

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA SONRASI  
OLUŞAN SEREBRAL VAZOSPAZM ÜZERİNE  
CLENBUTEROL'ÜN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. BERK BENEK**

**TEZ DANIŞMANI**

**PROF.DR. KADİR TAHTA**

**DENİZLİ 2007**

İş bu çalışma jürimiz NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof.Dr. Kadir TAHTA

Üye

Prof.Dr. S.Tuncer SÜZER

Üye

Prof.Dr. M.Erdal COŞKUN

Üye

Doç.Dr. Bayram ÇIRAK

Üye

Yrd.Doç.Dr. Feridun ACAR

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Prof.Dr.Zafer AYBEK  
Dekan

30/10/2007

DEKAN

## TEŞEKKÜR

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi Nöroşirürji Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince bilgi, görgü ve deneyimlerinden her aşamada faydalandığım, başta tez çalışmalarım boyunca destek ve katkılarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kadir Tahta olmak üzere, değerli hocalarım Prof. Dr. Tuncer Süzer, Prof. Dr. Erdal Coşkun, Doç. Dr. Bayram Çırak, Yrd.Doç. Dr. Feridun Acar'a, birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, deneysel çalışmalarında yardımcı olan Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'ndan Veteriner Hekim Barbaros Şahin'e, preparatların hazırlanması ve histopatolojik değerlendirmesinde katkıda bulunan Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nagihan Yalçın'a, biyokimyasal çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Bünyamin Kaptanođlu ve Prof. Dr. Simin Rota'ya ve ayrıca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim eşim Uzm.Dr. Öznur Benek, kızım Pelin ve sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar ÇİZELGESİ	IV
ŞEKİLLER ÇİZELGESİ	V
KISALTMALAR DİZİNİ	VI
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
SUBARAKNOİD KANAMA VE SEREBRAL VAZOSPAZM	2
SEREBRAL VAZOSPAZM FİZYOpatOLOJİSİ VE TEDAVİSİ	7
SUBARAKNOİD KANAMA VE İNTERLÖKİNLER	13
CLENBUTEROL	15
GEREÇ VE YÖNTEM	19
DENEYSEL SAK MODELİ VE TEDAVİ PROTOKOLÜ	20
HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	21
BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	21
İSTATİSTİKSEL ANALİZ	21

BULGULAR	23
MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME	23
MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRME	23
İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	29
BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	30
TARTIŞMA	31
SONUÇ	40
ÖZET	41
YABANCI DİL ÖZETİ	42
KAYNAKLAR	43

## TABLolar ÇİZELGESİ

Sayfa No:

Tablo-I	Hunt-Hess Sınıflaması	3
Tablo-II	WFNS Sınıflaması	3
Tablo-III	Anevrizmal Subaraknoid Kanamada Fisher BT Derecelendirme Skalası	7
Tablo-IV	Deney Grupları	20
Tablo-V	Baziller Arter Çap Ölçüm Değerleri	29
Tablo-VI	Baziller Arter Çap Ölçümleri Değerlendirme Sonuçları	29
Tablo-VII	Tukey HSD Testi İkili Karşılaştırma Sonuçları	30

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Sayfa No:

Şekil-1	Clenbuterol'ün Yapısı	15
Şekil-2	SAK (-) Kontrol Grubu Makroskopi- Önden Görünüş	24
Şekil-3	SAK Grubu Makroskopi- Önden Görünüş	25
Şekil-4	SAK (-) Kontrol Grubu Mikroskopi	26
Şekil-5	SAK Grubu Mikroskopi	27
Şekil-6	Tedavi Grubu Mikroskopi	28
Şekil-7	Baziller Arter Çap Ölçümleri Grafiği	29

## KISALTMALAR DİZİNİ

ALS	Amyotrofik lateral skleroz
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CAM	Hücre adezyon molekülleri
CGRP	Kalsitonin gen bağımlı peptid
EFS	Elektriksel alan stimülasyonu
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz
ET	Endotelin
GKS	Glaskow Koma Skalası
ICAM	İntersellüler hücre adezyon molekülleri
IL	İnterlökin
MAO	Monoaminoksidaz
NGF	Sinir büyüme faktörü
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentetaz
NF-kappaB	Nükleer faktör- kappaB
PAF	Platelet aktive edici faktör
PET	Positron Emission Tomography
SAK	Subaraknoid kanama
SPECT	Single Photon Emission Computerized Tomography
SPSS	Statistical Product and Service Solutions
TNF- $\alpha$	Tümör nekroz faktör- alfa
tPA	Doku tipi plazminojen aktivatörü
VCAM	Vasküler hücre adezyon molekülleri
WFNS	Dünya Nörolojik Cerrahlar Federasyonu



## GİRİŞ

Subaraknoid kanama (SAK) sonrası gelişen serebral vazospazm, intrakranial anevrizmalı hastalarda prognozu etkileyerek mortalite ve morbiditeye neden olan ciddi bir patolojik durumdur. Serebral vazospazm SAK sonrası serebral arterlerde ortaya çıkan patolojik daralmalardır. Etkilenen arterin distalinde perfüzyonda azalma olur. Serebral vazospazm tanısı, klinik olarak SAK sonrası beynin bir kısmında ortaya çıkan iskemi ve infarkta bağlı olarak gelişen nörolojik kötüleşme ile, radyolojik olarak serebral arterin lümenindeki daralmanın gösterilmesi ile konulabilir. Angiografik vazospazm üçüncü günden itibaren başlayarak en yüksek noktaya yedinci günde ulaşır. Yapılan araştırmalara rağmen serebral vazospazmın etyopatogenezi tam olarak anlaşılamamıştır ve halen etkin bir tedavi yöntemi mevcut değildir.

Bu çalışmada amaç, subaraknoid kanama modeli ile geliştirilen serebral vazospazm üzerine clenbuterol'ün etkilerinin baziller arter boyutları karşılaştırılarak değerlendirilmesi ve tümör nekroz faktör- alfa (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin-6 (IL-6) proinflamatuvar sitokin düzeylerinin değişiminin incelenmesidir. Clenbuterol beta-2 adrenoseptör agonistidir. Ortalama kan basıncını etkili biçimde artırır ve beta-2 bağımlı vazodilatasyonu indükler. Kan beyin bariyerini geçebilir. Kontraktil yanıtı azaltarak vazokonstrüksiyonu önler. Serebral vazospazmda etkin bir medikal tedavinin bulunmaması nedeniyle bu konudaki çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmada SAK patogenezini ortaya koyarak vazospazma yönelik etkin bir tedavi yöntemi geliştirmek amaçlanmıştır.

Bu çalışmada sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile deneysel subaraknoid kanama oluşturulup sonrası gelişen serebral vazospazma karşı clenbuterol'ün etkileri sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilecektir.

## GENEL BİLGİLER

### SUBARAKNOİD KANAMA VE SEREBRAL VAZOSPAZM

Subaraknoid kanama, çeşitli patolojilere bağlı olarak kanın subaraknoid aralığa yayıldığı durumdur. SAK en sık kafa travması sonucu meydana gelmektedir. Travma dışı SAK'lara primer veya spontan SAK denir. Spontan SAK etiyojisinde, rüptüre olmuş intrakranial anevrizmalar ilk sıradadır. Bunun dışında intrakranial arteriovenöz malformasyonlar, hipertansiyon ve ateroskleroz, intrakranial tümörler, santral sinir sistemini tutan bazı vaskülitler, kanama diskrazileri, cerrahi girişimler, enfeksiyonlar, alerjik hastalıklar, intoksikasyonlar gibi patolojiler SAK'a neden olurlar (1, 2) . Klinik ve radyolojik çalışmalarda saptanan subaraknoid kanamaların yaklaşık %20' sinde bilinen bir neden yoktur (3, 4).

SAK yıllık insidansı 10-16 / 100 000 arası değiştiği bildirilmektedir (5). Rüptüre olmuş sakküler anevrizmalara sekonder SAK, stroklu vakaların yaklaşık % 5-15'ini oluşturur (6, 7). Bu durumun toplam mortalite oranı %30-70'dir ve sağkalanların %10-20'sinde ciddi nörolojik bozukluklar görülür (8). SAK sonrasında izlenen klinik tabloda hastaların %12'si medikal tedavi verilemeden ölürken, %25' i ilk 24 saat içerisinde, %40-60'ı ise ilk 30 gün içerisinde ölümcül seyretmektedir (6, 9). İlk kanamadan sonra yaşayan ve cerrahi olarak tedavi görmemiş hastalarda morbidite ve mortalitenin esas nedeni yeniden kanamadır. Küçük anevrizmaların daha fazla miktarda subaraknoid kanamaya yol açtığı şeklindeki önceki teorilerin aksine , son klinik serilerde anevrizma boyutu ile subaraknoid mesafedeki kan hacmi arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir. Bu hastaların prognozu; Hunt-Hess derecesi, yaş ve klinik vazospazm ile ilişkilidir (10). Anevrizma rüptürü sonrası SAK olan olgularda cerrahi risk ve prognozu belirleme amacı ile değişik klinik değerlendirmeler yapılmıştır. Yaygın olarak kullanılanları; Botterel, Hunt-Hess (Tablo-I ), Yaşargil ve son olarak Dünya Nörolojik Cerrahlar Federasyonu (WFNS) (Tablo-II ) SAK sınıflandırmasıdır (11,12).

Tablo- I. Hunt-Hess Sınıflaması

Evre 1	Aseptomatik, hafif başağrısı ve ense sertliği
Evre 2	Orta veya şiddetli başağrısı, ense sertliği, kranial sinir felci
Evre 3	Uykuya eğilim, hafif fokal nörolojik defisit
Evre 4	Stupor, orta veya ciddi hemiparezi, rijidite, vejetatif bozukluk
Evre 5	Derin koma ve deserebrasyon rijiditesi

Tablo-II. WFNS Sınıflaması

Evre 1	Glaskow Koma Skalası (GKS) 15	Motor defisit yok
Evre 2	GKS 13-14	Motor defisit yok
Evre 3	GKS 13-14	Motor defisit var
Evre 4	GKS 7-12	Motor defisit var veya yok
Evre 5	GKS 3-6	Motor defisit var veya yok

Subaraknoid kanama sonrasında ortaya çıkan serebral vazospazm, beyin tabanında bulunan geniş arterlerde daralmayla birlikte olan iskemik nörolojik defisit olarak tanımlanır ve genellikle etkilenen arterin distalinde perfüzyonda azalma ile birlikte dir. Serebral vasospazm SAK'lı hastalarda mortalite ve morbiditeyi etkileyen en önemli komplikasyon olarak nöroşirürji için patofizyolojisi hala tam anlamıyla çözülememiş ciddi bir durumdur (13, 14, 15). Subaraknoid kanamalı hastaların yaklaşık % 10-40'ında serebral vazospazm kötü gidiş nedenidir (16, 17).

Serebral vazospazmın anjiyografik ve klinik olarak iki tanımlaması vardır. Serebral vazospazm tanısı; klinik olarak subaraknoid kanamayı takiben beynin bir bölgesinde ortaya çıkan iskemi veya infarkta bağlı olarak gelişen nörolojik kötüleşme ile, radyolojik olarak intrakranial arterlerin lümenindeki daralmanın gösterilmesi ile konulabilir. Serebral vazospazm SAK sonrası üç-dördüncü günde görülmeye başlar; yedi-onuncu günler en üst düzeye ulaşır ve şiddeti azalarak ikinci haftanın sonuna doğru düzelir (17,18,19). Serebral vazospazmın insidansını saptamak, yapılan çalışmalardaki tanısal kriterlerin birbirleri ile uyuşmamasından dolayı zordur. Adams, ortak yapılan anevrizma çalışma raporunda, anjiyografik vazospazm insidansının %50'den fazla, semptomatik vazospazmın ise hastaların %32'inde olduğu belirtilmiştir (20). Biller, SAK sonrası hastaların % 70 'inde

serebral vazospazm görüldüğünü, bunların % 36'sında beyin iskemisi ve infarkta yol açacak derecede vazospazm geliştiğini bildirmiştir (16).

Serebral vazospazm tanısı klinik muayenede şüphe sonucu transkranyal Doppler ultrasonografi ve daha sonra da en önemli tanı yöntemi olan serebral angiografiye dayanır. Ayrıca Xenon Bilgisayarlı Tomografi, SPECT (Single Photon Emission Computerized Tomography) ve PET (Positron Emission Tomography) gibi yöntemler vazospazm tanısında yardımcı olabilir (21,22). BT iskemik alanları göstermesi ve nörolojik olarak kötüleşen hastada hidrosefali, intrakranial hematoma gibi durumların ekartasyonu için faydalıdır. Ecker ve Riemenschneider 1951 yılında serebral vazospazmı ilk kez angiografik olarak göstermişlerdir (23). Dorsch literatür araştırmasında, ikinci hafta anjiyografi yapıldığında hastaların %67'sinde serebral vazospazm saptandığını, %32'sinde geç iskemik defisit geliştiğini belirtmiştir (24). Klinik vazospazm ise serebral arterlerin daralmasına bağlı ortaya çıkan iskemiye sekonder olarak gelişen bir sendromdur; genellikle baş ağrısı artması ve kan basıncındaki yükselmesini takiben ortaya çıkan yavaş başlangıçlı konfüzyon ve bilinç düzeyinde azalma ile kendini gösterir. İskemi tanısı diğer potansiyel nörolojik kötüleşme nedenleri elimine edildikten sonra konur. Serebral vazospazmın klinik etkilerini belirleyen en önemli faktör damar daralmasının boyutu ve serebral vazospazmın yaygınlığıdır (25).

Klinik vazospazm; SAK sonrası üçüncü-dördüncü günlerde bilinç bozulması, motor defisit veya afazi halinde doğrudan düşünülmeli; baş ağrısında artma, subfebril ateş halinde ise kuşulanılmalıdır. Başlıca semptomu baş ağrısıdır. Artan baş ağrısı ile birlikte ateş yükselmesi, hafif bir konfüzyon ile ilk belirtiler başlayabilir. Arteriyel daralma devam ederse fokal nörolojik defisitler gelişir, serebral dokuda enfarkt gelişir, hastanın bilinci kapanır. Nörolojik muayenede spazmın şiddetine bağlı olarak çok değişik bulgular çıkmasına karşılık ilk bulgu genellikle diplopidir (17, 18, 25, 26, 27). Orta serebral arter spazmı, karşı taraf hemipareziye ve dominant hemisfer etkilendiyse afaziye neden olur. Çift taraflı anterior serebral arter spazmı; parapleji, frontal bulgular, akinezi, mutizm ve inkontinansa neden olurken, tek taraflı tutulumlar karşı alt ekstremitelerde motor defisite yol açar. Posterior serebral arter spazmı; bilateral pitoza ve hemianopsiye neden olabilir. Posterior fossada vazospazm

geliştiğinde beyin sapına ait bulgular ortaya çıkabilir. Şiddetli vazospazm halinde hıçkırık, Cheyne-Stokes solunumu, diensefalik-mezensefalik yapıların etkilenmesi ile kontrol altına alınamayan ateş ve kan basıncı değişiklikleri görülebilir. Vazospazm sonucu gelişen kortikal iskemi epileptik nöbetlere yol açabilir. Ateş 38-39 °C'ye yükselebilir ve ortalama 4-5 gün sürer. Vazospazmlı hastalarda yapılan çalışmalarda ateşin, vazospazm gelişmeyen hastalara göre yaklaşık iki kat daha sık olduğu görülmüştür . Ateşin oluşması baş ağrısı ve meninjismus gelişmesi ile eş zamanlıdır. Vazospazmda lökosit miktarı da artabilir. SAK'da ortaya çıkan katekolaminlerin ateş ve lökositozu neden olduğu kabul edilmektedir (25). SAK sonrasında hiponatremi oluşabilir. Bunun, hipotalamik etkilenme sonucu yetersiz antidiüretik hormon salgılanması nedeniyle olduğu düşünülmektedir (28). SAK sonrası gelişen vazospazmda ST segmenti depresyonu, anormal T dalgaları, uzamış Q-T aralığı veya uzun U dalgalarının varlığını içeren EKG değişiklikleri oluşabilir. Anjiyografik vazospazmı olan kişilerde bu bulgulara rastlanma oranı %80 iken, vazospazm olmayanlarda %40'dır (21).

Serebral vazospazm, SAK sonrası bir ile üçüncü gün arasındaki akut safha ve bunu takip eden gecikmiş safha olmak üzere bifazik karakterde ortaya çıkmaktadır (13,29). Akut serebral vazospazm intrakranial basınç artışı, serebral kan akımında azalma ve serebral perfüzyon basıncında azalma ile karakterizedir (13). Geç başlayan vazospazm ciddi nörolojik bozukluklara ve ölüme neden olabilir ve tedaviye daha dirençlidir (30). Klinik vazospazmın ortaya çıkış zamanı anjiyografik vazospazm ile paralellik gösterse de, hastaların %70'inde serebral vazospazm anjiyografik olarak görünürken, sadece %30 hastada klinik vazospazm gözlenir (31,32).

SAK sonrası serebral vazospazm gelişimi açısından risk faktörleri; başlangıçtaki klinik evrenin yüksekliği, bilgisayarlı tomografide belirgin subaraknoid kan görülmesi, ventrikül içi kan bulunması ve akut hidrosefali olması, hipovolemi ve hiponatremi olması, periferik lökositoz ve ateş bulunması, orta serebral arter anevrizması başta olmak üzere anevrizmanın yerleşim yeri olarak sayılabilir. Niizuma , anevrizma lokalizasyonu ve vazospazm arasındaki ilişkiyi araştırmış ve buna göre, en yüksek vazospazm insidansı, silvian fissürdeki büyük pıhtının etkisi

ile orta serebral arterde bulunmuştur (%25,7) (25). Orta serebral arterden sonra sırasıyla; anterior serebral arter (%25), anterior kominikan arter (%21.4) ve internal karotid arter anevrizmalarında (%16.8) vazospazm saptanmıştır (33).

Subaraknoid boşluktaki perivasküler trombüsün miktarı ile serebral vazospazmın şiddeti arasında belirgin bir ilişki olduğunun düşünülmesi (34,35,36) cerrahi sırasında agresif pıhtı temizleme düşüncesini doğurmuştur (37). Fisher ve ark, majör serebral arterlerde anjiyografik vazospazm gelişme riskinin, BT'de görülen subaraknoid mesafedeki kan miktarı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (Tablo-III ) (38). Taneda serisinde, erken cerrahi uygulanan ve subaraknoid mesafedeki kanın dikkatle temizlendiği olgularda semptomatik vazospazm sıklığının %10, SAK sonrası onuncu gün opere edilen olgularda ise %25 olduğunu belirtmiştir (39). Dura kapatılmasından önce operasyon sahasına topik papaverin uygulanması ve internal karotid arter üzerindeki sempatik liflerin soyulması operasyon esnasında vazospazma karşı alınabilecek önlemlerdir. Subaraknoid mesafedeki kanın uzaklaştırılması amacıyla postop dönemde doku tipi plazminojen aktivatörü (tPA), ürokinaz gibi fibrinolitik ajanlar kullanılabilir veya ventriküler ya da lomber drenaj ile BOS boşaltılması yapılabilir (40,41).

Tablo-III. Anevrizmal Subaraknoid Kanamada Fisher BT Derecelendirme Skalası

1.Derece	Saptanabilen subaraknoid kan yok
2.Derece	1mm kalınlıktan daha ince ve diffüz kan
3.Derece	1 mm veya daha fazla kalınlıkta ve/veya lokalize kan
4.Derece	İntraserebral veya intraventriküler kan

Serebral vazospazm ayırıcı tanısında, SAK sonrası nörolojik durumun değişmesine neden olabilecek tüm faktörler değerlendirilmelidir. SAK sonrası gelişebilen hidrosefali, yeniden kanama, nöbet ile birlikte bilinç değişikliklerinin vazospazmdan ayrılması gereklidir. Genel durumu bozulan hastalarda hiponatremi ve hipoksi gibi metabolik bozukluklar ortaya konabilir. Böbrek veya karaciğer yetmezliği de gözardı edilmemelidir. Ayrıca kronik alkoliklerde ve eroin kullananlarda mental değişikliklerin olması nedeniyle ayırıcı tanıda zorlanılabilir.

## SEREBRAL VAZOSPAZM FİZYOPATOLOJİSİ VE TEDAVİSİ

Son yıllarda yapılan yoğun klinik ve deneysel çalışmalara karşın, SAK'dan sonra gelişen serebral vazospazmın temel fizyopatolojisi aydınlatılamamış olup halen etkili bir medikal tedavi yöntemi bulunamamıştır (15,19). Vazospazm için uygun farmakolojik tedavinin tam olarak olmaması klinik ve deneysel çalışmaları devam ettirmektedir. Bu çalışmaların amacı, SAK'nın patogenezi ortaya koymak ve vazospazmı sınırlamak için etkili tedavi stratejileri geliştirmektir.

Klasik olarak vazospazm üç majör komponenti olan multifaktöryel bir fenomen olarak ele alınır. Bunlardan birincisi miyojeniktir ve damar düz kasının patolojik olarak uzun süre kontraksiyonunu içerir. İkincisi nörojeniktir ve perivasküler vazokonstriktif sinirlerin varlığına dayanır. Üçüncüsü ise hümoraldir ve ekstravaze olan subaraknoid kanın çok sayıda spazmojenlerin ortaya çıkmasına yol açma kapasitesine dayanır (42). Vazospazmın nedenlerinden biri de subaraknoid aralıkta bulunan eritrositlerin hemolizine bağlı ortaya çıkan spazmojenik ajanlardır. Yapılan çalışmalar bu maddeler arasında vazospazmda ana sorumlunun oksihemoglobin olduğunu göstermiştir (43,44). Birden fazla mekanizmayla etki eden oksihemoglobin endotelial hücrelerden vazokonstriktör prostaglandinlerin salgılanmasına neden olur. Oksihemoglobin, vazokonstriktör endotelin üretimini artırırken vazodilatör nitrik oksiti inhibe eder (19). Vasküler endotel, vasküler gerginliğin düzenlenmesinde sentezlediği vazorelaksan ve vazokonstriktör faktörler ile katkıda bulunur. Endotel kaynaklı vazorelaksan faktörler : nitrik oksit (NO), asetilkolin, bradikinin, adenozin difosfat, adenozin trifosfat, histamin, vazopressin, substance P, neurokinin A, neurokinin B, prostoglandin f 2a' dır. Endotel kaynaklı vazokonstriksiyon yapıcı faktörler: Serotonin, norepinefrin, prostoglandin E2, tromboksan A2, leukotriene C4, endotelin 1 (ET1), endotelin 3 (ET3)'tür (44).

Subaraknoid kanamaya bağlı patofizyolojide kan beyin bariyerinin hasarı önemli role sahiptir. Bu konuda deneysel çalışmalar vazospazm patogenezinde lipid peroksidasyonu sonrası serbest radikallerin primer rolü olduğunu göstermiştir (45). Lipid hidroperoksitler gibi serbest radikal reaksiyonlarının her bileşeni vazokonstriktör kapasiteye sahiptir. Superoksit ve hidroksil serbest radikaller

serebral iskemide önem kazanmaktadır. Serbest radikaller poliansatüre yağ asitleri metabolizması ile etkileşime girmektedirler. Böylelikle belirgin sitotoksik etki gösterirler. Serbest radikallerin üretiminin katalize edilmesi için serbest demir gerekir. SAK'dan sonra ortamda demirin artması serebral vazospazm ve nöronal hasardan serbest radikallerin sorumlu olabileceğini düşündürmüştür (45, 46). Oksihemoglobin serbest demir ile birlikte lipid peroksidasyon aktivitesini artırarak oksijen serbest radikallerinin formasyonunu katalize eder. Bu proses endotel hasarı ile sonuçlanır ve intrasellüler kalsiyumun artışına yol açar. Kalsiyum ve kalsiyum bağımlı enzim olan kalmodulin, damar düz kas regülasyonunda önemli role sahiptir (19).

Halen serebral vazospazm medikal tedavisinin temelini oluşturan ve en yaygın olarak kullanılan üç H tedavisi ( hipertansiyon, hipervolemi ve hemodilüsyon) ile birlikte kalsiyum kanal blokerleridir (19,47,48). 1990 yılında Origitano ve ark, üç H tedavisini tanımladılar (49). Dolaşımdaki kan hacminin artırılması, artmış perfüzyon basınçları ve azalmış kan viskozitesi; vazokonstriksiyon başlangıcında serebral kan akımının artmasını sağlar. Üç H tedavisinin SAK sonrası serebral vazospazmın önlenmesinde geniş kullanım alanı buluyor olsa da etkinliği ve zararı üzerine prospektif karşılaştırmalı çalışmalar sınırlıdır (47,50). Serebral vazospazmda hastaların sadece bir kısmı üç H tedavisine yanıt verir, buna rağmen en iyi sonucun alındığı serilerde bile inme ve vazospazmdan dolayı ölüm %15'e yaklaşmaktadır (51,52). Dorsch hipertansiyon hipervolemi tedavisi yapılan çalışmaları derleyerek, hastalarda beklenenden daha düşük oranda geç iskemik defisit varlığını belirtmiştir (53). Solomon ve ark tarafından yapılan bir çalışmada, hastalar hipervolemik ve normovolemik olarak randomize edildikten sonra tedavi boyunca ortalama global serebral kan akımında hiçbir anlamlı fark gözlenmemiştir (54). Bu yüzden profilaktik üç H tedavisinin ek yarar getirmediği belirtilmiştir. Son dönem bir literatür çalışmasında üç H tedavisi profilaksinde kullanımının önerilmesi için kanıta dayalı yetersiz bilgi olduğu belirtilmiştir (55). Bu konuda iyi tasarlanmış, randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Üç H tedavisi ile birlikte, myokard iskemisi, pulmoner ödem, hiponatremi başta olmak üzere elektrolit bozuklukları, serebral hemoraji, serebral ödem ve güven altına alınmamış anevrizmanın rüptüre olması gibi ciddi



komplasyonlar görülebilir (56, 57). Bu tedavinin uygulandığı hastalar yoğun bakım koşullarında arteryel monitörizasyon ve sık elektrolit takibi altında takip edilmelidirler. Tedaviye genellikle vazospazm için tehlikeli olan dönem geçene kadar veya vazospazmın klinik ve transkranyal doppler inceleme ile geçtiğinin ortaya konmasına kadar devam edilir (56).

Kalsiyum serebral vazospazmda önemli bir mediatördür ve düz kas kontraksiyonunun düzenlenmesinde en önemli ikinci mesengerdir. Kalsiyum antagonistleri üç H tedavisine ek olarak birçok klinik çalışmada değerlendirilmişlerdir ve serebral vazospazmın temel tedavilerinden birini oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalar kalsiyum antagonistlerinin vazospazm önlenmesi ve düzeltilmesinde etkili olduğu ve nöroprotektif özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (58). Birçok prospektif nonrandomize çalışmada, intravenöz kalsiyum kanal antagonisti kullanımı ile birlikte, vazospazma bağlı ölüm ve kalıcı defisitlerde %1'den %10'a kadar azalma bildirilmiştir (59, 60, 61).

Vazospazm tedavisinde, oral kalsiyum kanal blokeri nimodipin bir çok çalışmada kullanılmıştır (58, 62, 63, 64). Bu çalışmaların özellikleri şu şekilde sıralanabilir : 1) Oral nimodipin her evredeki hastalarda vazospazma bağlı kötüleşmeyi belirgin olarak azaltmıştır ; 2) Çalışmaların bir tanesi haricinde, semptomatik vazospazm insidansı nimodipin tedavisinden etkilenmemiştir ; 3) Nimodipin tedavisi ile anjiyografideki damar çapı etkilenmemiştir ; 4) İlacın komplikasyon ve yan etkileri minimaldir. Tedavi maliyeti ve yaşam beklentisinin artması ile ilgili bir retrospektif analizde nimodipinin ucuz ve minimal yan etkilere sahip bir ilaç olduğu gösterilmiştir (65). Nimodipin, anjiyografik vazospazm insidansını azaltıyor gibi gözükmesi de sağkalımı iyileştirdiği gösterilmiştir (66). British anevrizma nimodipin çalışmasında , nimodipin kullanan hastalarda serebral infarkt oluşma sıklığı %33'den %22'ye düşmüş, hastaların kötü gidişlerinde %40 azalma sağlanmıştır (62). Barker ve Ogilvy'e ait bir nimodipin tedavi metaanalizinde, SAK sonrasında bu ilacın profilaktik kullanımının iyi gidiş ihtimalini arttırmada etkili olduğu gösterilmiştir (67). Böylece nimodipinin anevrizmal SAK'a bağlı semptomatik vazospazm tedavisinde güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalarda intravenöz nicardipin ile tedavi edilen hastalarda semptomatik ve anjiografik vazospazmda belirgin azalma gözlenmiş ancak üçüncü ayda gruplar arasında belirgin fark saptanamamıştır ve nörolojik sonuçlar üzerine hiçbir yararı olmadığı belirtilmiştir (68,69). Rinkel ve ark, kalsiyum antagonistlerinin etkilerini inceledikleri çalışmalarda, bu ilaçların anevrizmal SAK sonrası sekonder iskemi oranını ciddi oranda azaltsa da (%40'dan %27'ye ) rüptüre bağlı yüksek mortalite oranını azaltmadığını belirtmişlerdir (70).

Magnezyum kalsiyum akımı üzerine inhibitör aktiviteye sahiptir ve uzun zamandan beri eklampatik vazospazm tedavisinde kullanılmaktadır. Son dönemde yapılan birçok çalışmada, magnezyum antivazospastik bir ajan olarak serebral vazospazm tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (71). Ancak Macdonald ve ark, MgSO<sub>4</sub>'ın tedavi sağlayan serum konsantrasyonlarında bile vazospazmı engellemediğini bildirmişlerdir (72). İnsanlarda yapılan takip edilen çalışmalarda, magnezyumun nöroprotektif yararları gösterilememiştir. Veyna ve ark, anevrizmal SAK'lı olup postop magnezyum alan ve almayan iki grup hastayı karşılaştırdıklarında serebral vazospazm sıklığında farklılık saptamamışlardır (73). Yeni bir randomize çalışmada Bergh ve ark, Mg'un geç serebral iskemiye azaltıp sonuçları iyileştirdiğini göstermişlerdir (74). Prevedello ve ark, MgSO<sub>4</sub> uygulamasından sonra azalmış morbidite ve hastanede kalış süresi bildirmişlerdir (75).

Vazospazm patolojisinde inflamasyon önemli bir rol oynamaktadır. İnflamasyon organizmanın yabancı antijenlere karşı geliştirdiği kompleks ve çok yönlü bir savunma mekanizmasıdır. SAK sonrası subaraknoid mesafede bulunan kan pıhtısına karşı bir seri kompleks selüler ve moleküler düzeyde güçlü bir inflamatuvar yanıt meydana gelir. Son çalışmalarda anevrizmal SAK sonrası serebral vazospazm tedavisinde lokosit- endotelial hücre etkileşiminin önemli bir yere sahip olduğu gösterilmiştir (76, 77, 78). Endotel ve nötrofil/makrofajlarda bulunan, LFA 1 (CD11/CD18) ve interselüler CAM'ı içeren spesifik hücre adezyon molekülleri (CAM) belirlenmiştir (79,80). Anevrizmal SAK'ı takiben endotel hücrelerinden hücre adezyon moleküllerinin artışı; nötrofillerin subaraknoid alana göçüyle sonuçlanır. Anevrizmal SAK'lı hastalarda artmış interselüler hücre adezyon

molekülleri (ICAM), vasküler hücre adezyon molekülleri (VCAM) ve E-selektin düzeyleri gösterilmiştir. Ancak bu çalışmaların sonuçları bu düzeylerin serebral vazospazm sıklığıyla korelasyonu göstermede yeterli değildir (77, 81, 82). Bu nötrofiller vazospazma üç yolla katkıda bulunabilirler: endotelin üretimi, reaktif oksijen moleküllerinin üretimi ve nitrik oksit tüketilmesi (78, 83, 84). Subaraknoid alana lökositlerin erken ekstravazasyonunu düzenleyen antiinflamatuvar ajanlar, serebral vazospazm tedavisinde seçenek olabilir. Birçok hayvan modellerinde SAK sonrası vazospazmın önlenmesinde, antikorlarla birlikte lokosit-endotelial hücre etkileşiminin bloke edilmesi etkilidir (76,79,84). Frazier ve ark, ibuprofenin bir polimerinin SAK'ı takip eden vazospazmı anlamlı olarak inhibe ettiğini göstermişlerdir (85). Pradilla ve ark, bir anti CD11/ CD18 monoklonal antikorunu sistemik uygulanmasının lümeninde anlamlı genişlemeye yol açtığını göstermişlerdir (84). Lin ve ark, E-selektinin farmakolojik blokajının SAK'ın tetiklediği vazospazmın oluşumunu engelleyebileceğini göstermişlerdir (86). Hüresel immun yanıt da serebral vazospazm patogenezinde vurgulanmaktadır. Steroidler vazospazmdan koruyucu ajanlar olarak değerlendirilmişler ancak sonuçlar hayal kırıklığı yaratmıştır. Chyatte ve ark'nın yaptıkları retroprospektif bir çalışmada, yüksek doz metilprednizolon gecikmiş iskemik hasarı azaltıyor gibi görünmektedir (87). Ancak sistemik yan etkilerinden dolayı kortikosteroidlerin bu amaçla kullanımı önerilmemektedir. Siklosporin ile yapılan bir çalışmada, serebral vazospazm önlenmesinde etkisiz olduğu bulunmuştur (88).

Serebral damarların tonusu büyük oranda vasküler endotelyum tarafından düzenlenir. Serebral vazospazm patogenezinde, endotel kaynaklı endotelin ilişkili vazokonstrüksiyon ile endotel kaynaklı nitrik oksit ilişkili vazodilatasyon arasında bir dengesizlik gösterilmiştir. Nitrik oksit, endotelden salınan bir relaksasyon faktörüdür. Serebral vasküler tonusun otoregülasyonunda endotelden NO salınımı önemli olduğu için NO'in SAK sonrası lokal mevcudiyetinin azalması serebral vazospazm patogenezinde role sahip olabilir (89,90). SAK sonrası NO düzeyleri şu nedenlerden dolayı düşük bulunur: 1) endotelial nitrik oksit sentetazın(NOS) endojen inhibisyonu, 2) Nöronal NOS içeren nöronların oksihemoglobin toksisitesine uğraması, 3) Subaraknoid pıhtıdan salınan oksihemoglobince NO'in yok edilmesi (91,92). Bir serebral vazospazm modelinde , SAK sonrası nöronal NOS aktivitesinde

anamlı düşüş gözlenmiştir. NO donörleri veya NOS substratlarının uygulanmasıyla serebral vazospazmın iyileştiği deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir (92,93). NO klinik kullanımı , ciddi hipotansiyon, serebral kan akımı çalma sendromu ve artmış intrakranial basınç gibi yan etkileri, kısa yarı ömrü ve potansiyel toksisitesi nedeniyle sınırlıdır (83,92). Gabikian ve ark ile daha sonra Pradilla ve ark, NO polimerinin baziller arter lümeninde anlamlı artış yaptığını saptamışlardır (90, 94). Egemen ve ark, sodyum nitroprussidin serebral vazospazm tedavisinde faydalı olduğu belirtmişlerdir (83). Thomas ve Rosenwasser, sodyum nitroprussid kullanımı ile vazospazmdaki iyileşmeyi anjiyografik olarak gösterilmişlerdir (95). Profilaktik olarak tedavi edilen hastaların hiçbirisinde daha sonra nörolojik defekt saptanmamıştır. Pluta ve ark, 14 gün sürekli İV nitrit infüzyonunun SAK sonrası vazospazmı engellediğini göstermişlerdir (96).

Serebral vasküler dilatasyonun korunmasında endotelin ve nitrik oksit arası etkileşim önemlidir. ET-1 uzun etkili potent bir vazokonstriktördür. Serebral vazospazm ile ET-1 yüksek düzeyleri arasında yakın bir ilişki olduğu gösterilmiştir (97,98). Serebral arterler iki tip ET-1 reseptörü salgılar: ET A ve ET B. Düz kas ET A reseptörünün aktivasyonu vazokonstriksiyonu tetikler. Endotelde lokalize ET B reseptörü ise vazodilatasyon ile sonuçlanan NO salınımını tetikler (99). Endotelinin intrasisternal enjeksiyonu baziller arterde konstriksiyona yol açmıştır. Bu mekanizmanın SAK sonrası vazospazmdaki rolünü araştırmak üzere, Fujimori ve ark, spazmı olan ya da olmayan SAK'lı hastalarda serum ve BOS endotelin düzeylerini saptamışlardır. Endotelin, SAK sonrası 14. günde kanda ve BOS'ta bulunurken, vazospazmlı hastalarda 8. günde kanda artış göstermiştir (100). Endotelinin, potent bir vazokonstriktör olarak, SAK'lı hastaların serum ve BOS'unda arttığı bulunmuş ve serebral vazospazm gelişiminde büyük rol oynadığı gösterilmiştir. Bu nedenle ET A reseptör antagonistlerinin serebral vazospazm tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmüştür (101). Clazosentan, serebral vazospazm tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmış selektif bir ET A reseptör antagonistidir. Vajkoczy, Barth ve ark. serebral vazospazm önlenmesi ve tedavisinde clazosentan yararlı etkilerini göstermişlerdir (102,103).

NO azalması, serebrovasküler endotelin histopatolojik hasarıyla sonuçlanır. 3-hidroksi-3-metilgluteril koenzim A redüktaz inhibitörleri (statinler) ile tedavi, endotelial fonksiyonu iyileştirir ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonunu artırır. Son dönem çalışmalar statinlerin yararlı etkilerini göstermişlerdir (104, 105, 106). Nicaravin, trilizad ve NXY-059 gibi antioksidan ve serbest radikal temizleyicilerinin de serebral vazospazm tedavisinde faydalı olabilecekleri yönünde çalışmalar mevcuttur (107,108,109).

Diğer tedavi seçeneklerine dirençli vazospazmlı hastalarda, transluminal anjioplastinin yararlı olduğunu bildiren pek çok yayın vardır (110,111). Ancak işleme bağlı mortalitenin yaklaşık %2-5 olması yaygın kullanımını engellemiştir. Benzer cesaret verici sonuçlar intraarteryel papaverin kullanımı konusunda da yayınlanmıştır (112). Kısa etki süreli olduğu için tekrarlayan enjeksiyonlar yapılması gerekliliği ve angiografik vazospazmın açılması ile klinik düzelleme arasında zayıf korelasyon varlığı bildirilmiştir (113).

Mayberg ve ark, vazospazm tedavisinde özet ve öneri olarak; başta oral nimodipin olmak üzere diğer oral veya intravenöz kalsiyum antagonistlerini vazospazma bağlı kötü gidişatı önlemek için önermişlerdir. Üç H tedavisini vazospazmın iskemik komplikasyonlarının önlenmesi ve tedavisinde, hemodinamik fonksiyonları yoğun bakım koşullarında takip edilmek şartıyla daha sınırlı önerirken intrasisternal fibrinolizis, antioksidan ve antiinflamatuvar ajanları ve bunlardan fayda görmemiş hastalarda da transluminal anjioplastiyi önermişlerdir (5).

## SUBARAKNOİD KANAMA VE İNTERLÖKİNLER

İmmun sistemin etkin olma yollarından biri de aktif maddeler salgılamalarıdır. Lenfositler başta olmak üzere birçok hücre tarafından salınabilen bu aktif maddeler birçok fizyolojik olayda rol oynar. Belli bir antijene yönelik etkin bir immün yanıt için organizmada özgül B ve T lenfositler az miktarda bulunduğu için bu antijene özgü hücre sayısının artırılması gereklidir. İlk karşılaşılan antijene yanıt veren hücreler prekürsör hücrelerdir ve başlangıçta farklılaşmalarını tamamlayamamışlardır. İnterlökinler bu hücrelerin çoğalması ve etkin hale gelmelerinde en önemli role sahiptir. Genel olarak interlökin olarak tanımlanan bu

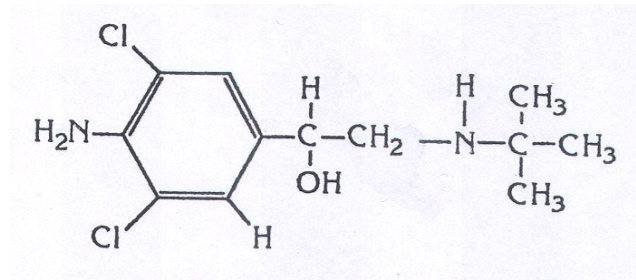
moleküller değişik hücrelerden salındığında sitokin, lenfositlerden salındığında lenfokin adını alır. İnterlökinlerin iltihabi yanıtta tüm elemanların olaya katılması ve aktivasyonunda önemli rolü vardır. Bu moleküllerin bazı hastalıkların patofizyolojisinde önemi büyüktür. Bunlar son derece aktif moleküllerdir. Hormonlar gibi endokrin etkileri olmayıp lokal oluşturularak sadece o bölgede etkileri vardır. Hepsi immünyetede role sahiptir, inflamasyonu düzenleyerek şiddetini ve süresini belirler. Küçük molekül ağırlığında salınan moleküllerdir ve glikozedirler. Her bir interlökinin etkisi ve yoğunluğu o sırada ortamda bulunan diğer interlökinlere bağlı olarak değişir (114).

Sitokinler immün yanıtın güçlü mediatör ve regülatör molekülleridir. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 gibi sitokinler deneysel veya klinik SAK sonrası yüksek oranda sentezlenmeye başlar. İnterlökinler mononükleer fagositler ve T hücrelerince üretilir ve nötrofiller ile endotelial hücreleri aktive ederek inflamasyon ve koagülasyon kaskadlarının oluşumuna katkıda bulunur (115). TNF- $\alpha$  hipotalamusu uyararak vücut sıcaklığını artırır ve karaciğerde akut faz reaktanlarının sentezini indükleyerek organizmayı katabolizma yönüne çevirir. IL-6 temelde T lenfositlerinden salınır ve B lenfositlerinin farklılaşmasını uyarır. Bu yüzden B hücresi farklılaşma faktörü de denir. IL-6 B lenfositleri, monositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, astrositler, mezengial hücrelerden de salınabilir. B lenfositlerinde farklılaşmayı ve antikor sekresyonunu, çoğalmayı uyarmadan sağlar. IL-6, IL-1 gibi hepatositlerden akut faz proteini oluşumunu uyarır ve ateşe yol açar. Anevrizma rüptürü sonucu subaraknoid mesafeye kan karışması ile inflamatuvar süreç başlar. Nükleer faktör- kappaB ( NF-kappaB ) inflamasyon sürecinde rol oynayan bir protein transkripsiyon faktörüdür. Birçok proinflamatuvar mediatörün maksimal transkripsiyonunun yapılması için NF-kappaB gereklidir. NF-kappaB'nin aktivasyonu ile proinflamatuvar moleküllerin transkripsiyonel düzeyde sentezi indüklenir ve inflamasyon kaskadı gelişir. Kaskadın ürünü olan TNF- $\alpha$ , pozitif feedback ile NF-kappaB'yi aktive eder. NF-kappaB adezyon molekülleri ve sitokinlerin düzenlenmesini sağlayarak serebral vazospazmda etkili olabileceği düşünülmektedir (116).

Zhou ve ark, subaraknoid kanamanın nükleer faktör- kappaB ( NF-kappaB ) DNA bağlanma aktivitesi ile TNF-  $\alpha$ , IL -1  $\beta$ , ICAM-1 ve VCAM-1 düzeylerini arttırabileceğini bildirmişlerdir (117). Fassbender ve ark, subaraknoid kanamalı hastalarda inflamatuvar sitokinlerden IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  salınımının karakteristik olduğunu bildirmişlerdir (118,119). Osuka ve ark da çalışmalarında, SAK sonrası vazospazm gelişiminde BOS'daki interlökinlerin özellikle IL-6'nın önemli rolü olduğunu bildirmişlerdir (120). Hirashima ve ark, IL-6 ve platelet aktive edici faktör (PAF) konsantrasyonlarının SAK sonrası ilk dört içinde arttıkça 14 gün boyunca yüksek olarak kalırken; IL-1 $\beta$ 'nin SAK sonrası 5-9 günler arasında geçici olarak arttığını ve TNF- $\alpha$ 'nın değişmeden kaldığını göstermişlerdir (121). Kikuchi ve ark yaptıkları klinik çalışmada, SAK'lı hastalarda IL-6 ve IL-8'in immüno-modulator olarak rol oynadığını ve özellikle IL-6'nın vazospazmda vazokonstriktör olarak etki edebileceğini ileri sürmüştür(122). Mathiesen ve ark tarafından yapılan klinik çalışmada, SAK sonrası IL-6 seviyesinin arttığını gösterilmiştir (123).

#### CLENBUTEROL

Clenbuterol SSS stimulanı olarak kullanılan bir  $\beta$ 2-agonistidir. İnsanlarda bronkolitik ajan olarak astım tedavisinde, bronş ve uterus gevşetici (tokolitik) olarak da veteriner hekimlikte kullanılmaktadır (124, 125). Clenbuterol anabolik etkisinden dolayı özellikle vücut geliştirici sporcular tarafından suistimal edilmektedir (126). Clenbuterol ilk kez 1972 yılında Kect ve ark tarafından sentezlenmiştir. Kapalı formülü,  $C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$ ; moleküler ağırlığı, 277.18'dir. Şekil-1'de clenbuterol'ün kimyasal yapısı gösterilmiştir. Beyaz renkli, kokusuzdur. Ergime noktası 174 °C'dir. Suda, metanolde ve etanolde iyi, kloroformda az çözünür, benzende ise çözünmez (127).



Şekil-1. Clenbuterol'ün Yapısı

Clenbuterol azot tutucu, yağ depolamayı azaltıcı özelliğe sahiptir ve besin dönüşümünü etkiler. Anabolik etkisi protein sentezini arttırmasının sonucudur. Hücre zarında  $\beta$  -reseptöründe bir dizi biyokimyasal tepkimenin başlatılmasından sorumludur. Clenbuterol'ün benzen halkasında -OH olmayışı lipofilikliğini arttırır. Clenbuterol bu özelliğinden dolayı kan beyin bariyerini aşar ve santral sinir sistemine doğrudan etki yapar. Clenbuterol'ün alfa karbonu üzerindeki -OH substitüenti , ilacın monoaminoksidaza (MAO) karşı dayanıklılığını arttırdığı için etki süresi uzundur. Azot üzerinde bütül grubunun bulunması,  $\beta_2$ -reseptörler üzerinde seçici etkinlik gösterir.

Clenbuterol en fazla bronkodilatör ve tokolitik olarak tıpta, anabolik etkisi nedeniyle besicilikte ve güç gerektiren sporları yapan sporcular tarafından doping amacıyla kullanılmaktadır. Ortalama kan basıncını etkili biçimde arttırır ve beta-2 bağımlı vazodilatasyonu indükler. Kontraktıl yanıtı azaltarak vazokonstriksiyonu önler. Marin ve ark rat mezenter arterleri üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada, clenbuterol'ün elektriksel alan stimülasyonuna (EFS) bağılı kontraktıl yanıtları azalttığını göstermişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda clenbuterol'e bağılı kontraksiyondaki azalmanın, nitrejik sinirler üzerindeki beta-2 adreno reseptör aktivasyonu sonucu oluşan NO salınımı ile tetiklendiğini saptamışlardır. NO sentaz inhibitörleri L-NAME ve L-NMMA'nın clenbuterol'ün inhibitör etkisini azaltması, clenbuterol'ün etki mekanizmasında NO rolünü doğrular (128). Arterlerde bulunan duysal sinirler vasküler ton regülasyonunda rol oynarlar ve kalsitonin gen bağımlı peptid (CGRP) bu sinirlerde temel nörotransmitterdir. Clenbuterol duysal sinirlerdeki nörotransmitterlerin tüketilmesini sağlayarak EFS yanıtını azaltır(129).

Damar duvarında  $\beta_2$  ve  $\alpha_1 / \alpha_2$  adreno septör stimülasyonu sırasıyla vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon olmak üzere zıt etkilere neden olur. Akut clenbuterol verildiğinde,  $\alpha_2$ -adreno septör agonistleri guanabenz ve B- HT 920 ile  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ - adreno septör agonisti klonidin'in tetiklediği kontraktıl yanıtı azaltır. Ancak  $\alpha_1$ -adreno septör agonisti metoksamin'in tetiklediği vazokonstriksiyonu etkilemez. Anestezi almış normotansif ratlarda  $\beta_2$ - adreno septör agonisti clenbuterol subkronik tedavisi ortalama kan basıncını anlamlı şekilde arttırır.  $\beta$  adreno septör agonistlerinin tekrarlayan verilmelerinde  $\alpha_2$  adreno septör stimülasyonunu tetikleyerek kontraktıl



yanıtı artırır (130). Vazodilatör  $\beta_2$ - adrenoseptörler, katekolamin düzeyleri anlamlı şekilde arttığında periferel vasküler ton sürdürülmesinde büyük öneme sahiptir (131). Belloni ve ark, vasküler düz kas tonu belirlenmesinde  $\beta$  adrenoseptör subtiplerinin fonksiyonel karakterizasyonunda sadece  $\beta_2$  adrenoseptör agonistleri clenbuterol ve fenoterol'un doz bağımlı gevşetici etkileri olduğunu ve bunların da propranolol ile antagonize olduğunu belirtmişlerdir (132).

$\beta$  agonistler intraselüler cAMP düzeylerini artırarak proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesini inhibe eder.  $\beta$  agonistler; procaterol, clenbuterol, fenoterol ve terbutalin, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  üretimini inhibe ederler, ancak IL-8 üretime etkileri yoktur. TNF- $\alpha$  üretimini, IL-1 $\beta$ 'ye göre daha güçlü inhibe ederler.  $\beta$  agonistler bu özellikleriyle allerjik inflamasyon tedavisinde faydalı olabilir.  $\beta$  agonistlerin iyi bilinen bronkodilatör etkileriyle birlikte antiastım özelliği de mevcuttur (133). Nakamura ve ark, beta-2 adrenoseptör aktivasyonu ile TNF- $\alpha$  ve IL-6 üretiminin azaldığını bildirmişlerdir (134). Laan ve ark, clenbuterol'ün antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu ve clenbuterol tedavisi sonrası IL-1 $\beta$  düzeylerinin anlamlı şekilde düştüğü bildirilmişlerdir (135).

Clenbuterol'ün amiotrofik lateral skleroz (ALS) ile ilişkili nöromusküler dejenerasyon tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Clenbuterol kan beyin bariyerini geçebilir. Deneysel iskemiden nöronları koruyucu özellikleri olduğu bildirilmiştir. Kaslarda anabolik etkileri olduğu bilinmektedir (136). Clenbuterol tip 1 ve tip 2 lifler üzerine etkileriyle spesifik kas proteinleri ekspresyonunu artırır. Ayrıca endojen sinir büyüme faktörü (NGF) sentezini artırır ve nöron sonlarından salınan myotrofik faktör olabilir. Clenbuterol'ün ALS semptomatik tedavisinde etkinliği henüz kanıtlanmamıştır (137). Spinal travma sonrası akut fazda beta2-agonisti olan clenbuterol reseptör aktivasyonu ile glutasyon bağımlı antioksidatif prosesi stimüle eder, böylece azalmış oksidatif hasar ile daha iyi lokomotor fonksiyon sağlanmış olur (138). Clenbuterol'ün antidepresan etkilere sahip olduğu bildirilmiştir ve diğer antidepresanlar gibi beyin triptofan düzeyini arttırdığı saptanmıştır. Bu, antidepresan ilaç etkisinin ortak özelliği olabilir (139).

Clenbuterol'ün yarılanma ömrünün hayvanlarda 30 saat civarında olduğu, serbest olarak atıldığı ve terapötik doz uygulamasından sonra idrarla atılan miktarın hiçbir zaman 10-20 µg/mL düzeyini aşmadığı bildirilmektedir (140). Clenbuterol'ün terapötik dozu düşüktür, vücutta dağılım hacmi büyüktür. Büyük miktarı idrarla atılmaktadır. Xu ve ark, insana oral olarak 80 µg (terapötik dozun dört katı) clenbuterol uyguladıktan sonra, idrarda 2-48 saat boyunca tayin etmişlerdir. Clenbuterol'ün yarılanma ömrünün insanda yaklaşık 7 saat, 3 mg clenbuterol verilen farede ise 1-2 gün arasında olduğunu bulmuşlardır (141). Farelere propranolol, labetalol ve clenbuterol verildiğinde, bu ilaçların doğum öncesi ve sonrası serbest olarak beyinde biriktiği ve kan beyin bariyerini geçtiği bildirilmektedir (142). İnsanlara 20-40 µg verilen clenbuterol'ün biyolojik sıvılardaki miktarının çok düşük olduğu bildirilmiştir (143). Clenbuterol'ün hayvan kas ve dokularında birikerek, bu hayvanların etlerini yiyen insanlarda zehirlenmeye neden olduğu bildirilmiştir (144).

Clenbuterol'ün en belirgin yan etkileri; titreme, baş ağrısı, baş dönmesi, taşikardi, kusma, ateş, hipokalemi ve hipoglisemi gibi doz bağımlı laboratuvar değerleri anormallikleri, uzun dönem tedavilerde adale yorgunluğudur. Bunun yanında anabolik doz alımında β2 agonistlerin tüm yan etkilerini gösterir. (138,145,146)

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın deneysel bölümü Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, preparatların hazırlanması, baziller arter çap ölçümleri ve histopatolojik incelemeleri Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, immunokimyasal ölçümler Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Çalışmanın deney protokolü Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Bu çalışmada ağırlıkları 200 ile 250 gram arası 18 adet erişkin Wistar cinsi erkek albino sıçan kullanıldı. Sıçanların tamamı çalışma süresince 22°C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık siklus bulunan kafeslerde korunup, aynı miktarda standart hayvan yemi ile beslendi. Her birinde altı denek bulunan kontrol grubu (Grup 1), SAK grubu (Grup 2) ve (SAK + Clenbuterol) tedavi grubu (Grup 3) olmak üzere rastgele üç gruba ayrıldı (Tablo- IV ).

12 saatlik açlık sonrasında tüm sıçanlara genel anestezi sağlamak için Ketamin Hidroklorür (Ketalar flakon, Parke-Davis lisansı ile Eczacıbaşı İlaç Sanayi İstanbul) 40 mg/kg ve Xylazin (Rhompun % 2 enjektabl flakon, Bayer Türk Kimya Sanayi İstanbul) 10 mg /kg intramuskuler İM olarak uygulandı.

Grup 1'deki denekler SAK oluşturulmadan sakrifiye edildi. Grup 2 ve 3'deki denekler sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu yapıp deneysel subaraknoid kanama modeli oluşturuldu. Serebral vazospazmın süregelmesi için 48 saat sonra aynı işlem tekrarlandı. 72 saat sonra Grup 2 ve Grup 3'deki denekler sakrifiye edildiler. Bu dönemde ilk günden itibaren Grup 3'deki deneklere üç gün boyunca 12 saat ara ile günde iki kez nazogastrik ile Clenbuterol ( NIHFI, Bulgaria ) verildi. 72 saat sonrası sakrifiye edilmeden önce her denekten kan alındı.

Tablo-IV. Deney Grupları

Grup 1	Kontrol grubu	SAK(-) ( n = 6 )	SAK oluşturulmamış sağlıklı denekler
Grup 2	SAK grubu	SAK (+) ( n = 6 )	Sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile deneysel subaraknoid kanama oluşturulmuş grup
Grup 3	Tedavi grubu	SAK + Clenbuterol ( n = 6 )	Sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile deneysel subaraknoid kanama oluşturulan ve üç gün süreyle günde iki kez 12 saat ara ile Clenbuterol verilen grup

#### DENEYSEL SAK MODELİ VE TEDAVİ PROTOKOLÜ

Grup 2 ve Grup 3'deki deneklerin genel anestezi sonrası iniondan alt servikal bölgeye kadar traş edildi. Polyvinyl pyrolidone iod kompleksi (Batticon %10, Adeka İlaç Sanayi Samsun) ile saha temizliğini yapıldı. Baş fleksiyona getirilerek oksiputo-atlantal mesafeden 23G kanül ile ponksiyon yapılarak subaraknoid mesafeye ulaşıldı. 0,1 ml nonheparinize otolog arteryel kan aseptik şartlarda 30 saniyelik süre içerisinde subaraknoid mesafeye verildi. Bu işlemden sonra denekler 15 dakika süre ile 30 derece trandelenburg pozisyonunda tutularak kanın bazal sisternlere doğru yayılması sağlandı. Bu süre zarfında solunum güçlüğü açısından denekler izlendi ve gerekli müdahale yapıldı. 48 saat sonra genel anestezi altında aynı yöntemle aynı miktarda arteryel kan subaraknoid mesafeye verilip vazospazmın süregelmesi sağlandı.

Clenbuterol tabletleri manuel olarak toz haline getirildi. % 0,9 NaCl ile mekanik olarak karıştırılarak çözelti oluşturuldu. Clenbuterol ilk SAK oluşturulan günden itibaren üç gün süreyle 0,1 mg/kg/gün olacak şekilde 12 saat ara ile günde iki doz halinde nazogastrik ile verildi.

72. saatte tüm deneklere bilateral fronto-parieto-okspital kraniektomi yapıldı. Foramen magnum üzerinde kalan serebrum, serebellum ve beyin sapı total olarak anatomik bütünlüğü korunacak şekilde çıkarıldı (Şekil 2). Makroskopik olarak, SAK yapılan tüm deneklerde beyin sapı bazal yüzeyinde vertebral arterler ve baziller arter çevresinde yaygın subaraknoid kanama izlendi (Şekil 3).

### HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda alınan tüm doku örnekleri %10 formaldehit solusyonu içerisinde 24 saat boyunca fikse edildi. Tüm örneklerin beyin sapı ve baziller arter üst, orta ve alt düzeylerinden birer enine kesit alınarak doku takibine alındı. Burada yaklaşık 16 saat bekletildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Her bir bloktan 5 mikrometre kalınlığında doku kesiti alındı. Bu kesitler hemotoksilen eozin ile boyandı.

Her denekten elde edilen kesitler ışık mikroskopu ile değerlendirildi. Preparatlar incelenerek baziller arter çapları optik mikrometre yardımıyla grupları bilmeyen tarafsız bir gözlemci tarafından ölçüldü. Her deneğe ait üç kesitten birer ölçüm yapılarak bunların ortalamaları alındı.

### BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral vazospazmdan sonra proinflamatuvar sitokinlerin değişimine bakmak için sakrifiye edilmeden önce her gruptaki deneklerden kan alınarak Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeyleri çalışıldı. Örnekler immünoimetrik yöntem kullanılarak solid faz kemilüminesent prensibi ile TNF- $\alpha$  için Immulite 1000, IL-6 için Immulite 2000 cihazı ile otomatize olarak çalışıldı.

### İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Grupların baziller arter çap ölçüm sonuçlarının karşılaştırılmasında istatistiksel analiz için Windows ortamında Statistical Product and Service Solutions (SPSS) istatistik programının 13.0 versiyonu ile tanımlayıcı değerler alınarak gruplar için

Oneway ANOVA testi kullanıldı. Sonuçların normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk's testi ile saptandı. Grupların sonuçlarının ikili olarak karşılaştırılması için Tukey HSD testi kullanıldı.  $P < 0,05$  değerleri anlamlı olarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Deneklere otolog kan enjeksiyonu ile subaraknoid kanama yapıldıktan sonra klinik olarak hareketlerde azalma, konfüzyon, ataksi, iştahsızlık izlendi.

### MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME

Makroskopik olarak; sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile subaraknoid kanama oluşturulan Grup 2 ve Grup 3'deki deneklerin bilateral total kraniektomi sonrası hepsinde beyin ventral yüzeyinde bazal sistemlere doğru yaygın subaraknoid kanama izlendi (Şekil 3).

### MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRME

Beyin sapı ve baziller arter bölgesinden alınan ince kesitler ışık mikroskopu altında incelendi. Gruplar arası baziller arter çapları belirgin farklılıklar içerdiği görülerek ölçümleri yapıldı.

Kesitler mikroskopik olarak incelendiğinde ; SAK (-) kontrol grubunda lümeninde düzgün döşenmiş tek sıralı endotel hücreleri, media tabakasında yan yana dizili düz kas hücreleri, adventisyada gevşek yerleşimli bağ dokusu hücreleri görüldü (Şekil 4). SAK grubunda endotel hücrelerinde şişme, lümen içine tomurcuklanma ve komşu elastikadan ayrılma şeklinde yapısal değişiklikler, media tabakasında düz kas hücrelerinde kısalma ve kalınlaşma, lamina elastikada kıvrımlanma artışı ile lümen çapında belirgin azalma görüldü (Şekil 5). SAK + Clenbuterol tedavi grubunda lümen yüzeyinde endotel hücrelerinde tomurcuklanma olmadan düzgün dizilim, SAK grubuna göre media tabakasında incelleme, lamina elastikada kıvrımlanmada azalma ile lümen çapında SAK grubuna göre belirgin artış görüldü (Şekil 6).



Şekil-2. SAK (-) Kontrol Grubu Makroskopi- Önden Görünüş

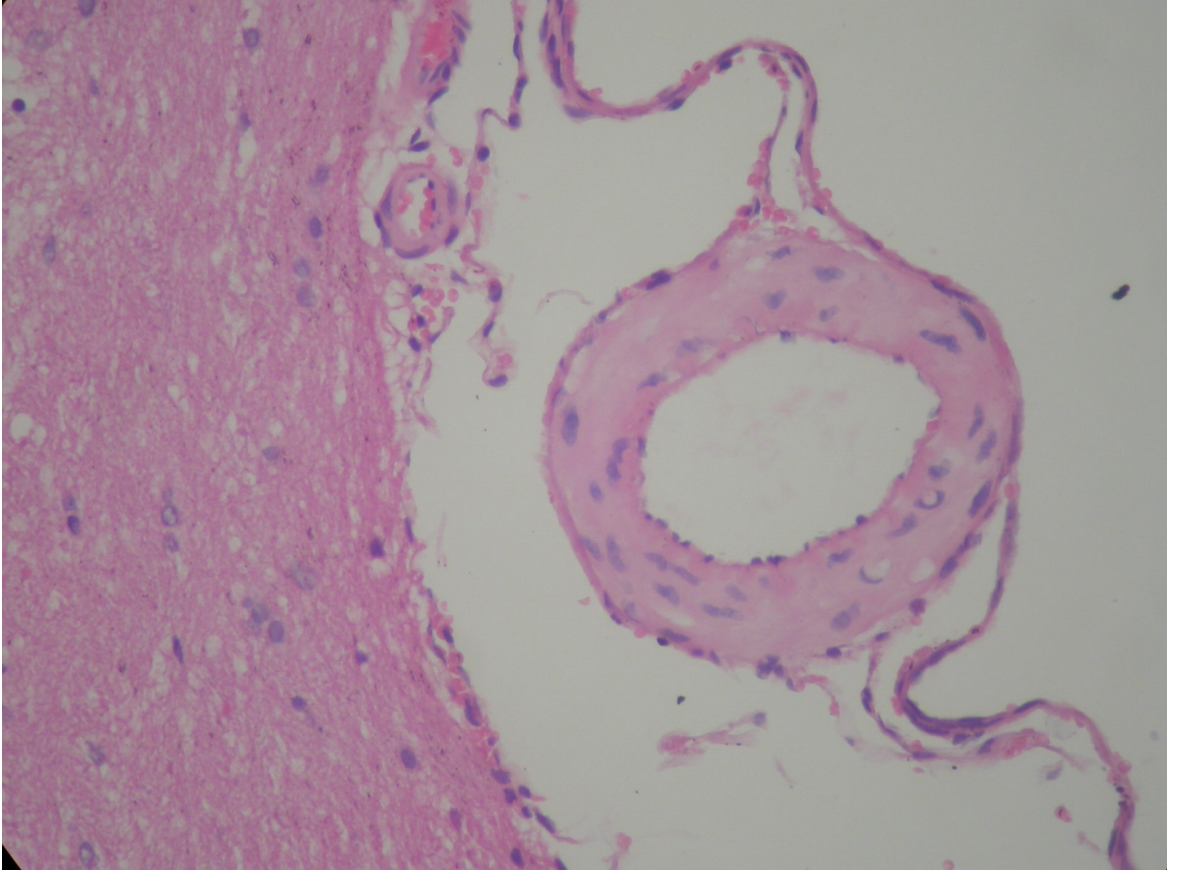
Total kraniyektomi sonrası anatomik bütünlüğü korunacak şekilde serebrum, serebellum ve beyin sapı total olarak çıkarılmıştır. Santral median sulkusta baziller arter izlenmektedir.





Şekil-3. SAK Grubu Makroskopi- Önden Görünüş

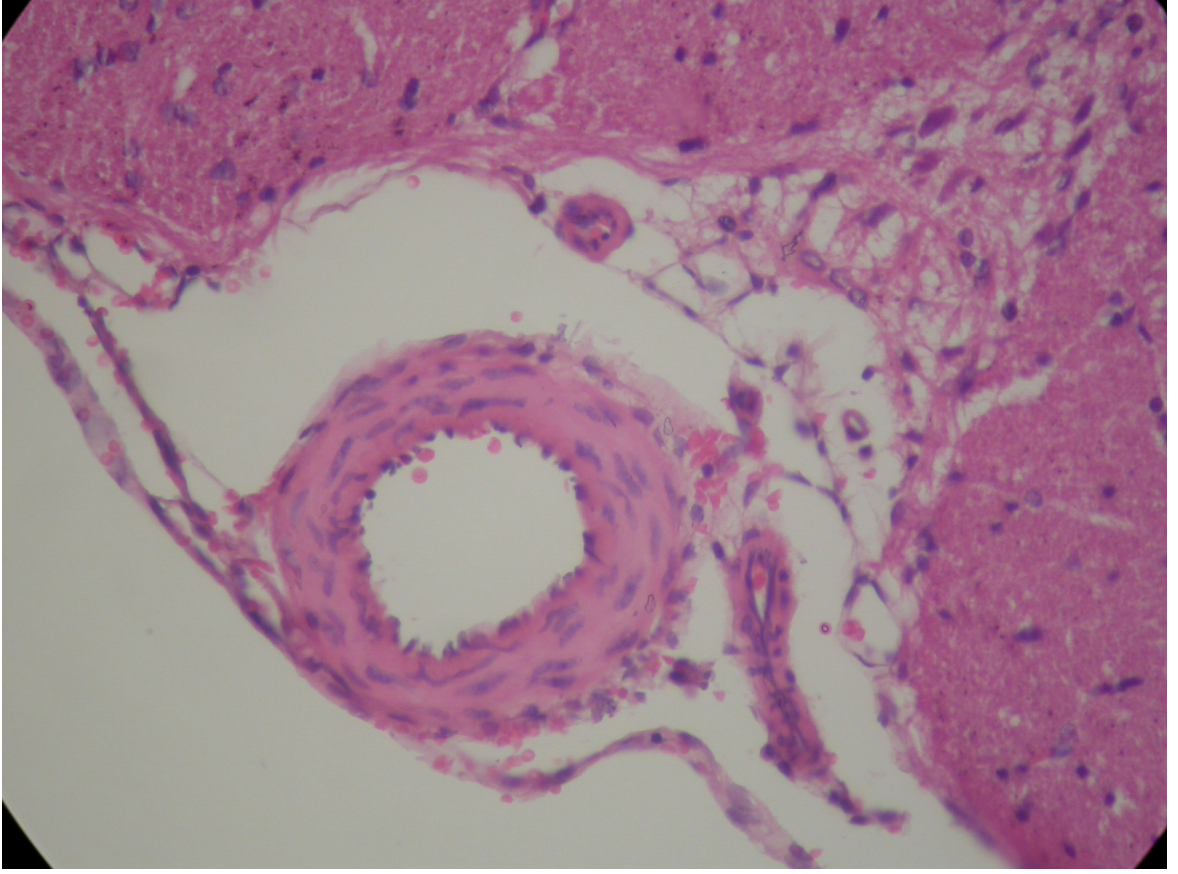
DeneySEL SAK oluşturulan tüm deneklerde makroskopik olarak, beyin ventral yüzeyinde bazal sisternlere doğru yaygın subaraknoid kanama izlenmektedir.



Şekil-4. SAK (-) Kontrol Grubu Mikroskopi

Hemotoksilen eozin ile boyanmış normal baziller arter preparatı

(HE x 40)

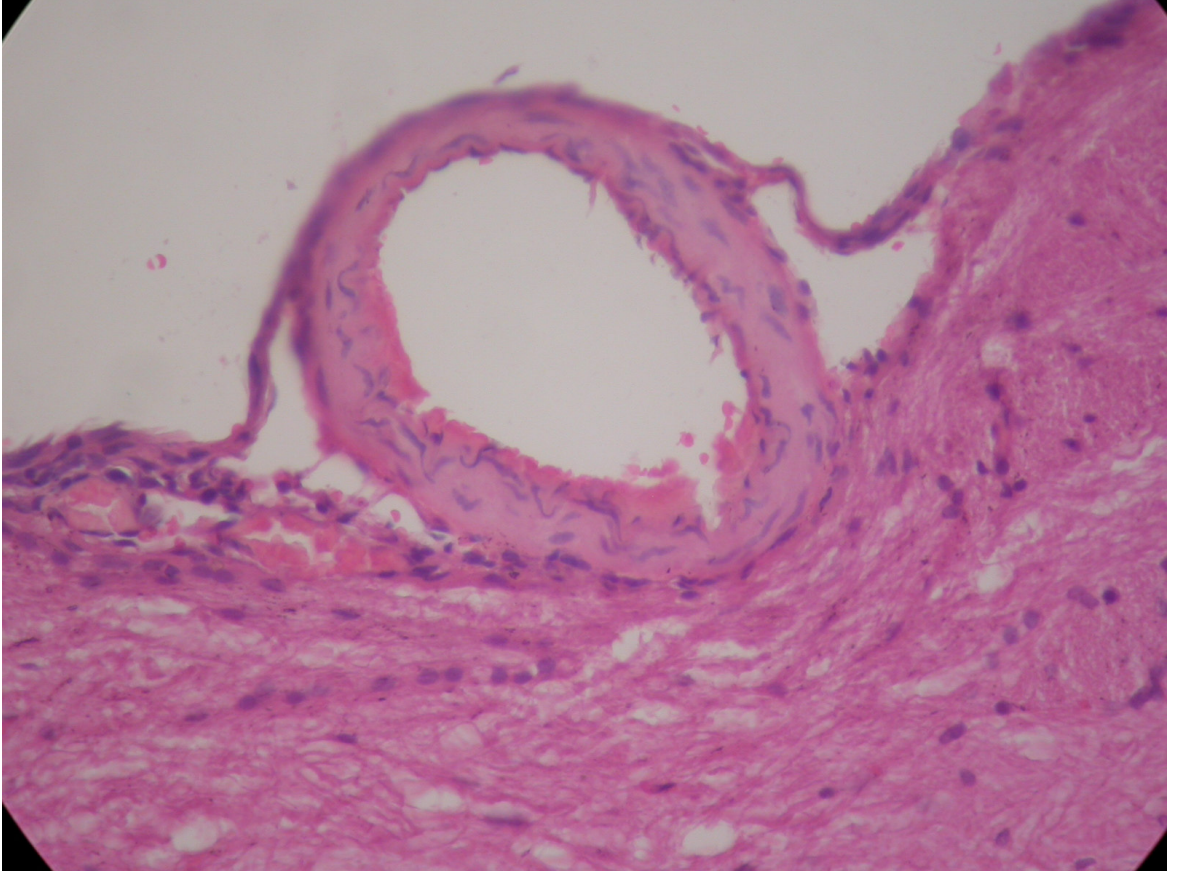


Şekil-5. SAK Grubu Mikroskopi

Hemotoksilen eozin ile boyanmış vazospastik baziller arter preparatı

(HEx 40)





Şekil-6. Tedavi Grubu Mikroskopi

Hemotoksilen eozin ile boyanmış SAK modeli oluşturulduktan sonra clenbuterol ile tedavi edilen deneklere ait baziller arter preparatı. Grup 2'ye göre arter çapında artış görülüyor.

(HE x 40)

## İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

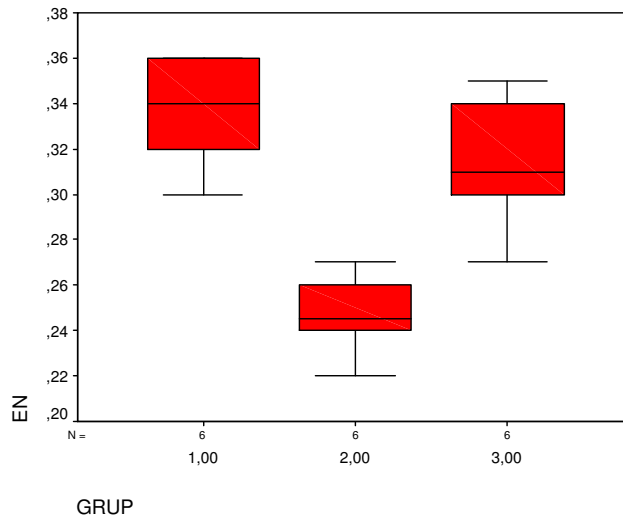
Tüm deneklerin baziller arter çapları; her denek için üst, orta ve alt kısım baziller arter çapı ölçümü olmak üzere üç ölçümün ortalaması alınarak hesaplandı.

Tablo-V. Baziller Arter Çap Ölçüm Değerleri (mm)

No	Grup 1 SAK (-)	Grup 2 SAK (+)	Grup 3 SAK+ Clenbuterol
1	0,34	0,24	0,30
2	0,30	0,22	0,27
3	0,36	0,25	0,34
4	0,32	0,27	0,32
5	0,36	0,24	0,35
6	0,34	0,26	0,30

Tablo- VI. Baziller Arter Çap Ölçümleri Değerlendirme Sonuçları

	Ortalama + SD	Median	Minimum	Maksimum
Grup 1	0,34 + 0,02	0,34	0,30	0,36
Grup 2	0,25 + 0,02	0,25	0,22	0,27
Grup 3	0,31 + 0,03	0,31	0,27	0,35



Şekil-7. Baziller Arter Çap Ölçümleri Grafiği (kutu-çizgi)

Üç gruptaki deneklerin baziller arter çap ölçüm değerleri sonuçlarının normal dağılıma uyduğu Shapiro Wilk's testi ile saptanarak parametrik koşulları sağladığı görüldü. Üç grubun baziller arter çap ölçüm değerleri Oneway ANOVA testi ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda anlamlı fark saptandı ( $p<0,001$ ). Grupların sonuçları kendi aralarında ikili olarak Tukey HSD testi ile karşılaştırıldı (Tablo 7). SAK yapılmayan kontrol grubu ile SAK grubu ikili olarak karşılaştırıldığında baziller arterdeki çap azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,001$ ). SAK yapılmayan kontrol grubu ile SAK sonrası clenbuterol ile tedavi edilen grubun karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0,242$ ). SAK grubu ile SAK sonrası clenbuterol tedavisi alan grup karşılaştırıldığında baziller arter çapında istatistiksel olarak anlamlı bir genişleme olduğu saptandı ( $p=0,001$ ). Sonuç olarak grupların incelenmesinde Clenbuterol'ün SAK sonrası gelişen serebral vazospazm üzerine iyileştirici etkisi olduğu saptandı.

Tablo-VII. Tukey HSD Testi İkili Karşılaştırma Sonuçları

Grup 1 SAK(-) KONTROL	Grup 2 SAK(+)	$p<0,001$
Grup 1 SAK(-) KONTROL	Grup 3 SAK+ CLENBUTEROL	$p=0,242$
Grup 2 SAK(+)	Grup 3 SAK+ CLENBUTEROL	$p=0,001$

#### BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Her gruptaki deneklerden sakrifiye edilmeden önce kan alınarak proinflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinin subaraknoid kanama sonrası değişimine bakıldı. SAK(-) kontrol grubunda normal sınırlarda bulunan değerlerde, SAK ve SAK+ Clenbuterol tedavi grubunda artış gözlenmedi. Sonuçta subaraknoid kanama sonrası TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinde anlamlı bir farklılık saptanmadı.

## TARTIŞMA

Serebral vazospazm, subaraknoid kanama sonrası beyin bazalinde yer alan major serebral arterlerin lümen çaplarında fokal veya diffüz daralmadır (19). Vazospazm iskemi ile sonuçlanan serebral kan akımında azalmaya yola açar. Anevrizma rüptürüne bağlı oluşan subaraknoid hemoraji sonrasında gelişen serebral vazospazm, anevrizma hastalarında geç iskemik nörolojik defisitlerden birinci derecede sorumlu olup mortalite ve morbiditenin en önemli sebebidir (13,15). SAK sonrası ilk iki hafta içinde serebral vazospazm varlığı mortaliteyi 1,5 kattan 3 kata kadar artırır (17). Vazospazm anevrizmal subaraknoid kanamalı hastaların %70'inde görülürken, %30-40'ında semptomatik serebral iskemi görülür (17,19). Ortak anevrizma çalışmasında anjiyografik vazospazm insidansının %50'den fazla, semptomatik vazospazmın ise hastaların %32'sinde olduğu bildirilmiştir (20).

Anjiyografik vazospazmın ilk olarak tanımlandığı 1951'den bu zamana kadar, SAK sonrası gelişen serebral vazospazm üzerine yoğun klinik ve deneysel çalışmalara rağmen temel fizyopatolojisi ve medikal tedavisi henüz tam olarak ortaya konulamamıştır (13,15,19). Yapılan çalışmalarda vazospazmın sebebinin multifaktöryel olduğu belirtilmiştir. Vazospazm için uygun farmakolojik tedavinin tam olarak olmaması klinik ve deneysel çalışmaları devam ettirmektedir. Bu deneysel çalışma vazospazmın fizyopatolojisine uygun tedavi alternatifi geliştirmek için planlandı.

Bu çalışmada sıçanlarda sisterna magnaya otolog arteriyel kan enjeksiyonu ile subaraknoid kanama oluşturuldu. İlk kanamadan sonra 48. saatte tekrarlanan ikili kanama modeli kullanıldı. Tedavi grubundaki deneklere sakrifiye edilinceye kadar üç gün süreyle 0,1 mg/kg/gün dozundan clenbuterol verilerek vazospazma etkisi incelendi. 72. saatte denekler sakrifiye edilerek baziller arter kesitleri alındı. Hazırlanan preparatlar mikroskop ile histopatolojik incelemeye alındı. Baziller arter çapları ölçülerek vazospazm dereceleri değerlendirildi.

Bu çalışma ile sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan subaraknoid kanamaya bağlı olarak gelişen serebral vazospazm modelinde clenbuterol'ün morfometrik olarak vazospazmı azaltıcı etkisi gösterilmiştir. Saptanan sonuçlar clenbuterol'ün vazospazmı azalttığına dair elde edilen ilk kanıtlardır.

İnsanlarda serebral arterlerde deneysel çalışma yapma imkansızlığı nedeniyle çalışmalar hayvan modelleri üzerine yapılmıştır. İntrakranial anevrizma rüptürüne bağlı SAK hastalarında görülen serebral vazospazm, bir hayvan modeli oluşturularak birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır (147). Offerhaus ve Van Goll 1969'da ilk kez hayvanlarda SAK modelini yayınladılar (148). İdeal denekler uygulanan tedavinin etkinliğine ve toksitesine dayanıklı olmalı ve bu model anevrizma rüptürü sonrası gelişen subaraknoid kanamaya yakın bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Sıçan SAK modelleri için pahalı olmayan ve büyük laboratuvar hayvanlarına göre kullanımı daha kolay olan ideal bir tercihtir. Solomon ve ark, sıçanlarda SAK öncesi ve sonrası serebral kan akımını karşılaştırmışlar ve sıçanların SAK çalışmaları için potansiyel bir deneysel model olduğunu bildirmişlerdir (149). Bu modeller yeni farmakolojik tedavileri daha büyük hayvanlarda denemeye geçmeden önce ilk çalışma sonuçlarını görmek açısından uygundur. Sıçan ile yapılan çalışmalarda, SAK sonrası baziller arterde daralmanın insanlarda gelişen vazospazmı aynı özellikleri gösterdiği kabul edilmiş ve baziller arterin anjiyografik ve morfometrik ölçümlerinin birbirine yakın olduğu saptanmıştır (149,150). Bu çalışmada kolay bulunması, ucuz olması, bakımının kolay olması ve halen geçerli bir model olması nedeniyle sıçan tercih edilmiştir.

Hayvanlarda doğal yoldan vazospazm oluşturan bir model olmadığından arteriyel daralmaya yol açacak subaraknoid kanama yapmaya yönelik birçok yöntem tarif edilmiştir. Başlıca subaraknoid kanama modeli oluşturma yöntemleri; 1) arterin delinerek kanın arter etrafında birikmesinin sağlanması, 2) arterin cerrahi olarak ortaya konularak başka bir bölgeden alınmış kanın arterin etrafına konulması, 3) bilinen en uygun yöntem olan subaraknoid mesafeye başka bir bölgeden alınan kanın enjekte edilerek arter etrafında toplanmasının sağlanması olarak sayılabilir. Bu yöntemlerin her birinin kendine göre avantaj ve dezavantajları vardır(151). İntrakranial arterleri kullanmanın asıl avantajı kanın içerisine verilebileceği ve



burada tutulabilecek sisternal boşlukların olmasıdır. Ayrıca intrakranial subaraknoid boşlukta bulunan arteryel sistemin adventisyası iyi gelişmemiştir ve vazovazorumları bulunmamaktadır. Adventisyadan beyin omurilik sıvısı ile beslenen arterlerin bu porlarına eritrosit infiltrasyonları da görülmektedir. Bu nedenle periferik sistem arterleri ile değişkenlik göstermektedir. Bu sayede insanlardaki subaraknoid kanama ve vazospazma daha yakın bir durum sağlanabilir. Hayvan modellerinin bir ortak özelliği de beyinlerindeki kollateral akımın yoğunluğuna bağlı nadir olarak vazospazma bağlı iskemik nörolojik defisit ortaya çıkmasıdır. Baziller arterin seçilmesinin diğer bir nedeni de hayvanlarda posterior sistem fazla gelişmiştir. Bu çalışmada en çok tercih edilen ve günümüzde en çok kullanılan yöntem olan sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile subaraknoid kanama modeli oluşturuldu.

Deneysel SAK modellerinde, SAK oluşturulması tek zamanlı, ikili veya üçlü model kullanılabilir. Sıçanlarda ikili kanama modeli, insanlarda subaraknoid kanama sonrası serebral vazospazma benzetilen ve en sık kullanılan yöntemdir (152). Bu modelde bazal sistemlere 48 saat arayla iki kez enjeksiyon yapılır ve tek zamanlı kan enjeksiyonuna göre daha iyi arteryel vazokonstriksiyon sağlanır. Ancak eldeki imkanlar ölçüsünde insandaki SAK'a en yakın model, maymun beynindeki büyük serebral damarlar çevresine cerrahi olarak kan pıhtısı yerleştirilmesidir (151). Bu çalışmada da sisterna magnaya otolog ilk kan verilisinden 48 saat sonra işlem tekrarlanarak ikili subaraknoid kanama modeli oluşturuldu.

Araştırmalar sonucu sıçanlarda bifazik vazospazm paterni olduğunu göstermiştir. Spazm süresi üç gündür. Subaraknoid mesafede kan bulunduğu spazm oluşumunun belirli bir süreyle sınırlanması önemlidir. Sıçanlarda ikinci gün görülen geç dönem spazm bu türde diğer türlere göre daha erken oluşur. Klinik olarak akut spazm dönemi varlığı net olarak kanıtlanmamıştır. Hastalarda geç spazm anjiyografik olarak kanamadan sonra iki dört gün sonra görülür ve yedinci günde maksimale ulaşır. İskemi ve nörolojik defisitlerin gelişimi bu geç fazdadır (153). Bu deneklerde tüm morfolojik değişikliklerin en fazla olduğu gün, deneysel SAK sonrası üçüncü gündür. Vazospazmın en yoğun olduğu gün olarak kabul edilerek, ilk oluşturulan SAK'dan üç gün sonra bu çalışma gerçekleştirildi.

Hayvan deneylerinde oluşan vazospazm değişik yöntemlerle ölçülebilir. Morfometrik analiz bazı deneysel SAK modellerinde vazospazmı göstermesi açısından tercih edilen bir yöntemdir (149,154,155). Morfometri SAK sonrası serebral arterlerde oluşan değişikliklerin hem derecesinin hem de natürünün kantitatif olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır (154). Damar çapının morfometrik olarak incelenmesi vazospazmın kesin ve güvenilir bir ölçütüdür.

Tüm deneklerden elde edilen baziller arter kesitlerinde, SAK sonrası gelişen morfolojik değişiklikler incelendi. Baziller arter çap ölçümleri optik mikrometre ile yapıldı. SAK sonrası clenbuterol verilen grupta, SAK grubuna göre baziller arter çap ortalamalarının anlamlı şekilde arttığı görüldü. Tedavi grubunda kontrol grubuna göre vazospazmın büyük oranda düzeldiği saptandı. Gruplar arası farklılık istatistiksel olarak değerlendirildi.

Baziller arterden hazırlanan ince kesitler ışık mikroskopunda incelendi. SAK grubunda lümen ileri derecede daralma ve damar duvarında kalınlaşma görüldü. Endotel hücrelerinde şişme, lümen içine tomurcuklanma, bu bölgelerde elastikadan ayrılma, lamina elastika internada kalınlaşma ve ondüasyon şeklinde kıvrımlanma, mediada düz kas hücrelerinde şişme ve kısalma saptandı. Bu bulgular daha önce Mayberg ve ark ile Findlay ve ark tarafından saptanan bulgular ile benzerdir (154,156). Tedavi grubunda baziller arter lümen çapında belirgin artış ve baziller arter duvarında SAK grubuna göre incelme saptandı. Endotel hücrelerinin kontrol grubuna benzer şekilde tek sıra halinde düzgün ve yassılaştırmış olarak lümeni döşediği görüldü. Lamina elastika internanın incelmesi ve kıvrımlanmasında azalmanın olduğu görüldü.

Bu çalışmada yer alan üç grubun sonuçları Oneway ANOVA testi ile değerlendirildi. Baziller arter çap ölçüm değerleri arasında tüm gruplar göz önüne alındığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $P < 0,001$ ). Çalışmada yer alan tüm gruplar Tukey HSD testi kullanılarak kendi aralarında karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile SAK grubu baziller arter çapları arasında istatistiksel olarak

anamlı farklılık bulundu ( $P<0,001$ ). SAK sonrası baziller arter çap ortalamalarında anlamlı bir azalma olduğu saptandı. SAK grubu, SAK sonrası clenbuterol alan tedavi grubu ile Tukey HSD testi ile karşılaştırıldığında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,001$ ). SAK sonrası clenbuterol ile tedavi sonucu baziller arter çap ortalamasında anlamlı bir düzelme olduğu saptandı. Kontrol grubu ile SAK sonrası clenbuterol alan tedavi grubu ile Tukey HSD testi ile karşılaştırıldığında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0,242$ ). SAK sonrası clenbuterol ile tedavi sonrası baziller arter çap ortalamalarının normale yakın düzeldiği ve SAK yapılmayan normal deneklerinkine göre anlamlı bir farkı olmadığı saptandı. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre clenbuterol istatistiksel açıdan anlamlı olacak şekilde serebral vazospazmın oluşumunu ve gelişimini engellemiştir.

Elde edilen sıçan baziller arter ortalama ölçüm sonuçları Longo ve ark (147), Verlooy ve ark (157) ve Weidauer ve ark'nın (158) sonuçları ile korele olarak saptanmıştır. Sıçanlarda erken dönem posthemorajik vazospazmın gecikmiş ikinci faza göre daha ağır olduğunu bildirmişlerdir. Delgado ve ark, erken ve geç dönem bifazik reaksiyonda benzer sonuçlar bildirmişlerdir (153). Deneysel SAK modeli için alternatif bir metod oluşturan Boullin ve ark, rüptüre serebral anevrizmalı hastalardan topladıkları 1 ml beyin omurilik sıvısını, sıçan karotid arterine enjekte etmişler ve serebral arterlerde hızla gelişen kontraksiyon saptamışlardır. Sonuç olarak anevrizma rüptürü sonrası insan serebral arterlerindeki kontraksiyonun etyolojisini araştırmada sıçanların uygun bir model olduğunu bildirmişlerdir. Saptadıkları çaptaki azalma yüzdeleri bu sonuçlarla koreledir (159).

İnterlökinler immün yanıtta güçlü mediatör ve regülatör moleküllerdir. Anevrizma rüptürü sonrası subaraknoid mesafeye kan karışması ile inflamatuvar süreç başlar ve bu yarı immün bir yanıttır (115). İltihabi yanıtta önemli bir role sahip olan interlökinlerin, inflamatuvar bir süreç olan serebral vazospazmda da etkin olabileceği düşünölmüştür. Bu çalışmada sakrifiye edilmeden önce her gruptaki deneklerden serum örnekleri alınarak proinflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerine bakılmıştır. SAK(-) kontrol grubunda değerler normal sınırlarda bulunurken, SAK grubu ve SAK sonrası clenbuterol alan tedavi grubunda değerlerde

artış gözlenmemiştir. Sonuç olarak SAK sonrası serum TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinde öncesine göre anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda, Zhou ve ark subaraknoid kanamanın nükleer faktör- kappaB DNA bağlanma aktivitesini ve TNF-  $\alpha$ , IL -1 $\beta$ , ICAM-1, VCAM-1 düzeylerini arttırabileceğini bildirmişlerdir (117). Fassbender ve ark subaraknoid kanamalı hastalarda inflamatuvar sitokinlerle yaptıkları çalışmada, IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  salınımının karakteristik olduğunu belirtmişlerdir (118). Aynı kişiler tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, SAK ve kontrol hastalarında endotelin-1 ile IL-1, IL-6 ve TNF - $\alpha$  düzeyleri BOS'ta ölçülmüş ve konsantrasyonlarının hastaların klinik bulgularıyla ilişkili olduğunu vurgulamışlardır (119). Osuka ve ark da SAK sonrası vazospazm gelişiminde BOS'daki interlökinlerin özellikle IL-6'nın önemli rolü olduğunu göstermişlerdir (120).

Ancak Nam ve ark, semptomatik vazospazmlı hastalarda monositlerden salınan sitokin düzeylerini ölçtüklerinde, IL-1 beta aktivasyon indekslerinin yüksek olduğunu fakat aynı yüksekliği TNF-  $\alpha$  için söz konusu olmadığını bildirmişlerdir (160). Hirashima ve ark ise, IL-6 ve PAF konsantrasyonlarının SAK sonrası ilk dört gün içinde arttıkça 14 gün boyunca yüksek olarak kalırken; IL-1 $\beta$ 'nın SAK sonrası 5-9 günler arasında geçici olarak arttığını ve TNF- $\alpha$ 'nın değişmeden kaldığını göstermişlerdir (121). Tanazawa ve ark, lipopolisakkarit enjeksiyonu sonrası dört saat içinde BOS'ta geçici olarak TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarının arttığını, fakat IL-1 beta, IL-6 ve interferon gama düzeylerinin değişmediğini saptamışlardır (161). Kikuchi ve ark, vazospazmda sitokinlerin rolünün henüz bilinmediğini belirterek SAK'lı hastalarda BOS'taki sitokin konsantrasyonlarını çalışmışlar ve sonuç olarak artışı IL-6 ve IL-8'de saptadıklarını, ancak IL-1 alfa, IL-1 beta ve TNF- $\alpha$ 'da saptamadıklarını bildirmişlerdir (122) .

Mathiesen ve ark, SAK'lı hastalarda BOS örneklerini incelediklerinde Hunt-Hess skoru düşük olan hastalarda sitokinlerin anlamlı şekilde arttığını, skoru iyi olan hastalarda belirgin artış göstermediğini belirterek; kötü klinik durumda olan hastaların labil biyokimyasal değerlere sahip olduğunu saptamışlardır (162).

Mathiesen ve ark'nın yaptığı bir diğer çalışmada, serum ve BOS interleükin düzeylerine bakmışlar ve BOS'ta yüksek değerler saptarken serumda buna paralel artış görülmemiştir. Bunu da sitokinlerin intratekal sentezi ve kan beyin bariyerinden pasif transfer olamayışına bağlayarak, serum ve BOS değerlerinin negatif korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir (123). Sercombe ve ark, damar konstriksiyonu üzerine yapılmış birçok çalışma olmasına rağmen mikrosirkülasyondaki inflamatuvar markerların değişimini ortaya koyacak çalışmalarda yetersizlik olduğunu belirtmişlerdir (163).

Bütün bu çalışmaların sonuçları incelendiğinde, subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral vazospazm ile proinflamatuvar sitokinlerin ilişkisinin tüm çalışmalarda birbirinden farklı olarak saptandığı görülmüştür. SAK sonrası serum ve BOS sitokin düzeylerindeki artış birbirine paralel gerçekleşmeyebilir, hatta negatif korelasyon gösterebilir. Bu da sitokinlerin intratekal sentezi ve kan beyin bariyerinden pasif transfer olamayışı ile açıklanabilir. Sitokin düzeyleri nörolojik skor ve klinik durum ile ilişkili olarak değişim gösterebilir. Nörolojik skor düşük olduğunda labil biyokimyasal değerler görülüp sitokin düzeyleri belirgin olarak artabilirken, nörolojik skor iyi olduğunda sitokin düzeylerinde artış izlenmeyebilir. Ayrıca  $\beta$  agonistler intraselüler cAMP düzeylerini arttırarak proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesini inhibe ederler. Nakamura ve ark, beta-2 adrenoseptör aktivasyonu ile TNF- $\alpha$  ve IL-6 üretiminin azaldığını bildirmişlerdir (134). Laan ve ark, clenbuterol'ün antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğunu ve clenbuterol tedavisi sonrası sitokin düzeylerinin anlamlı şekilde düştüğünü bildirilmişlerdir (135). Tedavi grubu deneklerinde serum TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinin artmaması, antiinflamatuvar özelliklere sahip bir  $\beta$  agonist olan clenbuterol'ün kullanımıyla serum TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeyleri etkilenmiş olmasına bağlanabilir.

Tedavi gruplarındaki deneklere clenbuterol üç gün süreyle, 12 saat aralıklarla günde iki kez olacak şekilde 0,1 mg/kg/gün dozunda nazogastrik ile verilerek vazospazm seyirindeki rolü incelendi.

SAK sonrası görülen serebral vazospazm oksidasyon, inflamasyon, düz kas hücre proliferasyonu ve nekroz süreçlerini kapsayan, birbiri ile sinerjik olarak etkileşen, tek bir mekanizma ile açıklanamayan multifaktöryel bir fenomendir. Günümüze kadar kullanılan bir çok ajan serebral vazospazmı açıklayan faktörlerden ancak bir ya da bir kaçına etkili olabileceği düşünülerek kullanılmış, fakat tedavide başarılı olunamamıştır (15,17,19). Teorik olarak serebral vazospazmı tedavi etmek için kullanılacak ajanın hem birden fazla sisteme etki etmesi hem de vazospazmın erken ve geç döneminde vazospazma yol açtığı düşünülen etkileri bloke edebilecek özelliklere sahip olması gereklidir.

Hipotezimiz bu düşünceden destek olarak oluşturuldu. Bir  $\beta_2$ - adrenoseptör agonisti olarak clenbuterol'ün, nöroprotektif ve antiinflamatuvar etkisi olan, vazodilatör NO düzeyini yükselten, vasküler düz kas hücrelerine karşı antiproliferatif etkisi olan, beta-2 bağımlı vazodilatasyonu indükleyen, kontraktıl yanıtı azaltarak vazokonstrüksiyonu önleyen, düz kaslar üzerine spazmolitik etkili ve kan beyin bariyerini geçerek santral sinir sistemine doğrudan etki yapabilen bir ajan olarak serebral vazospazmın tedavisinde faydalı olabileceği düşünüldü (128,129,132,135,142).

Daha önce sıçan mezenter arterleri üzerinde yapılan bir deneysel çalışmada, clenbuterol'ün elektriksel alan stimülasyonuna (EFS) bağılı kontraktıl yanıtları azalttığı ve bu kontraksiyondaki azalmayı nitreerjik sinirler üzerindeki beta-2 adrenoreseptör aktivasyonu sonucu oluşan NO salınımı ile tetiklendiği saptanmıştır. Clenbuterol'ün gevşetici etkisinin NO sentaz inhibitörleri L-NAME ve L-NMMA tarafından azalması, clenbuterol'ün etki mekanizmasında NO rolünü doğrular (128). Arterlerde bulunan duysal sinirler vasküler ton regülasyonunda rol oynarlar ve kalsitonin gen bağımlı peptid (CGRP) bu sinirlerde temel nörotransmitterdir. Clenbuterol duysal sinirlerdeki nörotransmitterlerin tüketilmesini sağlayarak kontraktıl EFS yanıtını azaltır (129).

Serebral vazospazm patofizyolojinde inflamasyonun önemli rolü göz önüne alındığında, beta agonistlerin intraselüler cAMP düzeylerini arttırarak proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesini inhibe etmesi ve bu özellikleriyle allerjik inflamasyon tedavisinde kullanılması önemlidir. Bir  $\beta_2$  agonist olan clenbuterol'ün antiinflamatuvar özelliklere sahip olması da serebral vazospazm tedavisindeki rolünü pekiştirmektedir (133,134,135).

Clenbuterol'ün kan beyin bariyerini aşarak santral sinir sistemine doğrudan etki yapması serebral vazospazm tedavisinde avantaj sağlamaktadır (142). Tüm bu özellikleri taşıyan multipotent bir ajan olan clenbuterol'ün sinerjik bir etki ile serebral vazospazmı belirgin ölçüde önleyebileceği bu çalışma ile gösterilmiştir. Subaraknoid kanamalı hastalarda yaygın olarak kullanılan deksametazona alternatif olarak, kan beyin bariyerini aşarak santral sinir sistemine doğrudan etki yapan, antiinflamatuvar özelliklere sahip olan ve sonrasında gelişen serebral vazospazmda kontraktıl yanıtı azaltan clenbuterol iyi bir tedavi alternatifi olabilir.

## SONUÇ

Bu çalışmada sıçanlarda sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile deneysel subaraknoid kanama oluşturuldu. İlk kanama sonrası 48. saatte tekrarlanan ikili SAK modeli kullanıldı. Sakrifiye edilmeden önce her denekten kan alınarak immünohistokimyasal çalışma yapıldı. Proinflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinin SAK sonrası değişiminin incelendi. SAK sonrası serum TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinde öncesine göre anlamlı bir farklılık saptanmadı. Tedavi grubundaki deneklere serebral vazospazma etkisini incelemek için clenbuterol verildi. 72. saatte denekler sakrifiye edilerek baziller arter kesitleri alındı. Hazırlanan preparatlar mikroskop ile histopatolojik incelemeye alındı. Baziller arter çapları ölçülerek vazospazm dereceleri değerlendirildi. SAK sonrası istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilen vazospazm geliştiği görüldü. Baziller arterden hazırlanan ince kesitler incelendiğinde SAK grubunda lümen ileri derecede daralma ve damar duvarında kalınlaşma görüldü. Clenbuterol ile tedavi sonrası baziller arter lümen çapında belirgin artış ve baziller arter duvarında SAK grubuna göre incelme saptandı. SAK sonrası kalınlaşmış ve ondülasyon şeklinde kıvrımlanmış lamina elastika internanın clenbuterol alanlarda incelendiği ve kıvrımlanmasında azalmanın olduğu görüldü. Sistemik olarak verilen clenbuterol'ün serebral vazospazmın derecesini azaltılmasında istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptandı. Elde edilen sonuçlar antiinflamatuvar özelliklere sahip, kan beyin bariyerini aşarak santral sinir sistemine doğrudan etki yapan clenbuterol'ün SAK sonrasında gelişen serebral vazospazmda iyi bir tedavi alternatifi olabileceğini göstermektedir.



## ÖZET

Subaraknoid kanama sonrasında gelişen serebral vazospazm, intrakranial anevrizmalı hastalarda mortalite ve morbiditeyi belirleyen en önemli komplikasyondur. SAK sonrası ilk iki hafta içinde serebral vazospazm varlığı mortaliteyi 1,5 kattan 3 kata kadar artırır. Yapılan araştırmalara rağmen serebral vazospazmın etyopatogenezi tam olarak anlaşılamamıştır ve halen etkin bir tedavi yöntemi mevcut değildir. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda subaraknoid kanama modeli ile oluşturulan clenbuterol'ün vazospazm üzerine etkisinin değerlendirilmesi ve TNF- $\alpha$  ve IL-6 proinflatuvar sitokin düzeylerinin SAK sonrası değişiminin incelenmesidir .

Bu amaçla her birinde altı sıçan bulunan Grup 1, SAK oluşturulmamış kontrol grubu; Grup 2, SAK grubu; Grup 3, SAK sonrası clenbuterol ile tedavi grubu olmak üzere üç grup oluşturuldu. Sıçanlarda sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu ile deneysel subaraknoid kanama oluşturuldu. Deneklere ilk SAK'ı takiben 48. saatte intrasisternal kan enjeksiyonu tekrarlandı. Sakrifiye edilmeden önce her denekten kan alınarak TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeyleri çalışıldı. SAK sonrası 72. saatte denekler sakrifiye edilmiş ve ışık mikroskobu ile morfometrik çalışmalar için baziller arter enine kesitleri alındı. Bir beta-2 adrenoseptör agonisti olan clenbuterol SAK oluşturulan gündən itibaren üç gün süreyle 0,1 mg/kg/ gün dozunda verildi.

SAK sonrası belirgin vazospazm geliştiği görüldü. Baziller arterden hazırlanan ince kesitler morfolojik olarak incelendiğinde SAK grubunda lümen ileri derecede daralma ve damar duvarında kalınlaşma görüldü. Clenbuterol ile tedavi sonrası baziller arter lümen çapında belirgin artış ve baziller arter duvarında SAK grubuna göre incelme saptandı. İmmünohistokimyasal çalışmalar sonucunda serum TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinde SAK sonrası öncesine göre anlamlı bir farklılık saptanmadı. Morfometrik ve mikropatolojik incelemeler ile elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde clenbuterol'ün subaraknoid kanama sonrası serebral vazospazmı azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiştir.

## SUMMARY

Cerebral vasospasm following SAH is the most important complication which effects mortality and morbidity of patients with intracranial aneurysm. The presence of cerebral vasospasm has been correlated with a 1.5 to 3-fold increase in mortality in the first two weeks after SAH. In spite of conducted researchs, the etiopathogenesis of cerebral spasm is not understood exactly and there is not an effective therapy method yet. The aim of this study is to investigate the effect of clenbuterol on vasospasm following SAH and to examine the changes of pro-inflammatory cytokines, TNF- $\alpha$  and IL-6, levels after SAH.

Rats were divided into three groups (each n=6): Group 1, control group having no spasm; Group 2, SAH group; Group 3, treatment group with clenbuterol after SAH. The experimental SAH was induced by injection of autologous blood into the cisterna magna. The intracisternal blood injection was repeated 48 hours after the first SAH. TNF- $\alpha$  and IL-6 levels were quantified in the serum before the rats had been sacrificed. The rats were sacrificed 72 hours after SAH and morphometrical studies were made by light microscope. A beta-2 adrenoceptor agonist, clenbuterol was administered in 0,1 mg/kg/day dose for three days after first SAH.

Significant vasospasm was developed after SAH. When the thin sections of basilar artery were examined morfologically, narrowing of artery lumen and thickened vessel wall were seen in the SAH group. After the treatment of clenbuterol, the basilar artery lumen diameter was significantly increased and the basilar artery wall was thinner than the SAH group. Immunohistochemical study demonstrated that no significant difference was confirmed at the TNF- $\alpha$  and IL-6 levels after SAH. The results of morphometrical and histopathological findings showed that clenbuterol has a therapeutical effect on the cerebral vasospasm after SAH.

## KAYNAKLAR

- 1- Wilkins RH: Update SAH and saccular intracranial aneurysms. Surg Neurol 1981; 12: 92- 102
- 2- Weir B: Intracranial aneurysms and SAH. In Wilkins RH and Rangachary SS (Eds.): Neurosurgery, McGraw Hill Book Comp, New York, 1985; 1308-1329
- 3- Juul R, Frederiksen TA, Ringjob R. Prognosis in subarachnoid hemorrhage of unknown etiology. J Neurosurg 1986; 64: 359-362
- 4- Smith RR, Miller JD: Pathophysiology and clinical evaluation of subarachnoid hemorrhage. In Youmans JR(Ed): Neurological Surgery Vol 3, WB Saunders, Philadelphia 1990; 1644-1660
- 5- Mayberg MR, Batjer HH, Dacey R, Diringer M, Haley EC, Heros RC, Sternau LL, Torner J, Adams HP Jr, Feinberg W: Guidelines for the management to aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Stroke 1994; 25: 2315-2328
- 6- Mocco J, Brad E. Zacharia, Ricardo J. Komotar, E. Sander Connolly JR: A review of current and future medical therapies for cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Neurosurg Focus 2006; 21 (3):E9
- 7- Ingall T, Asplund K, Mahonen M, Bonita R: A multinational comparison of subarachnoid hemorrhage epidemiology in the WHO MONICA stroke study. Stroke 2000; 31:1054-1061
- 8- Hop JW, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J: Case-fatality rates and functional outcome after subarachnoid hemorrhage: a systematic review. Stroke 1997; 28: 660-664
- 9- Broderick JP, Brott TG, Duldner JE, Tomsick T, Leach A: Initial and recurrent bleeding are the major causes of death following subarachnoid hemorrhage. Stroke

1994; 25:1342-1347

10- Salary M, Quigley MR, Wilberger JE Jr. Relation among aneurysm size, amount of subarachnoid blood, and clinical outcome. J Neurosurg. 2007 Jul;107(1):13-7

11- Aksoy K, Palaoğlu S, Pamir N, Tuncer R (Ed): Temel nöroşirürji, Türk Nöroşirürji Derneği yayınları Cilt 1 2005; 441-457

12- Drake CG: Report of World Federation of Neurological Surgeons Committee on a universal subarachnoid hemorrhage grading scala. J Neurosurg 1988; 68:985-986

13- Bederson JB, Levy AL, Ding WH, Kahn R, DiPerna CA, Jenkins AL III, Vallabhajosyula. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. Neurosurgery 1998; 42:352-360

14- Greenberg MS: Handbook of Neurosurgery, Third edition, Lakeland, Florida, Greenberg Graphics Inc, 1994:711-752

15- Keyrouz SG, Diringier MN Clinical review: Prevention and therapy of vasospasm in subarachnoid hemorrhage Crit Care. 2007 Aug 14;11(4):220

16- Biller J, Godersky JC, Adams HP Jr: Management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Stroke 1988; 19:1300-1305

17- Treggiari-Venzi MM, Suter PM, Romand JA: Review of medical prevention of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a problem of neurointensive care. Neurosurgery 2001; 48:249-262

18- Heros RC, Zervas NT, Varsos V. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: an update. AnnNeurol. 1983; 14:599-608

19- Liu-Deryke X, Rhoney DH. Cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an overview of pharmacologic management. Pharmacotherapy 2006

Feb; 26(2):182-203

20- 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; 37:1586-1591

21- Powers WJ, Grubb RL Jr, Baker Rp, Mintun MA, Raichle ME: Regional cerebral blood flow and metabolism in reversible ischemia due to vasospasm: Determination by positron emission tomography. *J Neurosurg* 1985; 62: 539-546

22- Yonas H: Cerebral blood measurements in vasospasm. *Neurosurg Clin North Am* 1990; 1:307-318

23- Ecker A, Reimenschneider Pa, Arteriographic demonstration of spasm of the intracranial arteries with special references to saccular aneurysms. *J Neurosurgery* 1951; 8:660-667

24- Dorsch NWC: Incidence, effects and treatment of ischemia following aneurysm rupture. Sano K, Takakura K, Kassell NF and Sasaki T (eds), *Cerebral vasospasm*, Tokyo: Univ. Of Tokyo Press, 1990; 495-498

25- Barker FG, Heros RC: Clinical aspects of vasospasm. *Neurosurgery Clinics of North America* 1990, 1,2:277-287

26- Kassell NF, Sasaki T, Colohan AR, Nazar G: Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1985; 16: 562-572

27- Sundt TM Jr, Kobayashi S, Fode NC, Whisnant JP: Results and complications of surgical management of 809 intracranial aneurysms in 722 cases. Related and unrelated to grade of patient, type of aneurysm, and timing of surgery. *J Neurosurg* 1982; 56: 753-765

- 28- Rosenfeld JV, Barnett GH, Sila CA, Little JR, Bravo EL, Beck GJ: The effect of subarachnoidal hemorrhage on blood and CSF arterial natriuretic factor. *J Neurosurg* 1989;71: 32-37
- 29- Nagai H, Suzuki Y, Sugiura M, Noda S, Mabe H. Experimental cerebral vasospasm: Part I. Factors contributing to early spasm. *J Neurosurg* 1997;41:285-292
- 30- Cook DA. Mechanisms of cerebral vasospasm in subarachnoid haemorrhage. *Pharmacol Ther* 1995; 66:259-284
- 31- Sanguinetti MC, Scott AL, Zingaro GJ, Siegl PK. BRL34915 ( cromakalim ) activates ATP-sensitive K current in cardiac muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:8360-8364
- 32- Sundt TM Jr, Whisnant JP. Subarachnoid hemorrhage from intracranial aneurysms. Surgical management and natural history of disease. *N Engl J Med* 1978; 299:116-122
- 33- Niizuma H, Kwak R, Otabe K, Suzuki J: Angiography study of cerebral vasospasm following the rupture of intracranial aneurysms: Part II: Relation between the site of aneurysm and the occurrence of the vasospasm. *Surg. Neurol* 1979; 11: 263-267
- 34- Auer LM, Schneider GH, Auer T: Computerized tomography and prognosis in early aneurysm surgery. *J Neurosurg* 1986; 65: 217-221
- 35- Pasqualin A, Rosta L, Da Pian R, Cavazzani P, Scienza R: Role of computed tomography in the management of vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg* 1984; 15: 344-353
- 36- Mizukami M, Takemae T, Tazawa T, Kawase T, Matsuzaki T: Value of computed tomography in prediction of cerebral vasospasm after aneurysm rupture. *Neurosurgery* 1980: 7:583-586

- 37- Newell DW, Eskridge JM, Mayberg MR, Grady MS, Winn HR. Angioplasty for the treatment of symptomatic vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1989; 71:654-660
- 38- Fisher CM, Kistler JP, Davis JM: Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computer tomographic scanning. *Neurosurgery* 1980; 6: 1-9
- 39- Taneda M. Effect of early operation for ruptured aneurysms on prevention of late ischemic symptoms. *J. Neurosurg* 1982; 57:622-628
- 40- Mizoi K, Yoshimoto T, Fujiwara S, Sugawara T, Takahashi A, Kosu K. Prevention of vasospasm by clot removal and intrathecal bolus injection of tissue-type plasminogen activator: Preliminary report. *Neurosurgery* 1991; 28: 807-813
- 41- Seifert V, Stolke D, Zimmermann M, Feldges A: Prevention of delayed ischemic deficits after aneurysmal subarachnoid hemorrhage by intrathecal bolus injection of tissue plasminogen activator. *Acta Neurochir* 1994; 128: 137-143
- 42- Leblanc R: Clinical and experimental investigations of aneurysmal SAH. *Cur Opin Neurol Neurosurg* 1991; 4:65-70
- 43- Pluta RM, Afshar JK, Boock RJ, Oldfield EH. Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and methemoglobin after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1998; 88:557-561
- 44- Weir B, Stoodley M, Macdonald R. Etiology of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir* 1999; 72:27-42
- 45 -Tahta K, Caner H, Özcan OE, Özgen T, Atasever A: Effect of deferoxamine on blood-brain disturbance following subarachnoid hemorrhage in cats . *Turkish Neurosurg* 1991; 2:60-63

- 46- Schmidley JW: Free radicals in central nervous system ischemia. Stroke 1990; 21: 1086-1089
- 47- Lee KH, Lukovits T, Friedman JA. "Triple-H" therapy for cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. Neurocrit Care 2006; 4(1):68-76
- 48- Kassell NF, Helm G, Simmons N, Phillips CD, Cail WS: Treatment of cerebral vasospasm with intra-arterial papaverine: J Neurosurg 1992; 77:848-852
- 49- Origitano TC, Wascher TM, Reichmann OH, Anderson DE. Sustained increased cerebral blood flow with prophylactic hypertensive hypervolemic hemodilution ("Triple-H" therapy) after subarachnoid hemorrhage. Neurosurgery 1990; 27:729-740
- 50- Romner B, Reinstrup P: Triple H therapy after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A review. Acta Neurochir Suppl 2001; 77:237-241
- 51- Awad IA, Carter LP, Spetzler RF, Medina M, Williams FC Jr. Clinical vasospasm after subarachnoid hemorrhage: response to hypervolemic hemodilution and arterial hypertension. Stroke 1987; 18:365-372
- 52- Muizelaar JP, Becker DP. Induced hypertension for the treatment of cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage: direct effect on cerebral blood flow. Surg Neurol 1986; 25:317-325
- 53- Dorsch NWC: A review of cerebral vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Part 2: Management. J Clin Neurosci 1994; 1: 78-92
- 54- Solomon RA, Fink ME, Lennihan L: Prophylactic volume expansion therapy for the prevention of delayed cerebral ischemia after early aneurysm surgery. Results of a preliminary trial. Arch Neurol 1988; 45:325-332



- 55- Treggiari MM, Walder B, Suter PM, Romand JA: Systematic review of the prevention of delayed ischemic neurological deficits with hypertension, hypervolemia, and hemodilution therapy following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2003; 98:978-984
- 56- Levy M, Giannotta S. Cardiac performance indices during hypervolemic therapy for cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 1991; 75:27-31
- 57- Solenski NJ, Haley EC Jr, Kassell NF, Kongable G, Germanson T, Truskowski L, Torner JC: Medical complications of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a report of the multicenter, cooperative aneurysm study. Participants of the Multicenter Cooperative Aneurysm Study. *Crit Care Med* 1995; 23:1007-1017
- 58- Donhout, Rinkel G, Feigin V, Algra A, van den Bergh W, Vermeulen M, van Gijn J. Calcium antagonists for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* 2007. Jul 18;(3):CD000277
- 59- Auer L. Acute operation and preventive nimodipine improve outcome in patients with ruptured cerebral aneurysms. *Neurosurgery* 1984; 15:57-66
- 60- Gilsbach JM, Harders AG. Morbidity and mortality after early aneurysm surgery: a prospective study with nimodipine prevention. *Acta Neurochir (Wien)*. 1989; 96:1-7
- 61- Gilsbach J, Reulen H, Ljunggren B. Early aneurysm surgery and preventive therapy with intravenously administered nimodipine: a multicenter, double-blind, dose-comparison study. *Neurosurgery* 1990; 26:458-464
- 62- Pickard JD, Murray GD, Illingworth R, Shaw MD, Teasdale GM, Foy PM, Humphrey PR, Lang DA, Nelson R, Richards P: Effect of oral nimodipine on cerebral infarction and outcome after subarachnoid haemorrhage: British aneurysm nimodipine trial. *Br Med J*. 1989; 298:636-642

- 63- Ailen G, Ahn H, Preziosi T. Cerebral arterial spasm: a controlled trial of nimodipine in patients with subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med* 1983; 308:619-624
- 64- Petruk KC, West M, Mohr G. Nimodipine treatment in poor-grade aneurysm patients: results of a multicenter double-blind placebo-controlled trial. *J Neurosurg* 1988; 68:505-517
- 65- Karinen P, Koivukangas P, Ohinmaa A, Koivukangas J, Ohman J: Cost-effectiveness analysis of nimodipine treatment after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and surgery. *Neurosurgery* 1999; 45:780-785
- 66- Tettenbom D, Dycka J: Prevention and treatment of delayed ischemic dysfunction in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1990; 21 (Suppl 4):85-89
- 67- Barker FG II, Ogilvy CS: Efficacy of prophylactic nimodipine for delayed ischemic deficit after subarachnoid hemorrhage: a metaanalysis. *J Neurosurg* 1996; 84:405-414
- 68- Haley EC, Kassell NF, Torner JC. A randomized controlled trial of high-dose intravenous nicardipine in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a report of the Cooperative Aneurysm Study. *J Neurosurg.* 1993; 78:537-547
- 69- Haley 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. *J Neurosurg.* 1993; 78:548-553
- 70- Rinkel GJ, Feigin VL, Algra A, van den Bergh WM, Vermeulen M, van Gijn J: Calcium antagonists for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev*: 2005 CD000277

- 71- Wong GK, Chan MT, Poon WS, Boet R, Gin T: Magnesium therapy within 48 hours of an aneurysmal subarachnoid hemorrhage: neuro-panacea. *Neurol Res* 2006; 28:431-435
- 72- Macdonald RL, Curry DJ, Aihara Y, Zhang ZD, Jahromi BS, Yassari R: Magnesium and experimental vasospasm. *J Neurosurg* 2004; 100:106-110
- 73- Veyna RS, Seyfried D, Burke DG, Zimmerman C, Mlynarek M, Nichols V, Marrocco A, Thomas AJ, Mitsias PD, Malik GM: Magnesium sulfate therapy after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2002; 96:510-514
- 74- van den Bergh WM, Algra A, van Kooten F, Dirven CM, van Gijn J, Vermeulen M, Rinkel GJ: MASH Study Group. Magnesium sulfate in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a randomized controlled trial. *Stroke* 2005; 36:1011-1015
- 75- Prevedello DM, Cordeiro JG, de Moraes AL, Saucedo NS Jr, Chen IB, Araujo JC: Magnesium sulfate: role as possible attenuating factor in vasospasm morbidity. *Surg Neurol* 2006; 65 Suppl 1:S14-1:20
- 76- Clatterbuck RE, Gailloud P, Ogata L, Gebremariam A, Dietsch GN, Murphy KJ, Tamargo RJ: Prevention of cerebral vasospasm by a humanized anti-CD11/CD18 monoclonal antibody administered after experimental subarachnoid hemorrhage in nonhuman primates. *J Neurosurg* 2003; 99:376-382
- 77- Mocco J, Mack WJ, Kim GH, Lozier AP, Laufer I, Kreiter KT, Sciacca RR, Solomon RA, Mayer SA, Connolly ES Jr. : Rise in serum soluble intercellular adhesion molecule-1 levels with vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2002; 97:537-541
- 78- Sercombe R, Dinh YR, Gomis P: Cerebrovascular inflammation following subarachnoid hemorrhage. *Jpn J Pharmacol* 2002; 88:227-249

79- Bavbek M, Polin R, Kwan AL, Arthur AS, Kassell NF, Lee KS: Monoclonal antibodies against ICAM-1 and CD18 attenuate cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Stroke* 1998; 29:1930-1935

80- Mack WJ, Mocco J, Hoh DJ, Huang J, Choudhri TF, Kreiter KT, Lozier A, Opperman M, Poisik A, Yorgason J, Solomon RA, Mayer SA, Connolly ES: Outcome prediction with serum intercellular adhesion molecule-1 levels after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2002; 96:71-75

81- Kaynar MY, Tanriverdi T, Kafadar AM, Kacira T, Uzun H, Aydin S, Gumustas K, Dirican A, Kaday C: 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. *J Neurosurg* 2004; 101:1030-1036

82- Rothoerl RD, Schebesch KM, Kubitzka M, Woertgen C, Brawanski A, Pina AL: ICAM-1 and VCAM-1 expression following aneurysmal subarachnoid hemorrhage and their possible role in the pathophysiology of subsequent ischemic deficits. *Cerebrovasc Dis* 2006; 22:143-149

83- Egemen N, Turker RK, Sanlidilek U, Zorlutuna A, Bilgiç S, Başkaya M, Unlü A, Caglar S, Spetzler RF, McCormick JM: The effect of intrathecal sodium nitroprusside on severe chronic vasospasm. *Neurol Res* 1993; 15: 310-315

84- Pradilla G, Wang PP, Legnani FG, Ogata L, Dietsch GN, Tamargo RJ: Prevention of vasospasm by anti-CD11/CD18 monoclonal antibody therapy following subarachnoid hemorrhage in rabbits. *J Neurosurg* 2004; 101:88-92

85- Frazier JL, Pradilla G, Wang PP, Tamargo RJ: Inhibition of cerebral vasospasm by intracranial delivery of ibuprofen from a controlled-release polymer in a rabbit model of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2004; 101:93-98

86- Lin CL, Dumont AS, Calisaneller T, Kwan AL, Hwong SL, Lee KS: Monoclonal antibody against E selectin attenuates subarachnoid hemorrhage-induced cerebral

vasospasm. *Surg Neurol* 2005; 64:201-206

87- Chyatte D, Fode NC, Nichols DA, Sundt TM Jr: Preliminary report: effects of high dose methylprednisolone on delayed cerebral ischemia in patients at high risk for vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1987; 21: 157-160

88- Manno EM, Gress DR, Ogilvy CS, Stone CM, Zervas NT: The safety and efficacy of cyclosporine A in the prevention of vasospasm in patients with Fisher grade 3 subarachnoid hemorrhages: a pilot study. *Neurosurgery* 1997; 40:289-293

89- Faraci FM: Role of nitric oxide in regulation of basilar artery tone in vivo. *Am J Physiol* 1990; 259:H1216-1221

90- Gabikian P, Clatterbuck RE, Eberhart CG, Tyler BM, Tierney TS, Tamargo RJ: Prevention of experimental cerebral vasospasm by intracranial delivery of a nitric oxide donor from a controlled-release polymer: toxicity and efficacy studies in rabbits and rats. *Stroke* 2002; 33:2681-2686

91- Ignarro LJ: Biosynthesis and metabolism of endothelium derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1990; 30:535-560

92- Pluta RM, Thompson BG, Dawson TM, Snyder SH, Boock RJ, Oldfield EH: Loss of nitric oxide synthase immunoreactivity in cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 1996; 84:648-654

93- Thomas JE, Nemirovsky A, Zelman V, Giannotta SL: Rapid reversal of endothelin-1-induced cerebral vasoconstriction by intrathecal administration of nitric oxide donors. *Neurosurgery* 1997; 40:1245-1249

94- Pradilla G, Thai QA, Legnani FG, Hsu W, Kretzer RM, Wang PP, Tamargo RJ: Delayed intracranial delivery of a nitric oxide donor from a controlled-release polymer prevents experimental cerebral vasospasm in rabbits. *Neurosurgery* 2004,

55:1393-1400

95- Thomas JE, Rosenwasser RH, Armonda RA, Harrop J, Mitchell W, Galaria I: Safety of intrathecal sodium nitroprusside for the treatment and prevention of refractory cerebral vasospasm and ischemia in humans. *Stroke* 1999; 30:1409-1416

96- Pluta RM, Dejam A, Grimes G, Gladwin MT, Oldfield EH: Nitrite infusions to prevent delayed cerebral vasospasm in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *JAMA* 2005; 293: 1477-1484

97- Juvela S: Plasma endothelin concentrations after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2000; 92:390-400

98- Suzuki K, Meguro K, Sakurai T, Saitoh Y, Takeuchi S, Nose T: Endothelin-1 concentration increases in the cerebrospinal fluid in cerebral vasospasm caused by subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol* 2000; 53:131-135

99- Nilsson T, Cantera L, Adner M, Edvinsson L: Presence of contractile endothelin-A and dilatory endothelin-B receptors in human cerebral arteries. *Neurosurgery* 1997; 40:346-353

100- Fujimori, A, Yanagisawa M, Saito A: Endothelin in plasma and cerebrospinal fluid of patients with SAH. *The Lancet*, 1990; 336: 633

101- Cırak B, Kiyamaz N, Ari HH, Ugras S. The effects of endothelin antagonist BQ-610 on cerebral vascular wall following experimental subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm. *Clin Auton Res*. 2004 Jun;14(3):197-201

102- Vajkoczy P, Meyer B, Weidauer S, Raebe A, Thome C, Ringel F, Breu V, Schmiedek P: Clazosentan (AXV-034343), a selective endothelin A receptor antagonist, in the prevention of cerebral vasospasm following severe aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter phase IIa study. *J Neurosurg* 2005; 103:9-17

103- Barth M, Capelle HH, Münch E, Thomé C, Fiedler F, Schmiedek P, Vajkoczy P. Effects of the selective endothelin A (ET(A)) receptor antagonist Clazosentan on cerebral perfusion and cerebral oxygenation following severe subarachnoid hemorrhage - preliminary results from a randomized clinical series. *Acta Neurochir (Wien)*.2007;149(9):911-8

104- Tseng MY, 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; 36:1627-1632

105- Lynch JR, Wang H, McGirt MJ, Floyd J, Friedman AH, Coon AL, Blessing R, Alexander MJ, Graffagnino C, Warner DS, Laskowitz DT: Simvastatin reduces vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of a pilot randomized clinical trial. *Stroke* 2005; 36:2024-2026

106- Parra A, Kreiter KT, Williams S, Sciacca R, Mack WJ, Naidech AM, Commichau CS, Fitzsimmons BF, Janjua N, Mayer SA, Connolly ES Jr. : Effect of prior statin use on functional outcome and delayed vasospasm after acute aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a matched controlled cohort study. *Neurosurgery* 2005; 56:476-484

107- Asano T, Takakura K, Sano K, Kikuchi H, Nagai H, Saito I, Tamura A, Ochiai C, Sasaki T: Effects of a hydroxyl radical scavenger on delayed ischemic neurological deficits following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of a multicenter, placebo-controlled double-blind trial. *J Neurosurg* 1996 May, 84:792-803

108- Haley EC Jr, Kassell NF, Alves WM, Weir BK, Hansen CA: Phase II trial of trilazad in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A report of the Cooperative Aneurysm Study. *J Neurosurg* 1995; 82:786-790

109- Marshall JW, Cummings RM, Bowes LJ, Ridley RM, Green AR: Functional and histological evidence for the protective effect of NXY-059 in a primate model of stroke when given 4 hours after occlusion. *Stroke* 2003; 34:2228-2233

110- Bejjani GK, Bank WO, Olan WJ, Sekhar L: The efficacy and safety of angioplasty for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1998, 42: 979-982

111- Eskridge JM, McAuliffe W, Song JK, Mayberg MR, Winn HR: Balloon angioplasty for the treatment of vasospasm: Results of first 50 cases. *Neurosurgery* 1998; 42: 510-516

112- Kassell NF, Helm G, Simmons N, Phillips CD, Cail WS. Treatment of cerebral vasospasm with intra-arterial papaverine. *J Neurosurg* 1992; 77:848-852

113- Milburn JM, Moran CJ, Cross DT, Diringner MN, Pilgram TK, Dacey RG: Increase in diameters of vasospastic intracranial arteries by intraarterial papaverine administration. *J Neurosurg* 1998; 88: 38-42

114- Yeğın O. Temel immünoloji ve immün eksiklik hastalıkları. Antalya Akdeniz Üniversitesi Basımevi. 1992; 87-110

115- Dumont AS, Dumont RJ, Chow MM, Lin CL, Calisaneller T, Ley KF, Kassell NF, Lee KS. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery*. 2003 Jul;53(1):123-35

116- Christman JW, Blackwell TS, Juurlink BH. Redox regulation of nuclear factor kappa B: therapeutic potential for attenuating inflammatory responses. *Brain Pathol*. 2000 Jan;10(1):153-62

117- Zhou ML, Shi JX, Hang CH, Cheng HL, Qi XP, Mao L, Chen KF, Yin HX. Potential contribution of nuclear factor-kappaB to cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007



Sep;27(9):1583-92

118- Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, Bertsch T, Schmeck J, Schütt S, Fritzing M, Horn P, Vajkoczy P, Kreisel S, Brunner J, Schmiedek P, Hennerici M. Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001 Apr;70(4):534-7

119- Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, Bertsch T, Schmeck J, Schütt S, Fritzing M, Horn P, Vajkoczy P, Wendel-Wellner M, Ragoschke A, Kuehl S, Brunner J, Schürer L, Schmiedek P, Hennerici M. Endothelin-1 in subarachnoid hemorrhage: An acute-phase reactant produced by cerebrospinal fluid leukocytes. *Stroke*. 2000 Dec;31(12):2971-5

120- Osuka K, Suzuki Y, Tanazawa T, Hattori K, Yamamoto N, Takayasu M, Shibuya M, Yoshida J. Interleukin-6 and development of vasospasm after subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)*. 1998; 140(9):943-51

121- Hirashima Y, Nakamura S, Endo S, Kuwayama N, Naruse Y, Takaku A. Elevation of platelet activating factor, inflammatory cytokines, and coagulation factors in the internal jugular vein of patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurochem Res*. 1997 Oct;22(10):1249-55

122- Kikuchi T, Okuda Y, Kaito N, Abe T. Cytokine production in cerebrospinal fluid after subarachnoid haemorrhage. *Neurol Res*. 1995 Apr;17(2):106-8

123- Mathiesen T, Andersson B, Loftenius A, von Holst H. Increased interleukin-6 levels in cerebrospinal fluid following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1993 Apr;78(4):562-7

124- Kingston R, Ordsmith N, Williams E, Thieme D. An improved method for clenbuterol screening using high resolution selected ion recording. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 1995; 9 (14): 1395-9

- 125- Doerge D, Basij S, Lowes S. Analysis of clenbuterol using APCI LC/MS. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 1993 Jun;7(6):462-4.
- 126- De Boer D, Van Beek M, Bekkers CHJ, Maes RAA: The detection of the administration of salmeterol in urine after inhalation, proceedings of the Manfred Donike Workshop 14<sup>th</sup> Cologne Workshop on Dope analysis, 1997; 357-363
- 127- The Merck Index, An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals, 11<sup>th</sup> Ed, Merck and Co Inc, Rahway NJ USA, 1989
- 128- Marin J, Balfagon G. Effect of clenbuterol on non-endothelial nitric oxide release in rat mesenteric arteries and the involvement of beta-adrenoceptors. *Br J Pharmacol.* 1998 Jun;124(3):473-8
- 129- Li YJ, Duckles SP. Effect of endothelium on the actions of sympathetic and sensory nerves in the perfused rat mesentery. *Eur J Pharmacol.* 1992 Jan 7;210(1):23-30
- 130- Kazanietz MG, Gutkind JS, Enero MA. Interaction between beta 2- and alpha 2-adrenoceptor responses in the vascular system: effect of clenbuterol. *Eur J Pharmacol.* 1986 Oct 14;130(1-2):119-24
- 131- Kazanietz MG, Gutkind JS, Puyo A, Armando I, Enero MA. Further evidence of interaction between vasodilator beta 2- and vasoconstrictor alpha 2-adrenoceptor-mediated responses in maintaining vascular tone in anesthetized rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1989 Dec;14(6):874-80
- 132- Belloli C, Badino P, Arioli F, Odore R, Re G. Adrenergic regulation of vascular smooth muscle tone in calf digital artery. *J Vet Pharmacol Ther.* 2004 Aug;27(4):247-54
- 133- Yoshimura T, Kurita C, Nagao T, Usami E, Nakao T, Watanabe S, Kobayashi J, Yamazaki F, Tanaka H, Inagaki N, Nagai H. Inhibition of tumor necrosis factor-

alpha and interleukin-1-beta production by beta-adrenoceptor agonists from lipopolysaccharide-stimulated human peripheral blood mononuclear cells. *Pharmacology*. 1997 Mar;54(3):144-52

134- Nakamura A, Johns EJ, Imaizumi A, Yanagawa Y, Kohsaka T. beta(2)-adrenoceptor agonist suppresses renal tumour necrosis factor and enhances interleukin-6 gene expression induced by endotoxin. *Nephrol Dial Transplant*. 2000 Dec;15(12):1928-34

135- Laan, Bull S, van Nieuwstadt RA, Fink-Gremmels J. The effect of aerosolized and intravenously administered clenbuterol and aerosolized fluticasone propionate on horses challenged with *Aspergillus fumigatus* antigen. *VetResCommun*. 2006 Aug;30(6):623-35

136- Teng YD, Choi H, Huang W, Onario RC, Frontera WR, Snyder EY, Sabharwal S. Therapeutic effects of clenbuterol in a murine model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci Lett*. 2006 Apr 10-17;397(1-2):155-8

137- Puls I, Beck M, Giess R, Magnus T, Ochs G, Toyka KV. Clenbuterol in amyotrophic lateral sclerosis. No indication for a positive effect. *Nervenarzt*. 1999 Dec;70(12):1112-5

138- Zeman, Peng H, Feng Y, Song H, Liu X, Etlinger JD. Beta2-adrenoreceptor agonist-enhanced recovery of locomotor function after spinal cord injury is glutathione dependent. *J Neurotrauma*. 2006 Feb;23(2):170-80

139- Edwards DJ, Sorisio DA, Knopf S. Effects of the beta 2-adrenoceptor agonist clenbuterol on tyrosine and tryptophan in plasma and brain of the rat. *Biochem Pharmacol*. 1989 Sep 15;38(18):2957-65

140- Polettini A: Bioanalysis of  $\beta_2$ -agonist by hyphenated chromatographic and mass spectrometric techniques, *J Chromatogr* : 1996; 687, 27-42

141- Xu Y, Shen L, Liu X, Zhang C: Analytical and metabolic study of clenbuterol in human and rat's urine, Proceedings of the 11<sup>th</sup> Cologne Workshop on Dope, March 1994

142- Botterblom MHA, Feenstra MGP, Erdsleck Ernste EBHW, Determination of propranolol, labetalol and clenbuterol in rat brain by high performance liquid Chromatography. J Chromatogr 1993; 613, 121-126

143- Pollettini A, Ricossa MC, Groppi A, Montagna M: Determination of clenbuterol in urine as cyclic boronate derivate by gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr 1991; 564, 529-535

144- Editorial Muscling in on clenbuterol. Lancet. 1992 Aug 15; 340-403

145- Collins S, O'Keeffe M: Multiresidue analysis for Beta-Agonists in urine and liver samples using mixed phase radioimmunoassay, Analyst 1994; 119, 2671-2674

146- Pulce C, Lamaison D, Keck G, Costvirannois C, Nicolas J, Descotes J: Collective human poisonings by clenbuterol residues in Veal liver, Vet. Hum. Toxicol 1991; 33(5), 480-481

147- Longo M, Blandino A, Ascenti G, Ricciardi GK, Granata F, Vinci S. Cerebral angiography in the rat with mammographic equipment: a simple, cost-effective method for assessing vasospasm in experimental subarachnoid haemorrhage. Neuroradiology. 2002 Aug;44(8):689-94

148- Offerhaus L, van Gool J. Electrocardiographic changes and tissue catecholamines in experimental subarachnoid haemorrhage. Cardiovasc Res. 1969 Oct;3(4):433-40

149- Solomon RA, Antunes JL, Chen RY, Bland L, Chien S. Decrease in cerebral blood flow in rats after experimental subarachnoid hemorrhage: a new animal model. Stroke 1985, 16(1):58-64

150- Cuevas P, Carceller F, Nieto I, Giménez-Gallego G. Spasmolytic effect of acidic fibroblast growth factor in early cerebral vasospasm in the rat. *Surg Neurol.* 1998 Feb;49(2):176-80

151- Megyesi JF, Vollrath B, Cook DA, Findlay JM. In vivo animal models of cerebral vasospasm: a review. *Neurosurgery.* 2000 Feb;46(2):448-61

152- Vatter H, Weidauer S, Konczalla J, Dettmann E, Zimmermann M, Raabe A, Preibisch C, Zanella FE, Seifert V. Time course in the development of cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage: clinical and neuroradiological assessment of the rat double hemorrhage model. *Neurosurgery.* 2006 Jun;58(6):1190-7

153- Delgado TJ, Brismar J, Svendgaard NA. Subarachnoid haemorrhage in the rat: angiography and fluorescence microscopy of the major cerebral arteries. *Stroke* 1985; 16(4):595-602

154- Mayberg MR, Okada T, Bark DH. The significance of morphological changes in cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1990; 72(4):626-33

155- Mayberg MR, Okada T, Bark DH. The role of hemoglobin in arterial narrowing after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1990; 72(4):634-40

156- Findlay JM, Weir BK, Kanamaru K, Espinosa F. Arterial wall changes in cerebral vasospasm. *Neurosurgery.* 1989; Nov;25(5):736-46

157- Verlooy J, Van Reempts J, Haseldonckx M, Borgers M, Selosse P. The course of vasospasm following subarachnoid haemorrhage in rats. A vertebrobasilar angiographic study. *Acta Neurochir (Wien).* 1992; 117(1-2):48-52

158- Weidauer S, Vatter H, Dettmann E, Seifert V, Zanella FE. Assessment of vasospasm in experimental subarachnoid hemorrhage in rats by selective biplane digital subtraction angiography. *Neuroradiology.* 2006; 48(3):176-81

159- Boullin DJ, Aitken V, du Boulay GH, Tagari P. The calibre of cerebral arteries of the rat studied by carotid angiography: a model system for studying the aetiology of human cerebral arterial constriction after aneurysmal rupture. *Neuroradiology*. 1981; 21(5):245-52

160- Nam DH, Kim JS, Hong SC, Lee WH, Lee JI, Shin HJ, Park K, Eoh W, Han DH, Kim JH. Expression of interleukin-1 beta in lipopolysaccharide stimulated monocytes derived from patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage is correlated with cerebral vasospasm. *Neurosci Lett*. 2001 Oct 12;312(1):41-4

161- Tanazawa T, Suzuki Y, Anzai M, Tsugane S, Takayasu M, Shibuya M. Vasodilation by intrathecal lipopolysaccharide of the cerebral arteries after subarachnoid haemorrhage in dogs. *Acta Neurochir (Wien)*. 1996; 138(3):330-7

162- Mathiesen T, Edner G, Ulfarsson E, Andersson B. Cerebrospinal fluid interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor-alpha following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1997 Aug;87(2):215-20

163- Sercombe R, Dinh YR, Gomis P. Cerebrovascular inflammation following subarachnoid hemorrhage. *Jpn J Pharmacol*. 2002 Mar;88(3):227-49