

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ



BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA MODELİNDE OSTHOLE'ÜN ERKEN DÖNEM BEYİN  
HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM ÜZERİNE ETKİSİ

CİHAT KARAGÖZ

DANIŞMAN  
PROF. DR. ERKİN ÖZGİRAY

İZMİR 2024

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA MODELİNDE OSTHOLE'ÜN ERKEN DÖNEM BEYİN  
HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM ÜZERİNE ETKİSİ

CİHAT KARAGÖZ

DANIŞMAN  
PROF. DR. ERKİN ÖZGİRAY

İZMİR 2024

## ÖN SÖZ

Eğitimlerini almaktan onur duyduğum saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Taşkın Yurtseven'e, Prof. Dr. M. Sedat Çağlı'ya, Prof. Dr. Erkin Özgiray'a, Doç. Dr. Tuncer Turhan'a, Doç. Dr. Hüseyin Biçeroğlu'na, Doktor Öğr. Üyesi Dr. Elif Bolat'a şükranlarımı sunarım.

Bu kıymetli çalışmanın her aşamasında yol göstericiliği ile beni yönlendiren ve bana duyduğu güveni her daim hissettiren değerli hocam Prof. Dr. Erkin Özgiray'a, bilhassa teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen E.Ü. Eczacılık Fakültesi'nden Doç. Dr. Gülnur Sevin'e ve E.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Yiğit Uyanıkgil'e teşekkürü bir borç bilirim.

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, kendilerinden çok şey öğrendiğim ve beraber çalışma fırsatı bulduğum için kendimi şanslı hissettiğim kıymetli abilerim Uzm. Dr. K. Emre Çalışkan'a, Uzm. Dr. M. Serdar Bölük'e ve değerli ablam Uzm. Dr. Nevhis Akıntürk'e teşekkür ederim.

Bu eğitim yolculuğumdaki yol arkadaşlarım asistan doktor ekibine, mesai arkadaşlarım hemşire, sekreter ve personelleri ile Ege Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi ailesine teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi nöroşirurji eğitimim ve tez sürecim boyunca sevgisini ve desteğini esirgemeyen, bu aşamaları anlamlı kılan ve güzelleştiren eşim Nida'ya, oğlum Korhan ve Thomas'a, çalışmayı ve gayreti kendilerinden öğrendiğim aileme teşekkür ederim.

**Dr. Cihat KARAGÖZ**

**İzmir**

**Şubat, 2024**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                         |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÖZET.....                                                                                               | III  |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                                                   | VII  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....                                                                                   | VIII |
| KISALTMALAR LİSTESİ.....                                                                                | IX   |
| 1.GİRİŞ.....                                                                                            | 1    |
| 2.GENEL BİLGİLER.....                                                                                   | 2    |
| 2.1.GENEL TANIM.....                                                                                    | 2    |
| 2.2. TARİHÇE.....                                                                                       | 3    |
| 2.3. EPİDEMİYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ.....                                                              | 7    |
| 2.4. ETİYOLOJİ.....                                                                                     | 10   |
| 2.5. MORTALİTE ORANLARI.....                                                                            | 10   |
| 2.6. ERKEN DÖNEM BEYİN HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM DIŞINDA<br>SUBARAKNOİD KANAMA KOMPLİKASYONLARI..... | 11   |
| 2.6.1. Tekrar Kanama.....                                                                               | 11   |
| 2.6.2. Hidrosefali ve Beyin Ödemi.....                                                                  | 11   |
| 2.6.3. Nöbet.....                                                                                       | 12   |
| 2.6.4. Hipovolemi, Elektrolit Bozuklukları ve Hiperglisemi.....                                         | 12   |
| 2.6.5. Kardiyak Patolojiler.....                                                                        | 14   |
| 2.6.6. Pulmoner Patolojiler ve Derin Ven Trombozu.....                                                  | 14   |
| 2.7. ERKEN DÖNEM BEYİN HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM.....                                                | 16   |
| 2.7.1. Erken Dönem Beyin Hasarı.....                                                                    | 16   |
| 2.7.2. Anjiyografik Vazospazm ve Semptomatik Vazospazm.....                                             | 16   |
| 2.7.3. Serebral Vazospazm ve Gecikmiş İskemik Nörolojik Defisit.....                                    | 17   |
| 2.8. ERKEN DÖNEM BEYİN HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM İLE<br>İLİŞKİLİNDİRİLMİŞ MEKANİZMALAR.....          | 19   |
| 2.8.1. Arjinin/Nitrik Oksit/cGMP Yolağı.....                                                            | 19   |
| 2.8.2. Endotelin.....                                                                                   | 20   |
| 2.8.3. Hipoksi ile İndüklenen Faktör 1.....                                                             | 21   |
| 2.8.4. İnflamasyon.....                                                                                 | 21   |
| 2.8.5. Oksidatif Stres.....                                                                             | 22   |
| 2.8.6. Apoptoz ve Otofaji.....                                                                          | 22   |
| 2.8.7. Kortikal Yayılan Depolarizasyon.....                                                             | 23   |
| 2.8.8. Endotel Disfonksiyonu.....                                                                       | 23   |

|                                                                                                 |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>2.9. SUBARAKNOİD KANAMA VE SEREBRAL VAZOSPAZM TANI YÖNTEMLERİ.....</b>                       | <b>24</b>  |
| <b>2.10. SUBARAKNOİD HEMORAJİ, ERKEN DÖNEM BEYİN HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM TEDAVİSİ.....</b> | <b>30</b>  |
| <b>2.11. OSTHOLE'ÜN BİYOKİMYASAL YAPISI VE ÖZELLİKLERİ.....</b>                                 | <b>35</b>  |
| 2.11.1. Antioksidan Etkileri.....                                                               | 36         |
| 2.11.2. Anti-İnflamatuar Etkileri.....                                                          | 36         |
| 2.11.3. Anti-Tümöral Etkileri.....                                                              | 37         |
| 2.11.4. Osteojenik aktivite.....                                                                | 39         |
| 2.11.5. Antimikrobik etki.....                                                                  | 39         |
| 2.11.6. Nörolojik Etkileri .....                                                                | 39         |
| 2.11.7. Vazospazm ve İskemi ile İlgili Çalışmalar.....                                          | 41         |
| <b>3.GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                                                   | <b>42</b>  |
| 3.1. Hayvan Seçimi ve Sayısı.....                                                               | 42         |
| 3.2. Bakım ve Takip.....                                                                        | 42         |
| 3.3. Deney Grupları.....                                                                        | 44         |
| 3.4. Kimliklendirme.....                                                                        | 44         |
| 3.5. Anestezi.....                                                                              | 44         |
| 3.6. Kan Alma İşlemi.....                                                                       | 45         |
| 3.7. Subaraknoid Kanama Modeli Oluşturulması.....                                               | 46         |
| 3.8. İlaç Uygulanması.....                                                                      | 50         |
| 3.9. Nörolojik değerlendirme.....                                                               | 50         |
| 3.10. Sakrifikasyon ve Örneklerin Alınması.....                                                 | 52         |
| 3.11. Histopatolojik İnceleme.....                                                              | 52         |
| 3.12. Oksidatif Stres Analizi.....                                                              | 56         |
| 3.13. İstatistiksel Analiz.....                                                                 | 57         |
| <b>4.BULGULAR.....</b>                                                                          | <b>57</b>  |
| 4.1. MAKROSKOBİK GÖRÜNTÜ.....                                                                   | 57         |
| 4.2. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI.....                                                     | 58         |
| 4.2.1. H&E Boyama Sonuçları.....                                                                | 58         |
| 4.2.2. İmmünohistokimyasal Boyama Sonuçları.....                                                | 61         |
| 4.3. OKSİDATİF STRES ANALİZİ.....                                                               | 64         |
| 4.4. NÖROLOJİK DEĞERLENDİRME BULGULARI.....                                                     | 66         |
| <b>5.TARTIŞMA.....</b>                                                                          | <b>69</b>  |
| <b>6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                                                                 | <b>74</b>  |
| <b>7.KAYNAKLAR.....</b>                                                                         | <b>75</b>  |
| <b>8.EKLER.....</b>                                                                             | <b>104</b> |

## ÖZET

**Amaç:** Subaraknoid kanamanın (SAK) mortalite ve morbiditesini artıran en önemli komplikasyonlar erken dönem beyin hasarı (EDBH) ve serebral vazospazmdır. SAK sonrası nörovasküler hasar bifazik bir seyir sergiler; ilk 72 saat içinde gelişen EDBH ve ardından %30-40 oranında görülen vazospazm ilişkili gecikmiş serebral iskemi (GSİ) dönemi. Bu komplikasyonların önlenmesi SAK ilişkili mortalite ve morbiditenin önüne geçilmesi açısından önemlidir. Uzun yıllardan beri üzerinde birçok çalışma yapılmasına rağmen günümüzde uygulanan tedavi yöntemleri henüz istenen aşamada değildir.

Osthole (ostol), kumarin türevi bir ajandır. Güçlü anti-oksidan ve anti-apoptotik etkileri bilinmektedir. Vazodilatör etkileri gösterilmiştir. Bu nedenle nöroprotektif etkileri olabileceği de düşünülmektedir.

Çalışmamızda ostolün, deneysel SAK sonrası gelişen EDBH, GSİ ve serebral vazospazm üzerindeki tedavi edici etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve yöntem:** Anevrizmatik subaraknoid kanama (aSAK) modeli oluşturulurken literatürde sıklıkla uygulanan ‘otolog kanın sisterna magnaya enjeksiyonu’ modeli kullanıldı. Ağırlıkları 250-400 g arasında değişen 40 adet Wistar Albino türü rat çalışmaya alındı. Denekler 10’ar rat içeren dört gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol (sham) grubu (n=10); 2.grup (n=10) sadece SAK oluşturulan grup; 3.grup (n=10) SAK oluşturulmayan ve sadece osthole verildiği grup; 4.grup (n=10) SAK oluşturulduktan sonra osthole uygulanan grup olarak ayrılmıştır. SAK modeli 2. ve 4. gruplardaki deneklere kuyruklarından alınan otolog kanın sisterna magnaya ponksiyon yapılarak verilmesi suretiyle oluşturulmuştur. Tedavi denek gruplarımız olan 3. grup ve 4.grup ratlara 5 gün boyunca günde bir kez 30 mg/kg tedavi intraperitoneal olarak verildi.

Beşinci gün tüm denekler sakrifiye edilerek beyin, beyincik ve beyin sapı çıkarıldı. Histopatolojik inceleme amacıyla hematoksilen-eozin (H&E) boyama metodu ile hazırlanan beyin sapı ve baziler arter transvers kesitleri ışık mikroskobu altında yapılan ölçümler ile incelendi. Denek grupları arasında lümen çapı ve damar duvarı kalınlığı karşılaştırıldı. İmmünohistokimyasal boyama ile, hipoksi ile indüklenen faktör 1 alfa (HIF-1 $\alpha$ ) ve apoptoz belirleyicileri olan bcl 2 ve caspase 3 proteinlerinin ekspresyonları incelendi. Sakrifikasyon sonrası baziler arter çevresi parankimal dokulardan alınan örneklerde luminol ve lusigenin ile kemilüminesans ölçümü yapılarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) düzeyleri değerlendirildi.

**Bulgular:** H&E ile yapılan boyama sonuçlarında SAK grubunda baziler arter duvarında kalınlaşmanın ve damar lümeninde gözlenen daralmanın, osthole tedavisi ile belirgin olarak azaldığı görülmüştür. İmmünohistokimyasal boyamalarla yapılan değerlendirmede SAK sonrası caspase-3 proteinin arttığı, bcl-2 proteinin azaldığı; osthole tedavisi ile bu durumun tersine çevrildiği saptanmıştır. HIF-1 $\alpha$  için yapılan immünohistokimyasal boyamalarda ise SAK’da artan HIF-1 $\alpha$  düzeyinin osthole ile azaldığı gözlenmiştir. Oksidatif stres değerlendirmesi için lusigenin ve luminol ile yapılan kemilüminesans ölçümlerinde SAK oluşturulan grupta kontrol grubuna göre ROT artışı görülmüştür. Osthole tedavisinin SAK varlığında artan ROT düzeylerini anlamlı ölçüde azalttığı saptanmıştır.

**Sonuç:** Araştırmamızda, ratlarda oluşturulan SAK modelinde, osthole tedavisinin anti-apoptotik ve oksidatif stresi azaltıcı etkileri gözlemlendi. Ayrıca, bu ajanın serebral vazospazma karşı vazodilatör etkiler gösterdiği görüldü. Bu bulgular, osthole ‘ün EDBH, serebral vazospazm ve GSİ tedavisi için potansiyel terapötik bir ajan olabileceğini işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Subaraknoid kanama; serebral vazospazm; erken dönem beyin hasarı; gecikmiş serebral iskemi; osthole.

## ABSTRACT

**Objective:** The most significant complications that increase mortality and morbidity in subarachnoid hemorrhage (SAH) are early brain damage and cerebral vasospasm. Neurovascular damage following SAH exhibits a biphasic course; early brain injury develops within the first 72 hours, followed by a period of delayed cerebral ischemia associated with vasospasm, seen in 30-40% of cases. Preventing these complications is of great importance in reducing the mortality and morbidity associated with subarachnoid hemorrhage. Despite many years of research, current treatment methods are not yet at the desired level. Osthole is a coumarin derivative agent with strong antioxidant and anti-apoptotic effects. It has also been shown to have vasodilatory effects, suggesting potential neuroprotective properties. Our study investigates the therapeutic efficacy of osthole on early brain injury, delayed cerebral ischemia, and cerebral vasospasm in an experimental subarachnoid hemorrhage model.

**Material and methods:** The autologous blood injection into the cisterna magna model, frequently used in the literature, was employed to create the subarachnoid hemorrhage model. The study included 40 Wistar Albino rats weighing between 250-400 g. These subjects were divided into four groups, each containing 10 rats. The first group was the control (sham) group (n=10); the second group (n=10) was where only SAH was induced; the third group (n=10) consisted of rats where SAH was not induced, and only osthole was administered; the fourth group (n=10) underwent osthole treatment post-SAH induction. The SAH model was created by injecting autologous blood, drawn from the tail, into the cisterna magna of the rats in the second and fourth groups. 30 mg/kg osthole was administered intraperitoneally once daily for 5 days to groups 3 and 4. On the fifth day, all subjects were sacrificed, and their brains, cerebellums, and brainstems were removed. Hematoxylin-eosin (H&E) stained transverse sections of the brainstem and basilar artery were examined under a light microscope to measure lumen diameter and wall thickness. The expressions of hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1 $\alpha$ ) and the apoptosis markers bcl 2 and caspase 3 were examined with immunohistochemical stains. Reactive oxygen species levels were evaluated by measuring chemiluminescence with luminol and lucigenin in samples taken from parenchymal tissues surrounding the basilar artery post-sacrifice.

**Results:** H&E staining showed that osthole treatment significantly reduced basilar artery wall thickening and luminal narrowing in the SAH group. Immunohistochemical staining revealed increased caspase-3 and decreased bcl-2 protein expression in the SAH group, which was reversed by osthole treatment. HIF-1 $\alpha$  expression was also increased in the SAH group and decreased with osthole treatment. Chemiluminescence measurements showed increased ROS

levels in the SAH group compared to the control group, which was significantly reduced by osthole.

**Conclusion:** This study demonstrates the anti-apoptotic, antioxidant, and vasodilatory effects of osthole in an experimental SAH model. These findings indicate that osthole may be a potential therapeutic agent in the treatment of early brain injury, cerebral vasospasm, and delayed cerebral ischemia.

**Keywords:** Subarachnoid hemorrhage; cerebral vasospasm; early brain injury; delayed cerebral ischemia; osthole.



## TABLÖLAR LİSTESİ

|                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1.</b> Serebral Vazospazm Risk Faktörleri.....                                                      | 9  |
| <b>Tablo 2.</b> SAK Etiyolojisinde Travma Dışındaki Etkenler.....                                            | 10 |
| <b>Tablo 3.</b> HHS (Hunt Hess Skalası).....                                                                 | 18 |
| <b>Tablo 4.</b> WFNS (Dünya Nöroşirurji Dernekleri Federasyonu) Sınıflandırması.....                         | 18 |
| <b>Tablo 5.</b> Fisher Skalası.....                                                                          | 18 |
| <b>Tablo 6.</b> Modifiye Fisher Skalası.....                                                                 | 19 |
| <b>Tablo 7.</b> Ottawa Kriterleri.....                                                                       | 25 |
| <b>Tablo 8.</b> Travmatik LP ile SAK'da Yapılan LP Arasındaki Farklar.....                                   | 25 |
| <b>Tablo 9.</b> Lindegaard Oranı Rehberliğinde Transkraniyal Doppler Ultrasonografide Vazospazm Teşhisi..... | 27 |
| <b>Tablo 10.</b> Serebral Vazospazm Teşhisinde Kullanılan Tetkikler.....                                     | 29 |
| <b>Tablo 11.</b> Anevrizmatik Subaraknoid Kanama Tedavisinde AHA/ASA Önerileri.....                          | 30 |
| <b>Tablo 12.</b> Osthole'ün anti-tümöral etkileri.....                                                       | 38 |
| <b>Tablo 13.</b> Deney Grupları.....                                                                         | 44 |
| <b>Tablo 14.</b> Modifiye Nörolojik Şiddet Skoru.....                                                        | 51 |
| <b>Tablo 15:</b> Rutin Histolojik Doku Takibi Basamakları.....                                               | 53 |
| <b>Tablo 16:</b> Hematoksilen&Eozin Boyama Protokolü.....                                                    | 54 |
| <b>Tablo 17:</b> İmmünohistokimyasal Boyama İçin Gerekli İşlem Basamakları.....                              | 55 |
| <b>Tablo 18.</b> Gruplar Arter Duvar Kalınlığı ve Lümen Genişliği.....                                       | 60 |
| <b>Tablo 19.</b> Grupların Anti-Caspase 3, Anti-Bcl2 ve Anti- HIF-1 $\alpha$ Değerleri.....                  | 63 |
| <b>Tablo 20.</b> Grupların Süperoksit ve Süperoksit Dışındaki Diğer ROT Değerleri.....                       | 65 |
| <b>Tablo 21.</b> Grup ve Zamana Göre Modifiye Nörolojik Şiddet Skorları.....                                 | 67 |
| <b>Tablo 22.</b> Grup ve Zamana Göre Modifiye Nörolojik Şiddet Skorlarının Karma Desen ANOVA Sonuçları.....  | 68 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Subaraknoid Kanama, İntrakraniyal Anevrizma ve Tedavi Tarihçesi.....                    | 6  |
| Şekil 2. Serebral Vazospazm Tarihçesi.....                                                       | 7  |
| Şekil 3. Arjinin/Nitrik oksit/cGMP Yolağı Üzerinden Serebral Vazospazma Bakış.....               | 20 |
| Şekil 4. Erken Dönem Beyin Hasarı ve Gecikmiş Serebral İskemi Patofizyolojisi.....               | 24 |
| Şekil 5. Serebral Vazospazm Yönetimi.....                                                        | 34 |
| Şekil 6. Cnidium Monnieri Bitkisi ve Osthole'ün Biyokimyasal Yapısı.....                         | 35 |
| Şekil 7. Ratların Bakım Ortamı.....                                                              | 43 |
| Şekil 8. Ad Libitum Beslenme Ortamı.....                                                         | 43 |
| Şekil 9. Çalışmada Kullanılan Anestezik İlaçlar.....                                             | 45 |
| Şekil 10. Heparinsiz Enjektör ile Kuyruktan Otolog Kan Alımı.....                                | 45 |
| Şekil 11. Sadece İnsizyon Yapılacak Bölge Tıraş Edildi.....                                      | 46 |
| Şekil 12. Cilt ve Oksipitoservikal Kasların İnsizyonu.....                                       | 46 |
| Şekil 13. Atlantooksipital Membran Ortaya Kondu.....                                             | 47 |
| Şekil 14. Sisterna Magnaya Ponksiyon ve Otolog Kan Enjeksiyonu.....                              | 47 |
| Şekil 15. Cilt Kapanışı ve Pansuman.....                                                         | 48 |
| Şekil 16. Trendelenburg Pozisyonda Bekleme Aşaması.....                                          | 49 |
| Şekil 17. Operasyon Sonrası Ratlar Tekli Kafeslere Alındı.....                                   | 49 |
| Şekil 18. Deney Süreci.....                                                                      | 52 |
| Şekil 19: Damar Duvarı ve Lümen Ölçüm Örneği.....                                                | 56 |
| Şekil 20. Kraniyektomi Sonrası 'Kontrol' Grubu Makroskobik Görüntüsü.....                        | 57 |
| Şekil 21. Kraniyektomi Sonrası 'SAK' Grubu Makroskobik Görüntüsü .....                           | 58 |
| Şekil 22. Kraniyektomi Sonrası 'SAK + Osthole' Grubu Makroskobik Görüntüsü.....                  | 58 |
| Şekil 23. H&E ve immünohistokimyasal boyama sonuçları.....                                       | 59 |
| Şekil 24. Grupların Arter Duvar Kalınlığı ve Lümen Genişliği.....                                | 61 |
| Şekil 25. Grupların (a) Anti-Caspase 3, (b) Anti-Bcl2 ve (c) Anti- HIF-1 $\alpha$ Değerleri..... | 64 |
| Şekil 26. Lusigenin ile Kemilüminesans Ölçümü.....                                               | 65 |
| Şekil 27. Luminol ile Kemilüminesans Ölçümü.....                                                 | 66 |
| Şekil 28. Grup ve Zamana Göre Modifiye Nörolojik Şiddet Skorları .....                           | 68 |

## KISALTMALAR LİSTESİ

**AVM:** Arteriovenöz Malformasyon  
**AVF:** Arteriovenöz Fistül  
**aSAK:** Anevrizmatik Subaraknoid Kanama  
**AHA/ASA:** Amerikan Kalp Derneği/Amerikan İnme Derneği  
**ARDS:** Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu  
**ANP:** Atrial Natriüretik Peptit  
**AH:** Alzheimer Hastalığı  
**ASIC3:** Asit Duyarlı İyon Kanalı 3  
**AVS:** Anjiyografik Vazospazm  
**BOS:** Beyin Omurilik Sıvısı  
**BT:** Bilgisayarlı Tomografi  
**BTA:** Bilgisayarlı tomografik anjiyografi  
**BNP:** Beyin Natriüretik Peptit  
**Ca<sup>2+</sup>:** İyonize Kalsiyum  
**cGMP:** Siklik Guanozin Monofosfat  
**COX 2:** Cyclooxygenase 2  
**COVID 19:** Coronavirus Hastalığı 2019  
**DM:** Diabetes Mellitus  
**DSA:** Dijital Substraksiyon Anjiyografi  
**DVT:** Derin Ven Trombozu  
**EDBH:** Erken Dönem Beyin Hasarı  
**EEG:** Elektroensefalogram  
**EKG:** Elektrokardiyogram  
**eNOS:** Endotel Nitrik Oksit Sentaz  
**ERA:** Endotelin Reseptör Antagonisti  
**EVD:** Eksternal Ventriküler Drenaj  
**GABA:** Gama-Aminobütirik Asit  
**GSİ:** Gecikmiş Serebral İskemi  
**GİND:** Gecikmiş İskemik Nörolojik Defisit  
**GKS:** Glasgow Koma Skalası  
**Hb:** Hemoglobin  
**HBV:** Hepatit B Virüsü  
**H&E:** Hematoksilen-Eozin  
**HHS:** Hunt Hess Skalası  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Hidrojen Peroksit

**HIF-1 $\alpha$** : Hipoksi ile İndüklenen Faktör 1 alfa  
**IL 6**: İnterlökin-6  
**KBB**: Kan Beyin Bariyeri  
**KYD**: Kortikal Yayılan Depolarizasyonlar  
**LP**: Lomber Ponksiyon  
**LD**: Lomber Drenaj  
**MAO**: Monoamin Oksidaz  
**MMP 9**: Matriks Metalloproteinaz 9  
**MDA**: Malondialdehit  
**MCP-1**: Monosit Kemoatraktan Protein-1  
**miR-16**: MicroRNA-16  
**MRA**: Manyetik Rezonans Anjiyografi  
**MRG**: Manyetik Rezonans Görüntüleme  
**M.Ö.**: Milattan Önce  
**MI**: Miyokard İnfarktüsü  
**mNSS**: Modifiye Nörolojik Şiddet Skoru  
**NMDA**: N-metil-D-aspartat  
**NO**: Nitrik Oksit  
**NF- $\kappa$ B**: Nükleer Faktör Kappa-B  
**NPÖ**: Nörojenik Pulmoner Ödem  
**O<sub>2</sub><sup>-</sup>**: Süperoksit Anyonu  
**·OH**: Hidroksil Radikali  
**OSA**: Orta Serebral Arter  
**PPAR**: Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptör  
**PTE**: Pulmoner Tromboemboli  
**PH**: Parkinson Hastalığı  
**ROT**: Reaktif Oksijen Türleri  
**RNT**: Reaktif Nitrojen Türleri  
**rtPA**: Rekombinant Doku Plazminojen Aktivatörü  
**SAK**: Subaraknoid Kanama  
**SKA**: Serebral Kan Akışı  
**SOD**: Süperoksit Dismutaz  
**SPECT**: Tek Foton Emisyonlu Bilgisayarlı Tomografi  
**SVS**: Semptomatik Vazospazm  
**SARS-CoV-2**: Şiddetli Akut Respiratuar Sendrom-Coronavirus 2

**TDAÖ:** Termal Difüzyon Akım Ölçümü

**TKDU:** Transkraniyal Doppler Ultrasonografi

**TRH:** Tirotropin Salgılatıcı Hormon

**YKÖS:** Yakın Kızılötesi Spektroskopi

**WFNS:** Dünya Nöroşirurji Dernekleri Federasyonu



## 1. GİRİŞ

Subaraknoid kanama (SAK), beyin zarı tabakalarından araknoid membran ile pia mater arasında kanın birikmesi sonucu ortaya çıkan ve genellikle anevrizma rüptürü veya travma gibi nedenlerle tetiklenen ciddi bir nörovasküler durumdur. SAK, nörolojik morbidite ve mortalitenin en yaygın sebeplerinden biri olup, her yaşta görülmekle birlikte özellikle erişkin popülasyon içerisinde rastlanmaktadır. Klinik pratikte, SAK vakalarının yönetimi ve tedavisi, kanamanın kontrol altına alınmasının haricinde SAK ilişkili komplikasyonları da kapsamalıdır.

SAK'ın patofizyolojisi kompleks ve çok yönlüdür. En kritik ve hayatı tehdit eden komplikasyonlar arasında EDBH ve serebral vazospazm bulunmaktadır. EDBH, genellikle ilk 72 saat içinde gelişir ve akut nörolojik defisitlerle karakterizedir. Serebral vazospazm ise, genellikle SAK sonrası 3. günden itibaren ortaya çıkan ve beyin arterlerinin daralmasıyla karakterize bir durumdur. Bu daralma, beyin perfüzyonunun azalmasına ve dolayısıyla GSI'ye neden olur. Oksidatif stres ve apoptotik süreçler, SAK sonrası nörolojik hasarın temel mekanizmaları arasında yer almakta ve bu süreçlerin modülasyonu, SAK'ın nörolojik sonuçlarının iyileştirilmesinde hayati önem taşımaktadır.

Mevcut tedavi yaklaşımları, bu komplikasyonların yönetiminde çeşitli derecelerde başarı göstermiş olmakla birlikte, SAK sonrası gelişen morbidite ve mortalite oranlarını önemli ölçüde azaltmakta hala yetersiz kalmaktadır. Bu bağlamda, SAK ve sonrasında gelişen komplikasyonların patofizyolojisine dair bilgilerin artırılması, etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için hayati önem taşımaktadır.

Bu çalışma, SAK'ın erken ve geç dönem komplikasyonları üzerine odaklanarak, bu alanda yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlamayı amaçlamaktadır. Araştırmanın temeli, SAK modellemesi, komplikasyonların detaylı bir şekilde incelenmesi, mevcut tedavi yöntemlerinin kritik bir analizini ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesini içermektedir.

Kumarin, doğada yaygın olarak bulunan bir fitokimyasaldır. Oda sıcaklığında beyaz kristaller şeklinde olup, ılık suda çözünmemekte, etanol ve dietil eterde daha iyi çözünmektedir. Tıbbi ve farmakolojik açıdan oldukça önemlidir çünkü çeşitli kumarin türevleri, antikoagülan özelliklere sahiptir. Warfarin bunun en bilinen örneğidir.

Osthole (ostol), kumarin türevi lipofilik bir ajandır. Düşük polaritesi sayesinde kan beyin bariyerinden geçebilmektedir. Antioksidan ve anti-apoptotik özellikleri ile SAK sonrası nöronal hücre ölümünün azaltılmasında ve nöronların korunmasında önemli bir rol oynayabileceği düşünülmüştür. Ostolün bu etkileri, EDBH'nın yönetimi ve azaltılmasında

potansiyel bir yaklaşıml sunmaktadır. Ayrıca vazodilatör etkisi ile serebral vazospazmı da önleyebileceğı düşünölmüştür.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. GENEL TANIM**

Subaraknoid kanama (SAK), beyin ve omuriliğın çevresini saran zarlardan biri olan araknoid mater ve pia mater arasındaki subaraknoid boşluğā kanın sızması durumudur. Bu boşluk normalde beyin omurilik sıvısı (BOS) ile doludur ve beyin ile omuriliğı çevreleyen kan damarları bu boşlukta yer alır. SAK'ın en yaygın nedenleri arasında travma ve serebral anevrizma (beyin damarlarında anormal genişlemeler) rüptürü bulunur. Bu durumlar sonucu damarlardan sızan kan, subaraknoid boşluğā yayılır ve bu da belirgin semptomlara ve potansiyel olarak hayatı tehdit eden komplikasyonlara neden olur.

Spontan SAK, travma dışı sebeplerle gelişen SAK için verilen isimdir ve en sık sebebi serebral anevrizma rüptürüdür(1). Anevrizma Yunanca'da dilatasyon, genişleme anlamlarını taşır. İntrakraniyal damar duvarı üzerindeki bu genişlemenin rüptüre olması genellikle ani başlangıçlı ve şiddetli baş ağrısı ile karakterizedir ve sıklıkla bilinç değışikliği eşlik eder.

Anevrizmatik subaraknoid kanama (aSAK), tekrar kanama riski ve komplikasyonları nedeniyle acil tıbbi müdahale gerektiren ciddi bir durumdur. Tekrar kanama haricinde hidrocefali, elektrolit bozuklukları, EDBH, kardiyak ve pulmoner başta olmak üzere sistemik patolojiler, GSİ'ye neden olan serebral vazospazm gibi komplikasyonlar içinde en sık görölen ve prognozu en çok etkileyen EDBH ve serebral vazospazmdır.

EDBH, SAK sonrası ilk 72 saat içinde gelişen patofizyolojik olaylar zinciridir ve literatürde isimlendirme olarak ilk kullanımı 2004 yılında yapılan çalışmalarda geçmekle birlikte üzerine yapılan araştırmalar çok daha eskiye dayanmaktadır(2, 3).

Serebral vazospazm, SAK sonrasında serebral arterlerin konstriktif yanıtı olarak bilinir ve bu arterlerin lümenlerinin patolojik bir şekilde daralmasını ifade eder. Bu vasküler daralma, genellikle SAK'ın ardından 3 ila 14 gün içinde görülür. Anjiyografik serebral vazospazmın tanımlanması, genellikle bilgisayarlı tomografik anjiyografi (BTA), manyetik rezonans anjiyografi (MRA) veya dijital substraksiyon anjiyografi (DSA) ile gerçekleşir.

GSİ, serebral vazospazmdan veya mikrotromboz, mikrovasküler disfonksiyon, inflamasyon gibi çeşitli etiyolojik mekanizmalardan kaynaklanabilecek serebral

hipoperfüzyonun neden olduğu kliniği tanımlar. Klinik olarak yeni bir fokal veya global nörolojik defisit, ya da Glasgow Koma Skalası'nda (GKS) iki veya daha fazla puanlık bir düşüşle kendini gösterir. Motor fonksiyonlardaki bu bozulma hali için gecikmiş iskemik nörolojik defisit (GİND) tanımı da kullanılmaktadır.

## 2.2. TARİHÇE

Klinik tıbbın babası olarak kabul edilen ve Milattan önce (M.Ö.) 460–370 yıllarında yaşamış olan Hipokrat baş ağrısı, konvülsiyonlar, kusma ve bilinç kaybı gibi SAK belirtilerini tanımlamıştır; ancak bu durumun spesifik olarak subaraknoid alandaki kanamadan kaynaklandığını belirlemek için yeterli bilgiye sahip değildi (4).

Aynı şekilde, Roma İmparatorluğu döneminde Celsus (M.Ö. 25 – M.S. 50), beyin yaralanmalarını ve kanamalarını detaylı bir şekilde inceledi. Celsus, kanamanın beyin zarları arasında toplandığı durumları gözlemlemiş olabilse de bu durumu modern anlamdaki SAK olarak tanımlamaktan uzaktı (5). Vasküler duvarda ‘damar şişkinliği’ antik Mısır tıbbi papirüslerinde tariflenmektedir (6). Bu genişlemenin anevrizma olarak adlandırılması ise Galen’e atfedilmiştir (7). Arteriyel genişlemenin anevrizma olarak ifade edilmesi Galen'e atfedilmekle birlikte muhtemelen anevrizmayı serebral damar sistemi bağlamında kullanan ilk kişi 1669'da Richard Wiseman'dır (8). İntrakraniyal anevrizmaların gösterilmesi ise 18. Yüzyılda yapılan otopsi çalışmaları ile olmuştur. 1761'de Morgagni karotid arter posterior dalları üzerinde genişleme tanımladı, ardından aynı yüzyıl içinde Biumi rüptüre olmuş bir karotid arter anevrizmasını gösterdi; ancak 1814'te John Blackall, İsveç taht varisinin ani ölümünün nedeni olarak yırtılmış bir baziler arteri tanımlayarak sak belirtileriyle intrakraniyal anevrizma arasındaki bağlantıyı kurdu (7). Spontan SAK terimi İngiliz doktor Samuel Wilks tarafından 1859 yılında tariflendi (9). Anevrizma tedavisi ilk olarak karotid arter ligasyonu olarak 1809 yılında yayınlandı (10).

Harvey Cushing operasyon öncesi dönemde hipofiz tümörü olarak düşündüğü bir vakada operasyon sırasında pulsatil bir vasküler yapı saptamış ve bunun bir anevrizma olabileceğini düşünmüştür (11). Yaptığı operasyonlarda majör kanamalar için damar ligasyonu amacıyla Cushing klibini geliştirmişirse de bunu anevrizma kapatılması amacıyla kullanmamıştır (7). 1917'de bir başka vakada internal karotid arter (İKA) anevrizması saptamış ve karotis ligasyonu ile tedavi etmeye çalışmış ancak hasta operasyondan kısa süre sonra ölmüştür (12). 1926 yılında ise operasyon öncesi serebral kist olarak düşünülen bir vakanın operasyonunda yine bir İKA anevrizması saptamış ve kas dokusu ile anevrizmayı sarmıştır,

ancak bu hasta da kısa süre içinde vefat etmiştir (12). İlk planlı intrakraniyal anevrizma operasyonu 1931 yılında Cushing 'in öğrencisi Dott tarafından bir İKA bifurkasyon anevrizmasının etrafı kas yaması ile sarılarak yapılmıştır (13). 1937 yılında, Cushing 'in kanama durdurma amaçlı geliştirdiği gümüş kliplerin modifiye versiyonunu bir İKA anevrizmasının kapatılmasında kullanan Dandy ise anevrizma cerrahisinde ilk kez klip kullanan cerrahdir (14).

Anjiyografi geliştirilmesinden önceki yıllarda bilinci açık bir hastada kanamamış intrakraniyal anevrizma tanısının hastanın bir uğultu ya da kendi nabız sesini duyması gibi bir şikayetle konabileceği belirtilmiştir (15). Anjiyografinin 1927 yılında Egas Moniz tarafından geliştirilmesinden sonra (16) anjiyografide gösterilen anevrizma operasyonu ilk kez 1933 yılında Dott tarafından gerçekleştirilmiştir (17). Yaşargil'in son halini tayin ettiği mikrocerrahi kliplere, teknolojik eklenti ve gelişmelerle halen altın standart yerini korumaktadır (18-20).

1974 yılında Serbinenko'nun endovasküler yolla balon kateterizasyon ve tromboz oluşturması girişimsel radyoloji için önemli bir mihenk taşıdır (21). İlk koil ise 1990 yılında Guglielmi tarafından geliştirilmiş ve tedavide kullanılmıştır (22).

Heinrich Quincke'nin ilk kez 1891'de tariflediği lomber ponksiyonu (23) ve Georges Froin'in 1904 yılında yayınladığı ksantokromik ve yüksek protein içerikli BOS analizini (24) temel alarak, Symonds 1924 yılında SAK düşünülen olgularda lomber ponksiyon ile alınan BOS analizinin önemli olabileceğini ve ilk gün belirgin olan kırmızı rengin giderek sarımsı bir renk aldığı belirtmiştir (25).

SAK sonrası gelişen serebral vazospazm ise ilk kez 1859 yılında İngiliz doktor Sir William Gull tarafından vaka bildirimi olarak raporlandı (26). 1925'te Florey, kedilerde beyin arterlerinin kimyasal uyarılmalara nasıl tepki verdiğini araştırdı. Bu araştırmada, baryum klorürün vazokonstriktör bir etkisi olduğunu, nitritlerin ise vazodilatör bir etkisi olduğunu gözlemledi (27). Bu sayede patolojik serebral vazospazma karşı medikal tedavilerin geliştirilmesine ve bizim çalışmamız gibi vazospazm ve erken dönem beyin hasarı çalışmalarının deneysel araştırmalarla çözüm arayışına öncülük etmiştir. Serebral vazospazm ve anevrizma geçmişini araştıran bir makalede (28) Robertson'ın 1949'da yaptığı otopsi çalışmaları (29) ile serebral enfarktüs ve rüptüre anevrizma ilişkisini ilk fark eden kişi olabileceği belirtilmiştir. Raporlarda subaraknoid alanda görülen kan pıhtılarının yakınında enfarktüs ve kortikal hasar saptadığını, ancak tromboz ya da emboli görmediği için bu iskemik hasarın geçici vazospazmdan kaynaklanmış olabileceğini belirtmiştir (29). Anjiyografik vazospazmı ise ilk kez 1951 yılında Ecker ve Riemenschneider gösterdi (30). Pool, 1958 yılında cerrahi operasyon sırasında intraarteriyel ve lokal verilen papaverin ve prokain ile vazospazma

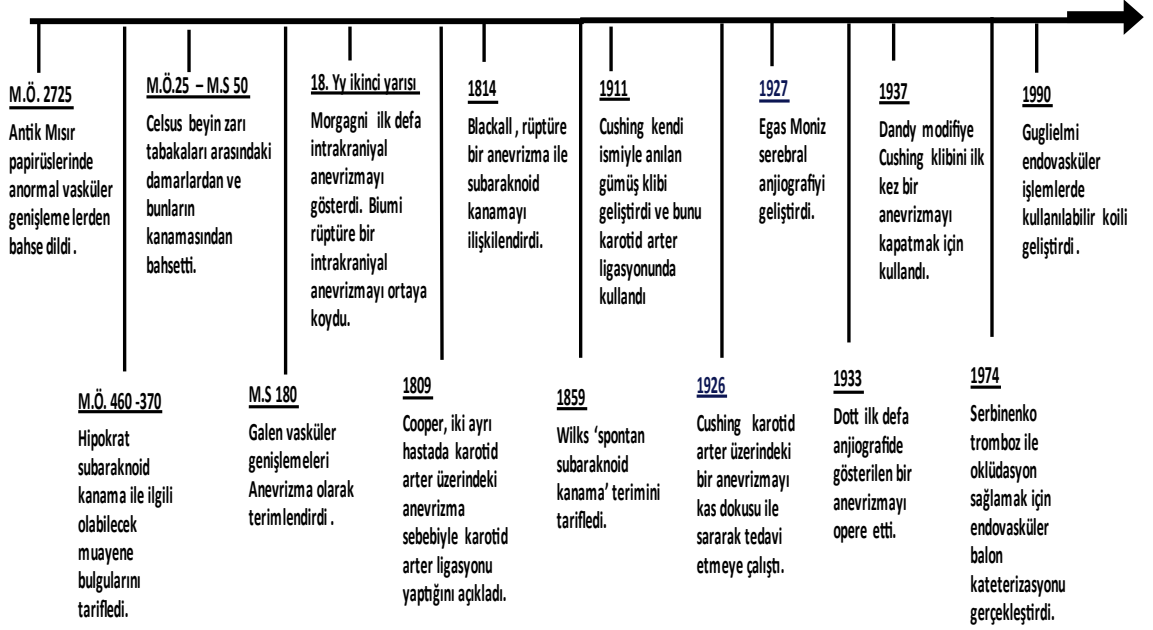
özüm bulmaya çalışmıştır (31), lokal papaverin uygulaması günümüzde halen kullanılmaktadır. 1967 yılında Kennady'nin yaptığı köpeklerde yaptığı çalışmalardan itibaren vazospazmın önlenmesinde subaraknoid mesafedeki kanın uzaklaştırılması üzerinde duruldu (32). 1977 yılında Fisher, GSİ ve GİND terimlerini tarifledi ve SAK sonrası gelişen serebral vazospazm ile ilişkilendirdi (33). Alksne 1982 yılında yaptığı çalışmada vazospazmın önlenmesinde cerrahinin ilk 36 saat içinde yapılmasının önemine ve bu sayede kanın damar çevresinden erkenden uzaklaştırılarak vazospazmın önüne geçilebileceğine dikkat çekti (34). Yine 1986 yılında yaptığı çalışmada sisternaya verilen plazminin SAK modelinde oluşan vaskülopati üzerine etkilerini araştırmıştır (35).

1978 yılında Weir ve arkadaşları anjiyografik vazospazmın özellikle 3.-12. günler arasında olduğunu ve 7.-8. günlerde maksimum düzeyde şiddetlendiği gösterdi (36). 1977 ve 1978'de yayınlanan iki ayrı makalede kraniyal BT'de gösterilen SAK yoğunluğunun ve lokalizasyonunun anjiyografik vazospazmın yeri ve şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (37, 38) ve bu ilişki 1980 yılında Fisher tarafından kendi ismiyle anılan skala olarak yayınlanmıştır (28, 39).

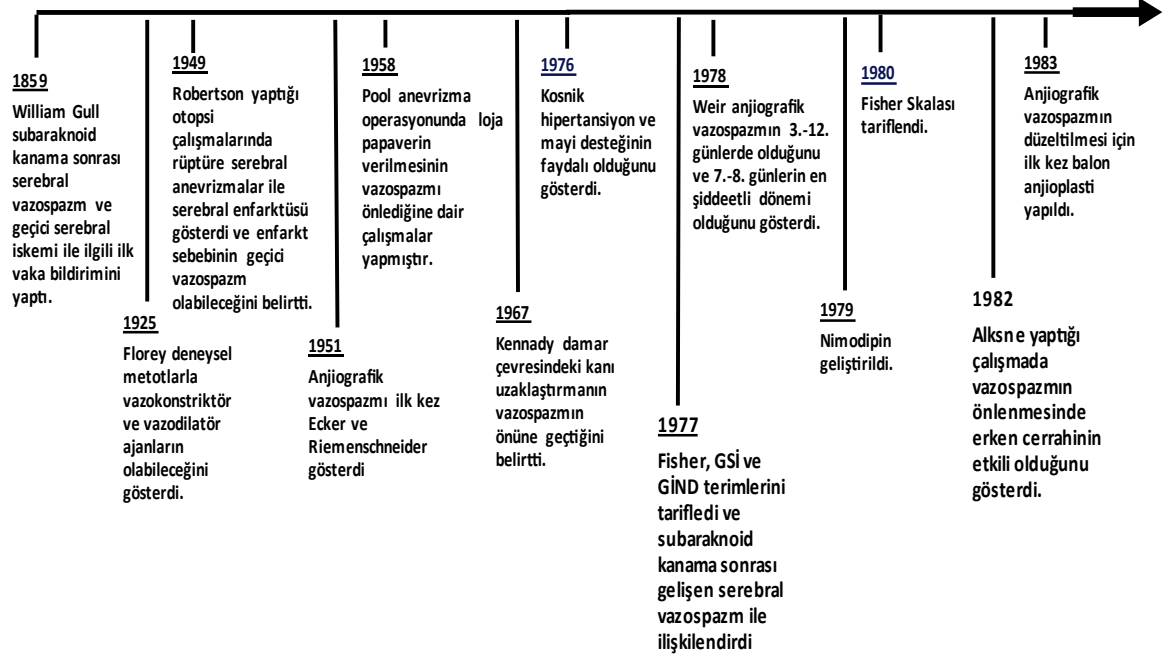
Anevrizmanın kapatılmasının ardından postoperatif dönemde hipertansiyonun sağlanması ve intravenöz sıvı desteği verilmesinin temellerini ise 1976 yılında Kosnik attı (40). O döneme kadar hiponatreminin negatif etkilerinden korunmak için ve hipertansiyon sebebiyle yeniden kanamanın önüne geçmek için yüksek tansiyon ve mayi desteğinden kaçınılıyordu (28).

1979 yılında bir kalsiyum antagonisti olan nimodipin geliştirilerek sistemik tansiyondan ziyade serebral arterler üzerinde vazodilatör etkide bulunan bir farmakolojik ajan olduğu gösterildi (41) ve sonraki birkaç yıl içinde yapılan çalışmalar (42-45) sonucu 1985'de Avrupa'da 1988'de ise Amerika'da, SAK sonrası gelişen anjiyografik vazospazma etkisi net olarak gösterilememekle birlikte vazospazmın serebral enfarkt ve kötü klinik sonuçlara neden olmasının önüne geçtiği kabul edilerek kullanımına onay verildi (28).

Anjiyografik vazospazmın düzeltilmesinde balon anjiyoplasti yapılması ise ilk kez 1983 yılında ve Rusya'da gerçekleştirildi (46).



**Şekil 1. Subaraknoid Kanama, intrakraniyal anevrizma ve tedavi tarihçesi (12).**



**Şekil 2. Serebral vazospazm tarihçesi (28).**

### 2.3. EPİDEMİYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ

SAK, tüm inme vakalarının yaklaşık olarak %5-8'ini oluşturur (47, 48). Yıllık insidans oranı dünya çapında 100.000 kişi başına yaklaşık 6-13'dür, ancak bu oran coğrafi bölgeye ve popülasyona bağlı olarak değişiklik gösterebilir (49-52). Travma, SAK'ın en yaygın nedeniyken, intrakraniyal anevrizma rüptürü SAK'ın en yaygın travmatik olmayan nedenidir; bu da tüm travmatik dışı SAK vakalarının yaklaşık %85'ini oluşturur (53).

#### Yaş ve cinsiyet

SAK, her yaşta görülebilmekle birlikte genellikle orta yaşlı ve yaşlı yetişkinlerde görülür (54, 55). 40 ile 60 yaşlar arasında daha siktir (53-56). Kadınlarda, özellikle menopoz sonrası dönemde, erkeklere göre daha sık görülür (54, 57, 58). Postmenopozal dönemde daha

sık karşılaştırılması hormonlarla, özellikle östrojenin damar sağlığı üzerindeki koruyucu etkisi ile ilişkilendirilmiştir (59-62). Cinsiyet ve anevrizma rüptür oranı arasındaki ilişki üzerine yapılan birçok çalışma, kadın cinsiyetin rüptür riskini artırabileceğini öne sürmüştür (60-64). Erken menopozun yaşamın ilerleyen dönemlerinde SAK riskini artırabileceği belirtilmiştir (65).

Oral kontraseptif ilaç kullanımının da SAK riskini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (66, 67).

### **Etnik Köken, Coğrafi Yerleşim**

Etnik köken ve coğrafi yerleşim de SAK insidansını etkileyen faktörler arasındadır (63). Japon ve Fin popülasyonlarında SAK insidansının daha yüksek olduğu bilinmektedir (54, 68-71). Bununla birlikte, bu farkların tam nedeni kesin olarak anlaşılamamıştır ve genetik faktörler, hava durumu gibi çevresel etkenler ve yaşam tarzı faktörlerinin etken olabileceği düşünülmüştür (71-78).

### **Ailesellik ve Genetik Yatkınlık**

aSAK'ın ailevi olabileceği fikri 1960'lara kadar uzanmaktadır (79, 80). Birinci derece hasta yakınlarında %2-10 oranında görülebileceği belirtilmiştir (81-84). Bu oran aileden ikinci bir hasta saptandığında daha da yükselmektedir (84).

Kromozom 8q ve 9p üzerindeki bazı genetik kodların anevrizma gelişiminde etken olabileceği, özellikle sigara içimi ile bu genetik riskin artabileceği ifade edilmiştir (85-87). Polikistik böbrek hastalığı, Ehlers Danlos Sendromu, Marfan Sendromu, Nörofibromatozis tip 2 ve Alagille Sendromu anevrizma gelişimi ve SAK ile ilişkilendirilmiş bazı genetik hastalıklardır (88-92).

### **Serebral anevrizma öyküsü**

Serebral anevrizma rüptürünün travmatik olmayan SAK'ın en sık sebebi olmasıyla ilişkili olarak insidental yani kanamamış anevrizma saptanması da rüptür riski açısından önem arz etmektedir. İnsidental anevrizmanın yıllık rüptür riski, anevrizmanın boyutuna ve yerine bağlıdır (93, 94). Çapı daha büyük anevrizmaların daha yüksek bir yıllık rüptür riskine sahip olduğu görülmüştür (95-98). Posterior sirkülasyon yerleşimli anevrizmaların rüptür riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (98). Anevrizmanın morfolojisi de rüptür açısından önemli bir risk faktörü olarak belirtilmiştir (99-101).

## **Alişkanlıklar ve Komorbid Hastalıklar**

SAK risk faktörleri arasında yüksek tansiyon, sigara kullanımı ve aşırı alkol tüketimi bulunur (102-109). Özellikle sigara kullanımı ve hipertansiyonun hem anevrizma oluşumunda hem de oluşan anevrizmanın rüptüre olmasında önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (110-113). Nikotin maruziyeti sebebiyle gelişen endotel disfonksiyonun ve damar duvarlarında artmış inflamatuvar yanıtın SAK'ı tetikleyebileceği düşünülmüştür (114-116). Ayrıca, polikistik böbrek hastalığı veya belirli bağ dokusu hastalıkları gibi bazı genetik hastalıklar ve durumlar da SAK riskini artırabilir.

Diabetes Mellitus'un (DM) SAK için bir risk faktörü olmadığını, aralarında belirgin bir ilişkinin olmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (117, 118). Dahası DM tanılı olgularda SAK'ın daha az görülebileceği bildirilmiştir (119, 120). Bununla birlikte SAK ilişkili komplikasyonların ve serebral vazospazmın DM tanılı hastalarda daha ağır seyrettiği görülmüştür (121). Anevrizmal olmayan SAK ise özellikle Tip 1 DM'un sık görülen bir mikrovasküler komplikasyonu olarak değerlendirilmiştir (122)

**Tablo 1. Serebral vazospazm risk faktörleri (123).**

|                                       |
|---------------------------------------|
| Kalın subaraknoid kanama              |
| Ventrikül içi hematoma                |
| Subaraknoid klotun yavaş rezorpsiyonu |
| Kötü nörolojik skor                   |
| Rüptür sonrası bilinç kaybı           |
| Sigara öyküsü                         |
| Hipertansiyon öyküsü                  |
| Diabetes Mellitus                     |
| Kokain kullanımı                      |

## 2.4. ETİYOLOJİ

**Tablo 2. SAK etiolojisinde travma dışındaki etkenler (124, 125). Arteriyovenöz malformasyon (AVM). Arteriyovenöz fistül (AVF).**

|                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------|
| Anevrizma                                                                     |
| AVM                                                                           |
| Dural AVF                                                                     |
| Kavernom                                                                      |
| Vaskülitler                                                                   |
| Serebral amiloid anjiyopati                                                   |
| Tümör                                                                         |
| Arter diseksiyonu (çoğunlukla travma sonrası gelişir)                         |
| Koagülasyon bozuklukları (antikoagülanlar, antiagreganlar, trombositopeni...) |
| Perimezensefalik SAK                                                          |
| Dural sinüs trombozu                                                          |
| Spinal AVM'ler                                                                |
| Pitüiter apopleksi                                                            |
| Kokain                                                                        |

## 2.5. MORTALİTE ORANLARI

aSAK'ın mortalite oranları oldukça yüksektir, ilk başvurudan itibaren SAK'ın bir yıllık mortalitesinin %65'e varan oranda olduğu görülmüştür (126) ve özellikle ilk 30 gün içindeki ölüm oranı hastaların yaklaşık %40-50'sidir (127-129). Bununla birlikte uygun tedavi ve takip ile bir yıllık mortaliye oranının %18'e kadar düşebileceği belirtilmiştir (130). Hayatta kalanlar arasında, kalıcı nörolojik hasar riski yüksektir ve yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyebilir. Bu nedenle, SAK'ın hızlı ve etkili bir şekilde tedavi edilmesi hayati önem taşır.

aSAK vakalarının yaklaşık %10-15'i hastaneye ulaşmadan önce yaşamını yitirir (129) Bunda rüptüre olan anevrizmanın büyüklüğü ve lokalizasyonu gibi faktörler de önemlidir (131) Hastaneye ulaşabilen hastaların yaklaşık %25'i ilk 48 saat içinde yaşamını yitirir (132) Bu genellikle anevrizmanın tekrar kanaması, erken dönem komplikasyonlar veya beyin dokusundaki hasardan kaynaklanır.

Hastaların genellikle yoğun bakım ünitesinde uzun süre kalması gerekir ve rehemoraji, vazospazm, hidrosefali, artmış intrakraniyal basınç, hiponatremi, nöbetler ve kardiyak anormallikler gibi çeşitli majör komplikasyonlar açısından takip edilmeleri gerekir. Bu sebeple aSAK tanılı tüm olguların beyin cerrahisi ve endovasküler işlem ekibinin olduğu bir merkezde yoğun bakımda takibi gereklidir (133). Hastaların hemodinamik ve nörolojik instabilite riskinin yüksek olması sebebiyle yakın vital takip alınması ve muayene edilmesi gereklidir.

## **2.6. ERKEN DÖNEM BEYİN HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM DIŞINDA SUBARAKNOİD KANAMA KOMPLİKASYONLARI**

### **2.6.1. Tekrar Kanama**

Anevrizma tedavisinde hem endovasküler hem de cerrahi tedavinin primer amacı tekrar kanamanın önüne geçmektir. Bir serebral anevrizmanın rüptüründen sonra tekrar kanama riski, özellikle ilk 24 saat içinde önemli ölçüde yüksektir. Bu risk, ilk 24 saatte %4-15 civarında olup, ilk hafta içinde toplamda %20'ye kadar çıkabilir (134). İlk kanamanın ardından geçen bir aydan sonra bu risk azalır ancak yine de mevcuttur, ilk 30 günden sonra yıllık kanama riski %3-5 olarak bildirilmiştir (135).

Bir çalışmada yeniden kanama görülen hastaların %77'sinde, ikinci kanama ilk kanama üzerinden geçen ilk 2 saat içinde olduğu görülmüştür (136).

Başvuru sırasında sistolik arteriyel kan basıncının 160 mmHg üzerinde olması, daha yüksek Hunt-Hess Skalası (HHS) skoru olması, özellikle 1 cm'den büyük çaplı anevrizma varlığı, intraventriküler ya da subdural hematoma varlığı tekrar kanama riskini artıran faktörlerdir (136-139).

Nörolojik muayenede gerileme, nöbet ya da ani hemodinamik değişiklikler yeniden kanamanın emaresi olabilir. Hastaların yakın monitörize takip edilmesi gereklidir. Kan basıncı için spesifik bir hedef olmamakla birlikte AHA/ASA önerilerine göre yeniden kanamanın önlenmesi için sistolik arteriyel kan basıncının 160 mmHg'den düşük olması gereklidir (133).

### **2.6.2. Hidrosefali ve Beyin Ödemi**

aSAK sonucunda ortaya çıkan beyin-omurilik sıvısı (BOS) emilimindeki ve sirkülasyonundaki engeller, ventriküler genişlemeyi ve dolayısıyla hidrosefaliyi tetikler. Akut

hidrosefali, SAK ile gelen hastaların %20'sinde gelişir ve hastanede kalışları boyunca herhangi bir zamanda ortaya çıkabilir (140). Bu hastaların yaklaşık 2/3'ünde ilk iki hafta içinde hidrosefali gelişir (141). Tedavide lomber drenaj (LD) veya eksternal ventriküler drenaj (EVD) ile BOS boşaltımı sağlanarak ventriküler genişlemenin ve kafa içi basınç yüksekliğinin önüne geçilmektedir. Anevrizmanın cerrahi veya endovasküler yolla kapatılmasından önce bu şekilde artan basıncın düşürülmesi ile yeniden kanama riskinin artabileceği düşünülse de yapılan çalışmalar bu görüşün doğru olmadığını göstermektedir (142, 143). Takipte hastaların %30 kadarı kalıcı şant yerleştirilmesi gerekmektedir (141). SAK olgularında hidrosefali gelişimi açısından risk faktörleri olarak ileri yaş, bilinen hipertansiyon öyküsü veya kanama ile birlikte gelişen tansiyon yüksekliği, posterior sirkülasyon anevrizması ve hiponatremi bulunur (144).

Öte yandan, SAK'ın sebep olduğu vasküler hasar ve kan-beyin bariyerinin bozulması, beyin dokusunun perivasküler ve interstisyel alanlarındaki sıvı birikimini ifade eden vazojenik ödem oluşumunu tetikler. Bununla birlikte EDBH nedeniyle artan oksidatif stres ve apoptoz, ayrıca serebral vazospazmın neden olduğu GSI, hücresel hasar sebebiyle sitotoksik ödem gelişimine neden olur. Kan hücreleri ve plazma proteinlerinin beyin parankimine ekstrasvazasyonu, beyin dokusunun ozmotik gradiyentini değiştirerek suyun intraselüler ve ekstraselüler kompartmanlar arasında yeniden dağılımını teşvik eder. Bu durum, beyin dokusunun lokal ve genel ödemi, intrakraniyal basınç artışı ve nörolojik disfonksiyona neden olur. Her iki mekanizma da SAK patofizyolojisinde merkezi roller oynar ve bu süreçlerin yönetimi, hastaların prognozunu belirlemek ve potansiyel nörolojik hasarı azaltmak için önemlidir.

### **2.6.3. Nöbet**

aSAK'da epileptik nöbet %20 oranında görülür (145). Genel durumu kötü olan SAK olgularında yapılan EEG takiplerinde %19 oranında nöbet görüldüğü ve bu nöbetlerin %92 oranında non-konvülfiz tipte seyrettiği gösterilmiştir (146). Konvülfiz tip nöbetlerin kraniyal BT'de SAK miktarı ile orantılı olduğu belirtilmiştir (147). Kötü skorlu SAK olgularında görülen non-konvülfiz nöbetler şiddetli parankimal inflamasyon ile ilişkilendirilmiştir (148).

### **2.6.4. Hipovolemi, Elektrolit Bozuklukları ve Hiperglisemi**

aSAK tanısı almış hastalarda sıklıkla azalmış intravasküler hacimle karşılaşılır. Bu durum, çeşitli faktörlere bağlı olarak gelişebilir. Bilinç kaybı tipik olarak azalmış sıvı alımıyla birlikte dehidratasyona yol açabilir. Tedavi amaçlı verilen diüretiklerin kullanılması ve tanısal

görüntüleme için radyografik kontrast maddelerinin kullanımı, intravasküler hacimde azalmaya neden olabilir. Uzun süreli yatak istirahati ve supin pozisyon, diürece neden olabilir, bu da intravasküler hacmin azalmasına yol açabilir. Negatif azot dengesi ve azalmış eritropoezis gibi faktörler intravasküler hacmin azalmasına katkıda bulunabilir. Medikal prosedürler veya müdahaleler kan hacminin azalmasına iatrojenik neden olabilir. Tüm bunlar sonucunda damar içi hacim azalabilir. Hipovolemi vazospazmı derinleştiren ve düzeltilmesi gereken bir durum olarak ele alınmıştır (149-152).

aSAK hastalarında elektrolit bozukluklar oldukça sık görülür ve klinik sonuçları ciddi şekilde etkileyebilir. Hiponatremi, aSAK hastalarında en sık görülen elektrolit bozukluğudur. Literatüre göre prevalansı %20-40 arasında değişmektedir. Bunun en yaygın nedeni, uygunsuz ADH sendromu veya serebral tuz kaybı sendromudur. SAK tanılı hastalarda hiponatremi, genellikle kanamanın ilk iki haftasında görülür, (özellikle de 3.-10. günler arasında). Ancak, tam zamanlaması hastanın klinik durumuna ve SAK'ın ciddiyetine bağlı olarak değişir. Bu hastalarda hiponatremi, artmış morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Örneğin, bir çalışma, hiponatremik SAH hastalarında ölüm oranının %34 olduğunu, hiponatremi olmayanlarda ise %17 olduğunu göstermiştir. Öte yandan, diğer çalışmalarda hiponatremi olan SAH hastalarının, serebral iskemi, nörolojik morbidite ve daha kötü nörolojik sonuçları olma olasılıklarının daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (149, 153-156).

Bazı hastalarda hipovolemi ile aynı anda hiponatremi de gelişebilir. Bu durum atriyal natriüretik peptitin (ANP) artmış salınımı ile ilişkilendirilmiş olup serebral tuz kaybı sendromuna yol açabilir. Bu fenomen, SAK hastalarında vazospazm başlangıcı ile de ilişkilendirilmiştir (157-159).

Bir başka dikkat edilmesi gereken durum, hiponatreminin uygunsuz antidiüretik hormon salgılanma sendromuna atfedilmesidir. Böyle bir yanlış teşhis, SAK hastalarında GSI ve enfarkt riskini artıracak olan sıvı kısıtlama gibi yanlış tedavi yaklaşımlarına yol açabilir. SAK'tan kaynaklanan hiponatremiyi düzeltmek için hipertonic veya izotonik salin dikkatlice uygulanmalıdır.

Hiponatreminin yanı sıra, diğer dikkate değer elektrolit dengesizlikleri arasında hipokalemi ve hipokalsemi bulunmaktadır. Herhangi bir cerrahi müdahaleden önce, terapötik strateji bu elektrolit dengesizliklerini düzeltmeye ve normalleşmiş intravasküler durumu korumaya yönelik olmalıdır.

### 2.6.5. Kardiyak Patolojiler

SAK hastalarında elektrokardiyogram (EKG) değişiklikleri yaygındır ve bu değişiklikler, özellikle ST-segment değişiklikleri veya T dalgası inversiyonları şeklinde, hastaların %40 ila %60'ında gözlemlenmektedir.(160-162) Bu EKG anormallikleri üç farklı nedenle ortaya çıkabilir: tesadüfen eşlik eden miyokard infarktüsü (MI), SAK tarafından tetiklenen MI, ve infarkt olmaksızın gelişen EKG değişiklikleri (160, 161, 163). Bu EKG değişiklikleri genellikle nörolojik disfonksiyonla ilişkilidir ve özellikle kötü seyirli SAK'lı hastalarda daha sık rastlanır. Ancak bu değişikliklerin cerrahi morbidite veya mortalite üzerinde direkt bir etkisi olmadığı düşünülmüştür. Ayrıca, ardışık çekilen EKG'lerde simetrik ters T dalgaları ve ciddi QTc (düzeltilmiş QT) aralığının uzaması gibi bulgular ventriküler disfonksiyonun önemli belirtileri olabilir (160, 162, 164).

Ekokardiyografide ventriküler disfonksiyon, SAK tanılı hastaların yaklaşık %10 ila %20'sinde ortaya çıkabilir. Bu durum, ağır SAK semptomları gösteren hastalarda daha yaygındır ve artan morbidite ile kötü klinik sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (161, 165-167).

aSAK tanılı olgularda akut ST-segment yükselmesinde MI'nü dışlamak ve bu bulgulara sahip hastalardaki ventrikül disfonksiyonunun derecesini belirlemek için kardiyak enzimler ve ekokardiyografiye ihtiyaç duyulmaktadır. Troponin ve beyin natriüretik peptit (BNP) seviyelerinin yükselmesi kötü bir prognozla ilişkilendirilmiştir (161, 166, 168, 169). MI meydana gelirse operasyon için anestezi riski artar; ancak, bu risk, cerrahi ertelenirse yeniden kanama riski de göz önünde bulundurularak değerlendirilmelidir. Eğer hastanın hemodinamik durumu istikrarsız değilse, kötü ventrikül fonksiyonuna sahip değilse (ejeksiyon fraksiyonu <%30) veya klinik olarak kalp yetmezliği tanısı almamışsa, uygun hemodinamik izleme ile cerrahi gerçekleştirilmelidir. Ancak, tedaviye yanıtı olmayan kötü ventrikül fonksiyonuna sahip hastalar için cerrahi, hastanın hemodinamik olarak stabil hale gelmesine kadar ertelenmelidir. Alternatif olarak, anevrizmanın endovasküler tedavisi düşünülebilir.

### 2.6.6. Pulmoner Patolojiler ve Derin Ven Trombozu

Pulmoner patolojiler aSAK olgularında en sık saptanan ekstraserebral komplikasyonlar olarak değerlendirilmiş olup bu hastalarda serebral vazospazm ve GSİ riskinin de arttığı ve yaklaşık iki kat daha fazla görüldüğü belirtilmiştir (170, 171).

aSAK yaşayan hastalar, ilk SAK olayıyla sıklıkla geçici bilinç kaybı yaşarlar. Bu olay sırasında veya sonrasında, akciğerlere mide içeriği başta olmak üzere aspirasyon meydana gelebilir ve pulmoner aspirasyon sebebiyle pnömoni atelektazi gibi solunumsal patolojiler

gelişebilir. Ayrıca bilinç kaybı ile ilişkili olarak gelişen yüzeysel solunum, azalmış öksürük yanıtı ve hava yolu açıklığının korunamaması da akciğerlerin fonksiyonunu efektif olarak yerine getirmesini önleyebilir ve pulmoner patolojilere zemin hazırlar (172). SAK sonrası yoğun bakım ünitesi hastalarının %20 ila %30'u arasında nazokomiyal pnömoni geliştiği belirtilmiştir (172, 173). SAK tanılı olgularda uzun süreli yoğun bakım ünitesi yatışı, uzayan entübasyon ve mekanik ventilatör ihtiyacı, artmış stres yanıtı sebebiyle etkilenen immün sistem özellikle pnömoni için birer risk faktörü olarak belirlenmiştir. Bir başka çalışmada ise 'hafta sonu etkisi' araştırılmış ve hafta sonu yatışı yapılan SAK olgularında daha sık nazokomiyal patoloji geliştiği gösterilmiştir (174). SAK hastalarında nazokomiyal pnömoni riskini azaltmak için kullanılabilecek stratejiler arasında erken entübasyonun sonlandırılması, aspirasyonun önlenmesi, ağız bakımı, yüksek baş pozisyonunun korunması ve uygun antibiyotik profilaksisi bulunmaktadır.

aSAK hastalarının %2-29'u arasında nörojenik pulmoner ödem (NPÖ) geliştiği bildirilmiştir, özellikle şiddetli SAK vakalarında risk daha yüksektir (171, 175-177). Yoğun sempatik aktivasyon sonucunda nörojenik pulmoner ödem oluşabilir. NPÖ'nin tam etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte, katekolaminlerin aşırı salgılanması ve pulmoner kapiller permeabilitesinin artmasına bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir (171, 175-177). Kadın cinsiyet, HHS skorunun 3 veya 3'ün üzerinde olması, EKG değişikliği, yüksek troponin seviyesi ve lökosit seviyesi SAK hastalarında NPÖ gelişimi açısından risk faktörü olarak gösterilmiştir (178). Anevrizma boyutu, lokalizasyonu ve Fisher derecesinin NPÖ için bir belirleyici olmadığı gösterilmiştir (179). Prognozu kötüleştiren bir başka solunumsal patoloji olan akut respiratuar distres sendromu (ARDS) için ileri yaş, düşük GKS skoru, yüksek HHS skoru, aspirasyon ve eşlik eden pnömoni risk faktörü olarak belirtilmiştir (180).

SAK olgularında derin ven trombozunun (DVT) %4-18, pulmoner tromboembolinin (PTE) ise %1-2 sıklıkla görüldüğü belirtilmiştir (181-185). Erkek cinsiyet, düşük GKS skoru, yüksek vücut ağırlığı, sigara öyküsü DVT ve PTE gelişme riski ile ilişkili bulunmuşken, anevrizma tedavi yöntemi ve hipertansiyonun ilişkisiz olduğu gösterilmiştir (181, 184). Ayrıca eksternal ventriküler drenaj (EVD) kullanılan, uzun süre yoğun bakım ve mekanik ventilatör ihtiyacı olan hastalarda immobilite ile ilişkili olarak tromboemboli riskinin arttığı gösterilmiştir (183, 185, 186). AHA/ASA kılavuzuna göre SAK olgularında anevrizma tedavi edilene kadar hastanın antikoagülan ve antiplatelet tedavisinin kesilmesi ve gerekli ise antidot tedavilerinin verilmesi önerilmiştir (133). Yine aynı kılavuza göre tüm olgulara kompresyon çorabı giydirilmeli ve anevrizma tedavisi sağlanıp kanama riski ortadan kaldırıldıktan sonra profilaktik subkutan heparin tedavisi başlanmalıdır (133).

## **2.7. ERKEN DÖNEM BEYİN HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM**

### **2.7.1. Erken Dönem Beyin Hasarı**

EDBH üzerine yapılan çalışmalar daha eskiye dayanmakla birlikte terim olarak ilk kez 2004 yılında yapılan çalışmalarla literatüre girmiştir (2, 3). EDBH, SAK sonrası ilk 72 saat içinde gelişen patofizyolojik olayları tanımlar. Erken serebral iskemi, beyin ödemi, kan-beyin bariyerinin (KBB) bozulması, nöroinflamasyon, oksidatif stres ve nöronal apoptoz gibi çok yönlü süreçleri içerir (187, 188). Endotel disfonksiyonu ve mikrovasküler düzeyde gelişen perfüzyon bozukluğu erken dönemde iskemiye neden olabilir. Artan intrakraniyal basınç, azalmış serebral perfüzyon basıncı ve mikrovasküler disfonksiyon sonucunda azalmış serebral kan akışı (SKA) ile karakterize erken serebral iskemi meydana gelir (187). Bu iskemi, zararlı moleküler ve hücrel süreçleri tetikleyerek sekonder beyin hasarına katkıda bulunur.

Matriks metalloproteinaz aktivasyonu ile kolaylaştırılan kan beyin bariyeri (KBB) bozulması, proteinin beyin parankimine ekstrasvazasyonuna yol açar, osmotik gradiyenti yükseltir ve vazojenik ödem oluşturur. KBB bozulması neticesinde gelişen vazojenik beyin ödemi, intrakraniyal basıncı artırır ve serebral iskemiye ağırlaştırır (188).

Mikroglial aktivasyon, lökosit infiltrasyonu ve pro-inflamatuar sitokin salınımı ile işaretlenen nöroinflamasyon beyin ödemi ve nöronal apoptoza katkıda bulunarak EDBH'nı artırır. Oksidatif stres, ROT'nin üretimi ve antioksidan savunmalar arasındaki dengesizlik sonucunda oluşur, hücrel yapıları (DNA, proteinler ve lipitler) hasar verir ve bu da EDBH'nı ağırlaştırır.

### **2.7.2. Anjiyografik Vazospazm ve Semptomatik Vazospazm**

aSAK sonrası gelişen serebral vazospazm için iki ayrı durum tanımlanmıştır ve bu iki durumun birlikte olması şart değildir. Bunlardan birisi anjiyografik vazospazm (AVS) diğer adıyla radyografik vazospazm; diğeri ise semptomatik vazospazm, diğer adıyla klinik vazospazmdir.

AVS, dijital substraksiyon anjiyografisi (DSA) ya da bilgisayarlı tomografik anjiyografi (BTA) gibi vasküler radyolojik görüntüleme yöntemleri ile SAK sonrası arteriyel damar lümeninin daraldığının gösterilmesidir. AVS, her zaman klinik belirtilere neden olmaz. Klinik belirti ve semptomların ortaya çıktığı duruma ise semptomatik vazospazm denir. Net bir konsensüs olmamakla birlikte, semptomatik vazospazm (SVS), GKS skorunda 2 veya daha fazla düşme ya da Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün tanımlamış olduğu inme skalası motor yanıtında 2 veya daha fazla artış olarak kabul edilmiştir (189). aSAK hastalarında yapılan bir çalışmada AVS insidansı %53.1, SVS insidansı %28.9 olarak belirtilmiştir, aynı çalışmada

enfarkt oranı ise %25.4 saptanmıştır.(190) Bir başka çalışmada ise aSAK olgularında AVS %48.5, SVS oranının %26.5 olduğu görülmüştür (191). AVS oranının belirlenmesinde önemli bir etken de tetkikin zamanlamasıdır. Vazospazmın aSAK sonrası en sık 3-14. günler arasında olduğu düşünüldüğünde ilk hafta %43 olarak saptanan AVS oranının ikinci hafta tekrarlandığında %67'yi bulduğu gösterilmiştir (192).

AVS'ın ilk 48 saat içinde de oluşabileceği ve bunun %4.6 oranında görüldüğünün bildirildiği bir çalışmada erken AVS görülen olgularda GSİ riskinin iki kat daha fazla olduğu belirtilmiştir (193).

### **2.7.3. Serebral Vazospazm ve Gecikmiş İskemik Nörolojik Defisit**

Serebral vazospazm, aSAK sonrası sürecin önde gelen ve belirgin bir komplikasyonudur. Arteriyel düz kas hücrelerinin hiperaktivitesi sonucu arteriyel lümen daralır ve bu durum, kan damarlarının patolojik olarak kasılması ve serebral kan akışının azalması şeklinde ortaya çıkar. Bu kasılma genellikle aSAK olayının başlangıcından 3-7 gün sonra başlar ve pik yapması 7-14 gün arasında gerçekleşir (194). Eğer düzgün yönetilmezse, bu durum iskemik hasara, hücre ölümüne ve serebral enfarkta yol açabilir.

Vazospazmın patofizyolojisi tam olarak belirlenememiş olsa da genellikle kan ve kan ürünlerinin beyin parankimi ve serebral damarlar arasında birikmesine, yani subaraknoid boşluktaki varlığına atfedilir. aSAK hastalarında ortalama SAK volümünün 35 ml olduğu, 150 ml'nin üstünde kan miktarının ani ölümle ilişkili olabileceği belirtilmiştir (195). Bu kan ve kan ürünleri, inflamatuvar ve vazokonstriktif mediyatörlerin salınımını tetikler, bu da arteriyel düz kas hücrelerinin kontraktilesini artırır ve sonuçta vazospazma yol açar.

Buna ek olarak, serebral vazospazm sıklıkla GSİ ve GİND ile ilişkilidir, ki bu durum aSAK sonrasında nörolojik morbiditenin ve mortalitenin en yaygın sebeplerindendir. GİND genellikle kanamanın ilk birkaç günü ile iki hafta arasında gelişir ve klinik olarak farklı derecelerde hafıza kaybı, konfüzyon, afazi veya hemiparezi gibi nörolojik bozukluklarla ortaya çıkar.

aSAK hastalarının vazospazm ve EDBH ele alınarak prognoz açısından değerlendirilmesinde en önemli kısım hastanın nöroloji durumu ve kanamanın boyutudur. Hastaların nörolojik durumlarının tayin edilmesinde sıklıkla HHS kullanılır (196). Yüksek skorlu olguların prognozu genellikle daha kötü seyretmektedir ve daha yüksek mortalite ve morbiditeye sahip olurlar. Bu hastalarda vazospazm ve bozulmuş vasküler otoregülasyon riski de daha yüksektir. Hastaların nörolojik durumunu değerlendirmede HHS alternatifi olarak Dünya Nöroşirurji Dernekleri Federasyonu (WFNS) Derecelendirme Sistemi de sıklıkla

kullanılmaktadır (197). Bu skala GKS ve motor defisit değerlendirmesini birlikte baz almaktadır.

**Tablo 3. HHS (Hunt Hess Skalası) (196).** (Hipertansiyon, diyabet, şiddetli arterioskleroz, kronik akciğer hastalığı gibi ciddi sistemik hastalıklar ya da anjiyografide şiddetli vazospazm varlığında skor bir basamak artırılır.)

| Kriter                                                                                               | HHS derecesi |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Aseptomatik veya minimal baş ağrısı, hafif ense sertliği                                             | I            |
| Kraniyal sinir etkilenmesi dışında nörolojik defisit yok, orta-ağır şiddet baş ağrısı, ense sertliği | II           |
| Uykuya meyil, konfüzyon veya ılımlı fokal defisit                                                    | III          |
| Stupor, orta-ağır şiddet hemiparezi                                                                  | IV           |
| Derin koma, deserebre rijidite                                                                       | V            |

**Tablo 4. WFNS (Dünya Nöroşirurji Dernekleri Federasyonu) sınıflandırması.(197)**

| GKS   | MOTOR DEFİSİT | WFNS DERECEİ |
|-------|---------------|--------------|
| 15    | yok           | I            |
| 13-14 | yok           | II           |
| 13-14 | var           | III          |
| 7-12  | var veya yok  | IV           |
| 3-6   | var veya yok  | V            |

Kanama miktarının değerlendirmesi için 1980 yılında, Craig G. Fisher ve meslektaşları Fisher Skalası'nı tariflemiştir. Bu skala ile vazospazm ve GSI riski belirlenmeye çalışılmış ve bilgisayarlı tomografide görülen kanama miktarı ile bu risk ilişkilendirilmiştir (39). Derece 1 kanama görülmeyen, derece 2 ince bir SAK görülen, derece 3 kalın ve yoğun bir kanama görülen, derece 4 ise ayrı bir SAK görülse de görülme de intraventriküler kanamanın ya da hematoma eşlik ettiği BT görüntüleri için sınıflandırılmıştır. Fisher ve meslektaşlarının çalışması, derece 3 ve 4 SAK grubunun serebral vazospazm gelişmesi ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu söylemiştir (39).

**Tablo 5. Fisher Skalası.(39)**

| BT bulguları                              | Derece |
|-------------------------------------------|--------|
| Kanama yok                                | 1      |
| Diffüz ancak <1 mm incelikte kanama       | 2      |
| Lokale klot ya da ≥1 mm kalınlıkta kanama | 3      |
| Hematoma ya da intraventriküler hemoraji  | 4      |

Modifiye Fisher Skalası, orijinal Fisher Skalası'nın serebral vazospazm ve GSİ riskini daha doğru tahmin edebilmesi için güncellenmiş bir versiyonudur. Orijinal Fisher Skalası'nın pratik uygulamasındaki bazı sınırlamalar ve klinik sonuçlarla olan ilişkisinin eksikliği, bu skalayı revize etme ihtiyacını doğurmuştur. Bu modifikasyon, hem SAK'ın yoğunluğunu hem de intraventriküler kanamanın varlığını dikkate alarak, vazospazm riskini daha kapsamlı bir şekilde değerlendirmeyi sağlamıştır (198).

**Tablo 6. Modifiye Fisher Skalası.** Derece arttıkça vazospazm riski artmaktadır (198).

| BT değerlendirmesi                                                                     | Derece |
|----------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Kanama yok                                                                             | 0      |
| İnce fokal veya diffüz subaraknoid hemoraji var<br>ancak ventrikül içi kanama yok      | 1      |
| İnce fokal veya diffüz subaraknoid hemorajiye ek<br>olarak ventrikül içi kanama var    | 2      |
| Kalın fokal veya diffüz subaraknoid hemoraji var<br>ancak ventrikül içi hemoraji yok   | 3      |
| Kalın fokal veya diffüz subaraknoid hemorajiye ek<br>olarak ventrikül içi hemoraji var | 4      |

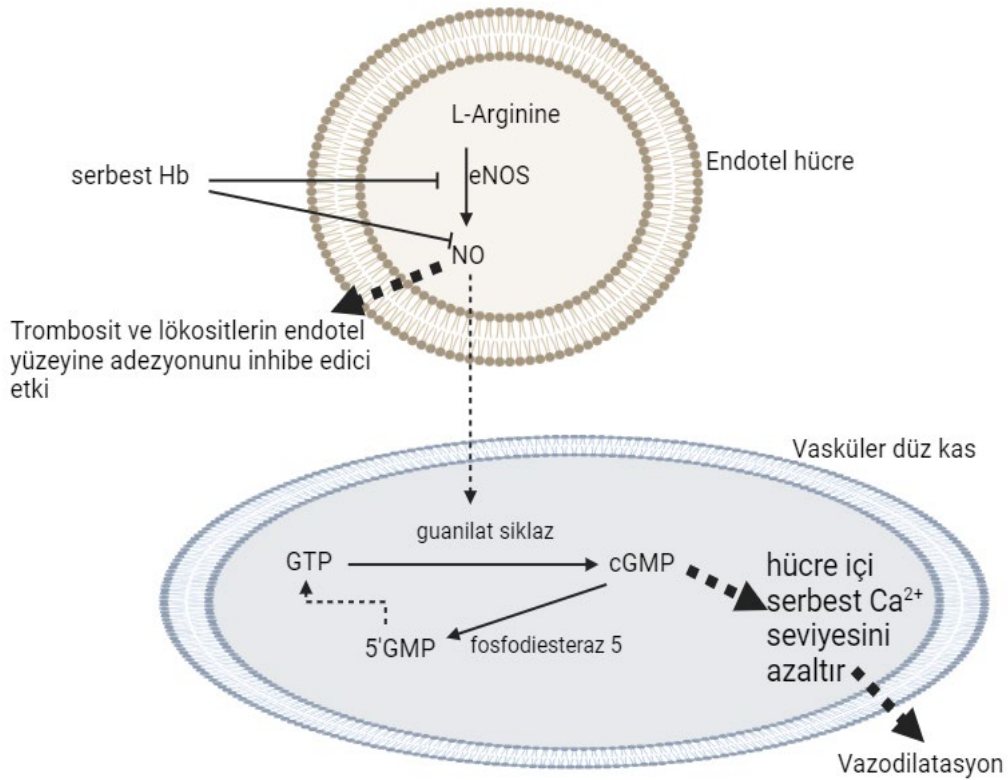
## 2.8. ERKEN DÖNEM BEYİN HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM İLE İLİŞKİLENDİRİLMİŞ MEKANİZMALAR

aSAK'ın patofizyolojisi, kanın subaraknoid boşluğa sızdığı andan itibaren başlar ve çeşitli komplikasyonları içeren karmaşık bir dizi süreci içerir. (Şekil 4)

### 2.8.1. Arjinin/Nitrik Oksit/cGMP Yolağı

Nitrik oksit (NO) serebrovasküler endotelde arjininden, endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığı ile üretilir; komşu düz kas hücrelerine yayılır ve çözünür, guanil siklazı uyarır, bu da siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumuna yol açar (199-201). cGMP, hücre içi

kalsiyum kanallarını aktive eder, bu da serbest kalsiyum ( $\text{Ca}^{2+}$ ) iyonlarının hücre içi depolara taşınmasını sağlar ve düz kas hücrelerinin gevşemesine yol açar. NO ayrıca trombosit ve lökositlerin endotel yüzeyine adezyonunu ve agregasyonunu inhibe eder, bu sayede vasküler inflamasyonu ve trombozu önler (199, 200). Serbest hemoglobin NO'ı bağlayarak ve eNOS üzerinde inhibitör etkide bulunarak vazokonstriksiyona yol açar.(202) NO donörlerinin otheregülasyon üzerindeki etkileri, cGMP oluşumu, eNOS aktivasyonu veya ekspresyonu gibi bu yolakla ilgili aşamalara etki eden terapötik müdahalelerle EDBH ve vazospazma çözüm bulunmaya çalışılmıştır (199-201, 203-205).



**Şekil 3. Arjinin/Nitrik oksit/cGMP yolağı üzerinden serebral vazospazma bakış. Serbest Hb'nin NO'ı bağlaması ve eNOS üzerinde inhibitör etkide bulunması ile bu vazodilatasyon yolağı bloklanır (202).**

### 2.8.2. Endotelin

Kuvvetli bir vazokonstriktör olan endotelin ilk kez 1988 yılında Yanagisawa ve ark tarafından domuz aortunun endotel hücrelerinden elde edilmiştir (206). SAK sonrası BOS'ta artışı gösterilen endotelinin serebral vazospazm sebebi olabileceği düşünülmüştür (207, 208). Ayrıca plazmadan ölçülen endotelin değerlerinin de serebral vazospazm için tarama kriteri olabileceği önerilmiştir (209). Endotelin reseptör antagonistlerinin (ERA), clazosentan gibi, ya da aktif endotelin oluşma sürecini inhibe eden ajanların, fosforamidon gibi, vazodilatasyonu

sağlayabileceği ve SAK sonrası gelişen vazospazm ve GSI'yi önlemek için kullanılabileceği düşünülmüştür (210-219). Ancak bunun aksini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (220). Vergouwen ve ark yaptığı bir meta-analizde ERA'lerin serebral vazospazm üzerinde etkili olmadığı, bunun yanında pulmoner ödem hipotansiyon anemi gibi ek komplikasyonlar yaptığı sonucuna ulaşılmıştır (221).

### **2.8.3. Hipoksi ile İndüklenen Faktör 1 alfa**

HIF-1 $\alpha$ , hipoksi ve oksidatif stresin patofizyolojik yanıtında merkezi bir transkripsiyon faktörüdür ve enerji metabolizması, anjiyogenez, eritropoezis ve apoptozis gibi birçok biyolojik süreci düzenler (222, 223). HIF-1 $\alpha$ 'nın SAK sonrası patolojik sürece progresif katkıda bulunduğu, kan beyin bariyerine etki ederek vazojenik ödemi arttırdığı ve bu sebeple inhibe edilmesinin fayda vereceği belirtilmiştir (224-226). Hu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SAK sonrası gelişen EDBH'nı artırdığı görülmüştür (225). Çeşitli deneysel SAK modellerinde serebral hasarı azaltan tedavi edici ajanların etki mekanizmaları içerisinde değerlendirilmiştir (227-229). Ayrıca HIF-1 $\alpha$ 'nın serebral vazospazmı artırdığı, ekspresyonunun azaltılması ile vasküler dilatasyonun sağlanabileceği düşünülmüştür (230).

### **2.8.4. İnflamasyon**

aSAK sonrası gelişen serebral vazospazm ve EDBH için nöroinflamasyon tetikleyici mekanizma olarak düşünülmüş ve bu sürece etki edecek müdahalelerle mortalite ve morbiditenin azaltılması hedeflenmiştir (231-237). Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) santral sinir sisteminde patolojik inflamatuvar süreçlerle ilişkilendirilmiştir (238, 239). BOS'da MCP-1 artışının vazospazm şiddeti ile ilişkili olabileceği, ayrıca plazmadaki MCP-1 miktarının hastaların klinikleri ile ters orantılı olabileceği belirtilmiştir (240-243). MCP-1 antagonistlerinin inflamasyonu azaltarak EDBH ve GSI'nin önüne geçebileceği düşünülmüştür (243). İnflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde etkin bir sitokin olan interlökin-6 (IL 6) da üzerinde çalışılmış ve hem vazospazm hem de prognoz açısından değerlendirilmiş önemli bir mediatördür (244, 245). BOS'da bulunan IL 6 artışının SAK sonrası gelişen vazospazmın erken bir belirtisi olabilir (246-248). Ayrıca artmış serum IL 6 düzeyi vazospazm ve yüksek HHS skoru ile ilişkilendirilmiştir, ancak bu değer pnömoni gibi enfektif süreçlerde de artabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (249, 250).

Nükleer faktör kappa-B (NF-kB) inflamasyonun ana düzenleyicilerinden biridir ve aktivasyonu, inflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve adhezyon moleküllerinin

ekspresyonunu artırır (251). NF-kB aracılığı ile gelişen inflamasyonun hem anevrizma rüptürü ile SAK gelişiminde hem de SAK sonrası erken ve geç dönem serebral hasarda etken olabileceği düşünülmüştür (252-254). Tavşanlarda yapılan bir çalışmada ise NF-kB seviyesinin SAK sonrası bifazik bir patern gösterdiği, ilk artışın nöronal hasarı arttırdığı, ancak ikinci artışın böyle bir etkisinin olmadığı ifade edilmiştir (255). Pentoksifilin, ghrelin, pirolidin dityokarbamat gibi NF-kB yolağı üzerinde inhibitör etkisi olan ajanlarla inflamasyonun azaltılması ve SAK sonrası gelişen EDBH'nın önüne geçilmesi hedeflenmiştir (256-259).

### 2.8.5 Oksidatif Stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT) ve reaktif nitrojen türlerinin (RNT) aşırı üretimiyle karakterize hücresel hasar durumudur. SAK sonrası oluşan EDBH ve serebral vazospazm sürecinde oksidatif stresin merkezi bir rol oynadığına dair artan kanıtlar mevcuttur (260-266). Oksidatif stresin endotel disfonksiyonunda önemli bir etken olduğu düşünülmüştür (267). SAK geliştirilen deneklerde subaraknoid alanda süperoksit radikallerinin arttığı gösterilmiştir (268, 269). Süperoksit radikallerini azaltıcı etkide bulunan süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, SAK sonrası arteriyel vazospazma bağlı iskemik komplikasyon gösteren hastalarda artmaktadır (270). Beyin parankiminde alınan örneklerde ise SOD aktivitesinin kanama şiddeti ile korele olarak arttığı gösterilmiştir (262). N-asetilsistein'in SOD aktivitesini arttırarak antioksidan etkide bulunduğu gösterilmiştir (271). NADPH oksidaz enziminin baskılanmasının nöroprotektif etki yapabileceği ve hiperbarik oksijen tedavisi ya da çeşitli ajanlarla inhibe edildiğinde SAK sonrası vazospazm nedeniyle gelişen nöral hasarın azaltılabileceği ifade edilmiştir (272-274).

### 2.8.6 Apoptoz ve Otofaji

Nöronal ve astrositik apoptozis SAK sonrasında EDBH'nın ana mekanizmalarından biri olarak belirtilmiştir ve hastaların kötü prognozuna önemli ölçüde katkıda bulunduğu düşünülmüştür (275-279). Ayrıca endotel hücrelerinin apoptoza uğraması sebebiyle KBB bozulması ödem gelişimine katkıda bulunmaktadır (280-282). Anti-apoptotik etkili ajanlarla yapılan çalışmalarda SAK'ı takiben gelişen EDBH'nın daha az olduğu gösterilmiştir (283-289). Otofaji, hücresel ve doku homeostazını sürdüren önemli bir katabolik mekanizmadır ve SAK sonrası gelişen patolojik süreçte nöroprotektif etkisinden faydalanılabileceği belirtilmiştir (275, 290-294). Otofajik yolların uyarılması ile EDBH ve serebral iskemi için terapötik fayda elde edileceği düşünülmüştür (284, 295, 296). EDBH, vazospazm ve GSI'nin apoptoz ve otofaji

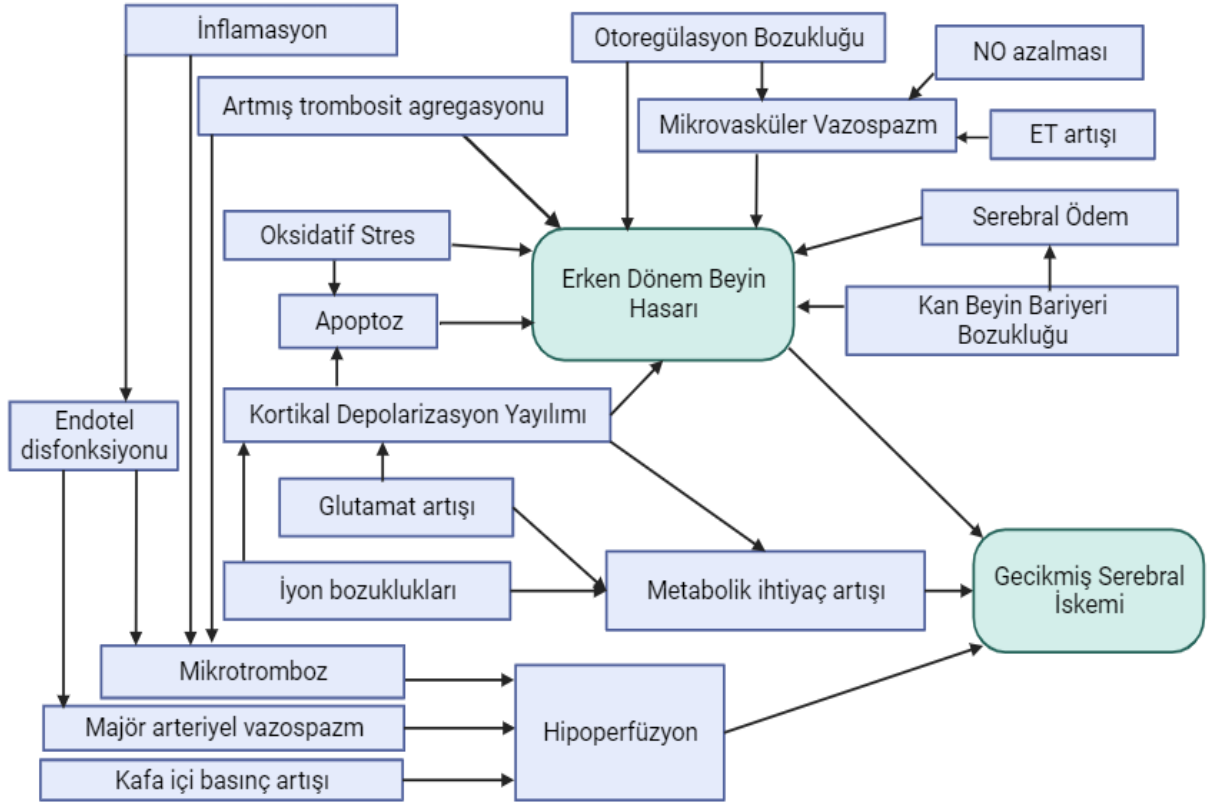
bakış açılarıyla değerlendirilmesi hücresel organel yapıların fonksiyonları üzerinden tedavilerin geliştirilmesi fikrini ön plana çıkarmıştır (276, 296, 297).

#### **2.8.7. Kortikal Yayılan Depolarizasyon**

Kortikal yayılan depolarizasyonlar (KYD), nöronları ve glial hücreleri etkileyen, kendi kendine yayılan patolojik depolarizasyon dalgalarıdır (298). Hücre içi özellikle kalsiyum ve sodyum iyonlarının artışı neticesinde transmembranöz potansiyel enerji kaybı gelişir (299). Hücre hasarı arttıkça ekstraselüler ortamda glutamat ve potasyum artışı depolarizasyon dalgalarının kortikal yayılımını arttırır (300). N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri ve iyon kanallarının aşırı aktivasyonu bu süreçte önemli rol oynar. Artmış ekstraselüler potasyumun vazokonstriksiyona sebep olarak serebral otoregülasyonu bozduğu gösterilmiştir (301). KYD'nin, SAK'da vazospazmın gelişmediği durumlarda bile ortaya çıktığı, EDBH ve nöroinflamasyon oluşumuyla yakından ilişkili olduğu görülmüştür (302-305). Ketamin gibi NMDA reseptör blokerleri, magnezyum sülfat içeren solüsyonlar ve çeşitli anestezi ajanlarıyla bu patolojik sürecin önüne geçilmeye çalışılmıştır (306-309).

#### **2.8.8. Endotel Disfonksiyonu**

Endotel hücreler kan beyin bariyerini (KBB) oluşturan esas hücrelerdendir (310). SAK'da hasar görmesi, KBB'nin bozulmasına ve ödem artışına yol açar (311). Ayrıca endotel hücreler, vasküler tonusun sağlanmasında önemli etkilerde bulunurlar (312). Bu fonksiyonunun bozulması neticesinde vazospazmın mikrovasküler düzeyde gelişmeye başladığı düşünülmüştür (313-315). Ayrıca endotel hücrelerinin hasar görmesiyle koagülasyon kaskadının tetiklendiği ve mikrotrombüslerin oluştuğu görülmüştür (316). Statin grubu ajanların endotel disfonksiyonunu düzenlediği ve serebral vazospazm üzerinde tedavi edici etkide bulunduğu belirtilmiştir (317-321).



**Şekil 4. Erken dönem beyin hasarı ve gecikmiş serebral iskemi patofizyolojisi.**

## 2.9. SUBARAKNOİD KANAMA VE SEREBRAL VAZOSPAZM TANI YÖNTEMLERİ

Acil servise en sık başvuru sebebinin baş ağrısı olduğu (322), ancak baş ağrısı ile gelen olguların ancak sadece %1'inin SAK ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (323). SAK ile ilişkilendirilen klasik baş ağrısı tanısı 'şimşek çakması' tarzında ani başlangıçlı ve oldukça şiddetlidir (324). Baş ağrısı ile birlikte kusma, ense ağrısı, senkop, nöbet, nörolojik defisit veya bilinç değişikliği olması SAK şüphesini artırır (325). Ancak %50'ye varan oranda normal nörolojik muayene olabileceği unutulmamalıdır (326). Baş ağrısı şikayeti ile başvuran olgularda radyolojik tetkik gerekliliğinin değerlendirilmesi için Ottawa Kriterleri tariflenmiş ve önerilmiştir (133, 327).

**Tablo 7. Ottawa Kriterleri (133, 327).**

|                                                                                                                            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Yaş $\geq$ 40                                                                                                              |
| Ense sertliği ya da enseden yayılan ağrı                                                                                   |
| Bilinç kaybı                                                                                                               |
| Semptomların efor ile başlaması                                                                                            |
| Çok şiddetli, aniden başlayan ve genellikle kişinin hayatında yaşadığı en kötü baş ağrısı olarak tanımlanan bir baş ağrısı |
| Muayenede boyun fleksiyonunda kısıtlılık                                                                                   |

SAK'ın gösterilmesinde kontrastsız bilgisayarlı tomografi (BT)'nin ve anevrizmanın saptanmasında kranial bilgisayarlı tomografik anjiografinin (BTA) %98 sensitivitesi ve %100 spesifitesi mevcuttur (328, 329). Ancak bu sensitivitenin ilk altı saat içinde bu oranda olduğu, baş ağrısı başlangıcından itibaren altı saat sonrasında BT'nin SAK için sensitivitesinde %85.7'ye kadar düşüş olabileceği belirtilmiştir (330) Kranial BT'nin şiddetli anemi, hareket artefaktı gibi durumlarda olduğu gibi SAK'ı atlayabileceği ve SAK'lı hastada negatif BT görülebileceği unutulmamalıdır ve bu durumlar için lomber ponksiyon (LP) yapılması önerilmiştir (328) Travmatik LP nedeniyle hatalı SAK tanısı konabilir ancak negatif sonucun SAK ekartasyonunda yüksek doğruluk payı olduğu akılda tutulmalıdır (328)

**Tablo 8. Travmatik LP ile SAK'da yapılan LP arasındaki farklar (331)**

|                                         | <b>Travmatik LP</b>     | <b>SAK'da LP</b>                          |
|-----------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------|
| <b>Klot</b>                             | Klot bulunur            | Klot içermez                              |
| <b>Ksantokromi</b>                      | Ksantokromi yok         | Kanamadan 12 saat sonra ksantokromikleşir |
| <b>Bilirubin</b>                        | Bilirubin $<350$ nmol/L | Bilirubin $> 350$ nmol/L                  |
| <b>Hemosiderin yüklü makrofaj</b>       | Yok                     | Kanama sonrası günler içinde artar        |
| <b>BOS basıncı</b>                      | Normal                  | Artmış                                    |
| <b>Farklı seviyeden tekrarlanan tap</b> | Normal gelebilir        | Her seviye benzer                         |

Böbrek yetmezliği ve menenjit tablolarında olduğu gibi BT bazı durumlarda aSAK tanısı için yanlış pozitif sonuçlar verebilmektedir. Bu durumlar için manyetik rezonans görüntülemenin (MRG) faydalı olabileceği belirtilmiştir (332). Ayrıca MRG, SAK'ın sürece göre sınıflandırılmasında da kullanılmıştır (333) İlk bir hafta akut, bir hafta ile bir ay arası dönem subakut, bir aydan sonrası ise kronik SAK olarak tariflenmiştir. BT'nin SAK için duyarlılığının bir haftada %50'ye ve üç hafta sonra %0'a kadar düştüğü belirtilmiştir.(334) Özellikle SWI ve FLAIR MRG sekansları subakut ve kronik dönemde SAK tespitinde önemli bulunmuştur. Naidoo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada SAK gelişiminden 3 ay sonra yapılan SWI sekans MRG taramasında %95.7 oranında duyarlılık gösterilmiştir (335).

İntrakraniyal anevrizma tanısında DSA altın standart tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir. Ancak BTA hızlı ve ucuz uygulanabilir bir tetkik olması sebebiyle ilk görüntüleme yöntemi olarak ön plana çıkmaktadır. Ayrıca kemik yapıların değerlendirilmesi, hematoma ile anevrizma ilişkisinin ortaya konması ve özellikle büyük ve dev anevrizmalarda trombus varlığının gösterilmesi açısından DSA'ya üstünlüğü vardır. Bunun yanında SAK etiyolojisinin araştırılması için çekilebilecek bir tetkik olarak damar duvarına yönelik MRG sekansları da anevrizmatik kanamayı doğrulayabilecek ya da dışlayabilecek tanı yöntemidir (336). Ayrıca bu tetkik multipl anevrizma varlığında hangi anevrizmanın kanadığının tespit edilmesinde de kullanılabilir (337).

Vazospazmın gösterilmesinde BTA'nin %80 duyarlılığa ve %93 özgüllüğe sahip olduğu görülmüştür (123). Tetkikin DSA'ya göre en önemli kısıtlayıcılığı, tedavi sonrası koil veya klip ilişkili artefakt oluşumundan dolayı vasküler yapıların optimal değerlendirilememesidir. BTA değerlendirmesinde anjiyografik vazospazm, şiddetin belirtmesi için fokal, segmental ya da diffüz olarak gruplandırılabilir. Ayrıca arterin vazospazm öncesi tetkiklerle kıyaslamasına göre hafif (<%25), ılımlı (%25-50) ve şiddetli (>%50) olarak derecelendirilebilir (123). Serebral vazospazmın buna benzer şekilde gruplandırıldığı bir çalışmada kraniyal BTA ile DSA arasında genel olarak %75 oranında korelasyon görüldüğü, bu oranın hiç vazospazmın olmadığı hastalarda (%92) ve şiddetli vazospazmın olduğu hastalarda (%100) daha yüksek oranda olduğu ifade edilmiştir (338). Benzer amaçlarla yapılan çalışmalarda ise ince kesitli BTA ile DSA arasındaki yakın oranlardan dolayı serebral vazospazmın araştırılmasında BTA'nin ana tetkik olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (339, 340).

Transkraniyal doppler ultrasonografi (TKDU), intrakraniyal damarların akış hızını ölçebilen bir yöntemdir. Vazospazm, arter lümenini daralttığında ve göreceli olarak kan akış

hızını artırdığında, TKDU, vazospazmı tespit etmek için kullanışlı bir tarama aracı olarak işlev görür (341). AHA/ASA tarafından SAK olgularında serebral vazospazm izlemi için önerilmiştir (133). Vazospazm riskinin yüksek olduğu dönemde, genellikle kanama sonrası 14. güne kadar haftada iki-üç kez yapılması önerilmiştir (140). 2019 yılında yayınlanan bir literatür taramasında TKDU ile serebral vazospazm izleminin orta serebral arter (OSA) için yapıldığında daha doğru sonuçlar verdiği, anterior serebral arter (ASA) ve posterior serebral arter (PSA) vazospazmını tespit etmede tanısal doğruluğunun sınırlı olduğu, posterior sirkülasyonda vertebral arter ve baziler arterin değerlendirilebilmesi için daha fazla veri gereksinimi olduğu belirtilmiştir (342). Aynı çalışmada düşük veya çok yüksek OSA akış hızlarının (<120 veya >200 cm/s), vazospazmın varlığını veya yokluğunu güvenilir bir şekilde tahmin edebileceği, 120 ile 199 cm/s arasındaki ara hızlarda anjiyografik vazospazm için güvenilir olmayan sonuçların ortaya çıkacağı ifade edilmiştir (342). Vazospazm tanımı için kullanılan hız kriterleri değişiklik gösterse de, OSA ortalama akış hızının saniyede 200 cm'yi aşması %87 pozitif prediktif değere sahipken, saniyede 120 cm'den az olması %94 negatif prediktif değere sahip olduğu bildirilmiştir (343). OSA üzerinde yapılan başka bir çalışmada TKDU'de akım hızının 120 cm/sn'nin üzerinde olması ile klinik vazospazm teşhisinin %81.1 doğruluk oranına, anjiyografik vazospazm için %77.2 doğruluk oranına sahip olduğu belirlenmiştir (191). Bu ilişkinin tariflenmesi diğer intrakraniyal arteriyel yapılar için net değildir. Anterior sirkülasyon ve posterior sirkülasyon için farklı sınır değerler belirlenmiştir (344). Serebral kan akımının vazospazmdan mı yoksa başka bir sebepten dolayı mı arttığını ayırt edebilmek, başka bir ifadeyle TKDU'nin serebral vazospazm tanısında daha doğru sonuçlar elde edebilmesi için Lindegaard 1988 yılında OSA akım hızını, İKA akım hızına bölerek elde ettiği ve literatürde kendi ismiyle anılan indeksi tarif etmiştir (345, 346). Bu oranın 3'ten küçük olması halinde vazospazm olmadığı, 3-4.5 arasındaysa, hafif vazospazm olduğu, 4.5-6 arasındaysa, orta derecede vazospazm olduğu kabul edilir. Oran 6'dan yüksekse şiddetli vazospazm varlığını işaret eder.

**Tablo 9. Lindegaard oranı rehberliğinde transkraniyal doppler ultrasonografide vazospazm teşhisi (345, 346).**

| Lindegaard Oranı |                         |
|------------------|-------------------------|
| <3               | Vazospazm yok           |
| 3-4.5            | Hafif vazospazm         |
| 4.5-6            | Orta derecede vazospazm |
| >6               | Şiddetli vazospazm      |

TKDU, serebral vazospazmın hem tarama hem de izleme aşamalarında etkili bir araç olmasına rağmen, uygulayıcı bağımlı bir yöntem olması ve bazı hastalarda intrakraniyal damarların ultrason dalgalarıyla tespit edilmesinde zorluklar yaşanabilmesi nedeniyle sadece TKDU değerlerine dayanarak vazospazm tedavisi başlatılmamalıdır (140).

Perfüzyon BT kullanımı, anjiyografik vazospazmın tespitinde DSA ile paralel sonuçlar veren hızlı bir tetkik olması sebebiyle giderek artmaktadır (347, 348). 2010 yılında yapılan bir çalışmada perfüzyon BT'nin anjiyografik vazospazm tespitinde %74 sensitiviteye ve %93 spesifiteye sahip olduğu gösterilmiştir (349). GSİ'nin prediktörü olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (350). BT anjiyografi ile kombine edildiğinde hem tanıda yüksek spesifite ve sensitivite sonuçları ile, hem de tedavinin değerlendirilmesinde kullanılması yönüyle DSA'ya önemli bir alternatif olabileceği bildirilmiştir (351).

Tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi (SPECT), bölgesel serebral kan akımı ve metabolizma üzerindeki değişikliklere duyarlı bir tetkiktir. Bu özelliğinden faydalanılarak serebral vazospazm araştırılmasında kullanılmıştır (352-354). Ancak yüksek maliyet, daha fazla radyasyon, daha uzun süre ve daha düşük spesifite nedeniyle daha az tercih edilmektedir. Xenon BT de perfüzyon odaklı bir tetkiktir ve GSİ'nin öngörülebilirliği açısından araştırılmıştır (355, 356). Ancak klinik pratikte yüksek maliyet, düşük uygulanabilirlik, xenon gazı solunması gerekliliği gibi sebeplerden dolayı sıklıkla tercih edilmemektedir.

Manyetik rezonans anjiyografinin (MRA) serebral vazospazmı gösterme konusunda özgüllüğünün düşük olması nedeniyle pratikte kullanımı sınırlıdır (357, 358). GSİ gelişimi de düşünüldüğünde perfüzyon ve difüzyon MRG ile birlikte çekilebilecek olması avantaj sağlayabilir (359).

Termal difüzyon akım ölçümü (TDAÖ), TKDU gibi serebral vazospazmın araştırılmasında hasta başı uygulanabilirlik sağlayan bir tetkiktir (360). Özellikle düşük skorlu SAK olgularında faydalı olabileceği belirtilmiştir (361). Sürekli bir izlem sağlamasıyla avantajlı olsa da probun parankime yerleştirilme gerekliliği ve sadece prob yerleştirilen bölgenin değerlendirilmesi yönüyle dezavantajlıdır.

Serebral mikrodializ monitörü ise beyin parankiminde ekstraselüler metabolitlerin ölçümü ile serebral metabolizma üzerinden vazospazmı ve GSİ'yi yorumlamamızı sağlayan bir tetkiktir (362, 363). TDAÖ'nde olduğu gibi bir prob aracılığı ile yatak başı devamlı bir uygulanabilirlik sağlasa da düşük kanıt düzeyi, invaziv bir yöntem olması ve sadece belirli bir alanı değerlendirmesi nedeniyle dezavantajlıdır (364).

Yakın kızılötesi spektroskopi (YKÖS), doku oksijen saturasyonunu ve hemoglobin hacmindeki değişiklikleri, dolaylı olarak da SKA'nı ölçmek için kullanılan noninvaziv ve nispeten düşük maliyetli bir tekniktir. YKÖS, kortikal oksijen doygunluğu ve toplam hemoglobindeki azalma yoluyla iskemiye tespit eder. Serebral vazospazm ve GSI tanısında faydalı olabileceği görülmüştür (365-367).

**Tablo 10. Serebral vazospazm teşhisinde kullanılan tetkikler.**

| <b>Tetkik</b>                                           | <b>Avantaj</b>                                                                                                                                                                                                                                                                 | <b>Dezavantaj</b>                                                 |
|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| <b>Transkraniyal doppler ultrasonografi</b>             | Noninvaziv<br>Hasta başı uygulanabilirlik                                                                                                                                                                                                                                      | Uygulayıcı bağımlı<br>Akustik pencere yetersizliği                |
| <b>BTA</b>                                              | DSA ile benzer spesifite<br>DSA'ya göre daha düşük maliyet ve daha hızlı uygulanabilirlik<br>Preoperatif planlama (hematom, kemik anatomi, trombus değerlendirebilme imkanı)<br>Vasküler anatomi hakkında daha fazla bilgi<br>Tedavinin değerlendirilmesinde kullanılabilirlik | Kontrast madde<br>Artefakt (hareket, koil ya da klip ilişkili)    |
| <b>MRA</b>                                              | Kontrast madde kullanılmaması<br>Difüzyon ve perfüzyon MR sekansları ile birlikte uygulanabilirlik                                                                                                                                                                             | Düşük sensitivite<br>BTA'ya göre daha az pratik                   |
| <b>Perfüzyon BT</b>                                     | BT anjiyografi ile birlikte kullanılabilirlik<br>Yüksek sensitivite<br>Tedavi değerlendirilmesinde kullanılabilirlik.                                                                                                                                                          | Kontrast madde.<br>Vasküler anatomiye değerlendirmekte yetersiz.  |
| <b>DSA</b>                                              | Altın standart<br>Yüksek sensitivite<br>Yüksek spesifite                                                                                                                                                                                                                       | İnvaziv<br>Kontrast madde                                         |
| <b>Termal difüzyon akım ölçümü, mikrodializ monitör</b> | Yatak başı uygulanabilirlik                                                                                                                                                                                                                                                    | Yetersiz klinik çalışma<br>Sınırlı alan hakkında bilgi<br>İnvaziv |

aSAK olgularında vazospazm ve GSI'nin tespit edilmesinde elektroensefalogram (EEG) çalışmaları da yapılmıştır (368, 369). Ancak üzerinde konsensüs sağlanmış bir parametre bulunmamaktadır. EEG'de alfa indeksi olarak ifade edilen alfa dalgalarının yoğunluğunu baz alan çalışmalarda alfa indeksinin klinik kötüleşmeyi %67 oranında, iyileşmeyi ise %50 oranında öngörebileceği gösterilmiştir (369). İntrakortikal EEG ile yapılan bir çalışmada alfa/delta dalga oranının en uygun parametre olabileceği ve GSI gelişen olgularda bu oranın %24 oranında düştüğü, iskemi gelişmeyen SAK olgularında ise %3 artış gösterdiği belirtilmiştir (370).

## 2.10. SUBARAKNOİD KANAMA, ERKEN DÖNEM BEYİN HASARI VE SEREBRAL VAZOSPAZM TEDAVİSİ

**Tablo 11. Anevrizmatik Subaraknoid Kanama Tedavisinde AHA/ASA Önerileri (133).**

|                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>İlk Değerlendirme</b> | SAK saptanan olguda rüptüre anevrizma noninvaziv bir anjiyogram ile daha önce teşhis edilmemiş ise DSA ile değerlendirme önerilmektedir. Olgular düşük hacimli hastanelerden (örneğin, yılda <10 aSAK vakası), deneyimli serebrovasküler cerrahlar, endovasküler uzmanlar ve multidisipliner nörointensif bakım hizmetlerine sahip yüksek hacimli merkezlere (örneğin, yılda >35 aSAK vakası) erken dönemde sevk edilmelidir. |
| <b>Kan Basıncı</b>       | Rüptürle ilişkili semptomlar ortaya çıktıktan sonra anevrizma kapatılana kadar hipertansiyondan kaçınılmalı, gerekirse antihipertansif infüzyonlar kullanılmalıdır. Anevrizma kapatıldıktan sonra hastanın takibinde gecikmiş serebral iskemi bulguları geliştiğinde kardiyak engel yoksa tansiyon yüksekliği sağlanmalıdır.                                                                                                  |
| <b>Vazospazm</b>         | Övolemisi sağlanmalı, hipervolemi ya da hipovolemiden kaçınılmalıdır. Oral nimodipin tedavisi aSAK tanılı tüm olgulara verilmelidir. Nimodipinin serebral vazospazma etkisi gösterilemese de gecikmiş serebral iskemi üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir.                                                                                                                                                                  |
| <b>Tekrar Kanama</b>     | Serebrovasküler cerrah ve endovasküler uzmanların kararı doğrultusunda uygun tedaviye karar verilerek mümkün olan en kısa sürede anevrizma kapatılmalı ve yeniden kanamanın önüne geçilmelidir.                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Hidrosefali</b>       | Akut hidrosefalide LD veya EVD takılmalı, kronik hidrosefali gelişirse kalıcı yöntemler uygulanmalıdır.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Tromboemboli</b>      | SAK saptanan tüm olgulara kompresyon çorapları giydirilmeli. Kanamış anevrizma, cerrahi ya da endovasküler yolla kapatılana kadar antikoagülan/antiagregan tedavi kesilmeli ve anevrizmanın kapatıldığından emin olunduktan sonra profilaktik subkutan heparin tedavisi başlanmalı.                                                                                                                                           |

Kalsiyum kanal blokerleri arasında dihidropiridin grubu, özellikle nimodipin, serebral vazodilatasyon üzerinde selektif etkiye sahip olan ajanlardır. Bu grup içindeki diğer ilaçlardan farklı olarak, nimodipin daha yüksek lipofiliteye sahip olduğundan, kan-beyin bariyerini geçme ve serebral damarlara etki etme konusunda daha etkilidir (371). Bu sebeple nimodipin, aSAK'da tercih edilen bir kalsiyum kanal blokeridir. Dihidropiridin olmayan kalsiyum kanal blokerleri genellikle kalp üzerine daha fazla etki gösterir ve bu nedenle serebral vazospazmın tedavisinde ilk tercih değildir. Nimodipinin diğer kalsiyum kanal blokerlerinden bir diğer önemli farkı, klinik çalışmalarda serebral vazospazmı takiben nörolojik sonuçların iyileştirilmesinde gösterdiği etkinliktir. Radyografik vazospazm insidansını azaltmamakla birlikte, serebral perfüzyonu artırarak ve potansiyel olarak nöroprotektif etkiler göstererek klinik sonuçları iyileştirdiği gözlemlenmiştir (28). Nimodipinin bu etkisi, muhtemelen direkt vazodilatasyon yanıtından ziyade, artan kollateral perfüzyon veya hücrel koruma mekanizmaları aracılığıyla gerçekleşmektedir (140). Standart 60 mg dozajın her 4 saatte bir verilmesi, bazı hastalarda hipotansiyona neden olabilir; bu durumu hafifletmek için dozaj, her 2 saatte bir 30 mg olarak ayarlanabilir (140).

3H ya da üçlü H tedavisi olarak isimlendirilen hiperdinamik tedavi hipervolemi, hipertansiyon ve hemodilüsyonu içermektedir. İntravasküler hacmin genişletilmesi, kan basıncının yükseltilmesi ve kan viskozitesinin düşürülmesi vazospazm gelişen parankimal bölgelerde serebral kan akımını artırarak kötü perfüzyonu düzelterken etkenler olarak değerlendirilmiştir (140). Bazı çalışmalarda hiperdinamik terapinin semptomatik vazospazmı tedavi etmesine rağmen profilaktik olarak kullanımının serebral ödem artışı, hiponatremi ve pulmoner ödem gibi komplikasyonları artırabileceği düşünülmüştür (372-374). Bu nedenle, hiperdinamik terapi sadece semptomatik vazospazm teyit edildiğinde önerilmiştir; profilaktik bir önlem olarak kullanılmasından ya da izole radyografik vazospazmda kullanımından kaçınılması tavsiye edilmiştir (140). Hemodinamik volümün vazospazm üzerindeki etkisini dikkate alarak yapılan literatür taramalarında hipovoleminin serebral vazospazm ve GSI'yi belirgin artırdığı görülmüş ancak agresif hipervoleminin de yeterli faydayı göstermekten uzak olduğu ve hatta çoklu komplikasyonlara yol açabilecek riskli bir yaklaşım olduğu görülmüştür (374, 375). Hipervoleminin normovolemiye üstün olmadığı gösterilmiş ve normovolemik hipertansiyonun daha iyi sonuçlar verebileceği bildirilmiştir (376, 377). Hipertansiyon için net bir hedef tayin edilmemiştir, sistolik arteriyel basınç için 100–240 mmHg ve ortalama arteriyel basınç için 70-210 mmHg gibi çok geniş bir terapötik skaladan bahsedilmiştir (140).

Hipergliseminin semptomatik vazospazm riskini arttıran bir faktör olduğu gösterilmiştir (378-380). Bu sebeple aSAK tanılı olguların takibinde yakın kan şekeri takibi

yapılmalı, normoglisemi sağlanmalı ve gerektiğinde insülin ile glukoz düzeyi regüle edilmelidir (381).

Hipertermi, özellikle erken postoperatif dönemde görülen yüksek ateş, aSAK olgularında GSI ve kötü klinik sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (382-385). Yüksek ateşin sadece SAK'ın meningeal irritasyonundan kaynaklanmayabileceği, serebral vazospazm ile bağlantılı olabileceği fikri yeni değildir (386). Bununla birlikte bir başka çalışmada bu görüşlerin aksine, enfeksiyonla ilişkisiz gelişen yüksek ateşin radyografik vazospazmın işareti olabileceği, ancak GSI ile bağlantılı olmadığı ifade edilmiştir (387). Sonuç olarak hiperterminin antipiretik ajanlar ve soğuk uygulama yöntemleri ile önlenmesi serebral vazospazmın önüne geçilmesinde genel kabul gören bakış açısıdır.

Tartışmalı bakış açılarından birisi de hipoterminin koruyucu etkide olabileceği düşüncesidir. Hipoterminin hem anjiografik vazospazmı hem de semptomatik vazospazmı azalttığı bildirilmiştir (388). Klinik durumu kötü olan olgularda beyin ödemi azalttığı ve bu olgularda mortalitenin ciddi oranda azaldığı ifade edilmiştir (389). Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda intraoperatif dönemde uygulanan ılımlı hipoterminin anevrizma operasyonları sırasında geçici damar kapatılması nedeniyle gelişebilecek iskemik etkileri azalttığı ve postoperatif dönemde serebral hemodinami üzerinde olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir (390, 391). Seule ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise klinik durumu kötü olan seçili olgularda uygulanan uzun süreli hipoterminin serebral vazospazmı önleyebileceği ancak hipotermi ilişkili sistemik komplikasyonlarla sık karşılaşıldığı bildirilmiştir (392). Ilımlı hipoterminin EDBH üzerinde de koruyucu etkide bulunduğu hayvan çalışmaları mevcuttur (393-395).

Hematokrit değerinin 30'un altında ya da hemoglobin (Hb) değerinin 10 g/dl'nin altında olduğu hematolojik tablo olan anemi, aSAK olgularında hastane kabulünün ilk 3-4 günü içerisinde yaklaşık %47 oranında görülmektedir (396). Kötü klinik sonuçlarla ve serebral vazospazm riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (151, 397, 398). Serebral vazospazm gelişen olgularda anemi saptanması halinde eritrosit replasmanı yapılması gerektiği belirtilmiştir (399). Hb değerinin 11-12 g/dl olmasının semptomatik vazospazm riskini azalttığı, 11 g/dl'nin altında olduğu durumlarda kliniğin daha kötü seyrettiği gösterilmiştir (400, 401). Bu sebeple serebral oksijen ihtiyacının temin edilmesi açısından eritrosit replasmanının gerekli olduğu ve bu sayede anjiografik vazospazmın azaldığı söylenmiştir (402). Ancak Smith ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kan replasmanının, transfüzyonda verilen eritrositlerin nitrik oksit depolarının boş olmasından dolayı vazospazmı daha da kötüleştirebileceği ve bunun da radyolojik olarak gösterildiği ifade edilmiştir (403). Kumar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise GSI gelişmemiş aSAK olgularında eritrosit replasmanının kötü klinik sonuçlarla ilişkili olduğu,

ancak GSİ varlığında replasmanın faydalı olduğu gösterilmiştir (404). Aneminin serebral vazospazm ve GSİ riskini arttırdığı genel kabul gören görüş olmakla birlikte kan transfüzyonunun miktarı, zamanlaması ve hangi olguların daha çok fayda göreceği üzerinde daha çok çalışma gerekmektedir (405, 406). Hem aneminin hem de kan transfüzyonunun vazospazm riskini arttırdığı göz önünde bulundurulduğunda Hb değerinin 9 g/dl'nin üzerinde tutulması, altına indiğinde replasman yapılması önerilmiştir (123).

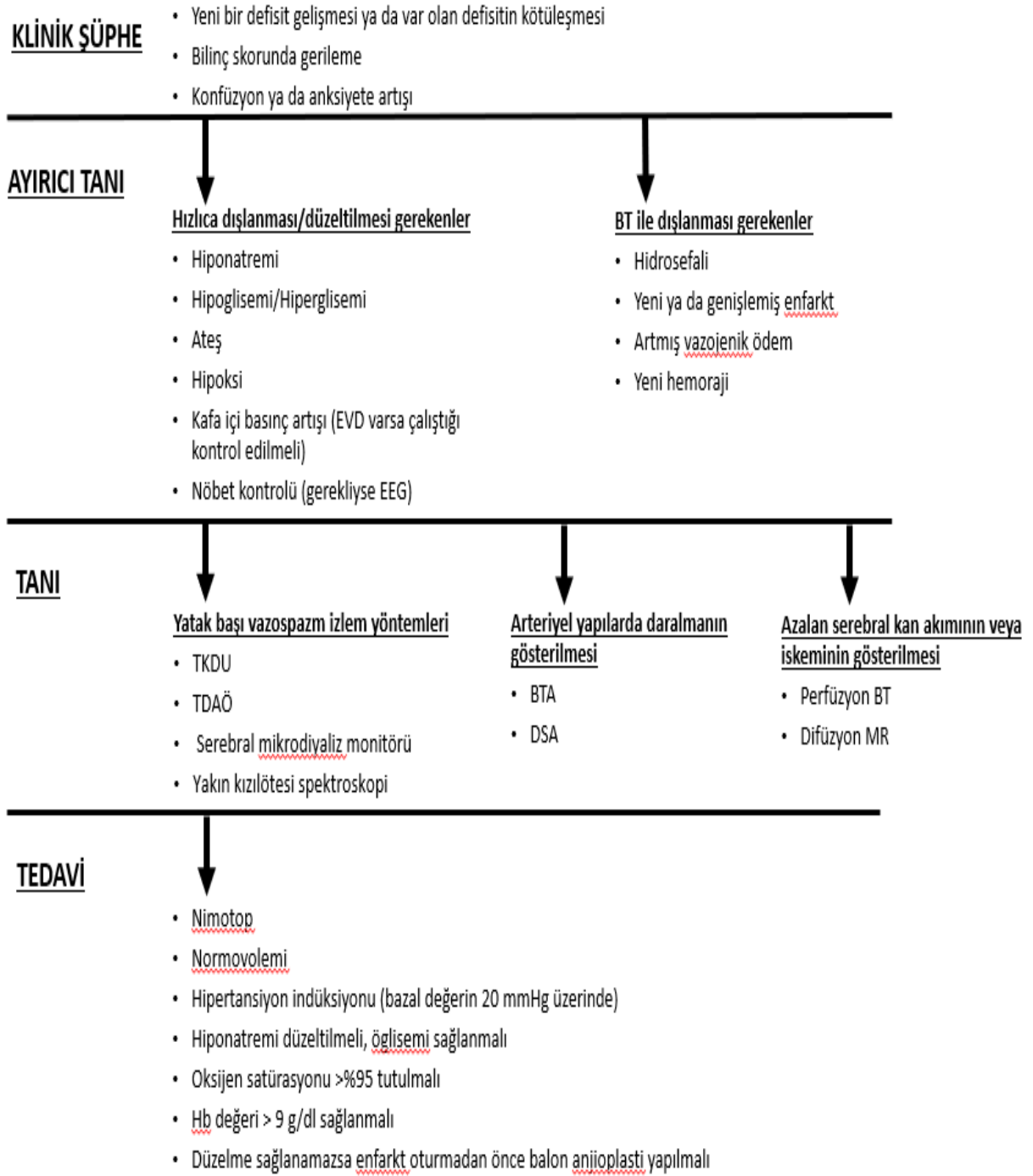
Hiponatremik olgularda serebral vazospazmın daha sık olduğu görülmüştür (407, 408). Ayrıca daha şiddetli seyrettiği gösterilmiştir ve bu hiponatremi artmış BNP düzeyi ile ilişkilendirilmiştir (409). Hiponatremi ya da artmış natriüretik peptitler sebebiyle serebral mikrovasküler düzeyde düz kas tonusunun artmış olabileceği düşünülmüştür (410, 411). Bu sebeple tüm hastalarda her 6-12 saatte bir sodyum düzeyi görülmesi ve gerekirse oral tuz tabletleri, %3'lük salin infüzyonları veya fludrokortizon verilmesi önerilmiştir (140, 412).

Medikal tedavinin yetersiz kaldığı GSİ tablosunda endovasküler tedavilerin etkili olabileceği belirtilmiştir (413, 414). Transluminal balon anjiyoplasti ile direkt mekanik dilatasyonun sağlanmasının güvenli ve efektif olduğu gösterilmiştir (415-418). Ayrıca işlem sırasında intraarteriyel yolla verilen papaverin, nikardipin, nimodipin gibi vazodilatör ajanların medikal tedaviye dirençli serebral vazospazm olgularında olumlu klinik sonuçlar getirdiği belirtilmiştir (419). İntraarteriyel nimodipinin sürekli infüzyon ile verildiği hastalarda vazospazm ilişkili serebral enfarktın daha az geliştiği ve dekompresyon ihtiyacının daha az görüldüğü gösterilmiştir (420-422). Ancak bu infüzyonlar sebebiyle kardiyak aritminin, hipotansiyonun ve heparin ilişkili trombositopeninin gelişebileceği unutulmamalıdır (423). Balon anjiyoplasti uygulamasının profilaktik olarak uygulanmasının ise GSİ'ye bağlı defisiti azaltmakla birlikte genel olarak sonuçları etkilemediği ve işleme bağlı mortalite dahil olumsuz sonuçlar barındırdığı bildirilmiştir (424).

İntrasisternal ya da intratekal tromboliz uygulaması, subaraknoid mesafede birikmiş kan pıhtılarını hızla çözerek vazospazmın önüne geçilmesini amaçlar. Bu amaçla rekombinant doku plazminojen aktivatörü (rtPA) ve ürokinaz gibi tromboliz ajanları kullanılmıştır (425-428). Yapılan metaanaliz çalışmalarında genel olarak faydalı sonuçlar olduğu bildirilmekle birlikte yeterli random çalışmanın olmadığı belirtilmiştir (429, 430).

Kan ürünlerinin BOS'dan temizlenmesi de serebral vazospazmın önüne geçilmesinde bir etkidir (431, 432). Cerrahi operasyon sırasında sisternalardaki klotun temizlenmesi ve lamina terminalisin fenestre edilmesi ile daha iyi klinik sonuçlar elde edildiği, semptomatik vazospazmın daha az görüldüğü ve hastanede kalış süresinin belirgin azaldığı gösterilmiştir (432-435). Bununla birlikte aksini bildiren çalışmalar da mevcuttur (436-438).

Ayrıca kan ürünleri LD ile temizlendiğinde serebral vazospazmın daha az geliştiği görülmüştür (439-441).

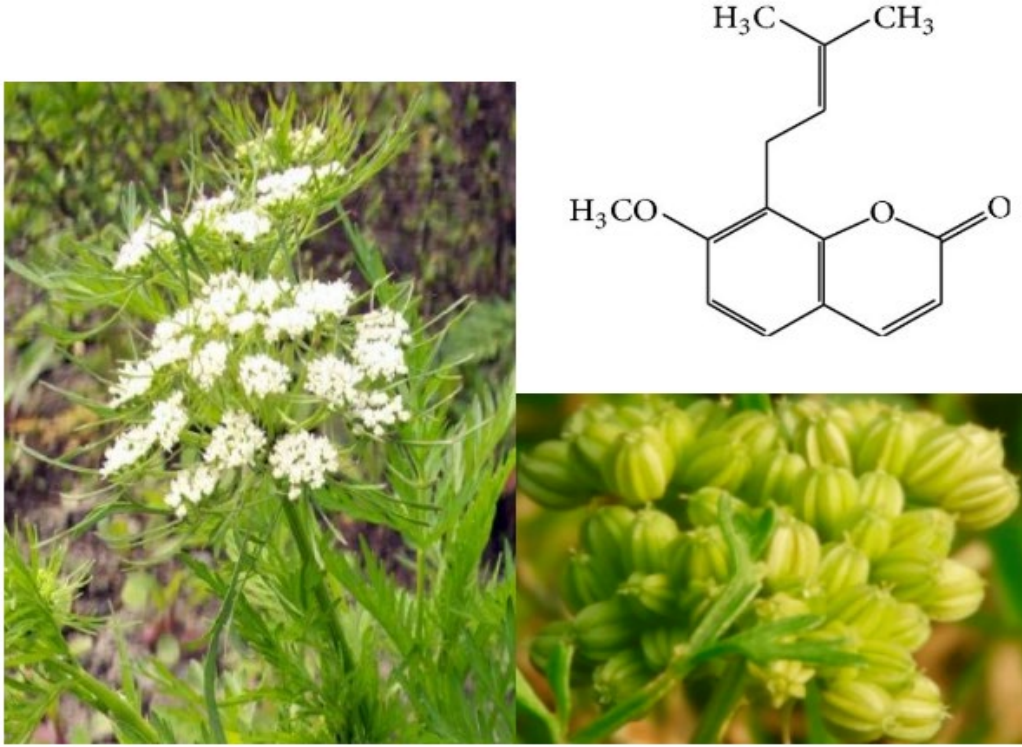


Şekil 5. Serebral vazospazm yönetimi (123).

## 2.11. OSTHOLE'ÜN BİYOKİMYASAL YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

Osthole (ostol), kimyasal formülü  $C_{15}H_{16}O_3$  olan bir kumarin türevidir (442). Kumarin, doğal ortamlarda yaygın bir şekilde bulunan bir fitokimyasal maddedir. Oda sıcaklığında beyaz renkli kristalize bir formda bulunur ve ılık suda çözünebilirken, etanol ve dietil eter gibi çözücülerde daha iyi çözünme özelliğine sahiptir. Tıp ve farmakoloji alanında büyük bir öneme sahip olan kumarin ve onun çeşitli türevleri, antikoagülan özellikleri ile tanınır. Bu türevlerin en meşhur örneği, warfarin adı verilen ilaçtır.

Özellikle Apiaceae familyasına (maydanozgiller) ait olan *Cnidium monnieri* (*Cnidium*, galyobişotu), *Angelica pubescens* (melek otu) gibi tıbbi bitkilerde, genellikle tohumlarında ve meyvelerinde doğal olarak bulunur (442, 443).



Şekil 6. *Cnidium monnieri* bitkisi ve ostolün biyokimyasal yapısı.(444, 445)

Ostol, biyolojik aktivitesi nedeniyle son yıllarda tıbbi ve farmasötik araştırmaların önemli bir odağı haline gelmiştir. Düşük polariteye sahip lipofilik bir bileşiktir, bu da onun hücre zarlarına nüfuz etme ve biyolojik etkilerini uygulama yeteneğini artırır (442). Ayrıca düşük molekül ağırlığı sebebiyle KBB'den geçebilmektedir (446).

Ostol metabolizmasında hidroksilasyon, glukuronidasyon ve sülfasyon gibi çeşitli yollar tanımlanmış ve CYP3A4, CYP3A5 gibi sitokrom P450 enzimlerinin ostol metabolizmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (447-449).

### **2.11.1. Antioksidan Etkileri**

Ostolün antioksidan etkisi, hücrelerin oksidatif strese karşı korunmasına yardımcı olur. DNA, proteinler ve lipitler gibi hücresel bileşenlerin oksidasyonuna neden olan ROT'nin etkisini azaltır. Malondialdehit (MDA), serbest radikallerin özellikle hücre zarında bulunan lipitleri okside etmesi sonucu oluşur. Bu yüzden hücrelerde ve dokularda meydana gelen oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılır (450). Ostolün böbrek ve karaciğer hastalıkları üzerinde terapötik olarak kullanıldığı çalışmalarda MDA düzeyinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (442, 451, 452). Antioksidan etkisi, glutatyon seviyelerini artırma ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırma gibi mekanizmalarla da gerçekleşir (451, 452). Antioksidan etkisi sayesinde kadmiyum gibi toksik ajanların neden olduğu DNA hasarını azalttığı, bu özelliği ile gen koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (453). Antioksidan özelliği sayesinde asetaminofen veya tamoksifen gibi ajanların karaciğer üzerindeki toksik etkilerini azaltmıştır (454, 455). Ratlarda yüksek fruktoz içerikli diyet ile oluşturulduğu belirtilen metabolik sendrom modelinde kardiyak doku üzerinde oksidatif stresi azaltarak koruyucu etkide bulunduğu belirtilmiştir (456). Tüm bu etkiler, ostolün nöroprotektif etkilerinin de temelini oluşturur.

### **2.11.2. Anti-İnflamatuvar Etkileri**

İnflamasyon ilişkili nörodejeneratif hastalıklar üzerinde birçok inflamasyon yolağında inhibitör etkisi gösterilmiştir (457, 458). IL6 gibi bazı sitokinlerin üretimini azalttığı gösterilmiştir (459). Kordulewska ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada interlökin sentezini baskıladığı doğrulanmış ve bu özelliği ile antihistaminik etkiye aracılık ettiği ifade edilmiştir (460).

Kronik inflamasyon ilişkili bir cilt hastalığı olan atopik dermatitte kaşıntıyı ve cilt hasarını azalttığı gösterilmiştir (461-464). Ayrıca hipersensitivite ilişkili mast hücre yanıtını da baskılamaktadır (465).

Travmatik beyin hasarında NF-kB yolağını inhibe ederek inflamasyonu baskıladığı görülmüştür (466). Yine bu yol üzerinden mikrogial hücreleri etkileyerek nörodejeneratif hastalıklarda etkili olabileceği ifade edilmiştir (467). Ayrıca siklooksijenaz 2 (COX 2) sentezini azalttığı ve bu sebeple inflamatuvar kökenli ağrı üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür (468, 469). Beyin dokusunun iğne ile yaralanmasıyla oluşturulan travmatik serebral hasar

modelinde, ostolün inflamasyonu inhibe ederek parankimal ödemi azaltıcı etkide bulunduğu ve kortikal iyileşmenin daha erken geliştiği gösterilmiştir (470).

Karotid arter balon hasarı oluşturulan deneysel hayvan çalışmasında ostolün inflamatuvar yanıtı hafifleterek intimal hiperplaziyi azalttığı gösterilmiştir (471).

Ayrıca intestinal inflamasyonu önlediği için ülseratif kolit tedavisinde önerilmiştir (472, 473).

Ratlar üzerinde kolajen ile tetiklenerek oluşturulmuş bir artrit modelinde ostolün inflamasyonu önlediği ve romatoid artrit tedavisinde etkin olabileceği ifade edilmiştir (474).

NF-kB yolağını inhibe edilmesi ve sitokin sentezinin baskılanmasının yanında goblet hücre hiperplazisinin ve aşırı mukus üretiminin önüne geçmesi ile alerjik astımda da faydalı bir ajan olabileceği görülmüştür (475, 476). Ayrıca hava yollarında fosfodiesteraz inhibisyonu ile düz kaslarda gevşeme sağladığı için astım hastalarında güvenli bronkodilatör bir ajan olarak önerilmiştir (477, 478).

Karaciğer ve akciğer üzerindeki anti-inflamatuar etkisi ile fibrozisin de önüne geçtiği görülmüştür (479, 480). Hepatik peroksizom proliferatör-aktif edici reseptörler (PPAR), karaciğerde inflamasyonun azaltılmasında kritik bir rol oynar. Ostol, PPAR aktivasyonu ile, karaciğerdeki yağ metabolizmasını iyileştirerek ve inflamasyonu azaltarak karaciğer yağlanmasına ve metabolik sendroma karşı koruyucu etki gösterir (481-483). Ayrıca yine bu yolla karaciğer, yağ ve kas dokularda insülin direncini azaltabileceği ifade edilmiştir (484). Liang ve arkadaşlarının oluşturduğu diyabetik fare modelinde PPAR aktivasyonu ile hiperglisemi azalttığı ve DM için potansiyel bir ilaç olabileceği belirtilmiştir (485).

Makrofajların anti-inflamatuar yönde polarizasyonunu artırdığı (M2 makrofaj fenotip artışı) ve osteoklastların farklılaşmasının önüne geçtiği gösterilmiş, bu sayede osteolitik hastalıklar için potansiyel terapötik etki taşıdığı belirtilmiştir (486).

### **2.11.3. Anti-Tümöral Etkileri**

Ostolün birçok çalışmada tümör dokuları üzerinde farklı moleküler yollar ile sitotoksik etkide bulunduğu gösterilmiştir. Tümör hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi, kanser hücresi apoptozunun indüklenmesi, invazyon ve metastazın önlenmesi, kanser anjiyogenezinin engellenmesi, kemoterapi ilaçlarına duyarlılığın artırılması ve kanser hücrelerinin çoklu ilaç direncinin tersine çevrilmesi gibi birçok etkisi görülmüştür (487, 488). Antioksidan etkisi sayesinde kadmiyum gibi kanserojenlerin DNA üzerindeki zararını azaltmıştır (453). Farelerde oluşturulan hepatoselüler karsinom modellerinde radyoterapiye

duyarlılığı artırdığı görülmüştür (489). Sun ve arkadaşlarının yayınladığı makalede 30'dan fazla çalışmaya atıfta bulunularak bu etki özetlenmiştir (442).

**Tablo 12. Osthole'ün anti-tümöral etkileri (442).**

|                                            |                                                                                            |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Meme kanseri</b>                        | Tümör süpresör gen aktivasyonu, hücre bölünmesini durdurucu etki, mitokondri disfonksiyonu |
| <b>Over kanseri</b>                        | Otofaji indüksiyonu, apoptoz indüksiyonu, hücre proliferasyonunu önleyici etki             |
| <b>Endometiyum kanseri</b>                 | Hücre proliferasyonunu önleyici etki, apoptoz aktivasyonu                                  |
| <b>Baş boyun skuamöz hücreli karsinomu</b> | Tümör hücrelerinde apoptoz indüksiyonu                                                     |
| <b>Hepatoselüler karsinom</b>              | Karsinom gelişimini önletici etki, T hücre aracılı anti-tümör immün yanıt oluşturma        |
| <b>Mide kanseri</b>                        | Hücre bölünmesini durdurucu etki, apoptoz indüksiyonu                                      |
| <b>Serviks kanseri</b>                     | Tümör hücrelerinde apoptoz indüksiyonu, kemoterapi direncini azaltıcı etki                 |
| <b>Kolanjiyokarsinom</b>                   | Tümör hücrelerinde apoptoz indüksiyonu                                                     |
| <b>Renal hücreli karsinom</b>              | Tümör hücrelerinde apoptoz indüksiyonu                                                     |
| <b>Nazofaringeal karsinom</b>              | Tümör hücrelerinde apoptoz indüksiyonu                                                     |
| <b>Mesane kanseri</b>                      | VEGF ve NF-κB ekspresyon inhibisyonu                                                       |
| <b>Akciğer kanseri</b>                     | Oksidatif stres düşürücü, tümör hücrelerinde apoptoz indüksiyonu                           |
| <b>Lösemi</b>                              | Tümör süpresyonu                                                                           |
| <b>Osteosarkom</b>                         | Hücre bölünmesini durdurucu etki                                                           |
| <b>Melanom</b>                             | Kemoterapi etkisini artırma                                                                |
| <b>Gliom</b>                               | Tümör hücrelerinde apoptoz indüksiyonu                                                     |

#### **2.11.4. Osteojenik aktivite**

Ostolün kemik mineral yoğunluğunu artırarak ve osteoklast proliferasyonunu inhibe ederek osteoporoz tedavisinde etkili bir ajan olabileceği gösterilmiştir (490-492). Özellikle, günde 10 mg/kg'dan az dozda ostol alan ve tedavisi 2 aydan fazla süren sıçanlarda, ostolün kemik oluşumunu uyarması ve kemik emilimini azaltması, osteoporoz üzerindeki olumlu etkilerini göstermiştir (490). Kemik kırıklarında iyileşmeyi hızlandırdığı görülmüştür (493, 494) Ayrıca sıçan kondrositlerinde apoptozu ve kırıkta matris dejenerasyonunu inhibe etmesi nedeniyle osteoartritte kullanılabileceği düşünülmüştür (495, 496).

#### **2.11.5. Antimikrobik etki**

Flukonazol dirençli *Candida albicans*'a karşı flukonazol ile kullanıldığında sinerjistik antifungal etki göstermiş ve bu etki, hücrelerde ROT artışı ile ilişkilendirilmiştir (497). Baicalin ile kullanıldığında farelerde *Staphylococcus aureus* pnömonisine karşı koruyucu etkide bulunduğu görülmüştür (498). *Mycobacterium tuberculosis* üzerinde çeşitli metabolik yollarda yer alan bazı önemli gen ekspresyonlarını etkilediği ve bu nedenle antimikobakteriyel bir ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (499). Hepatit B virüsü (HBV) yüzey antijenlerinin salınımını artırarak glikozilasyon oranını yükseltmek suretiyle HBV'nin hücre kültürlerindeki yayılımını baskılamıştır (500).

Şiddetli Akut Respiratuar Sendrom-Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) nedeniyle gelişen Coronavirus Hastalığı 2019 (COVID 19) için de terapötik olabileceği bildirilmiştir (501). Bunların yanında bazı parazitler üzerinde de etkili olduğu gösterilmiştir (502-506).

#### **2.11.6. Nörolojik Etkileri**

Ratlarda travmatik beyin hasarı modeli oluşturulan bir çalışmada ostolün anti-apoptotik ve antioksidan etkide bulunduğu gösterilmiştir (507).

Matriks metalloproteinaz 9 (MMP 9) sentezinin artmasının ve microRNA-16 (miR-16) üretiminin azalmasının glioma patogenezinde yer aldığı düşünülmektedir (508). Ostolün MMP 9 sentezini baskıladığı ve miR-16 üretimini artırdığı gösterilmiştir (509). Glioma hücrelerinde nekroptozu tetikleyerek ve ROT üretimini artırarak hücre ölümüne neden olmuştur (510). Bu bulgular, ostolün glioma tedavisinde potansiyel bir tedavi ajanı olarak geliştirilebileceğini göstermektedir (511). Ayrıca MMP 13 inhibisyonu yapması nedeniyle yüksek dereceli glial tümörlerin yayılmasının önüne geçebileceği belirtilmiştir (512).

Ostol, tirotropin salgılatıcı hormonun (TRH) reseptörüne bağlanmasını azaltmış ve fare hipofiz hücrelerinde TRH kaynaklı trifosfoinositol üretimini ve sekestre  $Ca^{2+}$  mobilizasyonunu baskılamıştır (513).

Glutamat, beyinde bulunan ve nörotransmitter olarak görev yapan bir amino asittir. Ancak, yüksek konsantrasyonlarda, glutamat hücre ölümüne neden olabilir, bu da oksidatif stres ve inflamasyona yol açar. Ostolün glutamat ile indüklenen hücre ölümünü önleyici etkisi, nöroprotektif etkilerinin bir mekanizması olarak düşünülmektedir (458, 514, 515). Ostolün  $Ca^{2+}$  kanallarını aktive ederek ve cGMP artışını sağlayarak glutamat salınımını artırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (516, 517).

P2Y1 reseptörü nöropatik ağrının hissedilmesinde kilit rol aldığı düşünülen bir reseptördür (518). Ostolün bu reseptör sentezini azalttığı ve nöropatik ağrı üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (519). Ayrıca, ostolün ratlarda dorsal kök ganglionunda asit duyarlı iyon kanalı 3 (ASIC3) üretimini azalttığı bulunmuş, bunun da bel fıtığında ASIC3 aracılığıyla hissedilen kronik ağrının hafifletilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmüştür (520). Başka bir çalışmada COX 2 sentezinin azaltılması ile radiküler ağrı üzerinde etkili olduğu, bununla ilişkili olarak da lomber disk hernisinde kullanılabileceği ifade edilmiştir (468).

P2X<sub>4</sub> reseptörü dorsal kök gangliyonlarında bulunur ve ağrı sinyalizasyonunda görev alır. Ostolün P2X<sub>4</sub> reseptör sentezini azaltarak hem mekanik hem de termal ağrı eşiğini artırdığı görülmüştür. Bu özelliği ile diyabetik nöropatik ağrının tedavisinde etkili olabileceğine işaret edilmiştir (521).

Luszczki ve arkadaşları, maksimal elektroşok ile oluşturulan nöbet modelinde ostolün antikonvülzan etki gösterdiğini bildirmiştir (522). Bir başka çalışmada ostolün antikonvülzan özelliğinin valproik asit ile benzer etkinlikte olduğunu bildirmiştir (523).

GABA (gama-aminobütirik asit), beyindeki başlıca inhibitör nörotransmitterdir ve GABA tip A reseptörlerine bağlandığında genellikle klorür iyonlarının hücre içine akışını artırır, bu da nöronların aşırı uyarılmasını önlemeye yardımcı olur. *In vitro* çalışmalarda ostolün bu reseptörlere bağlanarak klorür akımını artırdığı gösterilmiştir. GABA tip A reseptör modülatörü olması özelliği anksiyete ve epilepsi nörolojik ve psikiyatrik bozuklukların tedavisinde terapötik potansiyeli olduğu düşünülmüştür (524, 525). Nörotransmitter etkilerini düzenleyici etkisi ve monoamin oksidaz (MAO) üzerindeki etkileri nedeniyle antidepresan ve ağrı kesici ajan olabileceği belirtilmiştir (526).

Diyabetin ciddi bir komplikasyonu olan kardiyak otonomik nöropatide sempatik-parasempatik dengenin sağlanmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir (527).

Ostolün Alzheimer Hastalığında (AH) kolinerjik sistem üzerinde düzenleyici etkide bulunduğu, apoptozu inhibe ettiği ve oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (528, 529). Bu sayede öğrenme ve hafıza fonksiyonlarında düzelme sağladığı ifade edilmiştir (530, 531). Ayrıca AH patofizyolojisi ile ilişkili olan beta-amiloid protein birikimini önlediği görülmüştür (531-534).

Genetik modifikasyonla oluşturulan AH'na sahip farelerde ostolün bilişsel bozuklukları önemli ölçüde iyileştirdiği ve hipokampüste nörojenezi artırdığı bulunmuştur (535, 536).

Parkinson Hastalığı (PH) üzerine yapılan çalışmalarda, ostolün dopaminerjik nöronları koruyabileceği ve oksidatif stresi azaltabileceği belirtilmiştir (537). Ayrıca mitokondri disfonksiyonu üzerinde düzeltici etkisi olduğu, bu özelliği ile PH benzeri bulgulara terapötik etkide bulunabileceği düşünülmüştür (538). Barangi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, ostolün 6-hidroksidopamin ile indüklenen dopaminerjik nöron hasarını azalttığı ve oksidatif stresi azalttığı bulunmuştur (539).

#### **2.11.7. Vazospazm ve İskemi ile İlgili Çalışmalar**

Ostolün vazodilatör etkisi 1992 yılından beri araştırılmaktadır. Ko ve ekibinin ratlarda yaptığı çalışmada aort üzerinde vasküler dilatasyon sağladığı görülmüştür (540). Bu etkisinden dolayı erken dönem çalışmalarda kalsiyum kanal blokörleri ile kıyaslanmıştır (541).

Ostolün fare nöronal hücrelerinde L-tipi  $Ca^{2+}$  kanallarını bloke ettiği (542), ayrıca vasküler düz kas hücrelerinde anti-proliferatif etkide bulunduğu (543, 544) ve pulmoner hipertansiyon üzerinde tedavi edici etkisi görülmüştür (544, 545).

Ostolün nöroprotektif etkileri üzerine yapılan bir çalışmada, Notch 1 sinyal yolağını inhibe ederek serebral iskemi-reperfüzyon hasarına karşı potansiyel koruyucu etkisi gösterilmiştir (546). Ratlarda OSA oklüzyonu ile serebral iskemi oluşturulan bir çalışmada ostolün anti-inflamatuar ve anti-apoptotik etkide bulunarak nörolojik fonksiyonu iyileştirmiştir (459).

Serebral iskemi-reperfüzyon modeli oluşturulan hayvan deneyi çalışmalarında, ostolün infarkt hacmini azalttığı, KBB hasarında düzelme sağladığı, bilişsel ve nörodavranışsal fonksiyonları iyileştirdiği gösterilmiştir (459, 547-549). Li ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, ostolün anti-apoptotik etki ile iskemik beyin hasarını hafifletebileceği gösterilmiştir (550). Spinal kord iskemisi oluşturulan bir rat çalışmasında ise mitokondri disfonksiyonunu

düzelterek apoptozu engellediği ve spinal kord üzerinde enfarkt sahasının daha az olduğu, motor fonksiyonların daha çok korunduğu gösterilmiştir (551).

Bilateral karotid arter oklüzyonu ile oluşturulan iskemi modelinde hipokampüste apoptozu ve oksidatif stresi baskıladığı, kognitif fonksiyonlarda düzelme sağladığı, bu nedenle vasküler demansta tedavi edici olabileceği bildirilmiştir (552).

Serebral iskemi haricinde deneysel modellerde testis (553), böbrek (554, 555), barsak (556, 557) ve miyokard (558, 559) iskemi çalışmalarında da koruyucu etkide bulunduğu görülmüştür. Retinaya kan akımını artırdığı ve oküler iskemi ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (560).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

“Deneyisel Subaraknoid Kanama Modelinde Osthole’ün Erken Dönem Beyin Hasarı ve Serebral Vazospazm Üzerine Etkisi” adlı çalışmamız için Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan 2023-024 sayılı belge ile 26.04.2023 tarihinde onay alınmıştır. Çalışma Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızdaki tüm prosedürler güncel ARRIVE kılavuzundaki önerilere uyularak gerçekleştirilmiş ve hayvan refahı standartları buna uygun olarak sağlanmıştır.(561) Histopatolojik inceleme ve baziler arter çap ölçümü Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında, beyin dokularındaki oksidatif stres ölçüm çalışmaları ise Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Hayvan Seçimi ve Sayısı

Çalışmamızda Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde yetiştirilen, 250-350 gram ağırlığında, sağlıklı, erişkin, her cinsiyetten (erkek ve dişi) 40 adet Wistar Albino rat kullanılmıştır.

#### 3.2. Bakım ve Takip

Ratlar deney öncesi grup halinde ortak kafeslerde tutulmuş, kanama modeli oluşturulması ve/veya ilaç uygulaması başlanmasından itibaren her bir rat ayrı bir kafeste tutulacak şekilde takip ve bakımları yapılmıştır. Bu şekilde yara yeri veya kan kokusu gibi faktörlerden dolayı deneklerin birbirlerine zarar vermesinin önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Hayvanlar özgürce hareket edebilecekleri ve doğal davranışlarını sergileyebilecekleri genişlikte

standart kafeslerde, 21-23 °C oda sıcaklığında tutulmuşlardır. Günlük kafes temizliği ile bakımları yapılmıştır. Ad libitum beslenme olarak adlandırılan, istediklerinde rahatça yemek ve suya erişebilmeleri için sürekli beslenme imkanı sağlanmıştır. Uygun ışık sağlanmış ve 12 saatlik gece gündüz siklusu deney süresince devam ettirilmiştir.



**şekil 7. Ratların bakım ortamı.**



**şekil 8. Ad libitum beslenme ortamı.**

### 3.3. Deney Grupları

Birinci grup kontrol (sham) grubu (n=10); 2.grup (n=10) sadece SAK oluşturulan grup; 3.grup SAK oluşturulmadan sadece osthole uygulanan tedavi grubu (n=10); 4.grup SAK oluşturulduktan sonra osthole 'ün verildiği grup (n=10) olarak ayrılmıştır.

**Tablo 13. Deney grupları.**

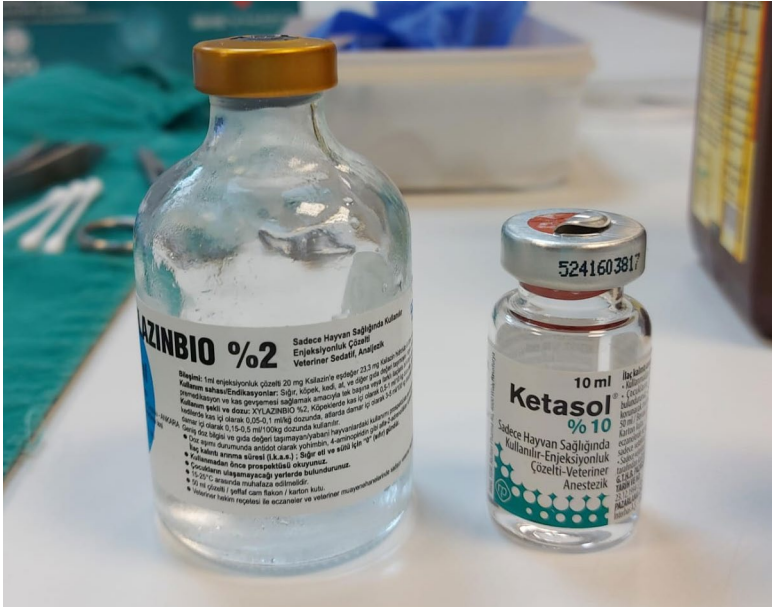
|               |               |                                                                              |
|---------------|---------------|------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Grup 1</b> | Kontrol       | Cerrahi işlem ya da medikal tedavi uygulanmayan grup                         |
| <b>Grup 2</b> | SAK           | SAK oluşturulan ancak ilaç verilmeyen grup                                   |
| <b>Grup 3</b> | Osthole       | SAK oluşturulmayan ancak 5 gün boyunca intraperitoneal osthole verilen grup  |
| <b>Grup 4</b> | SAK + Osthole | SAK oluşturulduktan sonra 5 gün boyunca intraperitoneal osthole verilen grup |

### 3.4. Kimliklendirme

Hayvanlar kuyruk boyama yöntemi ile numaralandırılarak kimliklendirilmiştir.

### 3.5. Anestezi

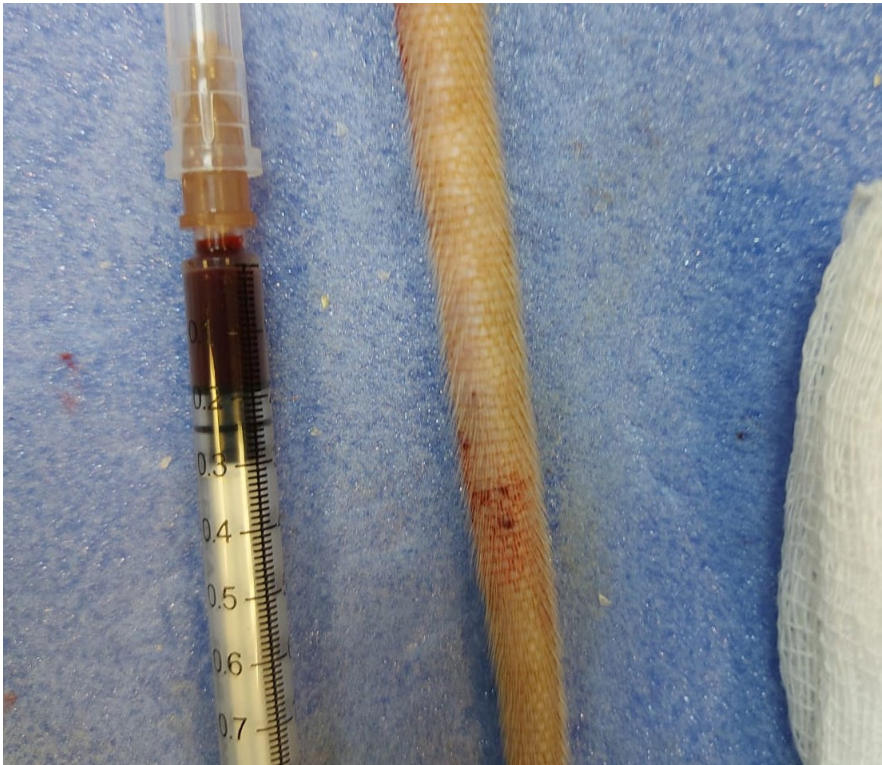
Sıçanların açlık süreleri 8-12 saat yiyecekten uzak tutularak sağlanmıştır. Literatürde SAK modellerinde en sık uygulanan anestezik ilaçlar olan Ketamin Hidroklorür ve Xylazine Hidroklorür kombinasyonu intraperitoneal yolla verilmiştir. (Şekil 9) Ratların spontan solunumu korunacak şekilde Ketamin 50-60 mg/kg ve Xylazine 5-10mg/kg olarak enjekte edildi. Anestezinin sağlandığından emin olmak için ağırlı uyaran ile kontrol edildi, gerektiğinde spontan solunum bozulmayacak şekilde ek doz verildi. Operasyon sırasında aralıklı ağırlı uyaran ve spontan solunum kontrolü yapıldı.



**Şekil 9. Çalışmada kullanılan anestezi ilaçları.**

### 3.6. Kan Alma İşlemi

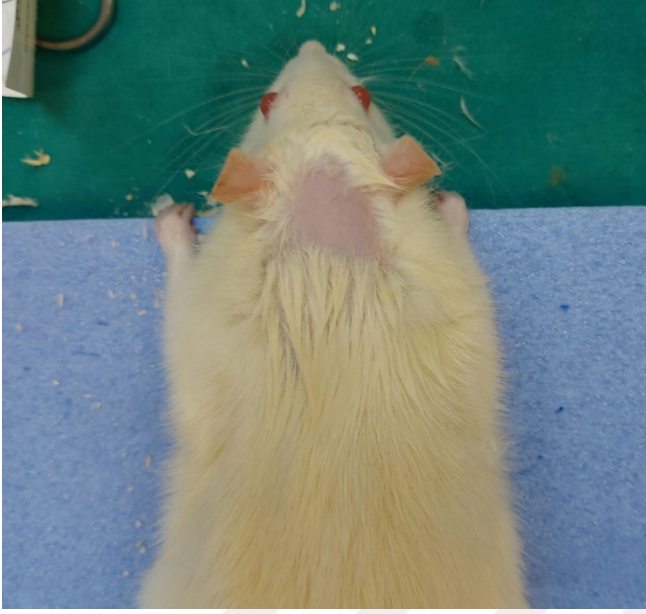
Supin pozisyona alınan ratların kuyrukları, ılık serum fizyolojik ile ıslatılmış steril gazlı bez ile silindi ve bu sayede kuyruk ventral arterleri dilate edilerek görünür hale getirildi. Ardından 22G mavi intraketen kuyruk ventral artere ponksiyonu yapıldı. Katetere kan geliş görüldükten sonra heparinsiz enjektör ile 0.1 ml/100 g otolog kan alındı. (Şekil 10)



**Şekil 10. Heparinsiz enjektör ile kuyruktan otolog kan alımı.**

### 3.7. Subaraknoid Kanama Modeli Oluşturulması

Anestezi sağlandıktan sonra denekler başları fleksiyona gelecek şekilde pron pozisyona getirildi. Palpasyon ile okspiut-C1 arası hissedildi, ılık serum fizyolojik ile bu bۆlge üzerindeki tüyler tıraşın kolaylaştırılması amacı ile ısıtıldı ve tıraş edildi. (şekil 11)



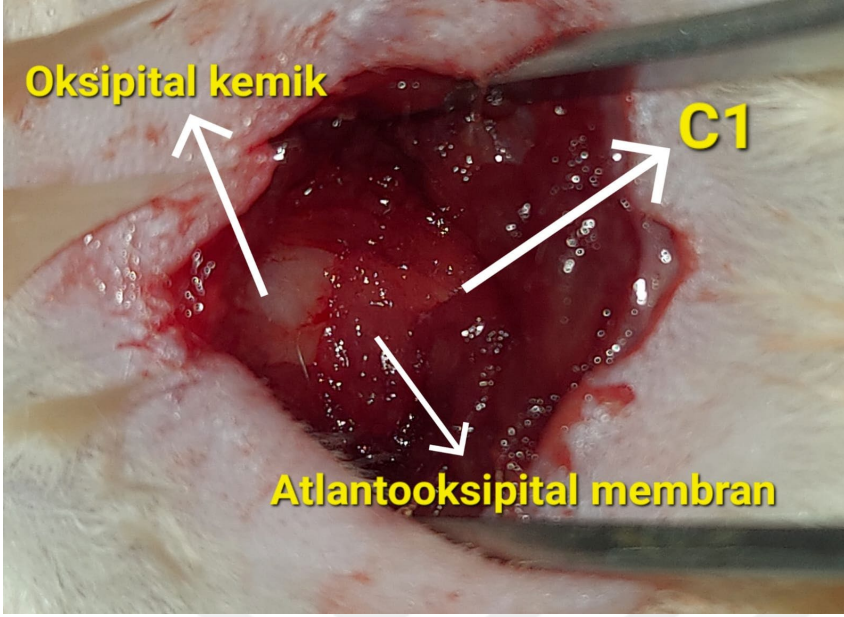
şekil 11. Sadece insizyon yapılacak bۆlge tıraş edildi.

Povidon iyot ile cilt antisepsisi sağlandıktan sonra kraniyoservikal orta hatta yaklaşık 1.5 cm'lik insizyon yapıldı. Oksipitoservikal adaleler kanamanın minimize edilmesi için nukal ligaman takip edilerek insize edildi. (şekil 12)



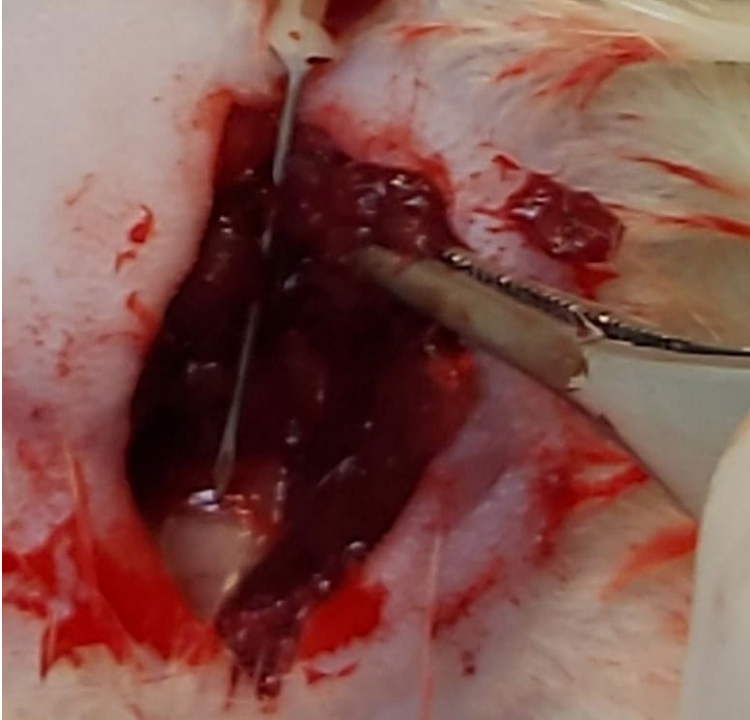
şekil 12. Cilt ve oksipitoservikal kasların insizyonu.

Ardından subokspital kraniyum, atlantookspital membran ve C1 posterior arkı ortaya kondu. (Şekil 13)



**Şekil 13. Atlantookspital membran ortaya kondu.**

26 gauge uçlu enjektör ile atlantookspital membran ponksiyonu sonrası 0.1 ml BOS intrakraniyal hipotansiyona yol açmayacak şekilde yavaş ve dikkatlice aspire edildi. Ardından 0.1 ml/100 g otolog heparinsiz kan aynı yoldan yaklaşık 1 dakika içerisinde subaraknoid mesafeye enjekte edildi. (Şekil 14)



**Şekil 14. Sisterna magna ponksiyonu ve otolog kan enjeksiyonu.**

Daha sonra kaslar atlantookspital membranı örtecek şekilde kapatıldı ve cilt 3-0 prolol sütür ile dikildi. Cilt temizliği yine povidon iyot ile yapıldı. (Şekil 15)



**Şekil 15. Cilt kapanışı ve pansuman.**

Cerrahi işlem tamamlandıktan sonra ratlar 30 dakika kadar Trendelenburg pozisyonunda bekletilerek verilen kanın olabildiğince yayılması sağlandı. (Şekil 16)



**Şekil 16. Trendelenburg pozisyonunda bekleme aşaması.**

Anestezi etkisi geçtikten sonra ratlar tekrar kafeslerine alındı. (Şekil 17)



**Şekil 17. Operasyon sonrası ratlar tekli kafeslere alındı ve ad libitum beslenme ortamı sağlandı.**

### 3.8. İlaç Uygulanması

Ostol 3. grup ve 4.grup ratlara 30 mg/kg olarak uygulandı. İlacın uygulaması intraperitoneal olarak yapıldı. 5 gün boyunca günde tek doz verildi. İşlem sonrası batından kanama olmadığından ve cilt altı şişlik olmadığından emin olundu.

### 3.9. Nörolojik değerlendirme

Modifiye Nörolojik Şiddet Skoru (mNSS), serebral hasar sonrası ratlarda nörolojik fonksiyonları değerlendirmek için kullanılan kapsamlı bir testtir. mNSS, motor, duyuşsal ve dengesel yeteneklerin kantitatif bir değerlendirmesini sağlar ve genellikle beyin hasarı modellerinde kullanılır (562). Maksimum puan 14'tür ve bu skor, ciddi bir nörolojik defisitinin göstergesidir.

**Kuyruktan kaldırarak tutma testi:** Ratın kuyruğundan hafifçe kaldırılması ve vücudun doğal çekilme refleksini değerlendirir. Normal bir tepki sıfır puan alırken, anormal çekilme refleksleri 1 ile 3 arasında puan alır. Ön ve arka bacaklardaki spontan fleksiyonlar değerlendirilir. Her iki ekstremité için de birer puan verilir. Ratın başının dikey eksenine göre 10 dereceden fazla hareket ettirip ettirmediği kontrol edilir ve 30 saniye içinde gerçekleşirse bir puan verilir (562).

**Yürütme testi:** Ratın düz bir zeminde normal bir yürüyüş sergileyip sergilemediği gözlemlenir. Normal yürüyüş sıfır puan alırken, düzgün yürüyememe ve yana doğru çekilerek yürümeye gibi anormallikler puanlandırılır (562).

**Çubuk testi:** Ratın ağırlığını taşıyabileceği ve pençeleri ile kavrayabileceği bir çubuk üzerinde dengesini ne kadar süreyle koruyabildiği değerlendirilir. Bu test, ratın denge ve motor koordinasyon yeteneğini ölçer. Rat, çubuk üzerinde 60 saniyeden fazla dengede kalabiliyorsa sıfır puan alır, daha kısa süreler ve düşmeler artan puanlarla kaydedilir. 20 saniyeden kısa sürede düşerse 6 puan verilir (562).

**Yerleştirme testi:** Ratın görsel ve dokunsal tepkilerini değerlendirir. Bu testte, ratın ön patilerinin masaya dokunması sağlanır ve bu hareketin 5 denemeden en az 3'ünde gerçekleşip gerçekleşmediği gözlemlenir (562).

**Propriosepsiyon testi:** Bu test, derin duyu ve proprioseptif duyarlılığı değerlendirir. Ratın pençesine hafif baskı uygulanarak, ön patilerin uyarıya karşı tepkisine bakılır (562).

Ratların ilk nörolojik muayeneleri işlem öncesi yapıldı. İkinci muayene anestezinin potansiyel etkilerini dışlamak ve nörolojik defisitlerin gerçek durumunu daha doğru bir şekilde

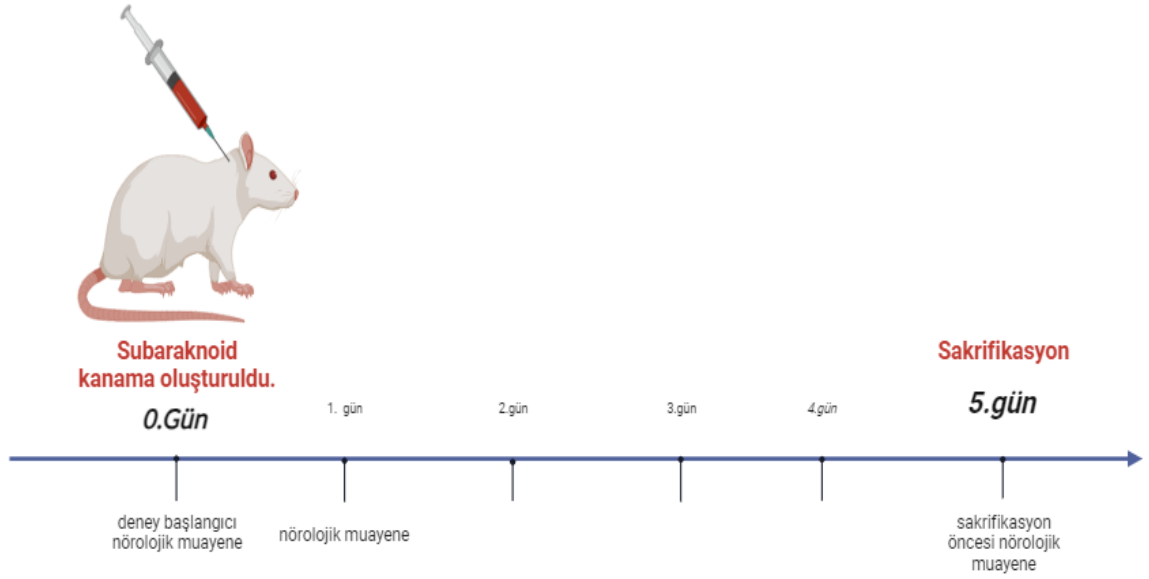
yansıtmak için SAK oluşturulduktan sonraki gün yapıldı. Beşinci gün, hayvanların sakrifiye edilmesinden önceki son muayene gerçekleştirildi.

**Tablo 14. Modifiye Nörolojik Şiddet Skoru(562)**

| <b>Kuyruktan kaldırarak tutma testi</b>                         | <b>Puan (0-3)</b> |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------|
| Ön bacak fleksiyonu                                             | 1                 |
| Arka bacak fleksiyonu                                           | 1                 |
| 30 sn içinde başın 10 dereceden fazla kaldırılması              | 1                 |
| <b>Düz zeminde yürüme testi</b>                                 | <b>Puan (0-3)</b> |
| Normal yürüme                                                   | 0                 |
| Düzgün yürüyememe                                               | 1                 |
| Paretik tarafa meyilli yürüme                                   | 2                 |
| Paretik tarafa düşme                                            | 3                 |
| <b>Çubuk testi</b>                                              | <b>Puan (0-6)</b> |
| >60 sn dengede durma                                            | 0                 |
| Çubuğu pençeyle kavrama                                         | 1                 |
| Çubuğa sarılır pozisyonda bacaklardan birinin kayması           | 2                 |
| Çubuğa sarılır pozisyonda bacaklardan ikisinin çubuktan kayması | 3                 |
| Çubuktan düşme fakat 40 sn dayanabilme                          | 4                 |
| Çubuktan düşme fakat 20 sn dayanabilme                          | 5                 |
| Çubuktan 20 sn duramadan düşme                                  | 6                 |
| <b>Duyu testi</b>                                               | <b>Puan (0-2)</b> |
| Yerleştirme testi                                               | 1                 |
| Propriyosepsiyon testi                                          | 1                 |

### 3.10. Sakrifikasyon ve Örneklerin Alınması

Tüm denekler beşinci günün sonunda dekapitasyon işlemi ile sakrifiye edildi. Kraniyektomi ile beyin, beyincik ve beyin sapı bütün halinde çıkarıldı. Histopatolojik inceleme için her gruptan 5'er örnek %10 formaldehit içeren kaba alındı. Diğer örnekler oksidatif stres bakılması için kuru buz ile soğutulmuş kaplara alındı.



Şekil 18. Deney süreci.

### 3.11. Histopatolojik İnceleme

**Fiksasyon:** Sakrifikasyon sonrası elde edilen beyin dokuları %10'luk formaldehit içine alındıktan sonra rutin histolojik doku takibi protokolü uygulandı. Formaldehitte fiksasyon sonrası dokular 24 saat PBS içine alındı, fiksatifin arındırılması ardından takip protokolüne başlandı.

**Tablo 15: Rutin histolojik doku takibi basamakları**

| <b>İşlem Basamakları</b>        | <b>Süre</b> |
|---------------------------------|-------------|
| %80 Alkol                       | 45 dk.      |
| %95 Alkol                       | 45 dk.      |
| %100 Alkol                      | 45 dk.      |
| %100 Alkol                      | 45 dk.      |
| Ksilol (Şeffaflandırma Aşaması) | Gözle takip |
| Parafin 1                       | 30 dk.      |
| Parafin 2                       | 30 dk.      |

Dokular parafin 2’den çıkarıldıktan sonra doku gömme kalıpları içerisine uygun olarak yerleştirilen dokuların temiz parafinle bloklamaları yapıldı.

**Kesit alma:** Parafin bloklar kesit alma işlemine başlamadan önce 1 saat boyunca buzdolabında +4°C’de bekletildi. Işık mikroskobu analizlerinin yapılabilmesi için Leica RM 2145 markalı mikrotomda 5 µm’lik kesitler alındı. Elde edilen kesitler 37°C’lik su banyosunda açılmaları beklenerek polilizinli lamlara alındı. Lamlar kurumaya bırakıldı, sonrasında boyama aşamalarına geçildi.

**Deparafinizasyon işlemi:** Dokuların deparafinizasyonunun yapılabilmesi için preparatlar etüvde 57°C’de 1 saat boyunca bekletildi. Preparatların soğumasından sonra ksilole dizildi ve bir gece boyunca ksilolde bekletildi. Bunun ardından histokimyasal boyama prosedürleri gerçekleştirildi.

**Hematoksilen-Eozin boyama (H&E):** Deparafinizasyonu yapılan preparatlara Tablo 16’daki işlem basamakları uygulandı.

**Tablo 16: Hematoksilen&Eozin boyama protokolü.**

| <b>İşlem Basamakları</b> | <b>Süre</b>                                                                                                                            |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| %100 Alkol               | 2 dk.                                                                                                                                  |
| %100 Alkol               | 2 dk.                                                                                                                                  |
| %95 Alkol                | 2 dk.                                                                                                                                  |
| %80 Alkol                | 2 dk.                                                                                                                                  |
| Distile Su               | 5 dk.                                                                                                                                  |
| Hematoksilen             | 1 dk. 10 sn.                                                                                                                           |
| Akarsu                   | Çalkalama işlemi                                                                                                                       |
| Asit Alkol               | 3-10 defa çalkalanarak ile diferansiye olması sağlanır.<br>(Diferansiyasyon işlemine mikroskop altında kontrol edilerek devam edilir.) |
| Akarsu                   | Çalkalama işlemi                                                                                                                       |
| Amonyaklı Su             | Preparatlar parlak mavi renk oluncaya kadar bu işleme devam edilir.                                                                    |
| Akarsu                   | Çalkalama işlemi                                                                                                                       |
| Distile Su               | 1 dk. yıkama                                                                                                                           |
| Eozin                    | 1 dk. 10 sn.                                                                                                                           |
| %95 Alkol                | 1-2 kez daldırıp çıkarma                                                                                                               |
| %100 Alkol               | 1-2 kez daldırıp çıkarma                                                                                                               |
| %100 Alkol               | 1-2 kez daldırıp çıkarma                                                                                                               |

Yukarıdaki basamaklar uygulandıktan sonra 30 dakika ksilolde bekletilen preparatlar entellan yardımıyla lamel ile kapatıldı ve görüntülemeye hazır hale getirildi. Uygulanan protokol sonrasında elde edilen sonuçlar: Nükleus: Mavi, Sitoplazma: Pembe olarak görüntülendi.

**İmmünohistokimyasal boyamalar:** Deparafinizasyon işlemi sonrasında Tablo 17'deki işlem basamakları takip edilerek immünohistokimyasal boyama işlemi gerçekleştirildi.

**Tablo 17: İmmünohistokimyasal boyama için gerekli işlem basamakları.**

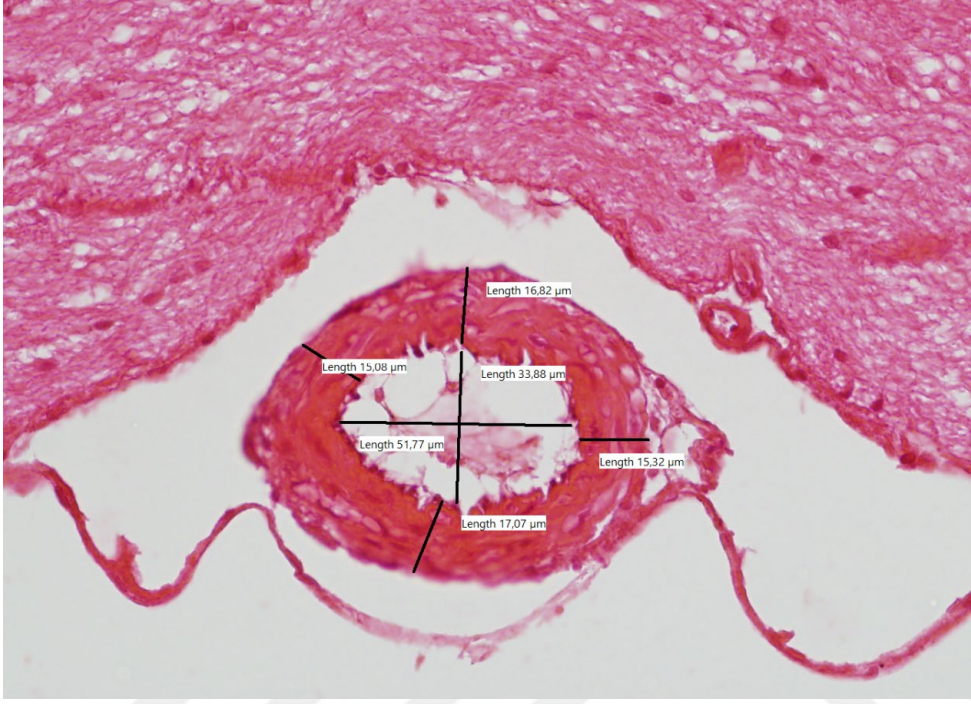
| İşlem Basamakları                                                                            | Süre                                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| %100 Alkol                                                                                   | 2 dk.                                 |
| %100 Alkol                                                                                   | 2 dk.                                 |
| %95 Alkol                                                                                    | 2 dk.                                 |
| %80 Alkol                                                                                    | 2 dk.                                 |
| Distile Su                                                                                   | 3 dk.                                 |
| Sodyum Sitrat solüsyonu                                                                      | 90°C mikrodalga içerisinde 30 dk.     |
| Soğuk su banyosu                                                                             | Preparatlar soğuyana kadar            |
| Distile su                                                                                   | 5 dk.                                 |
| %1'lik Triton X solüsyonu                                                                    | 5 dk.                                 |
| %3'lük Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )                                    | 10 dk.                                |
| PBS                                                                                          | 2 dk. (Bu işlem 3 kez tekrar edilir.) |
| Dokuların çevresi PAP pen yardımı ile sınırlandırılır.                                       |                                       |
| Serum Bloking solüsyonu                                                                      | 30 dk.                                |
| Primer Antibody (1:100 dilüsyonda Anti-Caspase 3, Anti-BC12 Anti-HIF-1 $\alpha$ antikorları) | +4°C'de gece boyu bekletilir.         |
| PBS                                                                                          | 2 dk. (Bu işlem 3 kez tekrar edilir.) |
| HRP                                                                                          | 30 dk.                                |
| PBS                                                                                          | 2 dk. (Bu işlem 3 kez tekrar edilir.) |
| DAB                                                                                          | Gözle takip                           |
| Distile Su                                                                                   | 3 dk.                                 |
| Mayer's Hematoksilen                                                                         | 1 dk.                                 |
| Çeşme Suyu                                                                                   | Çalkalama İşlemi                      |
| Distile Su                                                                                   | 1-2 kez daldırıp çıkarma              |
| %95 Alkol                                                                                    | 1-2 kez daldırıp çıkarma              |
| %100 Alkol                                                                                   | 1-2 kez daldırıp çıkarma              |
| %100 Alkol                                                                                   | 1-2 kez daldırıp çıkarma              |

Yukarıdaki işlem basamaklarının uygulanmasından sonra ise preparatlar 30 dakika ksilolde bekletildi ve entellan ile kapatılarak görüntülemeye hazır hale getirildi.

**İmmünohistokimyasal değerlendirmeler:** Her grupta kesitlerin immünohistokimyasal değerlendirilmesi sistematik randomize seçilmiş dijital görüntülerde immünreaktivite yoğunluğunun 0'dan 3+'e histolojik skorlanması yapıldı. İmmünreaktivitenin

yokluğu 0 değeri alırken, orta yoğunlukta immünreaktivite 2+ ve yüksek yoğunlukta immünreaktivite 3+ olarak değerlendirildi.

**Damar duvarı ve lümen ölçümleri:** Baziler arter duvarları ve lümenleri cellSens Entry 1.7. görüntü yazılım programı yardımıyla Şekil 19’da görüldüğü gibi ölçülerek gruplar karşılaştırılmıştır. Damar duvarlarından 4, lümeninden 2 ölçüm yapılarak ortalamaları alınmıştır.



**Şekil 19. Damar duvarı ve lümen ölçüm örneği**

### 3.12. Oksidatif Stres Analizi

Kemilüminesans yöntemi ROT’un ölçümü için kullanılan direkt ve noninvaziv bir yöntemdir. Kemilüminesans, ekzotermik oksidatif reaksiyon gösteren organik bileşiklerin genel bir özelliğidir ve ışık yayılmasını ifade eder. Luminol (5-amino-2,3-dihidro-1,4 fitalazindion) ve lusigenin (bis-N-metilakrinidum nitrat), ROT gibi oksidanlarla tepkimeye girerek sırasıyla 3-aminofitalat ve N-metilakridon oluşturur.(563) Ostolün bu modelde oksidatif strese karşı koruyucu etkileri kemilüminesans yöntemi ile değerlendirilmiştir. Hem luminol ile hem de lusigenin ile inkübe edilen iki farklı deney setinde ve her deney setinde farklı beyin dokuları kullanılmıştır. Dekapitasyon işleminin ardından bu deneyler için tüm gruplardan 5’er örneğin baziler arter sulama alanından alınan dokuları kullanılmıştır. ROT düzeyini ölçmek için Münzel ve ark. tarafından geliştirilen, luminol ve lusigenin ışımaya dayalı metot modifiye edilmiştir (564). Dokular, lusigenin veya luminol (5 µmol/L) içeren PBS-HEPES-tamponlu fizyolojik solüsyona (pH 7.4) transfer edilmişlerdir. Bu yöntemde lusigenin ile, süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) saptanırken; luminol ile hidroksil ( $\cdot OH$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hipoklorik asit ( $HOCl$ ) ve

hidroperoksil (HO<sub>2</sub>) radikalleri saptanmaktadır. Oda sıcaklığında, mikrolaka okuyucu (Varioskan, ThermoScientific, USA) kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Ölçümler 1 dakika aralıklar ile elde edilmiştir. ROT'nin luminol ve lusigenin maddelerinin reaksiyonu sonucu ortaya çıkan fotonik aktivite luminometre aracığ ile 5 dakika süreyle kaydedilmiştir. Sonuçlar 5 dakikalık bir ölçüm periyodu süresince eğri altında kalan alan olarak verilmiş ve tüm sonuçlar yaş doku ağırlığı (rlu/mg doku) üzerinden düzenlenmiştir (563).

### 3.13. İstatistiksel Analiz

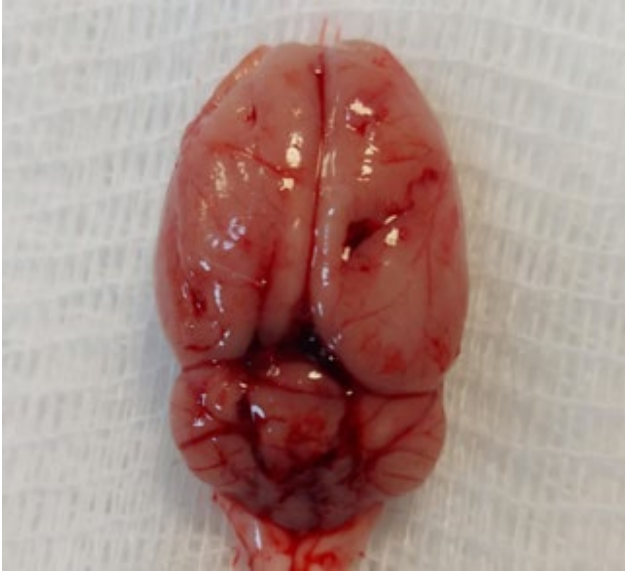
Araştırmada elde edilen veriler SPSS 27.0 versiyon paket programı ile analiz edilmiştir. Verilerin dağılımı tanımlayıcı analiz parametreleri (ortalama, medyan, standart sapma, minimum, maksimum, frekans, yüzde) ile gösterilmiştir. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uyması nedeniyle ikiden fazla bağımsız grup arasındaki sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır. İki den fazla bağımsız grup arasında sürekli değişken açısından farklılık bulunması durumunda farklılığa neden olan grubun tespiti Bonferroni Posthoc testi ile yapılmıştır. Tekrarlanan ölçümlerin karşılaştırılmasında ise Tekrarlayan Ölçümlerde ANOVA kullanılmıştır. Grup ve zamana bağlı ana etki ve ortak etki Karma Desen ANOVA ile incelenmiştir. Verilerin analizi %95 güven aralığında (p=0,05) incelemeye alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. MAKROSKOBİK GÖRÜNTÜ



Şekil 20. Kraniyektomi sonrası 'kontrol' grubu makroskopik görüntüsü.



**Şekil 21. Kraniyektomi sonrası ‘SAK’ grubu makroskopik görüntüsü.**



**Şekil 22. Kraniyektomi sonrası ‘SAK + Osthole’ grubu makroskopik görüntüsü.**

## **4.2. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI**

### **4.2.1. H&E Boyama Sonuçları**

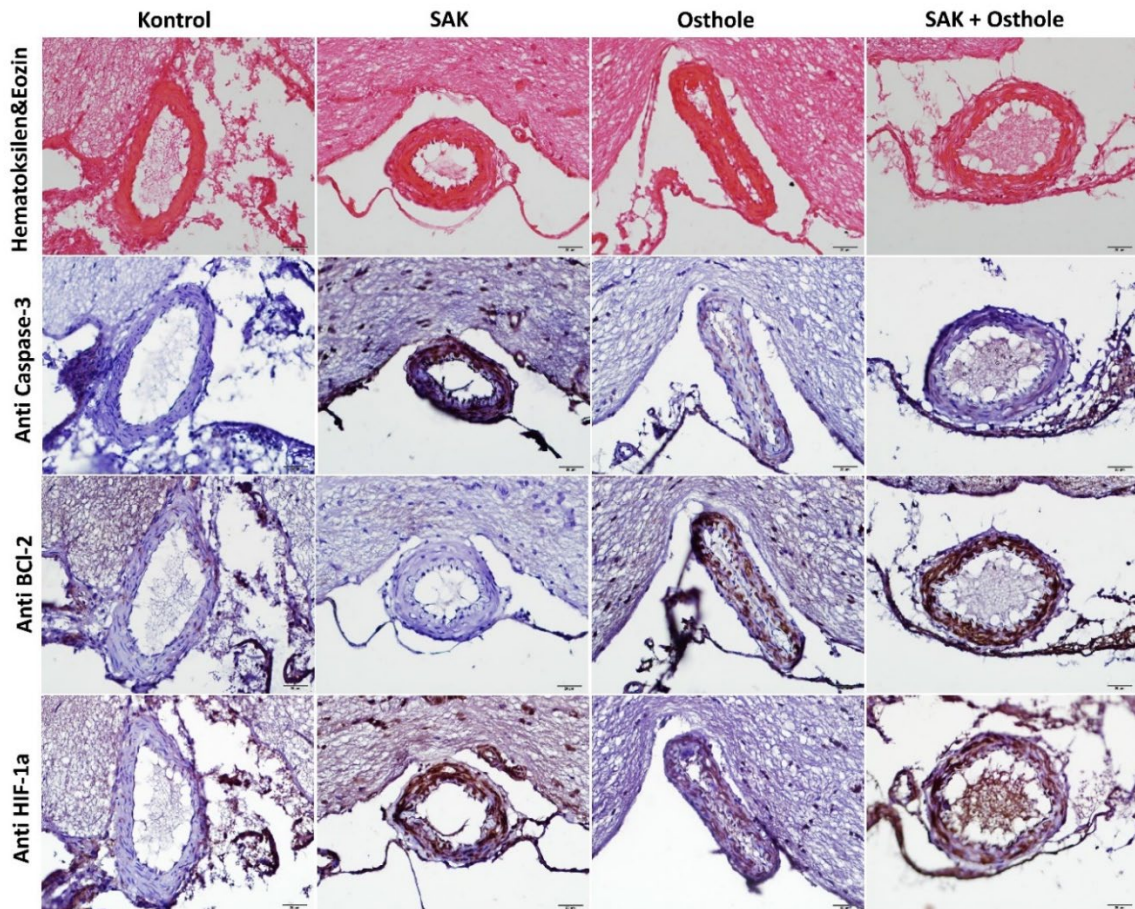
**Grup 1 (Kontrol):** Bu grupta normal muskuler arter histolojik yapısı görülmektedir. Tunica intima tabakasının tek katlı yassı epitel hücrelerden oluştuğu görüldü. Endotel hücrelerinin altında ince bir subendotelyal tabaka görülmektedir. Belirgin bir membrana elastica interna tabakasından sonra görece kalın bir tunica media tabakası görülmüştür. Bu

tabakada düz kas hücreleri ve fibroblastlar görüldü. Bu tabakadan sonra gevşek bağ dokusu özellikle olan tunica adventisya tabakası ile organ yapısının tamamlandığı saptanmıştır.

**Grup 2 (SAK):** SAK modeli uygulanmış bu gruptaki olgularda kontrol grubuna kıyasla damarın kontrakte olduğu saptanmıştır. Damar duvarının kontrol grubuna kıyasla kalınlaştığı görülmüştür. Endotel hücrelerinin yassıdan ziyade kubbe şeklinde olduğu saptandı. Membrana elastica interna tabakası yapısında bir değişiklik görülmedi.

**Grup 3 (Osthole):** Osthole uygulanan bu gruptaki olgularda damar yapısının kontrole daha yakın olduğu saptanmıştır. Endotel hücrelerinin yassı tipte olduğu görülmüştür. Membrana elastica internal tabakası yapısında bir değişiklik görülmemiştir.

**Grup 4 (SAK + Osthole):** Bu gruptaki olgularda SAK grubuna kıyasla damar yapısının kontrole daha yakın olduğu saptanmıştır. Endotel hücrelerinin SAK grubundaki gibi kubbe şeklinde değil yassı tipte olduğu görülmüştür. Membrana elastica interna yapısının yapısında bir değişiklik görülmemiştir. Lümen genişliği SAK grubuna göre artmıştır.



Şekil 23. H&E ve immünohistokimyasal boyama sonuçları.

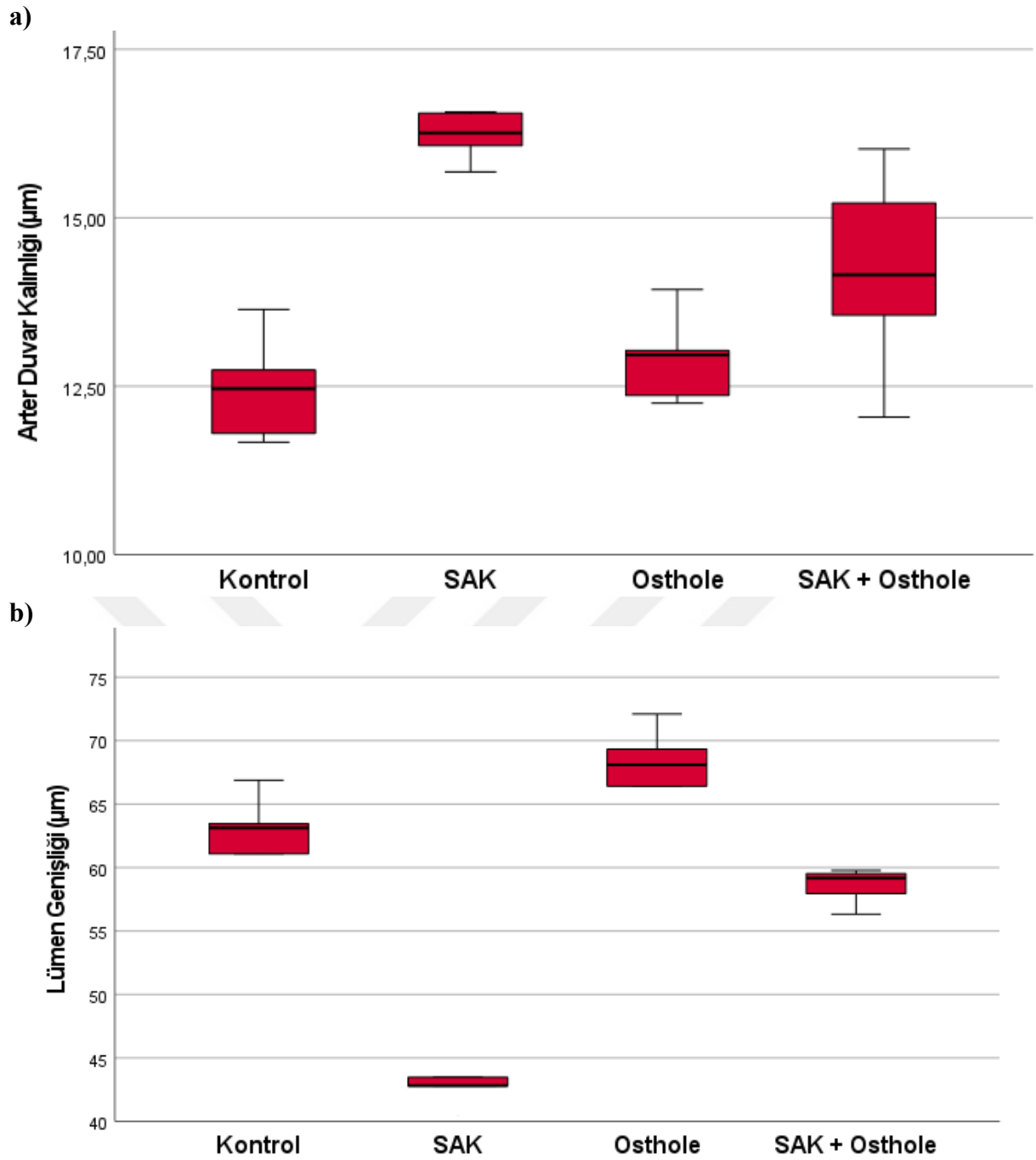
Tablo 18’de kontrol, SAK, osthole ve SAK + osthole gruplarının arter duvar kalınlığı ve lümen genişliği belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; arter duvar kalınlıklarının ortalaması kontrol grubunda  $12,46 \pm 0,80 \mu\text{m}$ , SAK grubunda  $16,23 \pm 0,37 \mu\text{m}$ , osthole grubunda  $12,91 \pm 0,67 \mu\text{m}$  ve SAK + osthole grubunda  $14,20 \pm 1,54 \mu\text{m}$  olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında arter duvar kalınlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $F=15,907$ ;  $p<0,05$ ). SAK grubunun arter duvar kalınlığı kontrol, osthole ve SAK + osthole grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu saptanmıştır.

**Tablo 18. Grupların Arter Duvar Kalınlığı ve Lümen Genişliği**

| Parametre                               | Grup              | N | X $\pm$ SS       | M (Min - Max)      | F      | p             | Fark <sup>a</sup> |
|-----------------------------------------|-------------------|---|------------------|--------------------|--------|---------------|-------------------|
| Arter Duvar Kalınlığı ( $\mu\text{m}$ ) | Kontrol (1)       | 5 | $12,46 \pm 0,80$ | 12,5 (11,7 - 13,6) | 15,907 | <b>0,000*</b> | 1<2               |
|                                         | SAK (2)           | 5 | $16,23 \pm 0,37$ | 16,3 (15,7 - 16,6) |        |               | 2>3               |
|                                         | Osthole (3)       | 5 | $12,91 \pm 0,67$ | 13,0 (12,3 - 13,9) |        |               | 2>4               |
|                                         | SAK + Osthole (4) | 5 | $14,20 \pm 1,54$ | 14,2 (12,0 - 16,0) |        |               |                   |
| Lümen Genişliği ( $\mu\text{m}$ )       | Kontrol (1)       | 5 | $62,30 \pm 3,65$ | 63,1 (56,9 - 66,9) | 56,472 | <b>0,000*</b> | 1>2               |
|                                         | SAK (2)           | 5 | $43,48 \pm 2,33$ | 42,8 (41,0 - 47,3) |        |               | 2<3               |
|                                         | Osthole (3)       | 5 | $67,41 \pm 4,09$ | 68,1 (61,1 - 72,1) |        |               | 2<4               |
|                                         | SAK + Osthole (4) | 5 | $58,55 \pm 1,43$ | 59,2 (56,3 - 59,8) |        |               |                   |

SAK: Subaraknoid Kanama, Tek Yönlü Varyans Analizi, \* $p<0,05$ , a: Bonferroni Posthoc Testi

Lümen genişliklerinin ortalaması kontrol grubunda  $62,30 \pm 3,65 \mu\text{m}$ , SAK grubunda  $43,48 \pm 2,33 \mu\text{m}$ , osthole grubunda  $67,41 \pm 4,09 \mu\text{m}$  ve SAK + osthole grubunda  $58,55 \pm 1,43 \mu\text{m}$  olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında lümen genişliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $F=56,472$ ;  $p<0,05$ ). SAK grubunun lümen genişliğinin kontrol ve SAK + osthole grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır.



Şekil 24. Grupların Arter Duvar Kalınlığı (a) ve Lümen Genişliği (b).

#### 4.2.2. İmmünohistokimyasal Boyama Sonuçları

##### Anti-Caspase 3

Caspase-3'ün immünohistokimyasal olarak incelenmesi, apoptozun varlığını göstermek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (565). Kontrol grubunda oldukça az hücrede immünopozitif reaksiyon saptanmıştır. SAK grubunda endotel hücreleri, tunica mediadaki düz kas ve fibroblast hücrelerinde ve tunica intimadaki hücrelerin çoğunda

immünpozitif hücreler saptanmıştır. Grup 3 ve 4'te ise SAK grubuna kıyasla oldukça az sayıda hücrede immünpozitiflik olduğu görülmüştür.

### **Anti-BCl2**

Bcl-2 ailesi, anti-apoptotik ve pro-apoptotik üyelerden oluşan apoptotik hücre ölümünün düzenlenmesinde yer alan en iyi karakterize edilmiş protein ailesidir.(566) Kontrol grubunda oldukça az hücrede immünpozitif reaksiyon saptanmıştır. SAK grubunda immünreaksiyonun oldukça az hücrede pozitif olduğu görüldü. Grup 4'te özellikle tunica mediada immünpozitif hücre sayısının sayıca yüksek olduğu görüldü. Grup 3'te ise Osthole grubuna benzer boyanma paterni gözlemlendi.

### **Anti- HIF-1 $\alpha$**

HIF-1 $\alpha$ 'nın immünohistokimyasal olarak incelenmesi, hipoksik hücrelerin varlığını göstermek için kullanılan bir yöntemdir (567). Kontrol grubunda immünpozitif boyama saptanmamıştır. SAK grubunda tunica intima ve tunica mediada fark edilir bir immünreaksiyon görülmüştür. Osthole grubunda SAK grubuna kıyasla daha az yoğunlukta immünreaktivite görülmüştür. SAK+ Osthole grubunda ise Osthole grubundan daha yoğun, görece SAK grubuna benzer bir immünreaktivitenin varlığı saptanmıştır.

Tablo 19'da SAK, osthole ve SAK + osthole gruplarının anti – Caspase 3, anti – Bcl2 ve anti–HIF-1 $\alpha$  değerleri belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; anti – Caspase 3 değerlerinin ortalaması kontrol grubunda  $0,40 \pm 0,20$ , SAK grubunda  $2,48 \pm 0,18$ , osthole grubunda  $1,32 \pm 0,11$  ve SAK + osthole grubunda  $1,56 \pm 0,26$  olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında anti – Caspase 3 değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $F=94,140$ ;  $p<0,05$ ). SAK grubunun anti – Caspase 3 değerlerinin kontrol, osthole ve SAK + osthole grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Osthole grubu ve SAK + osthole grubunun anti – Caspase 3 değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

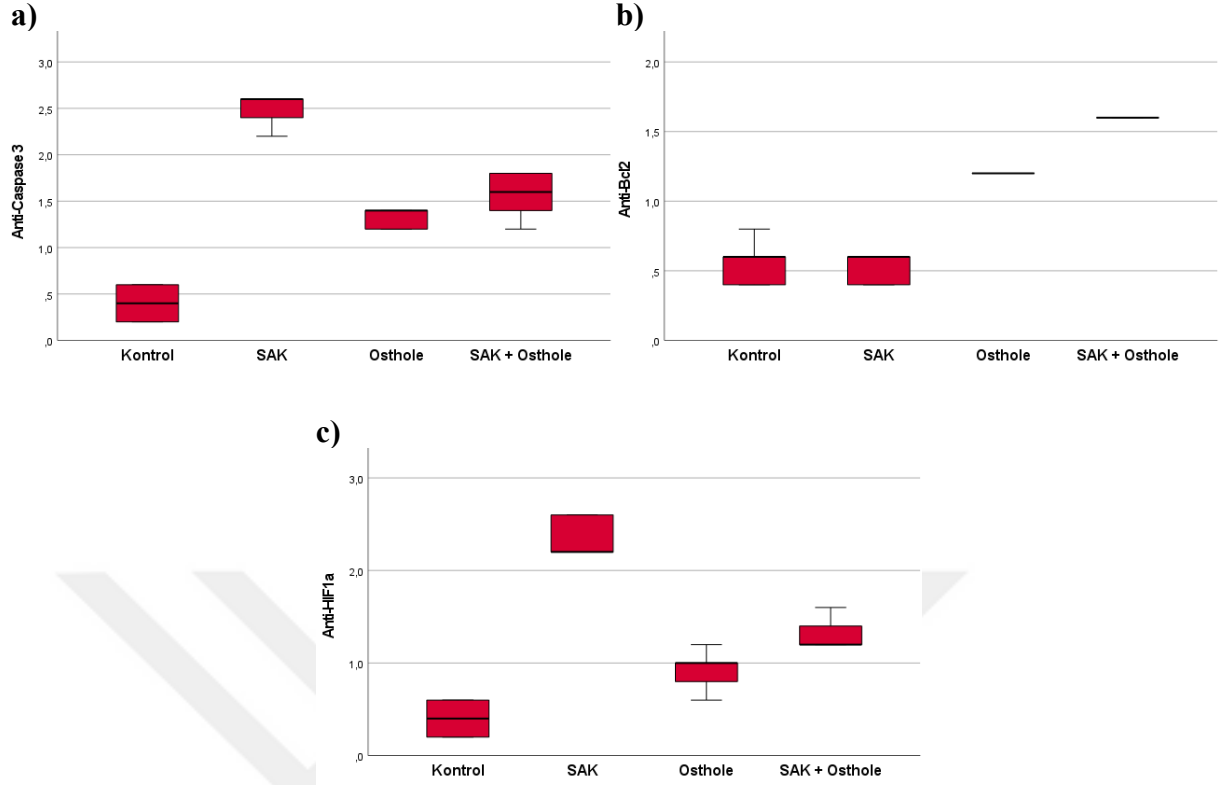
**Tablo 19. Grupların Anti-Caspase 3, Anti-Bcl2 ve Anti- HIF-1 $\alpha$  Değerleri**

| Parametre          | Grup              | N | X $\pm$ SS      | M (Min - Max)   | F      | p             | Fark <sup>a</sup> |
|--------------------|-------------------|---|-----------------|-----------------|--------|---------------|-------------------|
| Anti-Caspase 3     | Kontrol (1)       | 5 | 0,40 $\pm$ 0,20 | 0,4 (0,2 - 0,6) | 96,140 | <b>0,000*</b> | 1<2               |
|                    | SAK (2)           | 5 | 2,48 $\pm$ 0,18 | 2,6 (2,2 - 2,6) |        |               | 1<3               |
|                    | Osthole (3)       | 5 | 1,32 $\pm$ 0,11 | 1,4 (1,2 - 1,4) |        |               | 1<4               |
|                    | SAK + Osthole (4) | 5 | 1,56 $\pm$ 0,26 | 1,6 (1,2 - 1,8) |        |               | 2>3<br>2>4        |
| Anti-Bcl2          | Kontrol (1)       | 5 | 0,56 $\pm$ 0,17 | 0,6 (0,4 - 0,8) | 17,237 | <b>0,000*</b> | 1<4               |
|                    | SAK (2)           | 5 | 0,52 $\pm$ 0,11 | 0,6 (0,4 - 0,6) |        |               | 2<3               |
|                    | Osthole (3)       | 5 | 1,04 $\pm$ 0,48 | 1,2 (0,2 - 1,4) |        |               | 2<4               |
|                    | SAK + Osthole (4) | 5 | 1,56 $\pm$ 0,09 | 1,6 (1,4 - 1,6) |        |               | 3<4               |
| Anti-HIF1 $\alpha$ | Kontrol (1)       | 5 | 0,40 $\pm$ 0,20 | 0,4 (0,2 - 0,6) | 60,292 | <b>0,000*</b> | 1<2               |
|                    | SAK (2)           | 5 | 2,36 $\pm$ 0,22 | 2,2 (2,2 - 2,6) |        |               | 1<3               |
|                    | Osthole (3)       | 5 | 0,92 $\pm$ 0,23 | 1,0 (0,6 - 1,2) |        |               | 1<4               |
|                    | SAK + Osthole (4) | 5 | 1,24 $\pm$ 0,30 | 1,2 (0,8 - 1,6) |        |               | 2>3<br>2>4        |

Tek Yönlü Varyans Analizi, \* $p < 0,05$ , a: Bonferroni Posthoc Testi

Anti – Bcl2 değerlerinin ortalaması kontrol grubunda  $0,56 \pm 0,17$ , SAK grubunda  $0,52 \pm 0,11$ , osthole grubunda  $1,04 \pm 0,48$  ve SAK + osthole grubunda  $1,56 \pm 0,09$  olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında anti – Bcl2 değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $F=17,237$ ;  $p < 0,05$ ). SAK grubunun anti – Bcl2 değerlerinin osthole ve SAK + osthole grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır. SAK + osthole grubunun anti – Bcl2 değerlerinin kontrol ve osthole grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Anti–HIF-1 $\alpha$  değerlerinin ortalaması kontrol grubunda  $0,40 \pm 0,20$ , SAK grubunda  $2,36 \pm 0,22$ , osthole grubunda  $0,92 \pm 0,23$  ve SAK + osthole grubunda  $1,24 \pm 0,30$  olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında anti – HIF-1 $\alpha$  değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $F=60,292$ ;  $p < 0,05$ ). SAK grubunun anti–HIF-1 $\alpha$  değerlerinin kontrol, osthole ve SAK + osthole grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Osthole grubu ve SAK + osthole grubunun anti–HIF-1 $\alpha$  değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.



Şekil 25. Grupların (a) Anti-Caspase 3, (b) Anti-Bcl2 ve (c) Anti- HIF-1 $\alpha$  değerleri.

#### 4.3. OKSİDATİF STRES ANALİZİ

Kemilüminesans ölçümü ile her gruptan 5'er deneğin baziler arter sulama alanından alınan dokularında ROT düzeyi değerlendirildi. Lusigenin ile yapılan ölçümlerde SAK oluşturulan grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde  $O_2^-$  artışı olduğu ve ostolün bu artışı anlamlı ölçüde azalttığı görüldü. Aynı şekilde luminol ile yapılan ölçümlerde de diğer ROT düzeylerinin ( $H_2O_2$ ,  $\cdot OH$  vb.) SAK oluşturulan grupta diğer gruplara kıyasla anlamlı düzeyde arttığı ve ostol tedavisinin bu radikallerin oluşumunu da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı görüldü.

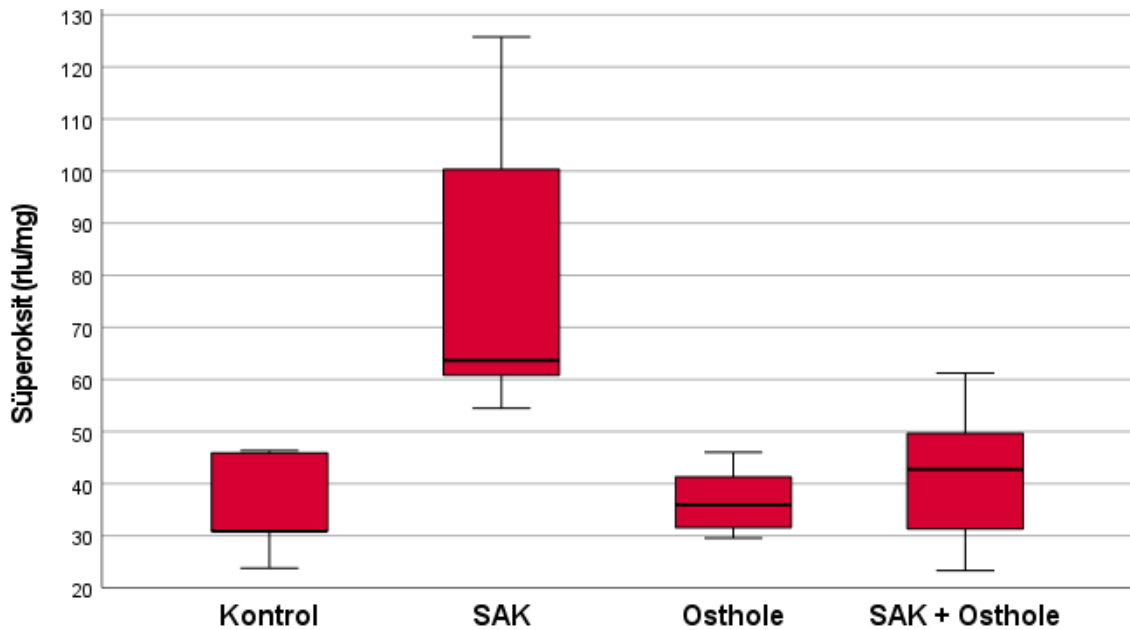
Süperoksit değerlerinin ortalaması kontrol grubunda  $35,59 \pm 10,06$  rlu/mg, SAK grubunda  $81,02 \pm 30,77$  rlu/mg, osthole grubunda  $36,89 \pm 6,80$  rlu/mg ve SAK + osthole grubunda  $41,67 \pm 14,93$  rlu/mg olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında süperoksit radikali ölçümleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $F=7,115$ ;  $p<0,05$ ). SAK grubunun süperoksit radikali ölçüm değerinin kontrol, osthole ve SAK + osthole grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.

**Tablo 20. Grupların Süperoksit ve Süperoksit Dışındaki Diğer ROT Değerleri**

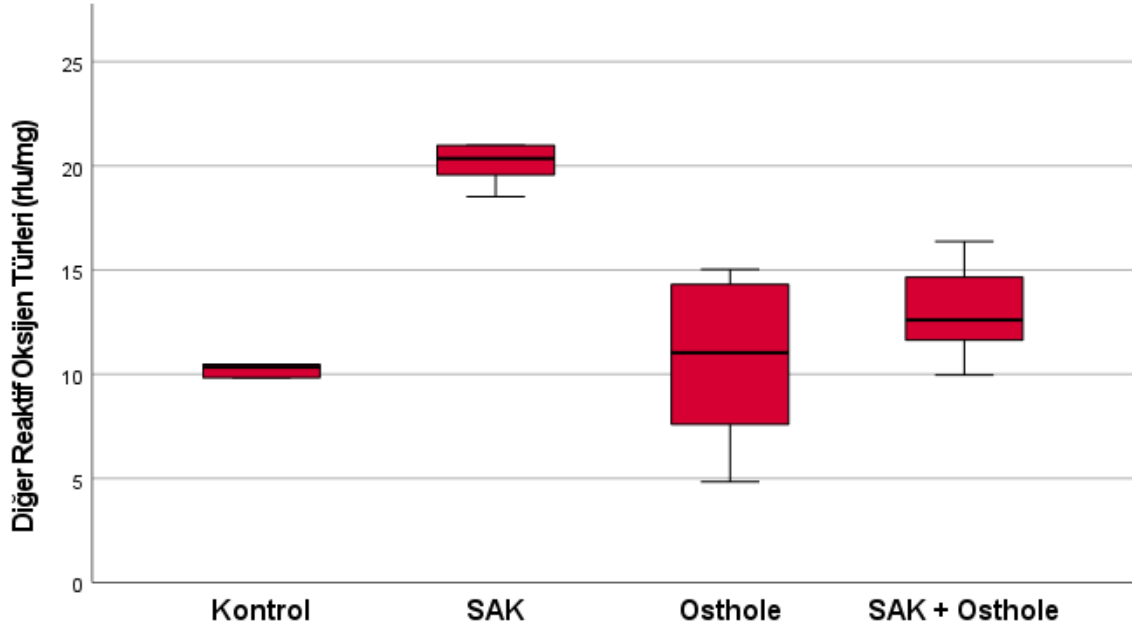
| Parametre          | Grup              | N | X ± SS        | M (Min - Max)       | F      | p             | Fark <sup>a</sup> |
|--------------------|-------------------|---|---------------|---------------------|--------|---------------|-------------------|
| Lusigenin (rlu/mg) | Kontrol (1)       | 5 | 35,59 ± 10,06 | 30,9 (23,8 - 46,4)  | 7,115  | <b>0,003*</b> | 1<2<br>2>3<br>2>4 |
|                    | SAK (2)           | 5 | 81,02 ± 30,77 | 63,7 (54,5 - 125,8) |        |               |                   |
|                    | Osthole (3)       | 5 | 36,89 ± 6,80  | 35,9 (29,6 - 46,0)  |        |               |                   |
|                    | SAK + Osthole (4) | 5 | 41,67 ± 14,93 | 42,8 (23,3 - 61,2)  |        |               |                   |
| Luminol (rlu/mg)   | Kontrol (1)       | 5 | 9,84 ± 1,73   | 10,3 (7,0 - 11,6)   | 11,413 | <b>0,000*</b> | 1<2<br>2>3<br>2>4 |
|                    | SAK (2)           | 5 | 22,22 ± 5,36  | 20,4 (18,5 - 31,7)  |        |               |                   |
|                    | Osthole (3)       | 5 | 10,56 ± 4,35  | 11,0 (4,8 - 15,0)   |        |               |                   |
|                    | SAK + Osthole (4) | 5 | 13,05 ± 2,52  | 12,6 (10,0 - 16,4)  |        |               |                   |

Tek Yönlü Varyans Analizi, \* $p < 0,05$ , a: Bonferroni Posthoc Testi

Süperoksit dışındaki diğer ROT değerlerinin ortalaması kontrol grubunda  $9,84 \pm 1,73$  rlu/mg, SAK grubunda  $22,22 \pm 5,36$  rlu/mg, osthole grubunda  $10,56 \pm 4,35$  rlu/mg ve SAK + osthole grubunda  $13,05 \pm 2,52$  rlu/mg olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında süperoksit dışındaki diğer ROT değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $F=11,413$ ;  $p<0,05$ ). SAK grubunun süperoksit dışındaki ROT değerlerinin kontrol, osthole ve SAK + osthole grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.



**Şekil 26. Lusigenin ile kemilüminesans ölçümü. Osthole tedavisinin  $O_2^-$  düzeyi üzerine etkisi.**



Şekil 27. Luminol ile kemilüminesans ölçümü. Osthole tedavisinin  $O_2^{\cdot-}$  dışındaki ROT düzeyleri ( $H_2O_2$ ,  $\cdot OH$  vb.) üzerine etkisi.

#### 4.4. NÖROLOJİK DEĞERLENDİRME BULGULARI

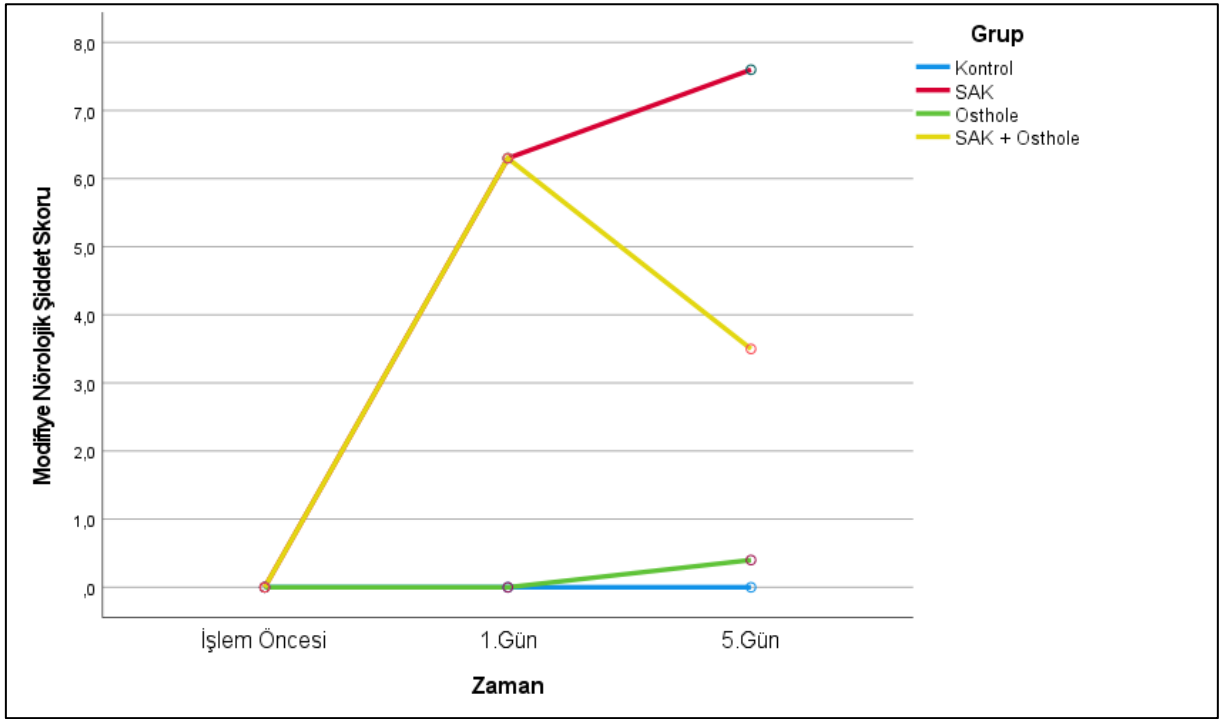
Araştırmamızda kontrol, SAK, osthole ve SAK + osthole gruplarının işlem öncesi, işlem sonrası 1.gün ve 5.gün modifiye nörolojik şiddet skorları değerlendirilmiştir (Tablo 21). Elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubunun modifiye nörolojik şiddet skorlarının ortalaması işlem öncesi 0, işlem sonrası 1.gün 0 ve işlem sonrası 5.gün 0; SAK grubunun modifiye nörolojik şiddet skorlarının ortalaması işlem öncesi 0, işlem sonrası 1.gün  $6,30 \pm 2,36$  ve işlem sonrası 5.gün  $7,60 \pm 1,71$ ; osthole grubunun modifiye nörolojik şiddet skorlarının ortalaması işlem öncesi 0, işlem sonrası 1.gün 0 ve işlem sonrası 5.gün  $0,40 \pm 0,84$  ve SAK + osthole grubunun modifiye nörolojik şiddet skorlarının ortalaması işlem öncesi 0, işlem sonrası 1.gün  $6,30 \pm 1,77$  ve işlem sonrası 5.gün  $3,50 \pm 1,90$  olarak belirlenmiştir.

**Tablo 21. Grup ve Zamana Göre Modifiye Nörolojik Şiddet Skorları**

| Grup              | N              | Modifiye Nörolojik Şiddet Skoru |                  |                    |                    |                         |                     | F <sup>Φ</sup> | p             | Fark <sup>a</sup> |
|-------------------|----------------|---------------------------------|------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|---------------------|----------------|---------------|-------------------|
|                   |                | İşlem Öncesi (1)                |                  | 1.Gün (2)          |                    | 5.Gün (3)               |                     |                |               |                   |
|                   |                | X ± SS                          | M<br>(Min - Max) | X ± SS             | M<br>(Min - Max)   | X ± SS                  | M<br>(Min - Max)    |                |               |                   |
| Kontrol (1)       | 10             | 0                               | 0                | 0                  | 0                  | 0                       | 0                   | 0,000          | 1,000         | -                 |
| SAK (2)           | 10             | 0                               | 0                | 6,30 ± 2,36        | 7,0<br>(2,0 - 9,0) | 7,60 ± 1,71             | 7,5<br>(5,0 - 10,0) | 92,366         | <b>0,000*</b> | 1 < 2<br>1 < 3    |
| Osthole (3)       | 10             | 0                               | 0                | 0                  | 0                  | 0,40 ± 0,84             | 0<br>(0 - 0,2)      | 2,250          | 0,168         | -                 |
| SAK + Osthole (4) | 10             | 0                               | 0                | 6,30 ± 1,77        | 6,0<br>(3,0 - 9,0) | 3,50 ± 1,90             | 3,0<br>(1,0 - 7,0)  | 78,889         | <b>0,000*</b> | 1 < 2<br>2 > 3    |
|                   | F <sup>Ψ</sup> | 0,000                           |                  | 60,905             |                    | 68,191                  |                     |                |               |                   |
|                   | p              | 1,000                           |                  | <b>0,000*</b>      |                    | <b>0,000*</b>           |                     |                |               |                   |
|                   | Fark           | -                               |                  | 1<2, 1<4, 2>3, 3<4 |                    | 1<2, 1<4, 2>3, 2>4, 3<4 |                     |                |               |                   |

Ψ: Tek Yönlü Varyans Analizi, Φ: Tekrarlayan Ölçümlerde Varyans Analizi, \*p<0,05, a: Bonferroni Posthoc Testi

SAK grubu ve SAK + osthole grubunda zamana göre modifiye nörolojik şiddet skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (F<sub>SAK</sub>=92,366; F<sub>SAK + Osthole</sub>=78,889; p<0,05). SAK grubunda işlem sonrası 1.gün ve 5.gün modifiye nörolojik şiddet skorlarının işlem öncesine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. SAK grubunda işlem sonrası 1.gün ve 5.gün modifiye nörolojik şiddet skorlarının işlem öncesine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca SAK grubunda işlem sonrası 5.gün modifiye nörolojik şiddet skorlarının işlem sonrası 1.güne göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve osthole grubunda zamana göre modifiye nörolojik şiddet skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p>0,05).



**Şekil 28. Grup ve Zamana Göre Modifiye Nörolojik Şiddet Skorları**

Gruplar arasında işlem öncesi modifiye nörolojik şiddet skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Gruplar arasında işlem sonrası 1.gün ve 5.gün modifiye nörolojik şiddet skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $F_{1.Gün}=60,905$ ;  $F_{5.Gün}=68,191$ ;  $p<0,05$ ). SAK grubu ve SAK + osthole grubunun işlem sonrası 1.gün modifiye nörolojik şiddet skorunun kontrol grubu ve osthole grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. SAK grubu ve SAK + osthole grubunun işlem sonrası 5.gün modifiye nörolojik şiddet skorunun kontrol grubu ve osthole grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca SAK grubunun işlem sonrası 5.gün modifiye nörolojik şiddet skorunun SAK + osthole grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 22. Grup ve Zamana Göre Modifiye Nörolojik Şiddet Skorlarının Karma Desen ANOVA Sonuçları**

|                     | KT      | Sd     | KO      | F       | p             | $\eta^2$ |
|---------------------|---------|--------|---------|---------|---------------|----------|
| <b>Zaman</b>        | 243,517 | 1,673  | 145,573 | 148,084 | <b>0,000*</b> | 0,804    |
| <b>Hata (Zaman)</b> | 59,200  | 60,221 | 0,983   |         |               |          |
| <b>Grup</b>         | 160,231 | 3      | 53,410  | 68,426  | <b>0,000*</b> | 0,851    |
| <b>Hata (Grup)</b>  | 28,100  | 36     | 0,781   |         |               |          |
| <b>Grup*Zaman</b>   | 287,283 | 5,018  | 57,246  | 58,233  | <b>0,000*</b> | 0,829    |

Karma Desen ANOVA, \* $p<0,05$

Grup ve zamana göre modifiye nörolojik şiddet skorları karma desen ANOVA ile değerlendirilmiştir (Tablo 22). Elde edilen sonuçlara göre; modifiye nörolojik şiddet skorunda gruba bağlı ana etki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $F=68,426$ ,  $p<0,05$ ,  $\eta^2=0,851$ ). Modifiye nörolojik şiddet skorunda gruba bağlı ana etki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $F=148,084$ ,  $p<0,05$ ,  $\eta^2=0,804$ ). Modifiye nörolojik şiddet skorunda grup ve zamana bağlı ortak etki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $F=58,233$ ,  $p<0,05$ ,  $\eta^2=0,829$ ).

## 5. TARTIŞMA

aSAK tüm inme vakalarının yaklaşık olarak %5-8'ini oluşturmaktadır (47, 48). Bu sık görülen vasküler patolojinin bir yıllık mortalite riskinin %65'e varan oranda yüksek olduğu görülmüştür (126). Özellikle ilk 30 gün içindeki ölüm oranı yaklaşık %40-50 olarak bildirilmiştir (127-129). Bu yüksek mortalite ve morbidite oranlarında en önemli pay sahibi EDBH ve serebral vazospazm nedeniyle gelişen GSİ komplikasyonlarıdır. Uzun yıllardır bu konu üzerinde birçok çalışma yapılmıştır ve patofizyolojisinde multifaktöriyel etkenlerin pay sahibi olduğu görülmüştür. Mevcut terapötik ajanların sınırlı etkisi nedeniyle yeni ajan arayışları hala devam etmektedir. Çalışmamız bu durum üzerine eğilmektedir ve etkili bir ilaç olma potansiyeline sahip olan yeni bir terapötik ajan önermektedir. Çeşitli yayınlarda vazodilatör ve nöroprotektif etkileri görülen osthole'un SAK sonrası gelişen EDBH ve GSİ için de faydalı olabileceği, serebral arterlerde vazodilatasyon sağlayarak serebral vazospazmın önüne geçebileceği düşünülmüştür. Ayrıca apoptoz önleyici özelliği, inflamasyonu baskılaması ve oksidatif stresi azaltması gibi çok yönlü yararlı etkileri sayesinde EDBH üzerindeki etkilerini araştırmak istenmiştir.

EDBH ve serebral vazospazmın araştırılması için deneysel SAK modellerinde fare, tavşan, kedi, köpek, primat ve domuz dahil farklı hayvanlar kullanılmıştır (568). Birçok avantajı sebebiyle çalışmamızda ratlar tercih edilmiştir. Ratlar, küçük boyutları ve yönetilebilir fizyolojileri nedeniyle deneysel araştırmalarda sıkça tercih edilen bir modeldir. Bakımlarının ve barındırılmalarının kolay olması ve maliyetin düşük olması gibi nedenler de bu tercihte önemli bir etken olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, sıçanlar, genetik homojenlik ve geniş bilimsel arka plan bilgisi nedeniyle deneysel araştırmalar için uygun bir seçenektir. Bu avantajlar, sıçanların SAK araştırmalarında sıklıkla kullanılan bir model olmasının ana nedenleridir (569). Bu nedenlerden en önemlisi ise tedavi amacıyla kullandığımız ajanın ratlar üzerinde yapılan birçok farklı çalışmada kullanılmış olmasıdır. Bu bize ostolün optimal dozajını belirlemek için

kritik veriler sunmuştur. Yapılan literatür araştırmasında ratlar için standardize edilmiş bir ostol dozu olmasa da 10- 100 mg/kg arasında değişen dozlarda tedaviler verildiği, en sık tercih edilen ve fayda görülen doz aralığının 20-40 mg/kg olduğu görülmüştür. (459, 507, 550). Bu sebeple çalışmamızda 30 mg/kg ostol uygulanmıştır.

SAK modellemesinde başvuru temel iki yaklaşım, endovasküler arteriyel perforasyon ve kan enjeksiyonu teknikleridir. Bu tekniklerden ilki, damar içi bir müdahaleyle arter duvarının bilinçli olarak yırtılmasını içerirken, ikinci teknik doğrudan kanın BOS ile temas ettiği alana enjekte edilmesini temel alır. Bu bölge için genellikle subaraknoid mesafenin genişlediği alanlar olan sisternalar tercih edilir. Endovasküler yöntemin mortalite oranı yüksek olması sebebiyle çalışmamızda otolog kanın sisterna magnaya enjeksiyonu tercih edilmiştir (570).

Başlangıçta anterior sirkülasyon anevrizmalarının kanadığı tabloları taklit etmek için prekiazmatik sisterna kullanılmak istense de bölgeye ulaşabilmek için stereotaksi cihazı kullanılması gerekmiştir. Ancak prekiazmatik sisternaya ulaşım transvers aksa dik şekilde yapıldığında motor korteksin hasarlanacağı görülmüştür. Literatürde bu problemin çözümü için stereotaksi cihazına 30 veya 45 derece açı vermek gerektiği belirtilmişse de elimizdeki cihazın maksimum 15 derece açıldığı anlaşıldığı için prekiazmatik sisternadan vazgeçilerek sisterna magna kullanımına karar verilmiştir. Ayrıca bu şekilde kemik pencere açılmaksızın SAK modeli oluşturularak daha az invaziv bir yöntem seçilmiştir. Sisterna magnaya otolog kan enjeksiyon yöntemi, SAK'ın neden olduğu hemorajik etkileri ve bunun sonucunda gelişen serebral vazospazmı modellemede yüksek düzeyde tekrarlanabilirlik ve güvenilirlik sunmaktadır. Bu teknikle, deneysel SAK modelindeki patofizyolojik değişiklikler, insan durumuna yakın bir şekilde taklit edilebilmekte ve böylece hastalığın mekanizmaları ile mücadele edebilmek için daha etkin terapötik stratejilerin geliştirilmesine olanak tanınmaktadır.

Literatürde otolog kanın sisterna magnaya 24 saat aralıkla iki kez enjeksiyonu ile SAK modeli oluşturulduğu görülmüşse de çift enjeksiyon modelinde mortalite oranının %50'ye kadar çıktığı belirtilmiştir (571). Ayrıca tek enjeksiyon modeli ile tekrarlayan anesteziye ve cerrahi işleme bağlı komplikasyonlardan da kaçınılmıştır.

SAK modeli çalışmalarında kullanılan otolog kanın genellikle kalpten, kuyruktan veya femoral arterden alındığı görülmüştür. Her üç yöntemin de avantajları ve dezavantajları vardır. Kalpten kan alımı, genellikle daha büyük kan hacimleri elde etmeyi sağlar ancak oldukça invaziv bir işlemdir ve mortalite oranı yüksektir (572). Femoral arterden kan alımı, daha az invazivdir ancak kanama kontrolü ve arterin darlığı nedeniyle teknik olarak daha zordur. Kuyruk kanı alımı ise daha az invazivdir ve genellikle yeterli kan hacmi sağlayan bir yöntemdir.

Bu da özellikle küçük kemirgenlerde tercih edilmesinin nedenidir (572). Çalışmamızda otolog kan alımı için kuyruk arterini tercih edilmiştir. Bu sayede diğer yöntemlere nazaran daha az invaziv bir yöntem kullanılmıştır. Bu şekilde hem hayvan refahının artırıldığı düşünülmüştür hem de tekrarlanabilirlik ve kullanım kolaylığı sağlamıştır.

Serebral vazospazmın 3. Günden itibaren başladığı ve 7.-14. Günler arasında pik yaptığı görülmüştür (194). Hayvan deneylerinde bu süreler net olmamakla birlikte, MRA kullanılarak yapılan bir çalışmada, serebral vazospazmın en sık beşinci günde geliştiği gösterilmiştir (573). Bu sebeple çalışmamızda deneklerin kanama oluşturulduktan beş gün sonra sakrifiye edilmesine karar verilmiştir. Bu zamanlama, serebral vazospazmın gelişimini en uygun şekilde gözlemlemek ve değerlendirmek için kritik bir öneme sahiptir.

Literatürdeki hayvan modeli çalışmalarında nörolojik muayenenin daha çok iskemi ve travma çalışmaları için tasarlandığı ve uygulandığı görülmüştür (574, 575). Muayene amacıyla geliştirilen nörodavranışsal testler, çeşitli serebrovasküler hastalıklar ve travmalarda kullanılmasına rağmen, deneysel SAK çalışmalarında sınırlı bir şekilde kullanılmıştır (576). Bunun optimizasyon düşüklüğünden ve sonuçların yoruma açık oluşundan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca muayenenin zamanlaması hakkında da net bir görüş birliği olmadığı görülmüştür. Araştırmamızda SAK modellerinde de kullanılan Modifiye Nörolojik Şiddet Skoru (mNSS) ile muayene gerçekleştirilmiştir (577). Çalışmamızda ilk muayene deney başlangıç gününde hiçbir işlem yapılmadan önce yapılmıştır. İkinci muayene ise anestezi etkisinin ve SAK modeli oluşturulduğu günün stres faktörü göz önünde bulundurularak literatürdeki diğer bazı araştırmalar gibi operasyondan 24 saat sonra yapılmıştır (576, 578, 579). Üçüncü ve son muayene ise beşinci gün sakrifikasyon öncesi elde edilmiştir. Bu sayede GSİ ve GİND'in olası muayene bulguları da kayda alınmıştır. Kemirgenler üzerinde yapılan SAK çalışmalarında standart bir nörodavranışsal test rejimi geliştirilmesi, laboratuvarlar arası sonuçların daha iyi karşılaştırılmasını sağlayacak ve insanlarda işlevsel faydalar sağlayacak müdahalelerin daha iyi tahmin edilmesine olanak tanıyacaktır.

Ostol metabolizmasında hidroksilasyon, glukuronidasyon, sülfasyon gibi çeşitli yollar tanımlanmış ve sitokrom P450 enzimlerinin ostol metabolizmasında önemli rol oynadığı görülmüştür (580). Bununla birlikte, ostolün hangi metabolik yollar üzerinde daha etkili olduğu ve bu yolların biyolojik aktivitesi üzerindeki spesifik etkileri net bir şekilde bilinmemektedir. Ayrıca hepatik metabolizmada üretilen ve idrar yolu ile uzaklaştırılan bazı metabolitleri tanımlanmışsa da bu metabolitlerin hangilerinin biyolojik olarak aktif olduğu, ostolün terapötik etkilerine nasıl katkıda bulundukları ve vücuttan atılım yollarını gösteren çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (447, 449, 581). Bu alanda farmakokinetik çalışmaların

artırılmasıyla, ostolün metabolizması ve terapötik etkileri üzerindeki spesifik etkiler daha net anlaşılabilir ve optimize edilebilir.

Ostol, hedef alınan hücre türü ve hastalık durumuna göre farklı biyolojik tepkiler ortaya koymaktadır. Kanser tedavisinde, örneğin bir gliom çalışmasında ROT üretimini artırarak hücre ölümünü desteklerken; iskemi gibi durumlarda antioksidan etkileriyle hücreleri koruyucu bir rol oynamaktadır (510). Yine antifungal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada oksidatif stresi artırarak flukonazol ile sinerjist etkide bulunduğu görülmüştür (497). Bu çift yönlü etki, ostolün hücresel ve moleküler düzeydeki etkileşimlerinin ve tedavi yaklaşımlarının duruma özgü olarak düzenlenmesi gerektiğinin altını çizmektedir.

Ostolün vasküler sistem üzerindeki etkileri incelendiğinde, bu bileşiğin pulmoner arterlerde vazodilatör etkiler gösterdiği ve pulmoner hipertansiyonda faydalı olabileceği görülmüştür.(582) Ancak, serebral arterlerin ve pulmoner arterlerin yapısal ve histolojik özelliklerinde önemli farklılıklar bulunmaktadır. Yapılan başka bir çalışmada, ostolün insan ve sıçan pulmoner arter halkalarında doza bağlı vazodilatör etki gösterdiği, ancak sıçan mezenterik arterler üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir (583). Bu, ostolün vasküler sistem üzerindeki seçici etkilerini göstermektedir. Özellikle, serebral arterlerin kas tabakası, pulmoner arterlere göre daha ince yapıdadır. Bu ince kas tabakası, serebral arterlerin kan basıncı ve akışına daha hassas bir şekilde yanıt vermesini sağlar ki bu ostolün bu arterler üzerindeki etkilerini değiştirebilir. Örneğin ratlarda karotid arter balon hasarı modeli oluşturulan bir çalışmada ostolün intimal hiperplaziyi önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (471). Araştırmamız bu duruma ışık tutması açısından önem arz etmektedir. Çalışmamızda tüm gruplarda baziler arter lümen çapı ve damar duvar kalınlıkları ölçülmüştür. Ostol ile tedavi edilen grupta SAK'ın neden olduğu damar duvarı kalınlık artışının azaldığı ve lümenin genişlediği gösterilmiştir. Bu durum ostolün aSAK ilişkili serebral vazospazm tedavisinde kullanımı açısından umut vericidir.

Yao ve ekibinin yaptığı bir çalışmada ise ostolün vazodilatör etkinliğinin vasküler endotel dokunun bütünlüğüne ve eNOS aktivitesinin bozulmamış olmasına bağlı olduğu belirtilmiştir (583). SAK sonrası serebral vazospazm ve GSİ patofizyolojisinde ise endotel disfonksiyonu ve azalmış NO üretimi önemli bir rol almaktadır. Çalışmamızda ostol uygulanan SAK grubunda serebral vazodilatasyonun sağlandığının görülmesi, bu ajanın NO üretimini artırması yanında endotelial bütünlüğün korunmasına da katkıda bulunmuş olabileceğini düşündürmektedir. Bu özellikleri, serebral vazospazm ve GSİ yönetiminde terapötik potansiyel gücünü kuvvetlendirir. Ostolün endotelial hücreler ve eNOS üzerindeki etkinliğine dair

yapılan çalışmalar da serebral vasküler hastalıkların tedavisindeki rolünü destekleyicidir (584, 585).

HIF-1 $\alpha$ , hipoksiye yanıt olarak ekspresyonu artan bir transkripsiyon faktörüdür ve serebral vazospazm dahil olmak üzere çeşitli patolojik süreçlerde rol oynadığı bilinmektedir (230). Çalışmamızda SAK grubunda, baziler arter damar duvarında HIF-1 $\alpha$ 'ya karşı kontrol grubuna kıyasla belirgin bir immünreaktivite artışı gözlemlenmiştir. Bu durum, SAK'ın beyin dokusunda neden olduğu hipoksi nedeniyle HIF-1 $\alpha$  proteininin ekspresyonunu arttığını göstermektedir. Ostol verilen SAK grubunda ise bu ekspresyonun azaldığı görölmüştür. Araştırmamız, aSAK'ın HIF-1 $\alpha$  aracılığı ile neden olduğu patofizyolojik olayları inceleyen çalışmalar eşliğinde değerlendirildiğinde, ostolün koruyucu etkide bulunduğunu doğrulamaktadır. Ostolün, vazodilatör etkisi sayesinde artan serebral kan akımının hipoksik hasarın önüne geçmesiyle bu durumu sağladığı düşünölmüştür.

aSAK sonrası EDBH ve serebral vazospazm gelişiminde ROT aşırı üretiminin kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir (262, 264). Çalışmamızda ostol tedavisinin oksidatif stres üzerindeki etkisi ROT düzeyi değerlendirilerek incelenmiştir. Kemilüminesans ölçümü ile elde edilen bulgularımız, ostolün O<sub>2</sub> ve diğer ROT düzeylerini anlamlı derecede azalttığını göstermektedir. Sonuçlarımız ostolün SAK patofizyolojisinde nöroprotektif etkilerine işaret etmektedir. ROS düzeylerindeki azalma ile ostolün hücre içi redoks dengesini iyileştirdiği ve oksidatif strese karşı hücreleri koruma potansiyeline sahip olduğu görölmüştür. Bununla birlikte, ostolün antioksidan savunma sistemindeki kesin moleküler hedefleri ve beyin dokusundaki etki yolları konusunda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Çalışmamızda ostolün vazodilatör özellikleri sayesinde serebral vazospazm tedavisinde etkili bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Ancak, ostolün vazodilatör etkileri, sistemik hipotansiyona da yol açabilir (586). Bu da sistemik hipertansiyonun terapötik olduğu düşünölen serebral vazospazm ve GSI için risk teşkil etmektedir. Mevcut literatürde, ostolün kan basıncı üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalar sınırlıdır ve bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Ostol kullanımının terapötik etkilerini muhafaza ederken sistemik hipotansiyon riskini minimize etmek önem arz etmektedir. Bu çerçeve, kullanılan ostol dozunun dikkatlice belirlenmesi ve yüksek dozlardan kaçınılması gereklidir.

Ostol ile ilgili mevcut araştırmalar, bu bileşiğin faydalı terapötik etkilerine odaklanmıştır; ancak, yan etkileri ve olası olumsuz etkileri üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Örneğin, ostolün kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücreleri üzerinde immünsüpresif etki göstermesi bağışıklık sistemi üzerindeki dolaylı etkileri açısından önemlidir (587). Bu durum, özellikle immün yanıtların modölasyonu ve bağışıklık sistemi ile ilişkili

hastalıkların tedavisinde kullanıldığında, beklenmeyen yan etkilere yol açabilir. Bu nedenle, ostolün yan etkilerinin ve güvenlik profilinin daha detaylı bir şekilde anlaşılması için geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kumarin türevleri genellikle antikoagülan özelliğe sahiptir ve çoğunlukla bu fonksiyonlarından faydalanılarak kullanılmaktadırlar. Ancak ostol, daha çok antiagregan etkiye sahip olduğu gösterilen bir kumarin türevidir. Araştırmalar, ostolün trombosit agregasyonunu inhibe ederek etki gösterdiğini ve tromboksan sentezini azalttığını göstermiştir (588-590). Bununla birlikte, ostolün kanama diyatezine etkileri üzerine yapılmış kapsamlı çalışmalar sınırlıdır. Ostolün SAK sonrası serebral vazospazmın ve GSİ'nin önlenmesinde kullanılabilmesi için bu açıdan değerlendirilmesi gerekmektedir.

Hayvan modeli çalışmalarında ve hücre kültürü araştırmalarında incelenen ve terapötik etkinliği gösterilen ostolün insanlar üzerindeki klinik çalışmalarla bu etkinliği daha net ortaya konacaktır. Ostolün insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerinin ve terapötik kullanımının tam olarak anlaşılması için, kontrollü klinik çalışmaların yapılması önem taşımaktadır.

## **6. SONUÇ VE ÖNERİLER**

aSAK'ın yüksek mortalite ve morbidite oranları güncelliğini korumaktadır. Bunda kanama sonrası gelişen EDBH, serebral vazospazm ve GSİ büyük rol oynamaktadır. Bu komplikasyonlara karşı hala etkin bir tedavi oluşturulamamıştır. Çalışmamızda vazodilatör ve nöroprotektif özellikleri ile bilinen ostolün aSAK'ın bu komplikasyonları üzerindeki etkinliğini değerlendirdik. Ratlar üzerinde SAK modeli oluşturduğumuz araştırmamızda bu ajanın anti-apoptotik etkide bulunduğunu ve oksidatif stres üzerinde olumlu sonuçlar sağladığını gördük. Ayrıca baziler arter lümen çapını ve damar duvar kalınlığını değerlendirmemiz neticesinde serebral vazospazma karşı vazodilatör etkisinden faydalanabileceğimizi anladık.

Elde edilen sonuçlar ışığında, ostolün, yeterli deneysel ve klinik çalışmalar yapıldığında EDBH, serebral vazospazm ve GSİ'nin önlenmesinde terapötik bir ajan olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Claassen J, Park S. Spontaneous subarachnoid haemorrhage. *Lancet*. 2022;400(10355):846-62.
2. Park S, Yamaguchi M, Zhou C, Calvert JW, Tang J, Zhang JH. Neurovascular protection reduces early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2004;35(10):2412-7.
3. Kusaka G, Ishikawa M, Nanda A, Granger DN, Zhang JH. Signaling pathways for early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2004;24(8):916-25.
4. Clarke E, Walton JN. Subdural haematoma complicating intracranial aneurysm and angioma. *Brain*. 1953;76(3):378-404.
5. Ganz J. Hippocrates, Celsus and Galen: Head Injury, the Brain, and the Bone. *History of Medicine/ru*. 2015;2.
6. Lippi D. An aneurysm in the Papyrus of Ebers (108, 3-9). *Med Secoli*. 1990;2(1):1-4.
7. Milinis K, Thapar A, O'Neill K, Davies AH. History of Aneurysmal Spontaneous Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*. 2017;48(10):e280-e3.
8. Sen J, Belli A, Albon H, Morgan L, Petzold A, Kitchen N. Triple-H therapy in the management of aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Lancet Neurol*. 2003;2(10):614-21.
9. Wilks S. Sanguineous meningeal effusion (apoplexy); spontaneous and from injury. *Guy's Hosp Rep*. 1859;5:119-27.
10. Cooper A. A Case of Aneurism of the Carotid Artery. *Med Chir Trans*. 1809;1:1-12.1.
11. Cushing H. The pituitary body and its disorders, clinical states produced by disorders of the hypophysis cerebri. Philadelphia & London: J.B. Lippincott Company Philadelphia & London; 1912.
12. Smith RR, Zubkov YN, Tarassoli Y. The History of Aneurysm Surgery. In: Smith RR, Zubkov YN, Tarassoli Y, editors. *Cerebral Aneurysms: Microvascular and Endovascular Management*. New York, NY: Springer US; 1994. p. 1-9.
13. Cohen-Gadol AA, Spencer DD, Harvey W. Cushing and cerebrovascular surgery: Part I, Aneurysms. *J Neurosurg*. 2004;101(3):547-52.
14. Dandy WE. INTRACRANIAL ANEURYSM OF THE INTERNAL CAROTID ARTERY: CURED BY OPERATION. *Ann Surg*. 1938;107(5):654-9.
15. Church A PF. *Nervous and Mental Diseases*: WB Saunders Co; 1922.
16. Moniz E. L'Encéphalographie artérielle, son importance dans la localisation des tumeurs cérébrales, par Egas Moniz (de Lisbonne): Masson; 1927.
17. Dott NM. Intracranial Aneurysms: Cerebral Arterio-Radiography: Surgical Treatment. *Edinb Med J*. 1933;40(12):T219-t40.
18. Ozgiray E, Husemoglu B, Cinar C, Bolat E, Akinturk N, Biceroglu H, et al. The Effect of Preoperative Three Dimensional Modeling and Simulation on Outcome of Intracranial Aneurysm Surgery. *J Korean Neurosurg Soc*. 2023.
19. Özgiray E, Aktüre E, Patel N, Baggott C, Bozkurt M, Niemann D, et al. How reliable and accurate is indocyanine green video angiography in the evaluation of aneurysm obliteration? *Clin Neurol Neurosurg*. 2013;115(7):870-8.
20. Yasargil MG, Fox JL. The microsurgical approach to intracranial aneurysms. *Surg Neurol*. 1975;3(1):7-14.
21. Serbinenko FA. Balloon catheterization and occlusion of major cerebral vessels. *J Neurosurg*. 1974;41(2):125-45.
22. Guglielmi G, Vinuela F, Sepetka I, Macellari V. Electrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach: part 1: electrochemical basis, technique, and experimental results. *Journal of neurosurgery*. 1991;75(1):1-7.
23. Quincke H. Die Lumbalpunktion des Hydrocephalus, *Berliner Klinische Wochenschrift*. 1891;28:929-33.
24. Froin G. Les hémorragies sous-arachnoïdiennes et le mécanisme de l'hématolyse en général. *These de Paris*. 1904;No. 113.
25. Symonds CP. Spontaneous Sub-arachnoid Hæmorrhage. *Proc R Soc Med*. 1924;17(Neurol Sect):39-52.

26. WM G. Cases of aneurism of the cerebral vessels. *Guys Hospital Report*. 1859(5:281):304.
27. FLOREY H. MICROSCOPICAL OBSERVATIONS ON THE CIRCULATION OF THE BLOOD IN THE CEREBRAL CORTEX. *Brain*. 1925;48(1):43-64.
28. Macdonald RL. Origins of the Concept of Vasospasm. *Stroke*. 2016;47(1):e11-5.
29. Robertson EG. Cerebral lesions due to intracranial aneurysms. *Brain*. 1949;72(Pt. 2):150-85.
30. Ecker A, Riemenschneider PA. Arteriographic demonstration of spasm of the intracranial arteries, with special reference to saccular arterial aneurysms. *J Neurosurg*. 1951;8(6):660-7.
31. Pool JL. Cerebral vasospasm. *N Engl J Med*. 1958;259(26):1259-64.
32. Kennady JC. Investigations of the early fate and removal of subarachnoid blood. *Pac Med Surg*. 1967;75(3):163-8.
33. Fisher CM, Roberson GH, Ojemann RG. Cerebral vasospasm with ruptured saccular aneurysm--the clinical manifestations. *Neurosurgery*. 1977;1(3):245-8.
34. Alksne JF, Branson FJ. Timing of periarterial blood removal for the prevention of vasonecrosis. *Angiology*. 1982;33(4):259-67.
35. Alksne JF, Branson PJ, Bailey M. Modification of experimental post-subarachnoid hemorrhage vasculopathy with intracisternal plasmin. *Neurosurgery*. 1986;19(1):20-5.
36. Weir B, Grace M, Hansen J, Rothberg C. Time course of vasospasm in man. *J Neurosurg*. 1978;48(2):173-8.
37. Takemae T, Mizukami M, Kin H, Kawase T, Araki G. [Computed tomography of ruptured intracranial aneurysms in acute stage--relationship between vasospasm and high density on CT scan (author's transl)]. *No To Shinkei*. 1978;30(8):861-6.
38. Katada K, Kanno T, Sano H, Shibata T, Shah MY. [Computed tomography of ruptured intracranial aneurysm in acute stage (author's transl)]. *No Shinkei Geka*. 1977;5(9):955-63.
39. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery*. 1980;6(1):1-9.
40. Kosnik EJ, Hunt WE. Postoperative hypertension in the management of patients with intracranial arterial aneurysms. *J Neurosurg*. 1976;45(2):148-54.
41. Towart R, Kazda S. The cellular mechanism of action of nimodipine (BAY e 9736), a new calcium antagonist [proceedings]. *Br J Pharmacol*. 1979;67(3):409p-10p.
42. Allen GS, Ahn HS, Preziosi TJ, Battye R, Boone SC, Boone SC, et al. Cerebral arterial spasm--a controlled trial of nimodipine in patients with subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med*. 1983;308(11):619-24.
43. Vermeulen M, van Gijn J, Hijdra A, Wijdevicks EF. Nimodipine for cerebral arterial spasm in subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med*. 1983;309(7):437.
44. Gelmers HJ. Effect of nimodipine (Bay e 9736) on postischemic cerebrovascular reactivity, as revealed by measuring regional cerebral blood flow (rCBF). *Acta Neurochir (Wien)*. 1982;63(1-4):283-90.
45. Tanaka K, Gotoh F, Muramatsu F, Fukuuchi Y, Amano T, Okayasu H, et al. Effects of nimodipine (Bay e 9736) on cerebral circulation in cats. *Arzneimittelforschung*. 1980;30(9):1494-7.
46. Zubkov Iu N, Nikiforov BM, Shustin VA. [1st attempt at dilating spastic cerebral arteries in the acute stage of rupture of arterial aneurysms]. *Zh Vopr Neirokhir Im N N Burdenko*. 1983(5):17-23.
47. Connolly ES, Jr., Rabinstein AA, Carhuapoma JR, Derdeyn CP, Dion J, Higashida RT, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2012;43(6):1711-37.
48. Kim JY, Kang K, Kang J, Koo J, Kim DH, Kim BJ, et al. Executive Summary of Stroke Statistics in Korea 2018: A Report from the Epidemiology Research Council of the Korean Stroke Society. *J Stroke*. 2019;21(1):42-59.
49. Zhang J, Liu G, Arima H, Li Y, Cheng G, Shiue I, et al. Incidence and risks of subarachnoid hemorrhage in China. *Stroke*. 2013;44(10):2891-3.
50. Rincon F, Rossenwasser RH, Dumont A. The epidemiology of admissions of nontraumatic subarachnoid hemorrhage in the United States. *Neurosurgery*. 2013;73(2):217-22; discussion 2-3.

51. Etminan N, Chang HS, Hackenberg K, de Rooij NK, Vergouwen MDI, Rinkel GJE, et al. Worldwide Incidence of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage According to Region, Time Period, Blood Pressure, and Smoking Prevalence in the Population: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Neurol.* 2019;76(5):588-97.
52. Labovitz DL, Halim AX, Brent B, Boden-Albala B, Hauser WA, Sacco RL. Subarachnoid hemorrhage incidence among Whites, Blacks and Caribbean Hispanics: the Northern Manhattan Study. *Neuroepidemiology.* 2006;26(3):147-50.
53. Macdonald RL, Schweizer TA. Spontaneous subarachnoid haemorrhage. *Lancet.* 2017;389(10069):655-66.
54. de Rooij NK, Linn FH, van der Plas JA, Algra A, Rinkel GJ. Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;78(12):1365-72.
55. van Lieshout JH, Fischer I, Kamp MA, Donders ART, Cornelius JF, Steiger HJ, et al. Subarachnoid Hemorrhage in Germany Between 2010 and 2013: Estimated Incidence Rates Based on a Nationwide Hospital Discharge Registry. *World Neurosurg.* 2017;104:516-21.
56. Hamdan A, Barnes J, Mitchell P. Subarachnoid hemorrhage and the female sex: analysis of risk factors, aneurysm characteristics, and outcomes. *J Neurosurg.* 2014;121(6):1367-73.
57. Wáng YX, He J, Zhang L, Li Y, Zhao L, Liu H, et al. A higher aneurysmal subarachnoid hemorrhage incidence in women prior to menopause: a retrospective analysis of 4,895 cases from eight hospitals in China. *Quant Imaging Med Surg.* 2016;6(2):151-6.
58. Tabuchi S. Relationship between Postmenopausal Estrogen Deficiency and Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Behav Neurol.* 2015;2015:720141.
59. Molenberg R, Thio CHL, Aalbers MW, Uyttenboogaart M, Larsson SC, Bakker MK, et al. Sex Hormones and Risk of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Mendelian Randomization Study. *Stroke.* 2022;53(9):2870-5.
60. De Marchis GM, Schaad C, Fung C, Beck J, Gralla J, Takala J, et al. Gender-related differences in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A hospital based study. *Clin Neurol Neurosurg.* 2017;157:82-7.
61. Kongable GL, Lanzino G, Germanson TP, Truskowski LL, Alves WM, Torner JC, et al. Gender-related differences in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1996;84(1):43-8.
62. Korja M, Lehto H, Juvela S. Lifelong rupture risk of intracranial aneurysms depends on risk factors: a prospective Finnish cohort study. *Stroke.* 2014;45(7):1958-63.
63. Eden SV, Meurer WJ, Sánchez BN, Lisabeth LD, Smith MA, Brown DL, et al. Gender and ethnic differences in subarachnoid hemorrhage. *Neurology.* 2008;71(10):731-5.
64. Park SK, Kim JM, Kim JH, Cheong JH, Bak KH, Kim CH. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage in young adults: a gender comparison study. *J Clin Neurosci.* 2008;15(4):389-92.
65. Lai PMR, Jimenez M, Du R, Rexrode K. Association of Reproductive Life Span and Age at Menopause With the Risk of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurology.* 2022;98(20):e2005-e12.
66. Johnston SC, Colford JM, Jr., Gress DR. Oral contraceptives and the risk of subarachnoid hemorrhage: a meta-analysis. *Neurology.* 1998;51(2):411-8.
67. Xu Z, Yue Y, Bai J, Shen C, Yang J, Huang X, et al. Association between oral contraceptives and risk of hemorrhagic stroke: a meta-analysis of observational studies. *Arch Gynecol Obstet.* 2018;297(5):1181-91.
68. Matsuda S, Ikawa F, Hidaka T, Yamaguchi S, Inagawa T, Horie N, et al. Recent Declining Trend of Incidence Rate of Subarachnoid Hemorrhage in Shimane, Japan: The Japan Incidence of Subarachnoid Hemorrhage (JIS) Study. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2022;62(10):458-64.
69. Ohkuma H, Fujita S, Suzuki S. Incidence of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in Shimokita, Japan, from 1989 to 1998. *Stroke.* 2002;33(1):195-9.
70. Sarti C, Tuomilehto J, Salomaa V, Sivenius J, Kaarsalo E, Narva EV, et al. Epidemiology of subarachnoid hemorrhage in Finland from 1983 to 1985. *Stroke.* 1991;22(7):848-53.

71. Ikawa F, Morita A, Nakayama T, Goto Y, Sakai N, Iihara K, et al. A register-based SAH study in Japan: high incidence rate and recent decline trend based on lifestyle. *J Neurosurg.* 2020;134(3):983-91.
72. Ruigrok YM, Rinkel GJ, Wijmenga C. Genetics of intracranial aneurysms. *Lancet Neurol.* 2005;4(3):179-89.
73. Korja M, Lehto H, Juvela S, Kaprio J. Incidence of subarachnoid hemorrhage is decreasing together with decreasing smoking rates. *Neurology.* 2016;87(11):1118-23.
74. Backes D, Rinkel GJ, Algra A, Vaartjes I, Donker GA, Vergouwen MD. Increased incidence of subarachnoid hemorrhage during cold temperatures and influenza epidemics. *J Neurosurg.* 2016;125(3):737-45.
75. Rivera-Lara L, Kowalski RG, Schneider EB, Tamargo RJ, Nyquist P. Elevated relative risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage with colder weather in the mid-Atlantic region. *J Clin Neurosci.* 2015;22(10):1582-7.
76. Gill RS, Hambridge HL, Schneider EB, Hanff T, Tamargo RJ, Nyquist P. Falling temperature and colder weather are associated with an increased risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg.* 2013;79(1):136-42.
77. Lejeune JP, Vinchon M, Amouyel P, Escartin T, Escartin D, Christiaens JL. Association of occurrence of aneurysmal bleeding with meteorologic variations in the north of France. *Stroke.* 1994;25(2):338-41.
78. Patrice T, Rozec B, Desal H, Blanloeil Y. Oceanic Meteorological Conditions Influence Incidence of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2017;26(7):1573-81.
79. Graf CJ. Familial intracranial aneurysms. *J Neurosurg.* 1966;25(3):304-8.
80. Beumont PJ. The familial occurrence of berry aneurysm. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1968;31(4):399-402.
81. Schievink WI, Schaid DJ, Michels VV, Piepgras DG. Familial aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a community-based study. *J Neurosurg.* 1995;83(3):426-9.
82. Ronkainen A, Hernesniemi J, Ryyänänen M. Familial subarachnoid hemorrhage in east Finland, 1977-1990. *Neurosurgery.* 1993;33(5):787-96; discussion 96-97.
83. Bromberg JE, Rinkel GJ, Algra A, van Duyn CM, Greebe P, Ramos LM, et al. Familial subarachnoid hemorrhage: distinctive features and patterns of inheritance. *Ann Neurol.* 1995;38(6):929-34.
84. Bor AS, Rinkel GJ, Adami J, Koffijberg H, Ekbom A, Buskens E, et al. Risk of subarachnoid haemorrhage according to number of affected relatives: a population based case-control study. *Brain.* 2008;131(Pt 10):2662-5.
85. Foroud T, Koller DL, Lai D, Sauerbeck L, Anderson C, Ko N, et al. Genome-wide association study of intracranial aneurysms confirms role of Anril and SOX17 in disease risk. *Stroke.* 2012;43(11):2846-52.
86. Yasuno K, Bilguvar K, Bijlenga P, Low SK, Krischek B, Auburger G, et al. Genome-wide association study of intracranial aneurysm identifies three new risk loci. *Nat Genet.* 2010;42(5):420-5.
87. Theodotou CB, Snelling BM, Sur S, Haussen DC, Peterson EC, Elhammady MS. Genetic associations of intracranial aneurysm formation and sub-arachnoid hemorrhage. *Asian J Neurosurg.* 2017;12(3):374-81.
88. Gieteling EW, Rinkel GJ. Characteristics of intracranial aneurysms and subarachnoid haemorrhage in patients with polycystic kidney disease. *J Neurol.* 2003;250(4):418-23.
89. Pfohman M, Criddle LM. Epidemiology of intracranial aneurysm and subarachnoid hemorrhage. *J Neurosci Nurs.* 2001;33(1):39-41.
90. Kim JH, Kim JW, Song SW, Ahn SJ, Park M, Park SK, et al. Intracranial Aneurysms Are Associated With Marfan Syndrome: Single Cohort Retrospective Study in 118 Patients Using Brain Imaging. *Stroke.* 2021;52(1):331-4.
91. Tumialán LM, Dhall SS, Tomak PR, Barrow DL. Alagille syndrome and aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Case report and review of the literature. *Pediatr Neurosurg.* 2006;42(1):57-61.

92. Schlosser HG, Kerner T, Woiciechowsky C, Benndorf G. Multiple cerebral aneurysms and subarachnoid hemorrhage in a patient with Alagille syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2004;25(8):1366-7.
93. Yu Z, Zheng J, Guo R, Li M, Li H, Ma L, et al. The accuracy of aneurysm size in predicting rebleeding after subarachnoid hemorrhage: a meta-analysis. *Neurol Sci*. 2020;41(7):1843-50.
94. Wong GK, Teoh J, Chan EK, Ng SC, Poon WS. Intracranial aneurysm size responsible for spontaneous subarachnoid haemorrhage. *Br J Neurosurg*. 2013;27(1):34-9.
95. Morita A, Kirino T, Hashi K, Aoki N, Fukuhara S, Hashimoto N, et al. The natural course of unruptured cerebral aneurysms in a Japanese cohort. *N Engl J Med*. 2012;366(26):2474-82.
96. Waqas M, Chin F, Rajabzadeh-Oghaz H, Gong AD, Rai HH, Mokin M, et al. Size of ruptured intracranial aneurysms: a systematic review and meta-analysis. *Acta Neurochir (Wien)*. 2020;162(6):1353-62.
97. Grochowski C, Litak J, Kulesza B, Szmygin P, Ziemianek D, Kamieniak P, et al. Size and location correlations with higher rupture risk of intracranial aneurysms. *J Clin Neurosci*. 2018;48:181-4.
98. Wermer MJ, van der Schaaf IC, Algra A, Rinkel GJ. Risk of rupture of unruptured intracranial aneurysms in relation to patient and aneurysm characteristics: an updated meta-analysis. *Stroke*. 2007;38(4):1404-10.
99. Hoh BL, Siström CL, Firment CS, Fautheree GL, Velat GJ, Whiting JH, et al. Bottleneck factor and height-width ratio: association with ruptured aneurysms in patients with multiple cerebral aneurysms. *Neurosurgery*. 2007;61(4):716-22; discussion 22-3.
100. Li M, Jiang Z, Yu H, Hong T. Size ratio: a morphological factor predictive of the rupture of cerebral aneurysm? *Can J Neurol Sci*. 2013;40(3):366-71.
101. Elsharkawy A, Lehečka M, Niemelä M, Kivelev J, Billon-Grand R, Lehto H, et al. Anatomic risk factors for middle cerebral artery aneurysm rupture: computed tomography angiography study of 1009 consecutive patients. *Neurosurgery*. 2013;73(5):825-37; discussion 36-7.
102. Okamoto K, Horisawa R, Ohno Y. The relationships of gender, cigarette smoking, and hypertension with the risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a case-control study in Nagoya, Japan. *Ann Epidemiol*. 2005;15(10):744-8.
103. Andreasen TH, Bartek J, Jr., Andresen M, Springborg JB, Romner B. Modifiable risk factors for aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2013;44(12):3607-12.
104. Bonita R. Cigarette smoking, hypertension and the risk of subarachnoid hemorrhage: a population-based case-control study. *Stroke*. 1986;17(5):831-5.
105. Juvela S. Hypertension and aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Wien Klin Wochenschr*. 2002;114(8-9):285-6.
106. Zuurbier CCM, Bourcier R, Constant D, Beaufils P, Redon R, Desal H, Bor ASE, et al. Number of Affected Relatives, Age, Smoking, and Hypertension Prediction Score for Intracranial Aneurysms in Persons With a Family History for Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*. 2022;53(5):1645-50.
107. Can A, Castro VM, Ozdemir YH, Dagen S, Dligach D, Finan S, et al. Alcohol Consumption and Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Transl Stroke Res*. 2018;9(1):13-9.
108. Juvela S, Hillbom M, Numminen H, Koskinen P. Cigarette smoking and alcohol consumption as risk factors for aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1993;24(5):639-46.
109. Longstreth WT, Jr., Nelson LM, Koepsell TD, van Belle G. Cigarette smoking, alcohol use, and subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1992;23(9):1242-9.
110. Feigin VL, Rinkel GJ, Lawes CM, Algra A, Bennett DA, van Gijn J, et al. Risk factors for subarachnoid hemorrhage: an updated systematic review of epidemiological studies. *Stroke*. 2005;36(12):2773-80.
111. Bonita R, Thomson S. Subarachnoid hemorrhage: epidemiology, diagnosis, management, and outcome. *Stroke*. 1985;16(4):591-4.
112. Can A, Du R. Association of Hemodynamic Factors With Intracranial Aneurysm Formation and Rupture: Systematic Review and Meta-analysis. *Neurosurgery*. 2016;78(4):510-20.
113. Etminan N, Rinkel GJ. Unruptured intracranial aneurysms: development, rupture and preventive management. *Nat Rev Neurol*. 2016;12(12):699-713.

114. Karhunen V, Bakker MK, Ruigrok YM, Gill D, Larsson SC. Modifiable Risk Factors for Intracranial Aneurysm and Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Mendelian Randomization Study. *J Am Heart Assoc.* 2021;10(22):e022277.
115. Kamio Y, Miyamoto T, Kimura T, Mitsui K, Furukawa H, Zhang D, et al. Roles of Nicotine in the Development of Intracranial Aneurysm Rupture. *Stroke.* 2018;49(10):2445-52.
116. Messner B, Bernhard D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(3):509-15.
117. Simpson RK, Jr., Contant CF, Fischer DK, Cech DA, Robertson CS, Narayan RK. The influence of diabetes mellitus on outcome from subarachnoid hemorrhage. *Diabetes Res.* 1991;16(4):165-9.
118. Adams HP, Jr., Putman SF, Kassell NF, Torner JC. Prevalence of diabetes mellitus among patients with subarachnoid hemorrhage. *Arch Neurol.* 1984;41(10):1033-5.
119. Yao XY, Jiang CQ, Jia GL, Chen G. Diabetes mellitus and the risk of aneurysmal subarachnoid haemorrhage: A systematic review and meta-analysis of current evidence. *J Int Med Res.* 2016;44(6):1141-55.
120. Kim JH, Jeon J, Kim J. Lower risk of subarachnoid haemorrhage in diabetes: a nationwide population-based cohort study. *Stroke Vasc Neurol.* 2021;6(3):402-9.
121. Grossen AA, Shi HH, O'Neal CM, Bauer AM. Impact of Obesity and Diabetes on Postoperative Outcomes Following Surgical Treatment of Nontraumatic Subarachnoid Hemorrhage: Analysis of the ACS-NSQIP Database. *World Neurosurg.* 2022;163:e290-e300.
122. Korja M, Thorn LM, Hägg S, Putaala J, Liebkind R, Harjutsalo V, et al. Subarachnoid hemorrhage in type 1 diabetes: a prospective cohort study of 4,083 patients with diabetes. *Diabetes Care.* 2013;36(11):3754-8.
123. Darsaut JMFaTE. Medical Management of Cerebral Vasospasm. In: MD HRW, editor. *Youmans and Winn Neurological Surgery.* 7 ed: Elsevier; 2022.
124. Mangla R, Drumsta D, Alamst J, Mangla M, Potchen M. Cerebral convexity subarachnoid hemorrhage: various causes and role of diagnostic imaging. *Emerg Radiol.* 2015;22(2):181-95.
125. Steiner T, Juvela S, Unterberg A, Jung C, Forsting M, Rinkel G. European Stroke Organization guidelines for the management of intracranial aneurysms and subarachnoid haemorrhage. *Cerebrovasc Dis.* 2013;35(2):93-112.
126. Korja M, Kivisaari R, Rezai Jahromi B, Lehto H. Natural History of Ruptured but Untreated Intracranial Aneurysms. *Stroke.* 2017;48(4):1081-4.
127. Chan V, Lindsay P, McQuiggan J, Zagorski B, Hill MD, O'Kelly C. Declining Admission and Mortality Rates for Subarachnoid Hemorrhage in Canada Between 2004 and 2015. *Stroke.* 2019;50(1):181-4.
128. Waweru P, Gatimu SM. Mortality and functional outcomes after a spontaneous subarachnoid haemorrhage: A retrospective multicentre cross-sectional study in Kenya. *PLoS One.* 2019;14(6):e0217832.
129. Pobereskin LH. Incidence and outcome of subarachnoid haemorrhage: a retrospective population based study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2001;70(3):340-3.
130. Lantigua H, Ortega-Gutierrez S, Schmidt JM, Lee K, Badjatia N, Agarwal S, et al. Subarachnoid hemorrhage: who dies, and why? *Crit Care.* 2015;19(1):309.
131. Huang J, van Gelder JM. The probability of sudden death from rupture of intracranial aneurysms: a meta-analysis. *Neurosurgery.* 2002;51(5):1101-5; discussion 5-7.
132. Lemkull BP DJ, Patel PM, et al. . Anesthesia for neurologic surgery and neurointerventions. In: Gropper MA MR, editor. *Miller's Anesthesia.* 9 ed. Philadelphia: Elsevier; 2020. p. 1868–910.
133. Hoh BL, Ko NU, Amin-Hanjani S, Chou S-Y, Cruz-Flores S, Dangayach NS, et al. 2023 Guideline for the Management of Patients With Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Guideline From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2023;54(7):e314-e70.
134. De Marchis GM, Lantigua H, Schmidt JM, Lord AS, Velander AJ, Fernandez A, et al. Impact of premonitory hypertension on haemorrhage severity and aneurysm rebleeding risk after subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2014;85(1):56-9.

135. Winn HR, Richardson AE, Jane JA. The long-term prognosis in untreated cerebral aneurysms: I. The incidence of late hemorrhage in cerebral aneurysm: a 10-year evaluation of 364 patients. *Ann Neurol.* 1977;1(4):358-70.
136. Ohkuma H, Tsurutani H, Suzuki S. Incidence and significance of early aneurysmal rebleeding before neurosurgical or neurological management. *Stroke.* 2001;32(5):1176-80.
137. Kienzler J, Marbacher S, Remonda L, Soleman J, Ai Schlaeppli J, Leupold U, et al. Outcome after In-Hospital Rebleeding of Rupture of Intracranial Aneurysms. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg.* 2016;77(3):207-21.
138. Guo LM, Zhou HY, Xu JW, Wang Y, Qiu YM, Jiang JY. Risk factors related to aneurysmal rebleeding. *World Neurosurg.* 2011;76(3-4):292-8; discussion 53-4.
139. Tang C, Zhang TS, Zhou LF. Risk factors for rebleeding of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9(6):e99536.
140. Kimon Bekelis BKR, Imad Saeed Khan, Robert J. Singer, and Perry A. Ball. Principles of Neurocritical Care. In: WINN HR, editor. *YOUMANS AND WINN NEUROLOGICAL SURGERY.* 7 ed: elsevier. p. 227.
141. Varelas P, Helms A, Sinson G, Spanaki M, Hacein-Bey L. Clipping or coiling of ruptured cerebral aneurysms and shunt-dependent hydrocephalus. *Neurocrit Care.* 2006;4(3):223-8.
142. Ruijs AC, Dirven CM, Algra A, Beijer I, Vandertop WP, Rinkel G. The risk of rebleeding after external lumbar drainage in patients with untreated ruptured cerebral aneurysms. *Acta Neurochir (Wien).* 2005;147(11):1157-61; discussion 61-2.
143. Hellingman CA, van den Bergh WM, Beijer IS, van Dijk GW, Algra A, van Gijn J, et al. Risk of rebleeding after treatment of acute hydrocephalus in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2007;38(1):96-9.
144. Macdonald JSaRL. Perioperative Management of Subarachnoid Hemorrhage. In: MD HRW, editor. *Youmans and Winn Neurological Surgery.* 7 ed: elsevier; 2022.
145. Hart RG, Byer JA, Slaughter JR, Hewett JE, Easton JD. Occurrence and implications of seizures in subarachnoid hemorrhage due to ruptured intracranial aneurysms. *Neurosurgery.* 1981;8(4):417-21.
146. Claassen J, Mayer SA, Kowalski RG, Emerson RG, Hirsch LJ. Detection of electrographic seizures with continuous EEG monitoring in critically ill patients. *Neurology.* 2004;62(10):1743-8.
147. Butzkueven H, Evans AH, Pitman A, Leopold C, Jolley DJ, Kaye AH, et al. Onset seizures independently predict poor outcome after subarachnoid hemorrhage. *Neurology.* 2000;55(9):1315-20.
148. Claassen J, Albers D, Schmidt JM, De Marchis GM, Pugin D, Falo CM, et al. Nonconvulsive seizures in subarachnoid hemorrhage link inflammation and outcome. *Ann Neurol.* 2014;75(5):771-81.
149. Francoeur CL, Mayer SA. Management of delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. *Crit Care.* 2016;20(1):277.
150. Mistry AM, Mistry EA, Ganesh Kumar N, Froehler MT, Fusco MR, Chitale RV. Corticosteroids in the Management of Hyponatremia, Hypovolemia, and Vasospasm in Subarachnoid Hemorrhage: A Meta-Analysis. *Cerebrovasc Dis.* 2016;42(3-4):263-71.
151. Rumalla K, Lin M, Ding L, Gaddis M, Giannotta SL, Attenello FJ, et al. Risk Factors for Cerebral Vasospasm in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Population-Based Study of 8346 Patients. *World Neurosurg.* 2021;145:e233-e41.
152. Wu CT, Wong CS, Yeh CC, Borel CO. Treatment of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage--a review. *Acta Anaesthesiol Taiwan.* 2004;42(4):215-22.
153. Aleksandrowicz M, Kozniowska E. Hyponatremia as a risk factor for microvascular spasm following subarachnoid hemorrhage. *Exp Neurol.* 2022;355:114126.
154. Kieninger M, Kersch C, Bründl E, Bele S, Proescholdt M, Zeman F, et al. Acute hyponatremia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: Frequency, treatment, and outcome. *J Clin Neurosci.* 2021;88:237-42.

155. Lakhal K, Hivert A, Alexandre PL, Fresco M, Robert-Edan V, Rodie-Talbere PA, et al. Intravenous Milrinone for Cerebral Vasospasm in Subarachnoid Hemorrhage: The MILRISPASM Controlled Before-After Study. *Neurocrit Care*. 2021;35(3):669-79.
156. Segatore M. Hyponatremia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosci Nurs*. 1993;25(2):92-9.
157. Diringer M, Ladenson PW, Stern BJ, Schleimer J, Hanley DF. Plasma atrial natriuretic factor and subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1988;19(9):1119-24.
158. Nakagawa I, Kurokawa S, Nakase H. Hyponatremia is predictable in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage--clinical significance of serum atrial natriuretic peptide. *Acta Neurochir (Wien)*. 2010;152(12):2147-52.
159. Wijndicks EF, Ropper AH, Hunnicutt EJ, Richardson GS, Nathanson JA. Atrial natriuretic factor and salt wasting after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1991;22(12):1519-24.
160. Di Pasquale G, Pinelli G, Andreoli A, Manini G, Grazi P, Tognetti F. Holter detection of cardiac arrhythmias in intracranial subarachnoid hemorrhage. *Am J Cardiol*. 1987;59(6):596-600.
161. Sakr YL, Ghosn I, Vincent JL. Cardiac manifestations after subarachnoid hemorrhage: a systematic review of the literature. *Prog Cardiovasc Dis*. 2002;45(1):67-80.
162. Yüceci S, Kaya H, Kafadar S, Kafadar H, Tibilli H, Akcay A. Evaluation of index of cardiac-electrophysiological balance in patients with subarachnoid hemorrhage. *BMC Cardiovasc Disord*. 2022;22(1):477.
163. Urbaniak K, Merchant AI, Amin-Hanjani S, Roitberg B. Cardiac complications after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol*. 2007;67(1):21-8; discussion 8-9.
164. Wu B, Wang X, Zhang JH. Cardiac damage after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;110(Pt 1):215-8.
165. Wagner S, Gütth T, Bhogal P, Cimpoca A, Ganslandt O, Bärner H, et al. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage as a trigger for Takotsubo syndrome: a comprehensive review. *Rev Cardiovasc Med*. 2021;22(4):1241-51.
166. Zhang L, Zhang B, Qi S. Impact of echocardiographic wall motion abnormality and cardiac biomarker elevation on outcome after subarachnoid hemorrhage: a meta-analysis. *Neurosurg Rev*. 2020;43(1):59-68.
167. Cremers CH, van der Bilt IA, van der Schaaf IC, Vergouwen MD, Dankbaar JW, Cramer MJ, et al. Relationship Between Cardiac Dysfunction and Cerebral Perfusion in Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2016;24(2):202-6.
168. Schillinger M. Brain natriuretic peptide and early cardiac dysfunction after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2005;36(7):1570-1.
169. Wang C, Wang B, Liu S, Lu GD, Shi HB. Elevated N-terminal pro-brain-type natriuretic peptide at admission is associated with unfavorable outcomes after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Clin Neurosci*. 2022;106:14-9.
170. Friedman JA, Pichelmann MA, Piegras DG, McIver JJ, Toussaint LG, 3rd, McClelland RL, et al. Pulmonary complications of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2003;52(5):1025-31; discussion 31-2.
171. Schuiling WJ, Dennesen PJ, Rinkel GJ. Extracerebral organ dysfunction in the acute stage after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2005;3(1):1-10.
172. Wu MR, Chen YT, Li ZX, Gu HQ, Yang KX, Xiong YY, et al. Dysphagia screening and pneumonia after subarachnoid hemorrhage: Findings from the Chinese stroke center alliance. *CNS Neurosci Ther*. 2022;28(6):913-21.
173. Wang R, Zhang J, He M, Xu J. A novel risk score for predicting hospital acquired pneumonia in aneurysmal subarachnoid hemorrhage patients. *Int Immunopharmacol*. 2022;108:108845.
174. Meng N, Ye Z, Liu Y, Qin C, Su Y. Impact of the 'weekend effect' on hospital-acquired pneumonia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Postgrad Med*. 2021;133(8):974-8.
175. Lozada-Martínez ID, Rodríguez-Gutiérrez MM, Ospina-Ríos J, Ortega-Sierra MG, González-Herazo MA, Ortiz-Roncallo LM, et al. Neurogenic pulmonary edema in subarachnoid hemorrhage: relevant clinical concepts. *Egypt J Neurosurg*. 2021;36(1):27.

176. Nastasovic T, Lazic I, Stosic M, Ilic R, Brzanov AG. Neurogenic pulmonary edema in aneurysmal subarachnoid hemorrhage - what is next? *Neurosurg Rev.* 2023;46(1):203.
177. Saracen A, Kotwica Z, Woźniak-Kosek A, Kasprzak P. Neurogenic Pulmonary Edema in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Adv Exp Med Biol.* 2016;952:35-9.
178. Guo L, Yang X, Yang B, Tang G, Li C. Prevalence, in-hospital mortality, and factors related to neurogenic pulmonary edema after spontaneous subarachnoid hemorrhage: a systematic review and meta-analysis. *Neurosurg Rev.* 2023;46(1):169.
179. Kimura T, Kamide T, Onodera K, Tabata S, Shibata A, Suzuki K, et al. Clinical Features of Neurogenic Pulmonary Edema in Patients with Subarachnoid Hemorrhage. *World Neurosurg.* 2020;135:e505-e9.
180. Wu J, Gao W, Zhang H. Development of acute lung injury or acute respiratory distress syndrome after subarachnoid hemorrhage, predictive factors, and impact on prognosis. *Acta Neurol Belg.* 2023;123(4):1331-7.
181. Serrone JC, Wash EM, Hartings JA, Andaluz N, Zuccarello M. Venous thromboembolism in subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg.* 2013;80(6):859-63.
182. Phan B, Fagaragan L, Alaraj A, Kim KS. Multidisciplinary Bundle Approach in Venous Thromboembolism Prophylaxis in Patients with Non-Traumatic Subarachnoid Hemorrhage. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2022;28:10760296221074682.
183. Pan J, Bonow RH, Temkin N, Robinson EF, Sekhar LN, Levitt MR, et al. Incidence and Risk Model of Venous Thromboembolism in Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *World Neurosurg.* 2023;172:e418-e27.
184. Kshetry VR, Rosenbaum BP, Seicean A, Kelly ML, Schiltz NK, Weil RJ. Incidence and risk factors associated with in-hospital venous thromboembolism after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Clin Neurosci.* 2014;21(2):282-6.
185. Ray WZ, Strom RG, Blackburn SL, Ashley WW, Sicard GA, Rich KM. Incidence of deep venous thrombosis after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2009;110(5):1010-4.
186. Kilgore CB, Nair SK, Ran KR, Caplan JM, Jackson CM, Gonzalez LF, et al. Venous thromboembolism in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: Risk factors and timing of chemoprophylaxis. *Clin Neurol Neurosurg.* 2023;231:107822.
187. Cahill J, Zhang JH. Subarachnoid hemorrhage: is it time for a new direction? *Stroke.* 2009;40(3 Suppl):S86-7.
188. Lauzier DC, Jayaraman K, Yuan JY, Diwan D, Vellimana AK, Osbun JW, et al. Early Brain Injury After Subarachnoid Hemorrhage: Incidence and Mechanisms. *Stroke.* 2023;54(5):1426-40.
189. Alsbrook DL, Di Napoli M, Bhatia K, Desai M, Hinduja A, Rubinos CA, et al. Pathophysiology of Early Brain Injury and Its Association with Delayed Cerebral Ischemia in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Review of Current Literature. *J Clin Med.* 2023;12(3).
190. Mijiti M, Mijiti P, Axier A, Amuti M, Guohua Z, Xiaojiang C, et al. Incidence and Predictors of Angiographic Vasospasm, Symptomatic Vasospasm and Cerebral Infarction in Chinese Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *PLoS One.* 2016;11(12):e0168657.
191. Gonzalez NR, Boscardin WJ, Glenn T, Vinuela F, Martin NA. Vasospasm probability index: a combination of transcranial doppler velocities, cerebral blood flow, and clinical risk factors to predict cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2007;107(6):1101-12.
192. Dorsch NW, King MT. A review of cerebral vasospasm in aneurysmal subarachnoid haemorrhage Part I: Incidence and effects. *J Clin Neurosci.* 1994;1(1):19-26.
193. Al-Mufti F, Roh D, Lahiri S, Meyers E, Witsch J, Frey HP, et al. Ultra-early angiographic vasospasm associated with delayed cerebral ischemia and infarction following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2017;126(5):1545-51.
194. Biller J, Godersky JC, Adams HP, Jr. Management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 1988;19(10):1300-5.
195. Whitmore RG, Grant RA, LeRoux P, El-Falaki O, Stein SC. How large is the typical subarachnoid hemorrhage? A review of current neurosurgical knowledge. *World Neurosurg.* 2012;77(5-6):686-97.
196. Hunt WE, Hess RM. Surgical risk as related to time of intervention in the repair of intracranial aneurysms. *J Neurosurg.* 1968;28(1):14-20.

197. Report of World Federation of Neurological Surgeons Committee on a Universal Subarachnoid Hemorrhage Grading Scale. *J Neurosurg.* 1988;68(6):985-6.
198. Frontera JA, Claassen J, Schmidt JM, Wartenberg KE, Temes R, Connolly ES, Jr., et al. Prediction of symptomatic vasospasm after subarachnoid hemorrhage: the modified fisher scale. *Neurosurgery.* 2006;59(1):21-7; discussion -7.
199. Sehba FA, Bederson JB. Nitric oxide in early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl.* 2011;110(Pt 1):99-103.
200. Crobeddu E, Piloni G, Tardivo V, Fontanella MM, Panciani PP, Spena G, et al. Role of nitric oxide and mechanisms involved in cerebral injury after subarachnoid hemorrhage: is nitric oxide a possible answer to cerebral vasospasm? *J Neurosurg Sci.* 2016;60(3):385-91.
201. Pluta RM, Afshar JK, Thompson BG, Boock RJ, Harvey-White J, Oldfield EH. Increased cerebral blood flow but no reversal or prevention of vasospasm in response to L-arginine infusion after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2000;92(1):121-6.
202. Macdonald RL, Pluta RM, Zhang JH. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: the emerging revolution. *Nat Clin Pract Neurol.* 2007;3(5):256-63.
203. Fathi AR, Bakhtian KD, Pluta RM. The role of nitric oxide donors in treating cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl.* 2011;110(Pt 1):93-7.
204. Guo ZN, Shao A, Tong LS, Sun W, Liu J, Yang Y. The Role of Nitric Oxide and Sympathetic Control in Cerebral Autoregulation in the Setting of Subarachnoid Hemorrhage and Traumatic Brain Injury. *Mol Neurobiol.* 2016;53(6):3606-15.
205. Kolár M, Nohejlová K. [The role of nitric oxide and NO-synthase in the pathogenesis of cerebral damage after subarachnoid hemorrhage; laboratory models of subarachnoid hemorrhage]. *Cesk Fysiol.* 2014;63(1):34-41.
206. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* 1988;332(6163):411-5.
207. Yamaji T, Johshita H, Ishibashi M, Takaku F, Ohno H, Suzuki N, et al. Endothelin family in human plasma and cerebrospinal fluid. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71(6):1611-5.
208. Zimmermann M, Seifert V. Endothelin and subarachnoid hemorrhage: an overview. *Neurosurgery.* 1998;43(4):863-75; discussion 75-6.
209. Bellapart J, Jones L, Bandeshe H, Boots R. Plasma endothelin-1 as screening marker for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care.* 2014;20(1):77-83.
210. Higashida RT, Bruder N, Gupta R, Guzman R, Hmissi A, Marr A, et al. Reversal of Vasospasm with Clazosentan After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Pilot Study. *World Neurosurg.* 2019;128:e639-e48.
211. Endo H, Hagihara Y, Kimura N, Takizawa K, Niizuma K, Togo O, et al. Effects of clazosentan on cerebral vasospasm-related morbidity and all-cause mortality after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: two randomized phase 3 trials in Japanese patients. *J Neurosurg.* 2022;137(6):1707-17.
212. Guo J, Shi Z, Yang K, Tian JH, Jiang L. Endothelin receptor antagonists for subarachnoid hemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012(9):Cd008354.
213. Wanebo JE, Arthur AS, Louis HG, West K, Kassell NF, Lee KS, et al. Systemic administration of the endothelin-A receptor antagonist TBC 11251 attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage: dose study and review of endothelin-based therapies in the literature on cerebral vasospasm. *Neurosurgery.* 1998;43(6):1409-17; discussion 17-8.
214. Ardelt A. From bench-to-bedside in catastrophic cerebrovascular disease: development of drugs targeting the endothelin axis in subarachnoid hemorrhage-related vasospasm. *Neurol Res.* 2012;34(2):195-210.
215. Lin CL, Winardi W, Jeng AY, Kwan AL. Endothelin-converting enzyme inhibitors for the treatment of subarachnoid hemorrhage-induced vasospasm. *Neurol Res.* 2006;28(7):721-9.
216. Joško J, Hendryk S, Jedrzejowska-Szypułka H, Słowiński J, Gwóźdź B, Lange D, et al. Reactivity of cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage in rats after phosphoramidon administered. *Med Sci Monit.* 2000;6(5):976-80.

217. Cosentino F, McMahon EG, Carter JS, Katusić ZS. Effect of endothelinA-receptor antagonist BQ-123 and phosphoramidon on cerebral vasospasm. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1993;22 Suppl 8:S332-5.
218. Matsumura Y, Ikegawa R, Suzuki Y, Takaoka M, Uchida T, Kido H, et al. Phosphoramidon prevents cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage in dogs: the relationship to endothelin-1 levels in the cerebrospinal fluid. *Life Sci.* 1991;49(11):841-8.
219. Lin CL, Jeng AY, Howng SL, Kwan AL. Endothelin and subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm: pathogenesis and treatment. *Curr Med Chem.* 2004;11(13):1779-91.
220. Bellapart J, Nasrallah F, Winearls J, Lassig-Smith M, Stuart J, Boots R, et al. Diagnostic Sensitivity of Plasma Endothelin-1 for Cerebral Vasospasm After Subarachnoid Hemorrhage, a Multicentre Double-Blind Study. *J Intensive Care Med.* 2022;37(6):769-75.
221. Vergouwen MD, Algra A, Rinkel GJ. Endothelin receptor antagonists for aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review and meta-analysis update. *Stroke.* 2012;43(10):2671-6.
222. Chandel NS, Simon MC. Hypoxia-inducible factor: roles in development, physiology, and disease. *Cell Death Differ.* 2008;15(4):619-20.
223. Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol.* 2006;70(5):1469-80.
224. Wang Z, Meng CJ, Shen XM, Shu Z, Ma C, Zhu GQ, et al. Potential contribution of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , aquaporin-4, and matrix metalloproteinase-9 to blood-brain barrier disruption and brain edema after experimental subarachnoid hemorrhage. *J Mol Neurosci.* 2012;48(1):273-80.
225. Hu Q, Wu C, Chen JY, Yan F, Li JR, Chen G. [The relationship between hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression and apoptosis in early brain injury after subarachnoid hemorrhage]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2014;43(1):58-65.
226. Xu W, Xu R, Li X, Zhang H, Wang X, Zhu J. Downregulating hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression with perfluorooctyl-bromide nanoparticles reduces early brain injury following experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Am J Transl Res.* 2016;8(5):2114-26.
227. Peng Z, Li XJ, Pang C, Zhang JT, Zhu Q, Sun JQ, et al. Hydrogen inhalation therapy regulates lactic acid metabolism following subarachnoid hemorrhage through the HIF-1 $\alpha$  pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2023;663:192-201.
228. Xu Z, Zhang F, Xu H, Yang F, Zhou G, Tong M, et al. Melatonin affects hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  and ameliorates delayed brain injury following subarachnoid hemorrhage via H19/miR-675/HIF1A/TLR4. *Bioengineered.* 2022;13(2):4235-47.
229. Wu C, Hu Q, Chen J, Yan F, Li J, Wang L, et al. Inhibiting HIF-1 $\alpha$  by 2ME2 ameliorates early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;437(3):469-74.
230. Yan J, Chen C, Lei J, Yang L, Wang K, Liu J, et al. 2-methoxyestradiol reduces cerebral vasospasm after 48 hours of experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Exp Neurol.* 2006;202(2):348-56.
231. Khey KMW, Huard A, Mahmoud SH. Inflammatory Pathways Following Subarachnoid Hemorrhage. *Cell Mol Neurobiol.* 2020;40(5):675-93.
232. Miller BA, Turan N, Chau M, Pradilla G. Inflammation, vasospasm, and brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Biomed Res Int.* 2014;2014:384342.
233. Provencio JJ. Inflammation in subarachnoid hemorrhage and delayed deterioration associated with vasospasm: a review. *Acta Neurochir Suppl.* 2013;115:233-8.
234. Pradilla G, Chaichana KL, Hoang S, Huang J, Tamargo RJ. Inflammation and cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg Clin N Am.* 2010;21(2):365-79.
235. Chaichana KL, Pradilla G, Huang J, Tamargo RJ. Role of inflammation (leukocyte-endothelial cell interactions) in vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg.* 2010;73(1):22-41.
236. Jin J, Duan J, Du L, Xing W, Peng X, Zhao Q. Inflammation and immune cell abnormalities in intracranial aneurysm subarachnoid hemorrhage (SAH): Relevant signaling pathways and therapeutic strategies. *Front Immunol.* 2022;13:1027756.

237. Heinz R, Brandenburg S, Nieminen-Kelhä M, Kremenetskaia I, Boehm-Sturm P, Vajkoczy P, et al. Microglia as target for anti-inflammatory approaches to prevent secondary brain injury after subarachnoid hemorrhage (SAH). *J Neuroinflammation*. 2021;18(1):36.
238. Yao Y, Tsirka SE. Monocyte chemoattractant protein-1 and the blood-brain barrier. *Cell Mol Life Sci*. 2014;71(4):683-97.
239. Thibeault I, Laflamme N, Rivest S. Regulation of the gene encoding the monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in the mouse and rat brain in response to circulating LPS and proinflammatory cytokines. *J Comp Neurol*. 2001;434(4):461-77.
240. Kim GH, Kellner CP, Hahn DK, Desantis BM, Musabbir M, Starke RM, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 predicts outcome and vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2008;109(1):38-43.
241. Rahmanian A, Mohebbi N, Haghnegahdar A, Kamali Sarvestani E, Razmkon A, Kivelev J, et al. Serum Levels of Monocyte Chemoattractant Protein-1 Correlate with Poor Clinical Grades in Cerebral Aneurysms. *Iran J Immunol*. 2015;12(4):302-10.
242. Lad SP, Hegen H, Gupta G, Deisenhammer F, Steinberg GK. Proteomic biomarker discovery in cerebrospinal fluid for cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2012;21(1):30-41.
243. Lu H, Shi JX, Chen HL, Hang CH, Wang HD, Yin HX. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in the cerebral artery after experimental subarachnoid hemorrhage. *Brain Res*. 2009;1262:73-80.
244. Lucke-Wold B, Hosaka K, Dodd W, Motwani K, Laurent D, Martinez M, et al. Interleukin-6: Important Mediator of Vasospasm Following Subarachnoid Hemorrhage. *Curr Neurovasc Res*. 2021;18(3):364-9.
245. Simon M, Grote A. Interleukin 6 and Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. A Narrative Review. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8).
246. Ni W, Gu YX, Song DL, Leng B, Li PL, Mao Y. The relationship between IL-6 in CSF and occurrence of vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;110(Pt 1):203-8.
247. Croci D, Nevzati E, Danura H, Schöpf S, Fandino J, Marbacher S, et al. The relationship between IL-6, ET-1 and cerebral vasospasm, in experimental rabbit subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg Sci*. 2019;63(3):245-50.
248. Wu W, Guan Y, Zhao G, Fu XJ, Guo TZ, Liu YT, et al. Elevated IL-6 and TNF- $\alpha$  Levels in Cerebrospinal Fluid of Subarachnoid Hemorrhage Patients. *Mol Neurobiol*. 2016;53(5):3277-85.
249. Chaudhry SR, Stoffel-Wagner B, Kiefe TM, Güresir E, Vatter H, Dietrich D, et al. Elevated Systemic IL-6 Levels in Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage Is an Unspecific Marker for Post-SAH Complications. *Int J Mol Sci*. 2017;18(12).
250. Wang L, Gao Z. Expression of MMP-9 and IL-6 in patients with subarachnoid hemorrhage and the clinical significance. *Exp Ther Med*. 2018;15(2):1510-4.
251. Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1(6):a001651.
252. Pawlowska E, Szczepanska J, Wisniewski K, Tokarz P, Jaskólski DJ, Blasiak J. NF- $\kappa$ B-Mediated Inflammation in the Pathogenesis of Intracranial Aneurysm and Subarachnoid Hemorrhage. Does Autophagy Play a Role? *Int J Mol Sci*. 2018;19(4).
253. Ji C, Chen G. Signaling Pathway in Early Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage: News Update. *Acta Neurochir Suppl*. 2016;121:123-6.
254. Khan D, Cornelius JF, Muhammad S. The Role of NF- $\kappa$ B in Intracranial Aneurysm Pathogenesis: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2023;24(18).
255. You WC, Li W, Zhuang Z, Tang Y, Lu HC, Ji XJ, et al. Biphasic activation of nuclear factor-kappa B in experimental models of subarachnoid hemorrhage in vivo and in vitro. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:786242.
256. Zhou ML, Shi JX, Hang CH, Cheng HL, Qi XP, Mao L, et al. Potential contribution of nuclear factor-kappaB to cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27(9):1583-92.

257. Xia DY, Zhang HS, Wu LY, Zhang XS, Zhou ML, Hang CH. Pentoxifylline Alleviates Early Brain Injury After Experimental Subarachnoid Hemorrhage in Rats: Possibly via Inhibiting TLR 4/NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Neurochem Res.* 2017;42(4):963-74.
258. Qiu J, Guo L, Li W, Wang L, Tong L. Ghrelin inhibits early brain injury due to subarachnoid hemorrhage via the Tim-3-mediated HMGB1/NF- $\kappa$ B pathway. *J Chem Neuroanat.* 2022;124:102138.
259. Hao G, Dong Y, Huo R, Wen K, Zhang Y, Liang G. Rutin Inhibits Neuroinflammation and Provides Neuroprotection in an Experimental Rat Model of Subarachnoid Hemorrhage, Possibly Through Suppressing the RAGE-NF- $\kappa$ B Inflammatory Signaling Pathway. *Neurochem Res.* 2016;41(6):1496-504.
260. Hao G, Eser P, Mo J. Oxidative Stress and Intracranial Hypertension after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(12).
261. Wu F, Liu Z, Li G, Zhou L, Huang K, Wu Z, et al. Inflammation and Oxidative Stress: Potential Targets for Improving Prognosis After Subarachnoid Hemorrhage. *Front Cell Neurosci.* 2021;15:739506.
262. Gaetani P, Pasqualin A, Rodriguez y Baena R, Borasio E, Marzatico F. Oxidative stress in the human brain after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1998;89(5):748-54.
263. Kaynar MY, Tanriverdi T, Kemerdere R, Atukeren P, Gumustas K. Cerebrospinal fluid superoxide dismutase and serum malondialdehyde levels in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: preliminary results. *Neurol Res.* 2005;27(5):562-7.
264. Ayer RE, Zhang JH. Oxidative stress in subarachnoid haemorrhage: significance in acute brain injury and vasospasm. *Acta Neurochir Suppl.* 2008;104:33-41.
265. Gaetani P, Lombardi D. Brain damage following subarachnoid hemorrhage: the imbalance between anti-oxidant systems and lipid peroxidative processes. *J Neurosurg Sci.* 1992;36(1):1-10.
266. Yang Y, Chen S, Zhang JM. The Updated Role of Oxidative Stress in Subarachnoid Hemorrhage. *Curr Drug Deliv.* 2017;14(6):832-42.
267. Chrissobolis S, Miller AA, Drummond GR, Kemp-Harper BK, Sobey CG. Oxidative stress and endothelial dysfunction in cerebrovascular disease. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2011;16(5):1733-45.
268. Mori T, Nagata K, Town T, Tan J, Matsui T, Asano T. Intracisternal increase of superoxide anion production in a canine subarachnoid hemorrhage model. *Stroke.* 2001;32(3):636-42.
269. Shishido T, Suzuki R, Qian L, Hirakawa K. The role of superoxide anions in the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke.* 1994;25(4):864-8.
270. Gaetani P, Cafe C, Rodriguez y Baena R, Tancioni F, Torri C, Tartara F, et al. Superoxide dismutase activity in cisternal cerebrospinal fluid after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien).* 1997;139(11):1033-7.
271. Lu H, Zhang DM, Chen HL, Lin YX, Hang CH, Yin HX, et al. N-acetylcysteine suppresses oxidative stress in experimental rats with subarachnoid hemorrhage. *J Clin Neurosci.* 2009;16(5):684-8.
272. Ostrowski RP, Tang J, Zhang JH. Hyperbaric oxygen suppresses NADPH oxidase in a rat subarachnoid hemorrhage model. *Stroke.* 2006;37(5):1314-8.
273. Ostrowski RP, Colohan AR, Zhang JH. Neuroprotective effect of hyperbaric oxygen in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl.* 2006;96:188-93.
274. Kim DE, Suh YS, Lee MS, Kim KY, Lee JH, Lee HS, et al. Vascular NAD(P)H oxidase triggers delayed cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke.* 2002;33(11):2687-91.
275. Zhao Y, Luo Y, Liu Y, Lenahan C, Wu Q, Chen S. The role of autophagy and apoptosis in early brain injury after subarachnoid hemorrhage: an updated review. *Mol Biol Rep.* 2022;49(11):10775-82.
276. Zhang Z, Zhang A, Liu Y, Hu X, Fang Y, Wang X, et al. New Mechanisms and Targets of Subarachnoid Hemorrhage: A Focus on Mitochondria. *Curr Neuropharmacol.* 2022;20(7):1278-96.
277. Tian Q, Liu S, Han SM, Zhang W, Qin XY, Chen JH, et al. The mechanism and relevant mediators associated with neuronal apoptosis and potential therapeutic targets in subarachnoid hemorrhage. *Neural Regen Res.* 2023;18(2):244-52.
278. Nau R, Haase S, Bunkowski S, Brück W. Neuronal apoptosis in the dentate gyrus in humans with subarachnoid hemorrhage and cerebral hypoxia. *Brain Pathol.* 2002;12(3):329-36.

279. Sabri M, Kawashima A, Ai J, Macdonald RL. Neuronal and astrocytic apoptosis after subarachnoid hemorrhage: a possible cause for poor prognosis. *Brain Res.* 2008;1238:163-71.
280. Gules I, Satoh M, Nanda A, Zhang JH. Apoptosis, blood-brain barrier, and subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl.* 2003;86:483-7.
281. Cahill J, Calvert JW, Solaroglu I, Zhang JH. Vasospasm and p53-induced apoptosis in an experimental model of subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2006;37(7):1868-74.
282. Zhou C, Yamaguchi M, Colohan AR, Zhang JH. Role of p53 and apoptosis in cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2005;25(5):572-82.
283. Liu Y, Zhang T, Wang Y, Wu P, Li Y, Wang C, et al. Apelin-13 attenuates early brain injury following subarachnoid hemorrhage via suppressing neuronal apoptosis through the GLP-1R/PI3K/Akt signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;513(1):105-11.
284. Shao A, Wang Z, Wu H, Dong X, Li Y, Tu S, et al. Enhancement of Autophagy by Histone Deacetylase Inhibitor Trichostatin A Ameliorates Neuronal Apoptosis After Subarachnoid Hemorrhage in Rats. *Mol Neurobiol.* 2016;53(1):18-27.
285. Wang T, Xu L, Gao L, Zhao L, Liu XH, Chang YY, et al. Paeoniflorin attenuates early brain injury through reducing oxidative stress and neuronal apoptosis after subarachnoid hemorrhage in rats. *Metab Brain Dis.* 2020;35(6):959-70.
286. Han Y, Su J, Liu X, Zhao Y, Wang C, Li X. Naringin alleviates early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage by reducing oxidative stress and inhibiting apoptosis. *Brain Res Bull.* 2017;133:42-50.
287. Han Y, Zhang T, Su J, Zhao Y, Chenchen, Wang, et al. Apigenin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis in early brain injury following subarachnoid hemorrhage. *J Clin Neurosci.* 2017;40:157-62.
288. Wu CH, Tsai YC, Tsai TH, Kuo KL, Su YF, Chang CH, et al. Valproic Acid Reduces Vasospasm through Modulation of Akt Phosphorylation and Attenuates Neuronal Apoptosis in Subarachnoid Hemorrhage Rats. *Int J Mol Sci.* 2021;22(11).
289. Dai J, Xu S, Okada T, Liu Y, Zuo G, Tang J, et al. T0901317, an Agonist of Liver X Receptors, Attenuates Neuronal Apoptosis in Early Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage in Rats via Liver X Receptors/Interferon Regulatory Factor/P53 Upregulated Modulator of Apoptosis/Dynamin-1-Like Protein Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:8849131.
290. Wang Z, Shi XY, Yin J, Zuo G, Zhang J, Chen G. Role of autophagy in early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage. *J Mol Neurosci.* 2012;46(1):192-202.
291. Zhao H, Ji Z, Tang D, Yan C, Zhao W, Gao C. Role of autophagy in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats. *Mol Biol Rep.* 2013;40(2):819-27.
292. Lee JY, He Y, Sagher O, Keep R, Hua Y, Xi G. Activated autophagy pathway in experimental subarachnoid hemorrhage. *Brain Res.* 2009;1287:126-35.
293. Wu H, Niu H, Wu C, Li Y, Wang K, Zhang J, et al. The autophagy-lysosomal system in subarachnoid haemorrhage. *J Cell Mol Med.* 2016;20(9):1770-8.
294. Ho WM, Akyol O, Reis H, Reis C, McBride D, Thome C, et al. Autophagy after Subarachnoid Hemorrhage: Can Cell Death be Good? *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(9):1314-9.
295. Jing CH, Wang L, Liu PP, Wu C, Ruan D, Chen G. Autophagy activation is associated with neuroprotection against apoptosis via a mitochondrial pathway in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *Neuroscience.* 2012;213:144-53.
296. Yan F, Li J, Chen J, Hu Q, Gu C, Lin W, et al. Endoplasmic reticulum stress is associated with neuroprotection against apoptosis via autophagy activation in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *Neurosci Lett.* 2014;563:160-5.
297. Fang Y, Chen S, Reis C, Zhang J. The Role of Autophagy in Subarachnoid Hemorrhage: An Update. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(9):1255-66.
298. Urbach A, Brueckner J, Witte OW. Cortical spreading depolarization stimulates gliogenesis in the rat entorhinal cortex. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2015;35(4):576-82.

299. Dreier JP, Isele T, Reiffurth C, Offenhauser N, Kirov SA, Dahlem MA, et al. Is spreading depolarization characterized by an abrupt, massive release of gibbs free energy from the human brain cortex? *Neuroscientist*. 2013;19(1):25-42.
300. Lai JH, Qin T, Sakadžić S, Ayata C, Chung DY. Cortical Spreading Depolarizations in a Mouse Model of Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2022;37(Suppl 1):123-32.
301. Schuh-Hofer S, Lobsien E, Brodowsky R, Vogt J, Dreier JP, Klee R, et al. The cerebrovascular response to elevated potassium--role of nitric oxide in the in vitro model of isolated rat middle cerebral arteries. *Neurosci Lett*. 2001;306(1-2):61-4.
302. Ikram A, Javaid MA, Ortega-Gutierrez S, Selim M, Kelangi S, Anwar SMH, et al. Delayed Cerebral Ischemia after Subarachnoid Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2021;30(11):106064.
303. Tang Y, She D, Li P, Pan L, Lu J, Liu P. Cortical spreading depression aggravates early brain injury in a mouse model of subarachnoid hemorrhage. *J Biophotonics*. 2021;14(4):e202000379.
304. Sugimoto K, Chung DY. Spreading Depolarizations and Subarachnoid Hemorrhage. *Neurotherapeutics*. 2020;17(2):497-510.
305. Bapteste L, Marinesco S, Lieutaud T. [Cortical spreading depolarization: an underestimated phenomenon after human brain injury?]. *Neurochirurgie*. 2013;59(1):35-8.
306. Sánchez-Porrás R, Zheng Z, Sakowitz OW. Pharmacological modulation of spreading depolarizations. *Acta Neurochir Suppl*. 2015;120:153-7.
307. Nishida S, Kawauchi S, Toyooka T, Kumagai K, Takeuchi S, Sato S, et al. Local Application of Magnesium Sulfate Solution Suppressed Cortical Spreading Ischemia and Reduced Brain Damage in a Rat Subarachnoid Hemorrhage-Mimicking Model. *World Neurosurg*. 2021;155:e704-e15.
308. Klass A, Sánchez-Porrás R, Santos E. Systematic review of the pharmacological agents that have been tested against spreading depolarizations. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2018;38(7):1149-79.
309. Sonn J, Mayevsky A. Effects of anesthesia on the responses to cortical spreading depression in the rat brain in vivo. *Neurol Res*. 2006;28(2):206-19.
310. Engelhardt B, Liebner S. Novel insights into the development and maintenance of the blood-brain barrier. *Cell Tissue Res*. 2014;355(3):687-99.
311. Peeyush Kumar T, McBride DW, Dash PK, Matsumura K, Rubi A, Blackburn SL. Endothelial Cell Dysfunction and Injury in Subarachnoid Hemorrhage. *Mol Neurobiol*. 2019;56(3):1992-2006.
312. Sandoo A, van Zanten JJ, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. The endothelium and its role in regulating vascular tone. *Open Cardiovasc Med J*. 2010;4:302-12.
313. Park KW, Metais C, Dai HB, Comunale ME, Sellke FW. Microvascular endothelial dysfunction and its mechanism in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *Anesth Analg*. 2001;92(4):990-6.
314. Koźniewska E, Michalik R, Rafałowska J, Gadamski R, Walski M, Frontczak-Baniewicz M, et al. Mechanisms of vascular dysfunction after subarachnoid hemorrhage. *J Physiol Pharmacol*. 2006;57 Suppl 11:145-60.
315. Lamping KG. Enhanced contractile mechanisms in vasospasm: is endothelial dysfunction the whole story? *Circulation*. 2002;105(13):1520-2.
316. Vergouwen MD, Vermeulen M, Coert BA, Stroes ES, Roos YB. Microthrombosis after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an additional explanation for delayed cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2008;28(11):1761-70.
317. McGirt MJ, Blessing R, Alexander MJ, Nimjee SM, Woodworth GF, Friedman AH, et al. Risk of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage reduced by statin therapy: A multivariate analysis of an institutional experience. *J Neurosurg*. 2006;105(5):671-4.
318. Sugawara T, Ayer R, Jadhav V, Chen W, Tsubokawa T, Zhang JH. Simvastatin attenuation of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rats via increased phosphorylation of Akt and endothelial nitric oxide synthase. *J Neurosci Res*. 2008;86(16):3635-43.
319. Carod-Artal FJ. Statins and cerebral vasomotor reactivity: implications for a new therapy? *Stroke*. 2006;37(10):2446-8.
320. McGirt MJ, Lynch JR, Parra A, Sheng H, Pearlstein RD, Laskowitz DT, et al. Simvastatin increases endothelial nitric oxide synthase and ameliorates cerebral vasospasm resulting from subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2002;33(12):2950-6.

321. Trimble JL, Kockler DR. Statin treatment of cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Ann Pharmacother*. 2007;41(12):2019-23.
322. Edlow JA, Panagos PD, Godwin SA, Thomas TL, Decker WW. Clinical policy: critical issues in the evaluation and management of adult patients presenting to the emergency department with acute headache. *Ann Emerg Med*. 2008;52(4):407-36.
323. Ramirez-Lassepas M, Espinosa CE, Cicero JJ, Johnston KL, Cipolle RJ, Barber DL. Predictors of intracranial pathologic findings in patients who seek emergency care because of headache. *Arch Neurol*. 1997;54(12):1506-9.
324. Hockberger RS, Walls RM, Adams J. *Rosen's emergency medicine: concepts and clinical practice*: Mosby; 2002.
325. Moore SA, Rabinstein AA, Stewart MW, David Freeman W. Recognizing the signs and symptoms of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Expert Rev Neurother*. 2014;14(7):757-68.
326. Edlow JA, Fisher J. Diagnosis of subarachnoid hemorrhage: time to change the guidelines? *Stroke*. 2012;43(8):2031-2.
327. Perry JJ, Stiell IG, Sivilotti ML, Bullard MJ, Hohl CM, Sutherland J, et al. Clinical decision rules to rule out subarachnoid hemorrhage for acute headache. *Jama*. 2013;310(12):1248-55.
328. Marcolini E, Hine J. Approach to the Diagnosis and Management of Subarachnoid Hemorrhage. *West J Emerg Med*. 2019;20(2):203-11.
329. Dubosh NM, Bellolio MF, Rabinstein AA, Edlow JA. Sensitivity of Early Brain Computed Tomography to Exclude Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Stroke*. 2016;47(3):750-5.
330. Perry JJ, Stiell IG, Sivilotti ML, Bullard MJ, Emond M, Symington C, et al. Sensitivity of computed tomography performed within six hours of onset of headache for diagnosis of subarachnoid haemorrhage: prospective cohort study. *Bmj*. 2011;343:d4277.
331. Shah KH, Edlow JA. Distinguishing traumatic lumbar puncture from true subarachnoid hemorrhage. *J Emerg Med*. 2002;23(1):67-74.
332. Ho AL, Sussman ES, Pendharkar AV, Iv M, Hirsch KG, Fischbein NJ, et al. Practical Pearl: Use of MRI to Differentiate Pseudo-subarachnoid Hemorrhage from True Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2018;29(1):113-8.
333. Yuan MK, Lai PH, Chen JY, Hsu SS, Liang HL, Yeh LR, et al. Detection of subarachnoid hemorrhage at acute and subacute/chronic stages: comparison of four magnetic resonance imaging pulse sequences and computed tomography. *J Chin Med Assoc*. 2005;68(3):131-7.
334. van Gijn J, van Dongen KJ. The time course of aneurysmal haemorrhage on computed tomograms. *Neuroradiology*. 1982;23(3):153-6.
335. Naidoo Y, Harrichandparsad R, Amod K. Why SWI? The sensitivity of susceptibility weighted imaging in aneurysmal subarachnoid haemorrhage in the chronic phase. *SA J Radiol*. 2023;27(1):2520.
336. Kim NH, Chung GH, Kwak HS, Hwang SB, Lee JM, Park JS. The role of vessel wall imaging in determining the best treatment approach for coexisting aneurysms and subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurol Belg*. 2023;123(3):933-8.
337. Zolnourian A, Borg N, Akhigbe T, Macdonald J, Bulters D. Vessel Wall Imaging After Subarachnoid Hemorrhage in Patients with Multiple Intracranial Aneurysms: A Cautionary Case. *World Neurosurg*. 2019;127:414-7.
338. Anderson GB, Ashforth R, Steinke DE, Findlay JM. CT angiography for the detection of cerebral vasospasm in patients with acute subarachnoid hemorrhage. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2000;21(6):1011-5.
339. Otawara Y, Ogasawara K, Ogawa A, Sasaki M, Takahashi K. Evaluation of vasospasm after subarachnoid hemorrhage by use of multislice computed tomographic angiography. *Neurosurgery*. 2002;51(4):939-42; discussion 42-3.
340. Joo SP, Kim TS, Kim YS, Moon KS, Lee JK, Kim JH, et al. Clinical utility of multislice computed tomographic angiography for detection of cerebral vasospasm in acute subarachnoid hemorrhage. *Minim Invasive Neurosurg*. 2006;49(5):286-90.

341. Kumar G, Shahripour RB, Harrigan MR. Vasospasm on transcranial Doppler is predictive of delayed cerebral ischemia in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review and meta-analysis. *J Neurosurg.* 2016;124(5):1257-64.
342. Samagh N, Bhagat H, Jangra K. Monitoring cerebral vasospasm: How much can we rely on transcranial Doppler. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* 2019;35(1):12-8.
343. Vora YY, Suarez-Almazor M, Steinke DE, Martin ML, Findlay JM. Role of transcranial Doppler monitoring in the diagnosis of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 1999;44(6):1237-47; discussion 47-8.
344. Darsaut TE, Keough MB, Chan AM, Farzin B, Findlay JM, Chow MM, et al. Transcranial Doppler Velocities and Angiographic Vasospasm after SAH: A Diagnostic Accuracy Study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2022;43(1):80-6.
345. Lindegaard KF, Nornes H, Bakke SJ, Sorteberg W, Nakstad P. Cerebral vasospasm diagnosis by means of angiography and blood velocity measurements. *Acta Neurochir (Wien).* 1989;100(1-2):12-24.
346. Lindegaard KF, Nornes H, Bakke SJ, Sorteberg W, Nakstad P. Cerebral vasospasm after subarachnoid haemorrhage investigated by means of transcranial Doppler ultrasound. *Acta Neurochir Suppl (Wien).* 1988;42:81-4.
347. Washington CW, Zipfel GJ. Detection and monitoring of vasospasm and delayed cerebral ischemia: a review and assessment of the literature. *Neurocrit Care.* 2011;15(2):312-7.
348. Ditz C, Hartlieb M, Neumann A, Machner B, Schacht H, Krajewski KL, et al. Routine use of perfusion computed tomography for the detection of delayed cerebral ischemia in unconscious patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir (Wien).* 2021;163(1):151-60.
349. Greenberg ED, Gold R, Reichman M, John M, Ivanidze J, Edwards AM, et al. Diagnostic accuracy of CT angiography and CT perfusion for cerebral vasospasm: a meta-analysis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2010;31(10):1853-60.
350. Starnoni D, Maduri R, Hajdu SD, Pierzchala K, Giammattei L, Rocca A, et al. Early Perfusion Computed Tomography Scan for Prediction of Vasospasm and Delayed Cerebral Ischemia After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *World Neurosurg.* 2019;130:e743-e52.
351. Stecco A, Fabbiano F, Amatuzzo P, Quagliozzi M, Soligo E, Divenuto I, et al. Computed tomography perfusion and computed tomography angiography in vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg Sci.* 2018;62(4):397-405.
352. Egge A, Sjøholm H, Waterloo K, Solberg T, Ingebrigtsen T, Romner B. Serial single-photon emission computed tomographic and transcranial doppler measurements for evaluation of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2005;57(2):237-42; discussion -42.
353. Sviri GE, Mesiwala AH, Lewis DH, Britz GW, Nemecek A, Newell DW, et al. Dynamic perfusion computerized tomography in cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a comparison with technetium-99m-labeled ethyl cysteinate dimer-single-photon emission computerized tomography. *J Neurosurg.* 2006;104(3):404-10.
354. Lewis DH, Hsu S, Eskridge J, Cohen W, Dalley R, Newell D, et al. Brain SPECT and transcranial doppler ultrasound in vasospasm-induced delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 1992;2(1):12-21.
355. Firlik KS, Firlik AD, Yonas H. Xenon-enhanced computed tomography in the management of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Keio J Med.* 2000;49 Suppl 1:A148-50.
356. Johnson DW, Stringer WA, Marks MP, Yonas H, Good WF, Gur D. Stable xenon CT cerebral blood flow imaging: rationale for and role in clinical decision making. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1991;12(2):201-13.
357. Sastry RA, Bajaj A, Shaaya EA, Anderson MN, Doberstein C. Utility of automated MRI perfusion (RAPID) with or without MR angiography for detection of angiographic vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Clin Neurosci.* 2022;100:143-7.
358. Heiserman JE. MR angiography for the diagnosis of vasospasm after subarachnoid hemorrhage. Is it accurate? Is it safe? *AJNR Am J Neuroradiol.* 2000;21(9):1571-2.

359. Korbakis G, Prabhakaran S, John S, Garg R, Connors JJ, Bleck TP, et al. MRI Detection of Cerebral Infarction in Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2016;24(3):428-35.
360. Miller C, Armonda R. Monitoring of cerebral blood flow and ischemia in the critically ill. *Neurocrit Care*. 2014;21 Suppl 2:S121-8.
361. Vajkoczy P, Horn P, Thome C, Munch E, Schmiedek P. Regional cerebral blood flow monitoring in the diagnosis of delayed ischemia following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2003;98(6):1227-34.
362. Unterberg AW, Sakowitz OW, Sarrafzadeh AS, Benndorf G, Lanksch WR. Role of bedside microdialysis in the diagnosis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2001;94(5):740-9.
363. Whalen MJ. Predicting significant vasospasm in patients with subarachnoid hemorrhage: a role for bedside microdialysis? *Crit Care Med*. 2002;30(5):1171-3.
364. Peerdeman SM, van Tulder MW, Vandertop WP. Cerebral microdialysis as a monitoring method in subarachnoid hemorrhage patients, and correlation with clinical events--a systematic review. *J Neurol*. 2003;250(7):797-805.
365. Yokose N, Sakatani K, Murata Y, Awano T, Igarashi T, Nakamura S, et al. Bedside monitoring of cerebral blood oxygenation and hemodynamics after aneurysmal subarachnoid hemorrhage by quantitative time-resolved near-infrared spectroscopy. *World Neurosurg*. 2010;73(5):508-13.
366. Francoeur CL, Lauzier F, Brassard P, Turgeon AF. Near Infrared Spectroscopy for Poor Grade Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage-A Concise Review. *Front Neurol*. 2022;13:874393.
367. Mutoh T, Ishikawa T, Suzuki A, Yasui N. Continuous cardiac output and near-infrared spectroscopy monitoring to assist in management of symptomatic cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2010;13(3):331-8.
368. Rivierez M, Landau-Ferey J, Grob R, Grosskopf D, Philippon J. Value of electroencephalogram in prediction and diagnosis of vasospasm after intracranial aneurysm rupture. *Acta Neurochir (Wien)*. 1991;110(1-2):17-23.
369. Rathakrishnan R, Gotman J, Dubeau F, Angle M. Using continuous electroencephalography in the management of delayed cerebral ischemia following subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2011;14(2):152-61.
370. Stuart RM, Waziri A, Weintraub D, Schmidt MJ, Fernandez L, Helbok R, et al. Intracortical EEG for the detection of vasospasm in patients with poor-grade subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2010;13(3):355-8.
371. Whitfield PC, Pickard JD. Nimodipine. *Br J Hosp Med*. 1994;52(10):539-40.
372. Mayer SA. Prophylactic hyperdynamic postoperative fluid therapy after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2001;1(6):566-7.
373. Egge A, Waterloo K, Sjøholm H, Solberg T, Ingebrigtsen T, Romner B. Prophylactic hyperdynamic postoperative fluid therapy after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a clinical, prospective, randomized, controlled study. *Neurosurgery*. 2001;49(3):593-605; discussion -6.
374. Lennihan L, Mayer SA, Fink ME, Beckford A, Paik MC, Zhang H, et al. Effect of hypervolemic therapy on cerebral blood flow after subarachnoid hemorrhage : a randomized controlled trial. *Stroke*. 2000;31(2):383-91.
375. Treggiari MM. Hemodynamic management of subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2011;15(2):329-35.
376. Gura M, Elmaci I, Cerci A, Sagioglu E, Coskun KK. Haemodynamic augmentation in the treatment of vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Turk Neurosurg*. 2012;22(4):435-40.
377. Otsubo H, Takemae T, Inoue T, Kobayashi S, Sugita K. Normovolaemic induced hypertension therapy for cerebral vasospasm after subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)*. 1990;103(1-2):18-26.
378. Huang YH, Chung CL, Tsai HP, Wu SC, Chang CZ, Chai CY, et al. Hyperglycemia Aggravates Cerebral Vasospasm after Subarachnoid Hemorrhage in a Rat Model. *Neurosurgery*. 2017;80(5):809-15.

379. Shi M, Zhang TB, Li XF, Zhang ZY, Li ZJ, Wang XL, et al. The prognostic value of hyperglycemia in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review and meta-analysis. *Neurosurg Rev.* 2022;45(6):3717-28.
380. Pérez-Neri I. [Relevance of hyperglycemia on the course and outcome of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: evidence and mechanisms]. *Invest Clin.* 2014;55(3):278-88.
381. Kruyt ND, Biessels GJ, de Haan RJ, Vermeulen M, Rinkel GJ, Coert B, et al. Hyperglycemia and clinical outcome in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a meta-analysis. *Stroke.* 2009;40(6):e424-30.
382. Suehiro E, Sadahiro H, Goto H, Oku T, Oka F, Fujiyama Y, et al. Importance of Early Postoperative Body Temperature Management for Treatment of Subarachnoid Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2016;25(6):1482-8.
383. Oliveira-Filho J, Ezzeddine MA, Segal AZ, Buonanno FS, Chang Y, Ogilvy CS, et al. Fever in subarachnoid hemorrhage: relationship to vasospasm and outcome. *Neurology.* 2001;56(10):1299-304.
384. Park YK, Yi HJ, Choi KS, Lee YJ, Chun HJ, Kwon SM. Predictive Factors of Fever After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage and Its Impact on Delayed Cerebral Ischemia and Clinical Outcomes. *World Neurosurg.* 2018;114:e524-e31.
385. Rabinstein AA, Sandhu K. Non-infectious fever in the neurological intensive care unit: incidence, causes and predictors. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;78(11):1278-80.
386. Rousseaux P, Scherpereel B, Bernard MH, Graftieaux JP, Guyot JF. Fever and cerebral vasospasm in ruptured intracranial aneurysms. *Surg Neurol.* 1980;14(6):459-65.
387. Lai PMR, See AP, Silva MA, Gormley WB, Frerichs KU, Aziz-Sultan MA, et al. Noninfectious Fever in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Association with Cerebral Vasospasm and Clinical Outcome. *World Neurosurg.* 2019;122:e1014-e9.
388. Kuramatsu JB, Kollmar R, Gerner ST, Madžar D, Pisarčíková A, Staykov D, et al. Is Hypothermia Helpful in Severe Subarachnoid Hemorrhage? An Exploratory Study on Macro Vascular Spasm, Delayed Cerebral Infarction and Functional Outcome after Prolonged Hypothermia. *Cerebrovasc Dis.* 2015;40(5-6):228-35.
389. Won SY, Kim MK, Song J, Lim YC. Therapeutic hypothermia in patients with poor-grade aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Clin Neurol Neurosurg.* 2022;221:107369.
390. Karibe H, Sato K, Shimizu H, Tominaga T, Kosu K, Yoshimoto T. Intraoperative mild hypothermia ameliorates postoperative cerebral blood flow impairment in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2000;47(3):594-9; discussion 9-601.
391. Li LR, You C, Chaudhary B. Intraoperative mild hypothermia for postoperative neurological deficits in intracranial aneurysm patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012(2):Cd008445.
392. Seule MA, Muroi C, Mink S, Yonekawa Y, Keller E. Therapeutic hypothermia in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage, refractory intracranial hypertension, or cerebral vasospasm. *Neurosurgery.* 2009;64(1):86-92; discussion -3.
393. Liu J, Liang W, Wang J, Zhao Y, Wang Y, Zhang J, et al. Moderate hypothermia protects increased neuronal autophagy via activation of extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in a rat model of early brain injury in subarachnoid hemorrhage. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;502(3):338-44.
394. Lv O, Zhou F, Zheng Y, Li Q, Wang J, Zhu Y. Mild hypothermia protects against early brain injury in rats following subarachnoid hemorrhage via the TrkB/ERK/CREB signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2016;14(4):3901-7.
395. Zhou Z, Liu Z, Zhang C, Zhang W, Zhang C, Chen T, et al. Mild hypothermia alleviates early brain injury after subarachnoid hemorrhage via suppressing pyroptosis through AMPK/NLRP3 inflammasome pathway in rats. *Brain Res Bull.* 2023;193:72-83.
396. Sampson TR, Dhar R, Diringer MN. Factors associated with the development of anemia after subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care.* 2010;12(1):4-9.
397. Da Silva IRF, Gomes JA, Wachsman A, de Freitas GR, Provencio JJ. Hematologic counts as predictors of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Crit Care.* 2017;37:126-9.

398. Kramer AH, Zygun DA, Bleck TP, Dumont AS, Kassell NF, Nathan B. Relationship between hemoglobin concentrations and outcomes across subgroups of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2009;10(2):157-65.
399. Kramer AH, Gurka MJ, Nathan B, Dumont AS, Kassell NF, Bleck TP. Complications associated with anemia and blood transfusion in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Crit Care Med*. 2008;36(7):2070-5.
400. Sun J, Tan G, Xing W, He Z. Optimal hemoglobin concentration in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage after surgical treatment to prevent symptomatic cerebral vasospasm. *Neuroreport*. 2015;26(5):263-6.
401. Stein M, Brokmeier L, Herrmann J, Scharbrodt W, Schreiber V, Bender M, et al. Mean hemoglobin concentration after acute subarachnoid hemorrhage and the relation to outcome, mortality, vasospasm, and brain infarction. *J Clin Neurosci*. 2015;22(3):530-4.
402. Dhar R, Zazulia AR, Videen TO, Zipfel GJ, Derdeyn CP, Diringner MN. Red blood cell transfusion increases cerebral oxygen delivery in anemic patients with subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2009;40(9):3039-44.
403. Smith MJ, Le Roux PD, Elliott JP, Winn HR. Blood transfusion and increased risk for vasospasm and poor outcome after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2004;101(1):1-7.
404. Kumar MA, Levine J, Faerber J, Elliott JP, Winn HR, Doerfler S, et al. The Effects of Red Blood Cell Transfusion on Functional Outcome after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *World Neurosurg*. 2017;108:807-16.
405. Rosenberg NF, Koht A, Naidech AM. Anemia and transfusion after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2013;25(1):66-74.
406. Terrett LA, McIntyre L, Turgeon AF, English SW. Anemia and Red Blood Cell Transfusion in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2023;39(1):91-103.
407. Escamilla-Ocañas CE, Venkatasubba Rao CP, Bershad E, Damani R. Temporal Relationship between Hyponatremia and Development of Cerebral Vasospasm in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage Patients: A Retrospective Observational Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2020;29(6):104789.
408. Morinaga K, Hayashi S, Matsumoto Y, Omiya N, Mikami J, Ueda M, et al. [Hyponatremia and cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage]. *No To Shinkei*. 1992;44(7):629-32.
409. Tsubokawa T, Kurita H, Kaneko N, Iino N, Shiokawa Y. [Clinical significance of natriuretic peptides in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage]. *No To Shinkei*. 2003;55(11):953-60.
410. Aleksandrowicz M, Kozniewska E. Hyponatremia as a risk factor for microvascular spasm following subarachnoid hemorrhage. *Experimental Neurology*. 2022;355:114126.
411. McGirt MJ, Blessing R, Nimjee SM, Friedman AH, Alexander MJ, Laskowitz DT, et al. Correlation of serum brain natriuretic peptide with hyponatremia and delayed ischemic neurological deficits after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2004;54(6):1369-73; discussion 73-4.
412. Mori T, Katayama Y, Kawamata T, Hirayama T. Improved efficiency of hypervolemic therapy with inhibition of natriuresis by fludrocortisone in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1999;91(6):947-52.
413. Newell DW, Elliott JP, Eskridge JM, Winn HR. Endovascular therapy for aneurysmal vasospasm. *Crit Care Clin*. 1999;15(4):685-99, v.
414. Mielke D, Döring K, Behme D, Psychogios MN, Rohde V, Malinova V. The Impact of Endovascular Rescue Therapy on the Clinical and Radiological Outcome After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Safe and Effective Treatment Option for Hemodynamically Relevant Vasospasm? *Front Neurol*. 2022;13:838456.
415. Schacht H, Küchler J, Boppel T, Leppert J, Ditz C, Schramm P, et al. Transluminal balloon angioplasty for cerebral vasospasm after spontaneous subarachnoid hemorrhage: A single-center experience. *Clin Neurol Neurosurg*. 2020;188:105590.
416. Labeyrie MA, Gaugain S, Boulouis G, Zetchi A, Brami J, Saint-Maurice JP, et al. Distal Balloon Angioplasty of Cerebral Vasospasm Decreases the Risk of Delayed Cerebral Infarction. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2019;40(8):1342-8.

417. Chaudhry NS, Orning JL, Shakur SF, Amin-Hanjani S, Aletich VA, Charbel FT, et al. Safety and efficacy of balloon angioplasty of the anterior cerebral artery for vasospasm treatment after subarachnoid hemorrhage. *Interv Neuroradiol*. 2017;23(4):372-7.
418. Santillan A, Knopman J, Zink W, Patsalides A, Gobin YP. Transluminal balloon angioplasty for symptomatic distal vasospasm refractory to medical therapy in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2011;69(1):95-101; discussion 2.
419. Hoh BL, Ogilvy CS. Endovascular treatment of cerebral vasospasm: transluminal balloon angioplasty, intra-arterial papaverine, and intra-arterial nicardipine. *Neurosurg Clin N Am*. 2005;16(3):501-16, vi.
420. Anthofer J, Bele S, Wendl C, Kieninger M, Zeman F, Bruendl E, et al. Continuous intra-arterial nimodipine infusion as rescue treatment of severe refractory cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Clin Neurosci*. 2022;96:163-71.
421. Helbok R, Zangerle A, Chemelli A, Beer R, Benke T, Ehling R, et al. Continuous intra-arterial nimodipine infusion in refractory symptomatic vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Springerplus*. 2016;5(1):1807.
422. Cho WS, Kang HS, Kim JE, Kwon OK, Oh CW, Son YJ, et al. Intra-arterial nimodipine infusion for cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Interv Neuroradiol*. 2011;17(2):169-78.
423. Viderman D, Sarria-Santamera A, Bilotta F. Side effects of continuous intra-arterial infusion of nimodipine for management of resistant cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage patients: A systematic review. *Neurochirurgie*. 2021;67(5):461-9.
424. Zwienenberg-Lee M, Hartman J, Rudisill N, Madden LK, Smith K, Eskridge J, et al. Effect of prophylactic transluminal balloon angioplasty on cerebral vasospasm and outcome in patients with Fisher grade III subarachnoid hemorrhage: results of a phase II multicenter, randomized, clinical trial. *Stroke*. 2008;39(6):1759-65.
425. Yamamoto T, Esaki T, Nakao Y, Mori K. Efficacy of low-dose tissue-plasminogen activator intracisternal administration for the prevention of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg*. 2010;73(6):675-82.
426. Usui M, Saito N, Hoya K, Todo T. Vasospasm prevention with postoperative intrathecal thrombolytic therapy: a retrospective comparison of urokinase, tissue plasminogen activator, and cisternal drainage alone. *Neurosurgery*. 1994;34(2):235-44; discussion 44-5.
427. Zhang YP, Shields LB, Yao TL, Dashti SR, Shields CB. Intrathecal treatment of cerebral vasospasm. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2013;22(8):1201-11.
428. Stolke D, Seifert V. Single intracisternal bolus of recombinant tissue plasminogen activator in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: preliminary assessment of efficacy and safety in an open clinical study. *Neurosurgery*. 1992;30(6):877-81.
429. Tomasello F, D'Avella D. Intracisternal rt-PA during early surgery for aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an Italian report. *J Neurosurg Sci*. 1993;37(2):71-5.
430. Amin-Hanjani S, Ogilvy CS, Barker FG, 2nd. Does intracisternal thrombolysis prevent vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage? A meta-analysis. *Neurosurgery*. 2004;54(2):326-34; discussion 34-5.
431. de Aguiar PH, Barros I, Paiva BL, Simm RF. Removal of clots in subarachnoid space could reduce the vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2013;115:91-3.
432. Mura J, Rojas-Zalazar D, Ruíz A, Vintimilla LC, Marengo JJ. Improved outcome in high-grade aneurysmal subarachnoid hemorrhage by enhancement of endogenous clearance of cisternal blood clots: a prospective study that demonstrates the role of lamina terminalis fenestration combined with modern microsurgical cisternal blood evacuation. *Minim Invasive Neurosurg*. 2007;50(6):355-62.
433. Cengiz SL, Ilik MK, Erdi F, Ustun ME. The Role of Fenestration of the Lamina Terminalis on Symptomatic Vasospasm After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Clinical Research. *Turk Neurosurg*. 2016;26(5):714-9.
434. Andaluz N, Zuccarello M. Fenestration of the lamina terminalis as a valuable adjunct in aneurysm surgery. *Neurosurgery*. 2004;55(5):1050-9.

435. Toyoda T, Yonekura I, Iijima A, Shinozaki M, Tanishima T. Clot-clearance rate in the sylvian cistern is associated with the severity of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl.* 2015;120:275-7.
436. Hatefi M, Azhary S, Naebaghadee H, Mohamadi HR, Jaafarpour M. The Effect of Fenestration of Lamina Terminalis on the Vasospasm and Shunt-Dependent Hydrocephalus in Patients Following Subarachnoid Haemorrhage. *J Clin Diagn Res.* 2015;9(7):Pc15-8.
437. Chohan MO, Carlson AP, Hart BL, Yonas H. Lack of functional patency of the lamina terminalis after fenestration following clipping of anterior circulation aneurysms. *J Neurosurg.* 2013;119(3):629-33.
438. Komotar RJ, Hahn DK, Kim GH, Khandji J, Mocco J, Mayer SA, et al. The impact of microsurgical fenestration of the lamina terminalis on shunt-dependent hydrocephalus and vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2008;62(1):123-32; discussion 32-4.
439. Maeda Y, Shirao S, Yoneda H, Ishihara H, Shinoyama M, Oka F, et al. Comparison of lumbar drainage and external ventricular drainage for clearance of subarachnoid clots after Guglielmi detachable coil embolization for aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Clin Neurol Neurosurg.* 2013;115(7):965-70.
440. Qian C, Yu X, Chen J, Gu C, Wang L, Chen G, et al. Effect of the drainage of cerebrospinal fluid in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(41):e5140.
441. Klimo P, Jr., Kestle JR, MacDonald JD, Schmidt RH. Marked reduction of cerebral vasospasm with lumbar drainage of cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2004;100(2):215-24.
442. Sun M, Sun M, Zhang J. Osthole: an overview of its sources, biological activities, and modification development. *Med Chem Res.* 2021;30(10):1767-94.
443. Ren Z, Lv M, Xu H. Osthole: Synthesis, Structural Modifications, and Biological Properties. *Mini Rev Med Chem.* 2022;22(16):2124-37.
444. Sun Y, Yang AWH, Lenon GB. Phytochemistry, Ethnopharmacology, Pharmacokinetics and Toxicology of *Cnidium monnieri* (L.) Cusson. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020;21(3):1006.
445. Zhang ZR, Leung WN, Cheung HY, Chan CW. Osthole: A Review on Its Bioactivities, Pharmacological Properties, and Potential as Alternative Medicine. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015;2015:919616.
446. Long Y, Yang Q, Xiang Y, Zhang Y, Wan J, Liu S, et al. Nose to brain drug delivery - A promising strategy for active components from herbal medicine for treating cerebral ischemia reperfusion. *Pharmacol Res.* 2020;159:104795.
447. Zhao Q, Li XM, Liu HN, Gonzalez FJ, Li F. Metabolic map of osthole and its effect on lipids. *Xenobiotica.* 2018;48(3):285-99.
448. Li J, Chan W. Investigation of the biotransformation of osthole by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2013;74:156-61.
449. Cho P, Choi SM, Kim Y, Lee DH, Noh Y, Kim S, et al. Characterization of osthenol metabolism in vivo and its pharmacokinetics. *Xenobiotica.* 2020;50(7):839-46.
450. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2005;15(4):316-28.
451. Zheng Y, Lu M, Ma L, Zhang S, Qiu M, Wang Y. Osthole ameliorates renal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Surg Res.* 2013;183(1):347-54.
452. Song F, Xie ML, Zhu LJ, Zhang KP, Xue J, Gu ZL. Experimental study of osthole on treatment of hyperlipidemic and alcoholic fatty liver in animals. *World J Gastroenterol.* 2006;12(27):4359-63.
453. Vahidifar E, Sajjadi SE, Etebari M. Antioxidant and genoprotective effects of osthole against cadmium-induced DNA damage: an in vitro study using comet assay. *Res Pharm Sci.* 2022;17(6):657-64.
454. Cai Y, Sun W, Zhang XX, Lin YD, Chen H, Li H. Osthole prevents acetaminophen-induced liver injury in mice. *Acta Pharmacol Sin.* 2018;39(1):74-84.

455. Zhou WB, Zhang XX, Cai Y, Sun W, Li H. Osthole prevents tamoxifen-induced liver injury in mice. *Acta Pharmacol Sin.* 2019;40(5):608-19.
456. García-Arroyo FE, Gonzaga-Sánchez G, Silva-Palacios A, Roldán FJ, Loredó-Mendoza ML, Alvarez-Alvarez YQ, et al. Osthole Prevents Heart Damage Induced by Diet-Induced Metabolic Syndrome: Role of Fructokinase (KHK). *Antioxidants (Basel).* 2023;12(5).
457. Singh L, Bhatti R. Signaling Pathways Involved in the Neuroprotective Effect of Osthole: Evidence and Mechanisms. *Mol Neurobiol.* 2023.
458. Yan YH, Li SH, Li HY, Lin Y, Yang JX. Osthole Protects Bone Marrow-Derived Neural Stem Cells from Oxidative Damage through PI3K/Akt-1 Pathway. *Neurochem Res.* 2017;42(2):398-405.
459. Chao X, Zhou J, Chen T, Liu W, Dong W, Qu Y, et al. Neuroprotective effect of osthole against acute ischemic stroke on middle cerebral ischemia occlusion in rats. *Brain Res.* 2010;1363:206-11.
460. Karolina Kordulewska N, Kostyra E, Matysiewicz M, Cieślińska A, Jarmołowska B. Impact of fexofenadine, osthole and histamine on peripheral blood mononuclear cell proliferation and cytokine secretion. *European Journal of Pharmacology.* 2015;761:254-61.
461. Hu X, Zhou Y, Shi J, Qi M, Li X, Yang Y, et al. Osthole relieves skin damage and inhibits chronic itch through modulation of Akt/ZO-3 pathway in atopic dermatitis. *European Journal of Pharmacology.* 2023;947:175649.
462. Fu X, Hong C. Osthole attenuates mouse atopic dermatitis by inhibiting thymic stromal lymphopoietin production from keratinocytes. *Exp Dermatol.* 2019;28(5):561-7.
463. Kordulewska NK, Topa J, Stryński R, Jarmołowska B. Osthole Inhibits Expression of Genes Associated with Toll-like Receptor 2 Signaling Pathway in an Organotypic 3D Skin Model of Human Epidermis with Atopic Dermatitis. *Cells.* 2021;11(1).
464. Yang NN, Shi H, Yu G, Wang CM, Zhu C, Yang Y, et al. Osthole inhibits histamine-dependent itch via modulating TRPV1 activity. *Sci Rep.* 2016;6:25657.
465. Callahan BN, Kammala AK, Syed M, Yang C, Occhiuto CJ, Nellutla R, et al. Osthole, a Natural Plant Derivative Inhibits MRGPRX2 Induced Mast Cell Responses. *Front Immunol.* 2020;11:703.
466. Kong L, Yao Y, Xia Y, Liang X, Ni Y, Yang J. Osthole alleviates inflammation by down-regulating NF- $\kappa$ B signaling pathway in traumatic brain injury. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2019;41(2):349-60.
467. Bao Y, Meng X, Liu F, Wang F, Yang J, Wang H, et al. Protective effects of osthole against inflammation induced by lipopolysaccharide in BV2 cells. *Mol Med Rep.* 2018;17(3):4561-6.
468. Wu HX, Wang YM, Xu H, Wei M, He QL, Li MN, et al. Osthole, a Coumadin Analog from *Cnidium monnieri* (L.) Cusson, Ameliorates Nucleus Pulposus-Induced Radicular Inflammatory Pain by Inhibiting the Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinase in Rats. *Pharmacology.* 2017;100(1-2):74-82.
469. Singh G, Bhatti R, Mannan R, Singh D, Kesavan A, Singh P. Osthole ameliorates neurogenic and inflammatory hyperalgesia by modulation of iNOS, COX-2, and inflammatory cytokines in mice. *Inflammopharmacology.* 2019;27(5):949-60.
470. Xia Y, Kong L, Yao Y, Jiao Y, Song J, Tao Z, et al. Osthole confers neuroprotection against cortical stab wound injury and attenuates secondary brain injury. *J Neuroinflammation.* 2015;12:155.
471. Li YQ, Wang JY, Qian ZQ, Li YL, Li WN, Gao Y, et al. Osthole inhibits intimal hyperplasia by regulating the NF- $\kappa$ B and TGF- $\beta$ 1/Smad2 signalling pathways in the rat carotid artery after balloon injury. *Eur J Pharmacol.* 2017;811:232-9.
472. Zheng S, Xue T, Wang B, Guo H, Liu Q. Chinese Medicine in the Treatment of Ulcerative Colitis: The Mechanisms of Signaling Pathway Regulations. *Am J Chin Med.* 2022;50(7):1781-98.
473. Fan H, Gao Z, Ji K, Li X, Wu J, Liu Y, et al. The in vitro and in vivo anti-inflammatory effect of osthole, the major natural coumarin from *Cnidium monnieri* (L.) Cuss, via the blocking of the activation of the NF- $\kappa$ B and MAPK/p38 pathways. *Phytomedicine.* 2019;58:152864.
474. Xu R, Liu Z, Hou J, Huang T, Yang M. Osthole improves collagen-induced arthritis in a rat model through inhibiting inflammation and cellular stress. *Cell Mol Biol Lett.* 2018;23:19.
475. Wang J, Fu Y, Wei Z, He X, Shi M, Kou J, et al. Anti-asthmatic activity of osthole in an ovalbumin-induced asthma murine model. *Respir Physiol Neurobiol.* 2017;239:64-9.

476. Yang Q, Kong L, Huang W, Mohammadtursun N, Li X, Wang G, et al. Osthole attenuates ovalbumin-induced lung inflammation via the inhibition of IL-33/ST2 signaling in asthmatic mice. *Int J Mol Med*. 2020;46(4):1389-98.
477. Wang S, Xie Y, Huo YW, Li Y, Abel PW, Jiang H, et al. Airway relaxation mechanisms and structural basis of osthole for improving lung function in asthma. *Sci Signal*. 2020;13(659).
478. Teng CM, Lin CH, Ko FN, Wu TS, Huang TF. The relaxant action of osthole isolated from *Angelica pubescens* in guinea-pig trachea. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1994;349(2):202-8.
479. Liu YW, Chiu YT, Fu SL, Huang YT. Osthole ameliorates hepatic fibrosis and inhibits hepatic stellate cell activation. *J Biomed Sci*. 2015;22(1):63.
480. Hao Y, Liu Y. Osthole Alleviates Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis via Modulating Angiotensin-Converting Enzyme 2/Angiotensin-(1-7) Axis and Decreasing Inflammation Responses in Rats. *Biol Pharm Bull*. 2016;39(4):457-65.
481. Zhao X, Wang F, Zhou R, Zhu Z, Xie M. PPAR $\alpha$ / $\gamma$  antagonists reverse the ameliorative effects of osthole on hepatic lipid metabolism and inflammatory response in steatohepatic rats. *Inflammopharmacology*. 2018;26(2):425-33.
482. Zhao X, Xue J, Wang XL, Zhang Y, Deng M, Xie ML. Involvement of hepatic peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ / $\gamma$  in the therapeutic effect of osthole on high-fat and high-sucrose-induced steatohepatitis in rats. *Int Immunopharmacol*. 2014;22(1):176-81.
483. Wang XL, Shang X, Cui Y, Zhao X, Zhang Y, Xie ML. Osthole inhibits inflammatory cytokine release through PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -mediated mechanisms in LPS-stimulated 3T3-L1 adipocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2015;37(2):185-92.
484. Qi ZG, Zhao X, Zhong W, Xie ML. Osthole improves glucose and lipid metabolism via modulation of PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -mediated target gene expression in liver, adipose tissue, and skeletal muscle in fatty liver rats. *Pharm Biol*. 2016;54(5):882-8.
485. Liang HJ, Suk FM, Wang CK, Hung LF, Liu DZ, Chen NQ, et al. Osthole, a potential antidiabetic agent, alleviates hyperglycemia in db/db mice. *Chem Biol Interact*. 2009;181(3):309-15.
486. Wang F, Yang P, Wan T, Liu C, Zhu Y, Chen X, et al. Osthole Inhibits M1 Macrophage Polarization and Attenuates Osteolysis in a Mouse Skull Model. *Oxid Med Cell Longev*. 2023;2023:2975193.
487. Yang S, Dai W, Wang J, Zhang X, Zheng Y, Bi S, et al. Osthole: An up-to-date review of its anticancer potential and mechanisms of action. *Front Pharmacol*. 2022;13:945627.
488. Huang H, Xue J, Xie T, Xie ML. Osthole increases the radiosensitivity of hepatoma cells by inhibiting GSK-3 $\beta$ /AMPK/mTOR pathway-controlled glycolysis. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2023;396(4):683-92.
489. Huang H, Xue J, Xie ML, Xie T. Osthole inhibits GSK-3 $\beta$ /AMPK/mTOR pathway-controlled glycolysis and increases radiosensitivity of subcutaneous transplanted hepatocellular carcinoma in nude mice. *Strahlenther Onkol*. 2023.
490. Wu B, Zhu XF, Yang XQ, Wang WY, Lu JH. Effects of osthole on osteoporotic rats: a systematic review and meta-analysis. *Pharm Biol*. 2022;60(1):1625-34.
491. Ma Y, Wang L, Zheng S, Xu J, Pan Y, Tu P, et al. Osthole inhibits osteoclasts formation and bone resorption by regulating NF- $\kappa$ B signaling and NFATc1 activations stimulated by RANKL. *J Cell Biochem*. 2019;120(9):16052-61.
492. Li X, Xue C, Wang L, Tang D, Huang J, Zhao Y, et al. Osteoprotective effects of osthole in a mouse model of 5/6 nephrectomy through inhibiting osteoclast formation. *Mol Med Rep*. 2016;14(4):3769-76.
493. Wang P, Ying J, Luo C, Jin X, Zhang S, Xu T, et al. Osthole Promotes Bone Fracture Healing through Activation of BMP Signaling in Chondrocytes. *Int J Biol Sci*. 2017;13(8):996-1007.
494. Zhang ZR, Leung WN, Li G, Kong SK, Lu X, Wong YM, et al. Osthole Enhances Osteogenesis in Osteoblasts by Elevating Transcription Factor Osterix via cAMP/CREB Signaling In Vitro and In Vivo. *Nutrients*. 2017;9(6).

495. Ma T, Wang X, Qu W, Yang L, Jing C, Zhu B, et al. Osthole Suppresses Knee Osteoarthritis Development by Enhancing Autophagy Activated via the AMPK/ULK1 Pathway. *Molecules*. 2022;27(23).
496. Chern CM, Zhou H, Wang YH, Chang CL, Chiou WF, Chang WT, et al. Osthole ameliorates cartilage degradation by downregulation of NF- $\kappa$ B and HIF-2 $\alpha$  pathways in an osteoarthritis murine model. *Eur J Pharmacol*. 2020;867:172799.
497. Li DD, Chai D, Huang XW, Guan SX, Du J, Zhang HY, et al. Potent In Vitro Synergism of Fluconazole and Osthole against Fluconazole-Resistant *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(8).
498. Liu S, Liu B, Luo ZQ, Qiu J, Zhou X, Li G, et al. The combination of osthole with baicalin protects mice from *Staphylococcus aureus* pneumonia. *World J Microbiol Biotechnol*. 2017;33(1):11.
499. Wei J, Guo N, Liang J, Yuan P, Shi Q, Tang X, et al. DNA microarray gene expression profile of *Mycobacterium tuberculosis* when exposed to osthole. *Pol J Microbiol*. 2013;62(1):23-30.
500. Huang RL, Chen CC, Huang YL, Hsieh DJ, Hu CP, Chen CF, et al. Osthole increases glycosylation of hepatitis B surface antigen and suppresses the secretion of hepatitis B virus in vitro. *Hepatology*. 1996;24(3):508-15.
501. Kiba Y, Tanikawa T, Hayashi T, Kamauchi H, Seki T, Suzuki R, et al. Inhibition of furin-like enzymatic activities and SARS-CoV-2 infection by osthole and phenolic compounds with aryl side chains. *Biomed Pharmacother*. 2023;169:115940.
502. Feng J, Qin C, Liu X, Li R, Wang C, Li C, et al. Nematicidal Coumarins from *Cnidium monnieri* Fruits and *Angelica dahurica* Roots and Their Physiological Effect on Pine Wood Nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Molecules*. 2023;28(10).
503. Li WC, Gu YF, Liu C, Wu N, Luo WW, Gong PT, et al. [In vitro effect of osthole on ultrastructure of *Giardia lamblia*]. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi*. 2014;32(3):242-4.
504. Sajjadi SE, Eskandarian AA, Shokohinia Y, Yousefi HA, Mansourian M, Asgarian-Nasab H, et al. Antileishmanial activity of prenylated coumarins isolated from *Ferulago angulata* and *Prangos asperula*. *Res Pharm Sci*. 2016;11(4):324-31.
505. Yu CC, Chiang YT, Cham TM. Identification of the Constituents in *Cnidii Fructus* Active Against *Trichomonas vaginalis* Parasites. *Dose Response*. 2022;20(4):15593258221131646.
506. Yuan M, Luo Y, Xin Q, Gao H, Zhang G, Jing T. Efficacy of osthole for *Echinococcus granulosus* in vitro and *Echinococcus multilocularis* in vivo. *Vet Parasitol*. 2016;226:38-43.
507. He Y, Qu S, Wang J, He X, Lin W, Zhen H, et al. Neuroprotective effects of osthole pretreatment against traumatic brain injury in rats. *Brain Res*. 2012;1433:127-36.
508. Yang TQ, Lu XJ, Wu TF, Ding DD, Zhao ZH, Chen GL, et al. MicroRNA-16 inhibits glioma cell growth and invasion through suppression of BCL2 and the nuclear factor- $\kappa$ B1/MMP9 signaling pathway. *Cancer Sci*. 2014;105(3):265-71.
509. Lin K, Gao Z, Shang B, Sui S, Fu Q. Osthole suppresses the proliferation and accelerates the apoptosis of human glioma cells via the upregulation of microRNA-16 and downregulation of MMP-9. *Mol Med Rep*. 2015;12(3):4592-7.
510. Huangfu M, Wei R, Wang J, Qin J, Yu D, Guan X, et al. Osthole induces necroptosis via ROS overproduction in glioma cells. *FEBS Open Bio*. 2021;11(2):456-67.
511. Ding D, Wei S, Song Y, Li L, Du G, Zhan H, et al. Osthole exhibits anti-cancer property in rat glioma cells through inhibiting PI3K/Akt and MAPK signaling pathways. *Cell Physiol Biochem*. 2013;32(6):1751-60.
512. Tsai CF, Yeh WL, Chen JH, Lin C, Huang SS, Lu DY. Osthole suppresses the migratory ability of human glioblastoma multiforme cells via inhibition of focal adhesion kinase-mediated matrix metalloproteinase-13 expression. *Int J Mol Sci*. 2014;15(3):3889-903.
513. Ojala T, Vuorela P, Vuorela H, Törnquist K. The Coumarin Osthole Attenuates the Binding of Thyrotropin-Releasing Hormone in Rat Pituitary GH4C1 Cells. *Planta medica*. 2001;67:236-9.
514. Mao X, Wang Z, Zhou H, Liu Z, Zhou Y. [Osthole ameliorates glutamate-induced toxicity in HT22 cells via activating PI3K/Akt signaling pathway]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2015;40(9):955-9.

515. Dong X, Zhang D, Zhang L, Li W, Meng X. Osthole improves synaptic plasticity in the hippocampus and cognitive function of Alzheimer's disease rats via regulating glutamate. *Neural Regen Res.* 2012;7(30):2325-32.
516. Wang SJ, Lin TY, Lu CW, Huang WJ. Osthole and imperatorin, the active constituents of *Cnidium monnieri* (L.) Cusson, facilitate glutamate release from rat hippocampal nerve terminals. *Neurochem Int.* 2008;53(6-8):416-23.
517. Lin TY, Lu CW, Huang WJ, Wang SJ. Involvement of the cGMP pathway in the osthole-facilitated glutamate release in rat hippocampal nerve endings. *Synapse.* 2012;66(3):232-9.
518. Zhang X, Li G. P2Y receptors in neuropathic pain. *Pharmacol Biochem Behav.* 2019;186:172788.
519. Li R, Dang S, Yao M, Zhao C, Zhang W, Cui J, et al. Osthole alleviates neuropathic pain in mice by inhibiting the P2Y(1)-receptor-dependent JNK signaling pathway. *Aging (Albany NY).* 2020;12(9):7945-62.
520. He QL, Chen Y, Qin J, Mo SL, Wei M, Zhang JJ, et al. Osthole, a herbal compound, alleviates nucleus pulposus-evoked nociceptive responses through the suppression of overexpression of acid-sensing ion channel 3 (ASIC3) in rat dorsal root ganglion. *Med Sci Monit.* 2012;18(6):Br229-36.
521. Yuan H, Ouyang S, Yang R, Li S, Gong Y, Zou L, et al. Osthole alleviated diabetic neuropathic pain mediated by the P2X(4) receptor in dorsal root ganglia. *Brain Res Bull.* 2018;142:289-96.
522. Luszczyk JJ, Andres-Mach M, Cisowski W, Mazol I, Glowinski K, Czuczwar SJ. Osthole suppresses seizures in the mouse maximal electroshock seizure model. *Eur J Pharmacol.* 2009;607(1-3):107-9.
523. Luszczyk JJ, Wojda E, Andres-Mach M, Cisowski W, Glensk M, Glowinski K, et al. Anticonvulsant and acute neurotoxic effects of imperatorin, osthole and valproate in the maximal electroshock seizure and chimney tests in mice: a comparative study. *Epilepsy Res.* 2009;85(2-3):293-9.
524. Zaugg J, Eickmeier E, Rueda DC, Hering S, Hamburger M. HPLC-based activity profiling of *Angelica pubescens* roots for new positive GABAA receptor modulators in *Xenopus* oocytes. *Fitoterapia.* 2011;82(3):434-40.
525. Singhuber J, Baburin I, Ecker GF, Kopp B, Hering S. Insights into structure-activity relationship of GABAA receptor modulating coumarins and furanocoumarins. *Eur J Pharmacol.* 2011;668(1-2):57-64.
526. Singh L, Kaur A, Garg S, Bhatti R. Skimmetin/osthole mitigates pain-depression dyad via inhibiting inflammatory and oxidative stress-mediated neurotransmitter dysregulation. *Metab Brain Dis.* 2021;36(1):111-21.
527. Wu B, Sheng X, Xu Z, Zhang Y, Dan Y, Guo J, et al. Osthole relieves diabetes cardiac autonomic neuropathy associated with P2X3 receptor in rat stellate ganglia. *Brain Res Bull.* 2020;157:90-9.
528. Song Y, Wang X, Wang X, Wang J, Hao Q, Hao J, et al. Osthole-Loaded Nanoemulsion Enhances Brain Target in the Treatment of Alzheimer's Disease via Intranasal Administration. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:8844455.
529. Yao Y, Gao Z, Liang W, Kong L, Jiao Y, Li S, et al. Osthole promotes neuronal differentiation and inhibits apoptosis via Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in an Alzheimer's disease model. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2015;289(3):474-81.
530. Xiao H, Wang Y, Wu Y, Li H, Liang X, Lin Y, et al. Osthole ameliorates cognitive impairments via augmenting neuronal population in APP / PS1 transgenic mice. *Neurosci Res.* 2021;164:33-45.
531. Liu Y, Chen X, Gong Q, Shi J, Li F. Osthole Improves Cognitive Function of Vascular Dementia Rats: Reducing A $\beta$  Deposition via Inhibition NLRP3 Inflammasome. *Biol Pharm Bull.* 2020;43(9):1315-23.
532. Jiao Y, Kong L, Yao Y, Li S, Tao Z, Yan Y, et al. Osthole decreases beta amyloid levels through up-regulation of miR-107 in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology.* 2016;108:332-44.
533. Li S, Yan Y, Jiao Y, Gao Z, Xia Y, Kong L, et al. Neuroprotective Effect of Osthole on Neuron Synapses in an Alzheimer's Disease Cell Model via Upregulation of MicroRNA-9. *J Mol Neurosci.* 2016;60(1):71-81.
534. Lin Y, Yao Y, Liang X, Shi Y, Kong L, Xiao H, et al. [Osthole suppresses amyloid precursor protein expression by up-regulating miRNA-101a-3p in Alzheimer's disease cell model]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2018;47(5):473-9.

535. Liu H, Xue X, Shi H, Qi L, Gong D. Osthole Upregulates BDNF to Enhance Adult Hippocampal Neurogenesis in APP/PS1 Transgenic Mice. *Biol Pharm Bull.* 2015;38(10):1439-49.
536. Kong L, Hu Y, Yao Y, Jiao Y, Li S, Yang J. The Coumarin Derivative Osthole Stimulates Adult Neural Stem Cells, Promotes Neurogenesis in the Hippocampus, and Ameliorates Cognitive Impairment in APP/PS1 Transgenic Mice. *Biol Pharm Bull.* 2015;38(9):1290-301.
537. Wang Y, Zhou Y, Wang X, Zhen F, Chen R, Geng D, et al. Osthole alleviates MPTP-induced Parkinson's disease mice by suppressing Notch signaling pathway. *Int J Neurosci.* 2019;129(9):833-41.
538. Liu WB, Zhou J, Qu Y, Li X, Lu CT, Xie KL, et al. Neuroprotective effect of osthole on MPP+-induced cytotoxicity in PC12 cells via inhibition of mitochondrial dysfunction and ROS production. *Neurochem Int.* 2010;57(3):206-15.
539. Barangi S, Hosseinzadeh P, Karimi G, Tayarani Najaran Z, Mehri S. Osthole attenuated cytotoxicity induced by 6-OHDA in SH-SY5Y cells through inhibition of JAK/STAT and MAPK pathways. *Iran J Basic Med Sci.* 2023;26(8):953-9.
540. Ko FN, Wu TS, Liou MJ, Huang TF, Teng CM. Vasorelaxation of rat thoracic aorta caused by osthole isolated from *Angelica pubescens*. *Eur J Pharmacol.* 1992;219(1):29-34.
541. Li L, Zhuang FE, Zhao GS, Zhao DK. [Effects of osthole on the isolated guinea-pig ileum and taeniae coli]. *Yao Xue Xue Bao.* 1993;28(12):899-904.
542. Wu SN, Lo YK, Chen CC, Li HF, Chiang HT. Inhibitory effect of the plant-extract osthole on L-type calcium current in NG108-15 neuronal cells. *Biochem Pharmacol.* 2002;63(2):199-206.
543. Guh JH, Yu SM, Ko FN, Wu TS, Teng CM. Antiproliferative effect in rat vascular smooth muscle cells by osthole, isolated from *Angelica pubescens*. *Eur J Pharmacol.* 1996;298(2):191-7.
544. Yue Y, Li YQ, Fu S, Wu YT, Zhu L, Hua L, et al. Osthole inhibits cell proliferation by regulating the TGF- $\beta$ 1/Smad/p38 signaling pathways in pulmonary arterial smooth muscle cells. *Biomed Pharmacother.* 2020;121:109640.
545. Yao L, Yang YX, Cao H, Ren HH, Niu Z, Shi L. Osthole attenuates pulmonary arterial hypertension by the regulation of sphingosine 1-phosphate in rats. *Chin J Nat Med.* 2020;18(4):308-20.
546. Guan J, Wei X, Qu S, Lv T, Fu Q, Yuan Y. Osthole prevents cerebral ischemia-reperfusion injury via the Notch signaling pathway. *Biochem Cell Biol.* 2017;95(4):459-67.
547. Mao X, Yin W, Liu M, Ye M, Liu P, Liu J, et al. Osthole, a natural coumarin, improves neurobehavioral functions and reduces infarct volume and matrix metalloproteinase-9 activity after transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res.* 2011;1385:275-80.
548. Chen Z, Mao X, Liu A, Gao X, Chen X, Ye M, et al. Osthole, a natural coumarin improves cognitive impairments and BBB dysfunction after transient global brain ischemia in C57 BL/6J mice: involvement of Nrf2 pathway. *Neurochem Res.* 2015;40(1):186-94.
549. Li F, Gong Q, Wang L, Shi J. Osthole attenuates focal inflammatory reaction following permanent middle cerebral artery occlusion in rats. *Biol Pharm Bull.* 2012;35(10):1686-90.
550. Li K, Ding D, Zhang M. Neuroprotection of Osthole against Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury through an Anti-apoptotic Pathway in Rats. *Biol Pharm Bull.* 2016;39(3):336-42.
551. Zhou YF, Li L, Feng F, Yuan H, Gao DK, Fu LA, et al. Osthole attenuates spinal cord ischemia-reperfusion injury through mitochondrial biogenesis-independent inhibition of mitochondrial dysfunction in rats. *J Surg Res.* 2013;185(2):805-14.
552. Ji HJ, Hu JF, Wang YH, Chen XY, Zhou R, Chen NH. Osthole improves chronic cerebral hypoperfusion induced cognitive deficits and neuronal damage in hippocampus. *Eur J Pharmacol.* 2010;636(1-3):96-101.
553. Kocaman OH, Günendi T, Dörterler ME, Koyuncu I, Çelik H, Yumuşak N, et al. Protective effect of osthole on testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2022;28(5):563-9.
554. Luo LN, Xie Q, Zhang XG, Jiang R. Osthole decreases renal ischemia-reperfusion injury by suppressing JAK2/STAT3 signaling activation. *Exp Ther Med.* 2016;12(4):2009-14.
555. Xie DQ, Sun GY, Zhang XG, Gan H. Osthole Preconditioning Protects Rats Against Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *Transplant Proc.* 2015;47(6):1620-6.

556. Zhang Z, Pan C, Wang HZ, Li YX. Protective effects of osthole on intestinal ischemia-reperfusion injury in mice. *Exp Clin Transplant*. 2014;12(3):246-52.
557. Mo LQ, Chen Y, Song L, Wu GM, Tang N, Zhang YY, et al. Osthole prevents intestinal ischemia-reperfusion-induced lung injury in a rodent model. *J Surg Res*. 2014;189(2):285-94.
558. Liu S, He Y, Shi J, Liu L, Ma H, He L, et al. Downregulation of miRNA-30a enhanced autophagy in osthole-alleviated myocardium ischemia/reperfusion injury. *J Cell Physiol*. 2019.
559. Wu J, Yang Y, Xun N, Zeng L, Li Z, Yang W, et al. Osthole attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats by inhibiting apoptosis and inflammation. *Am J Transl Res*. 2018;10(4):1109-16.
560. Liu SX, Chiou GC. Effects of Chinese herbal products on mammalian retinal functions. *J Ocul Pharmacol Ther*. 1996;12(3):377-86.
561. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2020;18(7):e3000410.
562. Schaar KL, Brenneman MM, Savitz SI. Functional assessments in the rodent stroke model. *Exp Transl Stroke Med*. 2010;2(1):13.
563. Alan Albayrak E, Mert O, Demir G, Sevin G. A new insight into the hepatoprotective effect of sildenafil: The role of H(2)S. *Naunyn Schmiedeberts Arch Pharmacol*. 2023;396(11):2977-85.
564. Münzel T, Afanas'ev IB, Kleschyov AL, Harrison DG. Detection of superoxide in vascular tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(11):1761-8.
565. Bereske L, Van den Wyngaert T, Stroobants S, Van der Veken P, Elvas F. Molecular Imaging of Apoptosis: The Case of Caspase-3 Radiotracers. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8).
566. Bruckheimer EM, Cho SH, Sarkiss M, Herrmann J, McDonnell TJ. The Bcl-2 gene family and apoptosis. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 1998;62:75-105.
567. Yfantis A, Mylonis I, Chachami G, Nikolaidis M, Amoutzias GD, Paraskeva E, et al. Transcriptional Response to Hypoxia: The Role of HIF-1-Associated Co-Regulators. *Cells*. 2023;12(5).
568. Marbacher S, Fandino J, Kitchen ND. Standard intracranial in vivo animal models of delayed cerebral vasospasm. *Br J Neurosurg*. 2010;24(4):415-34.
569. Megyesi JF, Vollrath B, Cook DA, Findlay JM. In vivo animal models of cerebral vasospasm: a review. *Neurosurgery*. 2000;46(2):448-60; discussion 60-1.
570. Lee JY, Sagher O, Keep R, Hua Y, Xi G. Comparison of experimental rat models of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2009;65(2):331-43; discussion 43.
571. Güresir E, Schuss P, Borger V, Vatter H. Rat cisterna magna double-injection model of subarachnoid hemorrhage - background, advantages/limitations, technical considerations, modifications, and outcome measures. *Acta Neurochir Suppl*. 2015;120:325-9.
572. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *J Pharmacol Pharmacother*. 2010;1(2):87-93.
573. Malinova V, Psychogios MN, Tsogkas I, Koennecke B, Bleuel K, Iliev B, et al. MR-angiography allows defining severity grades of cerebral vasospasm in an experimental double blood injection subarachnoid hemorrhage model in rats. *PLoS One*. 2017;12(2):e0171121.
574. Chen Y, Constantini S, Trembovler V, Weinstock M, Shohami E. An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. *J Neurotrauma*. 1996;13(10):557-68.
575. Chen J, Sanberg PR, Li Y, Wang L, Lu M, Willing AE, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke*. 2001;32(11):2682-8.
576. Turan N, Miller BA, Heider RA, Nadeem M, Sayeed I, Stein DG, et al. Neurobehavioral testing in subarachnoid hemorrhage: A review of methods and current findings in rodents. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017;37(11):3461-74.
577. Xu G, Guo J, Sun C. Eucalyptol ameliorates early brain injury after subarachnoid haemorrhage via antioxidant and anti-inflammatory effects in a rat model. *Pharm Biol*. 2021;59(1):114-20.
578. Tian Y, Liu B, Li Y, Zhang Y, Shao J, Wu P, et al. Activation of RAR $\alpha$  Receptor Attenuates Neuroinflammation After SAH via Promoting M1-to-M2 Phenotypic Polarization of Microglia and Regulating Mafk/Msr1/PI3K-Akt/NF- $\kappa$ B Pathway. *Front Immunol*. 2022;13:839796.

579. Hu Q, Du Q, Yu W, Dong X. 2-Methoxyestradiol Alleviates Neuroinflammation and Brain Edema in Early Brain Injury After Subarachnoid Hemorrhage in Rats. *Front Cell Neurosci*. 2022;16:869546.
580. Cho PJ, Paudel S, Lee D, Jin YJ, Jo G, Jeong TC, et al. Characterization of CYPs and UGTs Involved in Human Liver Microsomal Metabolism of Osthenol. *Pharmaceutics*. 2018;10(3).
581. Lv X, Wang CY, Hou J, Zhang BJ, Deng S, Tian Y, et al. Isolation and identification of metabolites of osthole in rats. *Xenobiotica*. 2012;42(11):1120-7.
582. Zhu L, Li YL, Qian ZQ, Hua L, Yue Y, Yang DL. Osthole improves pulmonary artery hypertension by inducing apoptosis in pulmonary artery smooth muscle cells. *J Pharm Pharmacol*. 2021;73(8):1109-17.
583. Yao L, Lu P, Li Y, Yang L, Feng H, Huang Y, et al. Osthole relaxes pulmonary arteries through endothelial phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-eNOS-NO signaling pathway in rats. *Eur J Pharmacol*. 2013;699(1-3):23-32.
584. Tao L, Gu X, Xu E, Ren S, Zhang L, Liu W, et al. Osthole protects against Ang II-induced endotheliocyte death by targeting NF- $\kappa$ B pathway and Keap-1/Nrf2 pathway. *Am J Transl Res*. 2019;11(1):142-59.
585. Wang Y, Che J, Zhao H, Tang J, Shi G. Osthole alleviates oxidized low-density lipoprotein-induced vascular endothelial injury through suppression of transforming growth factor- $\beta$ 1/Smad pathway. *Int Immunopharmacol*. 2018;65:373-81.
586. Ogawa H, Sasai N, Kamisako T, Baba K. Effects of osthol on blood pressure and lipid metabolism in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Ethnopharmacol*. 2007;112(1):26-31.
587. Yu Y, Chen M, Yang S, Shao B, Chen L, Dou L, et al. Osthole enhances the immunosuppressive effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by promoting the Fas/FasL system. *J Cell Mol Med*. 2021;25(10):4835-45.
588. Teng CM, Ko FN, Wang JP, Lin CN, Wu TS, Chen CC, et al. Antihaemostatic and antithrombotic effect of some antiplatelet agents isolated from Chinese herbs. *J Pharm Pharmacol*. 1991;43(9):667-9.
589. Ko FN, Wu TS, Liou MJ, Huang TF, Teng CM. Inhibition of platelet thromboxane formation and phosphoinositides breakdown by osthole from *Angelica pubescens*. *Thromb Haemost*. 1989;62(3):996-9.
590. Lee YY, Lee S, Jin JL, Yun-Choi HS. Platelet anti-aggregatory effects of coumarins from the roots of *Angelica genuflexa* and *A. gigas*. *Arch Pharm Res*. 2003;26(9):723-6.

## 8.EKLER

