

T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA
MODELİNDE GELİŞEN VAZOSPAZM
ÜZERİNE ALFA – LİPOİK ASİDİN ETKİSİ

Dr. Hasan OCAK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ

ZONGULDAK 2010

T.C.
ZONGULDAK KARAEMLAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA
MODELİNDE GELİŞEN VAZOSPAZM ÜZERİNE
ALFA – LİPOİK ASİDİN ETKİSİ

Dr. Hasan OCAK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ

ZONGULDAK

2010

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi

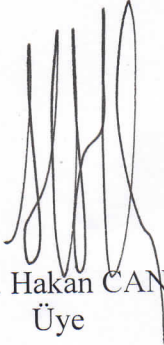
Tez Başlığı : Deneysel Subaraknoid Kanama Modelinde Gelişen Vazospazm
Üzerine Alpha-Lipoik Asidin Etkisi

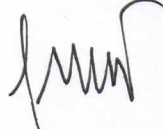
Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Hasan OCAK

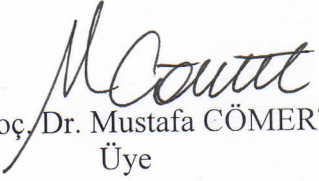
Tez Savunma Tarihi: 16/08/2010

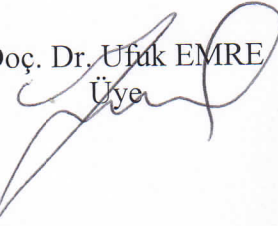
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ


Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ
Jüri Başkanı

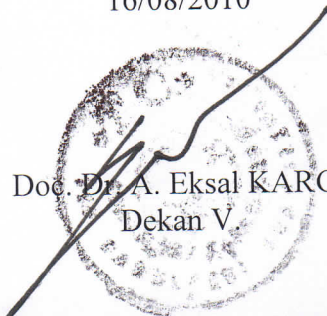

Prof. Dr. Hakan CANER
Üye


Doç. Dr. Murat KALAYCI
Üye


Doç. Dr. Mustafa CÖMERT
Üye


Doç. Dr. Ufuk EMRE
Üye

UYGUNDUR
16/08/2010


Doç. Dr. A. Eksal KARGI
Dekan V

ÖNSÖZ

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim boyunca her yönü ile uzun ve zorlu bir eğitim gerektiren bilimsel yolda başladığım ilk günden itibaren bana her türlü desteği sağlayan, bilgi, deneyim, hoşgörü ve içtenliğini hiçbir zaman esirgemeyen başta Sayın Rektörümüz ve sevgili hocam Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ olmak üzere eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerini, hoca bilgeliliğini arkadaş sevecenliği ile birleştirerek aktaran ve bana her zaman örnek olan çok değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Murat KALAYCI'ya, tezimin tüm aşamalarında beraber çalıştığımız ilgi ve desteği ile her an yanımda olan ayrıca eğitimimde önemli bir yeri olan hocam Yrd. Doç. Dr. Şanser GÜL'e, değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Nurullah EDEBALI'ya, asistan eğitimimin başında birlikte çalıştığımız hocam Doç. Dr. Ferda ÇAĞAVI'ya, tezimin tamamlanmasında emeği geçen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Doç. Dr. Şerefden AÇIKGÖZ ve preperatların hazırlanması ve histopatolojik değerlendirmesinde katkıda bulunan Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Burak Bahadır'a, sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde emeği geçen Biyoistatistik Anabilim Dalı başkanı değerli hocam Prof. Dr. Vildan Sümbüloğlu ve Öğr. Gör. Dr. F. F. Köktürk'e, tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Anestezi Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Volkan Hancı'ya şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Beraber çalıştığım asistan arkadaşlarım; Uzm. Dr. Aslan ÖZER, Uzm. Dr. Kadir ÇOLAK, Uzm. Dr. Mazhar Müfit ÜNAL, Dr. Hakan PAZARLI, Dr. Emrah KESKİN, Dr. Evren AYDOĞMUŞ, Dr. Hasan Ali AYDIN, Beyin Cerrahisi Servisi sorumlu hemşiresi Emriye GEÇER ve beraber çalışmaktan büyük mutluluk ve gurur duyduğum kliniğimizin tüm hemşire ve personel ekibine en içten teşekkürü bir borç bilirim.

Sevgi ve özverileri ile beni yetiştiren, desteklerini esirgemeyen canım anneme, babama, kardeşlerime ve özellikle bunca yıl boyunca sabır ve sevgiyle bana destek olan ve onlara ayırmam gereken zamandan hep fedakarlık eden eşim Dilek ve kızım Kumsal, oğlum Mustafa Kemal'e; en içten saygı ve teşekkürlerimi sunmak isterim.

Dr. Hasan OCAK

ZONGULDAK, 2010

ÖZET

Ocak H., Deneysel Subaraknoid Kanama Modelinde Gelişen Vazospazm Üzerine Alfa – Lipoik Asidin Etkisi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Uzmanlık Tezi. Zonguldak, 2010.

Amaç: Ratlarda deneysel subaraknoid kanama (SAK) oluşturup bu model üzerinden biyokimyasal ve histomorfometrik inceleme yaparak, alfa lipoik asit (ALA)'in serebral vazospazma karşı koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Çalışma 4 grup(G) ve her grupta 7 adet Wistar Albino cinsi rat olacak şekilde planlandı. G1: Herhangi bir girişim uygulanmadı; G2: Subaraknoid Kanama oluşturuldu; G3: Subaraknoid Kanama+ Serum fizyolojik verildi (100mg/kg); G4: Subaraknoid Kanama+ Alfa lipoik asit verildi (100mg/kg). Rat kuyruk arterinden alınan 0,15 cc otolog kan, kranioservikal bileşkedeki sisterna magnaya enjekte edilerek subaraknoid kanama oluşturuldu. İlaç dozları günde tek doz şeklinde, toplam iki doz intraperitoneal olarak uygulandı. Denekler 48. saatin sonunda kurban edildi.

Bulgular: Lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehid düzeylerinde ilaç gruplarında (G3 ve G4) istatistikî olarak anlamlı derecede azalma tespit edilmedi. Ayrıca endojen antioksidan bir enzim olan paraoksanaz düzeylerinde ilaç gruplarında (G3 ve G4) istatistikî olarak anlamlı derecede yükselme saptanmadı. Baziller arterden hazırlanan ince kesitler morfolojik olarak incelendiğinde subaraknoid kanama grubunda (G2) lümeninde ileri derecede daralma ve damar duvarında kalınlaşma olduğu görüldü. Alfa lipoik asit uygulanan grupta (G4) ise damar duvar kalınlığının diğer subaraknoid kanama gruplarından (G2 ve G3) farklı olmadığı, ancak lümen çapının neredeyse normale döndüğü belirlendi.

Sonuç: Elde edilen bu bulgular alfa lipoik asidin malondialdehid ile ilişkili lipid peroksidasyonunu önleyici veya paraoksanaz ile ilişkili antioksidan etkinliğinin olmadığını, damar duvar kalınlığı üzerinde etkisi olmadığını, buna karşın lümen çapının artmasını sağlayarak kısmen de olsa serebral vazospazm'da etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alfa lipoik asit (ALA), Subaraknoid Kanama (SAK), Serebral vasküler spazm (SVS).

ABSTRACT

Ocak H., the effects of alpha-lipoic acid on the development of the vasospasm of experimental subarachnoid hemorrhage model, Zonguldak Karaelmas University Faculty of Medicine, thesis of brain and nerve surgery. Zonguldak, 2010.

Purpose: To investigate the protective effects of alpha-lipoic acid against cerebral vasospasm by creating an experimental rat model of subarachnoid hemorrhage and making biochemical and histomorphologic researches on these models.

Methods: In this study, four groups and 7 wistar albino rats in each groups investigated. G1: not implemented any initiatives; G2: subarachnoid hemorrhage was created; G3: Subarachnoid hemorrhage was created and saline was given (100 mg/kg); G4: subarachnoid hemorrhage was created and alpha-lipoic acid was given (100 mg/kg). Subarachnoid hemorrhage was created by injecting 0,15cc of autologous blood taken from the rat tail artery, to cisterna magna from craniocervical junction. Drugs are administered intraperitoneally as a single dose daily and twice totally. Rats were sacrificed at the end of 48 hours.

Findings: No statistically significant decrease observed on malondialdehyde levels; which is the end product of lipid peroxidation; against the drug groups (G3 and G4). Also, there were no statistically increase on paraoxanase levels; "which is an endogenous antioxidant enzyme"; among the drug groups (G3 and G4). Thin sections prepared from the basilar artery were examined morphologically and severe lumen narrowing and vessel wall thickening was observed in the subarachnoid hemorrhage groups (G2). In alpha-lipoic acid applied group (G4), it is determined that vessel wall thickness was not differ from the other subarachnoid hemorrhage groups (G3 and G4) the lumen diameter was changed to be almost back to normal.

Result: These findings suggest that alpha-lipoic acid has no effect on malondialdehyde associated lipid peroxidation activity, and has no effect on vessel wall thickening whereas.

Keywords: Alpha lipoic acid (ALA), Subarachnoid hemorrhage (SAH), Cerebral vascular Spasm (CVS).

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	viii
TABLO DİZİNİ	x
ŞEKİL DİZİNİ	xi
RESİM DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	1
2.1. Vazospazm Hakkında Genel Bilgiler	4
2.1.1. Vazospazmın Patogenezi	5
2.1.2. Vazospazm Oluşumunda Rol Oynayan Sistem ve Maddeler	8
2.1.3. Vazospazm Tipleri.....	9
2.1.4. Vazospazmı Tanımlama ve Saptamanın Metodları.....	10
2.2.1. Klinik Seyir ve Prognoz	11
2.3. İnceleme Yöntemleri.....	13
2.4. Klinik Derecelendirme	15
2.5. Diğer Komplikasyonlar.....	16
2.6. Vazospazm Tedavisi	17
2.7. Subaraknoid Kanamanın Deneysel Modelleri	19
2.8. Alfa Lipoik Asit	21
2.8.1. Lipoik Asit Hakkında Genel Bilgiler	21
2.8.2. Lipoik Asitin Yapısı ve Kaynakları.....	22
2.8.3. Lipoik Asitin Fonksiyonları.....	23
2.8.4. Lipoik Asidin Etki Mekanizması	24
2.8.5. Lipoik Asidin Antioksidan Aktivitesi.....	27
2.8.6. Lipoik Asidin Klinikte Kullanımı.....	30
2.8.7. Lipoik Asidin Dozu ve Yan Etkileri.....	32
2.9. Malondialdehit (MDA) ve Paraoksonaz (PON).....	33

3. MATERYAL VE METOD	34
3.1. Anestezi	34
3.2. Deney	34
3.3. Deney Grupları	34
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme	37
3.5. Histopatolojik ve Morfometrik Değerlendirme	37
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	38
4. BULGULAR	39
4.1. Biyokimya Sonuçları	39
4.2. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları	41
4.3. Morfometrik Sonuçlar	44
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ	52
7. KAYNAKLAR	53
8. EKLER	67
Ek 1: Etik Kurul Onayı	67

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AIDS	: Kazanılmış immün yetmezlik sendromu
ALA	: Alfalipoik Asit
AMP	: Adenozin monofosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
AVM	: Arteriovenöz malformasyon
AE	: Aril esteraz
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
BT	: Bilgisayarlı tomografi
Ca	: Kalsiyum
DM	: Diabetes Mellitus
DHLA	: Dihidrolipoik asit
DNA	: Deoksi ribonükleik asit
EDRF	: Endotelyel türevli relakson faktör
Fe⁺²	: Ferro demir
Fe⁺³	: Ferri demir
GCS	: Glasgow koma skoru
GİD	: Geçici iskemik defisit
GSSG	: Okside glutatyon
GSH	: Redükte glutatyon
H&E	: Hemotoksilen-eosin
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HOCL	: Hipoklorik asit
KoQ₁₀	: Koenzim Q10
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LP	: Lomber ponksiyon
MDA	: Malonildialdehid
Mg²⁺	: Magnezyum
MRG	: Manyetik Resonans Görüntüleme
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid

Na-K ATPaz	: Sodyum-Potasyum adenin trifosfataz
NAS	: N-Asetilsistein
NMDA	: N-metil-D Aspartat
NO	: Nitrik oksit
O²⁻	: Süperoksit anyon radikali
OH -	: Hidroksil radikali
PON	: Paraoksanaz
PG	: Prostaglandin
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SAK	: Subaraknoid kanama
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences Program
SSS	: Santral sinir sistemi
SVS	: Serebral vasküler spazm
TBA	: Tiobarbitürik asit
TDK	: Transkranial doppler
WFNS	: Dünya nöroşirürjiyenler Federasyonu SAK grade'lendirmesi

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: Fisher sınıflama sistemi (BT'deki kan miktarı).....	6
Tablo 2. Vazospazmda damar duvarındaki patolojik değişiklikler.....	8
Tablo 3. Botterel SAK sınıflandırması.....	15
Tablo 4. Hunt ve Hess sınıflaması	15
Tablo 5. Yaşargil sınıflandırması.....	16
Tablo 6: WFNS Sınıflaması (Dünya Nöroşirurji Federasyonu Derecelendirmesi).....	16
Tablo 7: Alfa Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asitin Nötralize Ettikleri Radikaller.	24
Tablo 8: Gruplarda MDA, HDL, PON değişikliklerinin medyan (minimum- maksimum) ve Standart Sapma (SS) değerlendirilmesi.	39
Tablo 9: Gruplar arasındaki Baziller arter duvar kalınlığı ve lümen çapı arasındaki morfolojik dağılım.	44

ŞEKİL DİZİNİ

Sekil

Sayfa

Şekil 1: Anevrizma oluşumundaki patolojik değişiklikler	3
Şekil 2: Subaraknoid kanama sonrası görülen vazospazmın zamansal gidişi.....	5
Şekil 3: Antioksidan rejenerasyon yolu.	24
Şekil 4: Lipoik asit hücrel glutatyon (GSH) düzeylerini yükseltir.	26
Şekil 5: R-Lipoik asit ve dihidrolipoik asidin antioksidan etkisi	28
Şekil 6. Sistein biyoyararlanımında artma ile hücrel glutatyon biyosentezinin lipoata bağılı düzenlenmesinde ve α -lipoik asidin dihidrolipoik aside biyoredüksiyonu için hücrel yollar.....	28
Şekil 7: Dihidrolipoik Asit-Lipoik Asit redoks çiftinin etkileri.....	29
Şekil 8a: Gruplarda MDA düzeylerindeki değişiklikler.	40
Şekil 8b: Gruplarda PON düzeylerindeki değişiklikler.	40
Şekil 8c: Gruplarda HDL düzeylerindeki değişiklikler.	41
Şekil 9a: Gruplar arasındaki duvar kalınlığının morfolojik dağılımı.....	45
Şekil 9b: Gruplar arasındaki lümen çaplarının morfolojik dağılımı.	45

RESİM DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Resim 1: Rat kuyruk arterinden otolog kan alınması.....	36
Resim 2: Rat'ın atlantookspital mebranı ortaya konup ponksiyone edilerek otolog kanın sisterna magna içine verilmesi.	36
Resim 3: G1 grubunda normal baziler arterin mikroskopik görünümü (H&E; X200). ..	42
Resim 4: SAK grubunda (G2) baziler arter duvar kalınlığının arttığı ve lümenin daraldığını (içteki resimde daha belirgin olarak) gösteren mikroskobik görünüm (H&E; X200).	42
Resim 5: SAK+SF grubunda (G3) baziler arter duvar kalınlığının arttığı ve lümenin daraldığını gösteren mikroskopik görünüm (H&E; X200).	43
Resim 6: SAK+ALA grubunda (G4) baziler arter lümen çapının belirgin olarak arttığı gösteren mikroskopik görünüm (H&E; X200).....	43

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Subaraknoid kanama (SAK) sonrası gelişen fokal serebral iskeminin başlıca nedeni serebral vazospazmdır. Morbiditesi ve mortalitesi yüksek olan bu durumun halen etkin bir medikal tedavisi yoktur (1). Serebral vazospazmın fizyopatolojisi kesin olmamakla birlikte, subaraknoid mesafeye ulaşan kanın serebral vazospazmın gelişmesine neden olduğu konusunda şüphe yoktur (77, 84).

Alfa lipoik asidin (ALA) diyabet, iskemik reperfüzyon hasarı, katarakt oluşumu, HIV aktivasyonu, sinir rejenerasyonu ve radyasyon hasarı gibi oksidatif hasar modellerinin bir kısmında etkinliği gösterilmiştir (112, 113).

Çalışmamızda günümüzde en sık kullanılan deneysel subaraknoid kanama modellerinden biri olan ratlarda otolog kanın sisterna magnaya intrasisternal enjekte edilmesi yolu ile subaraknoid kanama oluşturuldu (99, 109). Güçlü bir antioksidan olan ALA'nın subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazm üzerine olası etkinliğini, biyokimyasal veriler ve rat baziler arterlerinin histomorfometrik analizi yöntemi ile göstermek amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Spontan subaraknoid kanama dramatik ve sıklıkla ölümcül bir klinik tablodur (1). Spontan subaraknoid kanama bir arter veya venin yırtılması sonucu kanın doğrudan subaraknoid mesafeye geçmesidir. Bu primer kanamadır. Bunları sekonder kanama olarak ifade edilen diğer subaraknoid aralığa olan kanamalar karıştırılmamalıdır.

Sekonder kanama nedenleri;

1. Subdural aralıkta bir effüzyon araknoid zarı delebilir ve subaraknoid aralığa sızabilir.
2. Hemisferin yüzeyel bölümlerinde bir kanama piamateri yırtarak subaraknoid aralığa girebilir.
3. Derin bir intraserebral kanama ventriküllerden birine yırtılır ve buradan kan subaraknoid aralığa ulaşabilir (2).

Subaraknoid kanama her yaşta görülebilir. Batı ülkelerindeki insidansı, yaş, cins, coğrafik bölgelere göre farklılıklar gösterir. Görünüm sıklığı hakkında kesin bir değer vermek zordur. Değişik ülke ve kaynaklara göre epidemiyolojik olarak sıklığı 8/100.000 yıl ile 22-24/100.000/yıl arasında olup özellikle Kuzey Amerika'da bu oran 11/100.000 yıl olarak tespit edilmektedir (3).

Subaraknoid kanamalı olguların en önde gelen nedeni intrakranial anevrizmalar olup, toplumun % 2'sinde mevcuttur. Rüptüre olan anevrizmalar bu grubun % 1'inden azında söz konusu olup, subaraknoid kanama insidansında değişiklik olmadığı, ancak trombotik ve embolik inme tiplerinde bir düşüş olduğu, intraserebral hematomlarda ise çok hafif bir düşmenin olduğu gösterilmiştir (4, 5).

Anevrizma rüptürüne bağlı olmayan subaraknoid kanamada prognoz daha iyi olup, yeniden kanama riski düşüktür. Ayrıca geç serebral iskemide enderdir(5). Anevrizma rüptürüne bağlı olmayan subaraknoid kanama'da(SAK) vazospazm, iskemik inme ya da yeni bir kanamayı önlemek amacı ile yoğun bir tedaviye gerek yoktur (6).

Subaraknoid kanamalar genellikle yetişkinlerde görülür ve 40-60 yaş grubunda sıktır. Subaraknoid kanama nedeni olarak arteriyo venöz malformasyonlar (AVM) ilk 10 yaş grubunda birinci sırada iken, ilerliyen dekatlarda anevrizmalar ilk sıraya geçerler. 20-70 yaş grubunda spontan

subaraknoid kanamaların en önemli nedeni, anevrizmalar olup 40-50 yaş grubunda en yüksek değere ulaşırlar (6). Bu yaş grubunda anevrizmalar subaraknoid kanama nedeni olarak hipertansif arteriosklerotik kanamalardan iki misli, arteriyo venöz malformasyonlar (AVM) kanamalarından 25 misli fazladır. 70 yaşın üstünde belirgin neden arteriosklerozdur. Görünüm oranı olarak kadın ve erkek cinsleri arasında anlamlı bir fark yoktur, 20 yaş altında kadınlarda, 70 yaşın üstünde ise erkeklerde kanama daha sıktır. Kadın erkek oranı: 3/2 dir (6).

İntrakranial sakküler anevrizma rüptürüne bağlı subaraknoid kanama olgularında, erken tanı, modern tıbbi ve cerrahi yaklaşımlara karşın, morbidite ve mortalite yüksektir (1). Morbidite ve mortalitede sıklıkla etken olan faktörler, başlangıçtaki kanamanın şiddeti, serebral vazospazm, yeniden kanama ve cerrahi komplikasyonlardır (7, 8).

Hastaların kanama sonrası hastaneye başvuru zamanları ve kanama anındaki bilinç düzeyleri önemlidir (9). Yapılan çalışmalarda veriler değişmekle beraber, kanama sonrası 1.ayda mortalite oranı % 50 değerine ulaşmaktadır (10, 11). Bu hastaların prognozu; SAK evresi, yaş ve klinik vazospazm ile ilişkilidir. Ölümünün çoğu ilk hafta da olmakta, ölümlerin % 10'u kanama anında, % 25'i ilk 24 saat içinde kaybedilmektedir (1-27). Ani ölümler geniş intrakranial hematoma, beyin dokusunun destrüksiyonu akut hidrosefali, artmış kranium içi basınç (ICP), miyokard iskemisi, kalp aritmileri ya da akut solunum yetmezliği sonucudur (12, 13). Kanama sonrası ilk 3 aylık dönem ele alındığında, olguların yaklaşık yarısı kaybedilmekte, yaşayan grubun yarısı ağır morbidite göstermekte ve bu grubun 2/3'ü başarılı bir cerrahi girişim geçirmiş olmalarına rağmen kanama öncesi yaşam kalitesine erişememektedir (14).

Anevrizmanın yerleşim yeri ve boyutu prognozda büyük ölçüde önem göstermektedir. 65 yaş üstü olgularda prognoz genç gruba göre daha kötüdür (15). Başlangıçta çekilmiş olan BT sonuçları prognoz için bilgi verir.

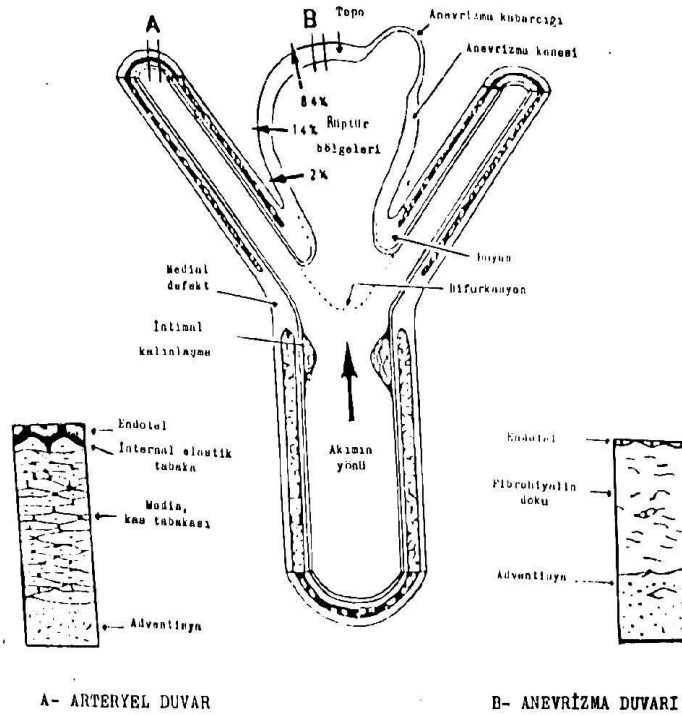
Genelde BBT sonuçları hastanın kliniği ile paralel olup, tomografilerde hidrosefali, kitle etkisi yapan kanama, intraserebral hematoma, intraventriküler kanama veya yaygın subaraknoid kanama bulguları taşıyan olgularda prognoz normal veya lokal subaraknoid kanama bulgusu taşıyanlara oranla kötüdür (15). Beyin dokusunda kollateral dolaşımda normalde basınç sıfırdır. Yaşlılarda skleroz

sebebi ile bu bağlantılar tam çalışmayabilir. Yaşlılarda tek karotis ligasyonu gençlere nazaran daha fazla nörolojik belirti verir, bazen iki karotid arterin tıkanmasında bile beynin total kan akımının değişmediği görülür. Beyne oksijen sağlayan yegâne faktör kan basıncı değildir. Serebral kan akımı 100 gr beynin bir dakikada, aldığı kan miktarı olarak ml cinsinden hesaplanır. Serebral kan akımı, kanı damara iten güç ve karşılaştığı direnç neticesi değişir. Serebral dolaşıma etkileyen faktörler arasında venöz basınç değişikliği de önemlidir.

Vasküler direnci etkileyen faktörler;

- Damarların fonksiyonel tonüsleri
- Duvarlarının yapısı
- Duvarın çapı
- Artmış kranium içi basınç (ICP),nin damar duvarına yansımaları
- Kan viskozitesi

Serebral kan akımı kan basıncının serbrovasküler dirence bölümüne eşittir. Serebral dolaşım hakkındaki bilgilerimizin çoğunu Kety ve Somidt'in Nitrozdioksit Metodunu buluşlarıyla öğrendik (16).



Şekil 1: Anevrizma oluşumundaki patolojik değişiklikler (17).

Bir anevrizmanın oluşumunda arter duvarında bir zayıflık ve bu zayıf noktayı iterek genişlemeye yol açan dinamik bir güç gerekir. Arter duvarında media tabakasındaki defekt bölgesinde kan basıncının ve türbülansının artışı ile zamanla internal elastik laminada dejenerasyon başlar. İntima tabakası damar duvarı içine doğru herniye olur ve lezyon giderek büyür. Büyüme devam ederken damar içi basıncın ve rejenerasyon olayının etkisi ile anevrizma duvarında kalın ve ince sahalar gelişir. Kan basıncındaki bir artışla ya da yıllar süren damar içi basıncın sürekli etkisi ile anevrizma duvarındaki bu ince sahalar basınca dayanamaz ve yırtılır (16). Şekil 1’de anevrizma oluşumundaki patolojik değişiklikler diagram halinde gösterilmektedir (17).

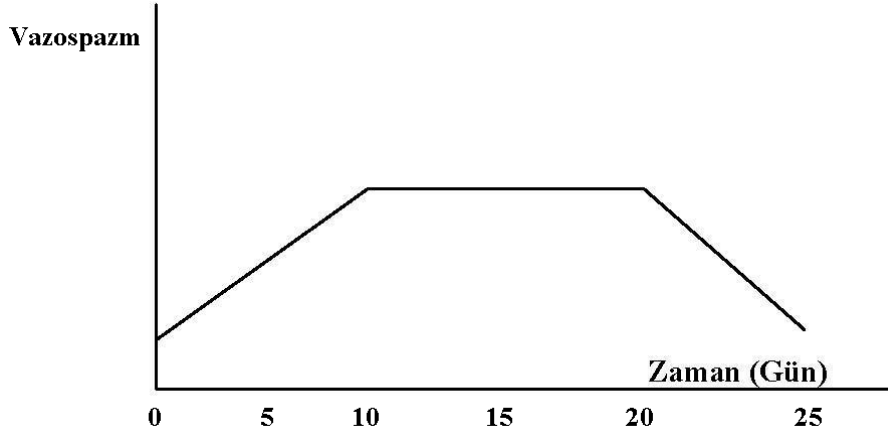
Media tabakasındaki defekt çoğunlukla büyük serebral arterlerin bifürkasyon yada yandal çıkış bölgelerinde olduğu için anevrizmalar genellikle büyük arterlerin bifürkasyon ya da dal ayırım bölgelerinde bulunurlar (18, 19).

Görüldüğü gibi sakküler anevrizmalaların oluşumunda konjenital ve sonradan oluşan dejeneratif değişiklikler birlikte rol oynamaktadırlar. Altta yatan konjenital defektin varlığını vurgulamak için sakküler anevrizmalara konjenital anevrizmalarda denebilir. İkiz kardeş olgularında aynı bölgelerde anevrizmaların saptanması anevrizma formasyonunda herediter faktörlerinde varlığını desteklemiştir. Ayrıca intrakranial anevrizmalar sık olarak polikistik böbrek, AVM, moyamoya hastalığı, Ehler-Danlos sendromu, aort koarktasyonu ve fibromusküler displazi gibi başka konjenital malformasyonlarla da beraber bulunabilirler (19).

2.1. Vazospazm Hakkında Genel Bilgiler

Serebral vasküler spazm (SVS), beyin vasküler ağacının daralması olarak tanımlanabilir (26). Kanama sonrası mortalite ve morbiditenin en önde gelen nedeni serebral vazospazmıdır. SVS (serebro vasküler spazm) hakkındaki ilk bilgilerimiz Peabody’nin 1891 yılındaki çalışmalarına dayanır. Peabody spazmı damar düz kaslarının spazmotik kontraksiyonu şeklinde tarif etmiştir (26). SVS genel olarak anevrizma rüptürüne bağlı subaraknoid kanama sonrası meydana gelir. Fakat ciddi kafa travmasında % 5–10 oranında, meningeal enfeksiyon ve diğer serebrovasküler hastalıklarda da görülebilir (26, 27). Serebral vazospazmın patogenezi net olarak

anlaşılmamıştır. Deney hayvanlarında subaraknoid otolog kan enjeksiyonundan çok kısa süre sonra SVS görülmesine karşılık insanlarda SAK'dan sonraki ilk üç gün içinde çok nadir olarak spazm görülür. Genellikle spazm 3. gün başlar, 6-10. günde maksimal düzeye ulaşır. 3-10. gün arasında % 41, 10.günden sonra % 25, bir ay sonra % 6- 7 oranında SVS saptanmıştır (Şekil 2) (20-25).



Şekil 2: Subaraknoid kanama sonrası görülen vazospazmın zamansal gidişi.

Serebral vazospazm klinik olarak SAK sonrası dördüncü günde başlar, yedi-sekizinci günler arasında en yüksek düzeyine çıkar ve şiddeti azalarak ikinci haftanın sonuna doğru düzelir. Klinik tablo majör ve minör bulgular olmak üzere ikiye ayrılır.

1. Majör bulgular: Bilincin kötüleşmesi, motor defisit ya da afazi gibi hemisferik belirti ve ulgularının (majör)ortaya çıkması doğrudan vazosapazmın gelişimini düşündürür.

2. Mimör bulgular: Baş ağrısında artma, subfebril ateş gibi bulgular (minör)varlığında ise serebral vazospazmdan kuşkulımalı ve hasta yakından izlenilmelidir.

2.1.1. Vazospazmın Patogenezi

Subaraknoid kanama sonrası gelişen fokal serebral iskeminin başlıca nedeni serebral vazospazmdır. Klinik olarak diğer iskemik inmelere farkı, ortaya çıkmasının öngörülebilirliği, önlenilebilirliği ve tedavi edilebilirliğidir (28).

Anevrizma kanamasından sonra gelişen en korkutucu komplikasyon tekrar eden kanamayken, erken cerrahinin yaygın olarak uygulanıyor olması sayesinde bu sorunun önemi azalmış ve vazospazm, subaraknoid kanamanın mortalite ve morbidite açısından en riskli komplikasyonu haline gelmiştir.

Vazospazm söz edildiğinde anjiyografik ve klinik vazospazmı ayırmak gerekir. Aşağıda tarafımızca değinildiği gibi, anjiyografik vazospazm radyolojik olarak serebral damar çapında meydana gelen daralmayı ifade eder. Klinik vazospazm ise son yıllarda daha çok tercih edilen terim olan geç iskemik defisit (GİD) eş anlamlı olarak kullanılır ve serebral damarların ilerleyici daralmasıyla birlikte gelişen iskemik belirti ve bulguların oluşturduğu sendromu tanımlar (28).

Serebral vazospazmın fizyopatolojisi kesin olmamakla birlikte subaraknoid mesafeye ulaşan kanın serebral vazospazmın gelişmesine neden olduğu konusunda kuşku yoktur. Deneysel çalışmalarda subaraknoid mesafeye enjekte edilen kanın vazospazma neden olduğu gösterilmiştir (28,38). Klinik çalışmalarda da anevrizma kanamasından hemen sonra elde edilen BT kesitlerinde saptanan kan miktarının, GİD gelişiminin en önemli göstergesi olduğu gösterilmiştir (28, 30).

Fisher ve ark. BT deki kan miktarını derecelendirmiş ve artan dereceler ölçüsünde vazospazm gelişme riskinin de arttığını ortaya koymuştur (28).

Tablo 1: Fisher sınıflama sistemi (BT'deki kan miktarı)

Grade 1: Saptanabilen subaraknoid kan yok
Grade 2: 1 mm kalınlıktan daha ince diffüz yada vertikal tabakalar
Grade 3: 1 mm pıhtı ve/veya —1 mm vertikal tabaka
Grade 4: Diffüz SAK ile ya da SAK olmaksızın intraserebral vaye intraventriküler pıhtı

(Not: Vertikal tabaka interhemisferik fisür, insular sisterna, ambient sisternayı içeren vertikal, subaraknoid mesafeler içindeki kanı ifade eder).

Subaraknoid mesafeye ulaşan eritrositlerin hemolizi sonucu vazoaktif maddeler salınır. İn vitro ve in vivo çalışmalar bu maddeler arasında vazospazm gelişimindeki ana sorumlunun oksihemoglobin olduğunu göstermiştir. Oksihemoglobinin hangi mekanizmayla damar düz kasında kasılmaya neden olduğu kesin değildir.

Olasılıkla birden fazla mekanizmayla etki etmektedir. Oksihemoglobin endotelial hücrelerden vazokonstriktör prostoglandinlerin salgılanmasına neden olur (26, 33, 37).

Araşidonik asit metabolizmasının ürünlerinden olan vazoaaktif prostoglandinlerden PGF2- α , PGD2, PGE2 ve tromboxan A2 nin vazospazmda arttığı çeşitli deneysel modellerde gösterilmiştir (27, 31, 32). Serebral vazospazmın etyolojisinde serbest radikallerin etkisi de deneysel ve klinik çalışmalarda araştırılmıştır. Oksihemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu sırasında superoksit anion radikali (O_2^-) ortaya çıkmaktadır. Buna ek olarak hemoglobinin yıkımı sırasında ortama yayılan demir birleşikleri Haber-Weiss reaksiyonunu katalize ederek en reaktif radikallerden hidroksil radikalinin (OH) ortaya çıkmasına neden olur. Serbest radikaller doymamış radikallerin peroksidasyonuna neden olarak lipid peroksidasyonuna neden olarak lipid peroksidasyonu zincirini başlatırlar ve bu da yukarıda söz edilen vazoaaktif prostoglandinlerin üretilmesine neden olurlar. SAK geçirmiş hastaların BOS incelemelerinde saptanan lipid peroksit düzeylerinin vazospazm ağırlığı ile uyumlu olduğu gösterilmiştir (29, 34, 36).

Sano ve arkadaşları intrasisternal enjekte edilen lipid hidroperoksidin vazospazma yol açtığını ortaya koymuşlardır (35). Serebral damarların tonusu büyük ölçüde vasküler endotelium tarafından düzenlenir. Bu, endotel kaynaklı gevşemeye yol açan faktör (Nitrik Oksit) ve endotel kaynaklı kasılmaya yol açan faktör (Endotelin) arasındaki dengeyle sağlanır. Oksihemoglobin doğrudan nitrik okside bağlanarak ya da oluşumuna neden olduğu superoksitanion radikalının nitrik oksidi ortadan kaldırmasıyla vasküler tonusu vazokonstriksiyon yönünde etkiler. Bununla birlikte endotel hücrelerinden Endotelin salınmasında uyararak vazospazmı her iki yoldan tetikler. Yukarıda kısaca özetlenen faktörlerin etkisi ile damar düz kaslarının uzun süreli kasılması vazospazma neden olur. Bu uzun süreli kontraksiyona ikincil olarak damarda hipertrofi, hiperplazi ve fibroze de yol açar (Tablo 2) (36).

Tablo 2. Vazospazmı damar duvarındaki patolojik değişiklikler.

ZAMAN	DAMAR TABAKASI	PATALOJİK DEĞİŞİKLİKLER
1-8 günler	adventisya	Artmış enflamatuvar hücreler (lenfositler, plazma hücreleri, mast hücreler) ve konnektif doku
	media	Kas nekrozu ve elastika gevşeklięi
	intima	Endptelyal şişme ve vakolizasyon ile birlikte kalınlaşma, inter endotelyal gergin bileşkelerin açılması
9-60. günler	intima	Düz kas hücrelerinin poliferasyonu → ilerleyici intimal kalınlaşma

2.1.2. Vazospazm Oluşumunda Rol Oynayan Sistem ve Maddeler

Vazospazm için ileri sürülen mekanizmaları başlıklar halinde sıralayacak olursak;

1. Aşağıdakilerin sonucu olarak damar duvarı mediasındaki düz kasın kontraksiyonu;

a) Hemorajik arteryel kan içindeki vazookonstriktörler (41).

b) BOS içine serbestlenen vazoaktif maddeler (39-40).

c) Nervi Vazorum (Damar duvarı içindeki sinirler) yolu ile nöronal mekanizmalar

-Artmış vazokonstriktör tonus (olasılıkla denervasyon süpersensitivitesine bağlı)

-Vazodilatör tonus kaybı

-Vazodilatör innervasyon karşısında vazokonstriktörü baskın kılan zaman bağımlı nispi dengesizlik(42).

d) Endotelyal türevli relaksan faktör (EDRF) etkilenmesi: Vasküler endotelyum, EDRF diye adlandırılan bir relaksan madde serbestleyerek pek çok farmakolojik ajan tarafından neden olunan vazodilatasyonda zorunlu bir rol oynar(43).

2. Proliferatif vaskülopati

3. İmmünoreaktif süreç

4. Enflamatuvar süreç

5. Mekanik faktörler

- a) Araknoid liflerin gerilmesi
- b) Kan pıhtısıyla doğrudan kompresyon
- c) Trombosit agregasyonu (32).

Vazospazm patogeneğinde sözü edilen kan komponentleri (44).

1. Oksihemoglobin
2. Demir
3. Nor-epinefrin
4. Prostaglandinler örnek: PGF2-alpha, PGD2, PGE2 ve tromboxan A2
5. Serbest radikaller (41).

2.1.3. Vazospazm Tipleri

1. Klinik vazospazm
2. Radyografik vazospazm

1. Klinik vazospazm: Serebral arteriyel vazospazm fokal, segmental, diffüz, semptomatik veya asemptomatik olabilir. Geç fokal ya da diffüz iskemik nörolojik defisitler serebral arteriyel vazospazm ile birlikte gider. Vazospazm, genellikle SAK takiben 3. günden sonra gelişmeye başlar ve 4. İle 12. Günler arasında gelişme olasılığı ve şiddeti artar.

Vazospazm bilinen semptomları saatler, günler boyunca yavaş olarak gelişir. Şiddetlenen baş ağrısı, bilinçte bulanıklık, artan meningismus, düşük derecede ateş ve fokal nörolojik bulgular vazospazmın semptomlarıdır. Anterior serebral arter (ASA) dağılımında, orta serebral arter (MCA) dağılımında olduğundan daha yüksek vazospazm insidansı vardır. Belirtiler genellikle kademeli ortaya çıkar.

2. Radyografik vazospazm: Serebral anjiyografi ile belirlenen çoğunlukla kontrast doluşunun yavaşlaması ile gösterilen bir bulgudur. Daralma arteriyel düz kasın kontraksiyonuna damar duvarındaki morfolojik değişikliklere sekonderdir (45).

Tanı, aynı damar ya da damarları normal ölçüde gösteren önceki veya izleyen anjiyogramlar ile kuvvetlendirilir.

Anjiyografik olarak yalnızca büyük arterler gösterebildiği için tanı damarların daralması ile sınırlıdır (45). Bu geç iskemik nörolojik defisit, anjiyogramda görülen vazospazmın gölgesi ile uyumlu olduğundan semptomatik vazospazm olarak isimlendirilir.

Radyografik serebral vazospazm, subaraknoid hemoraji sonrası 7. gün civarında gerçekleştirilen arteriyogramların % 30-70'inde tespit edilir. Halbu ki, semptomatik serebral vazospazm subaraknoid hemorajili hastaların sadece % 20-30'unda görülür (46).

Anjiyografik vazospazm, geçikmiş iskemik vazospazmdan yaklaşık iki kat fazla görülür. Bunun nedeni büyük olasılıkla serebral otoregülatör mekanizmaların kişiler arasında farklılık göstermesidir. Radyografik SVS, klinik defisit olmadan ortaya çıkabilir veya bunun terside olabilir. Klinik SVS, hemen daima SAK sonrası 12. güne kadar düzelir. Radyografik SVS gösterildiğinde, genellikle 3-4. hafta içinde yavaş bir şekilde düzelir. Bazı hastalar vazospazmın gelişimi için yüksek risk taşırlar. Bunlar arasında; skoru düşük hastalar, meninks irritasyonu şiddetli olan olgular, bilgisayarlı tomografide şiddetli subaraknoid kanama gösterenler ile erken dönemde kortikal boyanma gösterenler sayılabilir (7, 9).

2.1.4. Vazospazmı Tanımlama ve Saptamanın Metodları

Nörolojik defisitler vazospastik arterlerle ilgili. Ancak serebral anjiyografi transkranyal doppler ve klinik iskemi arasındaki korelasyon tam anlamıyla açık değildir. SVS'ın kesin tanısı anjiyografi ile konulur (47, 48). Bunun yanında bilgisayarlı beyin tomografisi (BBT), transkranyal doppler (TDK) de kullanılır. TDK gösterilen kan akım hızı, intrakranial nabız dalgasındaki değişiklikler vazospazmın saptanmasında kullanılabilir (49, 50).

Serebral vazospazmın görülme sıklığı literatürde farklılık göstermektedir. Bu durum hastayı kabul eden hastanenin özelliğine (acil hastaları kabul eden ya da geç refere hastalar yatıran), tanı ve tedavi protokollerindeki (erken ya da geç cerrahi uygulanması, anjiyografinin yapıldığı zamanı, transkraniyel doppler kullanımı gibi faktörler) farklılıklara bağlıdır. Dorsch yaptığı literatür araştırmasında, 187 kaynakta 2. haftada anjiyografi yapıldığında hastaların %67 sinde serebral

vazospazm saptandığını, 297 kaynakta ise toplam 32188 SAK hastasından 10145'inde (%32) geç iskemik defisit geliştiğini belirtmiştir (50). SAK sonrası ilk üç gün içinde hastaneye kabul edilen 3521 hastayı içeren prospektif bir çalışmada vazospazm sonucunda %7.2 hasta da ölüm, %6.3 hastada sakatlık gelişmiştir (3).

2.2.1. Klinik Seyir ve Prognoz

Anevrizma yırtılması sonucu kan, subaraknoid aralığa, ventriküllere, beyin dokusu içine veya subdural aralığa geçebilir.

Bir anevrizma yırtılması sonucu subaraknoidal aralığa hızla geçen kanın şiddetine göre, ağır ve ani bir klinik tablo ile mortalite riski artar. Olguların çoğunda anevrizma yırtılması sonucu kanama saniyeler içinde belirli bir süre devam eder ve durur. Bu duruş rüptür yerinde fibrin tıkaç ve anevrizmayı taşıyan damar bölgesinde vazospazm sonucu olur. Daha sonra SAK seyrinde iyi ve kötü yönde olasılıklar gelişebilir. Bunlar;

- 1-** Yırtılan anevrizma duvarı fibroze uğrar. Bu arada BOS içine karışan kan rezorbe olur ve hasta iyileşir.
- 2-** Kanamayı durduran fibrin tıkaç ve vazospazm geri dönebilir ve yeniden kanama olabilir. Yeniden kanama kliniği ağırlaştırır ve mortalite oranını artırır.
- 3-** Vazospazm ciddi derecede olabilir. Böylece serebral dokuda ilgili damar alanında enfarkt gelişir. Bilinç bozulabilir, fokal nörolojik bulgular artar.
- 4-** Sisterna duvarlarındaki yapışıklıklar yüzünden BOS ve kanın rezorbsiyonu engellenir ve ventriküller giderek dilate olur, kommunikan hidrosefali gelişir ve bunun sonucunda hastanın kliniği bozulur (18).

Anevrizma rüptürünün fizyopatolojisi kesin aydınlatılmış değildir. Anevrizma rüptürü sonrası subaraknoid aralığa geçen kan intakraniyal basıncın artmasına yol açar. Bu durum ise serebral perfüzyon basıncından ve ona bağlı olarak serebral kan akımında azalmaya neden olur. Subaraknoid kanama ve sonrası görülen bilinç de işikliği global serebral iskemiye bağlı olduğu düşünülür (19, 52).

Anevrizma rüptürüne bağlı SAK'lı olgularda olay anında görülen hipertansiyon serebral iskemiye bağlı otonomik kontrol mekanizmaların tırawması sonucu olabilir. Anevrizma kesesinin genişlemesine yol açan transmural basınç,

ortalama arter basıncı ile basınçta ani veya devamlılık gösteren yükselmeler, ya da kranyum içi basınçta azalmalar kesenin gerilmesi ve sonuçta rüptür yada yeniden kanamaya yol açabilir. Kanama sonrası serebral hemodinami iki farklı yönde gidiş gösterir; Birinci olasılık; kranyum içi basınç arteriyel diastolik basınç değerine dek ulaşır ve bu durum serebral kan akımından sıfıra değin azalmaya yol açar.

Daha sonra bunu kranyum içi basınçta giderek azalma ve serebral kan akımında yükselme takip eder. Hastaların kanama sonrası değişik bilinç düzeylerinde yaşantılarına devam etmesi bu şekilde açıklanabilir.

Birinci olasılık; Kranyum içi basınç arteriyel diastolik basınç değerine dek ulaşır ve bu durum serebral kan akımından sıfıra değin azalmaya yol açar. Daha sonra bunu kafa içi basınçta giderek azalma ve serebral kan akımında yükselme takip eder. Hastaların kanama sonrası değişik bilinç düzeylerinde yaşantılarına devam etmesi bu şekilde açıklanabilir.

İkinci olasılık; Kranyum içi basıncın devamlı yüksek gidişi ile serebral kan akımında ve fonksiyonel aktivitede yetersizlik olması durumudur. Kranyum içi basıncın devamlı akımında ve fonksiyonel aktivitede yetersizlik olması durumudur. Kranyum içi basıncın devamlı yüksekliği sisternalarda oluşan trombüs tıkaçı ile beyin omurilik sıvısının dinamiğinde bozulmaya bağlıdır.

Kan akımında yetersizlik (No flow pattern) akut vazospazm ve kapiller endotelyum, nöronal hücreler, perivasküler astrositlerin şişmesi ile birliktedir (22, 25).

Kısaca; SAK'da prognozu yönlendiren faktörler; kanamanın yeri ve miktarı, eşlik eden vazospazm, akut hidrocefali ve hastanın klinik tablosudur. Anevrizma rüptürüne bağlı SAK olguları 3 ay içinde % 50 dolayında mortalite gösterir. Atak sonu 24 saatten önce görülen akut ölüm % 25 oranındadır. Sebep çoğunlukla tolere edilemeyen kanamadır. Geç mortalitenin nedeni çoğunlukla tekrarlayan kanama, serebral enfarkt ve sistemik komplikasyonlardır (18).

SAK'da mortalite oranı 1. hafta % 65, 2. hafta % 12, 3. hafta % 5 ve bundan sonra % 1-6'dır. Uzun süreli izlemelerde ise 1. aydan sonra 10 yıllık sürede tekrar kanama % 1,5-3,5 arasında bundan sonraki sürede % 0.86'dır. Etiyolojisi bilinmeyen SAK olgularında ilk kanamadan sonra hemen kanama enderdir. Prognoz iyidir (51, 52).

2.3. İnceleme Yöntemleri

SAK kuşkusu taşıyan bir hastada başlangıçta yapılması gereken tanıya yönelik incelemeler şunlar olmalıdır. Tam kan sayımı, trombosit sayımı, protrombin zamanı, parsiyel tromboplastin zamanı, kanama zamanı, serum glukozu, kanda üre tayini, Serum kreatinin tayini, Karaciğer fonksiyon testi, idrar tahlili, Akciğer grafisi, Kontrastsız bilgisayar tomografisi, Serebral pananjiografi, Arteriyel kan gazı tayini, Kontrastlı beyin tomografisi, Beyin omurilik incelenmesi, Manyetik Rezonans incelemesi, Transkranial doppler, EKG, EEG vb(53–56).

1- Lomber Ponksiyon: SAK kliniği olan hastalarda BOS incelemesi, BBT'nin kullanım alanına girmesine kadar tek tanı yöntemi olarak kalmıştır. SAK kuşkusu olan veya menenjial irritasyon bulguları gösteren hastalarda BOS incelemesi gerekir. Subaraknoid kanamalı hastada BOS rengi akut dönemde kırmızı, birkaç gün sonra ksantokromik görünümündedir. BOS'da kanın veya ksantokrominin görülmesi tanıyı doğrular. Subaraknoid aralığa geçen kanın hemolize olması ile hemoglobin türevlerinden oksihemoglobin kanamayı izleyen ilk saatlerden itibaren BOS'a karışır. Daha sonra bilirubin de BOS'a geçer.

SAK'lı hastadan alınan hemorajik BOS santrifüj edilecek olursa üstte kalan sıvının ksantokromik olduğu görülür. Travmatik ponksiyonla alınan hemorajik BOS'da ise santrifüj sonrası ksantokromi görülmez.

Ayrıca BOS 3 tüpe alındığında travmatik ponksiyonla renk giderek açılır ve sıvı koagülasyon gösterir, oysa spontan SAK'da sıvı hep aynı renktedir ve koagüle olmaz. BOS'da makroskopik kan 10-14.günlerden ksantokromi ise 20-30.günlerde kaybolur, yeniden kanama durumunda BOS'da tekrar taze kan belirir. Papilla ödemi olan ve intraserebral kanama veya hematoma kuşkusu taşıyan olgularda birkaç damla dışında BOS örneği alınmamalıdır. BOS'un alınması ile subaraknoid aralıkta basınç dinamiklerinin değişmesine bağlı olarak kafa içi basınç dinamikleri de değişime uğrayabilir ve bu durum herniasyona yol açar (57). Özellikle intraserebral hematomu olan olgularda bu durum ciddi tehlikeler doğurabilir (58).

BOS'da kırmızı seri hücreler yanında beyaz seri de artar ve protein değeri yükselir. BOS basıncı artar, glikoz değeri sapmaz.

2- Bilgisayarlı Beyin Tomografi (BBT): SAK'lı hastaların tetkikinde risk taşımayan emin ve hızlı bir yöntemdir. Son yıllarda önem kazanmıştır. Özellikle bilinç bozukluğu ve belirgin nörolojik defisitleri olan hastalarda olası bir intraserebral hematomun LP ile herniye olabileceği düşünüldüğünde BBT bu hastalarda ilk inceleme yöntemi olmaktadır (55, 49, 56, 57).

Şiddetli bir kanamada nöral yapıları çevreleyen subaraknoid aralık ve özellikle bazal sisternalar BBT'de hiperdens bir görünüm alır. BBT'nin pozitif bulgu vermesi subaraknoid aralığa geçen kanın miktarı ile orantılıdır. Hafif kanamalarda ve teknik yönden yetersiz BBT'lerde SAK bulgusu saptanmaz. BBT'nin yetersiz kalabileceği bir başka durumda incelemenin kanamayı izleyen geç dönemde yapılmasıdır (58).

BT'de hiperdens görünüm belirgin olduğu bölge, kanamaya yol açan olası bir anevrizmanın lokalizasyonu hakkında da bilgi sağlayabilir. BBT gelişebilecek komplikasyonların izlenmesinde de önemli veriler sağlar. Yeni bir kanamanın, vazospazmın veya hidrosefalinin gelişip gelişmediği BBT ile izlenebilir (59-62).

3- Serebral Anjiyografi: SAK'da anjiyografi kanamanın en sık nedenleri olan anevrizma ve AVM'lerin belirlenmesinde kesin tanı yöntemidir.

Etyolojinin saptanmasıyla cerrahi endikasyonun kesinleşmesi ancak anjiyografi ile mümkün olur. Anjiyografi ayrıca Vazospazmın ve hidrosefalinin gelişimini, varsa hematomun özelliklerini, multipl anevrizmaları, anevrizmanın boyutu, şekli ve yerini, tümör gibi diğer nedenleri de ortaya koyar (18).

Anjiyografi bu katkıları ile SAK'da vazgeçilmez bir tanı yöntemidir. SAK nedeni merkezlere göre değişmek üzere olguların % 5-10'unda belirlenemez (teknik yetersizlik, vazospazm veya tromboz nedeni ile anevrizmanın dolmaması). Bu nedenle başlangıçta patoloji saptanmamış olgularda 2-3 hafta sonra anjiyografinin yinelenmesi uygun olur (18). SAK nedeni bilinen sistemik bir hastalık ise anjiyografi yapılmaz. Anjiyografinin negatif olduğu durumlarda diğer SAK nedenlerine yönelik araştırmalar derinleştirilir.

2.4. Klinik Derecelendirme

SAK'da hastanın klinik durumu prognozun değerlendirmesinde ve tedavinin planlanmasında büyük önem taşır. Bu nedenle hastaların klinik tabloların derecelendirilmesi amacı ile de işik sınıflamalar yapılmıştır.

Günümüzde yaygın olarak kullanılan derecelendirme sistemleri Botterel'in (1965) (Tablo 3) Hunt- Hess'in 1968 (Tablo 4) (24) ve M.G Yaşargil (Tablo 5) (25), WFNS (Tablo 6) sınıflandırmalarıdır.

Tablo 3. Botterel SAK sınıflandırması

Evre 1: Şuur açık, menengial irritasyon belirtileri var.
Evre 2: Uykuya eğilimli, nörolojik defisit yok.
Evre 3: Uykuya eğilimli, nörolojik defisit ve bazen intraserebral hematoma var.
Evre 4: Şuur kapalı ve nörolojik defisit var.
Evre 5: Derin koma ve deserebrasyon rijiditesi var.

Tablo 4. Hunt ve Hess sınıflaması

Grade 0: Ruptüre olmamış anevrizma.
Grade 1: Asemptomatik veya minimal baş ağrısı ve hafif ense sertliği.
Grade 1a: Akut meningeal reaksiyon yok, fakat nörolojik defisiti olanlar.
Grade 2: Baş ağrısı, ense sertliği var, kranial sinir paralizisi dışında nörolojik defisit yok.
Grade 3: Uykuya eğilim, konfüzyon veya hafif fokal defisit var.
Grade 4: Stupor orta veya ciddi derecede hemiparezi erken deserebrasyon rijiditesi ve vejetatif bozukluk var.
Grade 5: Deserebrasyon rijiditesi ve derin koma.

Tablo 5. Yaşargil sınıflandırması

Evre 0	
a: Kanamamış anevrizma (Check-Up)	b: Kanamamış anevrizma, FND (+)
Evre 1	
a: Şuur açık, SAK (+), MİB(-), FND(-)	b: Şuur açık, SAK (+), MİB(-), FND(+)
Evre 2	
a: Şuur açık, SAK (+), MİB(+), FND(-)	b: Şuur açık, SAK (+), MİB(+), FND(+)
Evre 3	
a: Şuur konfuze, dezoryante, SAK (+), MİB(+), FND(-)	b: Şuur konfuze, dezoryante, SAK (+), MİB(+), FND(+)
Evre 4	Evre 5
Koma, genel durumu stabil, pupilla ışık reaksiyonu var ve ağrıyla lokalize eder.	Derin koma, genel durumu unstabil, pupilla ışık reaksiyonu yok, ağrıyla ekstansör yanıtı.

MİB: Menengial irritasyon bulgusu.

FND: Fokal nörolojik defisit.

Tablo 6: WFNS Sınıflaması (Dünya Nöroşirurji Federasyonu Derecelendirmesi)

Grade	GCS Puanı	Majör Fokal Defisit (¥)
EVRE 0(⦚):	15	yok
EVRE1:	15	yok
EVRE2:	13-14	yok
EVRE3:	13-14	var
EVRE 4:	7-12	var ya da yok
EVRE 5:	3-6	var ya da yok

GCS: Glaskow Koma Skalası

¥ : Afazi ve/veya Hemiparazi ya da Hemipilajı

⦚: İntakt Anevrizma

2.5. Diğer Komplikasyonlar

Anevrizma rüptüre olduktan sonra subaraknoid kanamayı durduran en önemli mekanizmalardan biri perianevrizmal kan pıhtısının meydana gelmesidir. Bu pıhtı oluşumu yalnız ilk kanamayı önlemekle kalmaz, yeniden kanama riskini önlemede de rol oynar. Eğer intrakranial koagülasyon sistem ve faktörleri ilk fibrinolitik aktivite belirli ve normal bir denge içinde ise pıhtı kolaylıkla gelişir ve kanama durur.

SAK'dan sonra BOS'da fibrinolitik aktivitenin arttığı bildirilmiştir. Fibrinolitik aktivite plasminojenden plazmini oluşturur ve buda protolitik bir enzim olarak perianevrizmal bölgedeki kan pıhtısını eritir ve yeniden kanamaya yol açabilir. Yeniden kanama riski ilk kanamadan sonra ilk hafta içinde en sık olur (64, 65).

SAK'da hidrosefali, kanamanın hemen ardından akut olarak ya da 1-3 hafta içinde daha geç dönemde gelişir. Akut hidrosefali gelişimi ventriküllerin içindeki kanın miktarı ile ilişkilidir. Geç dönemde ortaya çıkan hidrosefali ise kanın kendisinin ya da ürünlerinin subaraknoid aralıkta yaptığı yapışıklıklarla BOS dolanımında oluşturduğu blokaja bağlıdır. Yaklaşık % 10 olguda kominikan hidrosefali gelişir (65).

SAKdan sonra gelişebilen diğer komplikasyonlar kardiovasküler değişiklikler, hipertansiyon, elektrolit ve sıvı dengesizliği sayılabilir.

2.6. Vazospazm Tedavisi

Vazospazm tedavisi için etkin bir yöntem yoktur. Bugün için geçerli uygulama ise 3H diye özetlenen Hipervolemik, Hipertansif, Hemodilüsyonel tedavidir.(3H). Bu tedavide amaç intravasküler volüm, kardiyak atım ve sistemik kan basıncında yükselme sağlayarak serebral perfüzyon basıncını arttırmaktadır (44-65).

İskemik alanlarda normalde var olan otoregülasyon mekanizmasının kaybolduğu ve serebral kan akımının pasif olarak sistemik kan basıncı değişikliklerinden etkilenir hale geldiği düşünülmektedir. Vasküler volüm artışı ve hemodilüsyon serebral mikrosirkülasyonda düzelmeye yol açar ancak bu tedavi postoperatif dönem için güvenli bir şekilde uygulanabilir (65).

Preoperatif dönemde anevrizma rüptürü riski taşır. Pratik uygulamada hematokrit % 30 (± 3) düzeyinde düşürülür. Santral venöz basınç 8-12 mmhg düzeyinde tutulur. Pulmoner kapiller wedge basınç 15-18 mmhg'ya düzeltilir. Sistolik arteriyel kan basıncı kliplenmemiş anevrizma olgularında 130-150 mmhg, anevrizması kliplenmiş olgularda 150-170 mmhg düzeyinde tutulur. Kan basıncını tedavi öncesinin 20-40 mmhg üzerindeki değere çekecek inotropik ilaçlar kullanılır (66).

Kan basıncını düşürmek için seçici B- blokerler, diüretiklere (bunlar volüm kontraksiyonuna ve vazospazm insidensinin yükselmesine yol açabilir) yeğlenir. Bu

tedavi en az 48-72 saat süreyle uygulanır. Nörolojik bulgulardaki değişiklikler transkranyal doppler sonografi sonuçlarına göre takip edilir (67).

Vazospazm gelişmesini engellemek, serebral vazospazmın olumsuz etkilerini azaltmak için her yönü ile yeterli ilaç yoktur. Bugün için klinik uygulama da kalsiyum kanal blokerleri kullanılmaktadır. Nimodipin ve nikardipin bu alanda kullanılan iki ilaçtır. Ancak bu ilaçların serebral iskemiyi önlediği klinik yararlılığı konusu tartışmalıdır (66).

Kalsiyum kanal blokerleri belki vazospazmı engelleyemezler ama, hücre membra stabilizasyonu sağlayarak kalsiyum dengesizliğinden doğan hücre zedelenmesini minime indirgeyerek iskemik defisit gelişim insidansını azaltırlar (67, 167).

Leptomeningeal damarlarda dilatasyona yol açarlarken, iskemik sahalara olan kollateral dolaşımı etkinleştirirler. Bunların dışında ayrıca sitoprotektif etkileride söz konusudur (68,69).

Nimodipin için önerilen uygulama SAK sonrası ilk 96 saat içinde başlanılmak koşulu ile ilk 7 gün intravenöz ve sonraki 15 gün olmak üzere 22 günlük tedavidir. Nikardipin için ise önerilen 14 günlük intravenöz uygulamadır.

Diğer tedavi seçeneklerini maddeler halinde sıralayacak olursak;

1. Sempatektomi
2. Adenil siklaz stimülatörleri
3. Adenil siklaz stimülatörleri ile fosfodiesteraz inhibitörlerinin birlikte kullanılması
4. cAMP
5. Guanil siklaz inhibitörleri
6. Direk düz kas gevşeticileri
7. Dopamin Beta hidroksilaz inhibitörleri
8. Kalsiyum antagonistleri (64).

Denenen bunca tedaviye rağmen SVS insidansı ve ciddiyetini azaltmada önemli bir yöntem bulunamamıştır (64).

SVS'yi önlemek için en doğru yol subaraknoid mesafedeki kanın temizlenmesidir. Bu nedenle anevrizmanın erken klipajı ve subaraknoid mesafenin yıkanması, ameliyattan sonra lomber ponksiyon ile subaraknoid mesafenin mümkün olduğu kadar temizlenmesi en emin yoldur. Ancak özellikle durumu kritik

olan hastalarda ve operasyon yerine uzak bölgedeki pıhtıların temizlenmesi oldukça zordur. Perforan damarlar zedelenerek iskemiye yol açabilir (69).

2.7. Subaraknoid Kanamanın Deneysel Modelleri

Vazospazm ilk kez insanlarda gözlenmesinden sonra çeşitli hayvan türlerinde de tespit edilmiştir. İnsanlarda in-vivo çalışmalar mümkün olmadığı gibi, post-mortem patolojik çalışmalardan da sınırlı bilgiler elde edilmektedir (71, 73).

Aynı şekilde deneysel in-vitro modellerde ise vazospazm'da, arterlerin bulundukları ortamlardan alınması ve suni manipulasyonlar sonucu geliştirildiği için bu tür çalışmalardan da yeterli kadar bilgi elde edilememektedir. Bu sebeplerle SAK ve vazospazmın anlaşılması için hayvan modelleri geliştirilmiş olup, ideal modeller üzerinde çalışılmaktadır (72). Bir in-vivo modelde bulunması gereken temel komponent, canlı bir hayvanda, damar etrafında kan pıhtısının oluşturulmasıdır.

Kan pıhtısı, devamlılık ve tekrar oluşturulabilme özelliklerine sahip bir vazokonstriksiyona yol açmalı ve bunun da günlerce devam etmesi ve gecikmiş vazokonstriksiyona dönüşebilmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra, ideal bir modelde, deneyde kullanılacak hayvan mümkün olduğunca insanlara benzemeli ve oluşturulacak SAK mümkün olduğunca anevrizmal patlama sonucundakine benzer olmalıdır.

Elde edilen vazospazm belirlenebilmeli, oluşma zamanı ve rezolüyonu insanlarınkine benzer olmalıdır. Fakat bu çalışmalar için uygun model hala oluşturulabilmiş değildir ve çalışmaları sınırlı kılan sadece insanlarınkine benzeyen modeli oluşturma zorluğu değil aynı zamanda pahalı oluşu, etik kurallar ve teknik zorluklardır (70-72). 1928 yılında Begley, ilk kez bir hayvan modelinde, subaraknoid alana kan enjekte ettiğini bildirmiştir. Deney sonuçlarının insanlarınkine benzemesi amacıyla, Begley ve arkadaşları, köpeğin sisterna magnasına ve ventriküllerine otolog venöz kanı enjekte etmiş ve bunun sonucunda hayvanlarda klinik gidişatın değiştiği ve boyanmış histopatolojik spesimenlerde patolojik değişimlerin görüldüğü bildirilmiştir (72).

1961 yılında Loughheed ve Tom SAK'ın deneysel modellerinde vazospazm oluşturmak amacıyla ilk kez köpekleri kullandıklarını yayınlamışlardır. Bu tarihten

itibaren sıçanların, tavşanların, kedilerin, köpeklerin ve primatların kullanıldığı çeşitli hayvan modelleri açıklanmıştır.

Bu deneysel modelleri vazospazmın doğal seyrinin, patojenezinin, patolojisinin, teşhisinin ve tedavisinin ortaya çıkarılmasında kullanılmıştır (72).

Megyesi ve arkadaşlarının yakın zamanda yayınladığı bir yazıda, literatürde bulunan bütün deneysel SAK ve vazospazm modelleri gözden geçirilmiş ve 57 model arasında en çok kullanılan modelin köpek (canine) "çift-kanama" modeli olduğu bildirilmiştir (72).

48 Saat arayla köpeklerin bazal sisternalarına yapılan iki enjeksiyon sonucu oluşturulan arteriyal vazokonstriksiyon, tek enjeksiyonlu modellere göre daha kuvvetli olduğu tespit edilmiştir (86, 87). İnsanda oluşan subaraknoid kanamaya benzerliği ve SAK sonrası gelişebilecek vazospazmın güvenilir bir şekilde tahmin edilebilmesi açısından en iyi vazospazm modelinin primat modellerin olduğu bildirilmiştir. Bu modellerde kan pıhtısı cerrahi yöntemlerle maymun kafa tabanında büyük damarların çevresine yerleştirilmektedir (72, 79, 80).

Günümüzde ise en sık kullanılan model otolog kanın sisterna magnaya enjekte edildiği tavşan modelidir.

Tavşanlarda serebral anjiyografi sıçanlara oranla daha kolay yapılabilmekte ve vazospazm zamanı daha iyi belirlenebilmektedir (70, 72- 73). Diğer modellere nazaran maddi avantajları ve kolay uygulanışı açısından, deneysel rat SAK modelleri de sık olarak kullanılmaktadır (74, 75, 82, 84). Rat vazospazm modeli ilk kez Barry ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (73). Bu modelde transklival yaklaşımla baziller arter ponksiyonu ile SAK yaratılmıştır. Gelişen vazospazmın derecesi daha sonra direkt obzervasyonla gözlenmiştir.

Bu modelde vazospazmın post-op 2. günde maksimum olduğu ve 3. günden itibaren subaraknoid mesafeden kanın temizlenmesiyle paralel çözülmeye başladığı ortaya konulmuştur. Geliştirilen diğer rat vazospazm modellerinde, SAK, otolog kanın sisterna magnaya (77, 84) veya perikiazmatik sisternaya (82) direkt enjeksiyonla, internal karotis arter (74) veya anterior serebral arter (88) ponksiyonu ile oluşturulmuştur. Diğer hayvan SAK modelleriyle karşılaştırıldığında, rat modellerinde, hayvanın küçük olması, vazospazmın anjiyografi ile ortaya konmasını

güçleştirmektedir. Ayrıca, ratlarda vazospazmin zaman süreci, diğer hayvanların aksine tam olarak karakterize edilememiş (76, 77, 82).

2.8. Alfa Lipoik Asit

2.8.1. Lipoik Asit Hakkında Genel Bilgiler

Alfa lipoik fizyolojik sistemlerde bulunan, tiyol grubu içeren ve antioksidan aktiviteye sahip önemli bir moleküldür (91). Nispeten küçük bir moleküldür. Yükseltgenmiş formunda intramoleküler disülfid bağı oluşturan, disülfid türevi bir oktanoik asittir (92). Alfa lipoik asitin okside olmuş ditiyolan halkası çevresel şartlara bağlı olarak moleküle yüksek indirgeme özelliği kazandırmaktadır. Alfa lipoik asit ve dihidrolipoik asitin kimyasal reaktivitesini sağlayan da ditiyolan halkasıdır. Bu yapı ALA'ya bilinen tiyol içeren diğer biyomoleküler arasında özgün kılmaktadır (93). ALA mikroorganizmalardan insanlara kadar bütün organizmalara enerji metabolizmasında kofaktör olarak gerekli olan ve antioksidan özellikleri ortaya konulan bir moleküldür (93, 94).

Alfa lipoik asit insan diyetinde yeterli miktarda bulunmasına rağmen, *de novo* olarak mitokondride lipoik asit sentaz tarafından sentezlenmektedir (91).

İlk olarak 1937'de bazı bakterilerin gelişimleri için patates ekstraktında bulunan bir maddeye gereksinim duydukları ortaya konulmuş ve bu maddeye "*potato growth factor*" denilmiştir (91).

Hem lipid hem de sulu ortamda çözünür, kolayca emilir ve hücrelere taşınarak, dihidrolipoik aside (DHHLA) indirgenir. Alfa lipoik asit hücreye girdikten sonra sitozolik enzimler olan GSH redüktaz ve tiyoredoksin redüktaz ve mitokondrial enzim E₃ tarafından indirgenmektedir.

ALA'nın barsaktan emildikten sonra, çeşitli dokularda metabolik değişikliğe uğradıktan sonra salgılanır. Lipoat metabolizmasındaki katabolik süreç pentanoik asit yan zincirinin (3-oksidasyonu üzerinden gerçekleşmektedir. Alfa lipoik asit metaboliti olan 3 ketolipoat, serbest ALA'nın(3-oksidasyonla)salgılandığını göstermektedir (91, 95).

Sitrik asid siklusundaki multienzim dehidrogenaz kompleksinin (piruvat dehidrogenaz ve α -ketoglutarat dehidrogenaz) kofaktörüdür. ALA ekzojen verildiğinde serbest radikal temizleyici, metal şelasyon ve vitamin E, askorbik asid ve glutatyonun rejenerasyonu gibi antioksidan özellikler gösterir (96). Dihidrolipoik asitin, ALA'ya göre antioksidan etkisi daha fazladır (95). Alfa lipoik asitin iki ayrı izometrik konfigürasyonu vardır. R formu doğal, S formu ise sentetiktir (96). Redükte DHLA ve okside ALA formlarının her ikisi de OH'i HOCl ve 1O_2 doğrudan temizler, H_2O_2 'i ise redükler. ALA ve DHLA doğal olarak fizyolojik sistemlerde bulunduklarından ideal terapötik antioksidan olduğu düşünülebilir. Alfa lipoik asid, antioksidan etkiye ilaveten bazı metabolik yollarda enzim aktivitelerini de etkileyebilir. Hepatik mikrozomal enzimlerden sitokrom P₄₅₀ redüktaz ile disülfid-tiol değişimi yoluyla P₄₅₀ redüktazı inhibe edebilir. Nitrik oksit sentaz ile sitokrom P₄₅₀ redüktaz homologdur. Bu yüzden ALA nitrik oksit sentazı da inhibe edebilir (91). Dihidrolipoik asitin antioksidan etkisi kanıtlanmış olmasına rağmen özellikle demirin varlığında prooksidan etki gösterebilir. Dihidrolipoik asid invitro hem ferik hem ferröz demir ile şelat oluşturur. Bu nedenle demirin oksidatif hasarını önler. Ancak ferritinden demirin ayrılmasını ve Fe⁺³'ün ve Fe⁺²'ye dönüşümünü azaltarak oksidatif hasarı arttırabilir (92).

Alfa lipoik asid ve DHLA'nın antioksidan ve prooksidan olarak fonksiyon gösterme yeteneği oksidan stresin tipi ve fizyolojik şartlar tarafından belirlenmektedir. Tiyol bileşikleri tarafından oluşturulan prooksidan etkilerin çoğu O_2^- , H_2O_2 ve OH oluşmasına bağlanmaktadır (95).

2.8.2. Lipoik Asitin Yapısı ve Kaynakları

Lipoik asit, bitki ve hayvanlarda doğal olarak meydana gelen bir tiyol bileşik olarak tanımlanmıştır. Lipoik asit günlük diyetle tüketilir ve dokular ve hücreler tarafından dihidrolipoik aside dönüştürülür (97). ALA kendi orijinal okside formunda ya da DHLA şeklinde redükte formda bulunabilir. Alfa lipoik asit yapısında iki sülfür atomu ve bir karboksilik asit grubu bulunan beşli bir halka içermektedir.

Lipoik asit diyetten hızla emilir, transport sonucu iki ayrı transport mekanizması bildirilmiştir:

1- Taşıyıcılı uptake: 75' µm den daha küçük bir taşıyıcıdır.

2- Pasif difüzyon: Daha yüksek konsantrasyondan geçiş olur.

Beyin dahil bir çok dokuda redükte formu olan DHLA'ya indirgenir (89, 90, 94, 98). ALA; DHLA'ya indirgendiği zaman molekülün uç kısmındaki atomların oluşturduğu dithiolan halkası kırılır ve sülfür atomları sülfhidril (-SH) grupları şekline dönüşür.

Bakterilerden insanlara kadar birçok organizmada lipoik asit sentezlenmektedir. İnsanlarda karaciğer ve diğer dokular tarafından sentezlenerek doğal bir kofaktör olarak görev yapmaktadır (89). Lipoik asit predominant olarak beyin, böbrek, karaciğer, ince barsak ve iskelet kaslarında bulunmaktadır. Memeli dokuları 5-25 nmol/g lipoik asit içermekle birlikte, bunun hemen hemen tümü protein-bağlı formda bulunup, dışarıdan verilmediği sürece hücrede sadece çok az serbest lipoik asit bulunmaktadır (99).

2.8.3. Lipoik Asitin Fonksiyonları

Alfa-lipoik asitin vücutta iki şekilde fonksiyon yaptığı düşünülmektedir. Bunlardan birincisi, metabolik işlemlerde koenzim olarak görev alması;

İkincisi ise suplementasyon yoluyla ulaşılan dozlarda antioksidan özellikler göstermesidir. Lipoik asit; a-ketoglutarat dehidrogenaz, dallı zincir a-ketoasit dehidrogenaz, pirüvat dehidrogenaz multienzim kompleksleri için kofaktör olarak rol oynayıp, enerji metabolizmasında çok önemli bir yere sahiptir (90, 93).

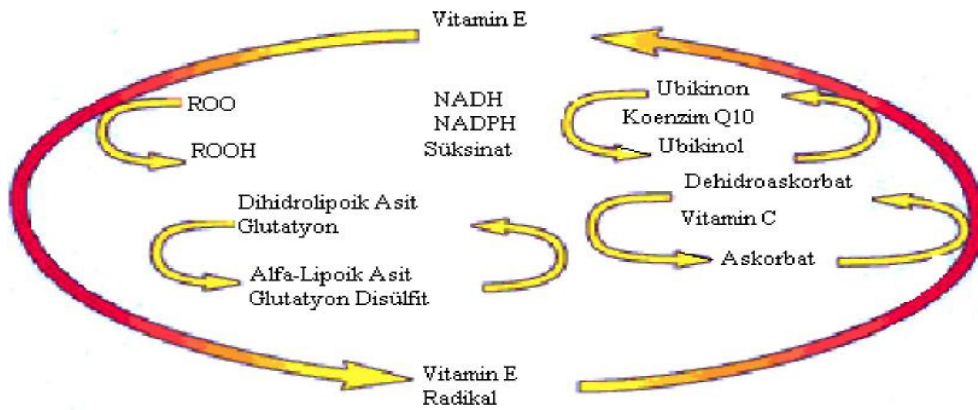
Alfa lipoik asitin karboksilik grubu pirüvat dehidrogenaz komplekslerinin dihidrolipoil transasetilaz subünitine (E₂) spesifik lizin e-amino grubuna amid bağı ile kovalent olarak bağlanır. ALA ayrıca glisin dekarboksilaz kompleksinin H proteinine de bağlanır ve glisinin CO₂, amonyak, 5,10-MTHF ve NADH'a reversible oksidasyonunu katalize eden glisin yanma sisteminin de bir bileşenidir (89, 93,94, 101). Alfa-lipoik asit / dihidrolipoik asit redoks çifti, diğer antioksidanlarda bulunmayan bazı özelliklere sahiptir. Alfa lipoik asit “ideal”, “eşsiz” ve “evrensel antioksidan” olarak tanımlanmaktadır (94, 100, 112).

Tablo 7: Alfa Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asitin Nötralize Ettikleri Radikaller.

.Radikaller	α -LA Tarafından Toplananlar	DHLA Tarafından Toplananlar
Hidroksi Radikali ($\text{OH}^\bullet$)	+	+
Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)	+	+
Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	+	+
Peroksinitrit (ONOO^-)	+	+
Süperoksit Radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$)	-	+
Lipid peroksil Radikali($\text{LOO}^\bullet$)	-	+
Nitrik Oksit Radikali ($\text{NO}^\bullet$)	+	+
Hipokloröz Asit (HOCl)	+	+
Peroksil Radikali ($\text{CCl}_3\text{O}_2^\bullet$)	+	+

2.8.4. Lipoik Asidin Etki Mekanizması

Araştırmacılar son yıllarda lipoik asidin serbest radikal hasarını uzaklaştıran vitamin E ve vitamin C 'yi geri dönüştürdüğünü göstermişlerdir. Antioksidan döngüsünün ana bileşenlerinden biri vitamin E' dir. Bu vitamin membranlar ve yağ dokusundaki yüksek serbest radikal reaktivasyonunu durdurmak için çalışır (104).



Şekil 3: Antioksidan rejenerasyon yolu.

R-lipoik asit vitamin E, vitamin C ve onun redükte formlarında geri dönüşüm yaparken dihidrolipoik asit mitokondri içinde güçlü antioksidan olarak aktivite gösterir (100). Lipid peroksit ve lipid alkoksil gibi yağlı serbest radikalleri yok etme işlemi sırasında vitamin E' nin kendisi de serbest radikal haline gelir (Şekil 3). Vitamin E radikali vitamin C ile rejenere olur. Bu ise bir radikalden tekrar bir antioksidan meydana gelmesiyle sonuçlanır, fakat bu işlemin sonunda vitamin C' nin stabil olmayan formu olan yeni bir semikarbon radikali meydana gelir. Vitamin C tekrar glutatyon ile çevrilebilir (102).

Serbest radikaller; yaşlanma, hastalıklar ve normal metabolizma sonucunda üretilen yüksek reaktif moleküler ürünlerdir. Serbest radikaller kirli hava, sigara içme, işlenmiş yiyecekler, fakir diyet ve stresle meydana gelen, vücuda hasar verici maddelerdir. Aynı zamanda metabolizmanın normal ürünleridir(O_2^- , H_2O_2 HO^-).

Aerobik organizmalar kolay okside olabilen bileşiklerin süperoksitle reaksiyona girmesini önlemek için süperoksit dismutaz (SOD) enzimini, hidrojen peroksiti yok etmek amacıyla da katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimlerini kullanırlar (105).

Hücrel metabolizmada belirgin rolleri olduğundan serbest radikal üretiminin ana kaynağı mitokondrilerdir. Serbest radikallerin aşırı üretimi veya yetersiz nötralizasyonu proteinler, lipidler ve DNA' da hasara yol açar. Mitokondriyal DNA'daki bu kümülatif ve kaçınılmaz ataklar mutasyonların sıklığını artırır, bozuk fonksiyonlu proteinlerin üretimiyle sonuçlanır. Fizyolojik enerji ihtiyacını karşılamak mitokondrinin temel görevi olduğu için bu fonksiyonda aksamalar olduğunda patolojik olaylar meydana gelir (106).

Biyolojik ortamların basamakları en iyi bilinen ve en çok çalışılan radikal reaksiyon zinciri lipid peroksidasyonudur. Radikaller, organik ortamlardaki biyomoleküllerin tümünü etkilese de, hedefler başta membran lipidleri olmak üzere diğer lipidler, proteinler ve DNA'dır. Bu çekici hedefler radikal üretiminin artması ve reaksiyonlarının yoğunlaşması halinde, peroksidasyon, defragmantasyon ve modifikasyonlara uğrama riski altındadır (105).

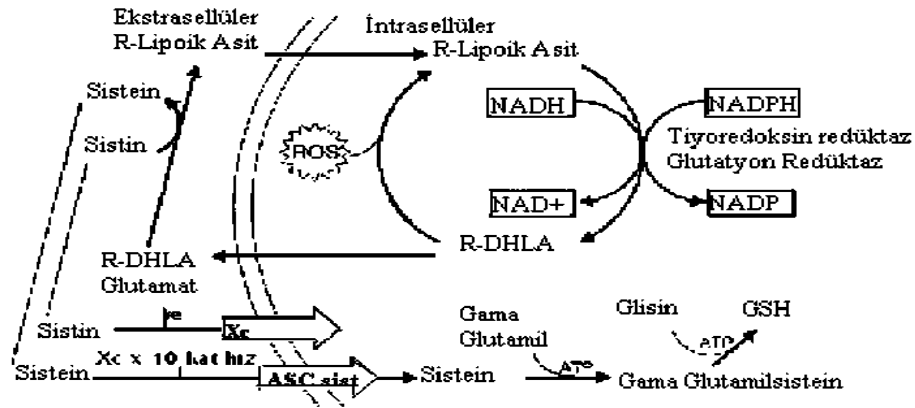
Antioksidanlar; hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden bir sisteme sahiptir. Radikallerle oldukça hızlı reaksiyonlara girerek otooksidasyon/peroksidasyon ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak

tanımlanır (107). Bir şekilde oluşturulan herhangi bir ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküller ve hücresel yapılara saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin bir parçasıdır (108).

Antioksidan savunma:

- 1- Radikal metabolit üretiminin önlenmesi
- 2- Üretilmiş radikallerin temizlenmesi,
- 3- Oluşan hücre haraplanmasının onarılması,
- 4- Sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması,
- 5- Endojen antioksidan kapasitenin artırılması olarak ayrımlanan beş değişik blokta yürür (109).

Oksidanların arttığı veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizmanın maruz kaldığı oksidatif stres sonucunda bozulan hücresel metabolizma, moleküler yıkılma ve doku hasarını getirir (110).



Şekil 4: Lipoik asit hücresel glutatyon (GSH) düzeylerini yükseltir.

Glutatyon; tiyol grubunun önemli bir üyesidir ve primer hücre içi antioksidandır. Ayrıca önemli bir serbest radikal deaktivatörüdür. Ağır metalleri ayırmada, katarakt oluşumuna karşı korumada, kanserin başlamasını yavaşlatmada, karaciğer hasarını önlemede ve bağışıklık fonksiyonunu arttırmada glutatyon hayati bir rol oynar.

Vücutta hastalık, enfeksiyon, travma, ilaç tedavisi ve ameliyat gibi nedenlerden dolayı oksidatif stresin yüksek düzeylerde seyrettiği zamanlarda glutatyon hızla tükendiğinden dolayı ortaya çıkar. Bu eksiklik aynı zamanda düşük

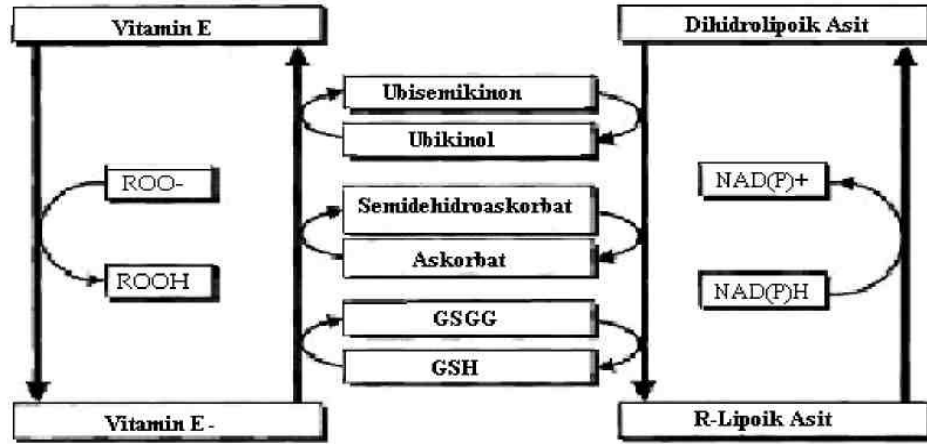
protein alımı, diyabetes mellitus, karaciğer hastalıkları, katarakt, HIV(insan immün yetmezlik virüsü) enfeksiyonu, respiratuar distres sendromu, kanser ve idiyopatik pulmoner fibrozis ile birlikte. Glutasyon ağızdan alındığında kan dolaşımına ulaşmadan midede yıkılır, lipoik asit ise ağızdan alındığında kolayca emilip ilk olarak hücre içine girer ve hızla en potent forma dönüşerek glutasyon düzeylerini artırır (Şekil 4) (111, 123).

2.8.5. Lipoik Asidin Antioksidan Aktivitesi

Mitokondriyal dehidrogenaz reaksiyonlarında önemli bir rol oynayan lipoik asit son zamanlarda önemli bir antioksidan olarak dikkat çekmektedir.

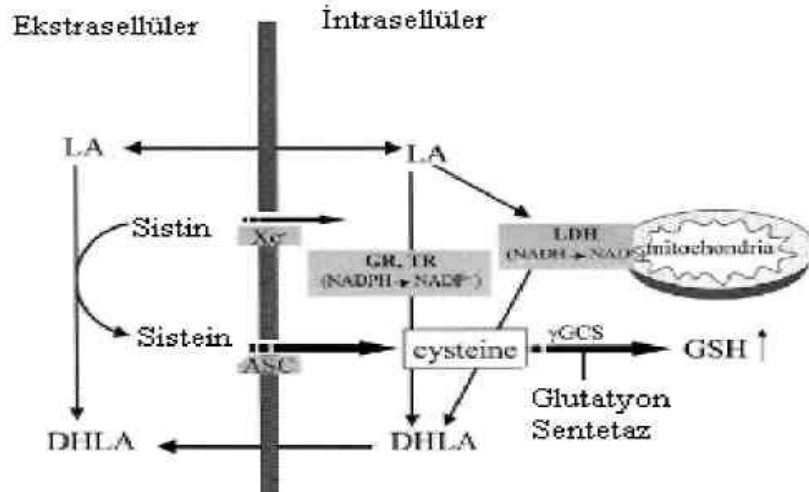
Lipoat veya onun redükte formu dihidrolipoat; süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri, peroksit radikalleri ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen bileşikleri ile reaktif olur. Lipoik asit aynı zamanda vitamin E' yi rejenere eden vitamin C ve glutasyon ile birbirlerini etkileyerek membranları korur (112).

Diyabet, iskemi-reperfüzyon hasarı, katarakt oluşumu, HIV aktivasyonu, sinir dejenerasyonu ve radyasyon hasarı gibi oksidatif stres modellerinin bir kısmında lipoik asit verilmesinin yararlı olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca lipoat miyogloblin, prolaktin, tiyoredoksin ve NF kappa B transkripsiyon faktör gibi proteinlerin indirgeyici düzenleyicisi olarak fonksiyon görebilir (112). Lipoik asit antioksidan moleküller arasında taktır, çünkü hem redükte hem de okside formlarında koruyucu etkilere sahiptir. Bununla beraber DHLA antioksidan fonksiyonları yerine getirmekte daha etkindir (Şekil 5).



Şekil 5: R-Lipoik asit ve dihidrolipoik asidin antioksidan etkisi (102).

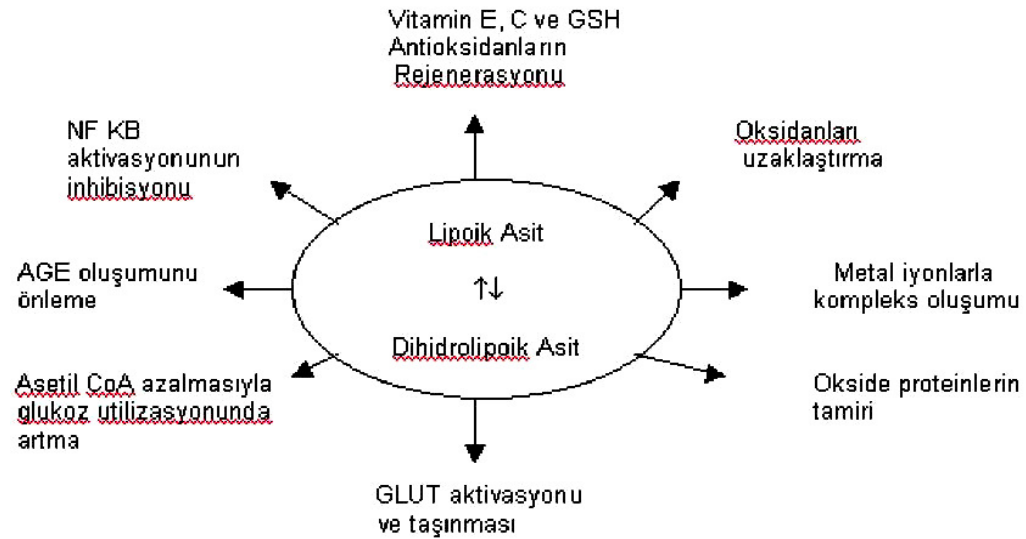
ALA/DHLA redoks çifti ideale yaklaşmaktadır, evrensel antioksidan sayılabilir. Lipoik asit ve onun redükte formu DHLA dokularda serbest halde bulunur (113). DHLA güçlü bir redüktandır ve böylece okside antioksidanları rejenere edebilir. Antioksidanlar, radikalleri uzaklaştırdıkları zaman kendileri radikal hale gelirler (Şekil 5). DHLA direkt ve indirekt olarak askorbat, glutatyon, koenzim Q10 ve vitamin E' yi rejenere edebilir. DHLA bütün antioksidanları redükte edebilir ve lipoamid redüktaz, glutatyon redüktaz ve tiyoredoksin redüktaz enzimlerini rejenere edebilir (102).



Şekil 6. Sistein biyoyararlanımında artma ile hücresel glutatyon biyosentezinin lipoata bağlı düzenlenmesinde ve α-lipoik asidin dihidrolipoik aside biyoreduksiyonu için hücresel yollar.

Sistein kullanılrlığı glutatyon sentezinde hız kısıtlayıcı faktör olarak bilinmektedir. Lipoik asit hücreye hızla alınır ve ortamda serbest olarak bulunan, DHLA'e redükte olur. Daha sonra DHLA sistini sisteine indirger. Hücre sisteini sistinden on kat hızlı alır, bu yolda dihidrolipoik asidin indirekt antioksidan aktivitesi gözlenmiştir (51). ALA' in redüksiyonu ile oluşan DHLA, ALA' den daha çok antioksidan özelliğe sahiptir. Yalnız DHLA endojen antioksidanları rejenere eder ve oksidatif hasarı tamir ederken hem DHLA hem de ALA metal kelasyonu ve ROS (serbest oksijen ürünleri)' ni uzaklaştırabilme kapasitesine sahiptir. ALA Fe^{+2} (Demir) ve Cu^{+2} (Bakır) kelasyonu ile antioksidan aktivite gösterirken, DHLA Cd^{+2} (Kadmiyum) kelasyonu da yapabilir (Şekil 6) (115).

DHLA aynı zamanda tokoferolun bulunduğu mikrozomal lipid peroksidasyonuna karşı koruyucudur. Dihidrolipoik asidin antioksidan aktivitesinin yanında aynı zamanda prooksidan özelliği de vardır. Vitamin E ve vitamin C'ye benzer şekilde lipoik asidin prooksidan aktivitesi muhtemelen transizyon metallerin redüksiyonu ile aracılık etmektedir. Dihidrolipoik asit protein tamir sürecinde rol oynar (Şekil 7) (116).



Şekil 7: Dihidrolipoik Asit-Lipoik Asit redoks çiftinin etkileri.

2.8.6. Lipoik Asidin Klinikte Kullanımı

Lipoik asidin antioksidan etkilerinin geniş olması onu tedavi edici uygulamalar için güçlü bir aday yapar (118).

Ateroskleroza Karşı Koruyucu Etkisi: Serbest radikaller arteriyel kolesterol plaklarında LDL(düşük dansiteli lipoproteinler) birikiminin oksidasyonu ile ateroskleroz meydana getirir. Araştırmacılar lipoik asidin vitamin E' nin rejenarasyonu ve LDL kolesterolun oksidasyonunun önlenmesi ile ateroskleroza karşı koruyucu olduğu sonucuna varmışlardır (117, 155).

Katarakta Karşı Koruyucu Etkisi: Gözün içi aköz bir ortamdır, vitamin E, betakaroten gibi yağda çözünen antioksidanlar fazla koruyucu değildir (112). Hayvan çalışmaları lipoik asidin katarakt oluşumuna karşı da güçlü bir koruyucu olduğunu göstermiştir. Katarakt gözün lensinde antioksidan aktivitenin azalmasıyla beraberdir ve lipoik asidin en önemli lens oksidanı olan glutatyonu rejenere ettiği bilinmektedir (119). Bilim adamları hem yağda hem de suda çözünen özellikleri olan lipoik asit vererek katarakta etkilerini araştırmışlardır.

Araştırmacılar katarakt ve komplikasyonlarının önlenmesinde lipoik asidin potansiyel tedavi edici olduğunu bulmuşlardır. Lenste ana koruyucu enzimler olan vitamin E, askorbat ve glutatyon düzeylerinde büyük artışlar kaydedilmiştir (112, 147). Californiya Üniversitesi'nin bir rat çalışmasının sonuçları lipoik asidin 5 mg/kg dozda % 60 katarakt oluşumundan koruduğunu göstermiştir (119). Lipoik asidin glutatyonun bazı koruyucu fonksiyonlarını düzelttiği sonucunu çıkarmışlardır (119). İnsanlarda yararlarının onaylanması için başka çalışmalara da ihtiyaç vardır (119).

Radyasyona Karşı Koruyucu Etkisi: Lipoik asidin radyasyona maruz kalma ile meydana gelen serbest radikal hasarı azalttığını gösteren Çernobil radyasyon kurbanlarını içeren Rus çalışması çok ilginçtir.

16 çocuklu bir gruba 28 gün boyunca günde 400 mg lipoik asit verilmiş, 12 çocuklu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında radyoaktif izotopların idrarla atılması ve beyaz kan hücrelerinde serbest radikal aktivitesinde azalmalar görülmüştür (120-122, 157).

AİDS Tedavisindeki Etkisi: Bilim adamları lipoik asidin HIV-1' in ve DNA' ya direk bağlanan diğer virüslerin replikasyonunu engelleyebildiğini bulmuşlardır (112). Dr.Lester Packer ve Sen (1995) lipoik asidin, immün sistem görünümünü özellikle T lenfositleri düzelttiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca, test tüp deneylerinde lipoik asidin HIV (kazanılmış immün yetmezlik sendromu) virüsünün replikasyonunu sağlayan genin aktivasyonunu tamamen engellediğini bulmuştur (112).

Almanya'da yürütülen bir çalışmada araştırmacılar vitamin C ve glutatyon düzeylerinde önemli azalmalar olan hastalara 14 gün günde 450 mg lipoik asit vermişlerdir. Bu gözlemler kan peroksidasyon ürünlerinde artma ve beyaz kan hücre sayılarında düzelme ile aynı zamana rastlamaktadır (121).

Hafıza ve Beyin Fonksiyonlarına Etkisi: Alman araştırmacılar lipoik asidin yaşlı farelerde uzun dönemli hafızada pozitif etkileri olduğunu bulmuşlardır. Henüz daha genç farelerde benzer yararları gösterilmemiştir. Araştırmacılar lipoik asidin genel hafızayı düzeltmekten ziyade uzun dönem hafıza bozukluklarını telafi ettiğini göstermişlerdir. Diğer araştırmacılar lipoik asidin beyin dokularını oksidatif hasardan koruduğuna dair benzer kanıtlar bulmuşlardır. Rochester Üniversitesi medikal merkezindeki araştırmacılar Parkinson ve Huntington hastalığı gibi kronik ve akut nörolojik bozuklukların tedavisinde olası bir role sahip olduğunu bildirmişlerdir (151-154).

İnme ve Kalp Krizinde Etkileri: Serbest radikallerin fazla miktarları iskemi veya travma ile yaralanan dokular yaratır. Kan pıhtısı, düşük oksijen seviyeleri ile iskemi meydana gelir. Lipoik asidin; inme ve kalp krizlerinde yetersiz oksijen sağlanmasına bağlı hasardan dokuları koruduğu gösterilmiştir. Kan akımından yoksun kalan dokuların meydana getirdiği serbest radikallerin aşırı üretimi orjinal travmadan daha çok hasar vericidir (117).

Diyabet ve Diyabetik Nöropatinin Tedavisindeki Etkileri: Lipoik asidin en geniş klinik uygulamaları diyabetin ve onun komplikasyonlarının tedavisinde kaydedilmiştir.

Lipoik asit son zamanlarda diyabetin tedavisi ve katarakt, makular dejenerasyon ve ağrılı periferik sinir dejenerasyonu olan nöropatiyi içeren diyabet komplikasyonlarını önlemede Avrupa'da kullanılmaktadır (112).

Diyabetikler sıklıkla uyuşukluk, çınlama bazen ekstremitelerinde yanıcı bir ağrıyı içeren bir dejeneratif sinir durumu olan periferik nöropati yüzünden acı çekerler. Çalışmalar lipoik asidin bu sinir disfonksiyon belirtilerinin azalmasına yardım edebildiğini göstermektedir (124). Araştırmacılar gerçekten lipoik asidin nöropatiyi geri döndürebildiğini, glukoz kullanımında yardımcı olduğunu bulmuşlardır (112, 151, 157). Ağrının ferahlamasının ardındaki kesin mekanizma açık değildir. Bununla beraber lipoik asidin sinir hücrelerindeki serbest radikal hasarını önlediğine inanılmaktadır (124).

Diyabetik grupta intrauterin gelişme geriliği, kraniyofasiyal malformasyonlar, parmak ve iskelet hipoplazileri insidansı fazladır. Lipoik asit özellikle bu anormallikleri azaltmıştır (125).

Kansere Karşı Koruyucu Etkileri: Yaşlanan insanda vitamin E, vitamin C, koenzim Q10 ve glutatyon gibi ana antioksidanların sentez, geri dönüşüm ve konsantrasyonların da azalma kaydedilir. Bu antioksidan fonksiyon kaybı vücudun serbest radikalleri kontrol edebilmesinde ciddi bozukluk yapar.

Kontrolsüz serbest radikaller vücut boyunca çoğalır, hücre membranlarını, organlarını ve bağışıklık fonksiyonunu bozar. DNA'nın kenarlarını etkiler, kanser ve diğer dejeneratif hastalıkların gelişimine katkıda bulunur. Serbest radikaller hücre membranlarını bozduğu için hücrenin fonksiyonel içeriğinin hasarlı membrandan sızmasına izin verir. Serbest radikaller ile hasarlanan DNA hücrenin normal yapısını değiştirir. Serbest radikallere maruz kalan hücreler mutasyona uğrar, kontrolsüz çoğalır ve kanser meydana gelir. Lipoik asit antioksidan özellikleri ile kanser gelişiminin hızını azaltan bir rol oynayabilir (126).

2.8.7. Lipoik Asidin Dozu ve Yan Etkileri

Genel sağlık, yaşlanma etkilerini yavaşlatmak ve optimal antioksidan etkiler için günlük 100–200 mg dozda alınır. Diyabet, hepatitler ve ağır metal zehirlenmelerinde günlük 300-600 mg gereklidir (129).

Klinik araştırmalar lipoik asidin kullanılması ile karsinojenik etkilerin olmadığını göstermiştir. Yüksek dozlarda bile ciddi yan etkiler gözlenmemiştir. Minör yan etkiler deri reaksiyonlarını ve bulantı–kusma gibi gastrointestinal etkileri

içerir. Bununla beraber bu etkiler yalnız intravenöz infüzyonla hergün 1200 mg veya daha yüksek dozda alanların küçük bir yüzdesinde gözlenmiştir. Gebelik boyunca lipoik asit kullanımıyla ilgili zararlı yan etki bilgileri elde edilememiştir. Bilimsel araştırmalar ve klinik kullanımlar 30 yılı aşkın bir zaman boyunca lipoik asit kullanılmasıyla ilgili ciddi yan etkiler bildirmemiştir. Lethal doz (LD) 50 köpeklerde yaklaşık olarak 400–500 mg/kg oral dozdan sonradır (128). Ratlarda LD 50 yaklaşık 400-500 mg/kg' dır (129).

2.9. Malondialdehit (MDA) ve Paraoksonaz (PON)

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Membran komponentlerinin (protein, lipid gibi) polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA; deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi, intrensek membran özelliklerini değiştirebilir. MDA ayrıca, nükleer membrandan diffüze olabildiğinden, DNA'nın nitrojen bazıları ile de reaksiyona girebilmekte ve pürin-primidin yapılarında modifikasyona ve DNA iplikçiklerinde kopmalara neden olabilmektedir (130).

HDL yapısında bulunan bir antioksidan enzim olan Paraoksanaz (PON) , HDL ve LDL'nin oksidatif hasardan korunmasında rol oynadığı bilinmektedir (131).

3. MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel ve Klinik Araştırma laboratuvarı, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ve Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. Kullanılan denekler Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nden temin edilmiştir. Çalışmada, her biri ağırlığı 200-250gr arasında olan 28 adet 4 aylık dişi Wistar-Albino ratlar kullanılmış olup, deneyde Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı cerrahi deney aletleri, monoküler mikroskop kullanılmıştır.

3.1. Anestezi

Cerrahi uygulanacak ratlar bir gün önceden aç bırakılmıştır. İntraperitoneal yolla verilen 60 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar 50 mg/ml 10 ml flakon, Pfizer İlaçları Ltd. İstanbul) ve 10 mg/kg xylazine hidroklorür (Rompun %2 solüsyon, 50 cc. flakon, Bayer-Türk İlaç Ltd. İstanbul) ile spontan solunumda genel anestezi sağlanmıştır.

3.2. Deney

Hayvanlar üzerindeki inceleme ve araştırmalar Kasım 2009'da Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi, Araştırma ve Hayvan Laboratuvarı 'nda yapıldı. İncelenen tüm ratlar, 12 saatlik bir süre boyunca gün ışığı/karanlık siklusunda ve yeterli miktarda sıvı ve besinlerin bulunduğu 22-25C lik sıcaklık ve uygun nem koşullarının sağlandığı bir ortamda tutuldu.

3.3. Deney Grupları

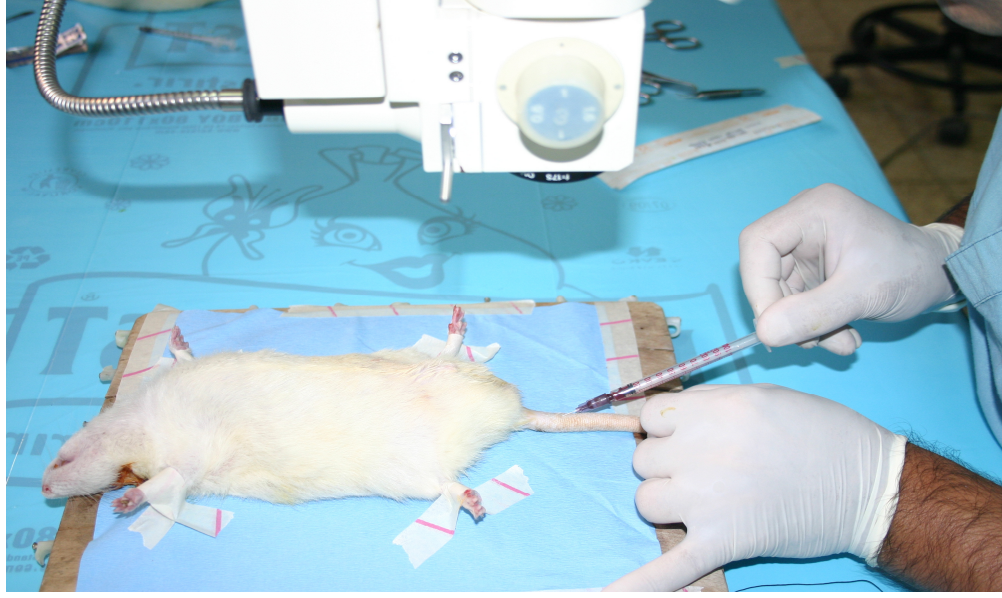
Uygulanan farklı koşullar temel alınarak ratlar dört ayrı gruba ayrıldı: Grup 1 (G1; n:7), deneysel bir müdahale uygulanmadan yaşamaya bırakılan ratlar; Grup 2 (G2; n:7), çalışmada sadece SAK' a maruz bırakılan kontrol grubu; Grup 3 (G3; n:7),

SAK ‘a maruz bırakılan ve fizyolojik salin uygulanan plasebo cerrahi grubu ve son olarak Grup 4 (n:7) SAK a maruz bırakılan ve ALA tedavisi uygulanan ratlar.

Deneyssel model, daha önce yapılmış çalışmalarla uyumlu olacak şekilde oluşturuldu (132, 133). Araştırmada kullanılan ratlara, intraperitoneal ketamine (60mg/kg) ve xylazine (10mg/kg) ile anestezi uygulandı. Kuyruk arterinden insülin enjektörü ile 0.15 cc kan alındı (Resim 1). Rat başları, burun aşağı bakar pozisyonda ve pariyetal kemiklerin superior planları öne doğru yaklaşık 30 derece açı yapacak şekilde sabitlendi.

Posterior kranioservikal yaklaşımla suboksipital insizyon yapılarak oksipital kemik, atlasın arkusu ve atlantookspital membran ortaya kondu. G1 hariç tüm gruplarda, ratların sisterna magnalarına insülin enjektörü ile uygun açıda perkütan olarak girildi ve 0.15cc BOS yavaşça boşaltıldı (Resim 2). G3 grubundaki ratların sisterna magnalarına aynı miktarda (0,9% NaCl) salin enjekte edildi. G4 grubunda ratların kuyruk arterinden alınan 0,15 cc kan uygun açılı insülin enjektörü ile sisterna magnaya yavaşça verildi. Daha sonra suboksipital cerrahi alandaki katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. Girişimi takiben ratlar, bazal sisternalara kan akımını arttırmak amacıyla 15 dakika kadar baş aşağı pozisyona alındı. Subaraknoid kanamanın oluşmasının hemen ardından, G3 grubundaki ratlara günde tek doz 100mg/kg serum fizyolojik intraperitoneal, G4 grubundaki ratlara iki gün, günde bir kez 100mg/kg alfalipoik asit intraperitoneal olarak verildi.

Ratlar uygun koşullarda 48 saat canlı tutuldu. Tüm gruplardaki, deneklere anestezi ajan ketamin hydrochlorid fatal doz uygulandı ve takiben biokimyasal değerlendirme amaçlı ratlardan kan örnekleri ve sol frontal loblardan 0,5 cm çaplı serebral doku örnekleri alındı. Histolojik ve morfometrik çalışmalar için alınan pons ve baziler arterden oluşan serebral doku örnekleri 3 gün boyunca 10% paraformaldehidde fiske edilip parafine gömüldü. Biyokimyasal değerlendirmeleri yapmak amacıyla örnekler -80C de saklandı.



Resim 1: Rat kuyruk arterinden otolog kan alınması.



Resim 2: Rat'ın atlantookspital mebranı ortaya konup ponksiyone edilerek otolog kanın sisterna magna içine verilmesi.

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal veriler, beyin dokusunun MDA ve PON düzeyleri ölçülerek elde edildi.

Malondialdehid(MDA): MDA düzeyi % 1,15 lik KCL ile % 10 luk homojenat haline getirilen dokuda Ohkawa H.ve arkadaşlarının metodu ile çalışıldı (125). Metodun prensibi lipid peroksidasyonunun ürünü MDA'ın Tiobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu renkli kompleksin absorbansının ölçümüne dayanmaktadır.

0,2 ml doku homojenatına, 0,2 ml % 8,1 lik SDS solüsyonu, 1,5 ml NaOH ile pH = 3,5 ayarlanmış % 20 lik Asetik asit solüsyonu, 1,5 ml % 0,8 lik TBA solüsyonu koyularak karışım 4 ml'ye distile su ile tamamlandı ve 95° C de 60 dakika ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 1 ml distile su ve 5 ml n- butanol ve piridin (15:1, v/v) karışımından eklenerek 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. Organik tabakanın absorbansı 532 nm de Shimadzu UV 1601 spektrofotometer ile ölçüldü. 1, 1, 3, 3 tetraetoksypropane standart olarak kullanıldı. MDA düzeyleri nMol/gr doku olarak değerlendirildi (134).

Paraoksanaz(PON): Serum paraoksanaz aktiviteleri Eckerson 'un metodu ile ölçüldü. Metodun prensibi PON enzimi ile paraoksondan p-nitrofenolün hidroliz hızının ölçülmesine dayanmaktadır. Reaksiyon sonucu oluşan paranitrofenolün 412 nm dalga boyunda başlangıç ve 5. dakikalar arasındaki absorbans değişimi ölçülerek ve molar ekstinksiyon katsayısı 16 900 Mol⁻¹cm⁻¹ kullanılarak IU/L cinsinden serum paraoksonaz enzim aktivitesi hesaplanmıştır(135).

3.5. Histopatolojik ve Morfometrik Değerlendirme

Histolojik incelemeler amacıyla, baziler arteri de içeren ponstan alınan parafine gömülü doku örnekleri, kriyostatla 5 mikron kalınlığında kesildi. Lam üzerine alınan kesitler hematoksilen ve eozin (H&E) yardımıyla boyanarak ışık mikroskobunda incelendi. Morfometrik analizler, baziler arterin orta bölümlerinden elde edilen ve H&E ile boyanmış kesitler üzerinde aynı patolog tarafından yapıldı.

Baziler arter duvar kalınlığı değeri ve ortalama baziler arter çapı Leica (DMLB-100S) mikroskop kullanılarak Leica, QWINPlus v.3.1.0 görüntü analizi yazılımı ile ölçüldü. Her baziler arter 4 noktada (saat 3, 6, 9 ve 12 yönlerinde) ölçülerek ortalama değerler elde edildi.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS (Versiyon 13.0) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortanca (min-max) olarak veildi. MDA, PON ve HDL değişkenleri bakımından rat gruplarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis varyans analizi kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimya Sonuçları

Hücre membranlarında hasar oluşturan reaktif oksijen türevlerinin aracılık ettiği lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA, HDL yapısında bulunan bir antioksidan enzim olan PON ve HDL değerleri Tablo 8’ de karşılaştırılmıştır.

Sonuç olarak;

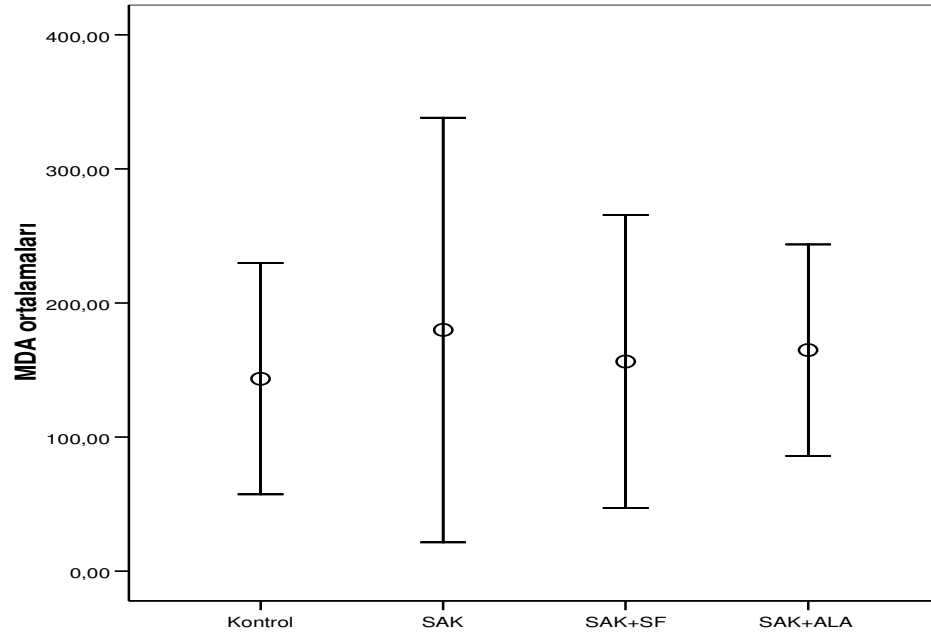
Gruplar, MDA değerleri açısından karşılaştırıldığında (p: 0,800) gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 8 a).

Gruplar, PON değerleri açısından karşılaştırıldığında (p: 0,188) gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 8 b).

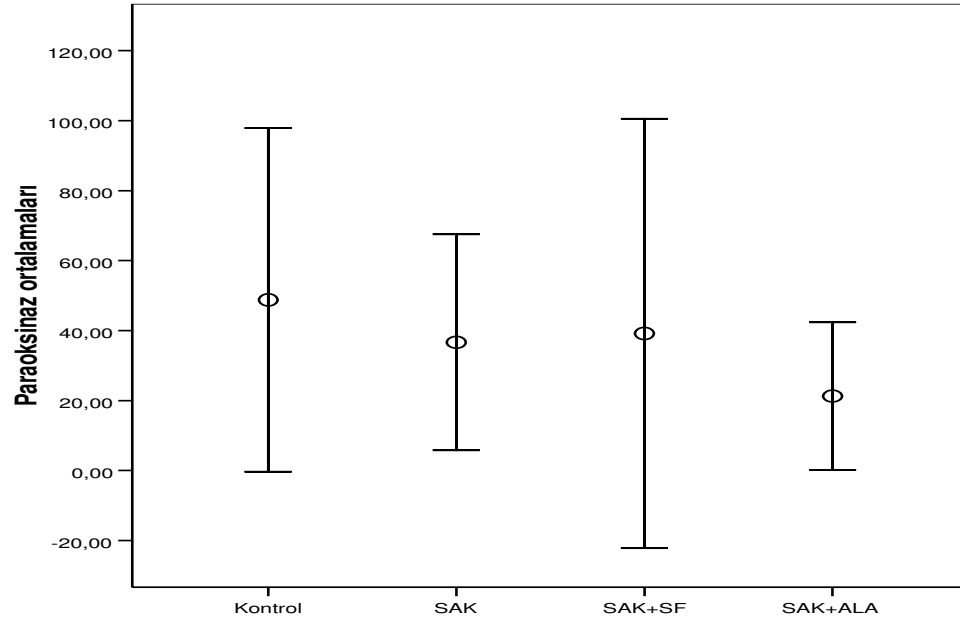
Gruplar, HDL değerleri açısından karşılaştırıldığında (p:0,100) gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 8 c).

Tablo 8: Gruplarda MDA, HDL, PON değişikliklerinin medyan (minimum-maksimum) ve Standart Sapma (SS) değerlendirilmesi.

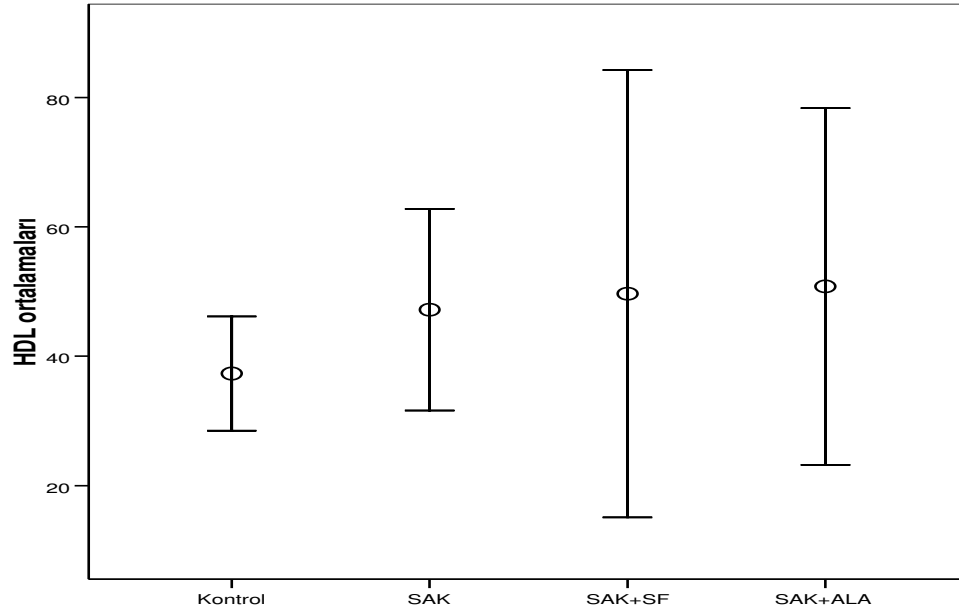
Gruplar	MDA(nMol/grdoku) Medyan (Min-Max) Ortalama ± SS	PON (U/L) Medyan (Min-Max) Ortalama ± SS	HDL (mg/dl) Medyan (Min-Max) Ortalama ± SS
Grup 1 (n:7)	143,5 (69-202) 143,41±43,16	43,38 (22,52-88,32) 48,79 ±24,56	35,50 (33-45) 37,33±4,41
Grup 2 (n:7)	199.3 (80-280) 179,78±79,22	34,88 (13,24-51,66) 36,64±14,44	54 (21-70) 47,2±7,75
Grup 3 (n:7)	149.1 (73-223) 156,34±54,65	30,57 (12.8-82,8) 30,18±30,69	41 (41-70) 49,67±17,29
Grup 4 (n:7)	161 (118-232,70) 164,80±30,48	16,78 (13,24-39,30) 21,28±10,56	42,5 (21-70) 50,18±13,79



Şekil 8a: Gruplarda MDA düzeylerindeki değişiklikler.



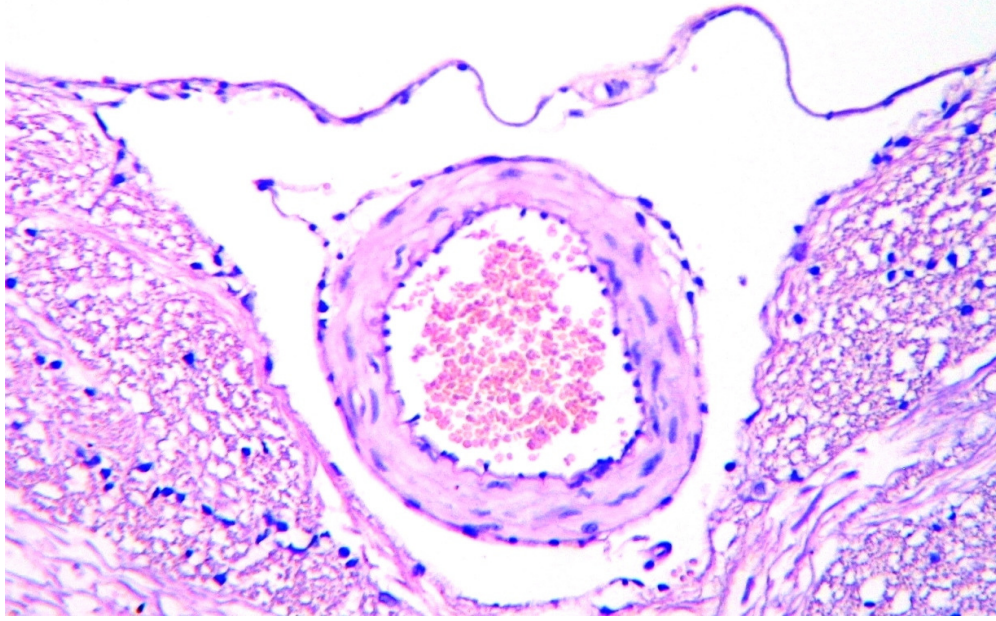
Şekil 8b: Gruplarda PON düzeylerindeki değişiklikler.



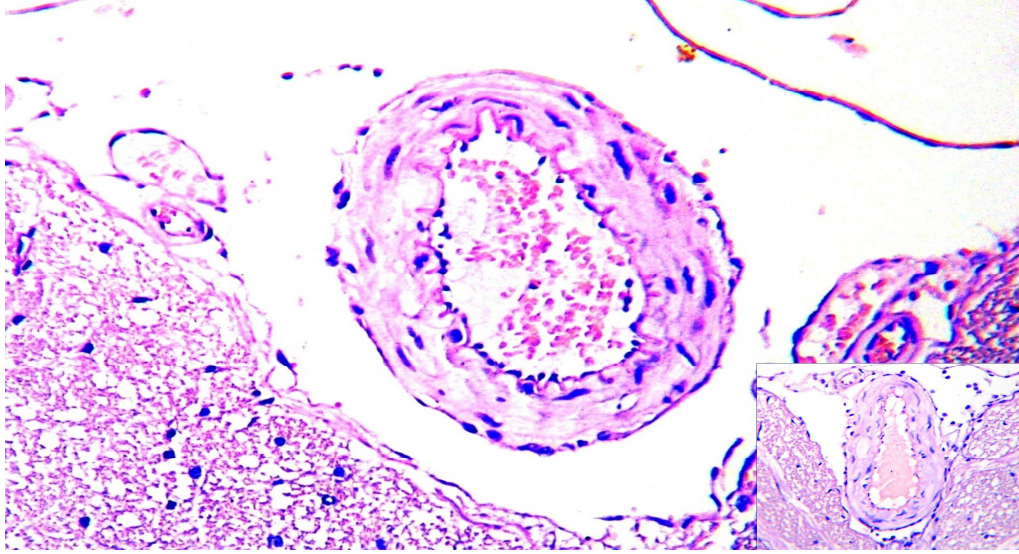
Şekil 8c: Gruplarda HDL düzeylerindeki değişiklikler.

4.2. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

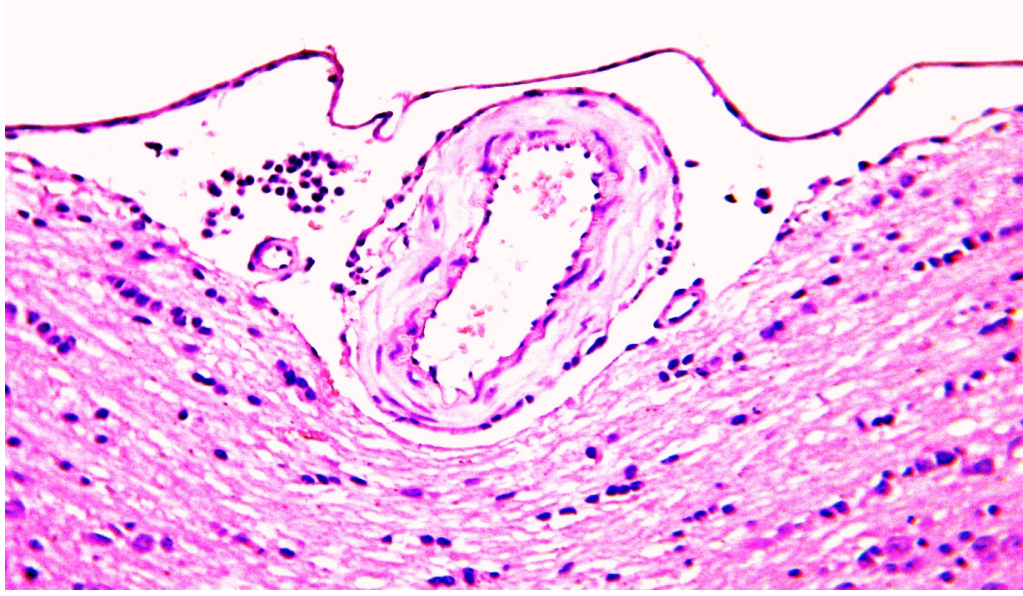
Mikroskopik değerlendirmede G1 grubunda tek sıralı ve devamlılık gösteren endotel ile döşeli, ince bir internal elastik laminanın ve intima çevresinde konsantrik olarak yerleşmiş düz kas tabakalarının gözlendiği normal baziler arter histolojisi izlenmiştir (Resim 3). G2 ve G3 grubunda endotel hücrelerinde yer yer şişme ve dökülme, bazı alanlarda internal elastik laminada ondülasyon artışı ile karakterize düzensiz görünüm, arter duvarlarında belirgin kalınlaşma ve buna eşlik eden lümen daralması yanı sıra bazı arterlerde distorsiyon dikkati çekmiştir (Resim 4 ve 5). G4 grubunda, G2 ve G3 grupları ile kıyaslandığında arter duvarlarının belirgin derecede incelendiği ve lümen çapının arttığı görülmüştür (Resim 6). Buna karşın, bu gruptaki arterlerin endotel hücrelerinde yer yer şişme ve dökülme ile bazı arterlerde distorsiyon izlenmiştir.



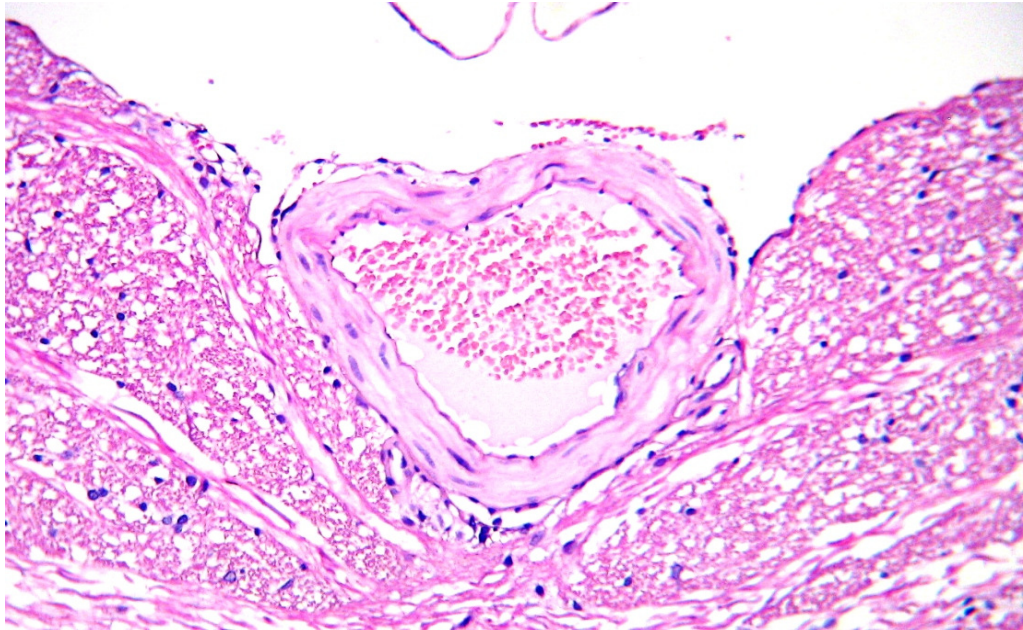
Resim 3: G1 grubunda normal baziler arterin mikroskopik görünümü (H&E; X200).



Resim 4: SAK grubunda (G2) baziler arter duvar kalınlığının arttığı ve lümenin daraldığını (içteki resimde daha belirgin olarak) gösteren mikroskopik görünüm (H&E; X200).



Resim 5: SAK+SF grubunda (G3) baziler arter duvar kalınlığının arttığı ve lümenin daraldığını gösteren mikroskopik görünüm (H&E; X200).



Resim 6: SAK+ALA grubunda (G4) baziler arter lümen çapının belirgin olarak arttığı gösteren mikroskopik görünüm (H&E; X200).

4.3. Morfometrik Sonuçlar

Baziller arterlerde damar duvar kalınlığı ve lümen genişliği ile ilişkili veriler Tablo 8’de verilmiştir. Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 1 ile Grup 3 karşılaştırıldığında baziller arter duvar kalınlığı ve lümen çapı arasında anlamlı bir fark mevcuttur (Sırası ile $p<0.05$, $p<0.05$). Grup 1 ile Grup 4 ve Grup 2 ile Grup 3 karşılaştırıldığında baziller arter duvar kalınlığında anlamlı bir fark mevcut iken, lümen çapları arasında anlamlı bir fark mevcut değildir (Sırası ile $p<0.05$, $p<0.05$). Grup 3 ile Grup 4 arasında baziller arter damar duvar çapında anlamlı değişiklik yok iken lümen çapları arasında anlamlı bir fark mevcuttur ($p<0.05$) (Şekil 9a, 9b).

Tablo 9: Gruplar arasındaki Baziller arter duvar kalınlığı ve lümen çapı arasındaki morfolojik dağılım.

Gruplar	n	Duvar kalınlığı (μm)	Lümen Çapı (μm)
Grup 1	7	26,43 $\pm$ 1,12	100,24 $\pm$ 2,38
Grup 2	7	33,21 $\pm$ 1,84 *	91,50 $\pm$ 3,99 *
Grup 3	7	31,18 $\pm$ 2,64 †	85,24 $\pm$ 10,89 †
Grup 4	7	30,34 $\pm$ 1,63 ‡ €	99,82 $\pm$ 10,43 £

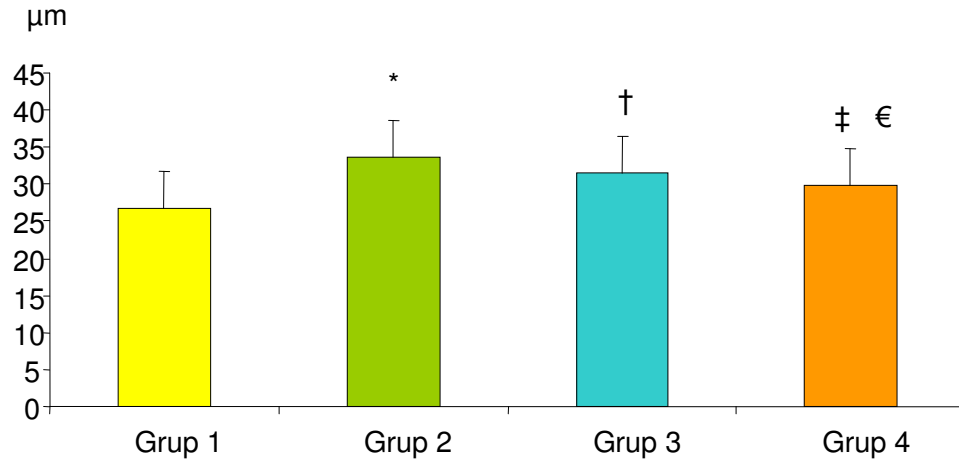
* : Normal ile SAK arasındaki anlamlılık($p<0.05$).

† : Normal ile SAK + SF arasındaki anlamlılık($p<0.05$).

‡ : Normal ile SAK + ALA arasındaki anlamlılık($p<0.05$).

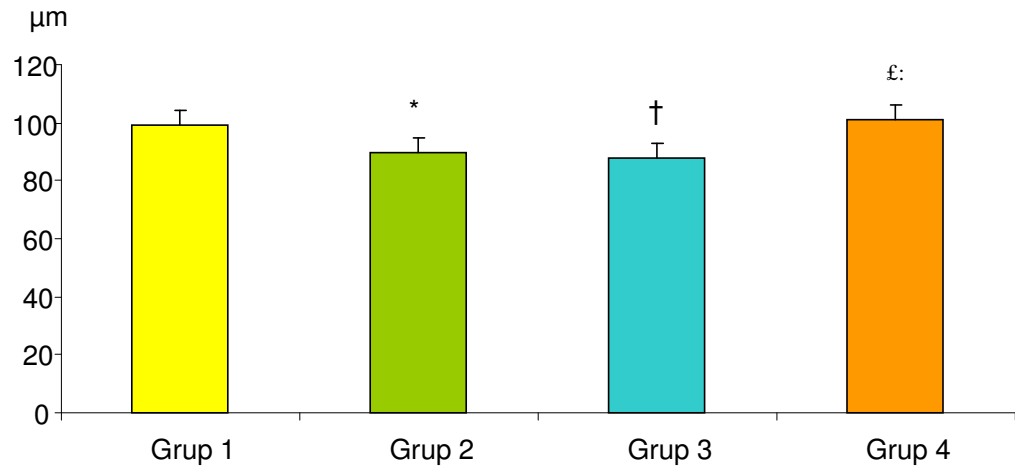
€: SAK ile SAK + SF arasındaki anlamlılık($p<0.05$).

£: SAK+SF ile SAK+ ALA arasındaki anlamlılık($p<0.05$).



*: p=0,001; Grup 1 ile Grup 2 arasında.
†: p=0,001; Grup 1 ile Grup 3 arasında
‡: p=0,001 Grup 1 ile Grup 4 arasında
€: p=0,007 Grup 2 ile Grup 4 arasında

Şekil 9a: Gruplar arasındaki duvar kalınlığının morfolojik dağılımı.



*: p=0,001 Grup 1 ile Grup 2 arasında
†: p=0,017 Grup 1 ile Grup 3 arasında
£: p=0,038 Grup 3 ile Grup 4 arasında

Şekil 9b: Gruplar arasındaki lümen çaplarının morfolojik dağılımı.

5. TARTIŞMA

Serebral vazospazm, subaraknoid kanama sonrası beyin bazalinde yer alan major serebral arterlerin lümen çaplarında fokal veya diffüz daralmadır (19). Anevrizma rüptürüne bağlı oluşan subaraknoid kanama sonrasında gelişen gecikmiş iskemik defisit'ler den birinci derecede sorumlu olup mortalite ve morbiditenin en önemli sebebidir (13, 15). SAK sonrası ilk iki hafta içinde serebral vazospazm varlığı mortaliteyi 1,5 kattan 3 kata kadar artırır (18). Vazospazm anevrizmal subaraknoid kanamalı hastaların %70'inde görülürken, %30-40'ında semptomatik serebral iske mi görülür (18, 19). Anjiyografik vazospazmın ilk olarak tanımlandığı 1951'den bu zamana kadar, SAK sonrası gelişen serebral vazospazm üzerine yoğun klinik ve deneysel çalışmalara rağmen temel fizyopatolojisi ve medikal tedavisi henüz tam olarak ortaya konulamamıştır (13, 15, 19).Yapılan çalışmalarda vazospazmın sebebinin multifaktöryel olduğu belirtilmiştir. Vazospazm için farmakolojik tedavinin henüz yeterince standardize edilememesi, klinik ve deneysel çalışmalara devam edilmesi gerekliliğini düşündürmektedir.

İnsanlarda serebral arterlerde deneysel çalışma yapma imkânsızlığı nedeniyle çalışmalar hayvan modelleri üzerine yapılmaktadır. İnsanlardakine benzer sisterna yapısı hiçbir deney hayvanlarında mevcut değildir. İdeal denekler uygulanan tedavinin etkinliğine ve toksitesine dayanıklı olmalı ve bu model anevrizma rüptürü sonrası gelişen subaraknoid kanamaya yakın bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Ratlar ucuz ve kolay elde edilebilir olmaları yanında SVS oluşturma nın kolaylığı nedeniyle tercih edilir olmuşlardır. Ratlar yeni farmakolojik tedavileri, daha büyük hayvanlarda denemeye geçmeden önce ilk çalışma sonuçlarını görmek açısından da uygundur. Denekler ile yapılan çalışmalarda, SAK sonrası baziler arterde daralmanın insanlarda gelişen vazospazm la aynı özellikleri gösterdiği kabul edilmiş ve baziller arterin anjiyografik ve morfometrik ölçümlerinin birbirine yakın olduğu saptanmıştır (136, 137).

Hayvanlarda doğal yoldan SVS oluşturan bir model olmadığından arteryel daralmaya yol açacak, subaraknoid kanama yapmaya yönelik birçok yöntem tarif edilmiştir. İn vivo hayvan modelleri; sıklıkla bu çalışmada da uygulanan model olan sisterna magnaya otolog kanın intrasisternal enjeksiyonu ile subaraknoid kanama oluşturulmasıdır (77, 84). Ancak deney hayvanlarında vazospazm, otolog kan enjeksiyonundan sonra 48 saat içersinde ortaya çıkmakta, daha sonra vazosapzm bir

miktar gevşemekte, 72.saatten sonra damarlarda tekrar daralma meydana gelmektedir (76, 77, 83). Bu bifazik duruma vazospazm'ın akut ve kronik fazı denmektedir. İkinci sıklıkla uygulanan model, serebral arterlerin ponksiyonla delinerek yırtılması (transklival yolla baziler arterin rüptürü) ile SAK meydana getirilir ve oldukça şiddetli SVS elde edilir. Baziler arterin seçilmesinin diğer bir nedeni de hayvanlarda posterior sistemin fazla gelişmiş olmasıdır (74).

Subaraknoid aralıktaki kanın vazospazma neden olduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (32, 38). Bu çalışmada ratların sisterna magnasına, yine ratların kuyruk arterinden alınan otolog arteriyel kanın intrasisternal enjeksiyonu ile subaraknoid kanama oluşturuldu. Deneysel model daha önce yapılmış çalışmalara uyumlu olacak şekilde oluşturuldu (132, 133).

Tedavi grubundaki denekler sakrifiye edilmeden önce iki gün süre ile günde bir kez ALA 100 mg/kg/gün dozunda intraperitoneal olarak verildi. 48. saatte denekler sakrifiye edilerek baziler arter kesitleri alındı.

SVS patogenezinde, serbest oksijen radikalleri ile lipid peroksidasyonunun rolü, nitrik oksit, endotelin reseptörleri ve inflamatuvar reaksiyonlarla ilişkisi gösterilmiştir (138-140). Bu durum serebral damarların yavaş gelişen ancak devamlı olan kasılmasıdır. Akut vazospazmın geç vazospazma öncülük edip etmediği veya şiddetini arttırıp arttırmadığı tam bilinmemektedir (141). Vazospazmın erken fazının tedavi edilebileceği bazı araştırmacılar tarafından düşünülmektedir (194).

Geç dönem vazospazm ciddi nörolojik morbidite ve ölümlerden sorumludur ve çoğu zaman tedaviye dirençlidir (142) .

Günümüze kadar kullanılan birçok ajan serebral vazospazmı açıklayan faktörlerden ancak bir ya da bir kaçına etkili olabileceği düşünülerek kullanılmış, fakat tedavide başarılı olunamamıştır (14, 15, 19).

Kalsiyum kanal blokeri nimodipin'in klinik etkinliği zayıf derecede olmasına rağmen klinik kullanımı yaygındır. SAK sonrası 21.güne kadar her 4 saatte bir 60 mg dozunda verilmektedir. Diğer kalsiyum kanal blokerleri olan nikardipin ve diltiazem de çalışılmıştır, yalnızca nikardipinin kontrollü kullanımı mevcuttur (167). İntraarteriel papaverin güçlü bir düz kas gevşetici olmakla birlikte potansiyel yan etkilerinin fazla olması kullanımını kısıtlamıştır. Çeşitli ajanların SVS üzerine olası etkinliğini göstermeyi amaçlayan çok sayıda klinik ve deneysel çalışma özellikle son

30 yılda yapılmıştır ve yapılmaya da devam etmektedir. Vazospazmın yan etkilerini önlemede potansiyel rolü en umut verici ajanlar trilazad mezilat, endotelin reseptör antagonistleri, fosfodiesteraz inhibitörleri (milrinon), magnezyum, statinler ve protein kinaz inhibitörleri (fasudil) gibi görülmektedir (143).

Teorik olarak serebral vazospazmı tedavi etmek için kullanılacak ajanın vazospazmın erken ve geç döneminde vazospazma yol açtığı düşünülen etkileri bloke edebilecek özelliklere sahip olması gereklidir. Bu amaçla diyabet, iskemik reperfüzyon hasarı, katarakt oluşumu, HIV aktivasyonu (121, 147), sinir rejenerasyonu ve radyasyon hasarı gibi oksidatif hasar modellerinin bir kısmında etkinliği gösterilmiş güçlü bir antioksidan olan alfa lipoik asidin vazospazm üzerine etkisini inceledik.

ALA, iki adet tiyol grubu içerir ve mitokondride pirüvat dehidrogenaz ile alfa ketoglutarat dehidrojenasyonunda önemli bir kofaktör olarak görev alır (91). Diyet ile alınabilen ve kan beyin bariyerinden geçebilen düşük moloküler ağırlıklı metabolik bir antioksidandır (91). ALA'nın direkt serbest radikal avcısı olması yanında diğer antioksidanların geri dönüşümünü sağladığını ve metabolik antioksidan etkisinin özellikle nükleer faktör-kappa B'in sinyal geçişini düzenleyerek olduğunu ve böylelikle oksidatif hasara karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (146).

ALA ve indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asit (DHLLA) serbest oksijen radikallerine (SOR) karşı yüksek derecede reaktif bulunmuş ve SOR avcısı gibi işlev gördüğü ve böylece oksidatif stresi azalttığı bulunmuştur (147).

Aynı zamanda direkt olarak reaktif oksijen ve nitrojen türlerini azalttığını gösteren çalışmalarda mevcuttur (146, 148). Bunların yanında SOR'lerini temizlemeye yönelik antioksidan özellikleri ve ALA'nın intrasellüler glutation seviyeleri üzerindeki spesifik stimülatör etkisi ile serebrovasküler iskemik hastalıkların tedavi rejimlerinde önemli bir komponent olabileceği ileri süren çalışmalarda vardır (149, 150). Diabet (151), Parkinson (152), Huntigton hastalığı (153), Alzheimer (154) 'ın invitro deneysel modellerinde nöronal dejenerasyonu önlemede etkin olduğu gösterilmiştir. Vitamin E'nin rejenerasyonu ve LDL kolesterolün oksidasyonunu önlemesi ile ateroskleroza karşı koruyucu olduğu (155), lens oksidanı olan glutatyonu rejenere ederek katarakt oluşumunu önlediği (156) ve radyasyona maruz kalanlarda serbest radikal hasarını azalttığı gösterilmiş (157).

ALA en geniş klinik uygulamaları diyabetin ve onun komplikasyonlarının tedavisinde kaydedilmiştir (158).

DHLA'in serebral iskemi sonrası, SOR'ini azaltarak infarkt volümünü küçülttüğünü ve nöronal koruyucu etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (159,160) .

Panigrahi ve ark'ları alfa lipoik asidin, rat beyinde serebral iskemi izleyen reperfüzyon travması'na karşı koruyucu olduğunu ve yaşam süresini arttırarak etkili bir koruma sağladığını rapor etmişlerdir (161).

Moini ve ark'larında ALA'nın SOR'leri ve reaktif hidrojen moleküllerini temizleyerek, DNA hasarını önleyerek ve şelasyon aktivitesi göstererek lipid peroksidasyonunu azalttığını ve intrasellüler glutation seviyelerini artırarak serebral vasküler hastalıkların tedavi rejimlerinde kullanılabilecek önemli bir konpanenet olabileceğini bildirmişlerdir (147).

Literatürde bizim çalışmamızla paralellik gösteren, deneysel SAK modelinde ALA'nın oksidatif hasar üzerine etkinliğinin araştırılmış olduğu tek çalışma Erşahin ve ark'ları tarafından yapılmıştır. Erşahin ve ark'ları ratlarda deneysel SAK modeli oluşturmuş ve ilaç grubundaki ratlara 100mg/kg gavaj yolu ile ALA vermişlerdir. Bizimde çalıştığımız lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA ve baziller arter kesitlerinin histomorfometrik analizi yanında inflamasyonun niceleyici bir göstergesi olan myeloperoksidaz enzim aktivitesi, majör bir intrasellüler antioksidan molekül olan glutation seviyeleride araştırmacılarca değerlendirilmiştir. ALA'nın serbest radikal oluşumunu inhibe ederek, nötrofil birikiminin inhibisyonu ve endojen antioksidan enzim aktivitesini artırmak yolu ile nöronal koruyucu etkinliği olduğunu ve SAK'lı hastalarda sekonder yaralanmayı azaltarak etkili bir terapötik ajan olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (166).

Biz çalışmamızda oksidatif stresi değerlendirmek için, lipid peroksidasyon son ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA), antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için ise paraoksanaz (PON) ve HDL değerlerini ölçtük.

Hücre membranlarında hasar oluşturan reaktif oksijen türevlerinin aracılık ettiği lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA endotel ve düz kas hücrelerinde toksik hasar oluşturur (166).

Dolayısıyla, MDA lipid peroksidasyonunun ve SVS'nin duyarlı bir belirleyicisi olarak kullanılabilir (162,163).

HDL yapısında bulunan bir endojen antioksidan enzim olan PON, plazmada kalsiyum bağımlı bir arilesterazdır. PON'un HDL'nin oksidatif hasardan korunmasında rol oynadığı bilinmektedir (164). PON değerleri antioksidan savunma sisteminin bir göstergesi olarak kullanılabilir (135).

Çalışmamız sonucunda; SAK sonrası MDA konsantrasyonlarını beklediği gibi SAK gruplarında (G2, G3), normal gruba (G1) kıyasla yüksek bulduk. Ancak ALA grubunda (G4), Erşahin ve ark'larının tespit ettiğinin aksine MDA konsantrasyonlarında istatistikî olarak anlamlı düzeyde bir düşme tespit etmedik (166). SAK oluşturulan gruplarda (G2,G3,G4), PON değerlerinin normal gruba (G1) kıyasla düştüğünü saptadık. Ancak ALA grubunda (G4) beklenen yükselmeyi tespit etmedik.

Ayrıca, hem histopatolojik hem de Erşahin ve ark'larının kullanmadığı morfometrik ölçüm yöntemleri kullanılarak ratlardan elde edilen baziller arter kesitlerinde SAK sonrası gelişen morfolojik değişiklikleri incelendik. Morfometrik analiz bazı deneysel SAK modellerinde vazospazmı göstermesi açısından tercih edilen bir yöntemdir (137, 165). Morfometri SAK sonrası serebral arterlerde oluşan değişikliklerin hem derecesinin hem de doğasının niceleyici olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır (225). Damar çapının morfometrik olarak incelenmesi vazospazmın güvenilir bir ölçütü olarak kabul edilebilir (165).

Bu çalışmada normale göre (G1 grubu) SAK oluşturulan ratlarda (G2 grubu) damar duvar kalınlığının morfometrik olarak arttığı, buna karşın lümen çapının azaldığı belirlenmiştir.

Erşahin ve ark'ları nın SAK grubundakine benzer endotel hücrelerinin dökülmesi, internal elastik laminanın düzensiz görünüm kazanması ve yer yer damar distorsiyonlarının gelişmesi gibi SAK'ın baziler arterlerde belirgin değişikliklere yol açtığını destekleyen mikroskopik bulgular dikati çekmiştir.

SF uygulanması ile (G3) damar duvar kalınlığının azaldığı, buna karşın lümen çapının değişmediği gözlenmiştir. ALA uygulanan ratlarda (G4) ise damar duvar kalınlığının diğer SAK gruplarından farklı olmadığı, ancak lümen çapının nerdeyse normale döndüğü buna karşın Erşahin ve ark'ları nın aksine histopatolojik düzelme tespit edilememiştir.

Elde edilen morfometrik bulgular ALA'nın damar duvar kalınlığı üzerinde etkisinin olmadığını, buna karşın lümen çapının artmasını sağlayarak kısmen de olsa SVS'ye karşı etkili olabileceğini göstermektedir.

Bununla birlikte MDA ve PON değerlerinin SAK ve ALA gruplarında farklılık göstermemesi ALA'nın lümen çapını artırıcı etkisini farklı mekanizmalar üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada ALA'nın SVS üzerindeki olası etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular ALA'nın MDA ile ilişkili lipid peroksidasyonunu önleyici veya PON ile ilişkili antioksidan etkinliğinin olmadığını, ancak lümen çapında önemli derecede artış sağladığını göstermiştir. ALA'nın baziller arter üzerindeki bu damar genişletici etkisini ve serebrovasküler olaylardaki gerçek rolünü anlamak için MDA, PON ve HDL dışında farklı değişkenlerin kullanıldığı deneysel araştırmaların yapılması yararlı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Biller J, Godersky JC, Adams H. Management of Aneurysmal SAH. Stroke, 1988; 19: 1300-1305.
2. Heidrich R:SAH. In Vinken PJ and Bruyn GW (Eds). Handbook of clinical neurology North Holland Publishing Co, Netherlands. 1975: 68-204.
3. Ingali IJ, Whisnant JP, Wiebers DO. Has there been a decline in SAH mortality. Stroke, 1989; 20: 718-721.
4. Wilkins RH. Update-SAHA and saccular intracranial aneurysms. Surg Neurol.1981; 15: 92-102
5. Rinkel OE, Wijndicks EFM, Vermeulen M. The clinical course of perimesencephalic non aneurysmal SAH. Ann Neurol, 1991; 29: 463-466.
6. Adams HP Jr, Gordon DL. Non aneurysmal SAH. Ann Neurol, 1991; 29: 461-465.
7. Kassel NF, Torner JC, Haley C. The international cooperative study on the timing of aneurysm surgery. J Neurosurg, 1970; 73: 18-36.
8. Kassel NF, Torner JC, Haley C. J Neurosurg, 1990; 73: 37-47.
9. Bolander HG, Kourtopoulos H, West KA. Retrospective analysis of 162 consecutive cases of ruptured intracranial aneurysms. Total mortality and early surgery. Acta Neurochir, 1984;70: 31-38.
10. Sacco RL, Wolf PA, Baharvcha NE. Subarachnoid and intracerebral hemorrhage. Natural history, prognosis and precursive factors in the framingham study. Neurology, Cleveland, 1984; 34: 847-851.
11. Ljunggren B, Saveland H, Brandt L. Early operation and overall outcome in aneurysmal SAH. J Neurosurg, 1985; 62: 547-551.
12. Grote E, Hassler W. The critical first minutes after SAH. Neurosurgery, 1988; 22: 654-657.
13. Hizdra A, Vermeulen M, Van Gijn J. Respiratory arrest in SAH, Neurology (NY), 1984; 34: 1501-1504.

14. Drake CG. Managements of cerebral aneurysms. Stroke, 1981; 12: 273-283.
15. Inagawa T, Yamamoto M, Kamiya K. Management of elderly patients with aneurysmal SAH. Clin Neurosurg, 1988; 6: 332-338.
16. Suzuki J, Ohara H. Clinicopathological Study of Cerebral aneurysms. Origin, rupture, repair and growth. J Neurosurg, 1978; 48: 505-514.
17. (Weir B: Intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage: An overview: Ed: Wilkins RH, Rengachary SS. Neurosurgery, Vol. 2, New York, McGraw-Hill 1985)
18. Kumral K. Serebrovasküler hastalıklar. Bornova, İzmir: Ege Üniversitesi Matbaası, 1975.
19. Hizdra A, Vermeulen M, Van Gijn M, Van Crevel H. Respiratory arrest in Subarachnoid hemorrhage. Neurology, 1984; 34: 1501-1503
20. Sekhar LN, Heros RC. Origin, growth and rupture of saccular aneurysms. A review. Neurosurgery, 1981; 8: 248-260.
21. Asano T, Sano K. Pathogenetic role of Phenomenon in experimental SAH in dogs. J Neurosurg, 1977; 46: 454-466.
22. Guy J, McGrath BJ, Borel JO. Preoperative management of aneurysmal SAH. Part I. Operative management Anesth Analg. 1995; 81: 1060-1072.
23. Botterel EH, Loughheed WM, Scott JW. Hyponatremia and interruption of carotid or jugular and circulation in the surgical management of intracranial aneurysms. J Neurosurg, 1956; 13: 1-42.
24. Hunt WE, Hess RM. Surgical risk as related to time of intervention in the repair of intracranial aneurysms. J Neurosurg, 1968; 28: 14-20.
25. Yaşargil MG. Microneurosurgery. George Thieme Verlag. Stuttgart: 1984.
26. Asano T. Oxyhemoglobin as the principal cause of cerebral vasospasm. A holistic view of its actions. Critical reviews in Neurosurgery 9 :1999
27. Chehnaizi BB, Giri S, Joy RM. Prostaglandins and vasoactive amines in cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Stroke 20: 1989

28. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM, Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computer tomographic scanning. *Neurosurgery* 6:1980
29. Ikeda Y, Long DM. The molecular basis of brain injury and brain edema: The role of oxygen free radicals *Neurosurgery* 27: 1990
30. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computer tomographic scanning. *Neurosurgery* 6: 1980
31. Maeda Y, Tani E, Miyamoto T. Prostaglandin metabolism in experimental cerebral vasospasm. *J Neurosurg.* 55: 1981
32. Nosko M, Schulz R, Weir B, Cook DA, Grace M. Effects of vasospasm on levels of prostacyclin and thromboxane A₂ in cerebral arteries of the monkey. *Neurosurgery* 22: 1988
33. Pluta RM, Afshar JK, Boock RJ, Oldfield EH. Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and after subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg* 88: 1998
34. Sakaki S, Kuwabara H, Ohta S. Biological defence mechanism in the pathogenesis of prolonged cerebral vasospasm in the patients with ruptured intracranial aneurysms. *Stroke* 17: 1986
35. Sano K, Asano T, Tanishima T, Sasaki T. Lipid peroxidation as a cause of cerebral vasospasm. *Neurol res.* 2: 1980
36. Sasaki K, Tanishima T, Asano T, Mayanagi Y, Sano K: Significance of lipid peroxidation in the genesis of chronic vasospasm following rupture of an intracranial aneurysm *Acta Neurochirurg Suppl* 28: 1979
37. Weir B, Stoodley M, Macdonald R, Etiology of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir.* 72: 1999
38. Zabramski JM, Spetzler RF, Bonstelle C: Chronic cerebral vasospasm: Effect of volume and timing of hemorrhage in a canine model. *J Neurosurg* 18: 1986
39. Allen GS, Gross CJ, French LA. Cerebral arterial spasm. Part 5, In vitro Contractile Activity of Vasoactive Agents including Human CSF on Human Basilar and Anterior Cerebral Artery. *J Neurosurg*, 1976; 44: 596-600.

40. Sasaki T, Asano T, Takakura K. Nature of the Vasoactive Substance in CSF from patients with Subarachnoid Hemorrhage. *J Neurosurg*, 1984; 60: 1186-1191.
41. Hanma Y, Clower BR, Haining JL. Comparison of intimal platelet accumulation in cerebral arteries in two experimental models of subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*, 1989; 24: 487-490.
42. Greenberg MS, Tsais, Shipley MT. Immuno-histochemical Demans of Alterations in Cerebrovascular Innervation after Experimental Subarachnoid Hemorrhage. In *A ANS Abstracts*, 1987;319-320.
43. Nakagomi T, Kassell NF, Sasaki T. Effect of subarachnoid hemorrhage on endothelium-dependent vasodilatation. *J Neurosurg*. 1987; 66: 915-923.
44. Kassel NF, Peerles SZ, Durvard QZ. Treatment of ischemic deficits from vasospasm with intravascular volume expansion and induced arteriel hypertension. *Neurosurgery*, 1983; 12: 658-661.
45. Wilkins RH. Cerebral vazospasm. *Contemp. Neurosurg* 1988;10:18-21
46. Kassel NF, Sasaki T, Colohan ART. Cerebral Vasospasm following Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*, 1985;16: 562-572.
47. Alksne JF, Bronson PZ. Prevention of experimental subarachnoid hemorrhage induced intracranial arterial vasonecrosis with phosphodiesterase inhibition phythalazinol. *Stroke*, 1979; 10: 638
48. Tani E, Yamagala S, Ho Y. Intracellular granules and vesicles in prolongeal cerebral vasospasm. *J. Neurosurg*, 1978; 48: 179-189.
49. Weir B, Menon D, Overfon T. Regional cerebral blood flow in patients with aneurysms. Estimation by Xenon 133. *Can J Neurol Sci*, 1978; 5: 301-305.
50. Powers NJ, Grublo RL, Baker RP. Regional cerebral blood flow and metabolism in reversible ischemia due to vasospasm. Determination by positron Emission Tomography, *J. Neurosurg*, 1985; 62: 539-546.
51. Nishioka H, Torner JC. Cooperative sutdy of intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage. A long-terms prognostic study II. Subarachnoid hemorrhage of undetermined etiology *Arch Neurol*, 1984; 41: 1147-1151.

52. West HH, Moni RL, Eisenberg RL. Normal cerebral angiography in patients with spontaneous subarachnoid hemorrhage. *Neuro Tolun R, Subaraknoid kanamanın teşhis vede erlendirilmesinde bilgisayarlı tomo rafinin de eri. Nöroloji, Nöroşirurji, Psikiyatri Dergisi*,1986;1: 173-177.
53. Fogelhol M. Subarachnoid hemorrhage in middle Finland. Incidence early prognosis and indications for neurosurgical treatment. *Stroke*, 1981; 12: 296-301.
54. Classification of Cerebrovascular Diseases III. Special report from the National institute of Neurological Disorders and Stroke. *Stroke*, 1990; 21: 637-667.
55. Philips LH, Whisnant JP, O'fallon WM, Sundt TM. The unchanged pattern of subarachnoid hemorrhage in a community. *Neurology*, 1980; 30: 1038-1040.
56. Winn HR, Richardson AE, Jane SA. The long-term prognosis in un treated cerebral aneurysm. A 10 year evaluation of 364 patients. *Ann Neurol* 1, 1977; 1: 358-370.
57. Long streth WT, Koepsell TD, Yerby MS, Van Bell G. Risk factors for subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1985;16: 377-384.
58. Duff GP. Lumbar puncture in spontaneous Subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg Psychiatry*, 1990; 53: 365-372.
59. Bilge T, Kaya U, Tolun R, Subaraknoid kanamanın teşhis ve değerlendirilmesinde bilgisayarlı tomo rafinin de eri. *Nöroloji, Nöroşirurji, Psikiyatri Dergisi*,1986;1: 173-177.
60. Handa J, Nakano J, All 3, Handa H. Computed tomography with giant inatrcranial aneurysms. *Surg Neurol*, 1978; 9: 257-263.
61. Yamamoto I, Hara M, Ogura K, Suzuki Y, Nakane I, Kageyama N. Early operation for ruptured intracranial aneurysms. Comparative study with computed tomography. *Neurosurgery*, 1983; 12: 169-173.
62. Venmeulen M, Van Gijn M. The diagnosis of Subarachnoid hemorrhage. *J Neurol, Neurosurg. Psychiatry* 1990; 53: 365-372.
63. Grobb RL, Reichle ME, Eichling JO. Effects of SAH on cerebral blood volume, blood flow and oxygen utilisation in humans. *J Neurosurg*, 1977; 46: 446-453.
64. Jakobsen M, Enevoldsen E, Bjerre P. CRF and metabolism fallowing SAH. *Acta Neurol Scand*,1980; 82: 174-183.

65. Origiano TL, Wsachler TA, Reichman OH. Sustained increased CBF with prophylactic hypertensive hypervolemic hemodilution (Triple-Hetherapy) after SAH. *Neurosurgery*, 1990; 27: 729-740.
66. Rosenwasser RH, Delgado TE, Bucheit WA. Control of hypertension and prophylaxis against vasospasm in cases of SAH. A preliminary report. *Neurosurgery*. 1983;12: 658-661.
67. Siesjö Bk. Calcium and ischemic brain damage. *Eur Neurol*, 1986; 25: 45-56.
68. Leblanc R. Clinical and experimental investigation of aneurysmal SAH. *Neurosurg*, 1991; 4: 63-70.
69. Soloman RA, Fink ME. Current strategies for the management of aneurysmal SAH. *Arch Neurol*. 1987;44: 769-774.
70. Baker KF, Zervas NT, Pile-Spellman J. Angiographic evidence of basilar artery constriction in the rabbit: A new model of vasospasm. *Surg Neurol* 1987;27: 107-112.
171. Lye RH, Paul KS, Forster CM, VVhalley ET, Dutton J. Effect of fibrin-fibrinogen degradation products on human basilar artery preparations. *J Neurosurg* 1982; 56: 339-343.
72. Megyesi JF, Vollrath B, Cook DA, Findally JM. In vivo animal models of cerebral vasospasm: a review. *Neurosurgery* 2000; 46(2): 448-461
73. Barry KJ, Gogjian MA, Stein BM. Small animal model for investigation of subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm. *Stroke* 1979;10: 538-541.
74. Bederson JB, Germano IM, Guarino L. Cortical blood flow and cerebral perfusion pressure in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat. *Stroke* 1995; 26: 1086-1091.
75. Cook DA. Mechanisms of cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Pharmac. Ther* 1995; 66: 259-284.
76. Cuevas P, Carceller F, Nieto I, Gimenez-Gallego G, Spasmolytic effect of acidic fibroblast growth factor in early cerebral vasospasm in the rat. *Surg Neurol* 1998; 49:176-180.

77. Delgado TJ, Brismar J, Svendgaard NA. Subarachnoid hemorrhage in the rat: Angiography and fluorescence microscopy of the major cerebral arteries. *Stroke* 1985;16: 595-602.
78. Endo S, Branson PJ, Alksne JF. Experimental model of symptomatic vasospasm in rabbits. *Stroke* 1988; 19: 1420-1425.
79. Epinosa F, Weir B, Overton T, Castor W, Grace M, Boisvert D. A randomized placebo-controlled double-blind trial of nimodipin after SAH in monkeys: Part I-Clinical and radiological findings. *J Neurosurg* 1984; 60: 1167-1175.
80. Epinosa F, Weir B, Shnitka T, Overton T, Boisvert D. A randomized placebo-controlled double-blind trial of nimodipin after SAH in monkeys: Part 2 -Clinical and radiological findings. *J Neurosurg* 1984; 60: 1176-1185.
81. Otsuji T, Endo S, Hirashima Y, Nishijima M, Takaku A. An experimental model of symptomatic vasospasm induced by oxyhemoglobin in rabbits. *Stroke* 1994; 25: 657-662.
82. Piepgras A, Thome C, Schmiedek P. Characterization of an anterior circulation rat subarachnoid hemorrhage model. *Stroke* 1995; 26: 2347-2352.
83. Ram Z, Sahar A, Hadani M. Vasospasm due to massive subarachnoid hemorrhage: A rat model. *Acta Neurochir (Wien)* 1991; 110:181-184.
84. Solomon RA, Antunes JL, Chen RY, Bland LChein S. Decrease in cerebral blood flow in rats after experimental subarachnoid hemorrhage: A new animal model. *Stroke* 1985; 16: 58-64.
85. Spallone A, Pastore FS. Cerebral vasospasm in a double-injection model in rabbit. *Surg Neurol* 1989; 32: 408-417.
86. Takayasu M, Suzuki Y, Shibuya M, Asano T, Kanamori M, Okada T, Kageyama N, Hidaka H. The effects of HA compound calcium antagonists on delayed cerebral vasospasm in dogs. *J Neurosurg* 1986; 65: 80-85.
87. Varsos VG, Liszczak TM, Han DH, Kistler JP, Vielma J, Black PMcL, Heros R, Zervas NT. Delayed cerebral vasospasm is not reversible by aminophylline, nimodipine, or papaverine in a "traumatic-hemorrhage" canine model. *J Neurosurg* 1983; 58: 11-17.

88. Veelken JA, Laing RJC, Jakubovvski J. The Sheffield model of subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke* 1995; 26: 1279-1284.
89. Bradamante, S., Barengi, L., Piccinini, F., Berteli, A.A., De Jonge, R., Beemster, P. and De Jong, J.W. Resveratrol provides late-phase cardioprotection by means of a nitric oxide-and adenosine-mediated mechanism, *Eur. J. Pharmacol.* 465. 2003, pp. 115–123.
90. Das, S., Alagappan, V.K.T., Bagchi, D., Sharma, H.S., Maulik, N., and Das, D.K., 2005, Coordinated induction of inos-vegk-kdr-enos after resveratrol consumption. A potential mechanism for resveratrol preconditioning of the heart, *Vasc. Pharmacol.*, 42:281–289.
91. Liew, M.A., Stagg, K.T., Leod, M., and Collins, P. The red wine polyphenol, resveratrol, exerts acute direct actions on guinea-pig ventricular myocytes, *Eur. J. Pharmacol.* 519:2005, 1–8.
92. Stojanovic, S. Sprinz, H., Brede, O. Efficiency and mechanism of the antioxidant action of trans-resveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation. *Arch Biochem Biophys*, 391(1): 2001, 79-89.
93. Lee, D.M. Hoffman W.H., Carl, G.F., Khichi, M., Philip, E., Cornwell, P.E. Lipid peroxidation and antioxidant vitamins prior to, during, and after correction of diabetic ketoacidosis, *Journal of Diabetes and Its Complications* 16: 2002,294–300.
94. Brito, P., Almeida, L.M., Dinis, T.C.P. The Interaction of Resveratrol with Ferrylmyoglobin and Peroxynitrite; Protection Against LDL Oxidation, *Free Radical Research*, 36 (6):2002,621–631.
95. Kim, H.J.Chang, E.J. Antioxidative activity of resveratrol and it's derivatives isolated from seeds of *Paenonia lactiflora*, *Biosc. Biotechnol Biochem.* 66(9): 1990, 1990–93.
96. Nigdikar, S.V., Williams, .R., Griffin, B.A., 1998, Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo, *Am.J. Clin Nutr.* 68: 258-65.
97. Bentzon, J.F.Skovenborg, E., Hansen, C., et al. Red wine does not reduce mature atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice, *Circulation.* 103: 2001, 1681–87.

98. Chopra, M., Fitzsimons P.E.E., Strain J.J., et al. Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations, *Clin. Chem.* 46(8): 2000, 1162–70.
99. Sharpe, P.C., McGrath, L.T. Effects of red wine consumptions on lipoprotein(a) and other risk factors for atherosclerosis, *Q.J.M.*, 88: 1995, 101-108.
100. Laden, B.P., Porter, T.D. Resveratrol inhibits human squalene monooxygenase, *Nutrition Res.* 21: 2001, 747–53.
101. Belguendouz, L., Fremont, L., Gozzelino, M.T. Interaction of trans resveratrol with plasma lipoproteins, *Biochem Pharmacology* 55(6):1998, 811-16.
102. Efrat S. Beta-cell replacement for insulin-dependent diabetes mellitus, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(2): 2008, 114-123.
103. Botero D. Wolfsdorf J.I. Diabetes Mellitus in Children and Adolescents, *Archives of Medical Research* 36: 2005, 281–290.
104. Kocabalkan F. Baykal Y. Bulucu F. Yaşın İnsülin Direnci ve Sekrasyonuna Etkisi, *Geriatri*, 2 (3): 1999, 132-136.
105. Genestra M. Oxl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants, *Cellular Signalling*, 192007, 1807–1819.
106. Kargin F. Fidancı, U.R. Böbrek hastalıklı köpeklerde antioksidatif metabolizma. *Türk J Vet Anim Sci*, 25: 2001, 607-613.
107. Kyselova P. Zourek M. Rusavy Z. Trefil L., Racek J. Hyperinsulinemia and Oxidative Stres, *Physiol. Res.* 51: 2002, 591-595,
108. Demirhan E. Eriman, E.Ö., İçağasıoğlu A., Haliloğlu S. Tip 1 Diabetes Mellitus’lu Hastaların Kemik Mineral Yoğunluğu Sağlıklı Kontrollerinkinden Farklı mı?. *Osteoporoz Dünyasından*, 13: 2007, 28-32
109. Kumar A., Kaundal R.K., Iyer S., Sharma S.S. Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy, *Life Sciences*, 80(13): 2007, 1236-1244.
110. Onat T, Emerk K, Sözmén EY. İnsan Biyokimyası, Palme yayıncılık Ankara: 2002, 248-257.

111. Galaris D. Evangelou A. The role of oxidative stress in mechanisms of metalinduced carcinogenesis *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 42(1): 2002, 93-103.
112. Anna Bilska, Lidia Wlodek. Lipoic acid-the drug of the future. *Institute of Medical Biochemistry, Jagiellonian University, Kopernika 7-2005*
113. Loeckie, L.De Zwart, John, H.N., Meerman, Jan N.M., Commandeur, and Nico P.E. Vermeulen. Biomarkers of Free Radical Damage Applications in experimental Animal and in Humans, *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1999, 202–26
114. Srivastava, S. K. Ansari, N. H. Hair, G. A. Das, B. Aldose and aldehyde reductases in human tissues. *Biochim Biophys Acta*. 800[3]: 1984, 220-7.
115. Packer L. Alpha -lipoic acid: a metabolic antioxidant Which regulates NF-kappa B signal transduction and protects against oxidative injury. 1998. *Drug Metab Rev*. (30).
116. Kagan, V. E., Shvedova, E., Khan, S., Swanson, C., Powell, R. and Peker, Dihydrolipoic acid: A universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase : Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem. Pharmacol.* 1992;44,(1637,1649)
117. Bradamante, S, Barengi, L., Villa, A. Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovasc Drug Rev*, 22(3): 2004, 169-188.
118. Gökpınar, Ş. Koray, T. Akçiçek, E. Göksan, T. Durmaz, Y. Algal Antioksidanlar. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23(1/1): 2006, 85-89.
119. Kilic F, Handelman GJ, Serbinova E, Packer L, Trevithick JR: Modelling cortical cataractogenesis 17: in vitro effect of α -lipoic acid on glucose-induced lens membrane damage, a model of diabetic cataractogenesis, *Biochem Mol Biol int*, 1995, 37, 361-370.
120. Çimen, M. Y. B. Free radical metabolism in human erythrocytes, *Clinica Chimica Acta* 390(1-2): 2008, 1-11.
121. Pace GW, Leaf CD: The role of oxidative stress in HIV disease. *Free Radic Med*, 1995, 9, 523-528.
122. Signorelli, P. and Ghidoni, R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises, *The Journal of Nutritional Biochemistry* 16(8): 2005, 449-466

123. Masella, R., Benedetto, R.D., Vari, R., Filesi, C. and Giovannini, C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(10): 2005, 577-586.
124. Creasey, L.L. Coffee, M. Phytoalexin production potential of grape berries, *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 113(2): 1988, 230-234.
125. Meng, X. Maliakal, P. Lu, H. Lee, M. J. Yang, C.S. Urinary and plasma levels of resveratrol and quercetin in humans, mice, and rats after ingestion of pure compounds and grape juice. *J. Agric. Food Chem.*, 52(4): 2004, 935-942.
126. El-Mowafy, A.M. Alkhalaf, M. Resveratrol activates adenylyl-cyclase in human breast cancer cells: a novel, estrogen receptor-independent cytostatic mechanism *Carcinogenesis*, 24(5): 2003, 869-873.
127. Atten, M.J. Atar, B.M. Milson, T. Holian, O. Resveratrol-induced inactivation of human gastric adenocarcinoma cells through a protein kinase C-mediated mechanism, *Biochemical Pharmacology*, 62: 2001, 1423–1432
128. Woo, J.H. Lim, J.H. Kim, Y.H. Suh, S.I., Min do, S., Chang, J.S, Lee, Y.H. Park, J.W. and Kwon, T.K. Resveratrol inhibits phorbol myristate acetate-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting JNK and PKC delta signal transduction, *Oncogene* 23: 2004, 1845–1853
129. Koes, R.E. Quattrocchio, F. Mol, J.N.M. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssays*, 16: 1994, 123-132.
130. Bonakdar RA, Guarneri E. Coenzyme Q10. *Am Fam Physician*. Sep 15;72(6):1065-70, 2005.
131. Nguyen SD, Sok DE. Oxidative inactivation of paraoxonase1, an antioxidant protein and its effect on antioxidant action. *Free Radic Res*. Dec;37(12):1319-30, 2003.
132. Bederson JB, Germano IM, Guarino L. Cortical blood flow and cerebral perfusion pressure in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat. *Stroke* 1995; 26: 1086–1092.

133. Lin CL, Dumont AS, Wu SC, Wang CJ, Howng SL, Huang YF, et al. 17 β -estradiol inhibits endothelin-1 production and attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *Exp Biol Med* 2006; 231: 1054–1057.
134. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for Lipid peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry* 95: 351-358, 1979.
135. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The Human Serum Paraoxanase/Arylesterase Polymorphism. *Hum Genet* 35: 1126–1138, 1983.
136. Liu-Deryke X, Rhoney DH. Cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an overview of pharmacologic management. *Pharmacotherapy* 2006.
137. Solomon RA, Antunes JL, Chen RY, Bland L, Chien S. Decrease in cerebral blood flow in rats after experimental subarachnoid hemorrhage: a new animal model. *Stroke* 1985, 16(1):58-64.
138. Laudénbach V, Mantz J, Lagercrantz H, et al. Effects of α (2)-adrenoceptor agonists on perinatal excitotoxic brain injury. *Anesthesiology* 2002; 96: 134-41
139. Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho J, et al. Neuroprotection by the α 2-adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol* 1999;372:75-8
140. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN, The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 1126-38
141. Naredi S, Lambert G, Eden E. Increased sympathetic nervous activity in patients with nontraumatic subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2000;31: 901-6
142. Cook DA. Mechanisms of cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Pharmac. Ther* 1995; 66: 259-284.
143. Zhang S 2010, Jang YG 2009, Lin CL 2006 Nishiguchi M 2010, Van den Bergh WM 2009, Amin - Hanjani S 2001.
144. Pickard JD 1989, Feigin VL 1998, Keyrouz SG 2007.
145. Kader A, Krauss WE, Onesti ST, et al. Chronic cerebral blood flow changes following experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke* 1990; 21: 577-81

146. Packer L. Alpha-lipoic acid: a metabolic antioxidant which regulates NF- κ B signal transduction and protects against oxidative injury. *Drug Metab Rev* 30: 1998, 245-275
147. Hadi Moini, Lester Packer, and Nills-Erk L. Saris. Antioxidant and Prooxidant Activities of α -Lipoic Acid and Dihydrolipoic Acid. 2002
148. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ (1995) α - Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free radic Biol Med* 19: 227-250.
149. Busse E, Zimmer G, Schopohl B et al. Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo. *Arzneimittelforschung* (1992) 42: 829-831
150. Han D, Tritschler HJ, Packer L. Alpha-lipoic acid increases intracellular glutathione in a human T-Lymphocyte Jurkat cell line. *Biochem Biophys Res* 207: 1995. 258-264.
151. Vincent AM, Stevens MJ, Backus C et al. Cell culture modeling to test therapies against hyperglycemia- mediated oxidative stress and injury. *Antioxid redox Signal* 7: 2005 1494-1506
152. Bharat S, Cochran BC, Hsu M et al. Pre-treatment with R-lipoic acid alleviates the effects of GSH depletion in PC12 cells: implications for Parkinson's disease therapy. *Neurotoxicology* 23. 2002: 479-486
153. Bellenger, J., Comte, C., Bellenger, S., Merlin, JFO., Tessier, C., Poisson, JP., Narce, M., Regulation of PUFA biosynthesis during hypertension associated with type I and II diabetes, *Ocl-Oleagineux Corps Gras Lipides*, 2003. (104), 321-327
154. Abdul HM, Butterfield DA. Involvement of P13K/PKG/ERK $\frac{1}{2}$ signaling pathways in cortical neurons to trigger protection by cotreatment of acetyl- L-carnitine and alpha-lipoic acid against HNE- mediated oxidative stress and neurotoxicity: implications for Alzheimer's disease. *Free Radic Biol med*. 2007. 42: 371-384
155. Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y. Algal Antioksidanlar. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*. 2006, 23(1/1): 85-89
156. Arrigo, A.P. Gene expression and the thiol redox state *Free Radical Biology and Medicine*, 1999 27(9-10): 936-944

157. Çimen, M.Y.B., 2008, Free radical metabolism in human erythrocytes, *Clinica Chimica Acta* 390(1-2):1-11
158. Creasey, L.L., Coffee, M., 1988, Phytoalexin production potential of grape berries, *J.Am. Soc Hortic Sci.*, 113(2):230-234.
159. Wolz P, Krieglstein J: Neuroprotective effects of alpha-lipoic acid and its enantiomers demonstrated in rodent models of focal cerebral ischemia. *Neuropharmacology*, 1996; 35(369-375).
160. Prehn JH, Karkoutly C, Nuglish J, Peruche B, Krieglstein J: Dihydrolipoate reduces neuronal injury after cerebral ischemia. *Cereb Blood Flow Metab* 1992; 12 (78-87).
161. Panigrahi M, Sadguna Y, Shivakumar BR, Kolluri SV, Roy S, Packer L, Ravindranath V. Alpha-Lipoic acid protects against reperfusion injury following cerebral ischemia in rats. *Brain Res.* 1996; 717(1-2):184-8
162. E. Kaptanoglu, M. Tuncel and S. Palaoglu et al. Comparison of the effects of melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury, *J Neurosurg* 93 (2000), pp. 77–84.
163. Gül, S.E. Celik and M. Kalayci et al. Dose-dependent neuroprotective effects of melatonin on experimental spinal cord injury in rats, *Surg Neurol* 64 (2005), pp. 355–361.
164. C. Topsakal, N. Kilic and F. Ozveren et al. Effects of prostaglandin E1, melatonin, and oxytetracycline on lipid peroxidation, antioxidant defense system, paraoxonase (PON1) activities, and homocysteine levels in an animal model of spinal cord injury, *Spine* 28, 2003, pp. 1643–1652.
165. Mayberg MR, Okada T, Bark DH. The significance of morphological changes in cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1990; 72(4):626-33
166. Mehmet Erşahin, Hale Z.Toklu, Şule Çetinel et al. Alpha Lipoic Acid Alleviates Oxidative Stress and Preserves Blood Brain Permeability in Rats With Subarachnoid Hemorrhage, 22 september 2009. 90.
167. Adams HP Jr. Calcium antagonists in the management of patients with aneurysmal SAH. A review. *Angiology*, 1990; 41: 1010-1016.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Deney Hayvanları Araştırma Ünitesi
Etik Kurulu

TOPLANTI TARİHİ : 25/02/2008
TOPLANTI NO : 2008/02

4. Nöroşirürji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın, "Deneyel Subaraknoid Kanama Modelinde Gelişen Vazospazm Üzerine Alpha-Lipoik Asidin Etkisi" konulu başvurusunun Etik Kurallara uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

ASLI GİBİDİR

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Z. Nur Banoğlu", is written over the printed name.

Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Deney Hayvanları Etik Kurulu Başkanı