olması da göz önünde bulundurulduğunda organik meyve yapısında olan erişimi, üretimi ve kullanılabilirliği daha kolay ve ucuz olan; Momordica Charantia'nın vazospazm ve gecikmiş iskemik serebral hasarın önleme ve tedavisinde yararlı olabileceği ve geniş kapsamlı çalışmaların ardından SAK tedavi algoritmalarında yer bulabileceği kanaatindeyiz. Bununla birlikte, Momordica Charantia ve Riociguatın vazospazm ve nöronal hasar üzerindeki etkilerini incelemek için farklı deney modellerinde, farklı doz aralıklarında ve farklı dozlarda etkinliği daha fazla araştırılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Allen GS, Ahn HS, Presozi TJ ve ark: Cerebral arterial spasm-a controlled trial of nimodipine in patients with subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med*, 308:619-24,1983.
2. Peerles SJ: Pre-postoperative management of cerebral aneurysms. *Clin Neurosurg*, 11:407- 12,1979
3. Christopher J, Orlando O, Robert A: Resolution of focal CT hypodense lesions in patients with Subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol*, 39:158- 62,1993.
4. Clozel M, Watanebe H: BQ-123, a peptidic endothelin -a receptor antagonist, prevents the early cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage after intracisternal but not intravenous injection. *Life Sciences*, 52:825-34, 1993.
5. Gökalp HZ, Erongun U: Subaraknoid kanama ve intrakraniyal anevrizmalar. *Nöroşirurji Ders Kitabı İ*, pp Mars Yayınevi, Ankara. 7-38, 1988.
6. Hurst RW. Schnee C, Raps EC, Farber R, Flamm ES: Role of transcranial doppler in neuroradiological treatment of intracranial vasospasm Stroke, 24:299-03,1993
7. Jan M, Buchheit F, Tremoulet M: Therapeutic trial of intravenous nimodipine in patients with established cerebral vasospasm after rupture of intracranial aneurysms. *Neurosurgery*, 23:154-7, 1998.
8. Laumer R, Steinmeier R, Gönner F Vogtman T, Priem R, Falhbusch R: Cerebral hemodynamics in subarachnoid hemorrhage evaluated by transcranial doppler sonography. *Neurosurgery*, 33:1-9, 1993.
9. Ljunggren B, Brant L, Saveland H ve ark.: Outcome in 60 consecutive treated with early aneurysm operation and intravenous nimodipine. *J Neurosurgery*, 61:864-73, 1984.
10. Mee E, Dorrance D, Love D, Neil-Dywer G: Controlled study of nimodipine in aneurysmal patients treated after Subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*, 22:484-91,1988.
11. Nosko M, Weir B , Krueger C, Cook D, Norris S, Overton T. ve ark: Nimodipine and chronic vasospasm in monkeys part 1. *Neurosurgery*, 16:129-36,1985.
12. Nosko M, Weir B, Krueger C, Cook D, Norris S, Overton T, ve ark: Nimodipine and chronic vasospasm in monkeys part 2. *Neurosurgery*, 16:137-40,1985.
13. Ohman J, Heiskanen O: Effect of nimodipine on the outcome of patients after aneurysmal Subarachnoid hemorrhage and surgery. *J Neurosurg*; 69:683-6,1988.

14. Sekhar LN, Wechsler LR, Yonas H, Luyckx K, Obrist W: Value of transcranial doppler examination in the diagnosis of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*, 22:813-21,1988.
15. Shibuya M, Suzuki Y, Sugita K ve ark: Effect of AT877 on cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 76:571- 7,1992.
16. Taneda M: Effect of early operation for ruptured aneurysms on prevention of delayed ischemic symptoms. *J Neurosurg*, 57:622-8,1982.
17. Terda T, Nakamura Y, Yoshida N ve ark: Percutaneous transluminal angioplasty for the M2 portion vasospasm following SAH: development of the new microballon and report of cases. *Surg Neurol*, 39:133-7,1993.
18. Firlik AD, Kufman A.M, Sungreis CA, Yonas H: Effect of transluminal angioplasty on cerebral blood flow in the management of symptomatic vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg*. May 830-839, 1995.
19. Ochi RP, Vieco PT, Gross CE.: CT angiography of cerebral vasospasm with conventional angiographic comparison. *AJNR Am J Neuroradiol* 18(2): 265- 269, 1997.
20. Inove I, Shimith H, Karinuma T, Tajima M, ve ark: Prevention of cerebral vasospasm by calcitonin gene-related peptide slow release tablet after subarachnoid hemorrhage in monkeys. *Neurosurgery* 39(5):984-950, 1996.
21. Kim CJ , Bassiouny M, Macdonald RL.: Effect of BQ 123 and tissue plasminogen activator on vasospasm after subarachnoid hemorrhage in monkeys. *Stroke* 27(9): 1629-33, 1996.
22. Mori K, Arvi H, Nahajima K, Tajima A: Hemorological and hemodynamic analysis of hypervolemic hemodilution therapy for cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 26(9): 1620-1626, 1995.
23. Fujii Y, Thahashi A, Yoshimoto T: Effect of ballon angioplasty on high grade symptomatic vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neuro surg* 18(1) :7-13, 1995.
24. Le Roux PO , Elliott SP, Newell DW: Improved outcome after rupture of anterior circulation aneurysms. A retrospective 10 year review of 224 good grade patients. *J Neurosurg* 83(3): 394-402, 1995.
25. Frey R, Becker C, Saleh S, Unger S, van der Mey D, Mück W. Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile of Riociguat. *Clin Pharmacokinet*. 2018;57(6):647-661. doi:10.1007/s40262-017-0604-7
26. Methner C, Buonincontri G, Hu CH, et al. Riociguat reduces infarct size and post-infarct heart failure in mouse hearts: insights from MRI/PET imaging. *PLoS One*. 2013;8(12):e83910. Published 2013 Dec 31.

27. Grover, J. K.; Yadav, S. P. (2004). "Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: A review" (PDF). *Journal of Ethnopharmacology*. 93 (1): 123-132. doi:10.1016/j.jep.2004.03.035. PMID 15182917. Archived from the original (PDF) on 2017-11-18.
28. Beloin, N.; Gbeassor, M.; Akpagana, K.; Hudson, J.; De Soussa, K.; Koumaglo, K.; Arnason, J. T. (2005). "Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity" (PDF). *Journal of Ethnopharmacology*. 96 (1–2): 49–55. doi:10.1016/j.jep.2004.08.009. PMID 15588650. Archived from the original (PDF) on 2019-05-27.
29. Shu-Jing Wu, Lean-Teik Ng, Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 41, Issue 2, 2008, Pages 323-330, ISSN 0023-6438,
30. Pathakota, Roja. (2017). NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF MOMORDICA CHARANTIA ON SCOPOLAMINE INDUCED ALZHEIMER'S DISEASE. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2141-2155. 10.20959/wjpps201704-9025.
31. Roberts D, Nourollah-Zadeh E. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: is more endovascular therapy the answer? *Neurology*. 2019; 93: 192–3.
32. Burns SK, Brewer KJ, Jenkins C, Miller S. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage and vasospasm. *AACN Adv Crit Care*. 2018; 29: 163–74.
33. Etminan N, Chang HS, Hackenberg K, de Rooij NK, Vergouwen MDI, Rinkel GJE, et al. Worldwide incidence of aneurysmal subarachnoid hemorrhage according to region, time period, blood pressure, and smoking prevalence in the population: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Neurol*. 2019;76:588–597. doi: 10.1001/jamaneurol.2019.0006.
34. Schievink WI. Genetics of intracranial aneurysms. In: Winn HR, ed: *Youmans Neurological Surgery* 5 th. Ed. New York. NY; Saunders 2004; 1769-79
35. Labovitz DL, Halim AX, Brent B, Boden-Albala B, Hauser WA, Sacco RL. Subarachnoid hemorrhage incidence among whites, blacks and Caribbean Hispanics: the Northern Manhattan Study. *Neuroepidemiology*. 2006; 26(3):147-150.
36. Yost M, Fiebelkorn CA, Rabinstein AA, et al. Incidence of convexal subarachnoid hemorrhage in the elderly: the mayo clinic study of aging. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2019; 28: e104451.
37. Mark S. Greenberg. *Handbook of Neurosurgery Sixth Edition Chapter 27.1*. 2012.
38. Corbin D, Poddar V, Hennis A, et al. Incidence and case fatality rates of first-ever stroke in a black caribbean population. *Stroke*. 2004; 35: 1254–8.

39. Tsiskaridze A, Djibuti M, Melle V, et al. Stroke incidence and 30-day case-fatality in a Suburb of Tbilisi results of the first prospective population-based study in Georgia. *Stroke*. 2004; 35: 2523–9.
40. Hop JW, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J, authors. Initial loss of consciousness and risk of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1999
41. Linn FH, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J, authors. Headache characteristics in subarachnoid haemorrhage and benign thunderclap headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998;65:791–3.
42. Perry JJ, Stiell IG, Sivilotti MLA, et al. Clinical decision rules to rule out subarachnoid hemorrhage for acute headache. *JAMA*. 2013; 310: 1248–55.
43. Rosen D, Macdonald L. Subarachnoid hemorrhage grading scales: a systematic review. *Neurocrit Care*. 2005; 2: 110–8.
44. Fisher C, Kistler J, Davis J. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery*. 1980; 6:1–9.
45. Ko SB, Choi HA, Helbok R, et al. Quantitative analysis of hemorrhage clearance and delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. *J Neurointerv Surg*. 2016; 8: 923–6.
46. Edlow JA, Malek AM, Ogilvy CS. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage: update for emergency physicians. *J Emerg Med*. 2008;34:237–251.
47. Byyny RL, Mower WR, Shum N, Gabayan GZ, Fang S, Baraff LJ. Sensitivity of noncontrast cranial computed tomography for the emergency department diagnosis of subarachnoid hemorrhage. *Ann Emerg Med*. 2008;51:697–703.
48. Connolly ES Jr, Rabinstein AA, Carhuapoma JR, Derdeyn CP, Dion J, Higashida RT, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2012;43:1711–1737.
49. Edlow JA, Panagos PD, Godwin SA, Thomas TL, Decker WW. Clinical policy: critical issues in the evaluation and management of adult patients presenting to the emergency department with acute headache. *Ann Emerg Med*. 2008; 52:407–436.
50. Edlow J, Caplan L. Avoiding pitfalls in the diagnosis of subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med*. 2000; 342: 29–36.
51. Arora S, Swadron SP, Dissanayake V. Evaluating the sensitivity of visual xanthochromia in patients with subarachnoid hemorrhage. *J Emerg Med*. 2010; 39: 13–6.

52. Hsu CCT, Suthiphosuwana S, Huynh T, et al. High-Resolution MRI vessel wall imaging in acute aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Clin Neuroradiol.* 2019; 62: 843–8.
53. Bederson J, Connolly S, Batjer H, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a statement for healthcare professionals from a special writing group of the stroke council, American heart association. *Stroke.* 2009; 40: 994–1025.
54. Malinova V, Psychogios MN, Tsogkas I, et al. MR-angiography allows defining severity grades of cerebral vasospasm in an experimental double blood injection subarachnoid hemorrhage model in rats. *PLoS One.* 2017; 12: 1–10.
55. Marshall SA, Kathuria S, Nyquist P, Gandhi D. Noninvasive imaging techniques in the diagnosis and management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg Clin N Am.* 2010; 21: 305–23.
56. Burton T, Bushnell C. Reversible cerebral vasoconstriction syndrome: a diagnostic imaging review. *Stroke.* 2019; 50: 2253–8.
57. Leonardi M, Cenni P, Simonetti L, et al. Retrospective study of complications arising during cerebral and spinal diagnostic angiography from 1998 to 2003. *Interv Neuroradiol.* 2005; 11: 213–21.
58. Nieuwkamp DJ, Setz LE, Algra A, et al. Changes in case fatality of aneurysmal subarachnoid haemorrhage over time, according to age, sex, and region: a metaanalysis. *Lancet Neurol.* 2009; 8: 635–42.
59. Benke T, Köylü B, Delazer M, et al. Cholinergic treatment of amnesia following basal forebrain lesion due to aneurysm rupture: an open-label pilot study. *Eur J Neurol.* 2005; 12: 791–6.
60. Reijmer YD, Van Den Heerik MS, Heinen R, et al. Microstructural white matter abnormalities and cognitive impairment after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2018; 49: 2040–5.
61. Al-Khindi T, Macdonald L, Schweizer T. Cognitive and functional outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2010; 41: 519–36.
62. Christiansen C, Baum C. Occupational Therapy. Enabling Function and Well-Being. Thorofare, NJ: Slack; 1997
63. Hackett ML, Anderson CS. Health outcomes 1 year after subarachnoid hemorrhage: an international population-based study. *Neurology.* 2000; 55: 658–662.
64. Ślusarz R, Beuth W, Książkiewicz B. Postsurgical examination of functional outcome of patients having undergone surgical treatment of intracranial aneurysm. *Scand J Caring Sci.* 2009; 23: 130–139.

65. Buunk AM, Spikman JM, et al. Return to work after subarachnoid hemorrhage: the influence of cognitive deficits. Meckel S, editor. PLoS One. 2019; 14: e0220972.
66. Özdemir M, Bozkurt M, Kahiloğulları G, Uğur H, Egemen N. Subaraknoid Kanama ve Komplikasyonlarının Tedavisi. Management of Subarachnoid Hemorrhage and Complications. Ankara Univ Fac Med. 2011;64(1):52-55.
67. Spears J, Loch Macdonald R, Weir B. Perioperative management of subarachnoid hemorrhage. In: Winn H, ed. Youmans and Winn Neurological Surgery. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Ltd; 2017:3772-3790.
68. Bagley C. Blood in the cerebrospinal fluid: Resultant functional and organic alterations in the central nervous system; B. clinical data. Arch Surg. 1927; 17: 1-18.
69. Chen S, Luo J, Reis C, et al. Hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage: pathophysiology, diagnosis, and treatment. Biomed Res Int. 2017; 10: 1-8.
70. Gigante P, Hwang BY, Appelboom G, et al. External ventricular drainage following aneurysmal subarachnoid haemorrhage. Br J Neurosurg. 2010; 24: 625-32.
71. Güresir E, Beck J, Vatter H, et al. Subarachnoid hemorrhage and intracerebral hematoma: incidence, prognostic factors, and outcome. Neurosurgery. 2008; 63: 1088-
72. Dorai Z, Hynan LS, Kopitnik TA, et al. Factors related to hydrocephalus after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Neurosurgery. 2003; 52: 763-71.
73. Özdemir M, Bozkurt M, Kahiloğulları G, Uğur H, Egemen N. Subaraknoid Kanama ve Komplikasyonlarının Tedavisi. Management of Subarachnoid Hemorrhage and Complications. Ankara Univ Fac Med. 2011;64(1):52-55.
74. Mayberg M: Cerebral Vasospasm. Neurosurg Clin N Am 9 (3):615-627,1998.
75. Allen GS, Bahr AL: Cerebral arterial spasm. Part 10. Reversal of acute and chronic spasm in dogs with orally administered nifedipine. Neurosurgery 4: 43, 1979
76. Kuniyoshi O: Prolonged vasospasm produced by the breakdown products of erythrocytes. J Neurosurg. 47: 403-411, 1977
77. Findlay MS. Cerebral vasospasm Youmans Neurological Surgery eds: Winn RH, Vol II chapter 2004; 109:1839-67
78. Ecker A, Riemenschneider PA: Arteriographic demonstration of spasm of the intracranial arteries, with special reference to saccular arterial aneurysms. J Neurosurg 8 (6): 660-667, 1951.
79. Giannotta SL, McGillicuddy JE, Kint GW: Diagnosis and treatment of postoperative cerebral vasospasm. Surg Neurol 8 (4):286-290,1977.

80. Sasaki T, Wakai S, Asano T, Watanabe T, Kirino T, Sano K. The effect of a lipid hydroperoxide of arachidonic acid on the canine basilar artery. An experimental study on cerebral vasospasm. *J.Neurosurgery* 54: 357-365, 1981
81. Pakarinen S: Incidence, aetiology, and prognosis of primary subarachnoid haemorrhage. A study based on 589 cases diagnosed in a defined urban population during a defined period. *Acta Neurol Scand* 43 (Suppl 29): 1-28, 1967.
82. Göker B, Akçakaya MO, Hamacıoğlu MK, Kırış T. Serebral vazospazm: klinik izlem ve tedavi. *Türk Nöroşir Dergisi* 2018; 28: 119-23
83. Baggott CD, Aagaard-Kienitz B. Cerebral vasospasm. *Neurosurg Clin N Am* 2014; 25: 497-528
84. Kassell NF, Sasaki T, Colohan AR, Nazar G: Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 16 (4):562-572, 1985
85. Biller J, Godersky JC, Adams HPJr: Management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 19 (10): 1300-1305, 1988.
86. Liu-Deryke X, Rhoney DH. Cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an overview of pharmacologic management. *Pharmacotherapy* 2006; 26: 182-203
87. Findlay JM, Nisar J, Darsaut T. Cerebral vasospasm: a review. *Can J Neurol Sci.* 2016; 43: 15–32.
88. Youmans, J. R., & Winn, H. R. (2011). *Youmans neurological surgery*. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier. pp 3791-3793
89. Koliass AG, Sen J, Belli A. Pathogenesis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: putative mechanisms and novel approaches. *J Neurosci Res.* 2009; 87: 1–11.
90. Tani E. Molecular mechanisms involved in development of cerebral vasospasm. *Neurosurg Focus.* 2002; 12: 1–8.
91. Chrissobolis S, Sobey CG. Recent evidence for an involvement of rho-kinase in cerebral vascular disease. *Stroke.* 2006; 37: 2174–80.
92. Laher I, Zhang JH. Protein kinase C and cerebral vasospasm. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001; 21: 887–906.
93. Zubkov AY, Ogihara K, Bernanke DH, Parent AD, Zhang J. Apoptosis of endothelial cells in vessels affected by cerebral vasospasm. *Surg Neurol.* 2000;53(3):260-266.
94. Cahill WJ, Calvert JH, Zhang JH. Mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2006; 26: 1341–53.

95. Pluta RM. Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis, and proposed treatment. *Pharmacol Ther.* 2005; 105: 23–56.
96. Ostrowski RP, Colohan AR, Zhang JH. Molecular mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage *Molecular. Neurol Res.* 2006; 28: 399–414.
97. Sehba FA, Bederson JB. Mechanisms of acute brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res.* 2006; 28: 381–98.
98. Dietrich HH, Dacey RG. Molecular keys to the problems of cerebral vasospasm. *Neurosurgery.* 2000; 46: 517–30.
99. Cheng YW, Li WJ, Dou XJ, et al. Role of endothelin-1 and its receptors in cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Mol Med Rep.* 2018; 18: 5229–36.
100. Griessenauer CJ, Starke RM, Foreman PM, et al. Associations between endothelin polymorphisms and aneurysmal subarachnoid hemorrhage, clinical vasospasm, delayed cerebral ischemia, and functional outcome. *J Neurosurg.* 2018; 128: 1311–7.
101. Lin, C. L., Jeng, A. Y., Howng, S. L., & Kwan, A. L. (2004). Endothelin and subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm: pathogenesis and treatment. *Current medicinal chemistry*, 11(13), 1779-1791.
102. Chou SHY. Inflammation, cerebral vasospasm, and brain injury in subarachnoid hemorrhage-a shifting paradigm and a new beginning. *Crit Care Med.* 2018; 46: 1883–5.
103. Dumont AS, Dumont RJ, Chow MM, et al. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery.* 2003; 53: 123–35.
104. Mack, W. J., Ducruet, A. F., Hickman, Z. L., Garrett, M. C., Albert, E. J., Kellner, C. P., ... & Connolly Jr, E. S. (2007). Early plasma complement C3a levels correlate with functional outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*, 61(2), 255-261.
105. Khey KMW, Huard A, Mahmoud SH. Inflammatory Pathways Following Subarachnoid Hemorrhage. *Cell Mol Neurobiol.* 2020;40(5):675-693.
106. Xin ZL, Wu XK, Xu JR, Li X. Arachnoid cell involvement in the mechanism of coagulation initiated inflammation in the subarachnoid space after subarachnoid hemorrhage. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2010;11:516–523.
107. Purkayastha S, Sorond F. Transcranial doppler ultrasound: technique and application. *Semin Neurol.* 2012; 32: 411–20.
108. Yonas H: Cerebral blood measurements in vasospasm. *Neurosurg Clin North Am* 1990; 1:307-318

109. Treggiari-Venzi MM, Suter PM, Romand JA. Review of medical prevention of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a problem of neurointensive care. *Neurosurgery* 2001; 48: 249-62
110. Haley EC, Kassell NF, Tomer JC: The international cooperative study on the timing of aneurysm surgery: the North American experience. *Stroke* 23 (2):205- 214, 1992
111. Kassell NF, Helm G, Simmons N, Phillips CD, Cail WS: Treatment of cerebral vasospasm with intra-arterial papaverine. *J Neurosurg* 77 (6): 848-852, 1992.
112. Ohman J, Heiskanen O: Timing of operation for ruptured supratentorial aneurysm: A prospective randomized study. *J Neurosurg* 70 (1): 55-60, 1989.
113. Kosnik EJ, Hunt WE: Postoperative hypertension in the management of patients with intracranial arterial aneurysms. *J Neurosurg* 45(2): 148-154, 1976.
114. Kassell NF, Peerless SJ, Durward QJ, Beck DW, Drake CG, Adams HP: Treatment of ischemic deficits from vasospasm with intravascular volume expansion and induced arterial hypertension. *Neurosurgery* 11(3): 337-343, 1982.
115. Muizelaar JP, Becker DP: Induced hypertension for the treatment of cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. Direct effect on cerebral blood flow. *Surg Neurol* 25 (4): 317-325, 1986.
116. Francoeur CL, Mayer SA. Management of delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. *Crit Care*. 2016; 20: 277-9.
117. Flamm ES, Adams HP, Beck DW: Dose-escalation study of intravenous nicardipine in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 68 (3): 393-400, 1988.
118. Bevan JA, Bevan RD, Frazee JG: Functional arterial changes in chronic cerebrovasospasm in monkeys: an in vitro assessment of the contribution to arterial narrowing. *Stroke* 18 (2):472-481, 1987.
119. Koliass AG, Sen J, Belli A: Pathogenesis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: putative mechanisms and novel approaches. *J Neurosci Res* 87(1): 1-11, 2009.
120. Auer LM: Acute operation and preventive nimodipine improve outcome in patients with ruptured cerebral aneurysms. *Neurosurgery* 15(1): 57-66, 1984.
121. Jestaedt L, Pham M, Bartsch AJ, Kunze E, Roosen K, Solymosi L, Bendszus M: The impact of balloon angioplasty on the evolution of vasospasm-related infarction after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 62(3): 610-617, 2008.

122. Bejjani GK, Bank WO, Olan WJ, Sekhar L: The efficacy and safety of angioplasty for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 42 (5):979-982, 1998.
123. Eskridge JM, McAuliffe W, Song JK, Deliganis AV, Newell DW, Lewis DH, Mayberg MR, Winn HR: Balloon angioplasty for the treatment of vasospasm: results of first 50 cases. *Neurosurgery* 42 (3):510-516, 1998.
124. Milburn JM, Moran CJ, Cross DT, Diringer MN, Pilgram TK, Dacey RG: Increase in diameters of vasospastic intracranial arteries by intraarterial papaverine administration. *J Neurosurg* 88 (1):38-42, 1998.
125. Numaguchi Y, Zoarski GH, Clouston JE, Zagardo MT, Simard JM, Aldrich EF, Sloan MA, Maurer PK, Okawara SH: Repeat intra-arterial papaverine for recurrent cerebral vasospasm after subarachnoid haemorrhage. *Neuroradiology* 39 (10):751 - 759, 1997.
126. McAuliffe W, Townsend M, Eskridge JM, Newell DW, Grady MS, Winn HR: Intraarterial pressure changes induced during papaverine infusion for treatment of vasospasm. *J Neurosurg* 83 (3):430-434, 1995.
127. Conole D, Scott LJ. Riociguat: first global approval. *Drugs*. 2013;73(17):1967-1975. doi:10.1007/s40265-013-0149-5
128. Kenny M, Clarke MM, Pogue KT. Overview of Riociguat and Its Role in the Treatment of Pulmonary Hypertension [published online ahead of print, 2020 Oct 21]. *J Pharm Pract*. 2020;897190020961291. doi:10.1177/0897190020961291
129. Geraghty JR, Davis JL, Testai FD. Neuroinflammation and Microvascular Dysfunction After Experimental Subarachnoid Hemorrhage: Emerging Components of Early Brain Injury Related to Outcome. *Neurocrit Care*. 2019;31(2):373-389. doi:10.1007/s12028-019-00710-x
130. Methner C, Buonincontri G, Hu CH, et al. Riociguat reduces infarct size and post-infarct heart failure in mouse hearts: insights from MRI/PET imaging. *PLoS One*. 2013;8(12):e83910. Published 2013 Dec 31. doi:10.1371/journal.pone.0083910
131. Jia S, Shen M, Zhang F, Xie J. Recent Advances in *Momordica charantia*: Functional Components and Biological Activities. *Int J Mol Sci*. 2017;18(12):2555. Published 2017 Nov 28. doi:10.3390/ijms18122555
132. Ahmed I., Adeghate E., Sharma A.K., Pallot D.J., Singh J. Effects of *Momordica charantia* fruit juice on islet morphology in the pancreas of the streptozotocin-diabetic rat. *Diabetes Res. Clin. Pract*. 1998;40:145–151. doi: 10.1016/S0168-8227(98)00022-9.
133. Matsuda M., DeFronzo R.A. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: Comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*. 1999;22:1462–1470. doi: 10.2337/diacare.22.9.1462.

134. Raza H., Ahmed I., John A., Sharma A.K. Modulation of xenobiotic metabolism and oxidative stress in chronic streptozotocin-induced diabetic rats fed with *Momordica charantia* fruit extract. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2000;14:131–139. doi: 10.1002/(SICI)1099-0461(2000)14:3<131::AID-JBT2>3.0.CO;2-Q.
135. Gong J., Sun F., Li Y., Zhou X., Duan Z., Duan F., Zhao L., Chen H., Qi S., Shen J. *Momordica charantia* polysaccharides could protect against cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibiting oxidative stress mediated c-Jun N-terminal kinase 3 signaling pathway. *Neuropharmacology.* 2015;91:123–134. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.11.020.
136. Juvekar A.R., Hule A.K., Sakat S.S., Chaughule V.A. In vitro and in vivo evaluation of immunomodulatory activity of methanol extract of *Momordica charantia* fruits. *Drug Invent. Today.* 2009;1:89–94.
137. Bagley C, Jr. Blood in the cerebrospinal fluid: Resultant functional and organic alterations in the central nervous system – Part A: Experimental data. *Arch Surg* 1928; 17: 18–38
138. Wilkins RH, Levitt P. Intracranial arterial spasm in the dog. A chronic experimental model. *J Neurosurg* 1970; 33: 260–269
139. Kuwayama A, Zervas NT, Belson R, et al. A model for experimental cerebral arterial spasm. *Stroke* 1972; 3: 49–56
140. Kuwayama A, Zervas NT, Shintani A, et al. Papaverine hydrochloride and experimental hemorrhagic cerebral arterial spasm. *Stroke* 1972; 3: 27–33
141. Steiner L, Lofgren J, Zwetnow NN. Lethal mechanism in repeated subarachnoid hemorrhage in dogs. *Acta Neurol Scand* 1975; 52: 268–293
142. Steiner L, Lofgren J, Zwetnow NN. Characteristics and limits of tolerance in repeated subarachnoid hemorrhage in dogs. *Acta Neurol Scand* 1975; 52: 241–267
143. Estanol BV, Loyo MV, Mateos JH, et al. Cardiac arrhythmias in experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1977; 8: 440– 449
144. McCormick PW, McCormick J, Zabramski JM, et al. Hemodynamics of subarachnoid hemorrhage arrest. *J Neurosurg* 1994; 80: 710–715
145. Zhao W, Ujiie H, Tamano Y, et al. Sudden death in a rat subarachnoid hemorrhage model. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1999; 39: 735–741
146. Varsos VG, Liszczak TM, Han DH, et al. Delayed cerebral vasospasm is not reversible by aminophylline, nifedipine, or papaverine in a “two-hemorrhage” canine model. *J Neurosurg* 1983; 58: 11–17

147. Macdonald RL, Zhang ZD, Takahashi M, et al. Calcium sensitivity of vasospastic basilar artery after experimental subarachnoid hemorrhage. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H2329–H2336
148. Sasaki T, Kasuya H, Onda H, et al. Role of P38 mitogen-activated protein kinase on cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2004; 35: 1466–1470
149. Nishizawa S, Obara K, Koide M, et al. Attenuation of canine cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage by protein kinase c inhibitors despite augmented phosphorylation of myosin light chain. *J Vasc Res* 2003; 40: 169–178
150. Logothetis J, Karacostas D, Karoutas G, et al. A new model of subarachnoid hemorrhage in experimental animals with the purpose to examine cerebral vasospasm. *Exp Neurol* 1983; 81: 257–278
151. Egemen N, Sanlidilek U, Zorlutuna A, et al. Transclival approach to rabbit basilar artery for experimental induction of chronic vasospasm. *Acta Neurochir (Wien)* 1992; 115: 123–126
152. Endo S, Branson PJ, Alksne JF. Experimental model of symptomatic vasospasm in rabbits. *Stroke* 1988; 19: 1420–1425
153. Baker KF, Zervas NT, Pile-Spellman J, et al. Angiographic evidence of basilar artery constriction in the rabbit: A new model of vasospasm. *Surg Neurol* 1987; 27: 107–112
154. Spallone A, Pastore FS. Cerebral vasospasm in a double-injection model in rabbit. *Surg Neurol* 1989; 32: 408–417
155. Chan RC, Durity FA, Thompson GB, et al. The role of the prostacyclin-thromboxane system in cerebral vasospasm following induced subarachnoid hemorrhage in the rabbit. *J Neurosurg* 1984; 61: 1120–1128
156. Zhou ML, Shi JX, Zhu JQ, et al. Comparison between one- and two-hemorrhage models of cerebral vasospasm in rabbits. *J Neurosci Methods* 2007; 159: 318–324
157. Vorkapic P, Bevan JA, Bevan RD. Two indices of functional damage of the artery wall parallel the time course of irreversible narrowing in experimental vasospasm in the rabbit. *Blood Vessels*. 1991;28(1-3):179-182.
158. Megyesi, J. F., Vollrath, B., Cook, D. A., & Findlay, J. M. (2000). In vivo animal models of cerebral vasospasm: a review. *Neurosurgery*, 46(2), 448-448.
159. Kiser TH. Cerebral Vasospasm in Critically III Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Does the Evidence Support the Ever-Growing List of Potential Pharmacotherapy Interventions? *Hosp Pharm*. 2014;49(10):923-941

160. Lu N, Jackson D, Luke S, Festic E, Hanel RA, Freeman WD. Intraventricular nicardipine for aneurysmal subarachnoid hemorrhage related vasospasm: assessment of 90 days outcome. *Neurocrit Care*. 2012;16(3):368-375.
161. Alexander E, Black PM, Liszczak TM, Zervas NT. Delayed CSF lavage for arteriographic and morphological vasospasm after experimental SAH. *J Neurosurg*. 1985;63(6):949-958.
162. Yanamoto H, Kikuchi H, Okamoto S, Nozaki K. Preventive effect of synthetic serine protease inhibitor, FUT-175, on cerebral vasospasm in rabbits. *Neurosurgery*. 1992;30(3):351-6; discussion 356-7
163. Oshiro EM, Hoffman PA, Dietsch GN, Watts MC, Pardoll DM, Tamargo RJ. Inhibition of experimental vasospasm with anti-intercellular adhesion molecule-1 monoclonal antibody in rats. *Stroke*. 1997;28(10):2031-7; discussion 2037-8
164. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, et al. Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001;70(4):534-537.
165. Joško J. Cerebral angiogenesis and expression of VEGF after subarachnoid hemorrhage (SAH) in rats. *Brain Res*. 2003;981(1-2):58-69.
166. Daou BJ, Koduri S, Thompson BG, Chaudhary N, Pandey AS. Clinical and experimental aspects of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *CNS Neurosci Ther*. 2019;25(10):1096-1112.
167. Zhou C, Yamaguchi M, Colohan AR, Zhang JH. Role of p53 and Apoptosis in Cerebral Vasospasm after Experimental Subarachnoid Hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005;25(5): 572-582.
168. Kertmen H, Gürer B, Yilmaz ER, et al. The effect of thiocolchicoside on cerebral vasospasm following experimental subarachnoid hemorrhage in the rabbit. *Acta Neurochir (Wien)*. 2012;154(8):1431-1436.
169. Satoh M, Parent AD, Zhang JH. Inhibitory effect with antisense mitogen-activated protein kinase oligodeoxynucleotide against cerebral vasospasm in rats. *Stroke*. 2002;33(3):775-781.
170. Yunchang M, Qinxue D, Binbin J, et al. Human tissue kallikrein ameliorates cerebral vasospasm in a rabbit model of subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*. 2015;37(12):1082-1089.
171. Lin C, Zhao Y, Wan G, Zhu A, Wang H. Effects of simvastatin and taurine on delayed cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Exp Ther Med*. 2016;11(4):1355-1360.

172. Aydın HE, Bektur NE, Ozbek Z, Oner S, Baycu C, Kilic FS. Comparison of the effects and mechanism of the curcumin with different acting drugs in experimental vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Turk Neurosurg.* 2016;27(6):884-893.
173. Guvenc Y, Demirci A, Billur D, et al. Punica granatum L. Juice Attenuates Experimental Cerebral Vasospasm in the Rabbit Subarachnoid Hemorrhage Model: A Basilar Artery Morphometric Study and Apoptosis. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg.* 2017;78(2):124-131.
174. Fesli R, Kuru Bektaşoğlu P, Gürer B, et al. Amelioration of Cerebral Vasospasm and Secondary Injury by Vigabatrin After Experimental Subarachnoid Hemorrhage in the Rabbit. *World Neurosurg.* 2020;141:e559-e565.
175. Orakdogen M, Uslu S, Emon ST, Somay H, Meric ZC, Hakan T., The Effect of Ozone Therapy on Experimental Vasospasm in the Rat Femoral Artery., *Turk Neurosurg. JTN.* 14162-15.2. 2016.
176. Aslanoğlu Barış, Ratlarda Deneysel Serebral İskemi Sonrası Riociguat ve Resveratrol Kombine Tedavinin Nöroprotektif Etkilerinin Araştırılması, Uzmanlık tezi, Diyarbakır: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2021