

**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMADA**  
**TADALAFİL'İN SEREBRAL VAZOSPAZMA ETKİSİ**

**Dr. İsmail Evren HANCIOĞLU**

**Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR**  
**2011**



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMADA  
TADALAFİL'İN SEREBRAL VAZOSPAZMA ETKİSİ**

**Dr. İsmail Evren HANCIOĞLU**

**Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI  
Prof. Dr. T. Erhan COŞAN**

**ESKİŞEHİR  
2011**

**TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI**

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. İsmail Evren HANCIOĞLU'na ait "DeneySEL subaraknoid kanamada tadalafil'in serebral vazospazma etkisi" adlı çalışma jürimiz tarafından Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Metin Ant ATASOY Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Üye	Prof. Dr. T. Erhan COŞAN Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Üye	Prof. Dr. Ali ARSLANTAŞ Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun .... / .... / .....  
Tarih ve ..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Necmi ATA  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, yetişmemde büyük emekleri olan başta tez danışmanım sayın Prof. Dr. T. Erhan COŞAN olmak üzere sayın hocalarım Prof. Dr. Metin Ant ATASOY' a, Prof. Dr. Ramazan DURMAZ'a , Prof. Dr. Ali ARSLANTAŞ'a ve Doç. Dr. Murat VURAL'a; tez çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalından Yrd.Doç. Dr. Didem COŞAN'a ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından Yrd.Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Hancıoğlu, İ.E. Deneysel Subaraknoid Kanamada Tadalafil'in Serebral Vazospazma Etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2011.** Serebral vazospazm, kanla dolu subaraknoid mesafedeki büyük arterlerin, belirgin daralması ve takiben beyin iskemisi sonucu geç başlayan nörolojik kayıpla karakterize patolojik olaylar zinciridir. Serebral vazospazm günümüzde subaraknoid kanama sonrası mortalite ve morbiditeyi etkileyen en önemli faktördür. Hemoglobun yıkımı sonrasında oluşan oksihemoglobinin, methemoglobine oksidasyonu sırasında ortaya çıkan, süperoksit anyon radikallerinin güçlü bir vazodilatör olan nitrik oksiti nötürlemesiyle vazospazm oluştuğu düşünülmektedir. cGMP hidrolizini sağlayan fosfodiesterazların, inhibisyonunun vazodilatasyona neden olabileceği bilinmektedir. Birçok izoenzimi bulunmasına rağmen özellikle PDE-5, cGMP hidrolizinde daha güçlü bir etkiye sahiptir. Tadalafil, c-GMP'yi yıkan PDE-5 enziminin güçlü, selektif ve geri dönüşümlü bir inhibitörüdür. Çalışmamızda, 1.grup kontrol grubu, 2. grup serum fizyolojik grubu, 3. grup subaraknoid kanama oluşturulan grup, 4. grup subaraknoid kanama sonrası tadalafil uygulanan gruptur. Kontrol grubu dışındaki gruplar kendi aralarında 3. ve 7. gün olmak üzere gruplara ayrıldılar. Subaraknoid kanama ratların sisterna magnaları içerisine otolog kuyruk kanınının 48 saat arayla 2 kez enjekte edilmesiyle oluşturulmuş, histojik ve morfolojik olarak baziler arterde vazospazm geliştiği görülmüştür. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Gruplar ışık mikroskobu yardımıyla damar lümen alanı, damar duvar kalınlığı ve damar duvarındaki apoptoza uğramış hücrelerin sayıları karşılaştırılarak yapılmıştır. Çalışmamızda subaraknoid kanama sonrası Tadalafil verilen grupta; damar lümen alanının arttığı, damar duvar kalınlığını azaldığı ve damar duvarındaki apoptozun erken dönemde azalırken, uzun dönemde engellenemediği görülmüştür. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar; Tadalafil'in vazospazmın çözülmesinde veya proflaksisinde faydalı olabileceğini göstermiştir. Sonuçlarımız; bu konuda daha ileri ve ayrıntılı çalışmalar gerektiğini ortaya koymaktadır

Anahtar Kelimeler: subaraknoid kanama, serebral vazospazm, apoptozis, tadalafil

## ABSTRACT

**Hancioglu, I. E. Effects of Tadalafil to Cerebral Vasospasm In Subarachnoid Hemorrhage Models. Eskisehir Osmangazi University School of Medicine Department of Neurosurgery, Speciality in Medicine Thesis, Eskisehir, 2011.**

Cerebral vasospasm is a chain of events which is characterised by constriction of blood-filled arteries in the subarachnoidal space significantly and thus causing brain ischemia and create late onset neurological deficits. Cerebral vasospasm is most important factor that affects mortality and morbidity after a subarachnoid hemorrhage. It is thought that while oxyhemoglobin' -which is formed after hemoglobin molecular destruction- oxidation reaction to methemoglobin occurs, superoxide anionic radicals are created and they neutralize nitric oxide, a potent vasodilator agent and thus vasospasm occurs. It is already known that inhibition of phosphodiesterases that hydrolysis cGMP, could be resulted in vasodilation. Among various isoenzymes especially PDE-5 has more potent effect in cGMP hydrolysis. Tadalafil is a potent, selective and reversible inhibitor of PDE-5 that degradation cGMP. In our study, the first group was control group, the second was saline solution group, the third was subarachnoid hemorrhage group and the forth group was the tadalafil administered after subarachnoid hemorrhage group. Groups except control group, were divided the third day and the seventh day parts. Subarachnoid hemorrhage was created by injecting autologous blood of rats into their cysterna magna 2 times with 48 hours of intervals and vasospasm in the basillary arteries was noted both histologically and morphologically. The difference between groups was analyzed istatistically. Groups were compared by the means of vessel lumen space, vessel wall thickness and the number of apopitotic cells in the vessel wall with help of a microscope. In our study the group which was administered tadalafil after a subarachnoid hemorrhage , it is noted that vessel lumen space increased, vessel wall thickness decreased and the apoptosis in the vessel wall decreased in the early stage but can not be stopped in long period. The results of our study have shown that tadalafil could be effective in resolution and the prophylaxis of vasospasm. Our results have also indicated that future research should be conducted.

**Key words:** subarachnoid hemorrhage, cerebral vasospasm, apoptosis, tadalafil

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Subaraknoid Kanama	5
2.1.1. Tanım	5
2.1.2. İnsidans	5
2.1.3. Risk Faktörleri	6
2.1.4. Etiyoloji	6
2.1.5. Semptomlar	9
2.1.6. Komplikasyonlar	10
2.1.7. Tanı	11
2.1.8. Ayırıcı Tanı	13
2.1.9. Evreleme	14
2.1.10. Tedavi	15
2.1.11. Takip ve Monitörizasyon	16
2.2. Serebral Vazospazm	17
2.2.1. Tanım	17
2.2.2. İnsidans	17
2.2.3. Klinik Özellikler	18
2.2.4. Tanı Metodları	19
2.2.5. Patofizyoloji	20
2.2.6. Tedavi	26
2.3. Apoptozis	28



	Sayfa
2.4. Tadalafil	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
4. BULGULAR	45
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR	62

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ACoA	Anterior Komunican Arter
ADH	Antidiüretik Hormon
ADP	Adenozin Difosfat
ATP	Adenozin Trifosfat
AIF	Apoptosis Inducing Factor
ASA	Anterior Serebral Arter
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BT	Bilgisayarlı Tomografi
Bcl-2	B Hücre Lenfosit/Lösemi- 2
Ca	Kalsiyum
Caspase	Cystein Dependent Aspartate Spesific Proteases
cGMP	Siklik Guanil Monofosfat
CYP	Sitokrom P450
DI	Diabetes İnsipidus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSA	Dijital Substraksiyon Anjiyografisi
EDRF	Endotelyal Kaynaklı Relaksasyon Faktörleri
EDCF	Endotelyal Kaynaklı Konstriktör Faktörler
EDHF	Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksid Sentaz
ET	Endotelin
GS	Guanilat Siklaz
LP	Lomber Ponksiyon
MRG	Magnetik Rezonans Görüntüleme
MLC	Miyozin light chain
MLCK	Miyozin light chain kinase
µm	Micronmetre
NO	Nitrik oksit
OSA	Orta Serebral Arter
PBS	Fosfat Tampon Solusyonu

PDE	Fosfodiesteraz
PET CT	Positron Emisyon Tomografi
PKC	Protein Kinaz C
SAK	Subaraknoid Kanama
SPECT	Single Photon Emission Tomografi
SD	Standart Sapma
SF	Serum Fizyolojik
SV	Serebral Vazospazm
TCD	Transkranyal Doppler
TICAM	Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
TUNEL	Terminal Deoxynucleotidyl-Transferase-Mediated Deoxyuridin Triphosphate-Biotin Insitu Nick-End Labelling

## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Hücre içi kalsiyum artışı ile vasküler düz kas tonusunun regülasyonu.	21
2.2. Basınç ve gerilime duyarlı kanallardan kalsiyum influksiyonu sonucu oluşan vasküler düz kas kasılması.	21
2.3. Stimülatör ve inhibitör G proteinlerinin aktivasyonu ve sinyal transdüksiyonu ile gelişen reseptör bağımlı mekanizma.	22
2.4. Tadalafil kimyasal formülü	32
3.1. İşlem öncesi verilen pozisyon ve bölge temizliği	39
3.2. Vertikal cilt insizyonu sonrası occipito-servikal diseksiyon	39
3.3. İşlem öncesi otolog kuyruk kanı alınması	40
3.4. Atlanto-occipital membrandan sisterna magna ya otolog kan enjeksiyonu	40
3.5. Perfüzyon-fiksasyon için verilen pozisyon	41
3.6. Perfüzyon-fiksasyon için yapılan torakotomi	41
3.7. Kalbin sağ auriculasının kesilmesi	41
3.8. Kalbin sol ventrikülüne girilmesi	42
3.9. Formaldehit infüzyonu	42
3.10. Kontrol grubundan alınan beyin dokusu	43
3.11. Subaraknoid kanama oluşturulan grubun beyin dokusu	44
4.1. Normal grup , baziler arter görüntüsü	48
4.2. Serum fizyolojik grubu , baziler arter görüntüsü	48
4.3. Subaraknoid kanama grubu , baziler arter görüntüsü	49
4.4. Subaraknoid kanama + tadalafil grubu , baziler arter görüntüsü	49
4.5. Normal grup , baziler arter görüntüsü (TUNEL)	56
4.6. Subaraknoid kanama grubu , baziler arter görüntüsü(TUNEL)	56
4.7. Serum fizyolojik grubu , baziler arter görüntüsü(TUNEL)	56

**TABLolar**

	Sayfa
4.1. Kontrol grubu	45
4.2. Serum fizyolojik 3.gün grubu	45
4.3. Serum fizyolojik 7.gün grubu	46
4.4. Subaraknoid kanama 3.gün grubu	46
4.5. Subaraknoid kanama 7.gün grubu	46
4.6. Subaraknoid kanama 3.gün + Tadalafil grubu	47
4.7. Subaraknoid kanama 7.gün + Tadalafil grubu	47
4.8. Tüm grupların baziler arter lümen alanına göre istatistik olarak karşılaştırılması	50
4.9. Baziler arter lümen alanına göre grupların karşılaştırılması	51
4.10. Tüm grupların baziler arter duvar kalınlığına göre istatistiksel olarak karşılaştırılması	52
4.11. Baziler arter duvar kalınlığına göre grupların karşılaştırılması	53
4.12. Tüm grupların baziler arterdeki apoptozun istatistiksel olarak karşılaştırılması	54
4. 13. Baziler arter duvarında apoptoza göre grupların karşılaştırılması	55

## 1. GİRİŞ

Beyin, beyincik ve spinal kordun subaraknoid mesafesi içerisine genellikle arteriel, nadiren de diğer nedenlere bağlı olarak oluşan kanamaya subaraknoid kanama (SAK) denilmektedir (1). Subaraknoid kanama'nın görülme sıklığı her 100.000 nüfusta yılda 10 ile 16 arasında değişmektedir (2). Spontan subaraknoid kanamanın en sık nedeni sakküler anevrizmalar iken, olguların yaklaşık %15'inde neden bilinmemektedir (3,4). Subaraknoid kanama, tüm inmelerin yaklaşık %10'u ve tüm serebrovasküler ölümlerin %25'inden sorumludur (5)

Serebral vazospazm ise subaraknoid kanama sonrasında biriken kan ve kan ürünlerinin, bazı kimyasal maddelerle etkileşerek serebral damarlarda oluşturduğu patolojik daralmadır (6,7). Genellikle etkilenen arterin distalinde perfüzyonda azalma ile birlikte dir. Serebral vazospazm subaraknoid kanamalı hastalarda mortalite ve morbiditeyi etkileyen en önemli komplikasyon olarak hala tam anlamıyla çözülememiş ciddi bir durumdur (8,9).

Subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral iskeminin başlıca nedeni serebral vazospazmdır. Serebral vazospazm; subaraknoid kanamanın mortalite ve morbidite açısından en riskli komplikasyonudur (10). Hastaların %12 si medikal tedavi verilemeden önce, %25'i ise 24 saat içinde kaybedilir 1 aylık mortalite %40-50'dir. Olguların %70 kadarında vazospazm anjiyografik olarak görülürken, olguların %25-30'unda semptomatik vazospazm gelişir (11,12,13). Serebral vazospazm bifazik bir süreçtir. Erken vazospazm ilk 3 günde görülür ve kanın ani olarak çevre dokulara baskısıyla oluşan mekanik spazmdır. Geç vazospazm ise 3-5 gün sonra başlar, 6-8. günlerde maksimum olur ve genellikle 2-4. haftalarda düzelir (14,15).

Serebral vazospazmın fizyopatolojisi halen kesin olarak bilinmemektedir. Fakat subaraknoid mesafede biriken kanın serebral vazospazma neden olduğu bilinmektedir. Deneysel çalışmalarda subaraknoid mesafeye enjekte edilen kanın vazospazma neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kan miktarı ne kadar fazlaysa vazospazmında o kadar belirgin olduğu saptanmıştır. Yapılan çok sayıda araştırma subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazmın multifaktöriyel ve komplike bir süreç olduğunu ortaya koymaktadır (16,17). Subaraknoid kanama sonucunda kan elamanları subaraknoid mesafeye birikirler. Eritrosit yıkımıyla oluşan ve güçlü bir vazokonstriktör olan hemoglobinin, subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazmda

ana spazmojen olduğu gösterilmiştir (18,19,20). Hemoglobin yıkımı sonrasında oluşan oksihemoglobinin endotel hücrelerinden prostoglandinlerin salınmasına neden olması ve oksihemoglobinin methemoglobine oksidasyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit anyon radikalının güçlü bir vazodilatör olan nitrik oksiti nötürlemesiyle vazospazm oluştuğu düşünülmektedir (21).

Nitrik oksit, L-arginin ve oksijenden sentezlenen güçlü bir vazodilatördür. Nitrik oksit, guanilat siklazı aktive edip cGMP'yi artırarak vazodilatasyona neden olur. Deneysel subaraknoid kanamada gelişen vazospazm ise nitrik oksit salınımının bozulmuş olduğu gösterilmiştir (22).

Serebral vazospazm için uygun farmakolojik tedavisinin olmaması klinik ve deneysel çalışmaları devam ettirmektedir. Bu çalışmaların amacı, serebral vazospazmın patogenezi ortaya koymak ve etkili tedavi stratejileri geliştirmektir(23).

cGMP hidrolizini sağlayan fosfodiesterazların, inhibisyonunun vazodilatasyona neden olabileceği bilinmektedir. Birçok izoenzimi bulunmasına rağmen özellikle PDE-5, cGMP hidrolizinde daha güçlü bir etkiye sahiptir. Primer olarak erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan üç PDE-5 inhibitörü bulunmaktadır. Bunlar sildenafil, vardenafil ve tadalafil'dir. Tadalafil bu üç ilaç içerisinde PDE-5' i daha güçlü ve uzun süreli olarak inhibe eder(24)

Tadalafil, erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Tadalafil, siklik guanozin monofosfatı (c-GMP) yıkan fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enziminin güçlü, selektif ve geri dönüşümlü bir inhibitörüdür. Nitrik oksit (NO) nonadrenerjik, nonkolinerjik bir nörotransmitter olup, çözünebilir guanil siklazı aktive eder. Bunun sonucu olarak da düz kas relaksasyonuna sebep olan cGMP'nin hücre içi konsantrasyonunu artırır. Birçok dokuda cGMP'nin hidrolitik yıkımından sorumlu olan enzim PDE5 enzimidir. PDE5, korpus kavernozumun düz kasında, damarlara ve iç organlara ait düz kaslarda, trombositlerde, böbreklerde, akciğerde ve beyinde bulunan bir enzimidir (25,26). Vazodilatatör etkileri nedeni ile günümüzde pulmoner hipertansiyon tedavisinde de kullanılmaktadır (27,28,29).

Kim ve arkadaşları PDE-5 in relatif selektif inhibitörü olan zaprinast'ın hücre içi cGMP'yi artırarak vazodilatasyon yaptığını göstermişlerdir (30). Atalay ve arkadaşları da deneysel subaraknoid kanama modelinde sildenafil'in serebral

vazospazmdaki vazodilatatör etkilerini göstermişlerdir(31). Diomed ve arkadaşları yine sildenafil ile yaptıkları deneysel çalışmada PDE-5 inhibitörlerinin subaraknoid kanamanın neden olduğu serebral vazospazmda tedavi amaçlı kullanılabileceğini belirtmişlerdir (32). Zhanga ve arkadaşları ratlarda stroke modelinde tadalafil'in anjiogenes ve nörojenezi arttırdığını ve inme tedavisinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir (33).Etki süresinin uzun olması ve PDE-5'i diğer PDE-5 inhibitörlerine göre daha güçlü inhibe etmesi subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral vazospazmda tadalafil'in faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

Apoptozun hücre ölümüne neden olan önemli bir hücre içi yolak olduğu ve p53 geni tarafından modüle edilen apoptozun inhibe edilmesinin mortalite ve klinik sonuçlar üzerinde olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Otopsi serilerinde arteryel kanamadan uzak bölgelerde de hem damarsal yapılarda hem de kortikal infarkt alanlarında apoptozun ortaya çıktığı gösterilmiştir (34). Subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral vazospazmda apoptoziste artış saptanmıştır. Fakat apoptozis'in serebral vazospazmın bir nedenimi yoksa bir sonucumu olduğu tartışma konusudur (35,36).

Arteriel duvarın incilmesi, hücre migrasyonu, myonekroz, endotelial hücre yıkımı ile gelişen hücre ölümü ve kontraksiyonu vazospazm oluşumuna sebep olmaktadır. İnvitro çalışmalar göstermiştir ki oksihemoglobin endotelial hücrelerde apoptozisi artırır. Endotelial apoptozis sonucu internal lamina kollagenlerinin endotelial ayrışması ile platelet yapışması ve trombus oluşumu kaçınılmaz olarak gözlemlenir. Endotelial hücre hasarı nitrik oksit üretiminde azalmaya neden olarak vasküler tonda balans bozukluğuna neden olur. Bu hasar nedeni ile düz kas hücreleri direkt olarak kandaki vazoaaktif ajanlarla temas eder ve kontraksiyon oluşur. Tüm bunlar vazospazma neden olarak lümeni daraltır. Apoptoziste en önemli ölüm sinyalleri caspase ailesine aittir. Caspase inhibitörleri ile yapılan az sayıda hayvan kaynaklı çalışmalar bulunmaktadır (37,38).

Vasküler endotelial hücrelerin yıkımı ile vazospazm oluşumu ve bu etkileşim sonucunda da apoptozisin tetiklenmesi farklı çalışmalarda ortaya konulmuş mekanizmalardır (39). Caspase molekülleri, özellikle caspase-3, apoptotik süreçte anahtar rol oynayan esas proteinlerdir. Serebral vazospazm oluşumunda apoptozisin rolü hayvan modeli SAK çalışmalarında gösterilmiş olup, yine bu çalışmalarda



caspase-3 inhibitörlerinin oksihemoglobin katkılı apoptozisi azalttığı gösterilmiştir (40,41). Yine SAK'lı hastaların BOS ve serum örneklerinde kontrol grubu hastalarına göre caspase-3 değerleri anlamlı yüksek bulunmuştur. BOS caspase-3 düzeylerinin 7. güne doğru artması, apoptozis hızının ve nöron hasarının, SAK sonrası ilerleyen günlerde giderek arttığını göstermektedir (42). Bu nedenle çalışmamızda kullanılacak olan Tadalafil'in apoptoz üzerine olan etkisinin incelenmesi bu araştırmanın sonuçlarını güçlendirecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Subaraknoid Kanama

#### 2.1.1. Tanım

Beyin , beyincik, beyin sapı veya omurilik yüzeyindeki sıklıkla arterlerin, daha nadiren de ven ve kapillerlerin çeşitli nedenlerle kanaması ve kanın beyin omurilik sıvısı (BOS) dolanım yollarına girmesi veya beyin parankimi içerisindeki bir kanamanın beyin korteksi yönünde yüzeye açılması veya ventriküllere geçerek yine BOS'a karışması nadiren de subdural mesafedeki kanın araknoid membranı delerek subaraknoid aralığa geçmesi sonucunda ortaya çıkan tabloya subaraknoid kanama (SAK) adı verilir.

#### 2.1.2. İnsidans

Değişik toplumlarda farklı oranlarda görülmekte olup, yılda ortalama 100.000 nüfus başına 10-16 olgu tespit edilmektedir.

SAK'ın sıklığı 50'li yaşlardan sonra daha da artar. SAK mortalite ve morbiditesi oldukça yüksektir. Tüm hastaların %10 kadarı hastaneye ulaşmadan kaybedilirler. Mortalite ve morbiditenin en sık sebebi yeniden kanamadır. %50 hasta yetersiz tedavi olanakları nedeniyle ilk ay içinde kaybedilir. Ayrıca hastaların %50' sinde tedaviye rağmen kalıcı nörolojik defisit gelişebilmektedir.

SAK'ta hayatın ilk dekadında erkek/kadın oranı 4/ 1; beşinci dekatta erkek/kadın oranı eşit; 6. dekatta ise kadınlarda 10 kez daha yüksektir (43, 44). Linn ve arkadaşları kadınların erkeklerden 1.6 kez daha fazla SAK riski taşıdığını bildirmiştir (45). SAK' nın zencilerde beyaz ırka göre ortalama 2.1 kez daha sık görüldüğü bildirilmiştir . Chyatte ve arkadaşları SAK' nın erkeklerde sonbaharda, kadınlarda ise ilkbaharda daha çok görüldüğünü bildirmiştir (46). SAK tüm inmelerin %10' unu ve serebrovasküler ölümlerin %25' ine neden olmaktadır.

İlk kanamadan kurtulabilen hastalarda tekrar kanama riski ilk 24- 48 saat içinde pik yapar . SAK sonrası birinci günde tekrar kanama riski %4.1 'dir . SAK sonrası ilk 6 ay içinde hastaların %50 si tekrar kanar; uzun dönemde ise kanama riski yıllık %3 olarak kalır (47,48,49).

### 2.1.3. Risk Faktörleri

**Ailesel:** SAK'ın en önemli ve değiştirilemez risk faktörüdür (50). Birinci derece akrabalarda aynı hastalığın görülme riski 3- 7 kat fazlayken; ikinci derece akrabalarda bu oran genel popülasyonla aynıdır (51,52,53,54,55).

**Sigara:** Sigaranın SAK riskini arttırdığı gösterilmiştir (56,57,58) .

**Alkol:** Ilımlı veya aşırı düzeyde alkol kullanımı SAK için risk faktörüdür.

**Hipertansiyon:** İntraserebral hemorajiler için başlıca risk faktörlerinden olmasına karşın, SAK için çok önemli değildir (59).

**Oral Kontraseptif:** Oral kontraseptif kullanan bayanların genel popülasyona oranla SAK geçirme riskinin 2- 6 kat arttığı bildirilmiştir (60).

### 2.1.4. Etiyolojik Faktörler

Travma dışı SAK'ların yaklaşık %80 gibi bir sıklıkla anevrizma veya arteriyovenöz malformasyon nedeniyle oluştuğu bilinmektedir. Geriye kalanların çok büyük kısmı, intrakranial veya sistemik başka bir faktörle gelişmektedir.

Aşağıda SAK'a neden olabilecek sebepler bir liste halinde sunulmuştur:

#### 1. Anevrizmalar

#### 2. Arteriyovenöz Malformasyonlar

#### 3. Diğer Damar Anomalileri

- a. Kavernom
- b. Kapiller hemanjiom
- c. Arteriovenöz fistül
- d. Venöz anjiom

#### 4. Tümörler

- a. Glioma
- b. Meningioma
- c. Hemanjioblastoma
- d. Kordoma
- e. Koroid pleksus papillomu
- f. Hemanjioma
- g. Hipofiz adenomu

- h. Sarkoma
- i. Osteokondroma
- j. Ependimoma
- k. Nörofibroma
- l. Bronşial karsinoma
- m. Koryokarsinoma
- n. Melanoma

## **5. Enfeksiyonlar**

- a. Bakteriyel menenjit
- b. Tüberküloz menenjiti
- c. Fungal menenjit
- d. Leptospirozis
- e. Listeriozis
- f. Brusellosiz
- g. Tifo
- h. Malarya
- i. Antraks
- j. Viral ensefalitler
- k. Sitomegalik inklüzyon hastalığı
- l. Paraziter etkenler

## **6. Vaskülitler**

- a. Lupus eritamatozis
- b. Dev hücreli arterit
- c. Amiloidozis
- d. Fokal vasküler nekroz
- e. Poliarteritis nodosa
- f. Takayasu Hastalığı
- g. Tromboangiitis obliterans
- h. Wegener granülomatosisi

## 7. İntoksikasyonlar

- a. Epinefrin
- b. Amfetamin
- c. Alkol
- d. Eter
- e. Karbon monoksit
- f. Morfin
- g. Nikotin
- h. Kurşun
- i. Kinin
- j. Fosfor
- k. İnsülin
- l. Hidrosiyamik asit
- m. Venom yılan zehiri
- n. Monoamin oksidaz inhibitörleri

## 8. Hematolojik Hastalıklar

- a. Lösemi
- b. Hemofili
- c. Orak hücreli anemi
- d. Agranülositozis
- e. Aplastik anemi
- f. Pernisiyöz anemi
- g. Trombositopenik purpura
- h. Polisitemia vera
- i. Waldenström makroglobulinemisi
- j. Lenfoma
- k. Myeloma
- l. Herediter sferositozis
- m. Afibrinogenemi
- n. Antikoagülanlar
- o. Koagülopatiler

p. Hodgkin hastalığı

### 9. Çeşitli Farklı Etkenler

- a. Elektrokonzülzif tedavi
- b. Güneş çarpması
- c. Valsalva manevrası
- d. K vitamini eksikliği
- e. Hiperbilirubinemi
- f. Eklampsi
- g. Travmalar
- h. Alerjik hastalıklar
- i. Dalgıç hastalığı
- j. Üremi
- k. Gebelik

### 10. Nedeni Saptanamayan Olgular

Nedeni saptanamayan SAK'lar sıklıkla selim seyreder. Kanamanın tekrarı ve bu nedenle mortalite oranı %3'ün altındadır . Fakat bu olgularda araştırmanın 3-6 hafta sonra tekrarlanması ile %25 olguda SAK nedeninin ortaya konulabileceği gösterilmiştir (61,62,63,64,65).

#### 2.1.5 Subaraknoid Kanamanın Semptomları

**Ani, Şiddetli Başağrısı:** Tipik olarak eforla oluşur. Çoğu zaman bıçak saplanır tarzdadır. Bazen SAK olmadan ve kısa sürede düzelebilen uyarıcı 'sentinel' başağrıları olabilmektedir. Sentinel başağrıları anevrizmanın genişlemesi veya anevrizma duvarına lokalize ufak kanamalar nedeniyle olabilmektedir. Subaraknoid kanama ile ilgili olarak özel bir durum ise *uyarıcı sızma*'dır (*warning leaks*). Uyarıcı sızma, klasik SAK'dan önce gelişen minör bir kanamadır. Birkaç saat, gün veya hafta önce oluşur, bunu klasik SAK izler. Başağrısı ani olarak ortaya çıkar (66,67).

**Bulantı ve Kusma:** Genellikle başağrısı ile birlikte.

**Ense Sertliği:** SAK sonrası birkaç saat içerisinde (yaklaşık 6- 8 saat) gelişebilir.

Bazen spinal mesafeye ulaşan kanın sinir köklerini irrite etmesiyle sırt ve bel ağrıları da oluşabilir.

### **Baş Dönmesi ve Senkop**

#### **Fotofobi**

**Hafif Ateş Yükselmesi:** Birkaç gün süren subfebril ateş görülebilir. Muhtemelen kanamanın rezorbsiyonu ile ilgili oluşur.

**Hipertansiyon:** Kan yıkım ürünlerinin hipotalamusu uyararak katekolamin deşarjına neden olması ile HT oluşur.

**Subhiyaloid Kanama:** Genellikle kanamadan yaklaşık 24- 48 saat sonra papil ödem- subhiyaloid kanamalar izlenebilir. Bu, venöz dönüşün subaraknoid aralıkta bloke olmasına bağlıdır. Olguların %10- %15'inde intrakranial basınç artışı sonucu papil ödemi gelişebilir (68). ACoA kanamalarında vitreus içindeki kanama 'Terson Sendromu' olarak adlandırılmaktadır.

**Hemiparezi:** Anevrizma ya da hematoma'nın direkt etkisi ile fokal nörolojik defisitler oluşabilir. Sıklıkla motor kayıp, disfazi ve oftalmopleji şeklinde gelişmektedir.

**Konfüzyon, Ajitasyon, Koma:** Geçici veya sürekli şuur bozukluğu kafa içi basınç artması ve serebral dokularda iskemi nedeniyle olabilir. Direkt kortikal irritasyon nedeniyle epileptik nöbetler de tabloya dahil olabilir.

### **Ani Ölümler**

#### **2.1.6. Subaraknoid Kanamanın Komplikasyonları**

1. Kafa içi basınç artışı
2. İntraserebral kanama
3. İntraventricüler kanama
4. Subdural kanama
5. Hipertansiyon
6. Yeniden kanama (Rebleeding)
7. Serebral vazospazm , serebral iskemi
8. Nöbet
9. Akut veya kronik,kommünikan veya non kommünikan Hidrosefali
10. Solunum bozuklukları (aspirasyon pnömonisi, pulmoner ödem, pulmoner emboli)

11. Kardiyovasküler komplikasyonlar(miyokard infaktüsü , disritmiler)
12. Sıvı elektrolit bozuklukları (uygunsuz ADH salınımı , serebral tuz kaybı , diabetes insipitus)
13. Tromboembolik komplikasyonlar
14. Nöropsikolojik bozukluklar
15. Gastrointestinal bozukluklar (motilite değişiklikleri, kanama)

SAK'da prognozu kanamanın yeri ve miktarı, eşlik eden vazospazm, akut hidrosefali ve hastanın klinik tablosu belirler.

### **2.1.7. Subaraknoid Kanama Tanısı**

SAK tanısı çoğunlukla hastanın hikayesi, gelişen ense sertliği ve bir takım nörolojik defisitlerle tahmin edilebilmektedir. SAK' lı hastaların yaklaşık %30' una ilk müdahale sırasında yanlış tanı konulmaktadır (69). BOS tetkikleri ve/ veya çekilen BT ile kesin tanı konulabilir. SAK' lı hastaya LP yapılması ve hatta lomber drenaj sistemlerinin takılmasının güvenli olduğu konusunda yayınlar bulunmaktadır (70,71) . BOS başlangıçta yüksek basınçlı ve kanlıdır. Kanın pıhtılaşmaması ve BOS mikroskop isinde eritrositlerin tırtıklı (taze kanama olmadığını gösterir) görülmesi, ayrıca kanamadan bir süre sonra ksantokromik görünüm tanıyı kesinleştirmektedir (72).

Subaraknoid kanamalı hastada BOS rengi akut dönemde kırmızı, birkaç gün sonra ksantokromik görünümündedir. BOS'da kanın veya ksantokrominin görülmesi tanıyı doğrular. Subaraknoid aralığa geçen kanın hemolize olması ile hemoglobin türevlerinden oksihemoglobin kanamayı izleyen ilk saatlerden itibaren BOS'a karışır. Daha sonra bilirubin de BOS'a geçer. SAK'lı hastadan alınan hemorajik BOS santrifüj edilecek olursa üstte kalan sıvının ksantokromik olduğu görülür. Travmatik ponksiyonla alınan hemorajik BOS'da ise santrifüj sonrası ksantokromi görülmez. Ayrıca BOS, 3 farklı tüpe alındığında, travmatik ponksiyonda renk giderek açılır ve sıvı koagülasyon gösterir, oysa spontan SAK'da sıvı hep aynı renktedir ve koagüle olmaz.

BOS'da makroskopik kan 10.- 14.günlerde, ksantokromi ise 20.-30.günlerde kaybolur, yeniden kanama durumunda BOS'da tekrar taze kan belirir. Ksantokromi kanamadan 2 saat içerisinde oluşabilmekte, olguların %90' ında ilk 12 saatte



görülmektedir. Ayrıca BOS protein seviyeleri yüksek ölçülür. BOS basıncı artar, glikoz değeri değişmez.

BT de subaraknoid boşluklarda yüksek dansiteli alanlar olarak tespit edilir. Sistemler veya ventriküller içinde yüksek dansiteli hemorajik sahalar şeklinde de görülebildiği gibi, bazen anevrizmatik dilatasyonun görüntüsü elde edilebilmektedir. Ayrıca SAK ile birlikte gelişebilen parankimal iskemik sahalar da tespit edilebilir. Bilindiği gibi parankimal enfarkt sahaları BT' de iskemi geliştikten ancak 24- 48 saat sonra belirginleşir.

BT' de kanın miktarına göre Fisher Sınıflaması yapılmaktadır:

**GrupI:** Subaraknoid bölgede kan izlenmiyor.

**GrupII:** Diffüz ya da vertikal katları <1mm.

**GrupIII:** Lokalize hematoma ve/ veya vertikal katlar >1mm.

**GrupIV:**Subaraknoid mesafede kan olmasa bile intraserebral/ intraventriküler hematoma varlığı.

MRG akut safhada güvenilir değildir. Kanamadan 4- 7 gün sonra daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir. MR anjiyografi ile 3mm den daha büyük anevrizmaları tespit etmek mümkün olabilmektedir. BT anjiyografi ile 2mm' ye kadar olan anevrizmalar tespit edilebilir ve 3 boyutlu görüntü alınabilme imkanı vardır.

Serebral anjiyografi etiyolojik nedeni tespit etmek için hemen her SAK hastasında kullanılmaktadır. Hem anterior, hem de posterior dolaşımı içine alan DSA yapılmalıdır. DSA anevrizma lokalizasyonu ile birlikte, ayrıca vazospazmı da tespit edebilir.

DSA sırasında anevrizma görülemez ise posterior inferior serebellar arterlerin ikisinin de görüntülendiğinden emin olunmalı; ayrıca ACoA' deki bazı anevrizmaların sadece yüksek kontrast dozlarında veya sadece karotis çapraz kompresyonu sırasında görüntü verebildiği hatırlanmalıdır. Ayrıca belirgin hematomu olan hastalarda anevrizma bası altında olursa görüntülenemeyebilir. Bu hastalarda yaklaşık 2 hafta sonra anjiyografi tekrar edilmelidir. SAK' da birden çok anevrizma görülebilir ve hangisinin kanadığını DSA ile tahmin etmek mümkündür. Kanayan anevrizma BT ya da MRG' de kanın en yoğun olduğu bölge ve/ veya vazospazmın olduğu bölgedeki anevrizma, ayrıca irregüler görünümlü olan

anevrizma olarak değerlendirilebilir. Ayrıca en geniş olan anevrizmanın kanama olasılığı en fazladır.

### **2.1.8 Subaraknoid Kanamada Ayırıcı Tanı**

Değişken semptomlar nedeniyle hastalara özellikle uyarıcı nitelikteki ön belirtilerin olduğu dönemde yanlış tanı konulabilmektedir (73).

- Migren, sinüzit, gerilim tipi baş ağrısı, hipertansiyon, subdural hematoma gibi baş ağrısı ile seyreden hastalıklar
- Servikal artroz, servikal disk hernisi, menenjit gibi ense sertliğinin bulunduğu hastalıklar
- Akut gastroenterit, gıda zehirlenmesi, peptik ülser, akut apendisit ve akut miyokard infarktüsü gibi bulantı-kusmanın eşlik edebileceği hastalıklar
- Uyuşturucu kullanımı, alkol intoksikasyonu, akut psikoz gibi konfüzyon, letarji ve kişilik değişikliklerinin varlığıyla seyreden hastalıklar
- Serebral iskemik olay veya spontan intraserebral hematoma gibi fokal nörolojik defisitlerle seyreden hastalıklar

## 2.1.9 Subaraknoid Kanamada Evreleme

### Hunt ve Hess Evrelemesi

**Derece 0:** Rüptüre olmamış anevrizma

**Derece 1:** Hafif başağrısı, hafif ense sertliği veya asemptomatiktir. şuur tamamen normaldir.

**Derece 1a:** Sadece nörolojik defisit vardır.

**Derece 2:** Baş ağrısı ve ense sertliği belirgindir. Sıklıkla III. kranyal sinir paralizisi veya diğer kranyal sinir bulguları vardır. şuur normaldir.

**Derece 3:** şuur seviyesinde bozukluklar, letarji veya konfüzyon vardır. Hafif motor defisitler olabilir.

**Derece 4:** Stupor, motor defisitler veya erken deserebrasyon rijiditesi tespit edilir.

**Derece 5:** Terminal dönemdir. Deserebrasyon rijiditesi veya arefleksi tespit edilir.

### Yaşargil Evrelemesi

**Derece 0a:** Rüptüre olmamış anevrizma

**Derece 0b:** Nörolojik defisit vardır.

**Derece Ia:** SAK var, asemptomatiktir.

**Derece Ib:** SAK var, şuur açık, koopere, ancak belirgin nörolojik defisit vardır.

**Derece IIa:** şuur açık, koopere, ancak başağrısı ve menengismus bulguları vardır.

**Derece IIb:** Ek olarak nörolojik defisit vardır.

**Derece IIIa:** Letarjik, konfüze, dezoriyentedir (şuur seviyesi bozuk).

**Derece IIIb:** Ek olarak nörolojik defisit mevcuttur.

**Derece IV:** Yarı komada, ses çıkartmaz, ağrıya cevap var, pupiller ışığa reaksiyon gösterir, ekstansör yanıt alınabilir.

**Derece V:** Komada, ses çıkartmaz, ağrıya cevap yok, pupiller ışığa reaksiyon göstermez, en azından ekstansör yanıt vardır.

### 2.1.10. Subaraknoid Kanamada Tedavi

**Kesin Yatak İstirahati:** Yeniden kanamayı önlemek için hastanın sakin ve loş bir odada kesin yatak istirahatine alınması gerekmektedir. Stres ve baş ağrısı için analjezik ve sedatifler verilebilir. Steroidler serebral ödemi çözebilmesi ve araknoid yapışıklıkları azaltması açısından faydalı olabilmektedir. Vital fonksiyonlar, tüm kan değerleri ve kan gazları yakın takibe alınmalıdır. Hemorajinin rezorpsiyonu ile ilgili subfebril ateşe karşı dikkatli olmak gereklidir. Sürekli yatmaya bağlı olabilecek pulmoner komplikasyonlar, idrar yolu enfeksiyonları ve dekübitüs ülserleri açısından önlem alınmalıdır. Derin ven trombozu riski açısından alt ekstremitelere varis çorabı uygulanmalıdır. Hastanın başı 30 derecede eleve edilmelidir.

**Sıvı-Elektrolit Takibi:** SAK' lı hastaların yaklaşık %30- %50' sinde diabetes insipidus, serebral tuz kaybı sendromu ya da uygunsuz ADH sekresyon sendromu görülebilmektedir. Genel durumu bozuk hastalara internal idrar sondası konulmalıdır. Beslenemeyecek kadar genel durum bozukluklarında enteral beslenme açısından nazogastrik veya nazojejunal sonda uygulanabilir.

**Diabetes İnsipidus (Dİ):** Reaksiyonel ADH düşüklüğüne bağlı olarak aşırı renal sıvı çıkışı ve serum sodyum seviyesinde artış görülür. Burada ACoA kompleksinden beslenen anterior hipotalamusun iskemisi söz konusudur. Düşük dansiteli idrar çıkışı ve 300mOsm/ kg dan fazla serum ozmolalitesi vardır. Sıvı replasmanı %5 dekstroz veya diğer hipotonik solusyonlarla karşılanmalıdır. Başarısız olunan durumlarda ADH' nin sentetik analogu olan desmopressin kullanılabilir.

**Serebral Tuz Kaybı Sendromu:** Mekanizması tam olarak anlaşılamamakla beraber sempatik otonom sisteminin zayıflaması, atrial natriüretik peptid ve beyin natriüretik peptidin aşırı artışı sonucunda renal sodyum atılımında artış olduğu bilinmektedir. Sonuç olarak hipovolemi ve hiponatremi ile kendini gösterir. , tedavisinde sıvı ve tuz replasmanı yapılmalıdır. Hiponatreminin hızlı replasmanı santral pontin miyelinozise yol açabilir. Uygunsuz ADH sendromunda ise hipervolemi ve dilusyonel hiponatremi oluşmaktadır. Tedavisi sıvı kısıtlaması ile yapılır.

**Arteriyel Basıncı Kontrolü:** Nüks kanamaya yol açabilecek yüksek tansiyon kontrol altına alınmalıdır. Sistolik kan basıncı mutlaka serebral perfüzyon basıncını normal seviyelerde tutacak düzeye çekilmelidir. Kan basıncı fazla düşerse de serebral iskemi ve şuur seviyesinde bozukluklar olabilir.

**Antiepileptik Tedavi:** Profilaktik olarak verilmelidir.

**Vazospazm İle Mücadele:** Oluşabilecek iskemik bulgular ciddi sonuçlar yaratabildiği için vazospazmın tedavisi şarttır.

#### **2.1.11. Subaraknoid Kanamada Takip ve Monitörizasyon**

- Arteriyel kateter ile kan basıncı monitörizasyonu
- Elektrokardiyografik telemetri
- Pulse oksimetre ile transkutanöz oksijen saturasyonu takibi
- Günlük kan elektrolitleri ve kan glukoz düzeyleri, kan sayımı, koagülasyon parametrelerinin takibi
- Endikasyonu olduğu zaman karaciğer enzimleri ve kardiyak enzim düzeyleri
- Arter kan gazı takibi
- Santral venöz basınç takibi
- Ventrikülostomi ile intrakranial basınç takibi ve BOS drenajı
- Bilgisayarlı beyin tomografisi; postoperatif dönemde veya hastanın nörolojik düzeyinde gerileme olduğu zaman;tekrar kanama, enfarkt, ödem ve hidrosefali gibi değişiklikleri saptamak için kullanılır.
- Transkranyal Doppler (TCD); Vazospazm takibi için mümkünse her gün inceleme tavsiye edilir.
- Serebral anjiyografi; anevrizmanın saptanması, postoperatif anevrizmanın kapandığının görüntülenmesi ve anjiyografik vazospazmın gösterilmesini sağlar.
- Serebral oksimetri ve serebral mikrodializ

## 2.2. Serebral Vazospazm

### 2.2.1. Tanım

Serebral vazospazm(SV), kanla dolu subaraknoid mesafeden geçen büyük arterlerin yavaş gelişen, belirgin daralması ve takiben beyin iskemisi sonucu geç başlayan nörolojik kayıpla karakterize patolojik olaylar zinciridir (74). SV serebral iskemi ve enfarktın en sık sebebidir. Serebral vazospazm klasik olarak anevrizma rüptürüne bağlı SAK'ın komplikasyonu olmasına rağmen %5-10 oranında ağır kafa travması ve daha az oranlarda meningeal enfeksiyon ve diğer serebrovasküler hastalıklarda görülebilir (75,76).

SAK tedavisinde tüm gelişmelere rağmen; SV günümüzde SAK sonrası mortalite ve morbiditeyi etkileyen en önemli faktördür. SV anevrizmal SAK hastalarının %70' inde ortaya çıkarken; bunların %36' sında semptomatik beyin iskemisine neden olur (77). Sonuç olarak SV; SAK sonrası ilk 2 hafta içerisindeki mortalitede 1.5- 2 kat artışla koreledir (78).

Serebral arteriyel vazospazm fokal, segmental, diffüz, semptomatik veya asemptomatik olabilir. Geç fokal ya da diffüz iskemik nörolojik defisitler serebral arteriyel vazospazm ile birlikte gider. Vazospazmda bilinçte bulanıklık, artan menengismus düşük derecede ateş ve fokal nörolojik bulgular ortaya çıkabilir (79).

### 2.2.2. İnsidans

Subaraknoid kanama insidansında coğrafi bölge, iklim, ırk gibi faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir. SAK'ın gerçek sıklığının belirlenmesi bu olguların bir kısmının daha hastanelere ulaşmadan önce ölmeleri nedeniyle zordur. Ani ölümleri içeren geniş otopsi serilerinde SAK olguları % 25,7 gibi yüksek bir oranı kapsamaktadır (80). SAK' dan sonraki 4. ile 12. günler arası vazospazmın en sık görüldüğü zaman dilimidir. Serebral vazospazm gelişimi açısından diyabet, hipertansiyon, ateroskleroz, cinsiyet ve yaş arasında predispozan ya da tetikleyici bağlantı gösterilememiştir. Serebral arterlerdeki vazospazm özellikle arterlerin intradural parçalarında olmakta, anterior sirkülasyonda daha fazla görülmekte ve damarların proksimal kısımlarını daha fazla etkilemektedir.

Deney hayvanlarında subaraknoid otolog kan enjeksiyonundan çok kısa süre sonra SV görülmesine karşılık, insanlarda SAK'dan sonraki ilk üç gün içinde çok nadir olarak spazm görülür. Genellikle, spazm 3. gün başlar, 6.- 10. günde maksimal düzeye ulaşır. 3 -10. gün arasında %41, 10. günden sonra %25, bir ay sonra %6- %7 oranında SV saptanır (81,82,83, 84, 85).

### 2.2.3. Serebral Vazospazmın Klinik Özellikleri

Serebral arteriyel spazm, birbiriyle uyumlu olması gerekli olmayan iki tanıma sahiptir.

1. Klinik vazospazm
2. Radyografik vazospazm

#### 1- Klinik Vazospazm

Serebral arteriyel vazospazm fokal, segmental, diffüz, semptomatik veya asemptomatik olabilir. Geç fokal ya da diffüz iskemik nörolojik defisitler serebral arteriyel vazospazm ile birlikte gider. Vazospazmın bilinen semptomları saatler, günler boyunca yavaş olarak gelişir. Şiddetlenen baş ağrısı, bilinçte bulanıklık, artan menengismus, düşük derecede ateş ve fokal nörolojik bulgular vazospazmın semptomlarıdır( 86). ASA dağılımında, OSA dağılımında olduğundan daha yüksek vazospazm insidansı vardır.

#### 2- Radyografik Vazospazm

Serebral anjiyografi ile belirlenen, çoğunlukla kontrast doluşunun yavaşlaması ile gösterilen bir bulgudur. Daralma arteriyel düz kasın kontraksiyonuna ve damar duvarındaki morfolojik değişikliklere sekonderdir (87 ). Tanı, aynı damar ya da damarları normal ölçüde gösteren önceki veya izleyen anjiogramlar ile kuvvetlendirilir. Anjiografik olarak yalnızca büyük arterler gösterilebildiği için tanı damarların daralması ile sınırlıdır. Radyografik SV, klinik defisit olmadan ortaya çıkabilir.

Tanımlamalar arasında yer alan başka bir ifade şekli de zaman zaman kullanılır. Bu geç iskemik nörolojik defisit, anjiogramda görülen vazospazmın gölgesi ile uyumlu olduğundan **semptomatik vazospazm** olarak isimlendirilir. Radyografik serebral vazospazm, SAK sonrası 7.gün civarında gerçekleştirilen

arteriyogramların %30- %70'inde tespit edilir. Halbuki, semptomatik serebral vazospazm subaraknoid hemorajili hastaların sadece %20- %30'unda görülür (12 ).

Klinik SV, hemen daima SAK sonrası 12. güne kadar düzelir. Radyografik SV gösterildiğinde, genellikle 3.- 4.hafta içinde yavaş bir şekilde düzelir.

Bazı hastalar vazospazmın gelişimi için yüksek risk taşırlar. Bunlar arasında; skoru düşük hastalar, menenks irritasyonu şiddetli olan olgular, bilgisayarlı tomografide şiddetli SAK gösterenler ve erken dönemde kortikal boyanma gösterenler sayılabilir (88, 89 ).

#### **2.2.4. Serebral Vazospazm Tanı Metodları**

Nörolojik defisitler vazospastik arterler ile ilgilidir. Ancak serebral anjiyografi, transkraniyel doppler ve klinik iskemi arasındaki korelasyon tam anlamıyla açık değildir. SV' ın kesin tanısı anjiyografi ile konulur. Bunun yanında BT, transkraniyel doppler ile gösterilen kan akım hızı, intrakraniyel nabız dalgasındaki değişiklikler, vazospazmın saptanmasında kullanılabilir bunun yanında Single photon emission computerize tomografi (SPECT) ve Positron emisyon tomografi (PET CT) serebral vazospazmın saptanmasında kullanılacak diğer yöntemlerdir (90,91,92,93,94 ).



### **2.2.5. Serebral Vazospazmda Patofizyolojisi**

SAK sonrası gelişen vazospazm halen tam anlaşılammış olmakla birlikte patofizyolojinin multifaktöryel olduğu kabul edilir. Patofizyolojisinde 4 temel mekanizma mevcuttur:

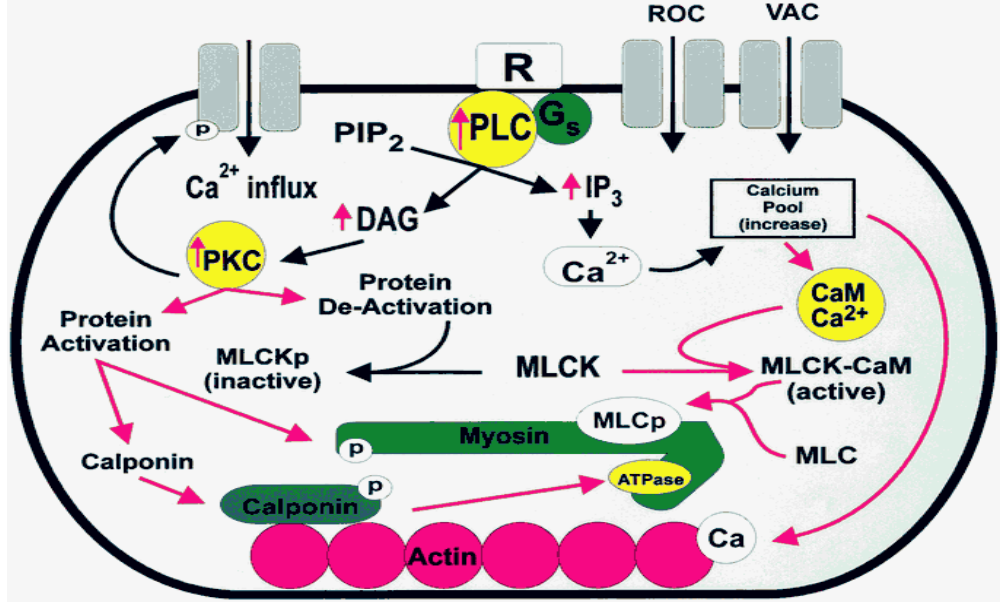
#### **1. Kan Ürünlerinin Yıkımı**

Vazospazmın patofizyolojisinde kabul edilen teorilerden biri, olayın ekstrasvaze olmuş eritrosit ve trombositlerin yıkımı sonucu ortaya çıkan spazmojenler tarafından tetiklendiğidir (95). Tanımlanmış spazmojenlerden bazıları serotonin, prostaglandinler, katekolaminler, histamin, anjiotensin, oksihemoglobindir .

SAK sonrası hemoliz hemen başlar ve eritrositler tamamen lizise uğrayıncaya ve/veya fagosite edilinceye kadar devam eder. Yapılan çalışmalar BOS'un eritrositlerden tamamen temizlenmesinin birkaç gün ile bir ay arasında bir sürede gerçekleştiğini göstermiştir (13). İn vivo çalışmalar, kan pıhtısı içinde eritrositlerin vazospazma yol açtığını, beyaz kan hücreleri, trombositler ve plazmanın tek başına böyle bir etkisinin olmadığı göstermiştir . Bütün bu bulgular asıl spazmojenik faktörün hemoglobin olduğunu düşündürse de (18), bir çok modelde hemoglobin dışında daha birçok madde ihtiva eden kırmızı kan hücrelerinin hemolizatlarının, izole halde hemoglobinden daha potent vazokonstriktör etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (96). Bütün bu bulgular hemoglobinin de tek başına vazospazma yol açmadığını telkin eder niteliktedir.

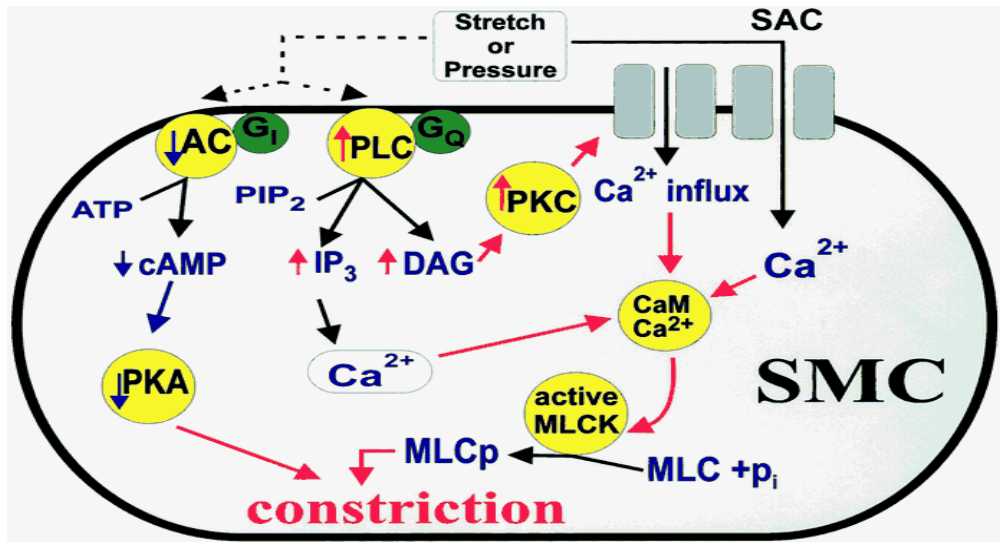
#### **2. Uzamış Arteriel Kontraksiyon**

Uzamış arteriel kontraksiyon halen vazospazm gelişiminde en fazla kabul gören teorilerdendir. Düz kas kontraksiyonu ile ilgili regülatuar mekanizmaları gözden geçirmek gerekirse, en önemli mekanizma hiç kuşkusuz sitozol içindeki kalsiyum aktivitesidir (97) (Şekil 2.1). Kalsiyum, kalmodulini ve sonrasında kalmodulin miyozin hafif zincir kinazı (MLCK) aktive eder. Bu miyozin hafif zincirinin (MLC), serine 19 pozisyonunda fosforilasyonuna neden olur. Aktin filamentiyile etkileşme sonucunda kasılma gerçekleşir .



Şekil 2.1. Hücre içi kalsiyum artışı ile vasküler düz kas tonusunun regülasyonu (11)

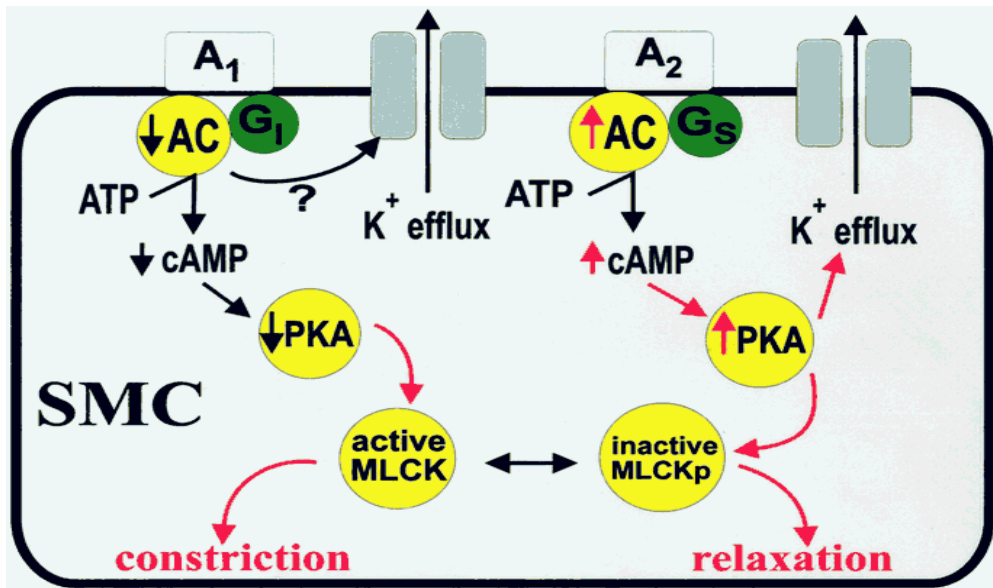
Düz kas hücresi için kalsiyumun primer kaynağı sarkoplazmik retikulum ve ekstraselüler alandır. Ekstraselüler kalsiyumun kalsiyum kanallarından girişi voltaj veya reseptör bağımlı mekanizmalarla olabildiği gibi (şekil 2.1), mekanik gerilme ve basınca duyarlı mekanizmalarla da olabilir (şekil 2.2). Sarkoplazmik retikulumdan ise kalsiyum girişi, intrasellüler 1, 4, 5 trifosfat artışı veya ryanodine duyarlı reseptörler aracılığı ile olabilir (11).



Şekil 2.2. Basınç ve gerilime duyarlı kanallardan kalsiyum influksiyonu sonucu oluşan vasküler düz kas kasılması (11)

Hücre içi kalsiyum azaltılma yolu ise siklik guanozin monofosfat (cGMP)'ın sarkoplazmik membrana bağımlı kalsiyum pompalarını aktive etmesi ile mümkün olur. Bu sayede düz kas hücresinde relaksasyon gerçekleşir (98). Nitrik oksit (NO) ise, cGMP üreten guanilat siklazın (GS) ana aktivatörüdür.

Düz kas hücresi içindeki kalsiyum aktivitesi düz kas kasılmasının temel mekanizmasını oluşturmasına rağmen, sitozol içi kalsiyum aktivitesi değişmeksizin vasküler tonusu regüle eden başka mekanizmalar da vardır. Bunlar genellikle protein fosforilasyon/defosforilasyonu yoluyla gerçekleşirler. Bu kaskad miyozinin serine 19 dışında başka bir pozisyonda fosforilasyonu, protein kinaz C (PKC) ile aktin düzenleyici proteinler olan caldesmon veya calponinin fosforilasyonu, miyozin hafif zincir kinazın fosforilasyonu nedeniyle deaktivasyonu gibi mekanizmaları içerir . Serebral dolaşımda özellikle stimülatör veya inhibitör G proteinlerine bağımlı reseptörleri aktive ederek vasküler düz kas hücresinin tonusunu reseptör bağımlı mekanizmalarla etkileyebilen birçok agonist tanımlanmıştır. Aynı madde, etkilediği reseptörlere göre stimülatör veya inhibitör G proteinlerini kullanarak birbirine zıt etkiler ortaya çıkarabilir. Örneğin  $A_2$  reseptörlerinin uyarımı ile stimülatör G proteinlerinin aktivasyonu relaksasyon oluştururken,  $A_1$  reseptörlerinin uyarımı inhibitör G proteinleri üzerinden vazokonstriksiyonla sonuçlanır (99) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Stimülatör ve inhibitör G proteinlerinin aktivasyonu ve sinyal transdüksiyonu ile gelişen reseptör bağımlı mekanizma (11)

Endotelial hücreler hem endotelial kaynaklı relaksasyon faktörlerini (EDRF) ve hem de endotelial kaynaklı konstriktör faktörlerini (EDCF) salgırlar .

EDRF grubunda birkaç madde olmasına rağmen bunların en önemlileri NO veya bununla ilişkili maddeler (100,101,102), başta prostosiklin olmak üzere bazı prostoglandinler (103), endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF)'dür (104). İntraselüler kalsiyum artışı NO sentaz ve siklooksijenaz enzimlerini aktive eder (105). Sonrasında NO düz kas hücresine geçerek GS'ı aktive eder. Artan cGMP sayesinde sitozolik kalsiyum sarkoplasmik retikuluma alınır. NO yapımı hücre içi kalsiyum düzeyi 200 nmol/L gibi bir değere ulaşana kadar uyarılırken, daha yüksek değerler prostaglandin kökenli maddelerin üretimini tetikler . Prostaglandin kökenli EDRF'ler düz kas hücresinin potasyum kanallarını veya adenilat siklaz enzimini aktive ederler (106,107). Henüz kesin olarak tanımlanamamakla birlikte EDHF'ün sitokrom P450 kaskadından kaynaklandığı (108) ve düz kas hücresini hiperpolarize ederek hücre dışına kalsiyum atılımını sağladığı düşünülür. Prostosiklin ise potasyum kanallarını aktive ederek (109) ve MLCK'ı inaktive ederek damar düz kasında relaksasyon sağlar.

EDCF'lerin en iyi bilinenleri endotelin (ET), anjiotensin II ve tromboksanlardır. ET, trombin ve anjiotensin stimülasyonu ile endotel hücresinde üretilen bir peptiddir. ET düz kas hücresi ve ekstraselüler alanda da üretilebilir (110). ET, hem endotel hem de düz kas hücresi üzerindeki ET<sub>A</sub> ve ET<sub>B</sub> reseptörleriyle etki gösterir. Düz kas hücresi ET reseptörlerinin uyarımı, fosfolipaz C ve protein kinaz C aktivasyonu ile hücre içi kalsiyum miktarını artırır ve vazokonstriksiyona neden olur. Birkaç tane ET ve ET reseptörü tanımlanmıştır ( 111,112). ET-1 ve ET-2'nin her ikisi de ET<sub>A</sub> ve ET<sub>B</sub> reseptörlerine bağlanabilse de ET-3 sadece ET<sub>B</sub> reseptörüne bağlanabilir.

Subaraknoid kanama sonrası vazospazm gelişiminde bu anlatılan mekanizmaların pekçoğu damar düz kasında kontraksiyona yol açarak etkili olmaktadır. Oksihemoglobinin tetiklediği uzamış düz kas kasılması, vazospazm gelişiminde önemli rol oynar (113). Oksihemoglobin vasküler düz kas hücresi üzerine direkt veya arter duvarından lokal vazoaaktif maddelerin salınımı, serbest radikallerin ve lipid peroksidlerin üretimini sağlayarak indirekt olarak etki edebilir (11). In vitro çalışmalar hemoglobinin ürettiği oksijen radikallerinin endotel ve düz

kas hücrelerine zarar verdiğini ortaya koymuştur (114,115,116). Oksijen radikalleri endotelial geçirgenliği artırarak , hücre içi kalsiyum ve 1,4,5 trifosfat miktarını yükselterek ve hücre depolarizasyonunu sağlayarak etki gösterirler. Ayrıca serbest radikaller kalsiyum ve/veya kalmodulin bağımlı mekanizma ile bir vazokonstriktör olan prostaglandin  $E_2$  ve bir vazodilatatör olan prostoglandin  $I_2$  arasındaki dengeyi prostaglandin  $E_2$  lehine değiştirirler (14).

Yapılan deneysel SAK modellerinde baziler arterde endotel bağımlı relaksasyonun bozulduğu gösterilmiştir (117,118). Endotelial patolojik sürece en fazla yol açan kan komponenti daha önce belirtildiği gibi oksihemoglobindir (20). Bunun nedeni oksihemoglobinin ortamdaki nitrik oksidi (NO) düşürmesi, böylece guanilat siklazı (GC) inaktive etmesi veya oksijen radikal üretimini arttırmasıdır. Hemoglobinin NO'ı bağlaması (119) sonucunda, azalmış GC aktivitesi vazoskonstriksiyonla sonuçlanır . Hino ve arkadaşları (120) maymunlarda SAK sonrası GC ve nöronal nitrik oksid sentaz miktarı değişmeksizin, endotelial nitrik oksid sentaz (eNOS)'da %56 oranında azalma olduğunu göstermişlerdir.

Vermeulen (121) 1996'da SAK sonrası insan BOS'nda ET içeriğinin arttığını, aynı sene Hino ve arkadaşları (122) SAK sonrası maymun serebral arterlerinde ET reseptörlerinin arttığını göstermiştir. Ayrıca, yapılan çalışmalarda tavşan ve ratlarda ET reseptör blokajının vazospazmı yavaşlattığı gösterilmiştir (123,124). SAK sonrası azalmış endotelial NO ve artmış ET etkisi vazospazm gelişiminde etkili olabilir (125). Yine, SAK sonrası ortaya çıkan hipoksi gibi faktörler başka bir şekilde EDCF ve EDRF'lerin normal fizyolojik dengesini değiştirerek indirekt olarak prostosiklin üretimini azaltıp tromboksan sentez aktivasyonuna neden olarak ve NO temizleyen oksijen radikallerinin üretimini sağlayarak (126) vazospazm gelişimine katkıda bulunur.

### **3. İnflamatuvar Yanıt**

SAK sonrası görülen vazospazm patogenezindeki son teori patolojinin hem nörojenik ve hem de klasik inflamatuvar yanıt neticesinde meydana geldiğidir ( 127) Yapılan çalışmalarda, subaraknoid kanama sonrası BOS'da substance P ve kalsitonin gen ile ilişkili peptit konsantrasyonlarında artış gösterilmiştir (128). Nörojenik inflamatuvar yanıtta sorumlu bu maddeler histamin, bradikinin, 5-hidroksitriptamin

ve ET-1 ile beraber kan-beyin bariyerinin bozulmasına yol açarak etkilerini gösterirler .

SAK sonrası ekstravaze olan kan bir takım mekanizmalarla klasik inflamatuvar yanıtın oluşmasına neden olur. Bu mekanizmalar ;

- Eritrositlerin lizisi sonucu hemoglobinin ortaya çıkması
- Lipooksijenaz, siklooksijenaz, NO sentaz enzim aktivitelerinde artış
- ET-1'in etkileri
- Komplement ve trombinin protrombotik ve proinflamatuvar etkileri
- Trombositlerin aktivasyonu ve trombosit kökenli growth faktör üretimi
- Perivasküler ve intramural makrofaj ve granülositlerin adhezyon molekülleriyle etkileşimleri
- Proinflamatuvar sitokinlerin etkileri gibi basamakları içerir.

#### **4. Arter Duvarındaki Yapısal Değişiklikler**

Vazospazm sırasında damarlarda, sadece gelip geçici bir daralma değil, aynı zamanda, ağır vakalarda daha sık olmak üzere, damar duvarının hemen her katında morfolojik değişimler de ortaya çıkmaktadır. Bunlar arasında mikroskobik olarak akut dönemde lamina elastikada kıvrımların oluşması, endotel hücrelerindeki değişimler,subendotel alanda sıvı toplanması ve düz kas hücrelerindeki değişiklikler sayılabilir.Daha sonraki haftada, düz kas hücrelerinde nekroz görülür. Adventisyada lenfosit, plasma ve mast hücreleri ile makrofaj ve bağ dokusunda artış saptanır. İki ay sonra ise düz kas hücrelerinin toplanması ile intimada progressif kalınlaşmalar olmaktadır(129).

Elektron mikroskobik incelemeler ile yapılan çalışmalarda ise endotel hücre tabakalarında vakuolizasyon, interendoteliyal sıkı bağlantılarda bozulma ve endoteliyal dökülme ve luminal mikrotrombozis gibi değişiklikler görülmüştür. Tunika intima, altta kalan internal elastik lamina gibi media katmanının kontraksiyonuna neden olmuştur (130,131).

Hem deneysel hem de insandaki vazospastik damarların özelliği belirgin kalınlaşmış media tabakası ve subaraknoid kanamadan sonra damar duvarında yangısal veya hipertrofik reaksiyonel sekonder değişikliklerdir. Bu nedenle damar duvarı kalınlığı primer olarak vasküler kontraksiyon ve duvar alanında artış,

adventisyanın enflamatuvar infiltrasyonuna bağlıdır (132,133). Vazospazma tunika mediada değişik miktarda myonekroz eşlik eder. Serebral arterlerde eksternal elastik lamina bulunmaz ancak subaraknoid kanamadan sonra adventisya genellikle fibrinve eritrositlere bağlı olarak gelişen granülasyonla sekonder kalınlaşmıştır (134).

## **2.2.6 Serebral Vazospazm Tedavisi**

### **1. Cerrahi Tedavi**

Son yıllarda giderek yaygınlaşan görüş erken cerrahi tedavi ve anevrizmanın kliplenmesi yönündedir. Yapılan çalışmalar vazospazm riskinin yüksek olduğu 4 ile 14. günler arasında yapılan cerrahi tedavinin yüksek morbidite ve mortalitesinin olduğunu göstermiştir. Erken cerrahi tedavi ile kanayan damarın kliplenmesi yeniden kanama riskini azaltmakta, civar dokulardaki pıhtının temizlenmesine neden olmakta ve hipervolemi, hemodilüsyon, hipertansiyon, trombolitik ve anjioplastik tedavi gibi agresif vazospazm tedavi yöntemlerinin uygulanmasına olanak sağlamaktadır (135,136,137).

### **2. 3-H Tedavisi**

Hipervolemi, hemodilüsyon, hipertansiyon 3-H tedavisinin ana bileşenleridir. Bu tedavi ile hastaların nörolojik defisitlerinin düzeldiğini ilk bildirenler Kosnik ve Hunt'tır. Sıvı yüklenmesi ile oluşturulan hemodilüsyon kan viskozitesini azaltır. Bunun sonucu olarak serebral kan akımı, serebral perfüzyon ve mikrosirkülasyon artar (138).

### **3. Damar Düz Kas Kasılmasının Engellenmesi**

Vasküler düz kasların kasılması çizgili kas ve kalp kasından daha farklı mekanizmalarla olmaktadır. Vasküler düz kaslar yavaş, tonik ve uzun süreli kasılırlar. Vasküler düz kasların kasılmasını engellemeye yönelik olarak kullanılan pek çok deneysel ajan klinik çalışmalarda benzer etkinliği gösterememiştir. Nikardipin ve intraarteriyel yüksek doz papaverin uygulamasının erken semptomatik vazospazmı etkin şekilde düzelttiği bildirilmiştir (139,140).

#### **4. Kalsiyum Kanal Blokörleri**

SV sırasında hücre içi kalsiyum düzeyinde artış meydana gelir. Membran depolarizasyonu geliştiği zaman voltaj kontrollü kalsiyum kanalları açılır, hücre içine kalsiyum akışı olur. Serebral damar kasılmasında intrasellüler kalsiyum düzeyi esas olarak ekstrasellüler mesafedeki kalsiyum miktarına bağlıdır. Yapılan çalışmalar Ca kanal blokörü olan nimodipinin damarları genişletmekten ziyade iskemik nöronal hücrelere kalsiyum girişini engellediği, nöronal hasarı ve ölümü önlediği ve semptomatik vazospazm sıklığını % 10'un altına indirdiği yönündedir (141,142).

#### **5. Anjioplasti**

Gelişen endovasküler teknik ve teknoloji endovasküler girişimlerin serebral vazospazm tedavisinde de bir seçenek olarak ortaya çıkmasını sağlamıştır. Bu yöntemlerden başlıca ikisi balon anjioplasti ve intrarteriyel papaverin uygulamasıdır. Balon anjioplastiyle yararlı sonuçlar bildirilmesine karşın işleme bağlı mortalitenin, %2- %5 civarında olması, bu yöntemin vazospazm tedavisinde yaygın olarak kullanılmasını engellemiştir (143,144,145). Uzun yıllardan beri nöroşirürjiyenler tarafından spazmı çözmek üzere topikal olarak kullanılan papaverinin intraarteriyel selektif enjeksiyonu vazospazm tedavisinde kullanılmaktadır. İntraarteriyel papaverinin spastik damarı açmakta başarılı olduğu, ancak bu etkinin kısa sürede kaybolduğu ve tekrarlayan enjeksiyonlar yapılması gerektiği bildirilmiştir (146,147,148,149).

#### **6. Antioksidan ve Antiinflamatuvar Ajanlar**

Yapılan deneysel çalışmalarda antiinflamatuvar ajan olan ibuprofen ve metilprednizolon ile antioksidan ajan olan 21-aminosteroid ve deferroksamin'in vazospazmda etkili oldukları gösterilmişse de klinik düzeyde etkileri görülememiştir (150-151).



### 2.3. Apoptozis

Apoptozis ve nekroz, hücre ölümünde rol oynayan mekanizmalardır. Hücrenin intiharı olarak adlandırılan apoptozis, organizmanın biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerinin, çevredeki komşu hücrelere zarar vermeden ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen, programlı, biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerin olduğu bir hücre ölüm şeklidir. İlk kez 1972 yılında İskoçyalı araştırmacılar olan Kerr ve arkadaşları tarafından “ayrı düşmek” anlamına gelen bu terim kullanılmış, canlı dokulardaki hücre azalmalarından sorumlu olan, yapısal olarak özgün bir hücre ölüm tipi olarak tanımlanmıştır (152). Bu olay dokulardaki hücre sayısının kontrol altında tutulmasındaki en önemli yollardan biridir. Genetik olarak programlanmış olan apoptozis, intrinsik faktörler ile kontrol edilmekle birlikte dışarıdan gelen ekstrinsik sinyaller de hücre zarındaki reseptörler aracılığıyla bu intihar yolunu uyarabilmektedir (153,154,155). Apoptozise yol açan sinyaller aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir (156).

#### 1)Hücre Dışı Sinyaller

- Çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği
- Ölüm reseptörlerinin aktivasyonu
- FAS-FAS ligand aracılı apoptozis
- TNF aracılı apoptozis
- Sitotoksik T lenfosit aracılı apoptozis
- Dış etmenler (iskemi, radyasyon, toksinler)

#### 2)Hücre içi sinyaller

- Deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı
- Hücre içi  $Ca^{++}$  düzeyi artışı
- Hücre içi pH azalışı
- Metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları.

Apoptotik süreç ilerledikçe DNA'nın internükleozomal bölgelerinden 180–200 baz çifti veya katları olacak şekilde kırılmalar göstermekte ve kırılan bu DNA parçaları agaroz jel elektroforezinde merdiven görüntüsü oluşturmaktadır. Bu bulgu

apoptozisin ilk biyokimyasal kanıtı olarak literature geçmiştir ve özellikle bu tarihten itibaren apoptozisle ilgili yapılan çalışmaların sayısında hızlı bir artış olduğu gözlenmiştir (154,155, 157).

Yapım (mitozis) ve yıkım (apoptozis) arasında kontrollü bir denge vardır. Bu dengenin bozulması birçok önemli hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır (158,159,160). Bu denge apoptozis lehine bozulursa; kronik viral hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, karaciğer yetmezliği, iskemi/reperfüzyon hasarı , insülin bağımlı diabetes mellitus ve miyokard enfarktüsü gibi hastalıklar oluşmaktadır. Denge mitozis yönüne kaydığında ise otoimmünite, kanser oluşmaktadır (161,162,163,164,165). Bu nedenle etiyojisi tam olarak açıklanamayan pek çok hastalığın aydınlatılmasında ve tedavisinde ileride kilit rol oynayabilecek, yeni keşiflere açık bir konudur.

Apoptozisdeki morfolojik değişikliklere topluca bakacak olursak; hücre daha küçük boyutta ve sitoplazma daha yoğundur. Kromatin periferde nükleer membranın altında yoğunlaşmış olarak toplanır. Sitoplazmik baloncuklar oluşur ve sonrasında nükleer parça içerebilen, membranla çevrili parçacıklar haline gelir. Bu apoptotik cisimler komşu hücre ve makrofajlarca fagosite edilip lizozomların içinde parçalanır. Komşu hücre proliferasyon ve migrasyonu ile apoptotik boşluk doldurulur. Tüm bunlar sırasında bir dizi biyokimyasal olayda gerçekleşmektedir. Kaspazlar ile protein hidrolizi, transglutaminaz aktivitesi ile aşırı proteinler çapraz bağlanır, DNA internükleozomal bölgelerinden 180–200 baz çifti veya katları olacak şekilde kırılmalar oluşur. Apoptotik hücrelerin hücre zarı dışında fosfatidil serin ve trombospondin ortaya çıkar. Bu sayede hücre fagositoz için tanınır (156).

- 1) Mitokondri membran yapı bozukluğu,
- 2) Sitoplazma kondensasyonu,
- 3) Kromatinin(çekirdek) kırılması ve kondensasyonu
- 4) DNA fragmentasyonu,
- 5) Membran blebbing,
- 6) Apoptotik body oluşumu,
- 7) Fagositoz evreleri bulunur.

Apoptozisin mekanizmasında Bcl-2 gen ailesi ve kaspazların rol aldığı düşünülmektedir. Bcl-2 gen ailesinin (B hücre lenfosit/losemi- 2), apoptozisi

indükleyen pro-apoptotik (Bax, Bid, Bim, Bcl-X5 Bad, Bak vs.) ve apoptozisi baskılayan anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, E1B-19K, CED-9) alt grubarı bulunmaktadır (166,167). Hücrenin yaşamını sürdürmesinde bu iki grubun arasındaki denge (Bcl-2/Bax) önemlidir. Şayet Bax/Bcl-2 oranı yeterince artarsa, sitokrom c mitokondriden salınmakta ve bir seri basamak yoluyla caspase-3 aktive olmaktadır (168).

Bcl-2 gen ailesinin yapısında merkezi konumda hidrofobik bir  $\alpha$  heliks ve bunu çevreleyen 5 tane amfipatik  $\alpha$  heliks mevcuttur. Yapılarında BH1, BH2, BH3 domainleri bulunmakta, anti-apoptotik üyelerde ek olarak BH4 bölgesi de yer almaktadır. Bu bölgenin apoptozisin diğer hücrel yollarla ilişki kurmasında gerekli olduğu düşünülmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar antiapoptotik Bcl-2 gen ailesinin pek çok kanser türünde aşırı miktarda eksprese olduğunu göstermektedir (158,159, 169,170, 171).

Bcl-2 mitokondri dış membranında bulunur ve iyon transportunu düzenlerken (176); Bax sitozolde bulunur ve apoptotik uyarılar sonucu mitokondri membranına bağlanıp ‘pore’ oluşmasını sağlar. Böylece seçimli iyon geçirgenliği bozulmakta ve sitokrom-c, apoptozis induktör faktör(AIF) ile birlikte mitokondriden sitoplazmaya salınmaktadır. Bunun ardından da apoptozise kadar giden olaylar zinciri ortaya çıkmaktadır.

Diğer aracı molekül kaspazlardır. Kaspaz (caspase= cystein dependent aspartate-specific proteases) kelimesi enzimin katalitik aktivesinden gelmektedir. ‘‘C’’ sistein proteaz aktivitesinden, ‘‘aspase’’ ise proteinlerin içindeki aspartik asitten sonraki kısımları parçalamasından dolayı verilmiştir. İnaktif öncü moleküller olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein içerdiğinden sistein proteazlar olarak adlandırılan bir grup enzimdir (158, 173, 174).

Apoptotik süreçte şelale tarzında birbirlerini aktifleştirirler. Bazıları başlatıcı kaspaz (kaspaz 2, 8, 9 ve 10), bazıları da efektör kaspazlardır (kaspaz 3, 6, 7). Başlatıcı kaspazlar, ölüm sinyallerini efektör kaspazlara iletirler. Efektör kaspazlar ise hücre iskelet proteini olan aktin, nükleer membran proteini lamin A, DNA tamirinde rol alan poli adenozin difosfat(ADP) riboz polimeraz gibi proteinleri parçalayarak apoptotik hücre morfolojisini meydana getirirler. Kaspazlar indirekt olarak  $Ca^{+2}$  bağımlı endonükleazları aktive ederek DNA’da 180–200 ve katları

olacak şekilde baz çiftine ayrılmalarına yani fragmantasyonların oluşmasına neden olurlar (175,176,177). Enflamatuvar kaspazlar ise (kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14) lenfokin üretiminden sorumludur.

Apoptozun hücre ölümüne neden olan önemli bir hücre içi yolak olduğu ve p53 geni tarafından modüle edilen apoptozun inhibe edilmesinin mortalite ve klinik sonuçlar üzerinde olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Otopsi serilerinde de arteriyel kanamadan uzak bölgelerde de hem damarsal yapılarda hem de kortikal infarkt alanlarında apoptozun ortaya çıktığı gösterilmiştir (34). Subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral vazospazmda apoptoziste artış saptanmıştır. Fakat apoptozisinin serebral vazospazmın bir nedenimi yoksa bir sonucumu olduğu tartışma konusudur(35,36).

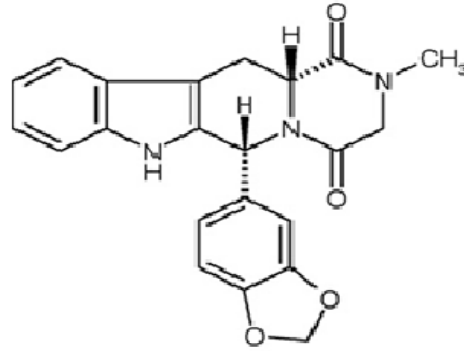
Arteriel duvarın incilmesi, hücre migrasyonu, myonekroz, endotelial hücre yıkımı ile gelişen hücre ölümü ve kontraksiyonu vazospazm oluşumuna sebep olmaktadır. İn vitro çalışmalar göstermiştir ki oksihemoglobin endotelial hücrelerde apoptozisi artırır. Endotelial apoptozis sonucu internal lamina kollagenlerinin endotelial ayrışması ile platelet yapışması ve trombus oluşumu kaçınılmaz olarak gözlemlenir. Endotelial hücre hasarı nitrik oksit üretiminde azalmaya neden olarak vasküler tonda balans bozukluğuna neden olur. Bu hasar nedeni ile düz kas hücreleri direkt olarak kandaki vazoaaktif ajanlarla temas eder ve kontraksiyon oluşur. Tüm bunlar vazospazma neden olarak lümeni daraltır. Apoptoza uğrayan hücrelerin dolduran komşu hücre proliferasyonları da damar duvarının kalınlaşmasına katkıda bulunur. Apoptoziste en önemli ölüm sinyalleri caspase ailesine aittir. Caspase inhibitörleri ile yapılan az sayıda hayvan kaynaklı çalışmalar bulunmaktadır (37,38).

Vasküler endotelial hücrelerin yıkımı ile vazospazm oluşumu ve bu etkileşim sonucunda da apoptozisin tetiklenmesi de geçmiş çalışmalarda ortaya konulmuş mekanizmalardır (39). Caspase molekülleri, özellikle caspase-3, apoptotik süreçte anahtar rol oynayan esas proteinlerdir. Serebral vazospazm oluşumunda apoptozisin rolü hayvan modeli SAK çalışmalarında gösterilmiş olup, yine bu çalışmalarda caspase-3 inhibitörlerinin oksihemoglobin katkılı apoptozisi azalttığı gösterilmiştir (40,41). Yine SAK'lı hastaların BOS ve serum örneklerinde kontrol grubu hastalarına göre caspase-3 değerleri anlamlı yüksek bulunmuştur. BOS caspase-3

düzeylerinin 7. güne doğru artması, apoptozis hızının ve nöron hasarının, SAK sonrası ilerleyen günlerde giderek arttığını göstermektedir (42).

#### 2.4. Tadalafil

cGMP hidrolizini sağlayan fosfodiesterazların, inhibisyonunun teorik olarak vazodilatasyon neden olabileceği bilinmektedir. Birçok izoenzimi bulunmasına rağmen özellikle PDE-5, cGMP hidrolizinde daha güçlü bir etkiye sahiptir. Primer olarak erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan üç PDE-5 inhibitörü bulunmaktadır. Bunlar sildenafil, vardenafil ve tadalafil'dir. Tadalafil bu üç ilaç içerisinde PDE-5' i daha güçlü ve uzun süreli olarak inhibe eder (24).



Tadalafil

Şekil 3.1.Tadalafil Kimyasal Formülü (182)

Tadalafil, erektil disfonksiyonun tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Tadalafil, siklik guanozin monofosfatı (c-GMP) yıkan fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enziminin güçlü, selektif ve geri dönüşümlü bir inhibitörüdür. Ampirik formülü C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ve moleküler ağırlığı 389.41'dir (şekil 3.1) (182,183). Nitrik oksit (NO) nonadrenerjik, nonkolinerjik bir nörotransmitter olup, çözünebilir guanil siklazı aktive eder. Bunun sonucu olarak da düz kas relaksasyonuna sebep olan cGMP'nin hücre içi konsantrasyonunu artırır. Birçok dokuda cGMP'nin hidrolitik yıkımından sorumlu olan enzim PDE5 enzimidir. PDE5, korpus kavernozumun düz kasında, damarlara ve iç organlara ait düz kaslarda, çizgili kaslarda, trombositlerde, böbreklerde, akciğerde ve beyinde bulunan bir enzimdir (25,26). Vazodilatatör etkileri nedeni ile günümüzde pulmoner hipertansiyon tedavisinde de kullanılmaktadır (27,28,29).

Tadalafilin PDE5 üzerindeki inhibitör etkisi diğer fosfodiesterazlara göre daha güçlüdür. Tadalafilin PDE5 üzerine etkisi, PDE1, PDE2, PDE4 ve PDE7 enzimlerinin üzerine olan etkisine kıyasla 10.000 kattan daha fazladır. Tadalafilin, PDE5'e olan etkisi, PDE8, 9, 10'a olan etkisine oranla 9.000 kez daha fazla, PDE11'e göre ise 14 kez daha fazladır. Tadalafil esas olarak sitokrom P450 (CYP) 3A4 izotipi tarafından metabolize edilir, dolaşıma katılan ana metaboliti metilkatekol glukuronid'tir. Bu metabolitin PDE5 üzerine etkisi tadalafilden 13.000 kez daha azdır. Sağlıklı deneklerde yarılanma ömrü 17.5 saattir. Tadalafil inaktif metabolitler halinde, büyük ölçüde feçesle ve daha az oranda idrarla atılır (28,29).

Kim ve arkadaşları PDE-5 in relatif selektif inhibitörü olan zaprinast'ın hücre içi cGMP yi artırarak vazodilatasyon yaptığını göstermişlerdir (30). Atalay ve arkadaşları da deneysel subaraknoid kanama modelinde sildenafil in serebral vazospazmdaki vazodilatatör etkilerini göstermişlerdir (31). Diomed ve arkadaşları yine sildenafil ile yaptıkları deneysel çalışmada PDE-5 inhibitörlerinin subaraknoid kanamanın neden olduğu serebral vazospazmda tedavi amaçlı kullanılabileceğini belirtmişlerdir (32). Zhanga ve arkadaşları ratlarda stroke modelinde tadalafil'in anjiogenes ve nörojenezi arttırdığını ve inme tedavisinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir (33). Gül ve arkadaşları deneysel subaraknoid kanama modelinde vardenafil'in serebral vazospazma etkisini göstermişlerdir (180). Önal ve arkadaşları PDE-3 inhibitörü olan cilastazol'un serebral vazospazma etkisini göstermiştir (181). Son yıllarda Kökdemir ve arkadaşlarının yaptığı deneysel serebral vasospazmda tadalafil'in etkinliğini anjiografik olarak göstermişlerdir (182). cGMP'nin hidrolizini engelleyen fosfodiesteraz inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar alınmıştır.

#### Fosfodiesterazlar ve fonksiyonları

PDE1 Vasküler düz kas tonusu

PDE2 Adrenokortikosteroid sentezi

PDE3 Trombosit agregasyonu, glukoz sentezi

PDE4 Vasküler ve viseral düz kas tonusu

PDE5 Düz kas tonusu, trombosit agregasyonu

PDE11 Fonksiyonu bilinmemektedir

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 25.11.2009 tarihli ve 132 karar numaralı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurul kararı alınarak yapılmıştır.

Bu çalışmada toplam 108 adet erişkin, her biri 250-350 gram ağırlığında, Spraque-Dawley cinsi dişi rat kullanıldı, 49 adeti değerlendirmeye alındı. (İntroperatif postoperatif ölüm, enfeksiyon, kan gazı değerlerinin normal olmaması, dekapitasyon sırasında baziler arter kopması gibi nedenlerle bir kısmı çalışmadan çıkartılmıştır). Ratlar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi TİCAM hayvan laboratuvarından temin edildi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama Yönergesine sadık kalındı. Sıçanlar oda ısısında tutuldu ve yemek-içmekte serbest bırakıldı. Subaraknoid kanama uygulanan ratlar 'double-hemorrhage model' gereği, 48 saat sonra ikinci kanamaya maruz bırakıldı (183).

Sıçanlar 4 gruba ayrıldı (normal, serum fizyolojik uygulanan, subaraknoid kanama oluşturulan, subaraknoid kanama oluşturulup tadalafil uygulanan) ve normal grup haricindeki diğer gruplar 3. ve 7. günler olmak üzere ikiye ayrıldı.

- **Gruplar**

1.grup (kontrol grubu, n:7) : Herhangi bir müdahale yapılmadı. Perfüzyon-fiksasyon yöntemiyle dekapite edildi. Baziler arter duvar kalınlığına , baziler arter lümen alanına ve baziler arter duvarındaki apoptoz sayısına bakıldı.

2. grup (serum fizyolojik grubu, n:7 3.gün, n:7 7.gün) : Subaraknoid kanama oluşturulmaksızın sisterna magnaya serum fizyolojik verildi. 3. ve 7.gün perfüzyon-fiksasyon yöntemiyle dekapite edildi. Baziler arter duvar kalınlığına ,baziler arter lümen alanına ve baziler arter duvarındaki apoptoz sayısına bakıldı.

3. grup (subaraknoid kanama grubu, n:7 3.gün, n:7 7.gün): Sisterna magnaya, 48 saat arayla, iki defa otolog kan verildi. 3. ve 7. gün Perfüzyon-fiksasyon yöntemiyle dekapite edildi. Baziler arter duvar kalınlığına ,baziler arter lümen alanına ve baziler arter duvarındaki apoptoz sayısına bakıldı.

4. grup (subaraknoid kanama + ilaç grubu, n:7 3.gün, n:7 7.gün): Sisterna magnaya, 48 saat arayla, iki defa otolog kan verildi. Daha sonra tadalafil (Cialis-Lily ilaçları) gastrik gavaj yoluyla uygulandı. 3. ve 7. gün perfüzyon-fiksasyon yöntemiyle dekapite edildi. Baziler arter duvar kalınlığına ,baziler arter lümen alanına ve baziler arter duvarındaki apoptoz sayısına bakıldı.

Tüm gruplarda anestezi 5 mg/kg xylazin ve 50 mg/kg ketamin hidroklorid ile sağlandı. Anestezik ajanlar intramusküler olarak uygulandı. Sıçanlar, 3. günde erken vazospazm olasılığı düşünülerek ve 7. günde geç vazospazm olasılığı düşünülerek dekapite edildi. Anestezi sonrası bütün denekler spontan solunuma bırakıldı.

1. grup = Kontrol grubuna, uygulanan anestezinin ardından (şekil 3.5), torakotomi yapılarak (şekil 3.6) kalbin sağ airuculası kesildi (şekil 3.7) ve sol ventrikülden aorta içine girilerek (şekil 3.8) 100 ml serum fizyolojik ardından da 200 ml %4 formaldehit infüzyonu yapılarak perfüzyon-fiksasyon sağlandı (şekil 3.9). Daha sonra sıçanlara, oksipital kemikten başlayarak kraniektomi yapıldı ve beyin dokusu çıkartılarak (şekil 3.10) formaldehit içerisine kondu.

2. grup = Serum fizyolojik grubuna, uygulanan anestezinin ardından, ratlar başları fleksiyona gelecek şekilde yüzüstü yatırıldı. Oksipitoservikal bölgeleri traşlanıp povidon iyot ile bölge temizliği sağlandı. Vertikal, suboksipital cilt insizyonu ile cilt, cilt altı dokular geçildi, kaslar ayrılarak atlanto-oksipital membrana ulaşıldı. Steril insülin iğnesiyle atlanto-oksipital membrandan girildi. Hafif negatif basınç uygulandı ve BOS geldiği görüldü. Daha sonra insülin enjektörü içinden 0,5 ml serum fizyolojik sisterna magnaya verildi. Anatomik katlar usulüne uygun kapatıldı ve sıçanlar yaklaşık 15 dakika boyunca tredelenburg pozisyonunda yatırıldı. İşlemin 3. gününde 7 adet sıçana, 7. gününde 7 adet sıçana perfüzyon-fiksasyon yöntemi uygulandı ve beyin dokuları çıkartılarak formol içerisine kondu.

3. grup = Subaraknoid kanama grubuna, uygulanan anestezinin ardından, ratlar başları fleksiyona gelecek şekilde yüzüstü yatırıldı. Oksipitoservikal bölgeleri traşlanıp povidon iyot ile bölge temizliği sağlandı (şekil 3.1). Vertikal, suboksipital cilt insizyonu ile cilt, cilt altı dokular geçildi, kaslar ayrılarak atlanto-oksipital membrana ulaşıldı (şekil 3.2). Steril insülin iğnesiyle atlanto-oksipital membrandan girildi, hafif negatif basınç uygulanarak BOS geldiği görüldü. Daha sonra insülin iğnesi içinden 0.5 ml otolog kuyruk kanı (şekil 3.3) sisterna magnaya yavaş bir şekilde enjekte edildi (şekil 3.4). Anatomik katlar usulüne uygun kapatıldı ve sıçanlar yaklaşık 15 dakika boyunca tredelenburg pozisyonunda yatırıldı. 48 saat takip edilen ratlara, aynı yöntemle 0.5 ml otolog kuyruk kanı yavaş bir şekilde enjekte edilerek ikinci kere kanama sağlanmış oldu. İşlemin 3. gününde 7 adet sıçana, 7. gününde 7



adet sıçana perfüzyon-fiksasyon yöntemi uygulandı ve beyin dokuları çıkartılarak (şekil 3.11) formol içerisine kondu.

4. grup = Subaraknoid kanama + ilaç grubuna, uygulanan anestezinin ardından, ratlar başları fleksiyona gelecek şekilde yüzüstü yatırıldı. Oksipitoservikal bölgeleri traşlanıp povidon iyot ile bölge temizliği sağlandı. Vertikal, suboksipital cilt insizyonu ile cilt, cilt altı dokular geçildi, kaslar ayrılarak atlanto-oksipital membrana ulaşıldı. Steril insülin enjektörüyle atlanto-oksipital membrandan girildi, hafif negatif basınç uygulanarak BOS geldiği görüldü. Daha sonra insülin İğnesi içinden 0.5 ml otolog kuyruk kanı sisterna magnaya yavaş bir şekilde enjekte edildi. Anatomik katlar usulüne uygun kapatıldı ve sıçanlar yaklaşık 15 dakika boyunca tredelenburg pozisyonunda yatırıldı. 48 saat takip edilen ratlara, aynı yöntemle 0.5 ml otolog kuyruk kanı yavaş bir şekilde enjekte edilerek ikinci kere kanama sağlanmış oldu. Bu işlemden sonra ratlara gastrik gavaj ile her gün, 10 mg/kg dozda tadalafil (Cialis-Lily ilaçları) uygulandı. İşlemin 3. gününde 7 adet sıçan, 7. gününde 7 adet sıçan perfüzyon-fiksasyon yöntemi ile dekapite edilerek, beyin dokuları çıkartıldı ve formol içerisine kondu.

- **Işık Mikroskopi**

Alınan dokuların histolojik incelemesi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında yapılmıştır. Beyin dokuları, baziler arter lokalizasyonu göz önünde bulundurularak mezensefalon ve pons kısımları merkezde olacak şekilde küçültüldü. Daha sonra 3 saat boyunca çeşme altında soğuk suda yıkandı. Ardından sırasıyla 70 derece alkolde 1 gece, 80 derece alkolde 1 saat, 90 derece alkolde 1 saat, 96 derece alkolde 1 saat, 96 derece alkolde yarım saat, 100 derece alkolde 45 dakika, ksilolde 30 dakika (iki defa), parafinde 1 saat ve tekrar parafinde 2 saat (iki defa) bekletilerek dokular blok haline getirilmiş oldu. Bloklara, mikrotomda 15 ve 30 mikron trim yapıldı. Sonra 5 mikronluk kesitler alındı. Her bloktan ikişer lam, 4'er kesit alındı. Bu kesitlerin 60 derecede etüvde parafini eritildi. Boyama işlemi için ksilolde 5 dakika (3 kez) bekletildi. Daha sonra 96 derece alkolde 3 dakika (2 kere), 90 derece alkolde 3 dakika, 80 derece alkolde 3 dakika, 70 derece alkolde 3 dakika ve distile suda 5 dakika bekletildi. Ardından 1 dakika hematoxylin ile boyandı, lamalar çeşme suyunda yıkandı ve 5 dakika süreyle eozin ile

boyandı. Yine 70 derece alkolde 2 dakika, 80 derece alkolde 2 dakika, 90 derece alkolde 2 dakika, 96 derece alkolde 2 dakika (2 defa), ksilode 30 dakika (2 defa) bekletildi (eozinin akmaması için bu süre kısa tutuldu). Ardından lamalar entellam ile kapatıldı. 30 derecede kurutuldu ve boyama işlemine son verildi.

Hemotoksilen-eosin ile boyanan preparatlar kontrol edildikten sonra Diğer kesitler ApopTag Plus Peroksidaz In Situ Apoptozis Detection Kit ( Chemicon, USA cat no:7101) ile immunohistokimya yöntemi kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi:

a) Her biri 5'er dakika olacak şekilde, 3 defa ksilolde ve 2 kez 5' er dakika absolut alkolde bekletildikten sonra kesitler %95 etanolde 3 dakika, %70 alkolde 3 dakika daha bekletilerek deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemleri tamamlandı.

b) Kesitler PBS (phosphate buffered saline - fosfat tampon solusyonu, pH: 7,4) ile 5 dakika yıkandı. Daha sonra PBS içerisinde dilue edilen 20 µg/ml proteinaz K ile oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.

c) Daha sonra distile su ile yıkanan kesitler endojenez peroksidaz aktivitesini engellemek amacıyla taze hazırlanmış %3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solusyonunda 15 dakika bekletildi.

d) Bu işlemi takiben kesitler equilibration buffer ile muamele edildikten sonra DNA fragmanlarının işaretlenmesi amacıyla TUNEL reaksiyonu, Tdt enzimi ile 37°C'de 60 dakika inkube edilerek gerçekleştirildi.

e) Sonra kesitler hızlıca yıkandı ve enzimle birleşmemiş nükleotidler uzaklaştırıldı.

f) Kesitler 1'er dakikadan 3 kez PBS ile yıkandı. Sonra antidigoksinin peroksidaz konjugat ile 30 dakika oda sıcaklığında inkube edildi.

g) Daha sonra kesitler 4 kez PBS ile 2' şer dakika yıkandı ve taze hazırlanan % 0,005 (w/v) 3,3'-diaminobenzidin ile işaretlenen DNA fragmanlarının görüntülenmesi için oda ısısında 10 dakika inkube edildi.

h) Zemin boyaması %0,5'lik metil yeşilinde 10 dakika tutularak yapıldı. Distile su ile yıkandıktan sonra % 100 n-butanol ile dehidrate edildi. Son olarak kapatma balzamu uygulanarak lamel ile kapatıldı.

Kesitlere ait görüntüler digital görüntüleme sistemiyle, Dp controller programı kullanılarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Olympus marka mikroskop ile 4 lük, 10 lük ve 100'lük büyütme alarak, internal elastik laminada kıvrımlaşma, fragmantasyon, düz kasta nekroz, endotel hücrelerinde distorsiyon ve vakuolizasyon olup olmadığı değerlendirildi. Osiris sürüm 4.19 bilgisayar programı kullanılarak damar lümen alanı ve damar duvar kalınlığı hesaplandı. Damar duvar kalınlığı hesaplanırken objektif olunabilmesi için 4 ayrı, birbirine paralel noktadan ölçüldü ve bunların ortalaması alındı. TUNEL metodu ile hazırlanan örneklerde baziller arter duvarındaki metil yeşili ile boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler ApopTag pozitif olarak değerlendirildi.

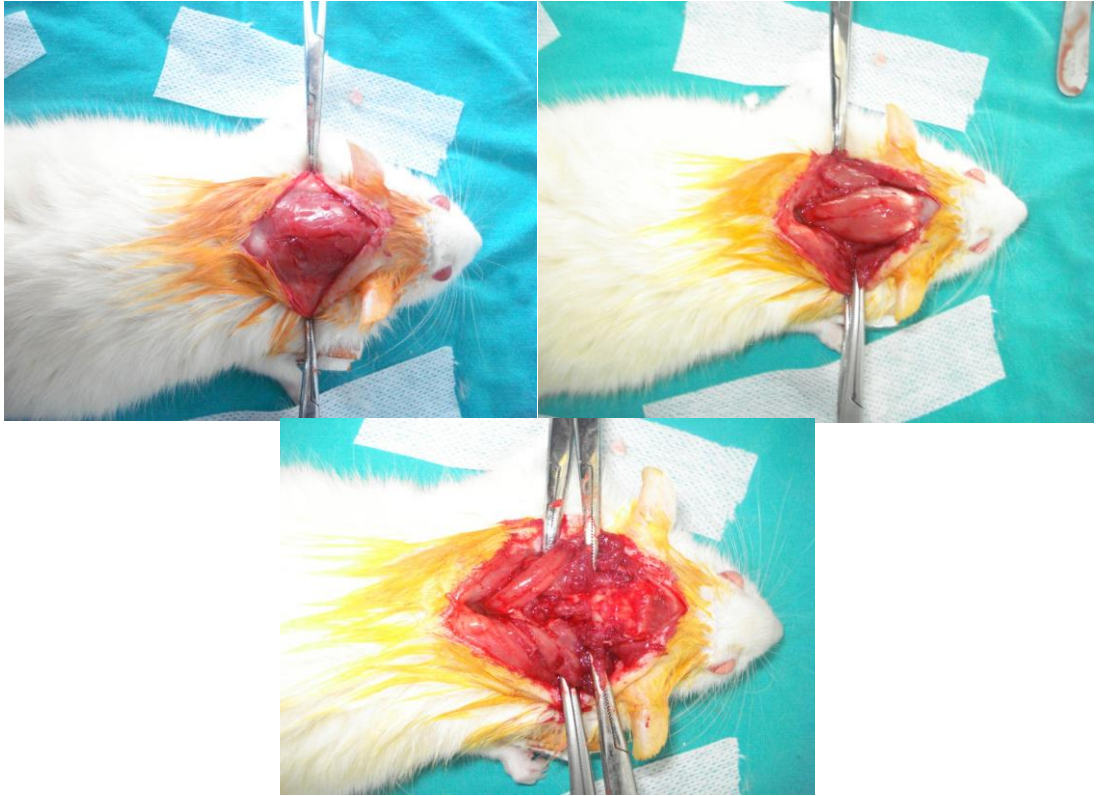
Ayrıca, ratların nabızı ve tansiyonu kuyruklarından, MAY BPHR 9610-PC Tail-Cuff İndirect Blood Pressure Recorder tansiyon ve nabız ölçme cihazı kullanılarak ölçüldü ve kaydedildi.

- **İstatistiksel Değerlendirme**

İstatistiksel çalışmada gruplardan elde edilen verilere, Varyans analizi testi, Post-hoc testi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi, Student-Newman-Keuls Methodu uygulandı. P anlamlılık değeri 0,05 olarak kabul edildi.(  $P < 0,01$  \*\*,  $P < 0,001$  \*\*\* olarak değerlendirildi)



Şekil 3.1. İşlem öncesi verilen pozisyon ve bölge temizliği



Şekil 3.2. Vertikal cilt insizyonu sonrası occipito-servikal diseksiyon



Şekil 3.3. İşlem öncesi otolog kuyruk kanı alınması



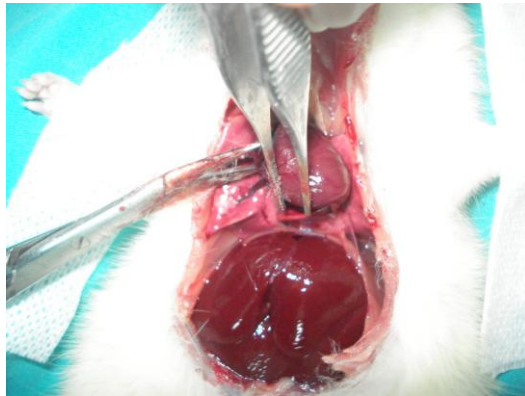
Şekil 3.4. Atlanto-occipital membrandan sisterna magna'ya otolog kan enjeksiyonu



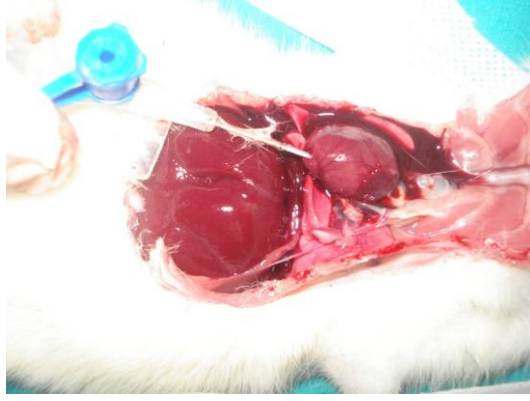
Şekil 3.5. Perfüzyon-fiksasyon için verilen pozisyon



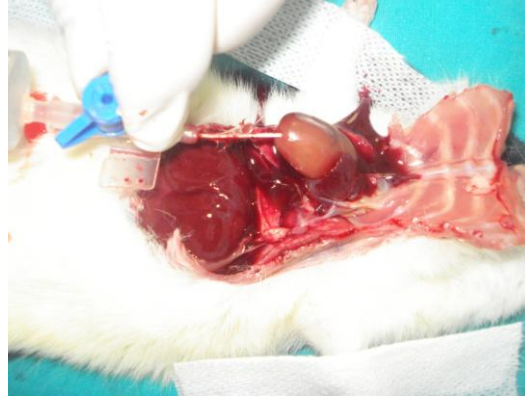
Şekil 3.6. Perfüzyon-fiksasyon için yapılan torakotomi



Şekil 3.7. Kalbin sağ auriculasının kesilmesi



Şekil 3.8. Kalbin sol ventrikülüne girilmesi



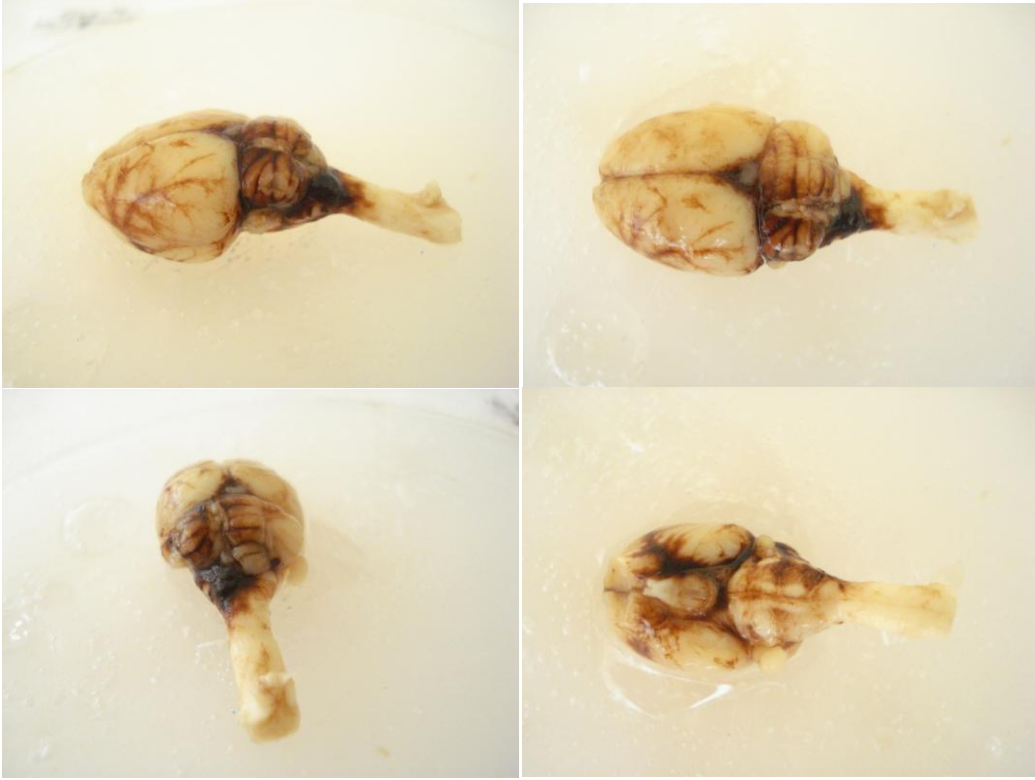
Şekil 3.9. Formaldehit infüzyonu





Şekil 3.10. Kontrol grubundan alınan beyin dokusu





Şekil 3.11. Subaraknoid kanama oluşturulan grubun beyin dokusu

#### 4.BULGULAR

Tüm gruplara ait damar duvar kalınlığı ve damar lümen alanı ölçümleri tablo 4.1-9'da gösterilmiştir. Gruplardan elde edilen verilere, Varyans analizi testi, Post-hoc testi , Tukey çoklu karşılaştırma testi , Student-Newman-Keuls Methodu uygulandı. P anlamlılık değeri 0,05 olarak kabul edildi. ( $P < 0,01$  \*\*,  $P < 0,001$  \*\*\* olarak değerlendirildi)

Tablo 4.1. Kontrol grubu

NORMAL GRUP n:7	DAMAR LÜMEN ALANI $\mu\text{m}^2$	DAMAR DUVAR KALINLIĞI $\mu\text{m}$	APOPTOZ SAYISI
Rat 1	76214	15,0	54
Rat 2	59704	12,77	33
Rat 3	80778	16,27	42
Rat 4	44140	11,27	27
Rat 5	73190	12,9	34
Rat 6	70044	11,6	28
Rat 7	56700	13,2	41
Ortalama	65824,29	13,28	37
Standart sapma	12874,64	1,78	9,45

Tablo 4.2. Serum fizyolojik 3.gün grubu

NORMAL GRUP n:7	DAMAR LÜMEN ALANI $\mu\text{m}^2$	DAMAR DUVAR KALINLIĞI $\mu\text{m}$	APOPTOZ SAYISI
Rat 1	67421	15,03	79
Rat 2	53761	11,1	50
Rat 3	53371	10,5	45
Rat 4	60597	14,6	76
Rat 5	53189	14,35	59
Rat 6	61780	11,8	56
Rat 7	53400	12,1	82
Ortalama	57645,57	12,78	63,85
Standart sapma	5665,85	1,84	14,93

Tablo 4.3. Serum fizyolojik 7.gün grubu

NORMAL GRUP n:7	DAMAR LÜMEN ALANI $\mu\text{m}^2$	DAMAR DUVAR KALINLIĞI $\mu\text{m}$	APOPTOZ SAYISI
Rat 1	75075	11,0	33
Rat 2	62933	13,58	48
Rat 3	72304	15,3	49
Rat 4	55140	12,1	44
Rat 5	57769	14,6	54
Rat 6	62648	12,5	47
Rat 7	61310	12,43	57
Ortalama	63882,71	13,07	47,42
Standart sapma	792,04	1,50	7,72

Tablo 4.4. Subaraknoid kanama 3.gün grubu

NORMAL GRUP n:7	DAMAR LÜMEN ALANI $\mu\text{m}^2$	DAMAR DUVAR KALINLIĞI $\mu\text{m}$	APOPTOZ SAYISI
Rat 1	41074	19,85	63
Rat 2	47793	19,65	60
Rat 3	60977	22,5	81
Rat 4	54311	17,75	52
Rat 5	50585	19,3	53
Rat 6	23768	18,8	48
Rat 7	18536	19,6	46
Ortalama	42433,43	19,63	57,57
Standart sapma	15821,53	1,45	11,98

Tablo 4.5. Subaraknoid kanama 7.gün grubu

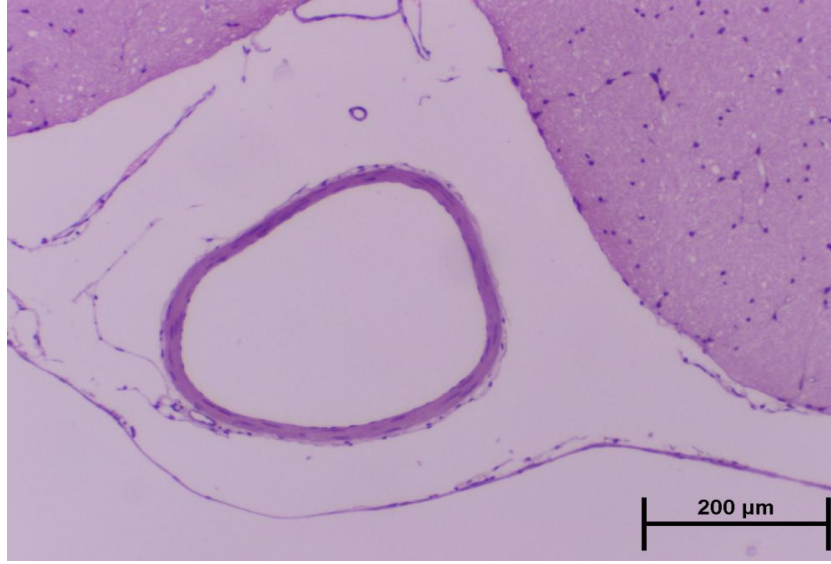
NORMAL GRUP n:7	DAMAR LÜMEN ALANI $\mu\text{m}^2$	DAMAR DUVAR KALINLIĞI $\mu\text{m}$	APOPTOZ SAYISI
Rat 1	30677	34,0	103
Rat 2	57303	19,1	72
Rat 3	31222	16,81	69
Rat 4	35266	15,25	48
Rat 5	22681	16,45	56
Rat 6	8593	19,2	89
Rat 7	32805	15,42	55
Ortalama	31221	19,46	70,28
Standart sapma	14630,99	6,60	19,83

Tablo 4.6. Subaraknoid kanama 3.gün + Tadalafil grubu

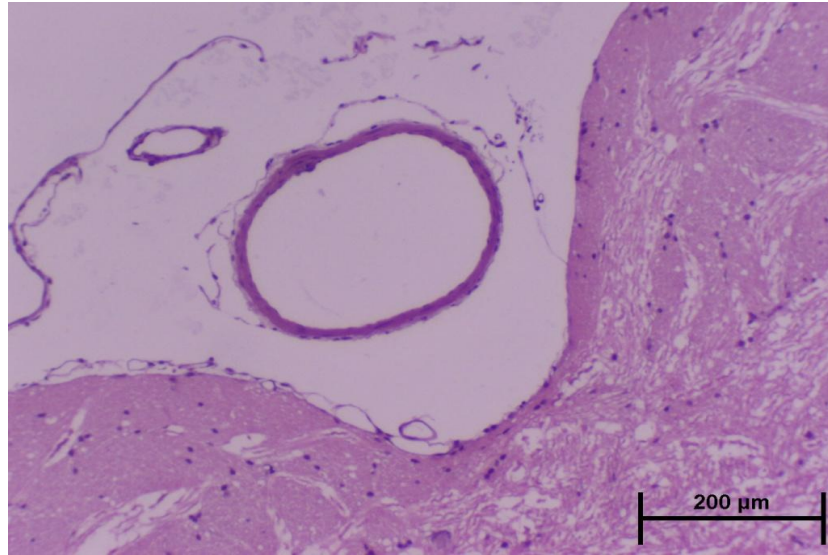
NORMAL GRUP n:7	DAMAR LÜMEN ALANI $\mu\text{m}^2$	DAMAR DUVAR KALINLIĞI $\mu\text{m}$	APOPTOZ SAYISI
Rat 1	71382	13,7	42
Rat 2	63281	12,8	38
Rat 3	64420	16,6	47
Rat 4	77552	13,7	43
Rat 5	54483	14,0	45
Rat 6	48108	14,6	46
Rat7	58410	13,9	56
Ortalama	62519	14,18	45,28
Standart sapma	9982,28	1,19	5,58

Tablo 4.7. Subaraknoid kanama 7.gün + Tadalafil grubu

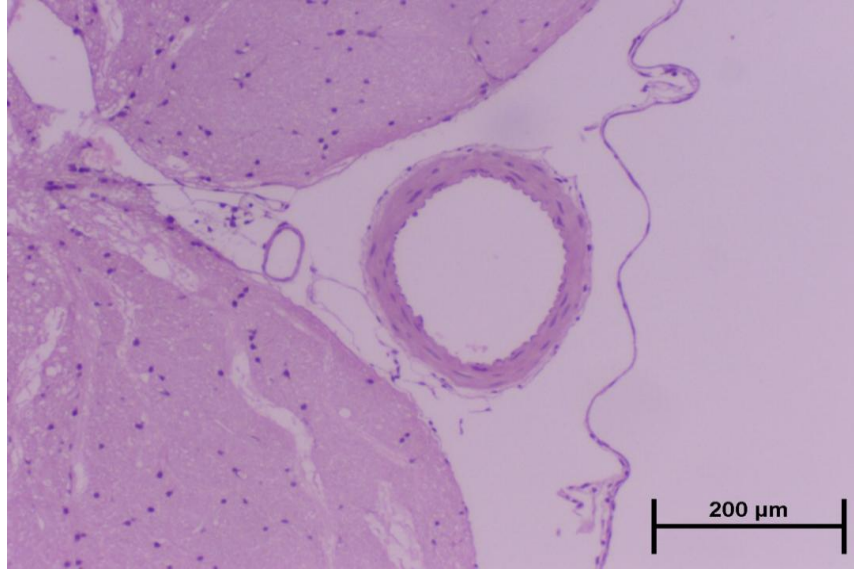
NORMAL GRUP n:7	DAMAR LÜMEN ALANI $\mu\text{m}^2$	DAMAR DUVAR KALINLIĞI $\mu\text{m}$	APOPTOZ SAYISI
Rat 1	38868	11,1	46
Rat 2	52019	12,3	74
Rat 3	51458	12,8	55
Rat 4	47581	10,2	43
Rat 5	44627	11,4	71
Rat 6	58868	14,7	80
Rat 7	40628	15,3	83
Ortalama	47721,29	12,54	64,57
Standart sapma	7011,56	1,88	16,37



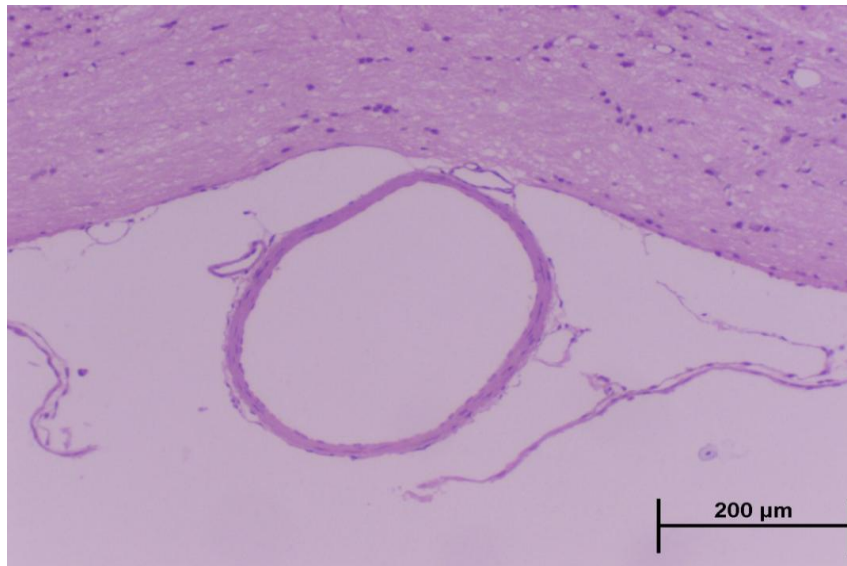
Şekil 4.1. Normal grup , baziler arter görüntüsü  
(Hematoxylin-eozin boyama -10'luk büyütme –bar 200 μm )



Şekil 4.2. Serum fizyolojik grubu , baziler arter görüntüsü  
(Hematoxylin-eozin boyama -10'luk büyütme –bar 200 μm )



Şekil 4.3. Subaraknoid kanama grubu , baziler arter görüntüsü  
 ( Belirgin vazospazm izleniyor; kalınlaşmış musküler tabaka ve adventisya,  
 endotelial yüzeyde kıvrımlar, muskuler tabakada vakualizasyon )  
 (Hematoxylin-eozin boyama -10'luk büyütme –bar 200 μm )



Şekil 4.4. Subaraknoid kanama + tadalafil grubu , baziler arter görüntüsü  
 (Hematoxylin-eozin boyama -10'luk büyütme –bar 200 μm)

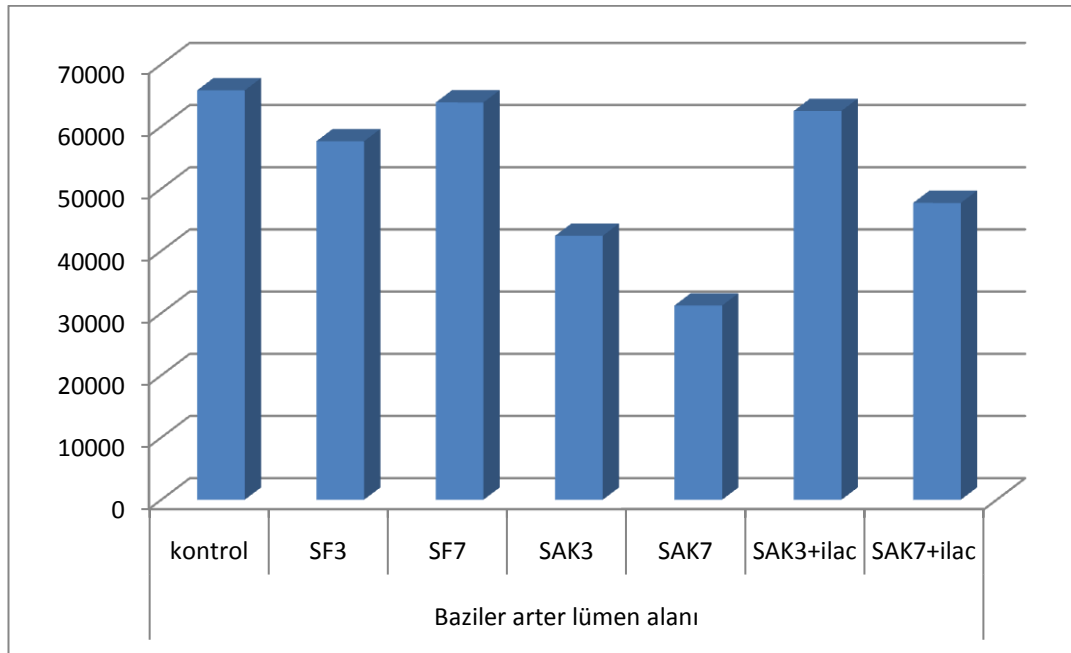
Baziler arter lümen alanına göre morfolojik inceleme:

Tablo 4.8. Tüm grupların baziler arter lümen alanına göre istatistik olarak karşılaştırılması

BAZİLER ARTER LÜMEN ALANI		SAK		Tadalafil+SAK		Serum Fizyolojik		Normal
		3.gün	7.gün	3.gün	7.gün	3.gün	7.gün	
SAK	3.gün	-	-	+	-	+	+	+
	7.gün	-	-	+	+	+	+	+
Tadalafil+SAK	3.gün	+	+	-	+	-	-	-
	7.gün	-	+	+	-	-	+	+
Serum Fizyolojik	3.gün	+	+	-	-	-	-	-
	7.gün	+	+	-	+	-	-	-
Normal		+	+	-	+	-	-	-

Bu sonuçlara göre baziler arter lümen alanına bakıldığında normal grup ile serum fizyolojik 3. gün ve serum fizyolojik 7. gün ile anlamlı fark saptanmadı. Normal grup ile subaraknoid kanama 3. gün ve subaraknoid kanama 7. gün arasında anlamlı fark saptanmıştır. Serum fizyolojik 3. gün ile subaraknoid kanama 3. gün ile arasında ve serum fizyolojik 7. gün ile subaraknoid kanama 7. gün ile arasında anlamlı fark saptanmıştır. Subaraknoid kanama 3.gün ile tadalafil + subaraknoid kanama 3.gün ve subaraknoid kanama 7.gün ile tadalafil + subaraknoid kanama 7. gün arasında anlamlı fark saptanmıştır.

Tablo 4.9. Baziler arter lümen alanına göre grupların karşılaştırılması





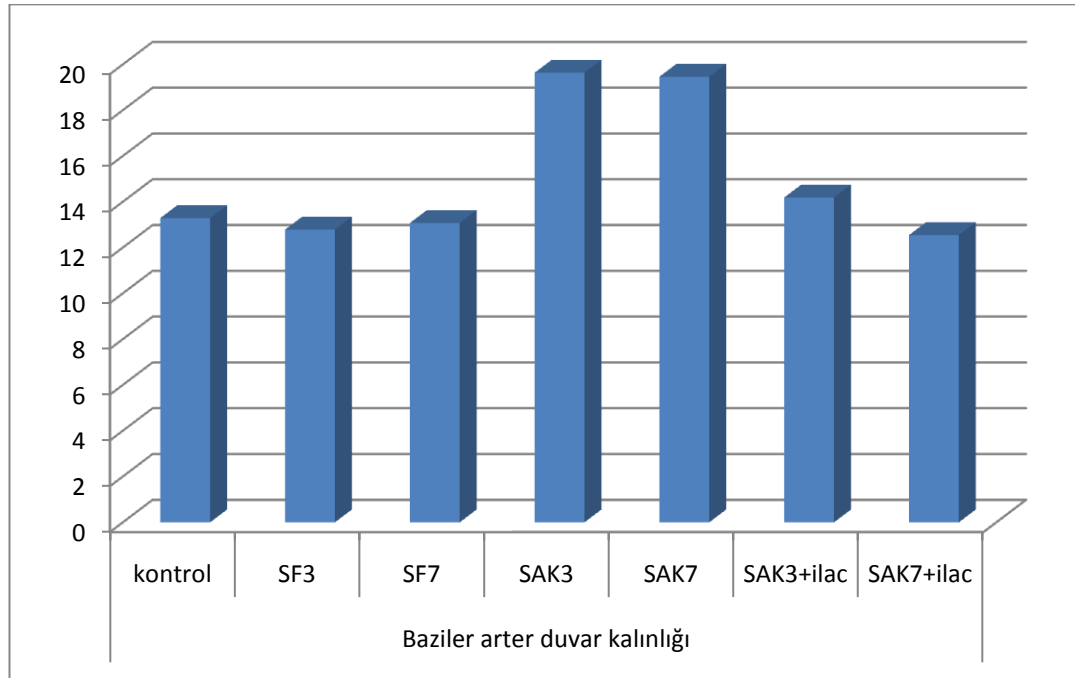
Damar duvar kalınlığına göre morfometrik inceleme:

Tablo 4.10. Tüm grupların baziler arter duvar kalınlığına göre istatistiksel olarak karşılaştırılması

BAZİLER ARTER DUVAR KALINLIĞI		SAK		Tad alafil+SAK		Serum Fizyolojik		Normal
		3.gün	7.gün	3.gün	7.gün	3.gün	7.gün	
SAK	3.gün	-	+	+	+	+	+	+
	7.gün	+	-	+	+	+	+	+
Tad alafil+ SAK	3.gün	+	+	-	-	-	-	-
	7.gün	+	+	-	-	-	-	-
Serum Fizyolojik	3.gün	+	+	-	-	-	-	-
	7.gün	+	+	-	-	-	-	-
Normal		+	+	-	-	-	-	-

Bu sonuçlara göre damar duvar kalınlığına bakıldığında normal grup ile serum fizyolojik 3. gün ve serum fizyolojik 7. gün arasında anlamlı fark saptanmadı. Normal grup ile subaraknoid kanama 3. gün ve subaraknoid kanama 7. gün arasında anlamlı fark saptanmıştır. Serum fizyolojik 3. gün ile subaraknoid kanama 3. gün arasında ve serum fizyolojik 7. gün ile subaraknoid kanama 7. gün arasında anlamlı fark saptanmıştır. Subaraknoid kanama 3.gün ile tadalafil + subaraknoid kanama 3.gün ve subaraknoid kanama 7.gün ile tadalafil + subaraknoid kanama 7. gün arasında anlamlı fark saptanmıştır. Normal grup ile subaraknoid kanama + tadalafil 3. gün ve subaraknoid kanama + tadalafil 7. gün arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.11. Baziler arter duvar kalınlığına göre grupların karşılaştırılması



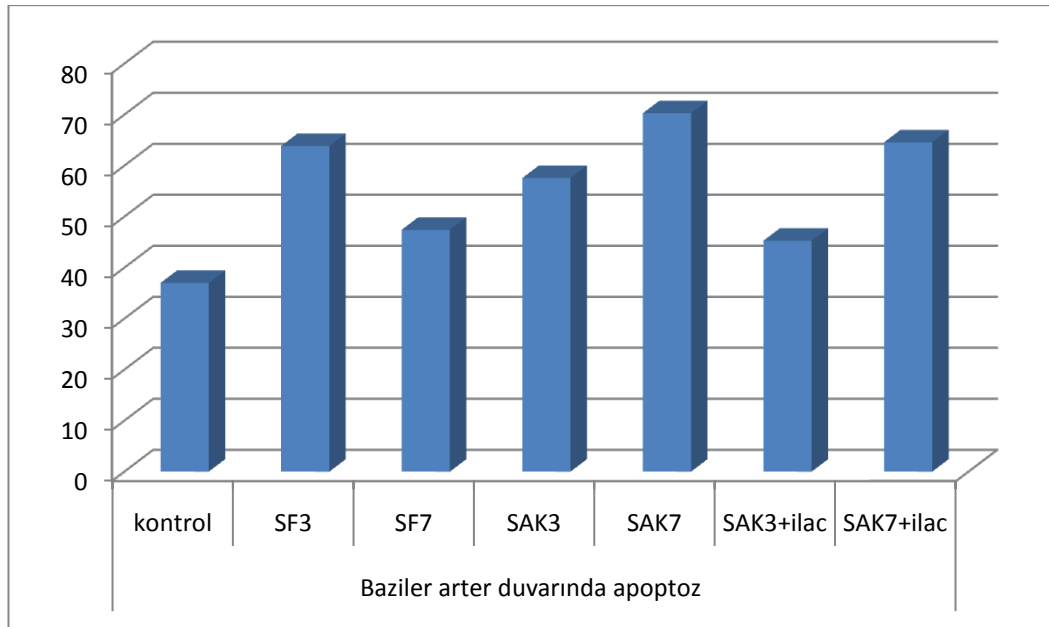
Baziler arter duvarındaki apoptozisin incelenmesi:

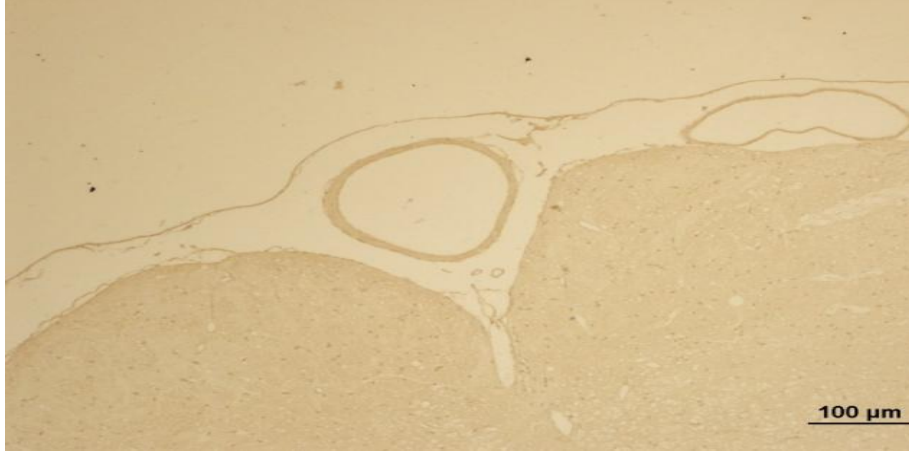
Tablo 4.12. Tüm gurupların baziler arterdeki apoptozun istatistiksel olarak karşılaştırılması

BAZİLER ARTER DUVARINDA APOPTOZ		SAK		Tad alafil+SAK		Serum Fizyolojik		Normal
		3.gün	7.gün	3.gün	7.gün	3.gün	7.gün	
SAK	3.gün	-	-	+	+	-	+	+
	7.gün	-	-	-	-	-	+	+
Tad alafil+ SAK	3.gün	+	-	-	+	+	+	+
	7.gün	+	-	+	-	-	+	+
Serum Fizyolojik	3.gün	-	-	+	-	-	+	+
	7.gün	+	+	+	+	+	-	+
Normal		+	+	+	+	+	+	-

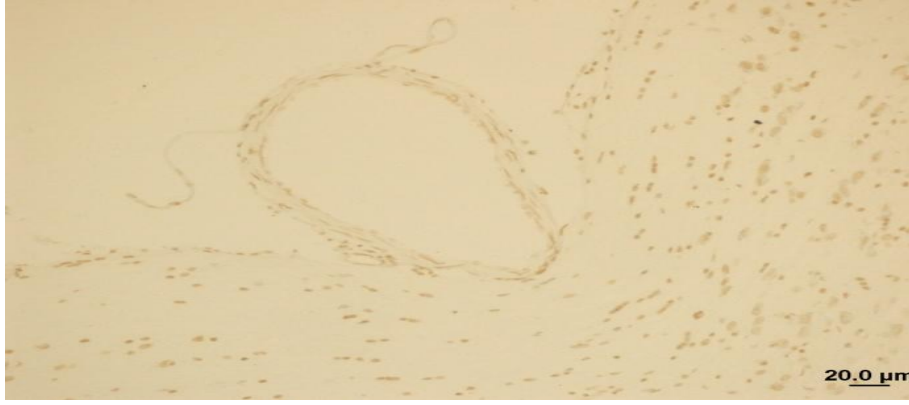
Bu sonuçlara göre baziler arter duvarında apoptosis sayısına bakıldığında normal grup ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark saptandı. Serum fizyolojik 7. gün ile subaraknoid kanama 7. gün arasında anlamlı fark saptandı. Subaraknoid 3. gün ile subaraknoid kanama + tadalafil 3. gün arasında anlamlı fark saptandı. Subaraknoid kanama 7. gün ile subaraknoid kanama + tadalafil 7. gün arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.13. Baziler arter duvarında apoptoza göre grupların karşılaştırılması

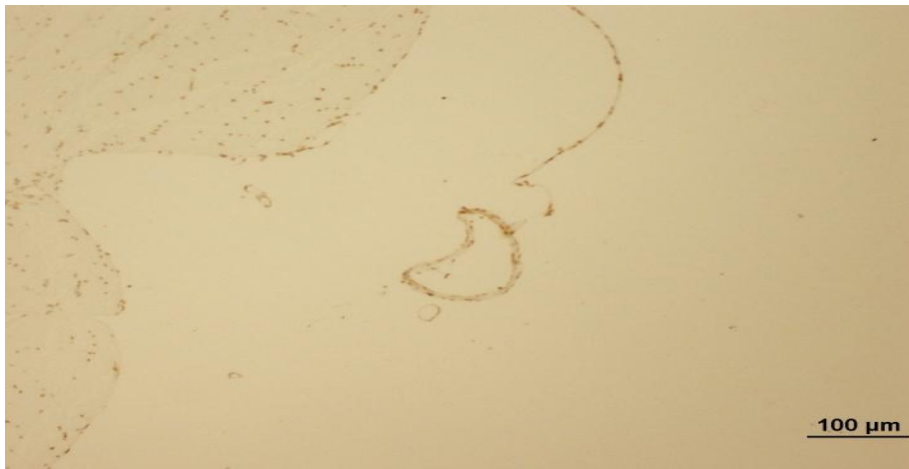




Şekil 4.5. Normal grup , baziler arter görüntüsü  
( TUNEL boyama ile -10'luk büyütme – bar 100 µm )



Şekil 4.6. Subaraknoid kanama grubu , baziler arter görüntüsü  
( TUNEL boyama ile -10'luk büyütme – bar 200 µm )



Şekil 4.7. Serum fizyolojik grubu , baziler arter görüntüsü  
( TUNEL boyama ile -10'luk büyütme – bar 100 µm )

Işık mikroskopisi incelemesinde; subaraknoid kanama grubunun birçoğunda şiddetli derecede vazokonstrüksiyon olduğu görüldü. Endotel hücrelerinde distorsiyon, internal elastik laminada belirgin kıvrımlaşma, düz kasta nekroz, media tabakasında kollojen doku proliferasyonu, damar duvar kalınlığında belirgin artış ve lümen çapında önemli derecede azalma mevcuttu. Tadalafil + subaraknoid kanama grubunda belirgin vazokonstrüksiyon izlenmedi. Damar duvarı ve internal elastik laminada normal damarlara göre belirgin kalınlaşma izlenmedi. Endotel hücrelerinde distorsiyon minimal derecedeydi ve minimal derecede düz kasta nekroz ve kollojen birikimi saptandı

Ayrıca, tüm gruplardaki ratların kuyruklarından sistolik kan basınçları ve nabızları ölçüldü. Tüm grupların ortalama sistolik kan basınçları  $121 \pm 14$  mmHg, ortalama nabızları  $317 \pm 12$  atım/dakika olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

## 5.TARTIŞMA

Serebral vazospazm, SAK sonrası beyin bazalinde yer alan major serebral arterlerin lümen çaplarında fokal veya diffüz daralmadır. Serebral vazospazm mortalite ve morbiditeyi olumsuz yönde etkileyen en önemli patolojik durumdur. Uzun yıllardan beri subaraknoid kanamaya bağlı serebral vazospazm bilinmekle birlikte bu durum halen komplike ve multifaktöriyel bir problem olmaya devam etmektedir. Teknolojinin gelişmesine rağmen, serebral vazospazma bağlı mortalite ve morbiditenin halen çok yüksek olması, subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral vazospazm sürecinin aşılmasının, en önemli problemlerin başında geldiğini göstermektedir (184,185,186).

Günümüze kadar deneysel modellerde çeşitli farmakolojik ajanlar denenmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Fakat klinik çalışmalarla korele edildiğinde sonuçlar pek yüz güldürücü olmamıştır. Deneysel çalışmalarda subaraknoid mesafeye enjekte edilen kanın vazospazma neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kan miktarı ne kadar fazlaysa vazospazmında o kadar belirgin olduğu saptanmıştır. Subaraknoid kanama sonucunda kan elamanları subaraknoid mesafeye birikirler. Eritrosit yıkımıyla oluşan ve güçlü bir vazokonstriktör olan hemoglobinin, subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazmında ana spazmojen olduğu gösterilmiştir (18,19,20). Hemoglobin yıkımı sonrasında oluşan oksihemoglobinin endotel hücrelerinden prostoglandinlerin salınmasına neden olması ve oksihemoglobinin methemoglobine oksidasyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit anyon radikalının güçlü bir vazodilatör olan nitrik oksiti nötürlemesiyle vazospazm oluştuğu düşünülmektedir (21).

Nitrik oksit, L-arginin ve oksijenden sentezlenen güçlü bir vazodilatördür. Nitrik oksit, guanilat siklazı aktive edip cGMP'yi arttırarak vazodilatasyona sebep olur. Deneysel subaraknoid kanamada gelişen vazospazmında ise nitrik oksit salınımının bozulmuş olduğu gösterilmiştir (22).

Bizim çalışmamızda kullandığımız PDE5 inhibitörü olan tadalafil , erektil disfonksiyonun birinci basamak tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Tadalafil, siklik guanozin monofosfatı (c-GMP) yıkan fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enziminin güçlü, selektif ve geri dönüşümlü bir inhibitörüdür. Nitrik oksit (NO) nonadrenerjik, nonkolinerjik bir nörotransmitter olup, çözünebilir guanil siklazı aktive eder. Bunun

sonucu olarak da düz kas relaksasyonuna sebep olan cGMP'nin hücre içi konsantrasyonunu arttırır. Birçok dokuda cGMP'nin hidrolitik yıkımından sorumlu olan enzim PDE5 enzimidir.

Bizim çalışmamız, SAK sonrasında, rat baziler arterindeki damar duvar kalınlığı, damar lümen alanı değişiklikleri, baziler arter duvarındaki apoptozis ve oluşan vazospazmda morfolojik değişimleri göstermektedir.

Apoptozun hücre ölümüne neden olan önemli bir hücre içi yolak olduğu ve p53 geni tarafından modüle edilen apoptozun inhibe edilmesinin mortalite ve klinik sonuçlar üzerinde olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Otopsi serilerinde de arteriyel kanamadan uzak bölgelerde de hem damarsal yapılarda hem de kortikal infarkt alanlarında apoptozun ortaya çıktığı gösterilmiştir (34). Subaraknoid kanama sonrası gelişen serebral vazospazmda apoptoziste artış saptanmıştır. Fakat apoptozisin serebral vazospazmın bir nedenimi yoksa bir sonucumu olduğu tartışma konusudur(35,36).

Caspase molekülleri, özellikle caspase-3, apoptotik süreçte anahtar rol oynayan esas proteinlerdir. Serebral vazospazm oluşumunda apoptozisin rolü hayvan modelli SAK çalışmalarında gösterilmiştir (40,41). Yine SAK'lı hastaların BOS ve serum örneklerinde kontrol grubu hastalarına göre caspase-3 değerleri anlamlı yüksek bulunmuştur. BOS caspase-3 düzeylerinin 7. güne doğru artması, apoptozis hızının ve nöron hasarının, SAK sonrası ilerleyen günlerde giderek arttığını göstermektedir (42).

Serebral vazospazmın araştırılmasında in vitro ve in vivo bir çok farklı deneysel model bulunmuştur. İn vivo deneysel modeller, bizim çalışmamızda yaptığımız gibi, genellikle sisterna mangaya otolog kan verilerek oluşturulmaktadır. İn vitro deneysel modellerde ise serebral arter ve arteriollerin düz kas hücre kültürleri yapılmaktadır. Serebral vazospazmda, in vivo deneysel modellerde sıçan, tavşan ve köpek modelleri kullanılmıştır. İn vivo çalışmalarda sağlanan standartizasyon, tekrarlanabilir ve güvenilir özellikleri, klinik uygulamaya daha elverişli sonuçlar vermesi bu yöntemle yapılan çalışmaların üstünlüğünü ortaya koymuştur. İn vivo çalışmaların dezavantajı ise histopatolojik incelemenin postmortem yapılabilmesi, dekapitasyon sırasında ve baziler arterin çevre dokulardan diseksiyonu sırasında hasar görebilme ihtimali hata oranını yükselmesidir . Ratlarda kollateral akım iyi



geliştiği için vazospazma bağlı nörololik defisit nadir olarak ortaya çıkar. Baziller arteri kullanmanın bir diğer avantajıda hayvanlarda posterior sirkülasyonun iyi gelişmiş olması ve kanın içerisine verilebilecek sistemlere yakın olmasıdır. Ratlar deneysel subaraknoid kanama modellerde maliyeti ucuz, bulunması ve bakımı kolay olması nedeniyle nöroanatomik ve nörofizyolojik çalışmalarda en sık tercih edilen deney hayvanlarıdır.

Uzun yıllardan beri yapılan yoğun araştırmalara rağmen serebral vazospazmın etiyoloji ve patogenezi halen çok iyi anlaşılamamıştır. Halen etkili bir medikal tedavinin olmaması, bu konudaki çalışmaları motive etmektedir.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada çeşitli gruplar oluşturularak (kontrol, SF, SAK, SAK+ tadalafil) rat baziler arter lümen alanı, rat baziler arter duvar kalınlığına ve rat baziler arter duvarındaki apoptoza bakılmıştır. Baziler arter duvar kalınlığını karşılaştırdığında, normal gruba göre subaraknoid kanama 3. gün ve 7. gün gruplarının duvar kalınlığının belirgin olarak arttığı görülmüştür, yani vazospazm gelişmiştir. Yine damar duvar kalınlığına göre, subaraknoid kanama 3. gün ve 7. gün gruplarıyla, subaraknoid kanama + tadalafil 3. gün ve 7. gün grupları arasında belirgin fark saptanmıştır.

Baziler arter lümen alanı karşılaştırıldığında; normal grupla subaraknoid kanama 3. gün ve 7. gün grupları arasında anlamlı fark saptanmıştır, subaraknoid kanama gruplarında belirgin vazospazm gelişmiştir. Subaraknoid kanama 3.gün ve 7. gün gruplarıyla, tadalafil + subaraknoid kanama 3. gün ve 7.gün grupları arasında belirgin fark saptanmıştır.

Baziler arter duvarında apoptoz sayıları karşılaştırıldığında; normal grup ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır. Apoptozis, subaraknoid kanama 7. günde en yüksek düzeyde saptanmıştır. Serum fizyolojik 7. gün ile subaraknoid kanama 7. gün arasında anlamlı fark saptanmıştır. Subaraknoid kanama 3. gün ile subaraknoid kanama + tadalafil 3. gün arasında anlamlı fark saptanmasına rağmen subaraknoid kanama 7. gün ile subaraknoid kanama + tadalafil 7. gün arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Yani tadalafil'in kısa dönemde apoptozis oluşmasını azalttığı fakat uzun dönemde apoptozisizi engelleyemediği saptanmıştır.

Işık mikroskopisinde ise subaraknoid kanama oluşturulan grupta, kalınlaşmış musküler tabaka, endotelial yüzeyde kıvrımlar, musküler tabakada vakualizasyon gibi vazospastik belirtiler mevcutken, tadalafil kullanımıyla bu bulguların oluşmadığı görülmüştür.

Sonuç olarak biz çalışmamızda, deney hayvanlarında, erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan tadalafilin vazospazmı geriletmediğini histolojik ve morfolojik olarak göstermeye çalıştık. Bu sonuçların başka çalışmalar ile de desteklenmesi gerektiği kanısındayız.

## KAYNAKLAR

1. Akdemir H : Subaraknoid kanama. Ed :Aksoy K : Temel Nöroşirurji. Türk Nöroşirurji Derneği Yayınları ,1. Baskı, Cilt 1, s: 441-447, Ankara 2005
2. MR Mayberg, HH Batjer, R Dacey, M Diringer, EC Haley, RC Heros, LL Sternau, J Torner, HP Adams, Jr and W Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association. *Circulation* ;90(5);2592-605.Nov 1994
3. Eskesen V. , Sorensen E.B. , Rosenorn J. and Schimidt K.The prognosis in subarachnoid hemorrhage of unknown etiology. *J Neurosurg* 61:1029-1031, 1984
4. Juul R. , Fredriksen T.A. , Ringkjøb R. Prognosis in subarachnoid hemorrhage of unknown etiology. *J Neurosurg* 64:359-362, 1986
5. Dumont A.S. , Dumont R.J. , Chow M.M. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery*;53(1):123-33; discussion 133-5.Jul 2003
6. Vural M, Cosan TE, Ozbek Z, Cosan D, Sahin F, Burukoglu D. Digoxin may provide protection against vasospasm in subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)*. 2009 Sep;151(9):1135-41. Epub 13 May 2009.
7. Keyrouz SG, Diringer MN Clinical review: Prevention and therapy of vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Crit Care*;11(4):220. 2007
8. Greenberg MS: Handbook of Neurosurgery, Third edition, Lakeland, Florida, Greenberg Graphics Inc:711-752,1994.
9. Bederson JB, Levy AL, Ding WH, Kahn R, DiPerna CA, Jenkins AL III, Vallabhajosyula. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*;42(2):352-60; discussion 360-2, Feb 1998
10. Chyatte D. ,Nicolee C.F. ,Douglas A.N. ,Thoralf M.S. preliminary report : effects of high dose metilprednisolon on delayed cerebral ischemia in patient at highrisk for vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* ;21(2):157-60,Aug 1987

11. Dietrich H.H. ,Dacey R.G. Molecular Keys to the Problems of Cerebral Vasospasm. *Neurosurgery* ,46(3) : 517-530 ,2000
12. NF Kassell, T Sasaki, AR Colohan and G Nazar Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage *Stroke* 1985 Jul-Aug;16(4):562-572
13. Weir B.K. ,Macdonald R.L. ,Stoodley M : Etiology of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir Suppl.* 72:27-46,1999
14. Treggiari-Venzi MM, Suter PM, Romand JA: Review of medical prevention of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a problem of neurointensive care. *Neurosurgery* 2001 Feb;48(2):249-61; discussion 261-2. Feb 2001
15. Nagai H, Suzuki Y, Sugiura M, Noda S, Mabe H. Experimental cerebral vasospasm: Part I. Factors contributing to early spasm. *J Neurosurg* ;41:285-292.1997
16. Findlay MS. Cerebral Vasospasm. *Youmans Neurological Surgery* eds: Winn RH, Vol II Chapter; 109: 1839-67. 2004.
17. Zaramski J.M. ,Spetzler R.F. ,Bonstelle C. Chronic cerebral vasospasm : Effect of volume and timing of hemorrhage in a canine model. *Neurosurgery* ;18(1):1-6 .Jan 1986
18. Macdonald R.L.and Weir B.K. A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm *Stroke* ;22(8):971-982.Aug 1991
19. Macdonald R.L. ,Weir B.K. ,Runzer T.D. ,Grace M.G.A. , Findlay J.M. Saito K.,Cook D.A. ,Kanamura K. Etiology of cerebral vasospasm in primates *J Neurosurg* 75:415-424, 1991
20. Pluta RM, Afshar JK, Boock RJ, Oldfield EH. Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and methemoglobin after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* ; 88:557-561,1998
21. Liu-Deryke X, Rhoney DH. Cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an overview of pharmacologic management. *Pharmacotherapy* ;26(2):182-203, 2006
22. Faraci F.M. ,Brian J.E. Nitric oxide and cerebral circulation. *Stroke* 25 :692-703,1994

23. Kim P. , Lorenz R.R. ,Sundt T.M. ,Vanhoutte P.M. Release of endothelium derived relaxing factor after subarachnoid hemorrhage . J Neurosurg 70: 108-114 ,1989
24. Giannitsas Konstantinos and Perimenis Petros. Phosphodiesterase-5 Inhibitors: Future Perspectives. Current Pharmaceutical Design, 15, 3540-3551,2009
25. Allen D.Seftel. Phosphodiesterase type 5 inhibitors: Molecular pharmacology and interactions with other phosphodiesterases. Current Pharmaceutical Design ;11:4047–4058,2005
26. Neumeyer K, Kirkpatrick P. Tadalafil and vardenafil. Nat Rev Drug Discover. ;3(4): 295-296 ,2004
27. Schwarz ER, Kapur V, Rodriguez J, Rastogi S, Rosanio S. The effects of chronic phosphodiesterase-5 inhibitor use on different organ systems. Int J Impot Res. 2007 Mar-Apr;19(2):139-48. Epub 8 Jun 2006
28. Blount MA, Beasley A, Zoraghi R, Sekhar KR, Bessay EP, Francis SH, Corbin JD. Binding of tritiated sildenafil, tadalafil, or vardenafil to the phosphodiesterase-5 catalytic site displays potency, specificity, heterogeneity, and cGMP stimulation. Mol Pharmacol;66(1):144-52,2006
29. Borel O. Cecil, Andy Mckee, Augusto Para, Michael M Haglund, Amy Solan:Possible role for vascular cell proliferation in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. Stroke ;34(2):427-33,2003
30. Kim P, Schini VB, Sundt TM Jr, Vanhoutte PM. Reduced production of cGMP underlies the loss of endothelium-dependent relaxations in the canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. Circ Res;70(2):248-56,1992
31. Atalay B, Caner H, Cekinmez M, Ozen O, Celasun B, Altinors N. Systemic administration of phosphodiesterase V inhibitor, sildenafil citrate, for attenuation of cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. Neurosurgery;59(5):1102-7; discussion 1107-8,2006
32. Diomedi M, Sallustio F, Rizzato B, Ferrante F, Leone G, Spera E, Scarfini M,Bernardi G. Sildenafil increases cerebrovascular reactivity: a transcranial Doppler study. Neurology. 2005 Sep 27;65(6):919-21. Epub 28 Jul 2005
33. Li Zhanga, Zhenggang Zhanga, Rui Lan Zhanga, Yisheng Cuia, Margot C. LaPointeb, Brian Silvera, Michael Choppa, Tadalafil, a long-acting type 5

- phosphodiesterase isoenzyme inhibitor, improves neurological functional recovery in a rat model of embolic stroke. *Brain Res.* 2006 Nov 6;1118(1):192-8. Epub 2006
34. KOÇAK A.: Subklavian Arter - İnternal Karotid Arter Bypass Cerrahisi ile Tedavi Edilen Penetran Karotis Kesisi TND Nörovasküler Cerrahi Öğretim ve Eğitim Grubu Bülteni Sayı: 1, Mayıs 2009.
  35. Cahill J. Etal . Vasospasm and p53-induced apoptosis in an experimental model of subarachnoid hemorrhage. *Stroke* ;37(7):1868-74,2006
  36. Sen O. Caner H. The effect of mexiletine on the level of lipid peroxidation and apoptosis of endothelium following experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*;28(8):859-63,2006
  37. Aoki K, Zubkov AY, Ross IB, Zhang JH. Therapeutic effect of caspase inhibitors in the prevention of apoptosis and reversal of chronic cerebral vasospasm. *J Clin Neurosci* 9: 672-677, 2002.
  38. Park S, Yamaguchi M, Zhou C, Calvert JW, Tang J, Zhang JH. Neurovascular protection reduces early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 35: 2412-2417, 2004.
  39. Ogihara K, Zubkov AY, Bernanke DH, Lewis AI, Parent AD, Zhang JH. Oxyhemoglobin induced apoptosis in cultured endothelial cells. *J Neurosurg* 91: 459-465, 1999.
  40. Meguro T, Chen B, Parent AD, Zhang JH. Caspase inhibitors attenuate oxyhemoglobin-induced apoptosis in endothelial cells. *Stroke* 32: 561-566, 2001.
  41. Zubkov AY, Aoki K, Parent AD, Zhang JH. Preliminary study of the effects of caspase inhibitors on vasospasm in dog penetrating arteries. *Life Sciences* 70: 3007- 3018, 2002.
  42. Kacira T, Kemerdere R, Atukeren P, Hanimoglu H, Sanus GZ, Kucur M, Tanriverdi T, Gumustas K, Kaynar MY. Detection of caspase-3, neuron specific enolase, and high-sensitivity C-reactive protein levels in both cerebrospinal fluid and serum of patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2007 Apr;60(4):674-9; discussion 679-80. 2007.

43. Longstreth W T, Nelson L M, Koepsell T D, Belle G: Subarachnoid hemorrhage and hormonal factors in women. A population based case control study, *Ann Intern Med.* ; 121: 168- 172,1993.
44. Weir B: Aneurysms affecting the nervous system. Baltimore; Williams& wilkins, 1994.
45. Linn F H, Rinkel G J, Algra A, Gijin J: Incidence of subarachnoid hemorrhage: Role of region, year, and rate of CT meta analysis. *Stroke*; 27: 625- 629,1996.
46. Chayette D, Chen T L, Bronstein K, Brass L M: Seasonal fluctuation in the incidence of intracranial aneurysm rupture and its relationship to changing climatic conditions. *J Neurosurg*; 81: 525- 530,1994.
47. Kassel N F, Torner J C: The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery: an update. *Stroke*; 15: 566- 570,1984.
48. Kassel N F, Torner J C: Aneurismal rebleeding: A preliminary report from the cooperative aneurysm study. *Neurosurgery*; 13: 479- 481, 1983.
49. Jane J A, Kassel N F, Torner J C: The natural history of aneurysms and arteriovenous malformations. *J. Neurosurg*; 62: 321- 323,1985.
50. Schievink W I: Genetics of intracranial aneurysms, (Review). *Neurosurg*; 40:651-662. 1997
51. Bromberg J E C, Rinkel G J E, Algra A, Greebe P, VanDuyn C M, Hasan D: Subarachnoid hemorrhage in first and second degree relatives of patients with subarachnoid hemorrhage. *BMJ*; 311:288-289,1995.
52. De braekeleer M, Peruse L, Cantin L: A study of embedding and kind ship in intracarainal aneurysm in the Saguenay Lac-Seant-Jean region (Quebeck, Canada). *Ann Hum Genet*; 60:99-104,1996.
53. Gaist D, Vaeth M, Tsiropoulus I, Cristensen K: Risk of subarachnoid hemorrhage in the first degree relatives of patients with subarachnoid hemorrhage: follow up study based on national registries in Denmark. *BMJ*; 320, 141-145,2000.
54. Schievink W I, Schaid D.J., Michels W, Piepgras D G: Familial aneurysmal subarachnoid hemorrhage a community based study. *J Neurosurg*; 83:426-429,1995.

55. Wang P S, Ungstreth W T, Jr. Kocpsdl T D: Subarachnoid haemorrhage and family history, A population-based case-control study. *Arch Neurol.* 1995 Feb;52(2):202-4. 1995.
56. Longstreth W T, Nelson L M, Koepsel T D, Van B G: Cigarette smoking, alcohol use, and subarachnoid hemorrhage. *Stroke*; 23: 1242- 1249, 1992.
57. Juvela S, Hilbom M, Numminen H, Koskinen P: Cigarette smoking and alcohol consumption as risc factors for aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*; 24: 639- 646,1993.
58. Morris K M, Shaw, Foy P M: Smoking and subarachnoid hemorrhage: case control study. *Br J Neurosurg*; 6: 429- 432,1992.
59. Kopitnik T A, Samson D S: Management of subarachnoid hemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*; 56: 947-959,1993.
60. Thorogood M, Mann.J, Murphy M, Vessey M: Fatal stroke and use of oral contraceptives: finding from a case-control study. *Am. J. Epidemiol*; 136:35-45,1992.
61. Roach MR, Drake CG: Ruptered cerebral aneurysms caused by micro-organisms. *N Engl J Med.* 273: 240-244, 1965.
62. Gilbert JW, Lee C, Young B: Repeat cerebral panangiography in subarachnoid hemorrhage. *Surg. Neurol* 33: 19-21, 1990.
63. Giombini S, Bruzzone MG, Pluchino F: Subarachnoid hemorrhage of unexplained cause. *Neurosurgery* 22: 313-316, 1988.
64. Iwanaga H, Wakai S, Ochiai C, Narita J, Inoh S, Nagai M: Ruptured cerebral aneurysms missed by initial angiographic study. *Neurosurgery* 27: 45-51, 1990.
65. Kawamura S, Yasul N: Clinical and long-term follow-up study in patients with spontaneous subarachnoid hemorrhage of unknown aetiology. *Acta Neurochir* 106: 110-114, 1990.
66. Kumral K: İtrakranial kanamalarda klinik bulgular, Ed.Özdamar N, Ayın kitabı 43, İtrakranial kanamalar. İzmir, Ege Üniversitesi Matbaası1; 5-25. 1985
67. Mohr JP, Ksitler JP, Zabramski JM: Intracranial aneurysms, Bornett JM, Mohr J P, Stein B M, Yatmu F M. *Stroke, Diagnosis and Management*, Newyork. 2003
68. Drake CG: Managements of cerebral aneurysms. *Stroke*; 12: 273-283, 1981



69. Edlow J A: Diagnosis of subarachnoid hemorrhage, *Neurocrit. Care*; 2(2); 99-109,2005.
70. Hoekema D, Schmidt R H, Ross I: Lumbar drainage for SAH: technical considerations and safety analysis. *Neurocritical Care*;7(1).3-9,2007.
71. Rujis A C, Dirven C M, Algra A, Beijer I, Vandertop W P, Rinkel G: The risk of rebleeding after external lumbar drainage in patients with untreated ruptured cerebral aneurysms. *Acta Neurochir (Wien)*; 147(11), 1157- 1161,2005.
72. Nijjar S, Patel B, Mc Ginn G, West M: Computed tomographic angiography as the primary diagnostic study in spontaneous subarachnoid hemorrhage. *J Neuroimaging*. 2007 Oct;17(4):295-9. 2007
73. DeLong WB: The diagnostic pitfalls of subarachnoidal hemorrhage from intracranial aneurysms. *West J Med* 123: 92, 1975.
74. MaybergM: Cerebral Vasospasm, *Neurosurg Clin N Am* 9: 615-627,1998.
75. Allen GS, Bahr AL: Cerebral arterial spasm. Part 10. Reversal of acute and chronic spasm in dogs with orally administered nifedipine. *Neurosurgery* ;4(1): 43-7, 1979.
76. Kuniyiko O: Prolonged vasospasm produced by the breakdown products of erythrocytes. *J Neurosurg*. 47: 403-411, 1977.
77. Ricardo J, Komotar, Brad E, Zacharia, Ricky Valhora, J. Mocco, E. Sander Connolly Jr: Advances in vasospasm treatment and prevention. *J Neurol Sci*; 261, 134–14,2007.
78. Otten ML, Mocco J, Jr ES, Solomon R A: A review of medical treatments of cerebral vasospasm. *Neurol Res*. 18 Apr 2008.
79. Heros RC, Zervas NT, Varsos V: Cerebral vasospasm after SAH, An update *Ann Neurology*; 14:599-608,1983.
80. Gökalp Z, Erongun U: Spontan subaraknoid kanama ve intrakranial anevrizmalar: "Nöroşirürji Ders Kitabı". 1988; B:7-19, Ankara. 1988.
81. Barry K Z, Scott R M: Effect of intravenous ethanol on cerebral vasospasm produced by subarachnoid blood. *Stroke*; 10:535,1979.
82. Echlin F A: Current concepts in the etiology and treatment of vasospasm, *Clin Neurosurg*; 15:133-60,1976.

83. Palmer W K, Kalina C A, Studney T A: Exercise and the CAMP system in rat adipose tissue. *Appl Physiol*; 50(2):255-8,1981.
84. Vapalahti M: Brain monoamine metabolites and tryptophan in ventricular CSF of patients with spasm after aneurysm surgery. *J Neurosurg*; 48:58-63,1978.
85. Yaşargil MG: Anesthesia for microsurgical procedures in Neurosurgery *Microneurosurgery*, Georg thieme Verlag; 1:272-278,1984.
86. Knekt P, Reunanen A. Risk factors for SAH in a longitudinal population study. *J Clin Epidemiol*; 44:933-939,1991.
87. Wilkins R H: Cerebral vazospasm. *Crit Rev Neurobiol*;6(1):51-77,1990.
88. Kassel N F, Toren J C, Haley C: The international cooperative study on the timing of aneurysm surgery. *Stroke* ;23(2):205-14,1992.
89. Bolonder H G, Kourtopoulos H, West K A: Retrospective analysis of 162 consecutive ceses of ruptured intracranial aneurysms.total mortality and early surgery. *Acta Neurochir(Wien)*; 70(1-2):31-41,1984.
90. Seiler R W, Grolimund P, Aaslid R: Cerebral vasospasm elavated bytranscranial ultrasound correlated with clinical grade and CT visualized subarachnoid Hemorrhage. *J Neurosurg*; 64:594-600,1986.
91. Cardoso E R, Reedy K, Bose D: Effect of subarachnoid hemorrhage on intracranial pulse waves in cats. *J Neurosurg*; 69: 712-718,1988.
92. Weir B, Menon D, Overfon T: Regional cerebral blood flow in patients with aneurysms. Estimation by Xenon 133. *Can J Neurol Sci*; 5:301-305,1978.
93. Knuckney N W, fox R A, Surveyor I: Early cerebral blood flow and CT in predicting ischemia after cerebral aneurysm rupture. *J Neurosurg*; 62(6):850-5,1985.
94. Powers W J, Grublo R L, Baker R P: Regional cerebral blood flow and metabolism in reversible ischemia due to vasospasm. Determination by positron Emission Tomography. *J Neurosurg*;62(4):539-46,1985.
95. Harrod CG, Bendok BR, Batjer HH: Prediction of cerebral vasospasm in patients presenting with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a review. *Neurosurgery*, 56 (4): 633–54, 2005.

96. Aoki T, Takenaka K, Suzuki S, Kassell NF, Sagher O, Lee KS: The role of hemolysate in the facilitation of oxyhemoglobin-induced contraction in the rabbit basilar arteries. *J Neurosurg* 81: 261-266, 1994.
97. Winder SJ, Allen BG, Clément-Chomienne O, Walsh MP: Regulation of smooth muscle actin-myosin interaction and force by calponin. *Acta Physiol Scand* 164: 415-426, 1998.
98. Ignarro LJ: Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 30: 535-560, 1990.
99. Inscho EW, Mitchell KD, Navar LG: Extracellular ATP in the regulation of renal microvascular function. *FASEB J* 8: 319-328, 1994.
100. Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS: Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res* 61: 866-879, 1987.
101. Myers PR, Guerra R Jr, Harrison DG: Release of NO and EDRF from cultured bovine endothelial cells. *Am J Physiol* 256: H1030-H1037, 1989.
102. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide accounts for the biological activity of endothelium-dependent relaxing factor. *Nature* 327: 524-526, 1987.
103. Xu J, Qu ZX, Moore SA, Hsu CY, Hogan EL: Receptor-linked hydrolysis of phosphoinositides and production of prostacyclin in cerebral endothelial cells. *J Neurochem* 58: 1930-1935, 1992.
104. Chen G, Suzuki H, Weston AH: Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *Br J Pharmacol* 95:1165–1174, 1988.
105. Parsaee H, McEwan JR, Joseph S, MacDermot J: Differential sensitivities of the p-ostacyclin and nitric oxide biosynthetic pathways to cytosolic calcium in bovine aortic endothelial cells. *Br J Pharmacol* 107:1013–1019, 1992.
106. Bolton TB, Lang RJ, Takewaki T: Mechanisms of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea-pig anterior mesenteric artery. *J Physiol (Lond)* 351:549–572, 1984.
107. Paternò R, Faraci FM, Heistad DD: Role of  $Ca^{2+}$ -dependent  $K^{+}$  channels in cerebral vasodilatation induced by increases in cyclic GMP and cyclic AMP in the rat. *Stroke* 27:1603–1607, 1996.

108. Rubanyi GM, Vanhoutte PM: Nature of endothelium-derived relaxing factor: Are there two relaxing mediators? *Circ Res* 61:II61–II67, 1987.
109. Schubert R, Serebryakov VN, Mewes H, Hopp HH: Iloprost dilates rat small arteries: Role of KATP- and KCa-channel activation by cAMP-dependent protein kinase. *Am J Physiol* 272:H1147–H1156, 1997.
110. Schiffrin EL, Touyz RM: Vascular biology of endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol* 32[Suppl 3]:S2-S13, 1998.
111. Mombouli JV, Vanhoutte PM: Kinins and endothelial control of vascular smooth muscle. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 35:679–705, 1995.
112. Rubanyi GM, Polokoff MA: Endothelins: Molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev* 46:325–415, 1994.
113. Macdonald RL: Pathophysiology and molecular genetics of vasospasm. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 77: 7-11, 2001.
114. Kwan AL, Solenski NJ, Kassell NF, Lee KS: Inhibition of nitric oxide generation and lipid peroxidation attenuates hemolysate-induced injury to cerebrovascular endothelium. *Acta Neurochir (Wien)* 139:240–248, 1997.
115. Steele JA, Stockbridge N, Maljkovic G, Weir B: Free radicals mediate actions of oxyhemoglobin on cerebrovascular smooth muscle cells. *Circ Res* 68:416–423, 1991.
116. Vollrath B, Chan P, Findlay M, Cook D: Lazaroids and deferoxamine attenuate the intracellular effects of oxyhaemoglobin in vascular smooth muscle. *Cardiovasc Res* 30:619–626, 1995.
117. Edwards DH, Byrne JV, Griffith TM: The effect of chronic subarachnoid hemorrhage on basal endothelium-derived relaxing factor activity in intrathecal cerebral arteries. *J Neurosurg* 76:830–837, 1992.
118. Hongo K, Ogawa H, Kassell NF, Nakagomi T, Sasaki T, Tsukahara T, Lehman RM: Comparison of intraluminal and extraluminal inhibitory effects of hemoglobin on endothelium-dependent relaxation of rabbit basilar artery. *Stroke* 19:1550–1555, 1988.
119. Gibson QH, Roughton FJW: The kinetics and equilibria of the reactions of nitric oxide with sheep haemoglobin. *J Physiol (Lond)* 136:507–526, 1957.

120. Hino A, Tokuyama Y, Weir B, Takeda J, Yano H, Bell GI, Macdonald RL: Changes in endothelial nitric oxide synthase mRNA during vasospasm after subarachnoid hemorrhage in monkeys. *Neurosurgery* 39:562–568, 1996.
121. Vermeulen M: Subarachnoid haemorrhage: Diagnosis and treatment. *J Neurol* 243:496–501, 1996.
122. Hino A, Tokuyama Y, Kobayashi M, Yano M, Weir B, Takeda J, Wang X, Bell GI, Macdonald RL: Increased expression of endothelin B receptor mRNA following subarachnoid hemorrhage in monkeys. *J Cereb Blood Flow Metab* 16:688–697, 1996.
123. Clozel M, Watanabe H: BQ-123, a peptidic endothelin ET<sub>A</sub> receptor antagonist, prevents the early cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage after intracisternal but not intravenous injection. *Life Sci* 52:825–834, 1992.
124. Zuccarello M, Boccaletti R, Romano A, Rapoport RM: Endothelin B receptor antagonists attenuate subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *Stroke* 29:1924–1929, 1998.
125. Alabadi JA, Torregrosa G, Miranda FJ, Salom JB, Centeno JM, Alborch E: Impairment of the modulatory role of nitric oxide on the endothelin-1-elicited contraction of cerebral arteries: A pathogenetic factor in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage? *Neurosurgery* 41:245–253, 1997.
126. Katusic ZS, Shepherd JT: Endothelium-derived vasoactive factors: Part II—Endothelium-dependent contraction. *Hypertension* 18:III86–III92, 1991.
127. Sercombe R, Tran Dinh YR, Gomis P: Cerebrovascular inflammation following subarachnoid hemorrhage. *Jpn J Pharmacol* 88:227 – 249, 2002.
128. Tran Dinh YR, Debdi M, Couraud JY, Creminon C, Seylaz J, Sercombe R: Time course of variations in rabbit cerebrospinal fluid levels of calcitonin gene-related peptide- and substance P-like immunoreactivity in experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 25: 160 – 164, 1994.
129. Rubinstein AA, Wijdicks EF. Patterns of Cerebral infarction in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2005 May;36(5):992-7. 2005
130. Park S, Yamaguchi M, Zhou C, Calvert JW, Tang J, Zhang H. Neurovascular Protection Reduces Early Brain Injury After Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*;35: 2412-17,2004.

131. Zubkov AY, Ogihara K, Bernanke DH, Parent AD, Zhang J. Apoptosis of endothelial cells in vessels affected by cerebral vasospasm. *Surg Neurol*; 53(3): 260-6,2000.
132. Soleski NJ, Haley CE, Kassell NF. Medical complications of aneurysmal Subarachnoid hemorrhage: A report of the cooperative study. *Crit Care Med*; 6:1007-17,1995.
133. In Apuzzo MED, ad. *Brain Surgery : Complication Avoidance and management*. New York , Churchill Livingstone 1992; 847-56.
134. Zhang Z, Nagata I, Kikuchi H, Xue JH, Sakai N, Sakai H, Yanamoto H. Broad-Spectrum and Selective Serine Protease Inhibitors Prevent Expression of Platelet-Derived Growth Factor-BB and Cerebral Vasospasm After Subarachnoid Hemorrhage . *Stroke* ; 32: 1665-72,2001.
135. Ohman J, Heiskanen O: Timing of operation for ruptured supratentorial anerysm: A prospective randomized study. *J Neurosurg*; 70: 55-60,1989.
136. Muizelaar JP, Becker DP: Induced hypertension for the treatment of cerebral ischemia after SAH. Direct effect on cerebral blood flow. *Surg Neurol*; 25: 317-325,1986.
137. Flamm ES, Adams HP, Beck DW: Dose-escalation study of intravenous nicardipine in patients with aneurysmal SAH. *J Neurosurg*; 68: 393-400,1988.
138. Bevan J, Bevan RD, Frazee JG: Functional arterial changes in chronic cerebral vasospasm in monkeys:an invitro assessment of contributing to arterial narrowing. *Stroke*; 18:472-481,1987.
139. Ohmann J, Heiskanen O: Effect of nimodipine on the outcome of patients after SAH and surgery. *J Neurosurg*; 69: 683-686,1988.
140. Ohmann J, Servo A, Heiskanen O: Long-term effects of nimodipine on cerebral infarcts and outcome afteraneurysmal SAH and surgery. *J Neurosurg*; 74(1):8-13,1991.
141. Bejjani G K, Bank W O, Olan WJ, Sekhar L: The efficacy and safety of angioplasty for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*; 42(5):979-86,1998.

142. Eskridge JM, McAuliffe W, Song J K, Mayberg M R, Winn H R: Balloon angioplasty for the treatment of vasospasm: Results of first 50 cases. *Neurosurgery*; 42:510-516,1998.
143. Fujii Y, Takahashi A, Yoshimoto T: Effect of balloon angioplasty on high grade symptomatic after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg Rev*; 18(1):7-13,1995.
144. Milburn JM, Moran CJ, Cross DT, Diringner MN, Pilgram TK, Dacey G: Increase in diameters of vasospastic intracranial arteries by intraarterial papaverine administration. *J Neurosurg*; 88:38-42,1998.
145. Numaguchi Y, Zoarski GH, Clouston JE, Zagardo MT, Simard JM, Aldrich E F, Sloan MA, Maurer PK, Okawara SH: Repeat intra-arterial papaverine for recurrent cerebral vasospasm after subarachnoid haemorrhage. *Neuroradiology*; 39:751 -759,1997
146. McAuliffe W, Townsend M, Eskridge J M, Newell DW, Grady M S, Winn H : Intracranial pressure changes induced during papaverine infusion for treatment of vasospasm. *J Neurosurg*; 83:430-434,1995.
147. Cross DR, Moran CJ, Angtuaco EE, Milburn J, Diringner M, Dacey R G: Intracranial pressure monitoring during intraarterial papaverine infusion for cerebral vasospasm. *Am J Neuroradiol*; 19:1319-1323,1998.
148. Comair YG, Schipper HM, Brem S: The prevention of oxyhemoglobin-induced endothelial and smooth muscle cytoskeletal injury by deferoxamine, *Neurosurgery*; 32:58-64,1993.
149. Haley ECJ, Kassell NF, Alves VM, Weir B: Phase 2 trial of tirilazad in an SAH, A report of the Cooperative Aneurysm Study. *J. Neurosurg.* 1995; 82: 786-790.
150. Schrör K: The pharmacology of cilostazol. *Diabetes Obes Metab.* 2002 Mar;4 Suppl 2:S14-9. 2002
151. Ikeda Y: Antiplatelet therapy using cilostazol, a specific PDE3 inhibitor. *Tromb Haemost*; 82(2):435-8,1999.
152. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*; 26(4):239-57,1972.
153. Assuncao Guimaraes C, Linden R. Programmed cell deaths. Apoptosis and alternative deathstyles. *Eur J Biochem* ;271(9): 1638–50.2004

154. Balla A, Toth B, Timar G, Bak J, Krajcsi P. Molecular targets for pharmacological cytoprotection. *Biochem Pharmacol*;61(7): 769–77,2001.
155. Wyllie AH, Morris RG, Smith AL, Dunlop D. Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J Pathol*;142(1):67-77,1984.
156. Apoptozise yol acan sinyaller. <http://www.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1260110359.pdf> (erişim tarihi 04.03.2011).
157. Fleisher TA. Apoptosis. *Ann Allergy Asthma Immunol*;78(3): 245-9,1997.
158. Friedlander RM. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *N Engl J Med*;348:1365–75,2003.
159. Rutledge SE, Chin JW, Schepartz A. A view to a kill: ligands for Bcl-2 family proteins. *Curr Opin Chem Biol*;6:479–85,2002.
160. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*. 1995 Mar 10;267(5203):1456–62. 1995.
161. Afford S, Randhawa S. Apoptosis. *Mol Pathol*. 2000 Apr;53(2): 55–63. 2000.
162. Barinaga M. Is apoptosis key in Alzheimer's disease? *Science*. 1998 Aug 28;281(5381):1303–4. 1998.
163. Gibson RM. Does apoptosis have a role in neurodegeneration? *BMJ* ;322(7301):1539–40,2001.
164. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100: 57–70. 2000.
165. Savinov AY, Tcherepanov A, Green EA, Flavell RA, Chervonsky AV. Contribution of Fas to diabetes development. *Proc Natl Acad Sci USA* ;100(2): 628–32,2003.
166. Love S. Apoptosis and brain ischaemia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* ; 27(2):267-82,2003.
167. Matsushita K, Matsuyama T, Kitagawa K, Matsumoto M, Yanagihara T, Sugita M. Alterations of Bcl-2 family proteins precede cytoskeletal proteolysis in the penumbra, but not in infarct centres following focal Cerebral ischemia in mice. *Neuroscience* ; 83(2):439-48,1998.



168. Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* ;74:609–19,1993.
169. Antonsson B. Bax and other pro-apoptotic Bcl-2 family "killerproteins" and their victim the mitochondrion. *Cell Tissue Res* ;306(3):347–61,2001.
170. Kanduc D, Mittelman A, Serpico R, Sinigaglia E, Sinha AA, Natale C, et al. Cell death: apoptosis versus necrosis (review). *Int J Oncol* ;21(1): 165–70,2002.
171. Zimmermann KC, Green DR. How cells die: apoptosis pathways. *J Allergy Clin Immunol* ;108:99–103,2001
172. Zhao H, Yenari MA, Cheng D, Sapolsky RM, Steinberg GK. Bcl-2 overexpression protects against neuron loss within the ischemic margin following experimental stroke and inhibits cytochrome c translocation and caspase-3 activity. *J Neurochem* ; 85(4):1026- 36,2003.
173. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* ;407(6805):770–6,2000.
174. Saraste A, Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res* ;45:528–37,2000.
175. Fujita N, Nagahashi A, Nagashima K, Rokudai S, Tsururo T. Acceleration of apoptotic cell death after the cleavage of Bcl-XL protein by caspase-3 like proteases. *Oncogene* ;17:1295–1304,1998.
176. Granville DJ, Carthy CM, Hunt DW, McManus BM. Apoptosis: molecular aspects of cell death and disease. *Lab Invest* ;78(8):893–913,1998.
177. Assuncao Guimaraes C, Linden R. Programmed cell deaths. Apoptosis and alternative deathstyles. *Eur J Biochem* ;271(9): 1638–50,2004.
178. Antunes JE, Matheus P, Freitas , Elaine F. F. da Cunha , Teodorico C. Ramalho ,Roberto Rittner In silico prediction of novel phosphodiesterase type-5 inhibitors derived from Sildenafil, Vardenafil and Tadalafil. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* ;16(16): 7599–606,2008.
179. Eardley I, Cartledge J Tadalafil (cialis) for men with erectile dysfunction .*Int J Clin Pract.* ;56(4):300-4,2002.
180. Sanser Gul , Burak Bahadir , Volkan Hanci , Sibel Bektas , Murat Can, Murat Kalayci ,Serefden Acikgoz , Bektas Acikgoz. Effect of vardenafil on cerebral

- vasospasm following experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Journal of Clinical Neuroscience* ;17 (8):1038–41,2010.
181. Onal MB, Bilginer B, Narin F, Ziyal MI, Soylemezoglu F, Ozgen T. Comparison of intrathecal cilostazol and nimodipine treatments in subarachnoid hemorrhage: an experimental study in rabbits. *Acta Neurochir Suppl.* ;110(Pt 2):43-8,2011.
  182. Ender Koktekir & Yavuz Erdem & Mehmet Akif Bayar & Cevdet Gokcek & Mete Karatay & Celal Kilic A new approach to the treatment of cerebral vasospasm: the angiographic effects of tadalafil on experimental vasospasm. *Acta Neurochir* ; 152:463–469,2010.
  183. Alexander Z, Robert E, Kazuya A, John Z: Prevention of vasospasm in penetrating arteries with mapk inhibitors in dog double-hemorrhage model. *Surg Neurol* ;54(3): 221-7, 2000
  184. Findlay MS. Cerebral vasospasm Youmans Neurological Surgery eds: Winn RH, Vol II chapter 2004; 109: 1839-67. 2004.
  185. Kassell NF, Pearless SJ, Durward QS, Beck DW, Drake CG, Adams HP. Treatment of ischemic deficit from vasospasm with intra vascular volume expansion and induced arterial hypertension. *Neurosurgery* ; 11: 337-43,1982.
  186. Kassell NF, Helm G, Simmas N, Phillips CD, Coil WS. Treatment of Cerebral vasospasm with intra-arterial papaverine. *J Neurosurg* ; 77: 848-52,1992.



