



**BEZMÎÂLEM**  
VAKIF ÜNİVERSİTESİ

T.C.

BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DeneySEL Subaraknoid Kanama Modelinde  
Verapamilin Endotelin-1, Apoptoz ve  
Oksidatif Stres Aracılığı ile Vazospazm  
Üzerine Etkisinin Araştırılması**

Dr. Enes AKKAYA

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Mustafa Aziz HATİBOĞLU

İSTANBUL

2016



## TEŞEKKÜR

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda görev aldığım süre içinde uzmanlık eğitimime bilgi ve deneyimleriyle katkısı olan başta Prof. Dr. M. Yaşar KAYNAR, Prof. Dr. Saffet TÜZGEN ve tez danışmanım Doç. Dr. Mustafa Aziz HATİBOĞLU'na ve tüm değerli hocalarıma,

tez çalışmalarımın başlatılması ve yürütülmesinin her aşamasında desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Hakan HANIMOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. M. Hakan SEYİTHANOĞLU ile abilerim Op. Dr. Serkan KİTİŞ, Op. Dr. T. Tolga Dündar, Op. Dr. Serdar ÇEVİK'e

Canımdan çok sevdiğim iş arkadaşlarım Op. Dr. Şevket EVRAN, Arş. Gör. Dr. Fatih ÇALIŞ, Arş. Gör. Dr. Salim KATAR, Arş. Gör. Dr. Tahsin SAYGI ve Arş. Gör. Dr. Abdürrahim TEKİN'e,

Eğitim sürecinin servis ve ameliyathane aşamalarında desteklerini hiçbir zaman

esirgemeyen, birlikte çalıştığım tüm hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma,

Beni yetiştirip bu günlere gelmemde emeği olan annem ve babama ve maddi ve manevi yardımını esirgemeyen ablama,

Ve bu sıkıntılı süreçte bana destek olan eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu yaşıma kadar elinden geçtiğim tüm öğretmenlerime de sonsuz teşekkür borçluyum.

Bu tez projesi Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

# İçindekiler

İçindekiler.....	iv
ŞEKİLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	ix
ÖZET .....	1
ABSTRACT .....	2
1) GİRİŞ VE AMAÇ .....	3
2) GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 SUBARAKNOİD KANAMA.....	5
2.1.1 TANIM.....	5
2.1.2 EPİDEMİYOLOJİ.....	5
2.1.3 ETYOLOJİ.....	5
2.1.4 FİZYOPATOLOJİ.....	6
2.1.5 RİSK FAKTÖRLERİ.....	11
2.1.6 BELİRTİ VE BULGULAR.....	11
2.1.7 TANI VE AYIRICI TANI.....	12
2.1.8 TAKİP VE TEDAVİ .....	12
2.2 SEREBRAL VAZOSPAZM .....	13
2.2.1 TANIM-TARİHÇE .....	13
2.2.2 EPİDEMİYOLOJİ.....	13
2.2.3 RİSK FAKTÖRLERİ.....	14
2.2.4 FİZYOPATOLOJİ.....	16
2.2.4.1 SEREBRAL VAZOSPAZM VE GECİKMiŞ BEYİN HASARI.....	16
2.2.4.2 ET-1.....	19
2.2.4.3 OKSİDATİF STRES .....	19
2.2.4.4 APOPTOZ.....	20
2.2.5 KLİNİK ÖZELLİKLER.....	22
2.2.6 RADYOLOJİK (ANJİYOGRafİK) VAZOSPAZM .....	24

2.2.7 TANI.....	24
2.2.8 TEDAVİ.....	25
2.2.8.1 CERRAHİ TEDAVİ.....	25
2.2.9.2 MEDİKAL TEDAVİ.....	26
2.2.8.3 ENDOVASKÜLER TEDAVİ.....	29
VERAPAMİL.....	30
3) GEREÇ VE YÖNTEM .....	31
3.1 DENEY HAYVANLARI .....	31
3.2 ANESTEZİ VE SIÇANLARIN HAZIRLANMASI.....	31
3.3 DENEY GRUPLARI.....	31
3.4 SUBARAKNOİD KANAMA OLUŞTURULMASI.....	32
3.5 SAKRİFİKASYON İŞLEMİ VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI .....	35
3.6 HİSTOPATOLOJİ.....	36
3.7 TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE VE TOTAL OKSİDAN STATUS.....	36
3.7.1 OKSİDATİF STRES İNDEKSİNİN (OSİ) HESAPLANMASI.....	36
3.8 ELİSA YÖNTEMİ.....	37
3.9 WESTERN BLOT YÖNTEMİ.....	37
3.10 İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	38
4) BULGULAR .....	38
4.1 HİSTOPATOLOJİ BULGULARI.....	38
4.2 BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	40
4.2.1 TOTAL ANTİOKSİDAN SEVİYE (TAS), TOTAL OKSİDAN SEVİYE (TOS) VE OKSİDATİF STRES İNDEKSİ (OSİ) BULGULARI .....	40
4.3 ELİSA BULGULARI .....	43
4.4 WESTERN BLOT BULGULARI .....	44
4.4.1 BAX, BCL-2 VE AKTİF KASPAZ-3 DÜZEYLERİ .....	44
5)TARTIŞMA .....	49
6) SONUÇ.....	54
KAYNAKLAR.....	55

## ŞEKİLER DİZİNİ

Şekil 1. Erken ve Gecikmiş Beyin Hasarında Ana Mekanizmalar .....	8
Şekil 2. Hücre içi Ca <sup>+</sup> artışının hücre hasarındaki rolü .....	11
Şekil 3. Nöron Apoptozu ve Kortikal Yayılan İskeminin Oluşumu.....	18
Şekil 4. Vazospazm fizyopatolojisi .....	21
Şekil 5. Lineer insizyon ile oksipital kasların diseksiyonu.....	32
Şekil 6. Diseksiyonun sonunda ulaştığımız, sisterna magnanın üzerini kaplayan atlantookspital membran. ....	32
Şekil 7. Kuyruk arterinin diseksiyonu.....	33
Şekil 8. Kuyruk arterinin kanulasyonu.....	33
Şekil 9. 25G enjektörün ucuna yaptığımız stopper aparat .....	34
Şekil 10. 25G enjektör ile sisterna magnaya 0,1cc arteriyel kan enjeksiyonu .....	34
Şekil 11. İşlem sonrası ratlar eğik düzlemde bekletildi.....	34
Şekil 12. Verapamil grubundan baziller arterin sulama bölgesinden örnek alınan alan.	35
Şekil 13. Kontrol grubunda sakrifiye edilmiş bir denekte, oluşturulan SAK'ın başarılı olduğu görülmekte.....	35
Şekil 14. Verapamil grubunda elde edilen beyin dokusu.....	35
Şekil 15. Histopatolojik incelemede baziller arter görüntüleri: a- Sham Grubunda Lümen çapı ve duvar kalınlığında değişiklikler minimal düzeyde. b- Kontrol Grubunda lümen çapı azalmış, duvar kalınlığı ise artmış. c- Verapamil grubunda lümen çapı ve duvar kalınlığı sham grubuna oranla bir miktar değişim göstermiş. ....	40
Şekil 16. Bax Western Blot Analizi. ....	44
Şekil 17. Bcl-2 Western Blot Analizi. sırasıyla Sham, Kontrol ve Verapamil grupları .....	46
Şekil 18. Kaspaz-3 Western Blot Analizi. sırasıyla Sham, Kontrol ve Verapamil grupları .....	47

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Baziller arter lümen çapına ait ortalama $\pm$ standart hata değerleri. ....	38
Tablo 2. Baziller arter duvar kalınlığına ait ortalama $\pm$ standart hata değerleri.....	39
Tablo 3. Total antioksidan kapasiteye (TAS) ait ortalama $\pm$ standart hata değerleri.....	41
Tablo 4. Total oksidan kapasiteye (TOS) ait ortalama $\pm$ standart hata değerleri.....	41
Tablo 5. Oksidatif stres indeksine (OSI) ait ortalama $\pm$ standart hata değerleri. ....	42
Tablo 6. Endotelin-1 serum seviyesine ait ortalama $\pm$ standart hata değerleri.....	43
Tablo 7. Bax'a ait western blot değerlerinin ortalama $\pm$ standart hata değerleri.....	45
Tablo 8. Bcl-2'ye ait western blot değerlerinin ortalama $\pm$ standart hata değerleri.....	46
Tablo 9. Aktif Kaspaz-3'e ait western blot değerlerinin ortalama $\pm$ standart hata değerleri.....	47

## GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Lümen Çapı düzeyleri. ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; *P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri. ....	39
Grafik 2. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Duvar Kalınlığı düzeyleri, ++P<0.05, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; *P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri. ....	40
Grafik 3. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde TAS düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; *P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.....	41
Grafik 4. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde TOS düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; *P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri. ....	42
Grafik 5. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde OSI düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; *P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.....	43
Grafik 6. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Endotelin-1 düzeyleri. ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; ** P<0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.....	44
Grafik 7. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Bax düzeyleri, +++P<0.01, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; **P<0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri. ..	45
Grafik 8. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Bcl-2 düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; *P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri. ....	46
Grafik 9. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Kaspaz-3 düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; *P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri. ....	48



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADAMTS-13: Disintegrin ve Metalloproteinaz trombospondin ile birlikte tip 1 üye 13

ARDS: Erişkin Solunumsal Distres Sendromu

aSAK: Anevrizmal Subaraknoid Kanama

ATPaz: Adenozin Trifosfataz

aVS: Anjiyografik Vazospazm

BH: Beyin Hasarı

BPB: Beyin Perfüzyon Basıncı

BKA: Beyin Kan Akımı

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

BOX: Bilirubin Oksidasyon Ürünleri

BT: Bilgisayarlı Tomografi

BTA: Bilgisayarlı Tomografi Anjiyografi

DM: Diyabetes Mellitus

DSA: Dijital Substrakt Anjiyografi

DVT: Derin Ven Trombozu

EBH: Erken Beyin Hasarı

EEG: Elektroensefalogram

EKG: Elektokardiyogram

eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

ET-A Resp: Endotelin A Reseptörü

ET-1: Endotelin 1

EVD: Eksternal Ventriküler Drenaj

GBH: Gecikmiş Beyin Hasarı

GİND: Gecikmiş İskemik Nörolojik Defisit

GKS: Glaskow Koma Skalası

Hb: Hemoglobin

HT: Hipertansiyon

ICAM: İnterselüler Adezyon Molekülü

İL-6: İnterlökin 6

iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

İVJK: İnternal Juguler Venöz Kan

KBB: Kan Beyin Bariyeri  
KİB: Kafa İçi Basıncı  
KKB: Kalsiyum Kanal Blokörü  
KYD: Kortikal Yayılan Depolarizasyon  
LD: Lomber Drenaj  
MAPK: Mitojen Aktive Protein Kinaz  
MLCK: Myozin Hafif Zincir Kinaz  
MRA: Manyetik Rezonans Anjiyografi  
MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme  
NMDA: N-Methyl-D-Aspartat  
nNOS: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz  
NO: Nitrik Oksit  
NOS: Nitrik Oksit Sentaz  
Oxy-Hb: Oksijenize Hemoglobin  
OSİ: Oksidatif Stres İndeksi  
PGD2: Prostaglandin 2  
ROM: Reaktif Oksijen Moleülleri  
SAK: Subaraknoid Kanama  
SVO: Serebrovasküler Olay  
sVS: Semptomatik Vazospazm  
TAS: Total Antioksidan Statü(Kapasite)  
TOS: Total Oksidan Statü(Kapasite)  
TKD USG: Trans Kranyal Doppler Ultrasonik Görüntüleme  
tPA: Doku Plazminojen Aktivatörü  
VCAM-1: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü 1  
VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü  
VK: Vazokonstrüksiyon  
VS: Vazospazm  
WFNS: Dünya Nöroşirurji Federasyonu Topluluğu  
YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi

## ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmamızda intratekal verapamilin deneysel subaraknoid kanama (SAK) sonrası oluşan serebral vazospazmda tedavi etkinliğini araştırdık.

**Gereç ve yöntemler:** Çalışmamızda 24 adet Sprague-Dawley erkek rat kullanıldı. Ratlar randomizasyon ile 3 gruba ayrıldı. Sham grubunda deneklere SAK yapılmadı. Kontrol grubunda SAK uygulandı fakat tedavi verilmedi. Verapamil grubunda ise SAK yapıldıktan sonra intratekal verapamil uygulandı. Tüm gruplarda anestezi altında kuyruk arteri kanüle edildi. Sonrasında oksipitoservikal bileşkeye insizyonla oksipital kasların altında atlantooksipital membranları bulundu. 25G iğneyle sisterna magnaya ulaşıldı. Verapamil grubunda 0,2 ml, diğer gruplarda 0,1 ml beyin omurilik sıvısı (BOS) boşaltıldıktan sonra Sham grubunda, alınan BOS geri enjekte edildi. Diğerlerinde kuyruk arterinden alınan kan (0,1ml) sisterna magnaya yavaşça enjekte edildi. Tedavi grubunda 0,1 ml 100 µg verapamil çözeltisi, kan verildikten 2 dk. sonra yavaşça enjekte edildi. Aynı işlem tüm gruplarda 48 saat sonra tekrarlandı. Ratlar 7. günde anestezi altında dekapitasyon ile sakrifiye edildi. Baziller arterde mikroskopik ölçüm ile damar lümen çapı ve duvar kalınlığı, Elisa yöntemi ile ET-1 serum düzeyleri, Western Blot yöntemi ile apoptotik index ve biyokimyasal yöntemler ile total oksidan ve antioksidan kapasiteye bakılarak oksidatif stres oranı ölçülerek vazospazm ile olan ilişkisi incelendi.

**Bulgular:** SAK sonrası gelişen vazospazm serum ET-1 seviyesini arttırmış, bax ve kaspaz-3 seviyelerini arttırıp, Bcl-2 seviyesini azaltarak apoptoz indeksini de arttırmıştır; TAS azalmış ve TOS artmıştır. Vazospazma bağlı baziller arter duvar kalınlığında artış ve arter lümen çapında ise daralma gelişmiştir. Verapamil grubunda ET-1 seviyesi, apoptoz indeksi, oksidatif stres ve arter duvar kalınlığı azalmış, arter lümen çapı artmıştır.

**Sonuç:** İntratekal verapamil apoptoz, oksidatif hasar, ET-1, damar duvar kalınlaşması ve vazokonstrüksiyonu azaltarak serebral vazospazm tedavisinde yeni etkin bir tedavi seçeneği olabilir. Bunun için daha fazla prelinik ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** apoptoz, ET-1, gecikmiş beyin hasarı, intratekal verapamil, oksidatif hasar, SAK, serebral vazospazm

## ABSTRACT

**Objective:** We aimed to investigate the impact of intrathecal verapamil on cerebral vasospasm in an experimental subarachnoid hemorrhage (SAH) model.

**Materials and methods:** 24 male Sprague-Dawley rats were used in the study. The rats were randomized into 3 groups. In the sham group we didn't make SAH. In the control group we made SAH but we didn't give treatment. In the verapamil group we gave intrathecal verapamil after SAH. We made microscobic dissection to tail artery and canulated it in all groups under general anesthesia. Then incisions were made in rats in the occipitocervical junction under anesthesia and atlantooccipital membranes were exposed under occipital muscles. Cisterna magna was reached via a 25G needle. We drained cerebrospinal fluid (CSF) 0,2 ml in the verapamil group and 0,1 ml in the others. In the Sham group, CSF we drained we injected it back. In the other groups, arterial blood (0.1ml) drawn from the tail artery, was slowly injected into the cisterna magna. In the treatment group 0,1 ml 100 µg verapamil injected at same place two minutes after blood injection. Same routine repeated 48 hour later. Rats were sacrificed by decapitation under general anestehsia at seventh day. We measured Basilar artery lumen diameter and wall thickness by microscobic measurement, ET-1 serum level by Elisa method, apoptotic index by Western Blot, oxidative stress ratio by measuring total oxidant and antioxidant capacity.

**Results:** Cerebral vasospasm, which develops after subarachnoid hemorrhage, increased serum Endothelin-1 level. Vasospasm increased apoptotic index by increasing Bax and Caspase-3 levels and decreasing Bcl-2 level. Also, total antioxidants (TAS) decreased whereas total oxidants increased. Basillar artery wall was found to be thicker and diameter of basillary artery lumen decreased because of the vasospasm. Conversely, Endothelin-1 level, apoptotic index, oxidative stress, vascular wall thickness decreased and basilar artery diameter increased in the verapamil group.

**Conclusion:** Our results showed that intrathecal verapamil decreased apoptozis, oxidative injury, Endothelin-1, artery wall thickening and vasocontruction. These findings suggest that intrathecal verapamil may provide an effective treatment in vasospasm. Further pre-clinic and clinic studies are warranted.

**Key words:** cerebral vasospasms, intrathecal verapamil, oxidative stress, apoptosis, Endothelin-1, delayed cerebral injury, Subarachnoid Hemorrhage

## 1) GİRİŞ VE AMAÇ

Serebral vazospazm (VS) çoğunlukla Subaraknoid Kanama (SAK)'tan (özellikle anevrizma rüptürüne bağlı SAK) sonra, 3-14. günler arası gelişen ve patofizyolojisi yeterince anlaşılamamış klinik ve radyolojik bir durumdur. VS, halen etkin bir tedavisi bulunmayan, her yıl dünyada 100.000'lerce insanı ölümüne neden olan ya da günlük işlerinde yardıma muhtaç bırakan ve ülke ekonomilerine ciddi anlamda yük olmaya devam eden önemli bir hastalıktır. Tedavideki son gelişmelere rağmen SAK'a bağlı VS halen bir majör komplikasyon olarak yerini korumakta ve hastaların ortalama %30'unda gecikmiş beyin iskemisine sebep olmaktadır (1).

SAK, araknoid membranın altında genelde de arteriyel olan kanamalara denir. Anevrizmal SAK (aSAK) ciddi bir serebrovasküler hastalıktır. Ortalama %70 hasta ya ölür ya da günlük aktivitelerinde yardıma muhtaç hale gelir. Erken tanı ve anevrizmanın başarılı tedavisiyle tekrarlayan kanamalar belirgin şekilde azaltıldı. Buna rağmen hastaların %30'u ilk 48 saat içinde ölmektedir. aSAK'ın mortalitesi %32-67'dir. SAK'a neden olan en mortal neden anevrizma rüptürüdür (2, 3).

VS çok yüksek oranda aSAK sonrası gelişen, serebral arterlerde vazokonstriksiyonla seyreden, çok kötü sonuçlara yol açabilen ve Gecikmiş İskemik Nörolojik Defisit'e (GİND) ilerleyebilen bir hastalıktır. Çoğunlukla anevrizma rüptürü sonrasındaki SAK'a bağlı gelişen de travma, postoperatif, enfeksiyon ve diğer sebeplere bağlı da geliştiği bildirilmiştir.

Rüptüre olmuş anevrizması tedavi edilenlerde morbidite ve mortalitenin en sık sebebi vazospazmdır. İlk hemorajiden sonra vazospazm, aSAK hastalarındaki fonksiyon kaybı ve ölümün 2. sebebidir. VS gelişen hastaların %15'i ya ölür ya da çok kötü nörolojik akıbete maruz kalır. VS, aSAK hastalarının mortalitesinin %50'sinden sorumludur. Normalde daha düşük olan SAK'a bağlı disabilite ve mortalite oranı semptomatik semptomatik vazospazm (SVS) yüzünden %23'e yükselir (4, 5).

VS üzerine çeşitli çalışmalar yapılmış fakat oksidatif stresin VS'deki rolü hala eksik kalmış gözükmemektedir (6). Bazı serbest radikal çöppülerinin serebral VS önlenmesinde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Oksidatif hasara direk bakmak çok zordur. Serbest

radikallerin ölçümleri de yapılmış fakat ölçüm aletleri pahalı ve saklama koşulları zor olduğundan dolayı oksidatif stresin ölçümü için vücuttaki oksidasyon ürünleri ölçülmekte ve total oksidan ve antioksidan kapasite hesaplanarak oksidatif stresin patogenezi araştırılmaktadır (7).

aSAK'ta damar çevresindeki apoptoz önemli bir rol oynamakta, vazospazmın sebeplerinden biri olarak ta apoptotik kaskadlar gösterilmektedir (8). Daha önce pan-kaspaz inhibitörlerinin VS'yi azalttığı gösterilmiştir (9). Apoptozun doruk noktası, sıçanlarda VS gelişimiyle koinsidans göstermekte ve Kafa İçi Basınç (KİB) yükselmesinin ve beyin kan akımı (BKA) düşüşünün, beynin hipoksik kalmasına sebebiyet verdiği artık bilinmektedir (10). Sadece p53'ün inhibisyonu VS'yi yeterli derecede engellememiş, bu yüzden diğer apoptotik yolların da inhibisyonunun gerekli olduğu varsayılmıştır (11).

VS'nin önlenme ve tedavisinde anjiyografik tedavilerden daha çok seçenek, medikal alanda mevcut olmasına rağmen halen tümüyle etkili bir ajan bulunmamaktadır. Terapötik stratejiler vazospazmı önleyerek hasarı azaltmak ve akıbeti iyileştirmek için tasarlanmıştır. Nimodipin bugüne kadar akıbeti iyileştirdiği kanıtlanmış tek tedavi olarak kabul görmüştür. Nimodipin L-tipi bir Kalsiyum Kanal Blokörüdür (KKB) ve SAK sonrası 21 gün süreyle oral kullanılır. Sürekli nikardipin tedavisi de etkili bulunmuş ama yan etkilerinin fazla olmasından dolayı yaygın kullanıma girememiştir (12).

VS her zaman enfarkta neden olmayacağı gibi (%70), VS olmadan serebral enfarktlar da bildirilmiştir (13). Patofizyolojisinde ortaya çıkarılmış birçok yolak mevcuttur. Literatürde, vazospazmın tedavisinde kesin kanıtlanmış bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. İntraarteryel verapamilin vazospazm tedavisinde yer alabileceği bildirilmiştir (14-16). İntratekal Nikardipinin de bazı çalışmalarda etkili olduğu gösterilmiştir (17). Ancak, İntratekal verapamilin vazospazm tedavisinde etkinliğini araştıran bir çalışma şimdiye kadar yapılmamıştır. Bu nedenle, biz bu çalışmada aSAK sonrası gelişen serebral vazospazmın tedavisinde intratekal verapamilin etkinliğini araştırdık. Hipotezimizde serebral vazospazmda intratekal verapamilin etkili ve güvenli bir yöntem olacağını varsaydık. Bu amaçla, ratlarda sisterna magna subaraknoid kanama modeli ile vazospazm oluşturduk ve ET-1, Kaspaz-3, Bax, Bcl-2, TAS, TOS, Baziller arter lümen çapı ve intima kalınlığını inceleyerek intratekal verapamilin, vazospazm üzerindeki etkinliğini araştırdık.

## 2) GENEL BİLGİLER

### 2.1 SUBARAKNOİD KANAMA

#### 2.1.1 TANIM

SAK araknoid membran altına olan kanamalar için kullanılan terimdir. Çoğu zaman arteriyel olan bu kanamaların sebebi yüksek oranda travma ve anevrizma rüptürüdür.

#### 2.1.2 EPİDEMIYOLOJİ

SAK dünyada yılda 100.000 hastada bir insidansa sahiptir ve toplam serebrovasküler olay (SVO)'ların %5'ini oluşturur. aSAK ciddi bir serebrovasküler hastalıktır ve her yıl ABD'de 30.000'e yakın insanı etkilemekteyken, nontravmatik SAK, ABD'deki tüm SVO'ların %3'ünü oluşturur. Belirgin nörolojik hasara yol açabilecek gecikmiş beyin iskemisine ve serebral enfarkta yol açmaktadır. Hastaların yarısı 55 yaşından küçüktür. Ortalama %70 hasta ya ölür ya da günlük aktivitelerinde yardıma muhtaç hale gelir (2, 4)

Erken tanı ve anevrizmanın başarılı tedavisiyle tekrarlayan kanamalar belirgin şekilde azaltıldı. Buna rağmen %30 hasta ilk 48 saat içinde ölmektedir ve erken beyin hasarı ve serebral VS de, ana komplikasyonlar olarak ölümlere sebep olmaktadır (3).

Travmatik ve anevrizmal SAK'ın toplam mortalitesi %10-15'tir. aSAK'ta %10-15 hasta ilk kanama esnasında ölür. Hastaneye ulaşabilenlerin %25'i ilk 2 haftada yaşamını yitirir. Kalan hastaların %20-30'u da orta şiddette kalıcı kayıplar ile yaşamını sürdürür. Anevrizmal SAK'ın genel mortalitesi %32-67'dir ve bu da anevrizmal SAK'ı en ölümcül hemorajik SVO yapar (18).

#### 2.1.3 ETYOLOJİ

Spontan SAK vakalarının %80'inde rüptüre anevrizma saptanır. Anevrizmalara toplumda yaklaşık %2-6 arasında rastlanır. Kadınlarda, polikistik böbrek hastalığı, bağ doku hastalığı, moya moya sendromu, aort koarktasyonu, takayasu artriti, nörofibromatozis ve fibromusküler displazi olanlarda daha sık görülür. Anevrizma saptanma riskinin genetik sebebi de vardır. Birinci derece akrabasında anevrizma olanlarda anevrizma saptanma riski yüksek bulunmuştur (19).

SAK'a neden olan en mortal neden anevrizma rüptürüdür. Bu da rüptüre olmamış anevrizması saptanan hastalarda tedavi algoritmasının nasıl olması gerektiğini bizlere düşündürmektedir. Bu sebeple, rüptür riskinin belirlenmesi tedavi seçeneklerinin tercihinde en birinci faktördür. Eski çalışmalarda anevrizmaların yıllık rüptüre olma riski %1-2 olduğuna inanılırdı (20). ISUIA çalışmasıyla bu inanış değişti. Anevrizma rüptür riskinin boyuta, lokalizasyona ve daha önce kanama hikâyesine bağlı olduğu görüldü (21).

#### 2.1.4 FİZYOPATOLOJİ

Erken Beyin Hasarı (EBH): Bu terim ilk 2004'te akut ilk 72 saatte gelişen olayların patogenezi ortaya koymak için kullanılmıştır. Bu olaylar; serebral otoregülasyon, kan beyin bariyeri ayrışması, inflamatuvar yolakların aktivasyonu, eksitoksisite, oksidatif stres ve apoptoz aktivasyonudur. Bunlar subaraknoid aralıktaki kanın direkt etkileriyle olur ve tablo iskemiye ilerleyebilir (22).

Mekanik hasar ve serebral otoregülasyon bozukluğu: aSAK'ın hemen sonrasında rüptüre olan ve kan ile temas eden arterlerde vazokonstriksiyon meydana gelir bu da mekanik hasara bağlıdır. Sonuç ise endotelial hücre ölümüyle seyredecek olan akut global iskemidir (23).

SAK sonrası erken KİB artışı yaygındır. Geçici ve kalıcı olmak üzere iki türüdür. KİB artışının miktarı sıklıkla prediktif olarak kullanılır, dirençli artış yüksek mortaliteyle seyreder. Bunun sonucunda BKA azalır, buna sekonder beyin perfüzyon basıncı (BPB) de azalır ve bu da serebral otoregülasyonu harap eder. Bederson, ilk saatte BKA'da %40 azalmanın, mortalite için %100 prediktif olduğunu göstermiş (22).

Elektrolit bozuklukları:

-Hiponatremi: İlk saatlerde sıktır. Hiponatremi ilk 2 gün içinde %10-30 hastada gelişir. Serebral tuz kaybına ya da uygunsuz ADH salınımına bağlı olabilir. Hiponatremik hastalar gecikmiş iskemik hasara 3 kat fazla yatkındır. Hiponatremi için risk faktörleri diyabet, kardiyak hastalıklar, KC hastalıkları, adrenal yetmezlik ve diüretik kullanmaktır (24).

-Kalsiyum, Potasyum ve Magnezyum imbalansı: SAK'tan sonra kalsiyum homeostazisi bozulur. NMDA reseptör aktivasyonuna ve ATPaz pompası deregülasyonuna bağlı intraselüler kalsiyum artar. Bu da damar düz kaslarında persistan kasılmaya neden olur. %40



hastada 48 saat içinde serum Mg seviyesi azalır. Bu da NMDA reseptörünü çalışır durumda kitler ve vazokonstrüksiyona, platelet agrevasyonuna, eksitatör aminoasitlerin ve ET-1'in sentezinin artmasına sebep olur. SAK sonrası K seviyesinde de yükselme olur (25).

Eksitoksisite: İnterstisyel glutamat artışı; selüler kalsiyum sızması, sinaptik transmisyon değişikliği, Kan Beyin Bariyeri (KBB) ayrışması ve glutamat aşırı alımına (uptake) neden olur. Bir hayvan çalışmasında iyonotropik ve metabotropik glutamat NMDA reseptörünün aşırı aktivasyonuna bağlı eksitoksisite geliştiği gözlenmiş, bu da hücre içine aşırı kalsiyum girişi ve apoptotik yolların aktivasyonuna sebep olmuştur. NMDA reseptör antagonistleri, rat modellerinde KBB ayrışmasını azaltmış, VS gelişimini sınırlandırmışlardır. Kan glutamat temizleyiciler, hayvan modellerinde nörolojik akıbeti iyileştirmiş ama sadece NMDA reseptör blokajı nöronal iyileşmeyi engellemiştir. Klinik çalışmalarda ise serebral interstisyel sıvıda glutamat artışı, iskeminin prediktif değeri olduğu bildirilmiştir. SAK sonrası interstisyel sıvıda ve BOS'ta ölçülen eksitatör aminoasit değerleri; KİB artışı, sekonder beyin hasarı ve kötü akıbetle kuvvetlice koreledir (26, 27).

NO değişiklikleri ve Endotelin-1 artışı: aSAK sonrası erken zamanda saptanan NO değişikliklerinin yolları daha önceden ortaya konmuştur. NO, NO Sentaz (NOS) tarafından üretilir ve endotelial, nöronal, indüklenebilir olmak üzere NOS'lar 3 çeşittir. Vasküler hemodinamik aktivitede rol oynarlar. Damarı, sarkoplasmik retikulumdan hücre içine kalsiyum salınımını engelleyerek gevşetir ve platelet agregasyonunu ve endotelial lökosit adezyonunu inhibe eder. NO'nun miktarının değişikliği otoregülasyonu harap eder ve VS'nin patogeneziyle ilişkili olabilir. Hayvanlarda aSAK sonrası NO 10 dakikada azalır ve 24 saatten sonra haddinden fazla artar. Klinik çalışmalarda NO'nun aSAK'tan 24 saat sonra arttığı görülmüş ve bunun kötü akıbeti gösterdiği saptanmıştır. İnflamasyon iNOS'u aktive eder, NO vazodilatatör etkisini peroxynitrite veya serbest radikaller halinde gösterir ve kritik zamanda damar duvarında oksidatif stres oluşturur (28).

ET-1 vazokonstrüksiyonun en potent endojen aktivatörüdür, hem kalsiyum bağımlı ve hem de bağımsız mekanizmalarla etki gösterir. aSAK sonrası dakikalar içinde plazma ve serum düzeyleri artar, 3-4. günlerde pik yapar. Endotelden salınır, ama SAK'ta iskemi süresince astrositlerden aşırı miktarda salındığı da görülmüştür. SAK'ta gecikmiş fazda ET-1 reseptörleri upregülasyona uğrar. Reseptörleri birden fazladır. Fakat ET-A reseptörleri

özellikle damar düz kas hücrelerinde çoktur ve vazokonstrüksiyon ve hücre proliferasyonunda olmazsa olmazdır. ET-1 uzun süren vazokonstrüksiyonu (VK) direkt olarak kendisi de yapabilir veya damar duvarında fibrozis ya da hiperplazi gibi morfolojik değişiklikler meydana getirerek endirekt olarak yardımcı da olabilir. NO ve ET-1 arasındaki dengesizlik VK ve VS gelişimine yol açar (29, 30).



Şekil 1. Erken ve Gecikmiş Beyin Hasarında Ana Mekanizmalar

Oksidatif stres: Reaktif Oksijen Molekülleri (ROM), Oksijen Serbest Radikalleri ve Reaktif Nitrojen Molekülleri birkaç damarsal hastalığın patogenezinde rol oynarlar. Oksidatif stres EBH'de çok önemli görevler alır. Hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiş ki, ROM aSAK sonrası erken dönemde oluşturulur ve hemoglobinin otooksidasyonu, lipid peroksidasyonu ve birkaç enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemlerinin tüketilmesine sebep olur. Benzer şekilde oksidatif stres birkaç kötü patofizyolojik değişikliğin tetiğini çeker; bunlar endotelial hücrelerde yapısal değişiklikler, endotelial disfonksiyon ve düz kas hücre proliferasyonu, KBB ayrışması, inflamatuvar kaskadların aktivasyonu ve kuvvetli vasokonstriktörlerin üretimidir (lökotrien C4, PGD2). Oksidatif stresin kısa zaman aralığında tedavisi halen çok zordur çünkü hasta tedaviye ulaşmadan serbest radikallerin bıraktığı hasar tamamlanmış olur (31).

İnflamatuvar yolaklar: 1955'te Walton ateşli SAK hastalarında kötü akıbet oluştuğunu göstermişti. SAK inflamatuvar kaskadın tetiğini çeker ve sistemik lökositoya yaygın olarak rastlanır, lökositler serbest radikal oluşumunu direkt olarak düzenleyebilir, sitokin salgılayabilir, kemotaktik maddeler salabilir, ET-1 ve lökotrienleri de üretebilir. Subaraknoid alandaki kan, aktive B hücrelerindeki nükleer faktör K-light-chain-enhancer'ın stimülatörüdür ve bu hücreler birçok komplemanları, adezyon moleküllerini ve sitokinleri salgılar. Serum CRP seviyelerinin artışı, kötü prognozu gösterir ve gecikmiş VS oluşumunu arttırır. İL-6 serum düzeyleri kötü akıbet ve GİND ile ilişkilidir. Serum ve BOS'taki, E-selektin, ICAM ve VCAM-1 düzeyleri de SAK sonrası ilk 3 günde artar ve kötü prognozu gösterir (32).

Kan yıkım ürünleri: Hemoglobin (Hb), VK'ye direkt oksidatif stres ve ayrıca indirekt olarak ta NO ve ET-1 dengesini bozarak sebep olabilir. Oxy-Hb kuvvetli spazmojeniktir. Hb, NO'yu kandan temizler, nNOS'u harap eder ve eNOS'un fonksiyonunu azaltır. SAK sonrası 3-4. günlerde bilirubin formasyonu maksimumdadır ve bilirubin oksidasyon ürünleri (BOX), majör VS periyodunda (4-11 gün) maksimum konsantrasyona ulaşır. BOX'ların potansiyelize edici olduğu düşünülmektedir (33).

Demirin erken beyin hasarındaki rolünü Lee araştırmıştır. Demir şelatörü kullanarak mortaliteyi azaltmış ve DNA hasarını engellemiştir. Tedavi ilk gün etkili olmuş ve belirgin şekilde akıbeti iyileştirmiştir. Ferröz ve ferrik demirin ikisi de prooksidandır ve ROM'un oluşumunu indükleyebilir bu da inflamatuvar yolakları aktifleştirerek vazojenik ödem ve KBB bozulmasına bağlı KİB artışına yol açar (34).

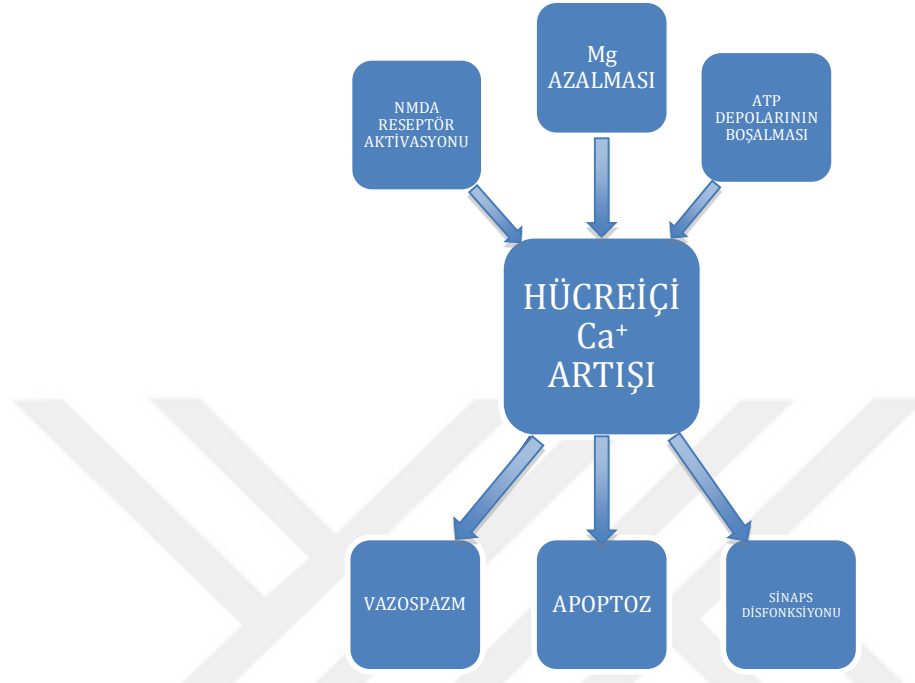
Küçük damar spazmı: Araştırmalar gösteriyor ki, aSAK sonrası ilk zamanlarda küçük damar spazmı büyük damarlardakinden çok daha fazladır. Anormal pial mikrosirkülasyona bağlı küçük damarlarda kan akımı azalır ve eritrosit aglütinasyonu gelişir. Hastaların çoğunda anjiyografik bulgu olmadan küçük damar spazmı hali hazırda gelişmektedir. Uhl ilk 72 saatte ameliyata giren hastalarda küçük damar spazmı olduğunu göstermiş ve SAK'ın ilk olarak arterioller ve pial damarları tutmasıyla giden mikrovasküler spazm yaptığını ispatlamıştır (22, 35).

Hayvan ve kadavra çalışmalarında bazal membranda ve endotelial tabakada gelişen ayrışmanın parankimal küçük damarlarda daha belirgin olduğu gösterilmiştir. Bu durum erken klinik bulguları açıklar ve postoperatif gidişatı etkiler. Endotelial disfonksiyon da erken VK sebeplerinden biridir ve ilaçların fonksiyonel bir endotele ihtiyaç duymasından dolayı tedaviye cevabı azaltır. Bazal membran ayrışması; vasküler permeabilite artışı ve interstisyel ödem ile sonuçlanan mikrosirkülasyon destabilizasyonu daha yakından ilişkili gibi durmaktadır (36).

Kortikal Yayılan Depolarizasyon (KYD): KYD değişik nörolojik hastalıklarda oluşan neredeyse tüm nöron ve glia hücrelerinde meydana gelen bir depolarizasyon dalgasıdır. SAK'ta ilk 72 saatte gözlenir. Kanın irritasyonuna bağlı olduğu düşünülür. Sonucunda nöronal ödem ve dendritik zedelenme meydana gelir. Düşük BKA ve KYD'ye bağlı artmış enerji ihtiyacı birlikte nöronal hasarı artırır. Deneysel olarak, yayılan depolarizasyonlar glutamatta masif artışa, glukozda düşüğe ve dokuda laktat birikimine neden olur. Hipoperfüzyonun patolojik şartlarında KYD, oksidatif stres üretebilir, hipoksiyi kötüleştirebilir ve nöronal ölümü indükleyebilir. Artmış intraselüler kalsiyum muhtemelen, iskemiden nöron ölümünün predominant mediatörüdür. Klinik çalışmalar GBH gelişimiyle KYD'lerin ne kadar çok korele olduğunu ve anjiyografide görülen vazospazmdan daha güvenilir bir marker olduğunu gösterir (37).

Hücre Ölümü: Hücre ölümü SAK'tan sonraki 24 saat içinde başlar, BPB ve BKA'da erken azalmaya bağlı hipoksinin indüklediği faktörler ve kaspazlara sekonder gelişir. Nöron spesifik enolaz serum seviyeleri, nöronal hasarın belirteçidir ve subaraknoid kan miktarıyla korelasyon gösterir ve kötü nörolojik akıbetle ilişkilidir. Apoptoz; KİB artışı, iskemi, reperfüzyon, akut vazospazm, kan yıkım ürünleri ve oksidatif stres tarafından tetiklenir. Nöronal, glial, vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde oluşur ve KBB ayrışmasına ve

vazospazm gelişmesine neden olur İntraselüler kalsiyumun patolojik artışı kaspaz bağımlı apoptotik yolları aktive eder ve kaspaz aktivitesinin inhibisyonunun olumlu etkileri ispatlanmıştır (22, 38, 39).



Şekil 2. Hücreiçi Ca<sup>+</sup> artışının hücre hasarındaki rolü

### 2.1.5 RİSK FAKTÖRLERİ

Genetik faktörler; Olguların %5-20'sinde pozitif aile hikâyesi vardır. Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı ve tip IV Ehler Danlos sendromu örnek olarak sayılabilir Sigara; Sigarayı bırakan popülasyonda içenlere oranla daha az SAK görüldüğü gösterilmiştir. Alkol; Orta ve aşırı alkol kullananlarda daha fazla görülmekle birlikte şüpheli bir risk faktörüdür. Hipertansiyon; Özellikle tansiyon takibi düzensiz olanlarda SAK daha fazla görülmektedir. Oral Kontraseptif Kullanımı: Diğer risk faktörlerinden bağımsız, kontrollü çalışmalar olmadığı için SAK ve oral kontraseptif kullanımı arasındaki ilişki çok net değildir. Madde Bağımlılığı; Kokain ve fenilpropanolamin içeren semptomimetik maddeler, risk faktörleri olarak bildirilmiştir (40).

### 2.1.6 BELİRTİ VE BULGULAR

SAK tipik olarak ani ve en şiddetli baş ağrısı ile prezante olur. Bulantı, kusma, fotofobi, ense ağrısı ve bilinç kaybı eşlik eder. Fizik muayene ile bilinç kaybının derecesi, fundoskopik değerlendirme ile papil ödemi varlığı, menengial belirtiler ve fokal nörolojik defisit olup

olmadığına bakılır. Bazıları ise nöbet, akut ensefalopati, konkomitant subdural hematom ve kafa travmasıyla başvurarak tanı konmasını güçleştirebilir. Hastaların az bir kısmı anevrizmal SAK'tan günler haftalar önce uyarıcı bir baş ağrısı yaşayabilirler (41).

### **2.1.7 TANI VE AYIRICI TANI**

Tanı: SAK tanısı koymada görüntüleme yöntemlerinden en uygunu kontrastsız beyin bilgisayarlı tomografisidir (BT). Hem ulaşması kolay, hem sonucu hızlıdır hem de ilk 12 saatte SAK için sensitivitesi %98-100'dür. Karakteristik olarak bazal sisternalarda kan görülür. Diğer yerleşimler; silvian fissür, interhemisferik fissür, interpedinküler fossa ve suprasellar, ambient ve quadrigeminal sisternalardır. Bununla beraber manyetik rezonans görüntüleme (MRG) de ilk 2 günde BT'ye yakın sensitiviteye sahiptir fakat ulaşım ve kullanım zorluklarından dolayı pek tercih edilmez. Hemosiderin sensitif MR (SWI ve gradient echo) ve FLAIR MR birkaç gün sonrasında BT'den daha sensitif hale gelir. BT negatif SAK'tan şüphelenilen her hastada lomber ponksiyon (LP) yapılmalıdır. 4 tüp BOS toplanır. 1. ve 4. tüpte eritrosit sayılır. İki tüpte de eritrosit aynıysa ve normalden yüksekse SAK tanısı konur (42).

SAK hastalarının %15'inde SAK'ın kaynağı için görüntüleme negatiftir. Kanama kaynağı için BT Anjiyografi (BTA) ya da Dijital Substrakt Anjiyografi (DSA) yapılmalıdır. DSA altın standarttır ama BTA daha yaygın kullanılabilirliğe sahiptir. BTA sensitivitesi %93-97'dir. Ve bu değer cihazın kesit aralığı ve filmi yorumlayana göre değişir. BTA distaldeki ve küçük (<4mm) anevrizmaları göremez. DSA negatif gelirse 7-14 gün sonra tekrarlanmalı, tekrar negatif gelirse olası bir vasküler malformasyon açısından beyin ve tüm spinal MR çekilmelidir. SAK'ta yanlış tanı halen yaygındır ama giderek azalmıştır. Atipik bulgular ile gelen hastalar da olabilir. SAK hastalarının %15'inde kaynak bulunamaz. Bunların %38'i nonanevrizmal perimezensefalik SAK'tır (43).

### **2.1.8 TAKİP VE TEDAVİ**

İlk geliş anında havayolu, nefes ve dolaşım kontrolü sağlanmalı. Kardiyak kontrolleri de yapıp hasta stabil olunca beyin BT yapılmalı. Yeniden kanamayı önlemek için çok yüksek tansiyon değerlerinden kaçınılmalıdır (44).

Güvence altına alınmamış rüptüre anevrizmaların tedavisinde kabul gören 2 yol kliplleme veya koillemedir. Hastanın yaşına ve anevrizmanın lokalizasyonuna, morfolojisine

ve anevrizma boynunun yanından çıkan damarlara göre karar verilir. Bu kararın bir ekip tarafından verilmesi tavsiye edilir. ISAT çalışmasında koillenen hastaların daha iyi akıbeta ve daha az epilepsi riskine sahip olduğu fakat yeniden kanama ve rezidü oranlarının çok olduğu bulunmuştur (42, 44-48).

YBÜ takibi: SAK hastalarının %75'inden fazlası SIRS denilen inflamatuvar sitokinlerin aşırı yükseldiği sendromu geçirir. Bu süreç geçici nörokognitif disfonksiyonla seyredir. 2 haftadan sonra düzelme eğiliminde olur.

## **2.2 SEREBRAL VAZOSPAZM**

### **2.2.1 TANIM-TARİHÇE**

Serebral Vazospazm çok yüksek oranda aSAK sonrası gelişen, serebral arterlerde vazokonstriksiyonla seyreden, çok kötü sonuçlara yol açabilen ve GİND'ye ilerleyebilen bir hastalıktır. Çoğunlukla anevrizma rüptürü sonrasındaki SAK'a bağlı gelişse de travma, postoperatif, enfeksiyon ve diğer sebeplere bağlı da geliştiği bildirilmiştir.

aSAK sonrası vazospazm konsepti ilk olarak 1951'de ortaya çıktı. İlk 24 saatte gelişen erken serebral VS, 4-14. günler arasında gelişen ise gecikmiş serebral VS sınıfına girer (49). GBH: %30 hastada gelişir. 4-14. günler arasında, 1 saatten fazla direnen serebral iskemiye ya da başka sebeplerle açıklanamayan herhangi bir nörolojik kötüleşmeye GBH denir. Patogenezinde birçok faktör rol oynar. Serebral VS, mikrotromboz, kortikal yayılan depresyon ve gecikmiş selüler apoptoz gibi (50).

### **2.2.2 EPİDEMİYOLOJİ**

Anevrizması tedavi edilenlerde morbidite ve mortalitenin en sık sebebi VS'dir. İlk hemorajiden sonra vazospazm anevrizmal SAK hastalarındaki fonksiyon kaybı ve ölümün 2. sebebidir. VS gelişenlerin %15'i ya ölür ya da çok berbat nörolojik akıbeta maruz kalır. VS anevrizmal SAK hastalarının mortalitesinin %50'sinden sorumludur. Normalde daha düşük olan SAK'a bağlı disabilite ve mortalite oranı VS yüzünden %23'e yükselir (4).

SAK hastalarının %50-70'inde vazospazmın radyolojik bulguları saptanır ve bunların yarısında da GİND gelişir. VS, SAK hastalarının %17-40'ında gecikmiş serebral iskemiyeye sebep olmaktadır (51).

### 2.2.3 RİSK FAKTÖRLERİ

İlk çekilen beyin BT'deki subaraknoid kan miktarının serebral vazospazm gelişiminde en güçlü prediktörlerden biri olduğu yaygınca bilinmektedir (52). Diğer risk faktörleri;

- I. Hastanın yaşı, cinsiyeti, gelişteki klinik durumu, TKD USG değerleri ve anevrizmanın tedavi şekli, serebral vazospazm gelişimi için prediktör olarak değerlendirilmektedir.
- II. Genç yaş semptomatik vazospazm (sVS) gelişimi için genel olarak prediktör değer olarak kabul görmüştür. Bazı çalışmalar yaşlılarda aVS'nin daha az olduğunu söyler. Çoğunluk ise yaşla ilişkisinin olmadığını savunur.
- III. Akut hidrosefali sVS için risk faktörü olarak bazı araştırmacılar tarafından kabul edilmiştir fakat hepsi kabul etmemektedir.
- IV. Çoğu çalışma cinsiyetin korelasyonu yoktur der. Bir çalışma kadınlarda çok olduğunu söylemiştir. Kadın cinsiyet anevrizmal SAK için risk faktörüdür. Fakat vazospazm için prediktif değildir.
- V. Irk da vazospazm için prediktif değildir. Fakat bir çalışma Avrupalılarda daha fazla olduğunu söylemektedir.
- VI. Hunt Hess skorlamasındaki kötü puanın aVS'yi, sVS'yi ve GBH'yi arttırdığını söyleyen çalışmalar vardır. WFNS derecesi sVS'yi ve beyin hasarı (BH)'yi artırır diyenler de vardır. Hunt-hess ve WFNS skorlarının, sVS için prediktör olduğunu savunanlar vardır. Fakat çoğu çalışmada Hunt-Hess'in aVS'yi, sVS'yi, BH'yi, GBH'yi ve GİND'yi arttırmadığını ve WFNS'nin de aVS'yi, sVS'yi, BH'yi ve GİND'yi arttırmadığını gösterir.
- VII. Gelişteki bilinç kaybı GBH için kuvvetli bir prediktördür.
- VIII. Bir köpek çalışmasında yeniden kanamanın şiddetli VS yaptığı gösterilmiştir. İnsan çalışmalarında ise aVS'yi, sVS'yi, BH'yi veya GBH'yi arttırmadığı gösterilmiştir.
- IX. Gelişteki sistolik tansiyon 112'den büyük olması sVS ve GBH için risk faktörüdür. 7 çalışmada ise bu durumun aVS, sVS veya BH ile ilişkili olmadığı saptanmıştır .
- X. Vücut ısısının yüksek olması aVS, sVS, GBH ve BH ilişkilidir diyenler vardır. Başkaları da aVS veya sVS ilişkili değildir demişlerdir.
- XI. Çoğu çalışma kalp hastalığı varlığının ilişkisiz olduğunu söylemiş. Bir çalışma bu durumu GBH ile ilişkili bulmuştur.



- XII. İki çalışma DM'yi, sVS ve BH ile ilişkili bulmuş. Diğerleri aVS, sVS, GBH ve GİND ile ilişkisiz bulmuştur.
- XIII. 6 çalışma sigarayı aVS, sVS, BH ve GİND ile ilişkili bulmuş. 9 çalışma da sVS, GBH ve VS ile ilişkisiz olduğunu savunmuştur.
- XIV. 4 çalışma HT'yi aVS, sVS ve VS ile ilişkili bulmuş. Fakat çoğunluk HT'yi aVS, sVS, GBH, GİND ve VS ile ilişkisiz saptamıştır .
- XV. Alkol alımını VS ile bir çalışma ilişkili bulmuşken, diğerleri ilişkisiz bulmuşlardır.
- XVI. Geliş BT'deki kan miktarının karşı çıkılamaz şekilde ilişkili olduğu bulunmuş iken, ventrikül içi hematoma varlığı halen tartışmalı durumdadır. İlişkili olduğunu savunanlar ve reddedenler vardır. İntraserebral hematoma bir çalışma VS ile ilişkili bulurken çoğu yazar ilişkisiz bulmuştur.
- XVII. Çoğu araştırmacı akut hidrocefalinin VS ile ilişkisiz olduğunu söylemişlerdir.
- XVIII. Anevrizmanın yerinin aVS, sVS, GBH ve GİND ile korele olmadığı saptanmıştır.
- XIX. Anevrizmanın boyutunun VS'yi arttırması konusunda çoğu yazar ilişkili olmadığını düşünmüştür.
- XX. Bazı yazarlar lökositoz olmasının risk faktörü olduğunu ve bazıları ise olmadığını iddia etmişlerdir.
- XXI. İL-6'nın 2 deneysel çalışmada köpek baziller arterinde VS gelişiminde rolü olduğu gösterilmiştir.
- XXII. Hiperglisemi bazı çalışmalarda ilişkili bazılarında ise ilişkisiz bulunmuştur.
- XXIII. Anevrizmayı koilleme yerine kliplene, operasyon esnasında pıhtıların temizlenmesi, intraoperatif topikal papaverin kullanma ve sisternal drenaj ve/veya ventrikulo-sisternal ürokinaz irrigasyonu'nun VS'yi azalttığı bulunmuş. Koilleme ile kliplene arasında sonuçlar farklılık göstermektedir. Subaraknoid boşluktaki kan ve pıhtı, VS'yi arttırdığı için, erken yapılan ameliyatla pıhtı ve kan boşaltımının VS'yi azaltan sebep olduğu düşünülmektedir. Bir çalışmada koillenen hastalarda kliplene göre daha sık VS oluştuğu düşünülmüştür.
- XXIV. Akut statin tedavisinin hem VS'yi azalttığı hem de azaltmadığı gösterilmiş.
- XXV. Nörolojik durumun ve subaraknoid alandaki kan miktarının, akıbetin ve nörolojik komplikasyonların en kuvvetli prediktörleri olduğu gösterilmiş (13, 52-58).

## 2.2.4 FİZYOPATOLOJİ

### 2.2.4.1 SEREBRAL VAZOSPAZM VE GECİKMİŞ BEYİN HASARI

SAK sonrası gelişen VS'ye bağlı bu kötü akıbet halen çok zayıf anlaşılabilmiştir. Bu yüzden vazospazm konusu medikal çevrelerde halen günceldir ve tazeliğini korumaktadır. Sekonder beyin hasarının oluşumunda iki ana faktör öne çıkmaktadır. BKA düşmesine bağlı global iskemik hasarla seyreden erken beyin hasarı ve kafa içi basınç artması ve bunlardan daha sonra ortaya çıkan vazospazm öne çıkan faktörlerdir (11).

Gecikmiş VS, SAK hastalarının %70'inde gelişir ve bunun %20-30'u semptomatiktir. Gecikmiş VS'nin subaraknoid aralıkta seyreden serebral arterlerin etrafında oluşan hematoma içeriğindeki hemoglobinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ve eritrosit bağımlı reaktif oksijen moleküllerinin peroksidasyona yol açtığı ve gecikmiş VS'yi indüklediği görülmüştür. Son çalışmalar gecikmiş VS'nin mekanizmasının oksihemoglobin içeren eritrositlerden salınan serbest radikallerin vasküler düz kas hücrelerinin membranlarındaki lipid peroksidasyonunu indüklediği ve bunun sonucunda kalsiyum kanallarının, protein kinaz C'nin ve Rho-Kinaz'ın aktivasyonu yoluyla olduğunu ortaya çıkarmıştır (59).

Serebral Vazospazmı oluşturan, sinyal transdüksiyon yollarında gelişiminde kritik rol oynayan, myosin light chain kinaz (MLCK), protein kinaz C ve Rho-kinaz gibi birçok protein kinazlardır. Rho/Rho-kinazın upregülasyonu serebral iskemi meydana geldiğinde sadece damarlarda değil iskemik beyin dokuları ve nötrofillerde de gözlenir. Serebral dolaşımda hemodinamik disfonksiyonun ya da SAK gibi iskemik SVO'lar sonrası inflamatuvar süreçlere bağlı sekonder hasarın oluşumunda, Rho-kinaz'ın rol oynadığı düşünülmektedir (60).

Hücre ekstraselüler stimulus ile uyarıldığı zaman, sinyal transdüksiyonu meydana gelir ve sinyal nükleusa kadar gelir, hedef genler up ve ya down regülasyona uğrayarak birçok biyolojik etkiler meydana getirilir. Birçok hastalık bu sinyal transdüksiyonu ile ilişkilidir. SAK sonrası koagülasyon, degradasyon ürünleri, endotelin ve inflamasyon, birçok moleküler sinyal üretir. Bu yollardan mitojen aktive protein kinaz (MAPK) yolağı 3 adet protein kinaz kaskadından biridir. Her biri fosforilasyon ve hücre cevabını tetikleyecek downstream aktivasyondan sorumludur. Raf-1 kinaz, MAPK'nin ve beyin hasarı ve VS ile ilişkili birçok sinyal protein ailesinin önemli bir üyesidir. Bir çalışmada sıçan sisterna magnasına kan enjeksiyonu ve VS önleme amacıyla raf-1 kinaz inhibitörü enjekte edilmiş ve VS de azalma

görülmüştür. Bundan dolayı raf-1 kinazın, serebral VS de raf-1/ERK1/2 ve Raf-1/NF-kB sinyal yolları üzerinden rol oynadığı düşünülmektedir (61).

Gecikmiş VS üzerine çeşitli çalışmalar yapılmış fakat oksidatif stresin gecikmiş VS'deki rolü hala eksik kalmış gözükmektedir. Nicaveren, ebselen ve edaravone gibi serbest radikal temizleyicilerin serebral VS önlenmesinde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Serbest radikallerin ölçümleri de yapılmış fakat ölçüm aletleri pahalı ve saklama koşulları zor olduğundan dolayı oksidatif stresin ölçümü için vücuttaki oksidasyon ürünleri ölçülmekte ve total oksidan ve antioksidan kapasite hesaplanarak oksidatif stresin patogenezi araştırılmaktadır (7).

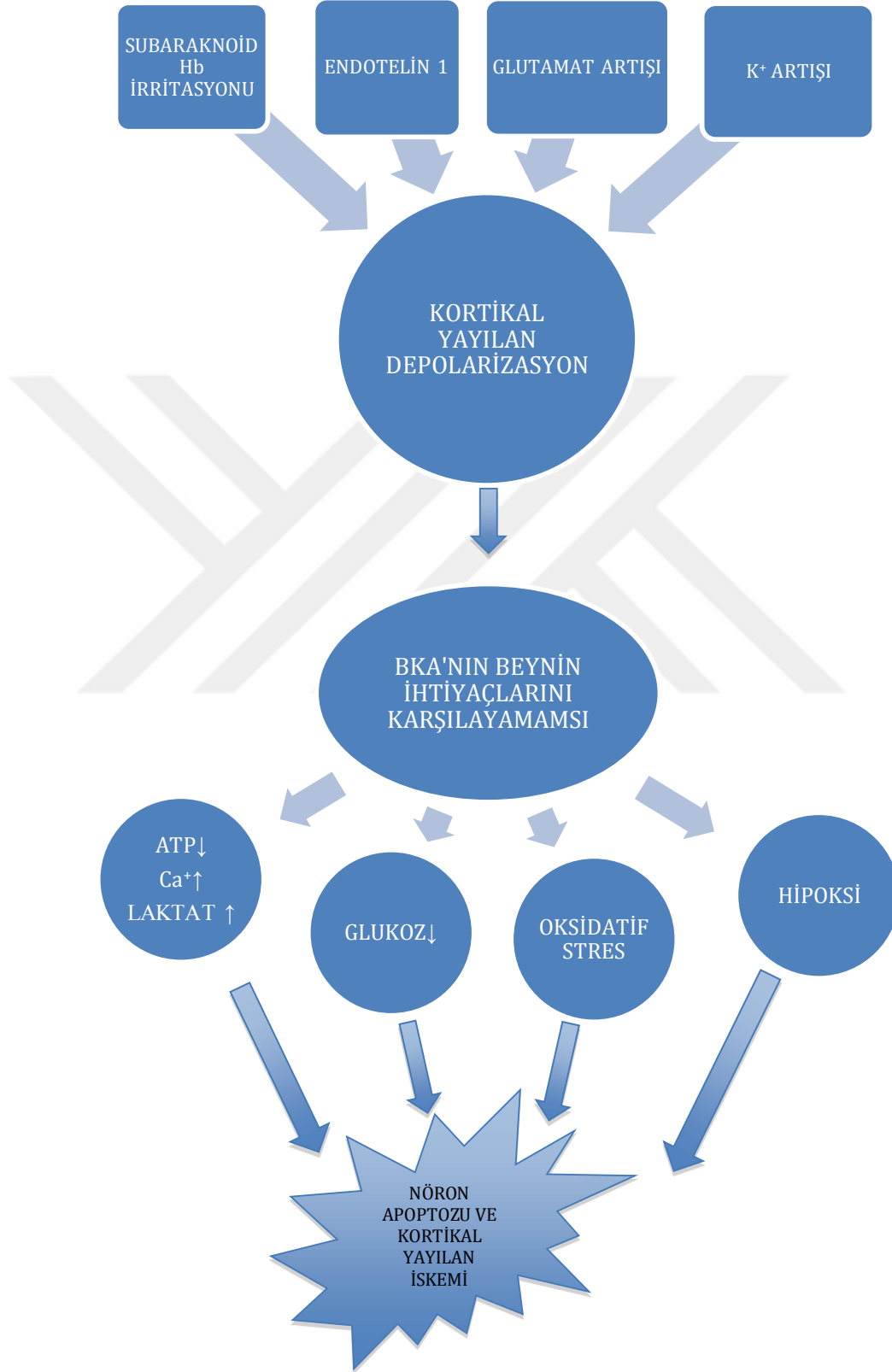
SAK'a bağlı gecikmiş VS ve oksidatif stres arasındaki korelasyonu araştırmak için, hidroperokside İnternal Juguler Venöz Kan'da (İVJK) d-ROM testiyle ölçülmüş ve İVJK'de yüksek oksidasyon ürünleri olan hastaların, gecikmiş VS ve serebral iskemi geliştirmeye daha yatkın oldukları saptanmıştır (62).

aSAK'ta damar çevresindeki apoptoz önemli bir rol oynamakta, vazospazmın sebeplerinden biri olarak ta apoptotik kaskadlar gösterilmektedir. Daha önce pan-kaspaz inhibitörlerinin VS'yi azalttığı gösterilmiştir. Apoptozun doruk noktası, sıçanlarda VS gelişimiyle koincidans göstermekte ve KİB yükselmesinin ve BKA düşüşünün, beyin hipoksik kalmasına sebebiyet verdiği artık bilinmektedir. Sadece p53'ün inhibisyonu VS'yi yeterli derecede engellememiş, bu yüzden diğer apoptotik yolların da inhibisyonunun gerekli olduğu varsayılmıştır (10, 11).

Bir çalışmada VEGF'nin serebral hemisferlerde ciddi miktarda artışının, vazospazma bağlı beyin iskemisinin bir belirteci olduğu söylenmiştir. Buna dayanak olarak ta beyinde iskeminin indüklediği anjiyogenezin indüksiyonu gecikmiş bir durum olduğu ve muhtemelen endotel hücrelerinin uzun süreli hipoksiye maruziyetini kompanse etmek için oluştuğu gösterilmiştir (63).

SAK sonrası BOS'ta seramid değişiklikleri olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Seramidler, özellikle de C18:0 SAK sonrası incelenen BOS'ta artmış bulunmuş, bu da BOS'ta C18:0 yüksekliğinin, serebral VS ve kötü nörolojik akıbet ile ilişkili olduğunu savundurmaktadır (64).

Bir başka çalışmada ise SAK geçirmiş ve vazospazm tablosunda olan bir hastanın BOS örneğini sıçanlara sisterna magna enjeksiyonu yapılarak verilmiş ve vazospazm oluşturulmuş. Buna dayanarak ta ET-1'in vazospazmdaki önemi bir kez daha vurgulanmıştır (65).



Şekil 3. Nöron Apoptozu ve Kortikal Yayılan İskeminin Oluşumu

#### 2.2.4.2 ET-1

Gecikmiş Serebral Vazospazm'ın, akut fazda, inflamatuvar değişiklikler ve gen ekspresyon modifikasyonuna bağlı düz kas hücrelerinin çok uzun kasılmış olmaları ve endotelial hipertorfinin sonucu olduğu düşünülmektedir (66). Musküler tabakada nekroz ile birlikte adventisyada inflamatuvar hücrelerde artış gözlemlenir. Kronik fazda düz kas hücrelerinde proliferasyon karakteristiktir. Bu değişikliklerin muhtemel sebebi de ET-1'dir. Sonunda da serebral iskemiye ilerler (67).

#### 2.2.4.3 OKSİDATİF STRES

SAK sonrası gelişen sekonder hasar mekanizmalarının önemli bir bileşeni oksidatif strestir. Beyin dokusu böyle hasarlara daha fazla yatkındır. Bunun sebebi, beyin hücrelerinde membranın sitoplazmaya oranla daha büyük olması, bellibaşlı biyokimyasal reaksiyonlarla serbest oksijen radikallerinin daha fazla üretilmesi, nöronların oksidatif metabolik aktivitelerinin fazla olması, beyindeki hücrelerin membranlarının lipid bakımından zengin olması, antioksidan enzim aktivitelerinin nöronlarda daha düşük olması, nöronların bölünememesidir. Bütün bu özellikleri nedeniyle oksidatif hasara daha yatkın olan nöronların korunma ihtiyacı da diğer dokulardan daha fazladır (68).

Serbest radikaller en dış kısmında serbest elektronu bulunan kimyasal bileşiklerdir. Bu özellikten dolayı serbest radikal molekülleri çok reaktiftir. Bütün aerobik canlılar mitokondrideki elektron transport zincirinde serbest radikalleri oluşturabilir. Doğal antioksidanlar da, serbest oksijen radikallerini deforme ederler. Bu olaylar normal bir hücrede dengeli bir şekilde devam eder. SAK ve vazospazm gibi iskemi yaratan olaylarda serbest oksijen radikallerinin üretimi artar (69).

Serbest radikaller hücreyi, hücredeki enzim, organel membranları ve önemli proteinlerle reaksiyona girip denatüre ederek ya da membranlarda bulunan lipidleri perokside ederek hasara uğrattır (70). Normal şartlarda doğal savunma mekanizmaları tarafından nötralize edilen serbest radikallerin fazla miktarda oluşması iskemi sonrası nöronların dejenerasyonu ve ölümünde önemli bir rol oynar (71).

Serbest oksijen radikalleri serebral vazospazmdan sonra oksidatif hasarın oluşumu ve artmasındaki önemi büyüktür. Araşidonik asit metabolizması, mitokondriden kalsiyum çıkışı, ksantin oksidaz aktivasyonu, ekstrasvaze olan hemoglobin etkileri ve katekolaminin

otooksidasyonu üzerinden etki gösterirler. İskemi sonucu artan serbest radikallerin en etkin kaynağı araşidonik asit yoludur. Hücre içine kalsiyum girişi ile proteazlar ve lipazlar aktive olur (fosfolipaz A2, lipooksigenaz ve siklooksigenaz). Sonuçta, aktifleşen bu enzimler ile araşidonik asit; tromboksan A2, prostaglandinler, lökotrienler ve serbest aminoasitlere dönüşür. Bu ürünler ise serbest oksijen radikallerini üretir (72).

Hücre membranı oksidasyona duyarlı ve doymamış yağ asitleri fazla olan fosfolipidlerden zengindir. Serbest radikaller, oksijen varlığında doymamış yağ asitlerinin çift bağlarını kırarak zincirleme bir reaksiyon meydana getirirler ve hücre zarının stabilizasyonunu bozarlar, permeabilityyi arttırlar ve en sonunda membran potansiyeli oluşturabilme yeteneğini bozarlar. Bu da hücre içinde daha da fazla miktarda kalsiyum birikmesine neden olur ve hücre ölümü gelişir (73).

#### **2.2.4.4 APOPTOZ**

Apoptoz, gelişmiş organizmalarda artık gerek duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerin çevreye zarar vermeden yok edilmesini sağlayan, genetik olarak kontrol edilen bir olaydır. İlk keşfedildiğinde apoptozun sadece fizyolojik formu olduğu düşünülmekteydi. Şu an patolojik süreçlerde de aktif rol aldığı bulunmuştur.

Nöronlar bölünemediği için çoğalamayan hücrelerdir. Bu yüzden ömür boyu yaşarlar. İskemi-reperfüzyon hasarı gibi çeşitli yaralanmalar sonucu meydana gelen hasarlarla dokulara yeterli besin sağlanamadığı durumlarda hücreler apoptoza giden bir yola girer ve hasar devam ettikçe apoptozun hızı artar (74).

Memeli hücrelerinde başlıca iki tane apoptoz yolu vardır;

##### **a)Mitokondriyal yol(instrinsik yol)**

Mitokondri iç zarından sitozole salınan sitokrom c, apoptozun mitokondriyal yolunu başlatır. Sitozoldeki sitokrom c; apoptoz aktive edici faktör-1, kaspaz-9 ve deoksiadenozintrifosfata bağlanır ve sırasıyla; kaspaz-3 aktivasyonuna, daha sonra poli ADP-riboz polimeraz gibi substratından ayrılmasına, endonükleazların aktivasyonuna ve son olarak DNA'nın hasarına yol açar (75).

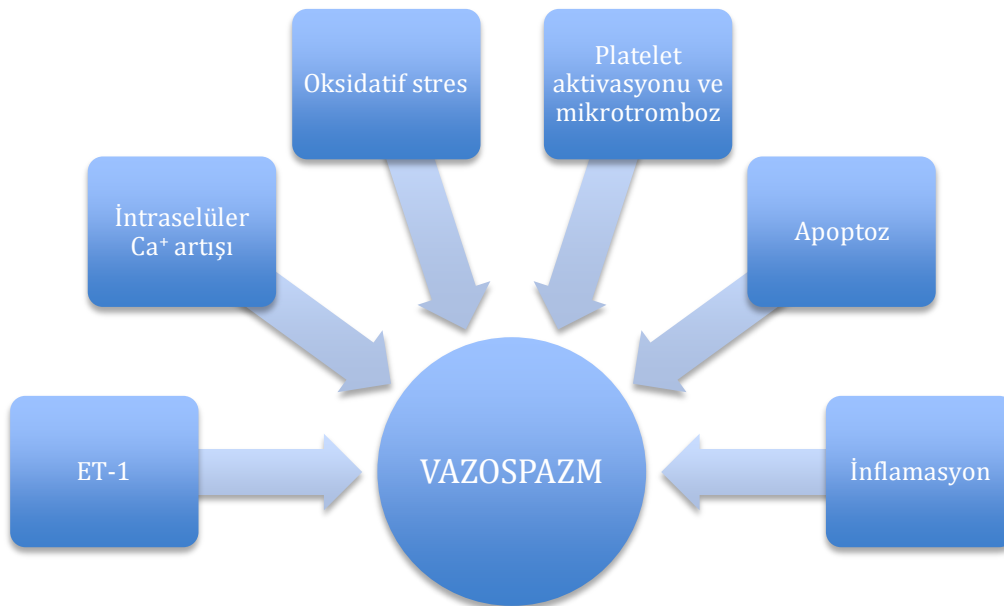
##### **b)Fas/TNF-R reseptör yolu (Ekstresek yol)**

Hücre membranındaki apoptoz reseptörlerine (Fas, TNFR, DR5) apoptoz sinyallerinin (FasL, TNF-alfa, TRAIL) bağlanması sonucunda reseptörler trimerik yapı oluşturur. Trimerik yapıya geçen reseptör; adaptör molekülleri ve prokaspazla birleşerek DISC (Death inducing

signaling complex) adlı yapıyı meydana getirir. Bu kompleks oluşumundan sonra inaktif durumdaki prokaspaz-8'den aktif kaspaz-8'in oluşturulur. Aktif kaspaz-8 doğrudan veya dolaylı olmak üzere 2 yolla kaspaz-3'ü aktive eder ve apoptoz başlamış olur. Kaspaz-8 ya direkt kaspaz-3'ü aktive eder ya da dolaylı olarak intrinsik mekanizma ile kaspaz-9'u aktive ettikten sonra kaspaz-3'ü aktive eder. Her 2 yolla da aktive olan kaspaz-3 DNA fragmentasyonuna sebep olur. Fas ve TNF alfa dışında TRAIL ve TRAIL reseptörleri de benzer yolla apoptozu uyabilir (76-78).

Hücrede herhangi bir nedenle (radyasyon, kemoterapi, iskemi) DNA hasarı olduğunda eğer hasar düzeltilebilecek düzeyde ise hücre döngüsü G1 fazında durdurulur ve DNA tamiri için zaman kazandırılır. Eğer DNA hasarı düzeltilemeyecek kadar büyükse bu durumda aktive olan bazı genler, hücrenin apoptozuna neden olabilir. En önemlisi p53 genidir ve bu gen DNA tamiri yapan proteinlerin transkripsiyonunu sağlar. Bu proteinler DNA hasarını tamir edebilirse hücre siklusundaki blok kalkar (79). Hücre hasarının tamiri başarılı olmazsa p53 geni bax proteinini (pro-apoptotik) aktive ederek mitokondri aracılığı ile hücrenin apoptozu giderek ölmesini sağlar. Böylece DNA hasarlı hücre ortadan kaldırılmış olur (79).

Bir hücrede hücre içi bcl-2/bax oranı hücrenin apoptozu gidip gitmeyeceğine karar vermede son derece önemlidir. Eğer oran bax (proapoptotik gen) tarafında yüksek ise hücre apoptozu gider, bcl-2 (antiapoptotik gen) tarafında fazla ise apoptozu inhibe olur (80).



Şekil 4. Vazospazm fizyopatolojisi

### 2.2.5 KLİNİK ÖZELLİKLER

Vazospazm 3. günde başlar 6-8. günlerde pik yapar, 14. gün civarında da son bulur. Vazospazmın şiddetiyle hastaların enfarkt olması arasındaki kuvvetli ilişki Crowley tarafından gösterilmiştir. CONSCIOUS-1 çalışmasında anjiyografik vazospazm ile yeni serebral enfarkt oluşumu arasındaki güçlü birliktelik ortaya konulmuştur. Gecikmiş serebral vazospazmın patofizyolojisi halen yeterli anlaşılammış fakat EBH, inflamatuvar yolakların aktivasyonu, oksidatif stres, apoptoz ve elektrolit değişikliklerinin önemli rolleriyle ilgili birçok mekanizma bulunmuştur. sVS kliniği birçok farklılık gösterebilir. sVS asemptomatik olabileceği gibi semptomatik olduğunda da tutulan damarın lokalizasyonu, kollateralinin varlığı, VS şiddeti, hastanın yaşı eşlik eden hidrosefali ya da DM gibi komorbidite olup olmamasına göre kliniği değişir (81, 82).

Çoğu hasta EBH'den kurtulup birkaç gün sonra kötüleşir. GBH demek 3-14 günler arasında olan EBH'nin direkt sonucu olan ve GBH'ye götüren kritik olaylara denir. GBH ilk tedavisi ve ameliyatı yapılmış olan %30 hastada kötü akıbet ve ölüme sebep olur. SAK sonrası GBH, beyin hasarı ve sekellerin önemli bir sebebidir. SVS GBH'nin tedavi edilebilen bir sebebidir. SVS'ye bağlı beyin iskemisinden kurtulmak arteriyel basıncı arttırarak, vasodilatatör kullanarak ya da anjiyoplasti yaparak mümkündür.

GBH'nin başlangıç semptomları bilinç seviyesinde azalma, yeni fokal defisit, ya da her ikisidir. VS her zaman enfarkta ilerlemeyeceği gibi(%70) , VS olmadan serebral enfarktlarda bildirilmiştir (13, 44).

GİND için yüksek riskli dönem rüptür sonrası 4-10. günlerdir, patogenezi halen tam aydınlatılamamış fakat sebebin serebral VS olduğu düşünülmektedir. Son yüzyıl boyunca vazospazmın aSAK hastalarında kötü prognozun en önemli nedeni olduğu konusunda yaygın bir uzlaşma vardı. Son on yılda kanıtlar ve araştırmalar gösterdi ki vazospazm GBH ve GİND'yi ana oluşturan faktörlerden olabilir fakat oluşması için %100 gerekli değildir. Hatta serebral VS anjiyografik olarak negatifken serebral enfarkt oluşabileceği saptanmıştır (83).

Mikrosirkülasyon disfonksiyonu ve vazospazm: proksimal damar spazmdan farklı bir süreçtir. Normalde otoregülasyon BPB'deki düşmeyi parsiyal vazodilatasyon yaparak kompanse eder. SAK mikrosirkülasyon bozukluğu, kapillerlerin spazmına, vazokonstrüksiyona ve küçük damarlarda patolojik değişiklikler yaparak enfarkta neden olur.



Dahası aSAK sonrası koagülasyon kaskadları aktive olur ve diffüz mikrotrombüs oluşur. Fibrinopeptid A, doku faktörü, trombin-antitrombin komplekslerinin konsantrasyonları GBH gelişen hastalarda çok yükselmiştir. Beyin doku oksijen basınç reaktivite indeksini kullanarak Jaeger bozulmuş otoregülasyonun GKS skoruna göre kötü akıbetli hastalarla ne kadar yakın ilişkili olduğunu göstermiş. Bozulmuş otoregülasyon gecikmiş enfarkt gelişecek hastaları öngörebilir (84).

Kortikal Yayılan İskemi: Nöronal/glial depolarizasyonun direkt sonucudur. Normalde kanamadan 72 saat sonra gelişir. KYD'nin direkt sonuçları ATP depolarında tükenme, elektrolit imbalansı, beyin ödemi ve nöron ölümü, metabolik ihtiyaçların artmasına karşın BKA'nın azalmasındaki bozukluğun uzamasıdır ve bu da çok geniş kortikal nekroza sebep olur (85).

Orta serebral artere bağlı kortikal ve perforatör enfarktlar, bağımsız olarak MoCA(The Montreal Cognitive Assessment), MMSE(The Mini-Mental State Examination) ve MRS(The Modified Rankin Scale) ile ilişkilidir. Bu iki parametre GBH'nin şiddeti için potansiyel marker olabilirler ve kognitif akıbet prognozunda kullanılabilirler (86).

aSAK'tan hayatta kalan hastaların yaklaşık yarısı nörolojik defisit ya da kognitif gerilemeden muzdariptir. Rüptüre anteriyor serebral arter anevrizması kliplene operasyonundan sonra nörofizyolojik testler GKS skoru iyi olan akıbeti iyi olan hastalarda bile bozukluk saptar. Kurtulan hastaların yarısı eski işine geri dönemez. Dahası, MRG'nin saptayabildiği frontotemporal parankimal lezyonlar aSAK sonrası sıktır ve muhtemelen kliplenede endovasküler tedaviye oranla daha sık gözlemlenir. Dahası lezyonun hacmi ile test performansı korelasyon gösterir (87, 88).

aSAK sonrası opere olan ve iyi ya da orta klinik akıbet beklenen hasta popülasyonunda talamik ve pontin atrofinin eşlik ettiği bilateral frontotemporal kortikal atrofi saptanır. Hipokampusun ve kaudat nükleusun atrofi operasyon yapılan ipsilateral tarafında saptanır. Gri madde atrofi bu defisitlerde ve frontal disfonksiyonda kimsen rol oynayabilir (87).

Mental sekelleri saptamada GKS yetersiz kalmakta. aSAK hastalarında amnezik sorunlar, çabuk yorulabilirlik, konsantrasyon bozukluğu, hafıza disfonksiyonu, duygusal labillikler, motivasyon kaybı oluşabilir. Bu çalışmada %59 hasta 12 ay süreyle organik

psikiyatrik bozukluğu yaşamış. Asteno-emosyonel disorder (AED) bunlar arasında en sık gözükene ve en yüksek iyileşme oranına sahip olandır (89).

### **2.2.6 RADYOLOJİK (ANJİYOĞRAFİK) VAZOSPAZM**

Radyolojik VS, DSA, MRA ya da BTA'da serebral arterlerde darlık saptanmasıdır. Semptomatik olabileceği gibi asemptomatik de olabilir. aSAK'taki prevalansı %67'dir. Tipik olarak 3-14. günlerde görülür 7-10. günlerde pik yapar. aVS olanların sadece %20-30'u klinik semptom verir (50).

Anjiyografik VS ile GBH arasında korelasyon olmasına rağmen enfarkt oluşumunda az kollateral olması, mikrovasküler VS, oksidatif stres ve mikrotromboz gibi birçok faktör rol oynamaktadır. Dolayısıyla anjiyografik VS tek başına mortalite ve klinik akıbeti belirleyen bir faktör değildir. Ayrıca GBH, anjiyografik VS'den bağımsız olarak da meydana gelebilmekte (1, 45, 90, 91).

### **2.2.7 TANI**

Serebral vazospazmın yönetiminde önemli bir problem erken tanıdır. Serebral vazospazmın klinik kanıtları oluştuğu zaman iskemik olaylar çoktan oluşmuş ve tedavi şansı kaçırılmış olur. Diğer taraftan konservatif ve invazif tedavi modaliteleri de bazı riskler doğurabilir, bu yüzden tüm SAK hastalarına rutin olarak uygulanamaz. Bu sebepten ötürü, nörolojik akıbeti iyileştirmek için, agresif tedaviden fayda görebilecek serebral enfarkt riski altındaki hastalarda erken tanı her şeyden önemlidir (92).

VS'nin hem klinik hem radyolojik varyantları vardır. Görüntülemesinde DSA, MR Anjiyografi (MRA), BTA kullanılır. TKD USG'de VS görüntülemesinde kullanılır. Radyolojik VS ve klinik VS arasında her zaman farklılıklar vardır (93).

VS, TKD USG veya DSA ile %70 saptanabilir. DSA halen altın standarttır ve TKD USG de çok yaygın kullanılmaktadır. İkisinin de dezavantajları vardır. DSA invazif ve girişimsel nöroradyolog gerektirmektedir ve nefropati ve SVO riski oluşturur. SAK'lı olup SVO gelişen %25 hastada sVS'yi tanıyamaz. TKD USG ise yapana bağımlıdır ve kısıtlı bilgi verir. Sensitivitesi ve spesifitesi semptomatik VS için %70-80 dir (13).

TKD USG serebral vazospazmın tanısında halen en geniş kullanıma sahiptir (94). TKD USG'de vazospazmın erken gelişimi, endovasküler tedavide papaverine direnci için prediktördür. Bu bulguya dayanarak TKD USG'de erken vazospazm gelişimi vazospazmın şiddeti için prediktör olarak değerlendirilmelidir (95).

Sedasyon ya da komadaki hastada klinik takip olanaksızdır ve TKD USG'nin sensitivitesi de düşüktür (96). Proksimal damarlardaki kan akımını ölçebilmektedir. Seçilmiş hastalarda perfüzyonu görmek için beyin BT en uygun yol gibi gözükmemektedir (97).

Genel görüş birliği ek görüntülemenin rutin yapılması yönündedir. Mesela KİB, BPB, BKA, EEG, TKD USG, DSA, BTA, BT perfüzyon gibi. TCD USG, GBH'de proksimal arterlerde sensitivitesi ve spesivitesi iyidir. DSA geniş damarlardaki VS'yi görüntüleme de altın standarttır. BTA'da yaygınlaşmakta. BT perfüzyon da BTA'ya ek olarak çekilebilir. Sürekli EEG monitorizasyonu noninvasif şekilde epileptiform dalgaların varlığını izlememizi sağlar. Kötü durumdaki, muayene ile takip edilemeyen hastalarda yararlıdır (44).

Prospektif bir çalışmada büyük arterlerdeki VS'yi tetkik edebilmek için transkranyal color-coded sonografi (TCCS) kullanılmış. Ve bulunmuş ki; büyük damarlardaki VS hastalarda serebral otonöregülasyonun bozulması ve düşük grade SAK'ta GBH gelişiminde çok güçlü prediktiftir (98).

## **2.2.8 TEDAVİ**

### **2.2.8.1 CERRAHİ TEDAVİ**

Cerrahi tedaviyi iki başlıkta incelemek gerekir. 1) Anevrizma cerrahisi: Anevrizma cerrahisi çok geniş bir konu olmakla birlikte VS ile ilgili olan kısmı kliplleme veya koilleme tercihidir. Bu tercihe göre VS gelişme riski değişkenlik gösterir. 2)VS tedavisi: VS tedavisinde cerrahinin şu an yeri çok sınırlıdır. Ancak dolaylı etki edecek tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. VS riskini arttıran hematoma boyutu ve kan miktarını azaltmaya yönelik operasyonlar (kraniyotomi ile hematoma boşaltılması, EVD takılması, lomber drenaj takılması,... gibi). KİB'i kontrol etmeye yönelik operasyonlar (dekompresif kraniyotomi+duoplasti gibi) yapılabilir.

Bir çalışmada lomber drenaj bazal sisternalardaki kanı boşaltmada EVD'ye göre daha etkili bulunmuş. Lomber drenaj (LD) ile EVD'yi karşılaştıran bu çalışmada, LD takılı olan hastalar klinik VS insidansında, anjiyoplasti ihtiyacında ve vazospazma bağlı enfarkt gelişiminde azalma sağlamış (99).

### **2.2.9.2 MEDİKAL TEDAVİ**

VS'nin önlenme ve tedavisinde anjiyografik tedavilerden daha çok seçenek medikal alanda mevcut olmasına rağmen halen tümüyle etkili bir ajan bulunmamaktadır. Terapötik stratejiler vazospazmı önleyerek hasarı azaltmak ve akıbeti iyileştirmek için tasarlanmıştır.

Üçlü H terapisi 30 yıldır GBH tedavisinde güven kazanmıştı ve genişçe uygulanmaktaydı. Hâlihazırda profilaktik hipervolemik tedavi anevrizma kliplenmesi sonrasında yapılan, kontrollü çalışmalarda sıvı balansını dengede tutanlara göre serebral kan akımını arttırmada ya da klinik akıbeti iyileştirmede bir faydası gösterilmemiş. aSAK hastalarında pozitif sıvı balansı bağımsız olarak fonksiyonel akıbeti kötüleştirir. Bu sonuçta, kardiyopulmoner komplikasyonların da rolü vardır (100, 101). Hemodilüsyon: Oksijen transportunu bozarak iskemik alanları artırır. Hemoglobinin yüksek değerinde olduğu hastalarda enfarktın, kötü akıbetin ve ölüm oranının azaldığı görülmüş. Fakat kan transfüzyonu yapılanlarda da vazospazm ve iskemi artmış. Hipertansiyon: İndüklenmiş hipertansiyonun beyin oksijenizasyonu üzerine çok faydalı olduğu görülmüş (102). Kardiak output ayarlanması: Dobutamin ile hipertansiyon, fenilefrin ile indüklemeye göre daha güvenli ve tolere edilebilen bir yöntemdir (103).

Kalsiyum kanal blokörleri: Mevcut tedavi protokolleri, hiperdinamik tedavi ve YBÜ haricinde, nimodipinin profilaktik kullanımını içeriyor. Sebebi de dihidropiridin tipi kalsiyum kanalını bloke etmesi ve vasküler düz kas hücresine kalsiyum girişini engelleyerek vazospazm gelişimini azaltmasıdır. KKB'lerin nöroprotektif etkileri de var ve anjiyografik kanıt olmaksızın vazodilatasyon yapabilirler (4).

Klinik kanıtlar öneriyor ki kalsiyum kanal blokörleri damar düz kas kontraksiyonunu kısmi şekilde inhibe ederler. İşte bu yüzden oral veya i.v. nimodipin VS önlenmesinde ya da tedavisinde kullanılır. Nimodipin bugüne kadar akıbeti iyileştirdiği kanıtlanmış tek tedavi. Nimodipine L-tipi KKB'dir ve SAK sonrası 21 gün süreyle kullanılır. Sürekli nikardipin tedavisi de etkilidir ama yan etkileri fazladır (12).

Magnezyum sülfat: Nöroprotektif ve vasodilatatördür. İnflamatuvar süreci azalttığı görülmüş. Fakat fayda etmediğini savunanlar da var (104). ET-1 Reseptör Antagonistleri: İki randomize çift kör clozasentan çalışması da hayal kırıklığı sonuçlar vermiştir (91, 105). Milrinon: İnotrop olarak etkilidir. Antiinflamatuvar etkinliği de vardır (106). Östrogen (E2) de güçlü bir vasodilatatördür. E2 antioksidan etkinliğiyle ROM'ları temizler, TNF $\alpha$  ekspresyonunu azaltır (107). NO donörleri: Deneysel çalışmalar yapılmış, primatlarda serebral vazospazmı engellemiş. Yarı ömrü kısa ve toksisitesinin çok olmasından dolayı şu an için klinik kullanımı imkânsıza yakındır (108). NSAİD: Halen rutin kullanılmazlar. Buna rağmen inflamatuvar yanıtta azalma ve kötü sonuçların oranının azalmasını sağlayabilirler (111).

Antioksidanlar: Metilprednisolon ve tirilazad mesilat gibileri oksidatif stresi ve EBH'yi önler. Dolayısıyla 1 yıllık fonksiyonel akıbete sınırlı olumlu etki eder. Dahası serbest radikal temizleyiciler gecikmiş iskemik hasarın insidansını düşürür. Yakın zamanda astaxanthin (ATX) molekülünün antioksidan özelliğinden faydalanarak, ratlarda yapılan çalışmada, SAK sonrası EBH'yi yüksek oranda engellediği, beyin ödemi, KBB ayrışmasını, nöral hücre apoptozunu ve nörolojik disfonksiyonu azalttığı gösterilmiş. Aynı zamanda yan etkisinin de olmadığı iddia edilmiş (109, 110).

Antiplatelet ajanlar ve Antitrombotikler: Bir çalışmada aspirin kullanan hastalarda serebral enfarkt riskinin azaldığı, bir başka çalışmada ise siklooksijenaz inhibitörü kullanan hastalarda hemorajik kan miktarının arttığı gösterilmiştir. Serebrovasküler mikrotromboz da son zamanlarda terapötik araştırmaların bir diğer hedefi haline geldi. ADAMTS-13 trombüs formasyonunu inhibe eder ve inflamatuvar cevabı baskılar. Deneysel modellerde vazospazmı etkilemeden nörolojik performansı iyileştirdiği ve mikrotrombotik süreci azalttığı gösterilmiş (112).

Statinler: aSAK sonrası akut dönemde kullanımları hakkında halen tartışma vardır. İnflamasyonu azaltır ve eNOS ekspresyonunu modüle ederek vasodilatatör maddelerin salınımını artırır. Bazı çalışmalar serebral vazospazm ve mortalite oranının azaldığını da söylüyor (113, 114). Akut pravastatin terapisinin, aSAK sonrası total tedaviye ihtiyacı azaltmakta, hastane yatışını kısaltmakta etkili olduğu bulunmuş (114).

İntraarteryel tedaviler:

Papaverin: İlk defa 1992'de kullanılmış (115). Çoklu vaka serilerinde anjiyografik vazospazmı, TKD USG'de ve klinik olarak düzelttiği gösterilmiş. Aynı zamanda BKA'yı, serebral dolaşımı ve serebral oksijenizasyonu iyileştirdiği de gösterilmiş (116). Yeni çıkan tedavilerin yan etkilerinin daha az olması ve daha etkili olmaları nedeniyle son yıllarda kullanımını oldukça daralmıştır.

Milrinon: Pozitif inotrop ve vasodilatatör etkili. Bir çalışmada tüm 7 hastada da tatmin edici bir vazodilatasyona ulaşılmış. Yakın zamandaki çalışmalarda da SAK ile indüklenen vazospazmda güvenli ve efektif olduğu gösterilmiş (117).

Nimodipin: İ.a. Nimodipin infüzyonundaki sonuçlar, ilacın en yüksek değere ulaşma zamanının ve ortalama transit zamanının müdahale sonrası 1 günü bulduğu, sonrasında VS'nin iyileştiğini bunun yanında iyileşmenin geçici olup hastaların %61'inde fazlasında enfarkt oluştuğunu göstermekte. Başka bir çalışmada da sürekli intraarteryel nimodipin tedavisinin güvenli ve uygulama imkânı olabilecek bir metot olduğunu göstermiş. Bu tedavinin akıbeti iyileştirdiğini savunmuştur (118, 119). Nikardipin: İntraarteryel kullanım için güvenli ve efektif bir metot olduğu saptanmıştır (17, 120, 121).

Fasudil hidroklorid: Anjiyografik ve semptomatik vazospazmda ve kötü akıbette iyileşme saptanmıştır (122). Colforsin daropate hydrochloride: Bu ilaç ile yüksek oranda klinik ve anjiyografik iyileşme sağlanmıştır (123).

İntratekal tedaviler: aSAK ile indüklenen VS'nin tedavi ve önlenmesinde intratekal nikardipin'in güvenliliği ve etkinliği klinik çalışmalarda kanıtlanmıştır (124, 125). tPA veya ürokinaz uygulanması aSAK hastalarında vazospazm insidansını azaltmakta (126). Aynı zamanda bu tedavinin, beraberinde intratekal uygulanan diğer tedavinin etkinliğini de arttırdığı düşünülüyor.

Profilaksi: Nimodipinin profilaktik kullanımının GBH gelişme riskini düşürdüğü ve fonksiyonel akıbeti düzelttiği gösterilmiştir. Anjiyografik VS frekansını azaltmadan nöroprotektif etki gösterir. Hipotansiyon yan etkisidir (45, 50).

Tedavi yönetimi: Tüm hastalar nimodipin ve övolemi ile tedavi edilir. YBÜ'ye alınır. Serebral iskemiyi düşündürecek bir nörolojik kötüleşme olursa 1 litre bolus izotonik verilir ve

norepinefrin ile hipertansiyon indüklenir. Düzelmese DSA ile endovasküler tedavi de yapılır. Hipertansiyon süresi en az 72 saat olmalıdır.

SAK hastaları sıklıkla sıvı kaybedip negatif balansa düştüğünden sıvı hesaplaması iyi yapılmalı. Profilaktik hipervolemi artık uygulanmaz. Sıvı balansı ve santral ven basıncı takibi sıkı yapılmalı. GBH tanısı kolay değildir. Görüntüleme yöntemlerinin ve klinik muayenenin kombinasyonu gerekir. YBÜ bakımı ve 2 saatte birden daha sık takip gerekir. Ek olarak postoperatif 24-48 saatte tüm hastalara beyin BT çekilmeli (127).

Akut KİB yükselmesinde hiperventilasyon tedavi amaçlı kullanılabilir. Akut dönemde uygun olsa da, travmatik beyin hasarında kötü nörolojik akıbet ve ölüm riskini arttırmakla ilişkilendirilmiştir. Orta şiddette beyin hasarında hiperventilasyon cevap olarak oluşabilir ve kötü nörolojik akıbete sebebiyet verebilir. Hiperventilasyon serebral vazokonstriksiyona yol açarak serebral kan akımını azaltır. KİB düşer fakat serebral perfüzyon da azalmış olur bu da serebral iskemiye yol açar . Bir başka çalışmada da spontan hiperventilasyon SAK hastalarında gecikmiş beyin hasarı ve kötü nörolojik tablo ile taburculuk ile ilişkili bulunmuştur (128-130).

Yeni ve alternatif tedaviler:

Neuroflo kateter: Bu yöntem ile klinikte düzelmeye olduğu saptanmış. Aynı zamanda da güvenli bir yöntem olduğu bildirilmiştir (131).

BrainsGate: Köpek çalışmalarında etkili ve güvenli bulunmuş olsa da henüz insan çalışması bulunmamaktadır (132).

### **2.2.8.3 ENDOVASKÜLER TEDAVİ**

Serebral VS tanısında DSA altın standarttır. Hangi arterin ne derece spazmda olduğunu söylemesinin yansıra gerektiğinde terapötik etkinliği de vardır. Ulaşımı ve yapılabilirliği az olduğundan çoğu merkez rutin takip için TKD USG veya BTA kullanmakta lakin bu testlerin sensitivitesi DSA'dan düşüktür. Klinik durumu orta-iyi ve belirli klinik belirteçleri iyi olan asemptomatik aSAK hastalarında, VS için anjiyografik görüntüleme uygun olmayabilir. Semptomatik olanlar ve nörolojik skoru kötü olanlarda VS için DSA yapılması faydalı bulunmuştur (133-135).

## VERAPAMİL

İntraarteryel Verapamil: L tipi kalsiyum kanal blokörüdür. Kalsiyum girişini azaltarak düz kas hücrelerine etki eder ve vazodilatasyon yapar. Sinoatriyal nodun otomatitesini ve Atriyoventriküler nodun kondüksiyonunu süprese eder. Negatif inotrop etkilidir (103, 136, 137). Mekanik olarak indüklenen vazospazmın önlenme ve tedavisinde tavsiye edilir (15). İ.a. verildiğinde BKA'yı arttırır. Etkisi doz bağımlıdır ve 15-30 dakikada stabilize olur (14). Negatif inotrop etkisi olduğu için kan basıncını düşürebilir. Bunlar geçicidir ve infüzyon durdurulunca dakikalar içinde normale döner. Damar çapını genişletmede ve klinik iyileşmede de etkilidir (15, 16).

İntratekal tedaviler: aSAK tarafından indüklenen VS'nin tedavi ve önlenmesinde intratekal nikardipin güvenliliği ve etkinliği klinik çalışmalarda kanıtlanmış (124, 125). Fakat İntratekal verapamil'in etkinliğini gösteren bir çalışma henüz yapılmamış.

İntratekal verapamil daha önce birkaç deneysel hayvan modelinde kullanılmış. Bu çalışmalarda sıçanda ağrı modelinde kalsiyum kanallarının nosiseptif transmisyounun etkisine, intratekal morfin ile beraber verilen intratekal KKB'lerin kan basıncınında yaptıkları değişikliklere, KKB'lerin antinosiseptif etkilerine ve i.t. KKB'lerin, i.t. lokal anestetiklerin spinal anestetik etkilerini güçlendirme derecesine bakılmış fakat SAK sonrası gelişen serebral vazospazm üzerindeki etkiyi araştıran daha önce olmamış (138-141).



### 3) GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmada 18-20 haftalık, ağırlıkları 325-370 gr arasında değişen, daha önce herhangi bir deneyde kullanılmamış toplam 24 adet erkek erişkin Spraque - Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan sağlandı. Sıçanlar çalışma süresince oda ısısında ( $22 \pm 2$  °C) ve 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık ışık siklusunda ve %50-60 nem ortamında barındırılarak, standart pelet sıçan yemi ile beslenerek, suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı. Çalışmaya başlamadan önce sıçanlar bir hafta süreyle bu ortamda izlendi ve ortama uyum sağlamaları gerçekleştirildi.

Çalışma için Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 19.06.2015 tarih ve 2015/148 sayılı etik kurul onayı alındı.

#### 3.2 ANESTEZİ VE SIÇANLARIN HAZIRLANMASI

Deney hayvanlarına anestezi, cerrahi işlem öncesi 60 mg/kg ketamin hidroklorür (Parke Davis, İstanbul) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun % 2 solüsyon, 50 cc. flakon, Bayer-Türk İlaç Ltd. İstanbul) spontan solunumda arka bacadan intamusküler yolla uygulandı. Anestezi, ratlar ağrıya yanıtız olacak ve deney sırasında spontan solunumlarına devam edecek şekilde ayarlanmış, gerektiğinde ek doz verilmiştir.

Sedasyon sağlandıktan sonra sıçanların baş-ense kısmı traş edildi. Kuyruk proksimal 1/3 ventral yüzü alkol ile temizlendi ve her iki bölge batikon ile boyandı.

#### 3.3 DENEY GRUPLARI

Sıçanlar rastgele seçilerek, her bir grupta 8'er adet sıçan olmak üzere üç grup oluşturuldu. Sham grubu hariç diğer gruplara SAK uygulandı.

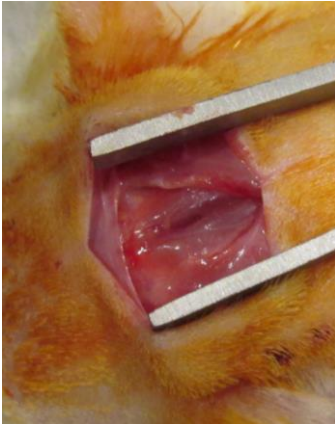
**Grup 1 (Sham) (n: 8) :** Kuyruk arter kanülasyonu ve 0,1 ml BOS aspirasyonu yapıp alınan BOS intratekal geri enjekte edilip cilt suture edilmiştir. Aynı işlem 48 saat sonra tekrarlanıp 7 gün sonra sakrifiye edilmiştir.

**Grup 2 (Kontrol) (n: 8) :** Kuyruk arter kanülasyonu ve BOS aspirasyonu yapıp 0,1 ml kan intratekal enjekte edilmiş ve cilt suture edilmiştir. Aynı işlem 48 saat sonra tekrarlanıp 7 gün sonra sakrifiye edilmiştir.

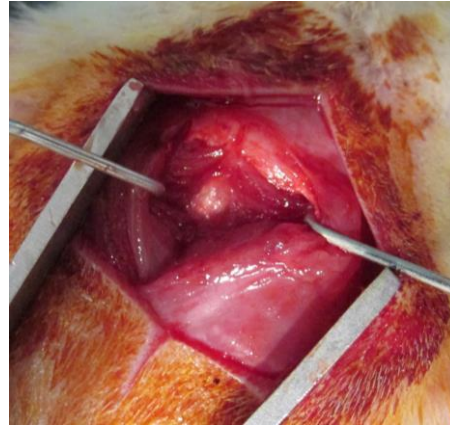
**Grup 3 (İntratekal Verapamil) (n: 8) :** Kuyruk arter kanülasyonu ve 0,2 ml BOS aspirasyonu yapıp 0,1 ml kan ve 100 µg/ 0,1 ml verapamil çözeltisi intratekal enjekte edilmiş ve cilt sütüre edilmiştir. Aynı işlem 48 saat sonra tekrarlanıp 7 gün sonra sakrifiye edilmiştir.

### 3.4 SUBARAKNOİD KANAMA OLUŞTURULMASI

Vazospazm çalışmalarında en güvenilir ve yaygın olan çift kanamalı model kullanıldı (142-144). Genel anestezi sağlandıktan sonra, ratların inion ile atlas arası traş edilip, baş 45 derece fleksiyonda olacak şekilde masaya yerleştirildi. Polivinilpirolidon iyot ile cerrahi alan temizliği yapıldı. Mikroskop sahaya çekildi. Orta hat oksipitoservikal 2 cm'lik düz insizyonla cilt ve cilt altı geçildi (Şekil-5), oksipital adale ve posterior servikal adaleler diseke edilerek atlantookspital membran ortaya kondu (Şekil-6).



*Şekil 5. Lineer insizyon ile oksipital kasların diseksiyonu*

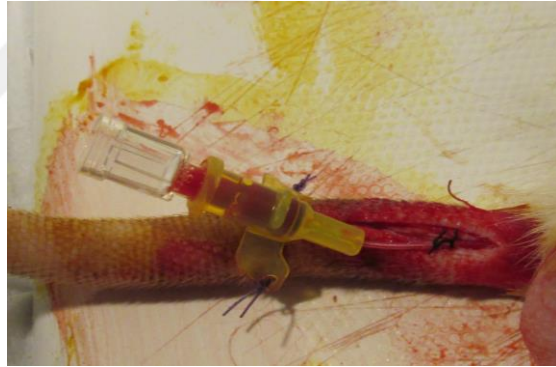


*Şekil 6. Diseksiyonun sonunda ulaştığımız, sisterna magnanın üzerini kaplayan atlantookspital membran.*

Ratlara supin pozisyon verildi. Kuyruk 2-3 dk. 50°C suda bekletildi. Alkol ile nazikçe temizlik yapıldı. Kuyruk ventral yüz orta hatta temizliği ve batikon ile boyamayı takiben 2 cm lineer insizyon yapıldı. Mikroskop ile mikrodiseksiyon yapılarak artere ulaşıldı. Arterin etrafı diseke edilerek 1 cm'lik serbest bölüm oluşturuldu. Arterin her iki ucundan 3-0 ipek ile arter eleve edilerek sabitlendi. Mikromakas ile distal uçtan arter duvarında kanülün girebileceği kadar defekt oluşturuldu (Şekil-7). Kan geldiği görüldü. Kanül yerleştirildi. Kan geldiği teyit edildi. Arterin proksimal ve distal kısmı ipek ile bağlandı. Kanül kuyruğa 3-0 prolen ile tespit edildi. Katlar 3-0 prolen ile usulüne uygun şekilde kapatıldı (Şekil-8).



*Şekil 7. Kuyruk arterinin diseksiyonu.*



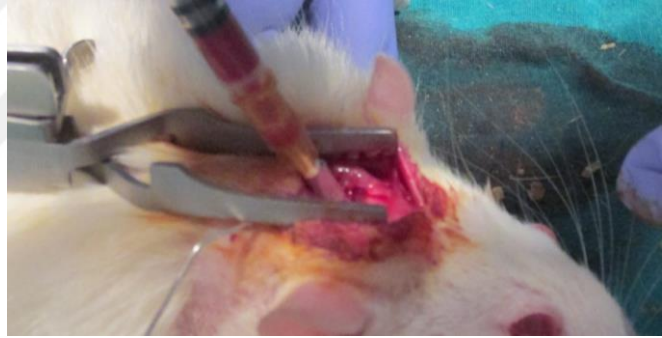
*Şekil 8. Kuyruk arterinin kanulasyonu.*

Kuyruk arterinden 0,1 ml nonheparinize otolog arteryal kan alınıp tekrar prone pozisyona geçildi. İğnenin ucuna membranı geçtikten sonra durabileceği şekilde bant yardımıyla stoper aparat yapıldı (Şekil-9). Atlantookspital membrandan 25 gauge stoper

takılı iğne ile sisterna magnaya girildi. 0,1 ml BOS aspire edildi. Sham hariç diğer gruplarda BOS aspirasyonunu takiben kanülden alınan 0,1 ml kan sisterna magnaya enjekte edildi. İğne çekilmeden önce 1 dk. beklendi. Sham grubunda aspire edilen BOS geri enjekte edildi. Verapamil grubunda 0,2 ml BOS aspire edildi ve 0,1 ml kan ve 100 µg/ 0,1 ml verapamil çözeltisi enjekte edildi (Şekil-10). Gereğinde kas ve doku kanamaları için oksitlenmiş selüloz (Surgicel, Ethicon, İstanbul) kullanıldı. 0.1 ml arteryal kan 30 saniye sürede yavaşça enjekte edildi. Kas fasyası ve cilt 3-0 prolene ile suture edilerek cerrahi saha kapatıldı. Ratlar intrasisternal kan pıhtı formasyonu oluşması için 10 dakika 30° trendelenburg pozisyonunda bekletildi (Şekil-11). Ratlar tamamen uyandıktan sonra kafeslerine alındı. İşlem öncesi bütün deneklere 50 mg/kg sefalosporin i.p. profilaktik olarak uygulandı. Tüm bu işlemler esnasında asepsi kurallarına uyuldu ve cerrahi işlem sırasında masa ısıtılarak vücut ısısı korundu. Cerrahi yara yerlerine denekler sakrifiye edilene kadar günlük olarak polivinilpirolidon iyod ile pansuman yapıldı.



Şekil 9. 25G enjektörün ucuna yaptığımız stopper aparat



Şekil 10. 25G enjektör ile sisterna magnaya 0,1cc arteryel kan enjeksiyonu



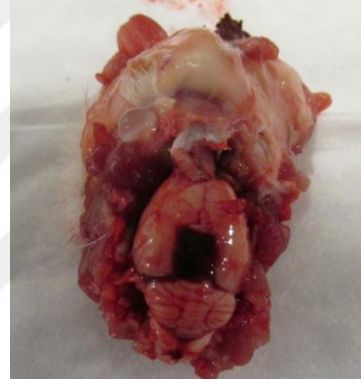
Şekil 11. İşlem sonrası ratlar eğik düzlemde bekletildi.

### 3.5 SAKRİFİKASYON İŞLEMİ VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Tüm gruplarda 7. gün sonunda anestezi uygulanıp sedasyon sağlandı ve serum ayırma tüplerine sıçanlardan intrakardiyak olarak 10 cc kan alındı. Daha sonra sıçanlar dekapitasyon işlemi ile sakrifiye edildi. Beyin travmatize edilmeden kranyumdan çıkarıldı. Beyin sapı ve serebellum bölgeleri dikkatli bir şekilde kortikal ve subkortikal derin beyin dokusunu da içerecek şekilde çıkarıldı. Serebellum beyin sapından diseke edildi. Beyin sapı baziller arteri içeren bölümü ile birlikte iki parçaya kesildi, anterior kısım %10 formaldehit içeren tüplere konularak patoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Posterior kısım ve serebellumun tamamı kuru tüp içine konularak alınan kanlarla beraber biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı.



*Şekil 12. Verapamil grubundan baziller arterin sulama bölgesinden örnek alınan alan.*



*Şekil 13. Kontrol grubunda sakrifiye edilmiş bir denekte, oluşturulan SAK'ın başarılı olduğu görülmekte.*



*Şekil 14. Verapamil grubunda elde edilen beyin dokusu.*

### 3.6 HİSTOPATOLOJİ

Histopatolojik inceleme için serebral doku ve baziller arteri de içeren beyin sapı kesitlerinin örnekleri %10'luk formaldehit içerisinde 24 saat süre ile tespit edildi. Tespit işleminin sonrasında baziller arter segmentini içeren beyin dokusu örnekleri rutin histolojik takip işlemi basamaklarından geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 3-4 µm kalınlığında kesitler hazırlandı. Lamlar üzerine alınan kesitler hematoksilin-eozin (H-E) ile boyandıktan sonra ışık mikroskopa mikrometre takılarak baziller arterin transvers kesitleri ve çevre sinir dokusu ışık mikroskopik olarak histopatolojik yönden değerlendirildi. Lümen çapı (mm) ve damar duvar kalınlığı (mm) ölçüldü.

### 3.7 TOTAL ANTIOKSİDAN VE OKSİDAN KAPASİTE

Total Antioksidan Kapasite (TAS) ve Total Oksidan Kapasite (TOS) ölçümü yapılarak intratekal verapamil'in ve vazospazmın oksidan ve antioksidanlar üzerine olan etkileri incelendi. TAS ölçümü için reaktif 1 (75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 AM Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O çözümlenerek hazırlanır) ve reaktif 2 (7.5 mM hidrojen peroksit, 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır) hazırlandı. 50µl alınan örnek üzerine 100µl reaktif 1 ve 150µl reaktif 2 eklenerek 10 dk boyunca 37°C'de inkübe edildi ve daha sonra 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. TOS ölçümü için de reaktif A (140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisinde 25 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözümlenerek ana solüsyon hazırlanır, ana solüsyonda önce %10 oranında gliserol çözümlenip daha sonra total hacimde 250 µM Xlenol orange çözümlenerek hazırlanır) ve reaktif B (Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-Dianisidine dihidroklorid çözümlenip sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözümlenerek reaktif hazırlanır) hazırlandı. Örneklerden 100'er µl alınıp üzerlerine sırasıyla, 150 µl reaktif A ve 150 µl reaktif B eklendi. 1 dakika 37 °C'de bekletildikten sonra spektrofotometrik olarak 240 nm'de okundu. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı ve sonuçlar mmol.Trolox.ekivalent/L olarak ifade edildi. Tüm spektrofotometrik ölçümler için Abbott ARCHITECT i2000 SR otoanalizörü kullanıldı.

#### 3.7.1 OKSİDATİF STRES İNDEKSİNİN (OSİ) HESAPLANMASI

TAS'ın birimi µmol.Trolox.ekivalent/L'ye çevrildi ve aşağıdaki formül kullanılarak oksidatif stres indeksi hesaplandı.

$$\text{Oksidatif stres indeksi (OSI)} = \frac{\text{TOS } (\mu\text{mol.H}_2\text{O}_2.\text{ekivalent/L})}{\text{TAS } (\mu\text{mol.Trolox.ekivalent/L})} \times 100$$

### 3.8 ELİSA YÖNTEMİ

Serumda endotelin 1 seviyesi ölçmek için ticari olarak satılan Endotelin-1 ELISA kitinden (Assay Designs, Ann Arbor, MI) yararlandık. ELISA çalışması için deneklerin kanları, sakrifiye edilirken serum ayırmak için kullanılan biyokimya analiz tüplerine alındı. Daha sonra 3.000 RPM'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Serumunu ayrılan tüpler ELISA kitinden çıkan protokole göre çalışıldı. Kullanılan kitde bulunan ET-1 antikorunun ET-2, ET-3 ve Big ET ile olan çarpaz reaksiyon oranı %0.1'den daha küçük olduğundan dolayı ihmal edilmiştir.

### 3.9 WESTERN BLOT YÖNTEMİ

Western blot analizi için beyin sapı bölgesinden alınan dokular homojenize edildi ve 14000 g'de 15 dakika boyunca 4°C'de santrifüj edildi. Santrifüj edildikten sonra supernatantlar toplandı ve kullanılacak zamana kadar -20°C'de saklandı. Bütün örneklerin protein miktarı Bradford yöntemi ile ölçüldü ve 10x SDS tamponu ile protein miktarları eşit hale getirildi. Protein miktarları eşitlenen örnekler daha sonra yükleme tamponu ile birlikte 95°C'de 5 dakika boyunca kaynatılarak proteinlerin denatüre olması sağlandı. Her kuyucukta 80µg olacak şekilde örnekler %12'lik SDS-Poliakrilamid jele yüklendi. Jel, 20 dakika 80 V'da daha sonra 100 dakika 120 V'da olacak şekilde elektroforez yapıldı. Elektroforez işleminden sonra jelde yürütülen örnekler IBlot (Invitrogen, U.S.A) cihazı ile PVDF membrana aktarıldı. Membran, TBS-T (50 mM Tris, 150 mM NaCl 0.05% Tween 20) ile %5'lik olarak hazırlanan yağsız süt tozu kullanılarak, 1 saat boyunca oda ısısında çalkalamalı olarak inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra membran 3 kere 5'er dakika boyunca TBS ile yıkandı.

Her bir antikor için bu işlemler aynı şekilde yapıldı. Çalışmamızda Bax, Bcl-2, Aktif Kaspaz-3 (1:1000 dilüsyon, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) antikorları kullanıldı. 24 saat sonra her bir membran tekrar TBS-T ile 3 kere 5'er dakika boyunca yıkandı. TBS-T ile yıkanan membranlar, HRP konjuge edilmiş sekonder antikor ile 1 saat oda sıcaklığında çalkalamalı olarak inkübe edildi. Membranlar, kemilüminesans görüntüleme için Western Blotting Luminol Reagent (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) solüsyonunda 1 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Görüntüleme işlemi Vilber Laurmat Fx5 Fusion (Vilber Laurmat XA, USA) görüntüleme sistemi kullanılarak yapıldı.

Elde edilen görüntülerin optik dansitide analizi için Image J (Glyko, Novato, CA, USA) yazılımı kullanıldı.

### 3.10 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışma sonunda elde edilen bulgular, ortalama±standart hata (S.E.M.) olarak hesaplandı. Grupların dağılımının normal dağılıma uygunluğunun test edilmesini takiben, istatistiksel değerlendirme GraphPad Prism (GraphPad Prism Version 6 Software Program, San Diego, CA) Programı kullanılarak, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrasında Tukey çoklu karşılaştırmalar testi ile yapıldı.  $P<0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4) BULGULAR

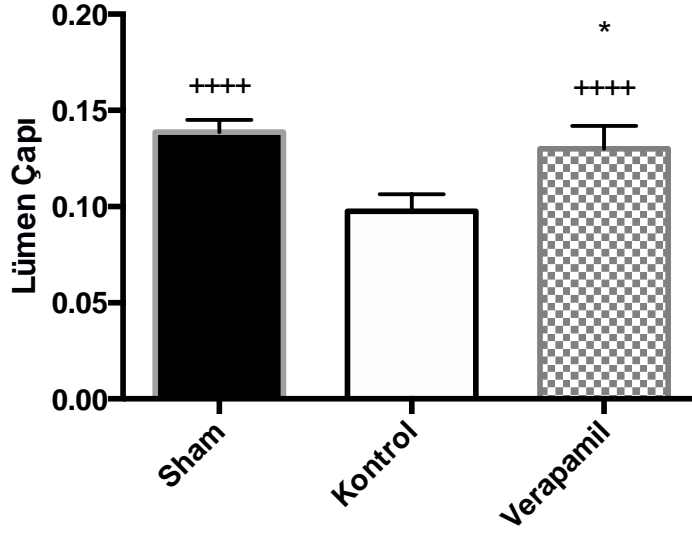
### 4.1 HİSTOPATOLOJİ BULGULARI

Sham grubu lümen çapı değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $P<0,001$ ) yüksek ve kontrol grubu lümen çapı değerleri ise verapamil grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $P<0,001$ ) düşük saptandı. Aynı zamanda çalışmamızda Sham grubu damar duvar kalınlığı değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $P<0,001$ ) düşük ve kontrol grubu damar duvar kalınlığı değerleri ise verapamil grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $P<0,001$ ) yüksek saptandı.

PARAMETRELER	SHAM	KONTROL	VERAPAMİL
Lümen Çapı	0.1388 ± 0.002266	0.0975 ± 0.003134	0.1300 ± 0.004226

Tablo 1. Baziller arter lümen çapına ait ortalama ± standart hata değerleri.

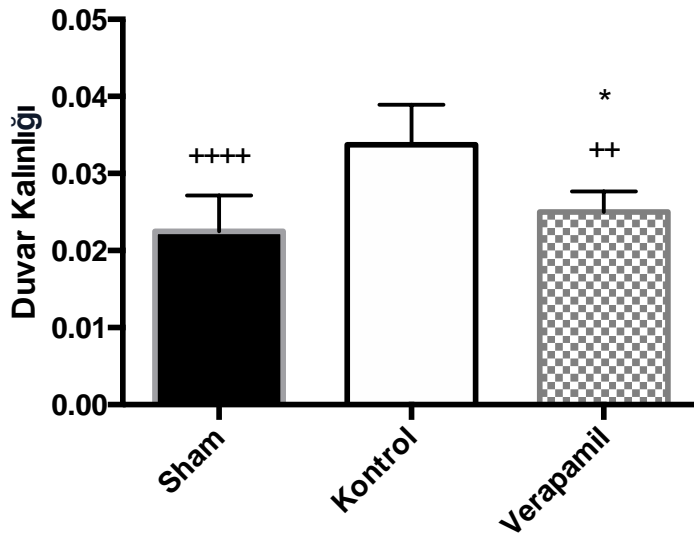




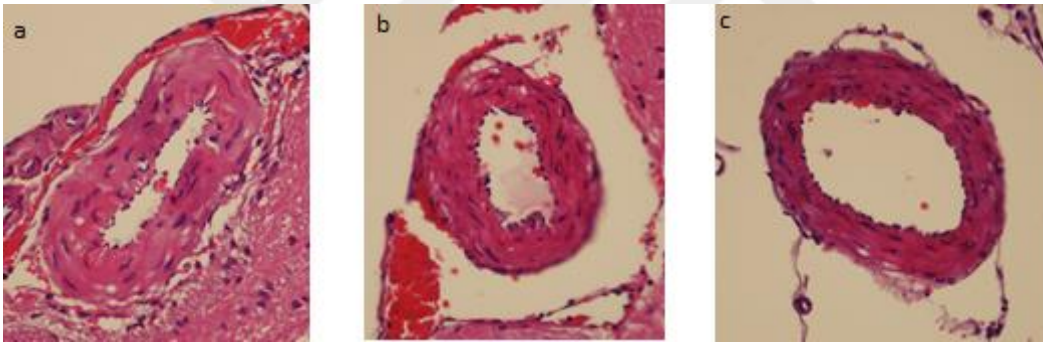
Grafik 1. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Lümen Çapı düzeyleri. ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; \*P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.

PARAMETRELER	SHAM	KONTROL	VERAPAMİL
Duvar Kalınlığı	0.0225	0.03375	0.0250
	±	±	±
	0.001637	0.001830	0.0009449

Tablo 2. Baziller arter duvar kalınlığına ait ortalama ± standart hata değerleri



Grafik 2. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Duvar Kalınlığı düzeyleri, ++ $P < 0.05$ , ++++ $P < 0.001$ , Kontrol grubuna göre; \* $P > 0.05$  Sham grubuna göre anlamlılık değeri.



Şekil 15. Histopatolojik incelemede baziller arter görüntüleri: a- Sham Grubunda Lümen çapı ve duvar kalınlığında değişiklikler minimal düzeyde. b- Kontrol Grubunda lümen çapı azalmış, duvar kalınlığı ise artmış. c- Verapamil grubunda lümen çapı ve duvar kalınlığı sham grubuna oranla bir miktar değişim göstermiş.

## 4.2 BİYOKİMYASAL BULGULAR

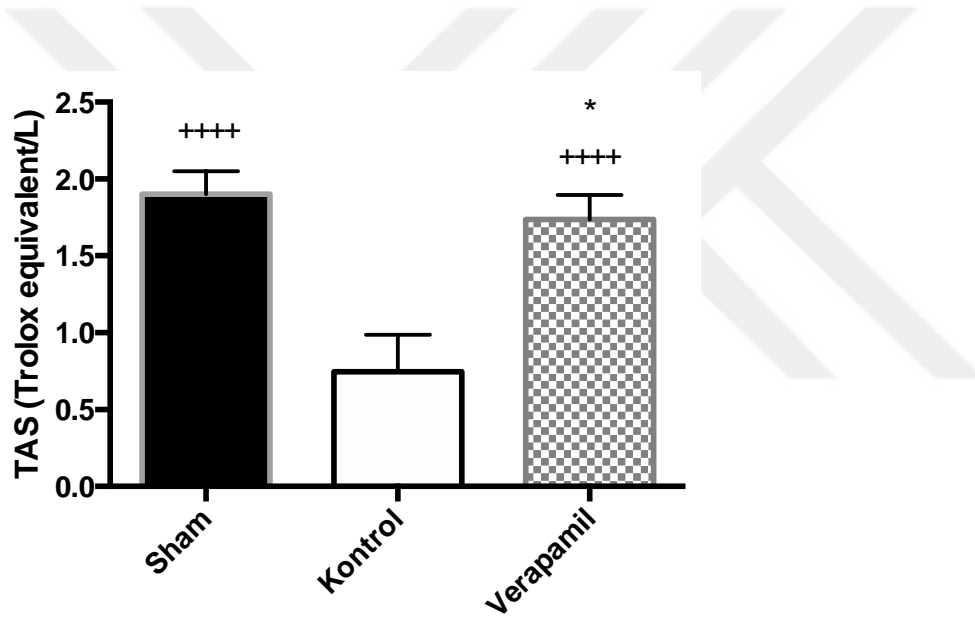
### 4.2.1 TOTAL ANTIOKSİDAN SEVİYE (TAS), TOTAL OKSİDAN SEVİYE (TOS) VE OKSİDATİF STRES İNDEKSİ (OSİ) BULGULARI

Çalışmamızda, baziller arter sulama alanından alınan beyin dokusu örneklerinde total antioksidan kapasite (TAS), total oksidan kapasite (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) değerleri incelendiğinde, kontrol grubunda sham grubuna göre TAS değerlerinin anlamlı derecede düştüğü ( $P < 0.001$ ) TOS ve OSİ değerlerinin anlamlı derecede arttığı ( $P < 0.001$ )

görüldü. Verapamil grubunda ise kontrol grubuna göre TAS değerlerini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı (P<0.001), TOS (P<0.001) ve OSI (P<0.001) değerlerinin ise anlamlı derecede düştüğü belirlendi.

PARAMETRELER	SHAM	KONTROL	VERAPAMİL
TAS (Trolox equivalent/L)	1.901 ± 0.05300	0.7463 ± 0.08512	1.736 ± 0.05713

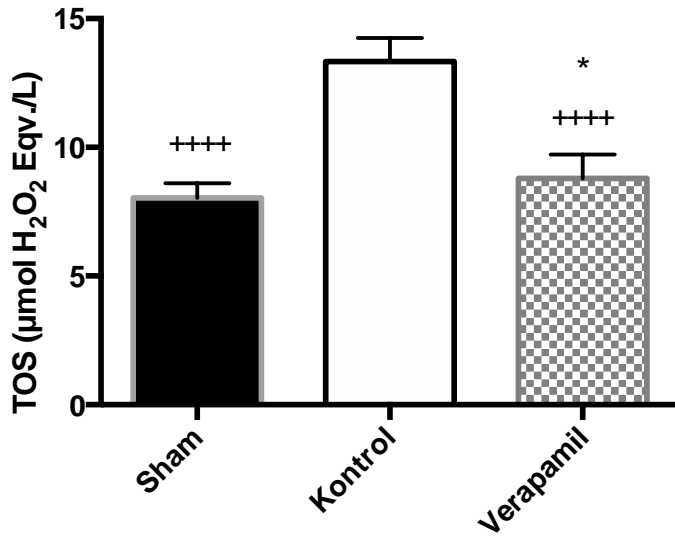
Tablo 3. Total antioksidan kapasiteye (TAS) ait ortalama ± standart hata değerleri.



Grafik 3. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde TAS düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; \*P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri

PARAMETRELER	SHAM	KONTROL	VERAPAMİL
TOS (µmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Eqv./L)	8.029 ± 0.2033	13.33 ± 0.3248	8.796 ± 0.3243

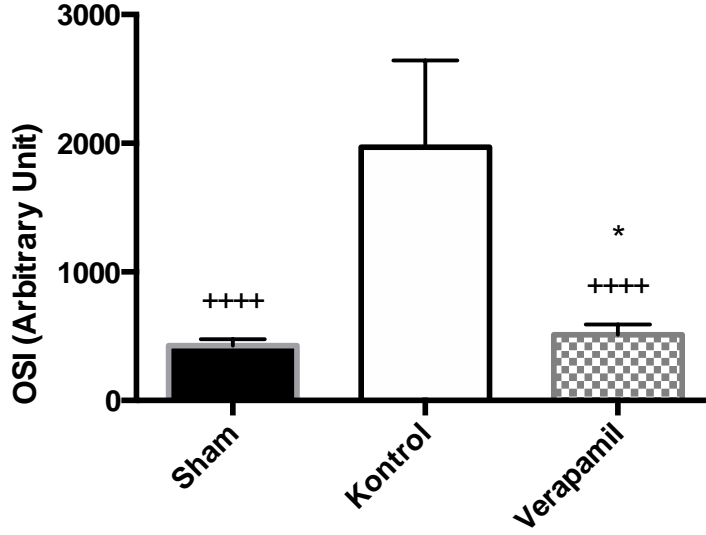
Tablo 4. Total oksidan kapasiteye (TOS) ait ortalama ± standart hata değerleri.



Grafik 4. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde TOS düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; \*P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.

PARAMETRELER	SHAM	KONTROL	VERAPAMİL
OSI (Arbitrary Unit)	425.2	1969	511.6
	±	±	±
	18.05	238.7	28.49

Tablo 5. Oksidatif stres indeksine (OSI) ait ortalama ± standart hata değerleri.



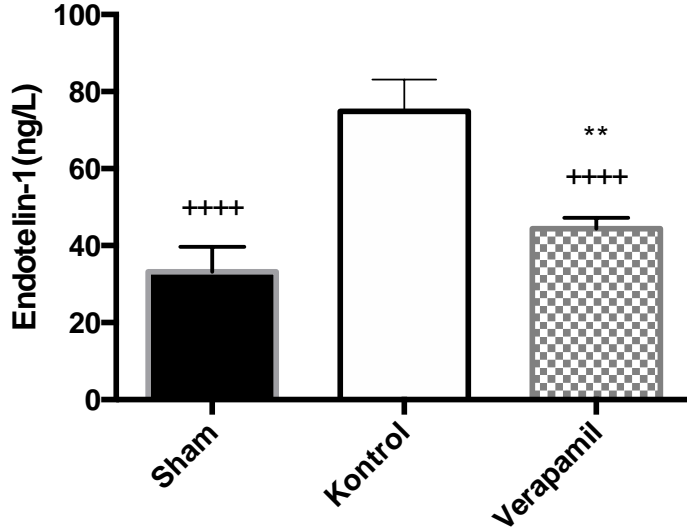
Grafik 5. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde OSI düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; \*P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.

#### 4.3 ELİSA BULGULARI

Endotelin-1 en fazla vasküler endotelden salgılanan ve çok güçlü vazokonstriktif etkisi olan bir moleküldür. 3 çeşit olan endotelin ailesinin en güçlüsüdür. ET-1'in serebral vazospazmdaki rolü büyüktür ve birçok defa gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda intratekal verapamilin ET-1 düzeyleri üzerine etkisini inceleyerek dolaylı olarak vazospazmı önleyici etkisini araştırdık. Sham grubundaki ET-1 düzeyleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede (P<0,001) düşük ve kontrol grubundaki değerler ise verapamil grubunun değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede (P<0,001) yüksek bulunmuştur.

PARAMETRELER	SHAM	KONTROL	VERAPAMİL
Endotelin-1 (ng/L)	33.19±2.3	74.91±2.914	44.39±0.9942
	11		

Tablo 6. Endotelin-1 serum seviyesine ait ortalama ± standart hata değerleri.

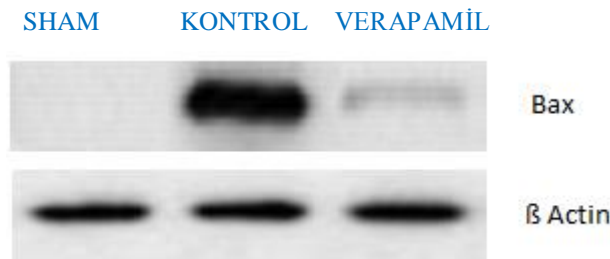


Grafik 6. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Endotelin-1 düzeyleri. +++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; \*\* P<0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.

#### 4.4 WESTERN BLOT BULGULARI

##### 4.4.1 BAX, BCL-2 VE AKTİF KASPAZ-3 DÜZEYLERİ

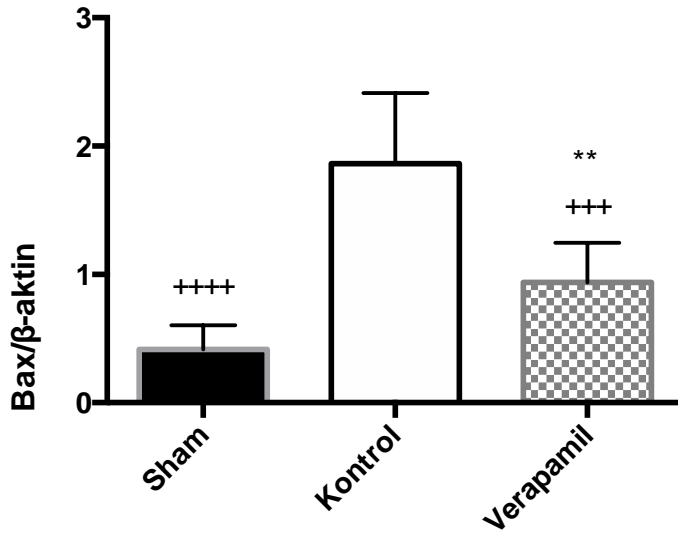
Bax proteini, p53 adlı tümör baskılayıcı proteinin kofaktörü olma işlevine sahip, insanda bulunan bir proteindir. Bax geni, Bcl-2 gen ailesinin bir üyesidir. Bax, p53 aracılığıyla indüklenir ve bulunduğu hücrenin apoptoza gidişini hızlandırır. Çalışmamızda, sham grubunda düşük seviyede bulunan Bax proteini, kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek düzeylere çıkmıştır (P<0.001). Bu da SAK sonrasında Bax'a bağlı apoptozun arttığını göstermiştir. Vazospazm oluşturulan sıçanlarda intratekal verapamil uygulaması sonucunda, kontrol grubuna göre Bax düzeyleri anlamlı derecede düşüş göstermiştir (P<0.001) (Şekil 4.5.3.1). Bu da intratekal verapamilin, Bax ekspresyonunun azalttığını dolayısıyla apoptozu inhibe ettiğini göstermektedir.



Şekil 16. Bax Western Blot Analizi.

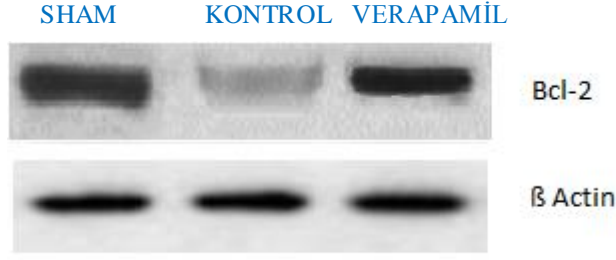
PARAMETRELER	SHAM	KONTROL	VERAPAMİL
Bax/ $\beta$ -aktin	0.4173 $\pm$ 0.06607	1.864 $\pm$ 0.1943	0.9391 $\pm$ 0.1089

Tablo 7. Bax'a ait western blot değerlerinin ortalama  $\pm$  standart hata değerleri.



Grafik 7. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Bax düzeyleri., +++P<0.01, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; \*\*P<0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.

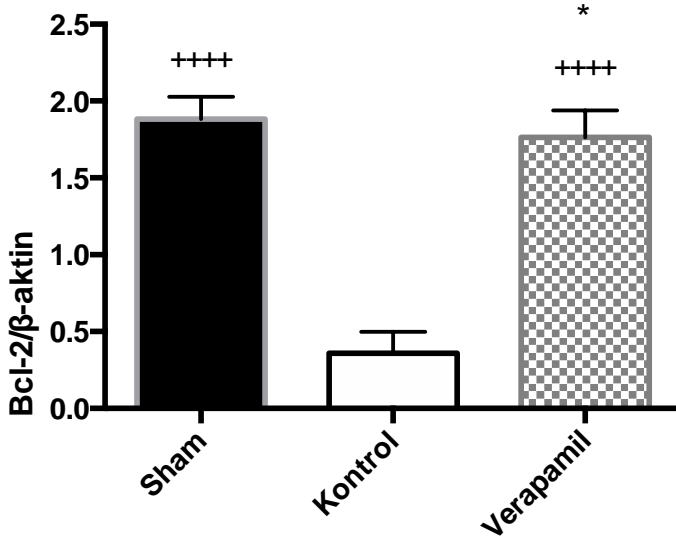
Bcl-2 proteini antiapoptotik bir proteindir. Sham grubunda bu protein miktarı normal seviyede iken, vazospazm gelişen grupta bu proteinin ekspresyonu anlamlı olarak düşmüştür (P<0.001). Vazospazm sonrası İntratekal verapamil verilmiş olan gruptaki bireylerde, apoptozun azalmasına bağlı olarak Bcl-2 proteininin seviyesi anlamlı derecede artmıştır (P<0.001)



Şekil 17. Bcl-2 Western Blot Analizi. sırasıyla Sham, Kontrol ve Verapamil grupları

PARAMETRELER	SHAM	KONTROL	VERAPAMİL
Bcl-2/β-aktin	1.883 ± 0.05135	0.3591 ± 0.04956	1.763 ± 0.06214

Tablo 8. Bcl-2'ye ait western blot değerlerinin ortalama ± standart hata değerleri

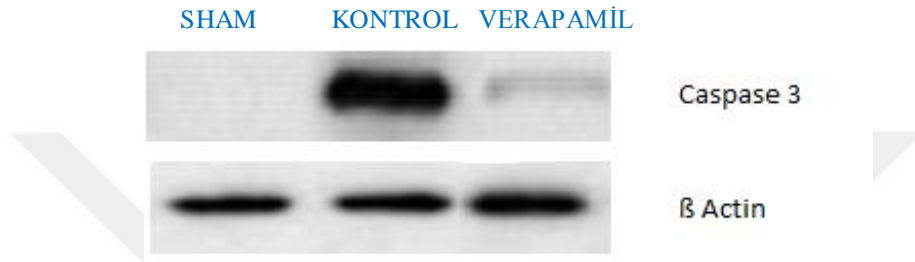


Grafik 8. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Bcl-2 düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; \*P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.

Aktif Kaspaz-3, hücre döngüsünde bulunan önemli bir proteindir. Apoptozdan sorumlu olan bu protein kaspaz protein ailesinin bir üyesidir. Çalışmamızda, sham grubunda düşük seviyede bulunan Kaspaz-3 proteini, kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı



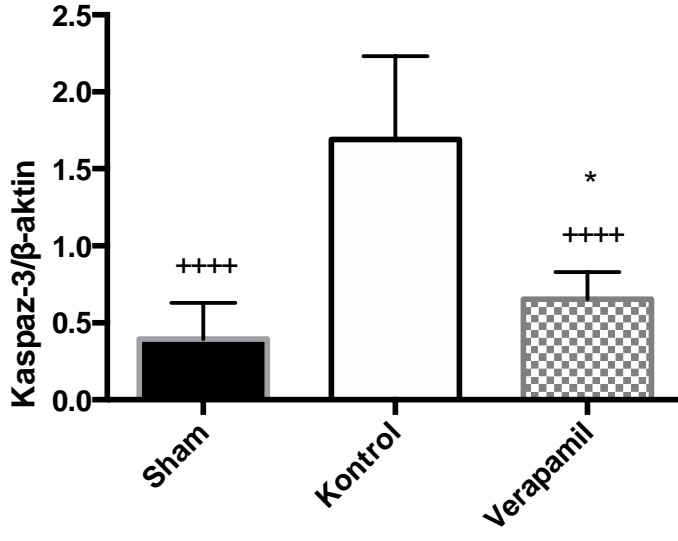
derecede yüksek düzeylere çıkmıştır ( $P<0.001$ ). Bu da SAK sonrasında Kaspaz-3'e bağlı apoptozun arttığını göstermiştir. Vazospazm oluşturulan sıçanlarda intratekal verapamil uygulaması sonucunda, kontrol grubuna göre Kaspaz-3 düzeyleri anlamlı derecede düşüş göstermiştir ( $P<0.001$ ) (Şekil 4.5.3.1). Bu da intratekal verapamilin Kaspaz-3 ekspresyonunu azalttığını dolayısıyla apoptozun inhibe olduğunu göstermektedir.



Şekil 18. Kaspaz-3 Western Blot Analizi. sırasıyla Sham, Kontrol ve Verapamil grupları

PARAMETRELER	SHAM	KONTROL	VERAPAMİL
Kaspaz-3/ $\beta$ -aktin	0.3948	1.691	0.6524
	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	0.08323	0.1912	0.06307

Tablo 9. Aktif Kaspaz-3'e ait western blot değerlerinin ortalama  $\pm$  standart hata değerleri



*Grafik 9. Baziller arter sulama bölgesi örneklerinde Kaspaz-3 düzeyleri, ++++P<0.001, Kontrol grubuna göre; \*P>0.05 Sham grubuna göre anlamlılık değeri.*

## 5) TARTIŞMA

SAK dünyada yılda 100.000 hastalık insidansa sahiptir ve SVO'ların %5'ini oluşturur (145). Ortalama %70 hasta ya ölür ya da günlük aktivitelerinde yardıma muhtaç hale gelir. Total SAK mortalitesi %10-15'tir (18, 146). SAK'ın en sık nedeni travmatiktir. Fakat spontan SAK vakalarının %80'inde rüptüre anevrizma saptanır.

Serebral Vazospazm çok yüksek oranda aSAK sonrası gelişen serebral arterlerde vazokonstrüksiyonla seyreden çok kötü sonuçlara yol açabilen GİND'ye ilerleyebilen bir hastalıktır. Çoğunlukla anevrizma rüptürü sonrasında SAK'a bağlı gelişse de travma, ameliyat sonrası, enfeksiyon ve diğer sebeplere bağlı da geliştiği bildirilmiştir.

GBH, SAK ve travma gibi sebeplere bağlı gelişen, 72. saatten sonra başlayan, 1 saatten fazla sebat eden serebral iskemiye ya da başka sebeplerle açıklanamayan herhangi bir nörolojik kötüleşmeye GBH denir. aSAK sonrası %30 hastada oluşur (147). 4-14. günler arasında olur. Patogenezinde birçok faktör rol oynar. Bunlardan en önemlisi ve tedavi hedeflerinden biri vazospazmdır. Vazospazm 3. günde başlar 6-8. günlerde pik yapar, 14. gün civarında son bulur. Serebral vazospazmın patofizyolojisi halen yeteri kadar anlaşılammış fakat EBH, inflamatuvar yolakların aktivasyonu, oksidatif stres, apoptoz ve elektrolit değişikliklerinin önemli rolleriyle ilgili birçok mekanizmalar bulunmuştur (148).

SAK hastalarının %50-70'inde vazospazmın radyolojik bulguları gelişir (51, 149). GİND için yüksek riskli dönem rüptür sonrası 4-10. günlerdir, patogenezi halen tam aydınlatılamamıştır fakat sebebin serebral VS olduğu düşünülmektedir (83). Multifaktöryel olduğu düşünülen serebral vazospazmın patofizyolojisi günümüzde halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Patogenez mekanizmaları arasında endotel hasarı, subaraknoid mesafedeki kanın çözülmesi esnasında ortaya çıkan spazmotik ajanların yol açtığı düz kas kontraksiyonu, damar duvarının inflamatuvar ve immünolojik reaksiyonları, apoptoz, kortikal yayılan depolarizasyon dalgaları sayılabilir. Yapılan deneysel çalışmalarda subaraknoid mesafedeki kanın vazospazma neden olduğu ve BT'deki kan miktarının vazospazmla ilişkili olduğu bulunmuştur.

VS önleme ve tedavisinde anjiyografik tedavilerden daha çok seçenek medikal alanda mevcut olmasına rağmen halen tümüyle etkili bir ajan bulunmamaktadır. Terapötik stratejiler

vazospazmı önleyerek hasarı azaltmak ve akıbeti iyileştirmek için tasarlanmıştır. Üçlü H tedavisinin kanıtlanmış pek faydası olmadığı gibi maliyeti ve komplikasyonları artırmaktadır. Nimodipin bugüne kadar hastaların prognozunu düzelttiği gösterilen tek tedavidir. Nimodipin, verapamil gibi bir KKB'dir ve SAK sonrası 21 gün süreyle kullanılır. Aynı aileden olan nikardipinin sürekli tedavisi de etkili bulunmuş ama yan etkileri fazla olduğundan rutin kullanıma girmemiştir (12).

Magnezyum Sülfat, ET-1 Reseptör Antagonistleri, Milrinon, Östrojen(E2), NO donörleri, Antioksidanlar, NSAID, Antiplatelet Ajanlar ve Trombüs Formasyonu İnhibitörleri, Statinler diğer tedavi seçenekleri olarak deneysel çalışmalarda etki göstermiştir ama hiçbirinde klinik akıbet üzerine olumlu bir etki saptanan henüz yoktur. İntraarteriyel Tedavilerde Milrinon, Nimodipine, Nikardipine (17, 120, 121), Fasudil Hidroklorid, Colforsin Daropate Hydrochloride mevcut olan ajanlardır.

İntratekal Terapilerde ise intratekal nikardipine güvenliliği ve etkinliği klinik çalışmalarda kanıtlanmış bir ajandır (124, 125). Diğer seçenekler de tPA veya ürokinazdır.

Verapamil, L-tipi kalsiyum kanal blokörüdür. Kalsiyum girişini azaltarak düz kas hücrelerine etki ederek dilatasyon yapar. Sinoatriyal nodun otomatisitesini ve Atriyoventriküler nodun kondüksiyonunu süprese eder. Negatif inotrop etkilidir (103, 136, 137). Mekanik indüklenen Vazospazmın önlenme/tedavisinde tavsiye edilir (15). İntraarteriyel verildiğinde CBF'yi artırır. Etkisi doz bağımlıdır ve 15-30 dakikada stabilize olur (14). Negatif inotrop etkisi olduğu için kan basıncını düşürebilir. Bunlar geçicidir ve infüzyon durdurulunca dakikalar içinde normale döner. Damar çapını genişletmede ve klinik iyileşmede de etkilidir (15, 16).

Subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazm halen deneysel nöroşirurjinin en önemli konularından birisidir. Tam anlamıyla insan benzeri bir model yoktur ve araştırmalarda primat, köpek, tavşan, fare ve sıçan gibi hayvan modelleri kullanılmaktadır. Bu da çalışmaları kısıtlamaktadır. Bu çalışmada intratekal verapamilin serebral vazospazm üzerine etkisini araştırmak amacıyla sıçan çift kanamalı SAK modeli kullanılmıştır.

Deney hayvanlarında subaraknoid kanama oluşturabilmek için pek çok yöntem kullanılmıştır. Bunlardan başlıcaları baziller arterin delinerek SAK oluşturulması, arterin

cerrahi olarak ortaya çıkarılarak başka bir bölgeden alınmış kanın arter etrafına yerleştirilmesi ve günümüzde bilinen, en çok uygulanan sisterna magnaya başka bir bölgeden alınan kanın enjekte edilmesiyle kanın arter etrafında toplanmasını sağlayan yöntemlerdir. Biz de çalışmamızda en çok tercih edilen ve günümüzde en çok kullanılan yöntem olan çifte kanama metoduyla sisterna magnaya otolog arteriyel kan enjeksiyonu ile subaraknoid kanama modelini uyguladık.

VS üzerine çeşitli çalışmalar yapılmış fakat oksidatif stresin gecikmiş VS'deki rolü hala eksik kalmıştır (6). SAK sonrası gelişen sekonder hasar mekanizmalarının önemli bir bileşeni oksidatif streştir. Beyin dokusu böyle hasarlara daha fazla yatkındır. Bu özellik nedeniyle oksidatif hasara daha yatkın olan nöronların korunma ihtiyacı da diğer dokulardan daha fazladır (68).

Serbest oksijen radikalleri serebral vazospazmdan sonra oksidatif hasarın oluşumu ve artmasındaki önemi büyüktür. Birçok farklı yolak üzerinden etki gösterirler. İskemi sonucu artan serbest radikallerin en etkin kaynağı araşidonik asit yoludur. Hücre içine kalsiyum girişi ile proteazlar ve lipazlar aktive olur. Sonuçta, araşidonik asit aktifleşen bu enzimler ile tromboksan A<sub>2</sub>, prostaglandinler, lökotrienler ve serbest aminoasitlere dönüşür ve serbest oksijen radikallerini üretir (72). Serbest radikaller, oksijen varlığında doymamış yağ asitlerinin çift bağlarını kırarak zincirleme bir reaksiyon meydana getirirler ve hücre zarının stabilizasyonunu bozarlar, permeabilityyi arttırırlar ve en sonunda membran potansiyeli oluşturabilme yeteneğini bozarlar. Bu da hücre içinde daha da fazla miktarda kalsiyum birikmesine neden olur ve hücre ölümü gelişir (73). Tüm bunlar vasküler düz kas hücrelerinde de meydana gelmekte ve oksidatif stresin serebral vazospazma neden olabileceği düşünülmektedir. Biz bu çalışmada SAK sonrası sıçanlarda baziller arter sulama alanındaki beyin dokusunda total antioksidan kapasite (TAS), total oksidan kapasite (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) değerlerini inceledik ve Sham grubunda Kontrol grubuna göre TAS değerinin istatistiksel anlamlı derecede yüksek olduğu ve TOS ve OSI değerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu saptandı. SAK sonrası intratekal verapamil verilen grupta ise Kontrol grubuna oranla TAS değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu, TOS ve OSI değerlerini ise anlamlı derecede azalmış olduğunu belirledik.

aSAK'ta damar çevresindeki apoptoz önemli bir rol oynamakta, vazospazmın sebeplerinden biri olarak ta apoptotik kaskadlar gösterilmektedir (8). Daha önce pan-kaspaz

inhibitörlerinin VS'yi azalttığı gösterilmiş (9). Apoptoz, hücrelerin çevreye zarar vermeden yok edilmesini sağlayan bir olaydır. İskemi-reperfüzyon hasarı gibi çeşitli yaralanmalar sonucu meydana gelen hasarlarla dokulara yeterli besin sağlanamadığı durumlarda hücreler apoptoza uğrar (74). Mitokondriyal yol (intrinsic yol), Fas/TNF-R reseptör yolu (Ekstremsk yol) olmak üzere iki yolu vardır. Hücre zarındaki reseptörler aracılığı ile başlar; Kaspaz-8 ve Kaspaz-3 aktive edilir. Bu da apoptozu başlatır (76-78).

Hücrede bir hasar olduğunda tamir mekanizmaları devreye girer ancak tamir gerçekleşmezse hücreler apoptoza gider. P53 geni DNA tamiri yapan proteinlerin transkripsiyonunu sağlar. Hücre hasarının tamiri başarılı olmazsa p53 geni hücreyi apoptoza götürür. Böylece DNA hasarlı hücre ortadan kaldırılmış olur (79). Bir hücrede hücre içi bcl-2/bax oranı hücrenin apoptoza gidip gitmeyeceğine karar vermede son derece önemlidir. Eğer oran bax (proapoptotik gen) tarafında yüksek ise hücre apoptoza gider, bcl-2 (antiapoptotik gen) tarafında fazla ise apoptoz inhibe olur (80). Bizim çalışmamızda, baziller arter sulama alanından alınan doku örnekleri incelendiğinde, intratekal verapamilin, kaspaz-3, bax ve bcl-2 düzeylerine etkisi incelendi ve Kontrol grubunda SAK sonrası kaspaz-3 ve Bax proteinlerinde istatistiksel anlamlı oranda artış, bcl-2 düzeyinde ise azalma saptandı. Verapamil verilen grupta ise kontrol grubuna göre bcl-2 düzeyinde artış, kaspaz-3 ve bax düzeyinde azalma saptandı.

Serebral Vazospazmın akut fazda, inflamatuvar değişiklikler ve gen ekspresyon modifikasyonuna bağlı düz kas hücrelerinin çok uzun kasılmış olmaları ve endotelial hipertorfinin sonucu olduğu düşünülmektedir (66). Musküler tabakada nekroz ile birlikte adventisyada inflamatuvar hücrelerde artış gözlenir. Kronik fazda düz kas hücrelerinde proliferasyon karakteristiktir. Muhtemel sebebi de ET-1'dir (67). Sonunda da serebral iskemiye gider. ET-1'in vazospazm yapan bir molekül olduğu daha önce birçok çalışmada gösterilmiştir. Biz bu çalışmada İntratekal verapamil'in ET-1'e olan etkilerini araştırdık. Baziller arter sulama alanından alınan doku örnekleri incelendiğinde, kontrol grubundaki ET-1 düzeyinin Sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. Verapamil grubunda ise, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu değer anlamlı derecede düşük olduğu görüldü.

Vazospazm tanısında en güvenilir yöntem şüphesiz ki damar lümeninin çapını ölçmektir. Hastalarda bunun için DSA, BTA gibi yöntemler kullanılırken patolojik preparatlarda, mikroskopik ölçümlerden faydalanılmaktadır. Bizim çalışmamızda baziller arter lümen çapı

ölçümlerinde Sham grubundaki çap değerlerinin Kontrol grubuna göre anlamlı derecede geniş olduğu, verapamil grubunda da Kontrol grubuna göre anlamlı derecede geniş olduğu görüldü.

Vazospazm patogenezinde damarın kontrakte olup lümen çapının azalmasının yanısıra damar duvarında inflamasyona, apoptoza ve düz kas proliferasyonuna sekonder kalınlaşma izlenir. Bu da spazma uğrayan damarın yeterince dilate olamamasının sebeplerindendir. Biz çalışmamızda baziller arterin duvar kalınlıklarını mikroskop ile ölçtük. Sham grubunda duvar kalınlıklarının Kontrol grubuna göre anlamlı derecede az olduğu, Kontrol grubundaki damar duvarlarının ise verapamil grubu duvarlarına göre anlamlı derecede kalın olduğunu saptadık.

Çalışmamızda yeni tedavi modellerinin oluşturulmasına katkıda bulunacağını düşündüğümüz intratekal verapamil'in SAK sonrasında ortaya çıkan ve multifaktöryel patogeneze sahip olduğu kabul edilen serebral vazospazmı tedavi edici etkisini histopatolojik olarak damar lümen çapı ve duvar kalınlığını, elisa ile endotelin-1 serum seviyelerini, western blot ile kaspaz-3, bax, bcl-2 bakarak apoptoz indeksini ve TAS, TOS bakarak oksidatif hasar oranını ölçerek inceledik.

Bu çalışmada SAK sonrası gelişen serebral vazospazmda daha önce bu amaçla hiç kullanılmamış olan intratekal verapamilin baziller arter lümen çapına, duvar kalınlığına, endotelin-1 düzeylerine, oksidatif strese ve apoptoza olan etkileri gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada gösterilen, verapamilin apoptotik göstergeler olan bax ve bcl-2 ve oksidatif hasar göstergesi olan TAS ve TOS üzerine etkisine daha önceki çalışmalarda rastanmamaktadır. Böylece bu sonuçlar gelecekteki araştırmalara yol gösterecektir.

Bizim çalışmamızda bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. Çalışmamızda deneklerin hepsini 7. günde sakrifiye ettik. Farklı günlerdeki sonuçlar değişiklik gösterebilir. Bir diğeri ise verapamil'i sadece 1. ve 48. saatlerde uyguladık. Sisternal drenaj takılı olan bir hastada intratekal verapamil düzenli olarak günde birkaç doz uygulandığı zaman burada gösterilen sonuçlardan daha olumlu olabilir. Biz çalışmamızı kolay bulunduğu ve daha önce başarıyla birçok kez uygulandığı için sıçanlarda yaptık. Başka memeli hayvanlarda yapılırsa daha değişik ve insana daha yakın sonuçlar alınabilir. Bu yüzden daha büyük memeli bir hayvanda daha fazla sayıda denek kullanılarak sisternal ya da lomber drenaj takılarak yapılacak bir çalışma gelecekte planlanabilir.

## 6) SONUÇ

Bu çalışmada SAK sonrası gelişen vazospazmda intratekal uygulanan verapamilin baziller arter lümen çapını arttırdığını ve arter duvar kalınlığının artmasını engellediğini saptadık. Aynı zamanda endotelin-1, apoptoz ve oksidatif stresi azaltarak sekonder hasar mekanizmalarını da önleyebileceğini saptadık.

Sonuç olarak intratekal verapamil deneysel sıçan modelinde SAK'a bağlı vazospazmı azaltmaktadır. İntratekal verapamil yeterli pre-klinik ve klinik çalışmalardan sonra vazospazmda etkin bir tedavi seçeneği olabilir.





## KAYNAKLAR

1. Budohoski KP, Guilfoyle M, Helmy A, Huuskonen T, Czosnyka M, Kirollos R, et al. The pathophysiology and treatment of delayed cerebral ischaemia following subarachnoid haemorrhage. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2014;jnnp-2014-307711.
2. Hop JW, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J. Case-Fatality Rates and Functional Outcome After Subarachnoid Hemorrhage A Systematic Review. *Stroke*. 1997;28(3):660-4.
3. Kassell N, Sasaki T, Colohan A, Nazar G. Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1985;16(4):562-72.
4. Bederson JB, Connolly ES, Batjer HH, Dacey RG, Dion JE, Diringer MN, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage a statement for healthcare professionals from a special Writing Group of the Stroke Council, American Heart Association. *Stroke*. 2009;40(3):994-1025.
5. Adams HP, Jr., Kassell NF, Torner JC, Haley EC, Jr. Predicting cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: influences of clinical condition, CT results, and antifibrinolytic therapy. A report of the Cooperative Aneurysm Study. *Neurology*. 1987;37(10):1586-91.
6. Sano K, Asano T, Tanishima T, Sasaki T. Lipid peroxidation as a cause of cerebral vasospasm. *Neurological research*. 1979;2(3-4):253-72.
7. Tinu S, Vaman VA, Geetha C, Mohanan P. Analysis of mitochondrial DNA damage using 8-hydroxy 2' deoxyguanosine on in vitro and in vivo exposure of biomaterials. *Toxicology mechanisms and methods*. 2013;23(2):86-93.
8. Park S, Yamaguchi M, Zhou C, Calvert J, Tang J, Zhang JH. Neurovascular protection reduces early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2004;35(10):2412-7.
9. Zhou C, Yamaguchi M, Kusaka G, Schonholz C, Nanda A, Zhang JH. Caspase inhibitors prevent endothelial apoptosis and cerebral vasospasm in dog model of experimental subarachnoid hemorrhage. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2004;24(4):419-31.
10. Ostrowski RP, Colohan AR, Zhang JH. Mechanisms of hyperbaric oxygen-induced neuroprotection in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2005;25(5):554-71.
11. 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.
12. Haley Jr EC, Kassell NF, Torner JC. A randomized trial of nicardipine in subarachnoid hemorrhage: angiographic and transcranial Doppler ultrasound results: a report of the Cooperative Aneurysm Study. *Journal of neurosurgery*. 1993;78(4):548-53.
13. Rabinstein AA, Friedman JA, Weigand SD, McClelland RL, Fulgham JR, Manno EM, et al. Predictors of cerebral infarction in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2004;35(8):1862-6.
14. Shimizu K, Ohta T, Toda N. Evidence for greater susceptibility of isolated dog cerebral arteries to Ca antagonists than peripheral arteries. *Stroke*. 1980;11(3):261-6.
15. Feng L, Fitzsimmons B-F, Young WL, Berman MF, Lin E, Aagaard BD, et al. Intraarterially administered verapamil as adjunct therapy for cerebral vasospasm: safety and 2-year experience. *American Journal of Neuroradiology*. 2002;23(8):1284-90.

16. Mazumdar A, Rivet DJ, Derdeyn CP, Cross III DT, Moran CJ. Effect of intraarterial verapamil on the diameter of vasospastic intracranial arteries in patients with cerebral vasospasm. *Neurosurgical focus*. 2006;21(3):1-5.
17. Linfante I, Delgado-Mederos R, Andreone V, Gounis M, Hendricks L, Wakhloo AK. Angiographic and hemodynamic effect of high concentration of intra-arterial nicardipine in cerebral vasospasm. *Neurosurgery*. 2008;63(6):1080-7.
18. Huang J, van Gelder JM. The probability of sudden death from rupture of intracranial aneurysms: a meta-analysis. *Neurosurgery*. 2002;51(5):1101-7.
19. Schievink WI, Michels VV, Piepgras DG. Neurovascular manifestations of heritable connective tissue disorders. A review. *Stroke*. 1994;25(4):889-903.
20. Juvela S, Porras M, Heiskanen O. Natural history of unruptured intracranial aneurysms: a long-term follow-up study. *Journal of neurosurgery*. 1993;79(2):174-82.
21. Wiebers D, Whisnant J, Huston 3rd J, Meissner I, Brown Jr R, Piepgras D, et al. International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms Investigators: Unruptured intracranial aneurysms: Natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. *Lancet*. 2003;362(9378):103-10.
22. Bederson JB, Levy AL, Ding WH, Kahn R, DiPerna CA, Jenkins III AL, et al. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 1998;42(2):352-60.
23. Simeone FA, Ryan KG, Cotter JR. Prolonged experimental cerebral vasospasm. *Journal of neurosurgery*. 1968;29(4):357-66.
24. Berendes E, Walter M, Cullen P, Prien T, Van Aken H, Horsthemke J, et al. Secretion of brain natriuretic peptide in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *The Lancet*. 1997;349(9047):245-9.
25. Meguro T, Klett CP, Chen B, Parent AD, Zhang JH. Role of calcium channels in oxyhemoglobin-induced apoptosis in endothelial cells. *Journal of neurosurgery*. 2000;93(4):640-6.
26. Ikonomidou C, Turski L. Why did NMDA receptor antagonists fail clinical trials for stroke and traumatic brain injury? *The Lancet Neurology*. 2002;1(6):383-6.
27. Sarrafzadeh A, Haux D, Sakowitz O, Benndorf G, Herzog H, Kuechler I, et al. Acute focal neurological deficits in aneurysmal subarachnoid hemorrhage relation of clinical course, CT findings, and metabolite abnormalities monitored with bedside microdialysis. *Stroke*. 2003;34(6):1382-8.
28. Ng WH, Moochhala S, Yeo TT, Ong PL, Ng PY. Nitric oxide and subarachnoid hemorrhage: elevated levels in cerebrospinal fluid and their implications. *Neurosurgery*. 2001;49(3):622-7.
29. Pluta RM, Boock RJ, Afshar JK, Clouse K, Bacic M, Ehrenreich H, et al. Source and cause of endothelin-1 release into cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 1997;87(2):287-93.
30. Mascia L, Fedorko L, Stewart D, Mohamed F, Ranieri V, Wallace M. Temporal relationship between endothelin-1 concentrations and cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2001;32(5):1185-90.
31. Gaetani P, Marzatico F, y Baena RR, Pacchiarini L, Vigano T, Grignani G, et al. Arachidonic acid metabolism and pathophysiologic aspects of subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke*. 1990;21(2):328-32.
32. Kaynar MY, Tanriverdi T, Kafadar AM, Kacira T, Uzun H, Aydin S, et al. Detection of soluble intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in both cerebrospinal fluid and serum of patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 2004;101(6):1030-6.

33. Dietrich HH, Dacey Jr RG. Molecular keys to the problems of cerebral vasospasm. *Neurosurgery*. 2000;46(3):517-30.
34. Lee J-Y, Keep RF, He Y, Sagher O, Hua Y, Xi G. Hemoglobin and iron handling in brain after subarachnoid hemorrhage and the effect of deferoxamine on early brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2010;30(11):1793-803.
35. Sehba FA, Flores R, Muller A, Friedrich V, Chen J-F, Britz GW, et al. Adenosine A2A receptors in early ischemic vascular injury after subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 2010;113(4):826.
36. Sehba FA, Mostafa G, Knopman J, Friedrich Jr V, Bederson JB. Acute alterations in microvascular basal lamina after subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 2004;101(4):633-40.
37. Strong AJ, Anderson PJ, Watts HR, Virley DJ, Lloyd A, Irving EA, et al. Peri-infarct depolarizations lead to loss of perfusion in ischaemic gyrencephalic cerebral cortex. *Brain*. 2007;130(4):995-1008.
38. 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.
39. Broughton BR, Reutens DC, Sobey CG. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia. *Stroke*. 2009;40(5):e331-e9.
40. Nanda A, Vannemreddy PS, Polin RS, Willis BK. Intracranial aneurysms and cocaine abuse: analysis of prognostic indicators. *Neurosurgery*. 2000;46(5):1063-9.
41. Linn F, Wijdicks E, van Gijn J, Weerdesteyn-van Vliet F, van der Graaf Y, Bartelds A. Prospective study of sentinel headache in aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *The Lancet*. 1994;344(8922):590-3.
42. Rabinstein AA, Lanzino G, Wijdicks EF. Multidisciplinary management and emerging therapeutic strategies in aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *The Lancet Neurology*. 2010;9(5):504-19.
43. van Gijn J, Kerr RS, Rinkel GJ. Subarachnoid haemorrhage. *The Lancet*. 2007;369(9558):306-18.
44. Diringer MN, Bleck TP, Hemphill III JC, Menon D, Shutter L, Vespa P, et al. Critical care management of patients following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: recommendations from the Neurocritical Care Society's Multidisciplinary Consensus Conference. *Neurocritical care*. 2011;15(2):211-40.
45. Connolly ES, 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.
46. Raya AK, Diringer MN. Treatment of Subarachnoid Hemorrhage. *Crit Care Clin*. 2014;30(4):719-33.
47. Molyneux A, Group ISATC. International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised trial. *The Lancet*. 2002;360(9342):1267-74.
48. Molyneux AJ, Kerr RS, Yu L-M, Clarke M, Sneade M, Yarnold JA, et al. International subarachnoid aneurysm trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised comparison of effects on survival, dependency, seizures, rebleeding, subgroups, and aneurysm occlusion. *The Lancet*. 2005;366(9488):809-17.
49. Nishizawa S. The roles of early brain injury in cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage: from clinical and scientific aspects. *Cerebral Vasospasm: Neurovascular Events After Subarachnoid Hemorrhage*: Springer; 2013. p. 207-11.

50. Macdonald RL. Delayed neurological deterioration after subarachnoid haemorrhage. *Nature Reviews Neurology*. 2014;10(1):44-58.
51. Kassell NF, Torner JC, Jane JA, Haley Jr EC, Adams HP. The International Cooperative Study on the timing of aneurysm surgery: Part 2: Surgical results. *Journal of neurosurgery*. 1990;73(1):37-47.
52. Claassen J, Bernardini GL, Kreiter K, Bates J, Du YE, Copeland D, et al. Effect of cisternal and ventricular blood on risk of delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage: the Fisher scale revisited. *Stroke*. 2001;32(9):2012-20.
53. Charpentier C, Audibert G, Guillemin F, Civit T, Ducrocq X, Bracard S, et al. Multivariate analysis of predictors of cerebral vasospasm occurrence after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1999;30(7):1402-8.
54. Hijdra A, van Gijn J, Nagelkerke NJ, Vermeulen M, van Crevel H. Prediction of delayed cerebral ischemia, rebleeding, and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke; A Journal Of Cerebral Circulation*. 1988;19(10):1250-6.
55. Charpentier C, Audibert G, Guillemin F, Civit T, Ducrocq X, Bracard S, et al. Multivariate analysis of predictors of cerebral vasospasm occurrence after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke; A Journal Of Cerebral Circulation*. 1999;30(7):1402-8.
56. Hop J, Rinkel G, Algra A, Van Gijn J. Initial loss of consciousness and risk of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1999;30(11):2268-71.
57. Frontera JA, Fernandez A, Schmidt JM, Claassen J, Wartenberg KE, Badjatia N, et al. Defining Vasospasm After Subarachnoid Hemorrhage What Is the Most Clinically Relevant Definition? *Stroke*. 2009;40(6):1963-8.
58. Brouwers P, Dippel D, Vermeulen M, Lindsay K, Hasan D, Van Gijn J. Amount of blood on computed tomography as an independent predictor after aneurysm rupture. *Stroke*. 1993;24(6):809-14.
59. Wickman G, Lan C, Vollrath B. Functional roles of the rho/rho kinase pathway and protein kinase C in the regulation of cerebrovascular constriction mediated by hemoglobin relevance to subarachnoid hemorrhage and vasospasm. *Circulation research*. 2003;92(7):809-16.
60. Nishizawa S, Nezu N, Uemura K. Direct evidence for a key role of protein kinase C in the development of vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 1992;76(4):635-9.
61. Zhang J, Xu X, Zhou D, Li H, You W, Wang Z, et al. Possible Role of Raf-1 Kinase in the Development of Cerebral Vasospasm and Early Brain Injury After Experimental Subarachnoid Hemorrhage in Rats. *Mol Neurobiol*. 2015;52(3):1527-39.
62. Uekusa H, Miyazaki C, Kondo K, Harada N, Nomoto J, Sugo N, et al. Hydroperoxide in internal jugular venous blood reflects occurrence of subarachnoid hemorrhage-induced delayed cerebral vasospasm. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014;23(9):2217-24.
63. Joško J. Cerebral angiogenesis and expression of VEGF after subarachnoid hemorrhage (SAH) in rats. *Brain Research*. 2003;981(1-2):58-69.
64. Testai FD, Hillmann M, Amin-Hanjani S, Gorshkova I, Berdyshev E, Gorelick PB, et al. Changes in the cerebrospinal fluid ceramide profile after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2012;43(8):2066-70.
65. Assenzio B, Martin EL, Stankevicius E, Civiletti F, Fontanella M, Boccaletti R, et al. Cerebrospinal fluid from patients with subarachnoid haemorrhage and vasospasm enhances endothelin contraction in rat cerebral arteries. *PLoS One*. 2015;10(1):e0116456.

66. Rothoerl RD, Ringel F. Molecular mechanisms of cerebral vasospasm following aneurysmal SAH. *Neurological research*. 2007;29(7):636-42.
67. 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.
68. Stamatovic SM, Shakui P, Keep RF, Moore BB, Kunkel SL, Van Rooijen N, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 regulation of blood–brain barrier permeability. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2005;25(5):593-606.
69. Wilson JX, Gelb AW. Free radicals, antioxidants, and neurologic injury: possible relationship to cerebral protection by anesthetics. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2002;14(1):66-79.
70. Ikeda Y, Long DM. The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals. *Neurosurgery*. 1990;27(1):1-11.
71. Marzatico F, Cafe C. Oxygen radicals and other toxic oxygen metabolites as key mediators of the central nervous system tissue injury. *Funct Neurol*. 1992;8(1):51-66.
72. Braughler JM, Hall ED. Central nervous systems trauma and stroke: I. Biochemical considerations for oxygen radical formation and lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine*. 1989;6(3):289-301.
73. Manwaring JD, Csallany AS. Malondialdehyde-containing proteins and their relationship to vitamin E. *Lipids*. 1988;23(7):651-5.
74. Roseborough G, Lin R, Gao D, McHale A, Chen L, Williams GM, et al. DNA damage and repair in human spinal cord following ischemia–reperfusion injury. *Journal of Cardiothoracic-Renal Research*. 2006;1(2):141-5.
75. Lewén A, Fujimura M, Sugawara T, Matz P, Copin J-C, Chan PH. Oxidative stress-dependent release of mitochondrial cytochrome c after traumatic brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2001;21(8):914-20.
76. Adams JM, Cory S. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. *Trends Biochem Sci*. 2001;26(1):61-6.
77. Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E, van den Heuvel FA, Koornstra JJ, Wesseling J, et al. Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem*. 2004;52(6):821-31.
78. Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cell Signal*. 2003;15(11):983-92.
79. Schuler M, Green D. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochem Soc Trans*. 2001;29(6):684-7.
80. Onur R, Semerciöz A, Orhan I, Yekeler H. The effects of melatonin and the antioxidant defence system on apoptosis regulator proteins (Bax and Bcl-2) in experimentally induced varicocele. *Urol Res*. 2004;32(3):204-8.
81. Crowley RW, Medel R, Dumont AS, Ilodigwe D, Kassell NF, Mayer SA, et al. Angiographic vasospasm is strongly correlated with cerebral infarction after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2011;42(4):919-23.
82. Weidauer S, Lanfermann H, Raabe A, Zanella F, Seifert V, Beck J. Impairment of Cerebral Perfusion and Infarct Patterns Attributable to Vasospasm After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage A Prospective MRI and DSA Study. *Stroke*. 2007;38(6):1831-6.
83. Ljunggren B, Brandt L, Säveland H, Nilsson P-E, Cronqvist S, Andersson K-E, et al. Outcome in 60 consecutive patients treated with early aneurysm operation and intravenous nimodipine. *Journal of neurosurgery*. 1984;61(5):864-73.

84. Jaeger M, Schuhmann MU, Soehle M, Nagel C, Meixensberger J. Continuous monitoring of cerebrovascular autoregulation after subarachnoid hemorrhage by brain tissue oxygen pressure reactivity and its relation to delayed cerebral infarction. *Stroke*. 2007;38(3):981-6.
85. Dreier JP, Major S, Manning A, Woitzik J, Drenckhahn C, Steinbrink J, et al. Cortical spreading ischaemia is a novel process involved in ischaemic damage in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Brain*. 2009;132(7):1866-81.
86. Wong GK, Nung RC, Sitt JC, Mok VC, Wong A, Ho FL, et al. Location, Infarct Load, and 3-Month Outcomes of Delayed Cerebral Infarction After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*. 2015;46(11):3099-104.
87. Bendel P, Koivisto T, Niskanen E, Kononen M, Aikia M, Hanninen T, et al. Brain atrophy and neuropsychological outcome after treatment of ruptured anterior cerebral artery aneurysms: a voxel-based morphometric study. *Neuroradiology*. 2009;51(11):711-22.
88. Buchanan KM, Elias LJ, Goplen GB. Differing perspectives on outcome after subarachnoid hemorrhage: the patient, the relative, the neurosurgeon. *Neurosurgery*. 2000;46(4):831-40.
89. Vilkki J. Amnesic syndromes after surgery of anterior communicating artery aneurysms. *Cortex*. 1985;21(3):431-44.
90. Dankbaar JW, de Rooij NK, Velthuis BK, Frijns CJ, Rinkel GJ, van der Schaaf IC. Diagnosing delayed cerebral ischemia with different CT modalities in patients with subarachnoid hemorrhage with clinical deterioration. *Stroke*. 2009;40(11):3493-8.
91. Macdonald RL, Kassell NF, Mayer S, Ruefenacht D, Schmiedek P, Weidauer S, et al. Clazosentan to overcome neurological ischemia and infarction occurring after subarachnoid hemorrhage (CONSCIOUS-1) randomized, double-blind, placebo-controlled Phase 2 dose-finding trial. *Stroke*. 2008;39(11):3015-21.
92. Mascia L, Fedorko L, terBrugge K, Filippini C, Pizzio M, Ranieri VM, et al. The accuracy of transcranial Doppler to detect vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Intensive Care Medicine*. 2003;29(7):1088-94.
93. Klimo Jr P, Schmidt RH. Computed tomography grading schemes used to predict cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a historical review. *Neurosurgical focus*. 2006;21(3):1-8.
94. Nakae R, Yokota H, Yoshida D. Abstract: Transcranial Doppler Ultrasounography for Diagnosis of Cerebral Vasospasm After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Mean Blood Flow Velocity Ratio of the Ipsilateral and Contralateral Middle Cerebral Arteries. *Journal of Vascular Surgery*. 2012;55:1220.
95. Jabbarli R, Glasker S, Weber J, Taschner C, Olschewski M, Van Velthoven V. Predictors of severity of cerebral vasospasm caused by aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2013;22(8):1332-9.
96. Lysakowski C, Walder B, Costanza MC, Tramèr MR. Transcranial Doppler Versus Angiography in Patients With Vasospasm due to a Ruptured Cerebral Aneurysm A Systematic Review. *Stroke*. 2001;32(10):2292-8.
97. Greenberg E, Gold R, Reichman M, John M, Ivanidze J, Edwards A, et al. Diagnostic accuracy of CT angiography and CT perfusion for cerebral vasospasm: a meta-analysis. *American Journal of Neuroradiology*. 2010;31(10):1853-60.
98. Calviere L, Nasr N, Arnaud C, Czosnyka M, Viguier A, Tissot B, et al. Prediction of Delayed Cerebral Ischemia After Subarachnoid Hemorrhage Using Cerebral Blood Flow Velocities and Cerebral Autoregulation Assessment. *Neurocrit Care*. 2015;23(2):253-8.

99. Klimo Jr P, Kestle JR, MacDonald JD, Schmidt RH. Marked reduction of cerebral vasospasm with lumbar drainage of cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 2004;100(2):215-24.
100. 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.
101. Kisson NR, Mandrekar JN, Fugate JE, Lanzino G, Wijdicks EF, Rabinstein AA. Positive Fluid Balance Is Associated With Poor Outcomes in Subarachnoid Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2015;24(10):2245-51.
102. Raabe A, Beck J, Keller M, Vatter H, Zimmermann M, Seifert V. Relative importance of hypertension compared with hypervolemia for increasing cerebral oxygenation in patients with cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 2005;103(6):974-81.
103. Kim DH, Joseph M, Ziadi S, Nates J, Dannenbaum M, Malkoff M. Increases in cardiac output can reverse flow deficits from vasospasm independent of blood pressure: a study using xenon computed tomographic measurement of cerebral blood flow. *Neurosurgery*. 2003;53(5):1044-52.
104. Veyna RS, Seyfried D, Burke DG, Zimmerman C, Mlynarek M, Nichols V, et al. Magnesium sulfate therapy after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 2002;96(3):510-4.
105. Macdonald RL, Higashida RT, Keller E, Mayer SA, Molyneux A, Raabe A, et al. Clazosentan, an endothelin receptor antagonist, in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage undergoing surgical clipping: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial (CONSCIOUS-2). *The Lancet Neurology*. 2011;10(7):618-25.
106. Chanani NK, Cowan DB, Takeuchi K, Poutias DN, Garcia LM, Pedro J, et al. Differential effects of amrinone and milrinone upon myocardial inflammatory signaling. *Circulation*. 2002;106(12 suppl 1):I-284-I-9.
107. Ding D, Starke RM, Dumont AS, Owens GK, Hasan DM, Chalouhi N, et al. Therapeutic implications of estrogen for cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia induced by aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *BioMed research international*. 2014;2014.
108. Hino A, Tokuyama Y, Weir B, Takeda J, Yano H, Bell GI, et al. Changes in endothelial nitric oxide synthase mRNA during vasospasm after subarachnoid hemorrhage in monkeys. *Neurosurgery*. 1996;39(3):562-8.
109. Gomis P, Graftieaux JP, Sercombe R, Hettler D, Scherpereel B, Rousseaux P. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of high-dose methylprednisolone in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: Clinical article. *Journal of neurosurgery*. 2010;112(3):681-8.
110. Zhang X-S, Zhang X, Zhou M-L, Zhou X-M, Li N, Li W, et al. Amelioration of oxidative stress and protection against early brain injury by astaxanthin after experimental subarachnoid hemorrhage: Laboratory investigation. *Journal of neurosurgery*. 2014;121(1):42-54.
111. Muroi C, Hugelshofer M, Seule M, Keller E. The impact of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on inflammatory response after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocritical care*. 2014;20(2):240-6.
112. Iso H, Hennekens CH, Stampfer MJ, Rexrode KM, Colditz GA, Speizer FE, et al. Prospective study of aspirin use and risk of stroke in women. *Stroke*. 1999;30(9):1764-71.

113. Tseng M-Y, Czosnyka M, Richards H, Pickard JD, Kirkpatrick PJ. Effects of Acute Treatment With Pravastatin on Cerebral Vasospasm, Autoregulation, and Delayed Ischemic Deficits After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage A Phase II Randomized Placebo-Controlled Trial. *Stroke*. 2005;36(8):1627-32.
114. Tseng MY, Hutchinson PJ, Czosnyka M, Richards H, Pickard JD, Kirkpatrick PJ. Effects of acute pravastatin treatment on intensity of rescue therapy, length of inpatient stay, and 6-month outcome in patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2007;38(5):1545-50.
115. Kaku Y, Yonekawa Y, Tsukahara T, Kazekawa K. Superselective intra-arterial infusion of papaverine for the treatment of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 1992;77(6):842-7.
116. Vajkoczy P, Horn P, Bauhuf C, Munch E, Hubner U, Thome C, et al. Effect of intra-arterial papaverine on regional cerebral blood flow in hemodynamically relevant cerebral vasospasm. *Stroke*. 2001;32(2):498-505.
117. Fraticelli AT, Cholley BP, Losser M-R, Saint Maurice J-P, Payen D. Milrinone for the treatment of cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2008;39(3):893-8.
118. Bele S, Proescholdt MA, Hochreiter A, Schuierer G, Scheitzach J, Wendl C, et al. Continuous intra-arterial nimodipine infusion in patients with severe refractory cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a feasibility study and outcome results. *Acta Neurochir (Wien)*. 2015;157(12):2041-50.
119. Hui C, Lau K. Efficacy of intra-arterial nimodipine in the treatment of cerebral vasospasm complicating subarachnoid haemorrhage. *Clinical radiology*. 2005;60(9):1030-6.
120. Badjatia N, Topcuoglu MA, Pryor JC, Rabinov JD, Ogilvy CS, Carter BS, et al. Preliminary experience with intra-arterial nicardipine as a treatment for cerebral vasospasm. *American Journal of Neuroradiology*. 2004;25(5):819-26.
121. Tejada J, Taylor R, Ugurel M, Hayakawa M, Lee S, Chaloupka J. Safety and feasibility of intra-arterial nicardipine for the treatment of subarachnoid hemorrhage-associated vasospasm: initial clinical experience with high-dose infusions. *American journal of neuroradiology*. 2007;28(5):844-8.
122. Shibuya M, Suzuki Y, Sugita K, Saito I, Sasaki T, Takakura K, et al. Effect of AT877 on cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of a prospective placebo-controlled double-blind trial. *Journal of neurosurgery*. 1992;76(4):571-7.
123. Suzuki S, Ito O, Sayama T, Goto K. Intra-arterial colforsin daropate for the treatment of cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neuroradiology*. 2010;52(9):837-45.
124. Kasuya H, Onda H, Takeshita M, Okada Y, Hori T. Efficacy and safety of nicardipine prolonged-release implants for preventing vasospasm in humans. *Stroke*. 2002;33(4):1011-5.
125. Shibuya M, Suzuki Y, Enomoto H, Okada T, Ogura K, Sugita K. Effects of prophylactic intrathecal administrations of nicardipine on vasospasm in patients with severe aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta neurochirurgica*. 1994;131(1-2):19-25.
126. Sasaki T, Kodama N, Kawakami M, Sato M, Asari J, Sakurai Y, et al. Urokinase Cisternal Irrigation Therapy for Prevention of Symptomatic Vasospasm After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage A Study of Urokinase Concentration and the Fibrinolytic System. *Stroke*. 2000;31(6):1256-62.



127. Vergouwen MD, Vermeulen M, van Gijn J, Rinkel GJ, Wijdicks EF, Muizelaar JP, et al. Definition of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage as an outcome event in clinical trials and observational studies proposal of a multidisciplinary research group. *Stroke*. 2010;41(10):2391-5.
128. Muizelaar JP, Marmarou A, Ward JD, Kontos HA, Choi SC, Becker DP, et al. Adverse effects of prolonged hyperventilation in patients with severe head injury: a randomized clinical trial. *Journal of neurosurgery*. 1991;75(5):731-9.
129. Lee M, Klassen A, Resch J. Respiratory pattern disturbances in ischemic cerebral vascular disease. *Stroke*. 1971;5(5):612-6.
130. Raichle ME, Plum F. Hyperventilation and cerebral blood flow. *Stroke*. 1972;3(5):566-75.
131. Lylyk P, Vila JF, Miranda C, Ferrario A, Romero R, Cohen JE. Partial aortic obstruction improves cerebral perfusion and clinical symptoms in patients with symptomatic vasospasm. *Neurological research*. 2005;27(Supplement-1):129-35.
132. Yarnitsky D, Lorian A, Shalev A, Zhang Z-D, Takahashi M, Agbaje-Williams M, et al. Reversal of cerebral vasospasm by sphenopalatine ganglion stimulation in a dog model of subarachnoid hemorrhage. *Surgical neurology*. 2005;64(1):5-11.
133. Arias EJ, Vajapey S, Reynolds MR, Chicoine MR, Rich KM, Dacey RG, Jr., et al. Utility of Screening for Cerebral Vasospasm Using Digital Subtraction Angiography. *Stroke*. 2015;46(11):3137-41.
134. Bulsara KR, Günel M, Amin-Hanjani S, Chen PR, Connolly ES, Friedlander RM. Results of a national cerebrovascular neurosurgery survey on the management of cerebral vasospasm/delayed cerebral ischemia. *Journal of neurointerventional surgery*. 2014:neurintsurg-2014-011223.
135. Shankar JJS, Tan IY, Krings T, Terbrugge K, Agid R. CT angiography for evaluation of cerebral vasospasm following acute subarachnoid haemorrhage. *Neuroradiology*. 2012;54(3):197-203.
136. Mindea SA, Yang BP, Bendok BR, Miller JW, Batjer HH. Endovascular treatment strategies for cerebral vasospasm. *Neurosurgical focus*. 2006;21(3):1-7.
137. Sayama CM, Liu JK, Couldwell WT. Update on endovascular therapies for cerebral vasospasm induced by aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgical focus*. 2006;21(3):1-11.
138. Hara K, Saito Y, Kirihara Y, Sakura S, Kosaka Y. Antinociceptive effects of intrathecal L-type calcium channel blockers on visceral and somatic stimuli in the rat. *Anesthesia and analgesia*. 1998;87(2):382-7.
139. Horvath G, Brodacz B, Holzer-Petsche U. Blood pressure changes after intrathecal co-administration of calcium channel blockers with morphine or clonidine at the spinal level. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2002;366(3):270-5.
140. Omote K, Iwasaki H, Kawamata M, Satoh O, Namiki A. Effects of verapamil on spinal anesthesia with local anesthetics. *Anesthesia and analgesia*. 1995;80(3):444-8.
141. Su X, Leon LA, Laping NJ. Role of spinal Cav2.2 and Cav2.1 ion channels in bladder nociception. *The Journal of urology*. 2008;179(6):2464-9.
142. Meguro T, Clower BR, Carpenter R, Parent AD, Zhang JH. Improved rat model for cerebral vasospasm studies. *Neurological research*. 2001;23(7):761-6.
143. Lee J-Y, Huang D-L, Keep R, Sager O. Characterization of an improved double hemorrhage rat model for the study of delayed cerebral vasospasm. *Journal of neuroscience methods*. 2008;168(2):358-66.

144. Gules I, Satoh M, Clower BR, Nanda A, Zhang JH. Comparison of three rat models of cerebral vasospasm. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2002;283(6):H2551-H9.
145. 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. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2007;78(12):1365-72.
146. Hegen H, Deisenhammer F. Endothelin and nitric oxide as cerebrospinal fluid biomarkers for cerebral vasospasm following subarachnoid haemorrhage / Endothelin und NO als Liquorbiomarker für cerebralen Vasospasmus nach Subarachnoidalblutung. *LaboratoriumsMedizin*. 2010;34(6):343-7.
147. Brilstra EH, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J. Rebleeding, secondary ischemia, and timing of operation in patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurology*. 2000;55(11):1656-60.
148. Povlsen GK, Johansson SE, Larsen CC, Samraj AK, Edvinsson L. Early events triggering delayed vasoconstrictor receptor upregulation and cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. *BMC neuroscience*. 2013;14(1):34.
149. Keyrouz SG, Diringer MN. Clinical review: Prevention and therapy of vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Critical Care (London, England)*. 2007;11(4):220-.