

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Nöroşirürji Anabilim Dalı

Deneysel rat subaraknoid kanama modelinde serebral
doku adrenomedullin değişiklikleri ve vazospazmla
ilişkisi.

103129

Uzmanlık Tezi



Dr. S.G.Reza Dashti

İstanbul 2001

103129

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI
DOKÜMANİSTON

**T.C.
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Nöroşirürji Anabilim Dalı**

**Deneysel rat subaraknoid kanama modelinde serebral
doku adrenomedullin değişiklikleri ve vazospazmla
ilişkisi.**

Uzmanlık Tezi

**Dr. S.G.Reza Dashti
İstanbul 2001**

ÖNSÖZ

Nöroşirurji gibi kutsal ancak her yönü ile uzun ve zorlu bir eğitim gerektiren bilimsel yolda, başladığım ilk günden itibaren bana her türlü desteği sağlayan sevgili hocam Prof. Dr. Cengiz Kудay'a ;

Tezimi hazırlarken bilgi ve tecrübesi ile yardımlarını esirgemeyen, ve ayrıca eğitimimde önemli bir yeri olan Prof. Dr. Ziya Akar'a ;

Şubat 1989 da bir nöroanatomi dersinden sonra Nöroşirürji' yi meslek olarak seçmeme sebep olan Y.Doç. Dr Sait Akçuraya;

Eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerini, hoca bilgeliğini arkadaş sevecenliği ile birleştirerek aktaran ve bana her zaman örnek olan Prof. Dr. Ali Çetin Sarıoğlu, Prof. Dr. Nejat Çıplak, Prof. Dr. Emin Özyurt, Prof. Dr. Mois Bahar, Prof. Dr. Tülay Kудay, Doç. Dr. Halil Ak, Doç. Dr. Bülent Canbaz, Doç. Dr. Murat Hancı, Doç. Dr. Ercüment Yentür, Doç. Dr. Pamir Erdinçler, Doç. Dr. Mehmet Yaşar Kaynar, Doç. Dr. Mustafa Uzan, Prof. Dr Civan İşlak, Prof. Dr. Naci Koçer, Doç. Dr. Nurperi Gazioğlu, Uz. Dr. Zihni Sanus, Uz. Dr. Şöhret Ali Oğuzoğlu, Uz. Dr. Saffet Tüzgen, Uz. Dr. Ercan Türeci, Uz. Dr. Fatma Özlen, Uz. Dr. Yusuf Tunalı ve Uz. Dr. Ali Kafadar'a;

Tez çalışmamın değişik aşamalarında bana yardımcı olan Doç. Dr. Koray Gümüştaş, Dr. Taner Tanrıverdi, Dr. Neslihan Sütpideler, Biyolog Zatiye Güler ve İnt. Dr. Yasemin Özdamara;

Berber çalıştığım bütün asistan ve hemşire arkadaşlarıma;

Ve özellikle bunca yıl boyunca sabır ve sevgiyle bana destek olan ve onlara ayırmam gereken zamandan hep fedakarlık eden eşim Nazila ve kızım Nakisaya;

En içten saygı ve teşekkürlerimi sunmak isterim.

Dr Reza Dashti

İstanbul, 2001

"Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir. Proje No: T-776/251099"

İÇİNDEKİLER

Giriş	1
Genel Bilgiler	
I- Subaraknoid kanama	2
II- Serebrovasküler spazm	3
III- Vazospazmın insidansı ve seyri	4
IV- Vazospazmın klinik özellikleri	5
V- Serebral vazospazmın mekanizması	11
VI - Adrenomedullin (AM)	24
VII- Subaraknoid Kanamaların Deneysel Modelleri	29
Materyal ve Metod	31
Sonuçlar	41
Tartışma	46
Sonuç	53
Kaynaklar	54

Giriş

Adrenomedullin (AM) ilk kez 1993 yılında insan feokromositom dokusunda bulunan vasoaktif bir peptiddir (56). AM insan vücudunda değişik dokularda ve özellikle beyin dokusunda bulunmakta, ancak, esas olarak perifer dokularda üretildiği düşünülmektedir (24,56,92). Sağlıklı insanlarda, plazmada yüksek seviyelerde bulunması nedeniyle AM'in sistemik kan akımının regülasyonunda önemli rol oynadığı düşünülmüştür. Ancak, bu yüksek plazma seviyesinin sağlanmasından hangi organın sorumlu olduğu bilinmemektedir (5,56). AM'in doku ve plazma seviyesi, hipertansiyon, kronik renal yetmezlik, konjestif kalp yetmezliği, akut MI, endotoksik şok, ve iskemik beyin hasarı gibi bir çok hastalık durumunda yükseldiği bildirilmiştir (59,76,88). Yapılan deneysel çalışmalar, AM'in serebral arterler üzerinde vazodilatator etkisi olduğunu göstermişlerdir (5,24,59). Ayrıca, deneysel fokal serebral iskemi modelinde AM gen ekspresyonun yaklaşık 17 kat arttığı ve bu artışın ortalama 15. güne kadar devam ettiği gözlenmiştir (35). Bu veriler bir arada değerlendirildiğinde AM'in nörohormon, nöromodulator, ve nörotransmitter rollerine ilaveten serebral koruyucu bir etkiye de sahip olabileceği ve iskemiyle orantılı şekilde artarak hasarın önlenmesinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülebilir. Yakın zamanda yayınlanan iki klinik çalışmada (54,40), insanlarda, subaraknoid kanama sonrası AM'in, plazmada ve BOS'te arttığı ve özellikle BOS'teki artışın vazospazm ile orantılı olduğu gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalar beyninin değişik bölgelerinde bulunan bu peptidin subaraknoid kanama sonrası parankimal düzeyde nasıl bir değişiklik gösterdiği ve bunun kantatif ölçümü hakkında herhangi bir bilgi içermemektedir. Bu çalışmada amacımız SAK sonrası beyin dokusunda AM düzeyindeki değişiklikleri saptamak ve bunu kantatif şekilde değerlendirerek bu konuya açıklık getirmektir.

Genel Bilgiler

I – Subaraknoid kanama:

Subaraknoid kanama (SAK), çok çeşitli patolojilere bağlı olarak subaraknoid aralıkta kan bulunmasıdır. Kan subaraknoid aralığa, subaraknoid mesafedeki damarlardan, beyin parankimi veya korteksten bu aralığa kanayan damarlardan, ventrikül ve ya ventrikül yüzeyindeki damarlardan, dura ve ya subdural aralıkta bulunan veya dış araknoid tabakanın rüptürüyle kanayan damarlardan girebilir (120). SAK en sık olarak kafa travması sonucu meydana gelmektedir. Travma dışı SAK' ların %80 gibi bir sıklıkla anevrizma veya AVM' lerden ileri geldiği bilinmektedir. Bunların dışında SAK anjiopati, venöz tromboz, kan hastalıkları, alerjik hastalıklar, enfeksiyonlar, intoksikasyonlar, tümörler gibi nedenlerden dolayı da ortaya çıkabilir (91,120).

Tüm inmelerin %5-10'u oluşturan SAK gerek etiyolojik faktörler ve gerekse de gelişen karmaşık klinik tablo ve komplikasyonları açısından, özellikleri olan bir kanama şeklidir (91,119). Eski çalışmalarda, SAK' ın yıllık insidansının 100.000 kişide 10-15 arasında değiştiği bildirilmiş ancak son zamanlarda yayınlanan çalışmalar, bilgisayarlı tomografi (BT) gibi radyodiagnostik yöntemlerin kullanımı ile bu oranın 100,000 de 6.5-26.4 arasında değiştiğini belirtmektedirler. Anevrizmal SAK' ın insidansı yaşla orantılı şekilde artar (ortalama 51) (66,120). SAK' ın görülme oranı genel bakıldığında, kadınlarda biraz daha yüksektir. İlk dekada erkek / kadın oranı 4:1 iken bu oran 5.dekada eşitlenmekte ve 8.dekada SAK kadınlarda 10 kat daha fazla görülmektedir (61,120). Anevrizmal SAK insidansını sigara, aşırı alkol kullanımı, hipertansiyon, oral kontraseptivler, ve kokain gibi faktörlerle artmaktadır (66,120).

Anevrizma rüptürü sonrası hastaların %10-20'si tıbbi müdahale yapılamadan, %25'i ise ilk 24 saat içinde kaybedilmektedir. Anevrizmal SAK, genel olarak, hastaların %30-50'sinin ölümüyle ve kurtulanların da %40-50'sinde belirgin nörolojik defisitlerin oluşmasıyla sonuçlanmaktadır (10,120).

SAK da prognozu etkileyen temel faktörler şu şekilde sıralanmaktadır (120):

- İlk kanamanın hacmi, hızı ve lokalizasyonu.
- Hastanın yaşı ve beyin uyum kapasitesi (Compliance).
- Hastanın genel sağlık durumu (sigara kullanımı, hipertansiyon, alkol bağımlılığı, vs.)
- Nöroşirürjikal girişimlerin ve hemşirelik bakımının kalitesi.

SAK geçiren hastalar komplikasyonlar açısından yüksek risk taşımaktadırlar. Bu komplikasyonlar kabaca nörolojik ve sistemik olarak ikiye ayrılabilir. Nörolojik komplikasyonlardan vazospazm, tekrar kanama (rebleeding), hidrosefali, ve epilepsiden bahsedilebilir. Bunların arasından vazospazm morbidite ve mortaliteyi etkileyen en önemli faktördür (91,120).

II - Serebrovasküler spazm:

Serebrovasküler spazm veya serebral arter spazmı olarak da bilinen serebral vazospazmın perifer damarlarda bir benzeri yoktur. Bu durum serebral damarların tedricen gelişen ancak devamlı olan kasılmasıdır. Serebral vazospazm, 1950 yılında Londra'da yapılan 6. Uluslararası Radyoloji Kongresinde Reid, Johnson ve Ollerenshow tarafından ilk kez gösterilmiştir (83). Literatürde ise ilk kez Ecker ve Riemenschneider tarafından 1951 yılında serebral vazospazm bildirilmiştir (26). Bildirilen bazı nadir vakalar dışında, serebral vazospazm, değişmez olarak subaraknoid kanama sonrası gelişmektedir (16,83,120). Anevrizma rüptürü sonrasında kanama alanındaki damarlarda kuvvetli bir kasılma meydana geldiği ve bunun bazı hastalarda gecikmiş iskemik nörolojik defisitlere neden olduğu bilinmektedir. Serebral vazospazm, subaraknoid kanamanın ilk etkisinden sonra görülen ve morbidite ve mortaliteyi etkileyen en sık ve en ciddi komplikasyonlardandır. Tekrar kanama (re-bleeding) ise ikinci önemli faktördür (52,83). Weir ve arkadaşlarına göre vazospazm, kanamayı takiben 3. günde başlayıp 6.-8. günlerde ise maksimuma ulaşmaktadır (118). Öte yandan subaraknoid alanda bulunan kan miktarı, vazospazmın şiddetini belirleyen faktör olarak bildirilmiştir (37).

Vazospazmı tartışırken kavram kargaşasını engellemek amacıyla günlük pratik ve literatürde kullanılan bazı önemli tanımlar aşağıda belirtilmiştir:

- *Serebral vazospazm*; subaraknoid kanamayı takiben büyük serebral arterlerin anjiyografik yöntemlerle tespit edilebilen semptomatik veya asemptomatik daralmasıdır.
- *Anjiyografik vazospazm*; büyük serebral arterlerde kontrast madde sütununun daralmasına denir. Anjiyografik olarak vazospazm fokal, yaygın, veya multisegmenter olabilir.
- *Klinik vazospazm*; serebral arter daralmasına bağlı olarak gelişen, konfüzyon ve bilinç etkilenmesiyle birlikte hemiparezi veya disfazi gibi fokal nörolojik belirtilerle karakterize olan iskemik sonuçların meydana getirdiği klinik bir sendromdur.
- *Farmakolojik olarak vazospazm* ; serebral arterlerin subaraknoid kan pıhtısıyla temas etmesinin sonucu oluşan anormal, uygunsuz, ve patolojik daralmasıdır.

III - Vazospazmın insidansı ve seyri:

Vazospazmın gerçek insidansı serebral anjiyografik tetkiklerin zamanlamasına bağlıdır (118). Eğer anjiyografi SAK sonrası ilk birkaç gün içinde veya iki haftadan uzun bir süre sonra yapılırsa, insidans daha düşük bulunacaktır. Bütün bunlara rağmen vazospazm anevrizma kaynaklı SAK sonrası görülen ölümlerin başta gelen nedeni olmaya devam etmektedir (120). 60.000'e yakın hastadan veri sağlayan geniş bir literatür taramasında (25), anevrizmal SAK'lı hastaların yaklaşık yarısının geç iskemik defisitlerden etkilendiği; bunların da 1/3'ünün öldüğü ve yaklaşık aynı orandaki hastanın da kalıcı nörolojik defisitlerle yaşadığı bildirilmiştir. SAK'ı takip eden 4. ve 14. günler arasında yapılan anjiyografilerde hastaların 2/3'ünde vazospazm saptanmıştır. Anevrizmaların tüm klinik "grade"leri göz önüne alınacak olursa, hastaların yarısından çoğunda anjiyografik vazospazmın, %25-

%50'sinde geç iskemik belirtilerin ve %30-%50'sinde BT' de vazospazma bağlı enfark belirtilerinin görüleceği ve %5-%17'sinin vazospastik enfark nedeniyle öleceği ihtimalinin olduğu görülecektir.

İnsanlarda, deneysel hayvan modellerde olduğu gibi SAK' ı takip eden birkaç saat içinde görülebilen erken bir vazospazm fazı yoktur (83). Vazospazm insanda 3. ve 4. günler arası başlıyor gibi görünmekte ve daha sonra yavaş ilerleyen bir süreçle 7. ve 10. günlerde maksimuma ulaşmaktadır (117). İskemik semptomların gelişmesi için gereken zaman, anjiyografik spazmdan en az bir gün daha fazladır (120). En sık rastlanan klinik belirtiler; bilincin etkilenmesi, baş ağrısının artması, hemiparezi ve disfazi gibi diğer fokal belirtilerdir (36,120).

Tablo 1: Serebral vazospazm oluşumunu etkileyen faktörler (65).

BT' de subaraknoid kan hacmi
Kötü klinik grade
Ventrikül içi kanama ve hidrosefali
Ateş/periferik lökositoz
Hiponatremi (hipovolemi)
Antifibrinolitik ajanlar
MCA anevrizması bulunan kadın hastalar

IV - Vazospazmin klinik özellikleri:

A - Anevrizma rüptürü ve vazospazm:

Anevrizma kesesi patladığında, kafa içi basınç artarak 1-2 dakika içerisinde diastolik basınç seviyesine gelmekte ve eğer yeni bir hematoma yoksa takip eden 10 dakika içerisinde tedricen azalarak normale yakın bir seviyeye inmektedir (11,12,114,120). Bu durum serebral kan akımının (CBF) azalmasına ve durmasına yol açabilmektedir. Serebral perfüzyondaki bu dramatik azalma, anjiyografi ve transkranyal Doppler (TCD) akım hızı ölçümleri ile gösterilmiştir. Kafa içi

basıncındaki (ICP) bu ani artışın anevrizmadan kan akışını durdurarak hasarı onaracak bir trombosit tıkaçının oluşumunu sağlamaya yeterli bir tamponat etkisi olduğu düşünülmektedir. Takip eden günler ve haftalarda bu tıkaç bir fibröz dokunun oluşumuyla kuvvetlenir böylece BOS plazminin etkisiyle pıhtı eridikten sonra anevrizmanın yeniden rüptürü önlenmeye çalışılır (83,120).

Sadece subaraknoid boşluğa olan kanamalarda kafa içi basıncı birkaç dakikada normale döner. Ancak, hidrosefali ile birlikte veya tek başına intraserebral hematomu olan, ventrikül içinde kan bulunan hastalarda kafa içi basıncı yüksek kalabilir ve hayatı tehdit edebilir. Kafa içi basınç azaldıkça serebral kan akımı (CBF) normale döner, arter kan basıncı artar (Cushing refleksi) ve serebral arterioller genişler (42,83). CBF'in bir süre için durdurulduğu ve yetersiz sistemik kan basıncından dolayı akımı yeniden sağlamanın mümkün olmadığı durumlarda, yeniden-akımsızlık (no-reflow) fenomeni olarak adlandırılan bir lokal perfüzyon yetmezliği oluşabilir. İskemik alana yeniden akım sağlandığında, metabolitlerin lokal konsantrasyonundaki artış ve lokal vazoparalizi oluşumu ile yeni akım normale göre çok daha fazla olacaktır (normalin 2 ve ya 3 katı) bu durum reaktif hiperemi olarak adlandırılmaktadır (120).

Normal şartlar altında beyin, yüksek ve sabit bir hemisferik kan akımına sahiptir. Ancak, lokal CBF oranları nöronal aktivitenin bir yansıması olan metabolizmadaki değişikliklere cevap olarak değişkenlik göstermektedir. Bölgesel metabolizmadaki değişiklikler sonucu, PaCo₂, H⁺, laktik asit ve adenosin gibi diğer metabolitlerin lokal konsantrasyonları artmaktadır. Bunun sonucunda metabolik ihtiyacı karşılamak için vazodilatasyon gelişmekte ve lokal serebral kan akımı artmaktadır. PaCo₂'deki değişiklikler, serebral kan akımın regülasyonunda etkili olan en önemli faktör olarak bilinmektedir. PaCo₂ değeri 20 ile 100 mmHg arasında olduğunda bu değerlerde oluşacak her 1mmHg'lik değişiklik için serebral kan akımında %5 gibi bir artış görülmektedir. PaCo₂, 20mmHg'nin altında ve ya 100mmHg'nin üstünde ise serebral kan akımı daha az bir oranla değişmektedir (120).

Serebral kan akımı (CBF), ortalama arter kan basıncı (MABP) ile venöz basıncın (normalde kafa içi basıncı ile eşittir) farkı olan serebral perfüzyon basıncına (CPP) bağlıdır. Normalde beyin 50 ile 150 mmHg arasındaki perfüzyon basıncı değişikliklerini kompanse etme yeteneğine sahiptir. "Serebrovasküler reaktivite" (Otoregülasyon kapasitesi) terimi, serebral dolaşımın beyin için yeterli kan sağlayabilmek amacıyla arter kan basıncı, kafa içi basıncı, serebral perfüzyon

basıncı, arter kan gazları veya lokal serebral enerji metabolizmasındaki değişikliklere cevap verebilme yeteneğidir. Arter duvarındaki düz kas hücreleri, ortalama arter basıncındaki değişikliklere bağlı olarak , ve transluminal basıncının artması halinde kasılarak CBF'in sabit kalmasını sağlar bu mekanizma "miyojenik teori" olarak bilinmektedir. Otoregölasyon, Birçok patolojik durumda lokal veya global bir şekilde bozulabilir ve bunun sonucunda CBF pasif olarak perfüzyon basıncını izler (42,83,120).

Tablo 2: Serebral Kan akımını ve Metabolizmayı Etkileyen Değişkenlerin Normal Değerleri (120) (Modifiye edilmiştir).

Erişkin beyin ağırlığı	1300-1500 g.
Glia hacmi	700 mL.
Nöron hacmi	600 mL.
BOS hacmi	130 mL.
Intrakranial kan hacmi	130 mL.
Ekstraselluler sıvı	110 mL.
Total serebral kan akımı	800 mL/dk.
Ortalama hemisferik kan akımı	45-55 mL/100 g/dk.
Bölgesel serebral kan akımı	20-80 mL/100 g/dk.
Ortalama serebral geçiş zamanı (Mean cerebral transit time)	5.4 sn.
Serebral perfüzyon basıncı (CPP)	80 mmHg.
Serebral vasküler direnç (Resistance) g/dk	1.8 mmHg/mL/100.
Serebral kan hacmi (CBV)	2-4 mL/100 g.
Oksijen için serebral metabolik hız (CMRO ₂)	3 mL/100 g/dk.
Glikoz için serebral metabolik hız	4.5 mg/100 g/dk.
Laktat için serebral metabolik hız	2.3 mg/100 g/dk.
Arter-ven oksijen farkı	6.2-6.8 mL/100 mL.

B - İskemi:

Serebral iskemi, serebral kan akımının metabolik aktivite için gerekenden çok düşük olması halidir. Altında yatan patolojik mekanizmaya bağlı serebral iskemi, yaygın veya bölgesel olabilmektedir. İskeminin şiddet ve süresine bağlı olarak beyin dokusunda enfarkt gelişebilmektedir (120). Vasospazm, serebral iskeminin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır (Tablo 3). Ancak, vazospazm, nörolojik defisit ve serebral iskemi arasındaki kompleks ilişki hala tam olarak bilinmemektedir. SAK sonrası, otoregülasyon bozulduğundan, iskemiye karşı koruyucu son mekanizma beynin mevcut kanın oksijen çekme oranını (Oxygen extraction ratio) artırma yeteneğidir. Normal şartlarda çok önemli sayılmayan, orta derecede veya ciddi hipotansiyon, artmış kafa içi basıncı, hipoksi, hidrosefali, hiponatremi ve hipovolemi gibi durumlar serebral vazospazma eşlik ettiğinde iskemi gelişme olasılığı artmaktadır (83).

Günlük pratikte, subaraknoid kanamayı takiben CBF' de meydana gelen otoregülasyon yetersizliği fenomeni aksi yönde kullanılarak, hipervolemi ve hipertansiyon indüksiyonu ile vazospazm sonucu gelişen iskemiye tedavi etmek için kullanılabilir. CBF ölçümleri ayrıca dopamin indüksiyonu ile oluşturulan hipertansiyonun ne zaman durdurulması gerektiğinin tespitinde de yardımcı olmaktadır. SAK sonrası CBF'in otoregülasyonu bozulmuş olmasına rağmen, CO₂ 'e cevap kısmen de olsa korunmaktadır. Hiperkapni, serebral kan hacmini (CBV) ve aynı zamanda kafa içi basıncını (ICP) artırırken sağlam beyin dokularından kan çalınmasına neden olduğundan beynin vazospazma karşı korunma mekanizmalarını engellemektedir. Hiperventilasyon, ileri safhada intrakranial hipertansiyonu olan hastaların tedavisinde kullanılmaktadır (83).

Tablo 3: Anevrizmal SAK sonrası gelişen serebral iskeminin nedenleri (83).

1- Vazospazm
Tromboz
2- Hipotansiyon
Antihipertansif ilaçlar (iatrojenik)
Azalmış kalp debisi
Kardiyak aritmiler
Medüller kompresyon
3-Hipovolemi
Dehidratasyon
Hipernatremi
4- Artmış kafa içi basıncı (ICP)
Tekrar kanama
Hidrosefali
İntraserebral hematom
Uygunsuz serebral hiperemi
İskemik ödem
Dev anevrizma
5- Arter kan gazlarındaki değişiklikler-hipoksi, hiperkapni, solunum yetmezliği
6- Metabolik bozukluklar-hiperglisemi ve epilepsi
7- Enfeksiyonlar

Daha önce de belirtildiği gibi, iskemi şiddetli ve uzun süreli olursa, enfarkta neden olabilir. Ancak hemen çevresindeki parsiyel iskemi alanında (ischemic penumbra) nöronal fonksiyonun geriye dönme potansiyeli vardır. CBF, 30 mL/100 g/ dk'nin altına düştüğünde nörolojik semptomlar başlamakta ve 20 mL/100 g/ dk'daki değerlerde genellikle bilinç kaybı ortaya çıkmaktadır (120).

Bölgesel serebral kan akımı (rCBF), 10 mL/100 g/ dk olması durumunda lokal metabolizma azalır, yüksek enerjili fosfat miktarı düşer ve fosfolipidlerin yıkılmasıyla serbest yağ asitleri artar. Hücre membranı geçirgenliğini kaybederek sodyum ve kalsiyum kontrolsüz şekilde hücre içine geçer. Buna karşın potasyum ve klor hücreyi terk eder ve sonuçta hücre içi kalsiyum artar. Nöronları çevreleyen astrositlerin şişmesi sonucu bölgesel beyin ödemi meydana gelir. Kalıcı beyin hasarı (enfarkt) yerleştikten bir süre sonra kan akımı tekrar artarak normale döner ve doku onarımı başlar. Ancak artık nöronal fonksiyonların geri gelmesi söz konusu değildir. Bu durumda serebral kan akımı ve metabolizma birbirlerinden bağımsız bir şekilde davranırlar (113,120).

Global serebral kan akımı (CBF), 20 mL/100 g/ dk'nin altına düştüğünde yaygın enfarkt oluşur ve buna intrakranial hipertansiyon ve BOS laktik asidozu eşlik eder. CBF sıfır değerine düştüğünde, EEG 15 sn. içinde izoelektrik olmaya başlar, uyandırılmış potansiyeller 3 dakikada, ve kortikal nöronal aktivite 3-5 dakikada kaybolur. 5 dakikadan daha uzun süren total iskemi durumunda nöronal iyileşmenin tam olamayacağı kabul edilmektedir (111,113,120).

Deneysel oluşturulan SAK sonrası, mitokondrial metabolizmadaki etkilenme ve NADH' i (reduced nicotinamide adenine dinucleotide) oluşturan glutamat veya malat gibi maddelerin artmasına rağmen, çeşitli aerobik ve anaerobik enzimlerin maksimum katalizleme hızlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (64).

Serebral iskemi sürecinde, CMRO₂'deki azalma, CBF' deki azalmadan daha da belirgindir. Vazospastik iskemi sonucu, kafa içi basıncı (ICP) yükselebilir ve genelde buna laktik asidoz da eşlik eder (113). SAK' ın CMRO₂ üzerindeki etkisi çeşitli faktörlerin birbirleri ile kompleks etkileşimini yansıtır. Anevrizma rüptürü, primer olarak, CMRO₂'nin azalmasına sebep olur. Vazospazm nedeni ile gelişen iskemi CMRO₂'in daha fazla azalmasına neden olabilir. Hidrosefali, intrakranial hematoma, cerrahi manipulasyona bağlı beyin travması ve sedatif ilaçlar serebral oksidatif metabolizmadaki azalmaya katkıda bulunurlar (14).

C- Subaraknoid kanmaya stres yanıt (Sympathetic storm):

Nörojenik akciğer ödemi, sistemik hipertansiyon, kardiyak aritmiler ve EKG değişiklikleri, hiperglisemi, hiponatremi ve kan hacmindeki değişiklikler, SAK' ı

takip eden ilk saatlerden itibaren sıkça rastlanan klinik bulgulardır. Tüm bu durumların akut hastalığa karşı oluşan stres yanıtının bir parçası olarak aşırı nörojenik ve sempatik deşarj sonucu geliştikleri düşünölmektedir (83).

Klinik olarak bu değişiklikler alışılmış stres yanıtına oranla daha şiddetlidir. Patofizyolojik mekanizma olarak, talamus'un çevresindeki küçük damarlarında oluşan vazospazm ve bunun sonucunda gelişen aşırı hipotalamik aktivasyon sorumlu tutulmuştur (83). Svendgaard ve arkadaşlarına göre bütün bu gelişmeler serebral vazospazma karşı refleks olarak ortaya çıkmaktadır. Bu hipotezde subaraknoid kanın, trigeminal perivasküler ağrı yollarını uyardığı, bu uyarının özellikle solitary traktus nükleusu, vagusun dorsal motor nükleusu, ve A₂ nükleusu olmak üzere beyin sapı nükleuslarına iletildiği öne sürölmüştür. Ayrıca refleks arkusun katekolamin (Catecholamine) yolları üzerinden hipotalamus'a ve median eminens'e ulaştığı ve buradan lokal peptidleri salgılanmasıyla vazospazmı provoke ettiği ve sempatik fırtına olarak adlandırılan klinik tablonun meydana geldiği savunulmuştur (101). Sebebi ne olursa olsun, aşırı sempatik deşarj sonucu meydana gelen bu sistemik değişiklikler, subaraknoid kanama nedeni ile tedavi edilen hastaların genel durumunu ve prognozunu etkilemekte bazı komplikasyonlar geliştiğinde (nörojenik akciğer ödemi gibi) acil ve agresif tedavi gerekmektedir.

V - Serebral vazospazmın mekanizması:

Erken BT çalışmalarından elde edilen bilgilere göre vazospazm olasılığı, periarteriyel kan pıhtısı kalınlığı ile orantılı olarak artmaktadır, ancak bu ilişkinin basit bir ilişki olmadığı ve çeşitli faktörlere bağı olduğu ayrıca bilinmektedir. Serebral arter duvarını oluşturan her tabaka vazospazmın değişik bir evresinde etkilenmektedir. Serebral vazospazm, vasküler düz kas ve endotel ile değişen özellikleri ve bunlarla temas eden vazoaaktif maddeler arasındaki etkileşim sonucu meydana gelmektedir (83). Tablo 4 ve 5 de bazı vazoaaktif maddelerin özellikleri özetlenmiştir.

Tablo 4: İnsan serebral arterler üzerinde kontraktil etki yaratan doğal maddeler (83).

Tam kan	Proteinler ve peptidler
Kan Fraksiyonları	Angiotensin III
Parçalanmış eritrositler	Neuropeptide Y
Hemolize serum	Substance P
Taze serum	Fibrin degradation products (FDP)
Trombositler	Oxytocin
Lökositler	Vasopressin
	Oxyhemoglobin
Aminler	Platlet-derived growth factor
Serotonin	Plasmin
Norepinefrin	Cathepsin D
Epinefrin	Carboxypeptidase A
Dopamin	Endothelin
Histamin	
Melatonin	İyonlar
Tyramine	Kalsyum
Tryptamine	Potasyum
Acetylcholine	
Lipidler	Diğer faktörler
Arachidonic asid	Kanlı CSF
Thromboxane A2	Arter duvarına ait faktörler
Prostaglandin F2 α , E2	Hipotalamik faktörler
Leukotrien'ler	Lokal doku hipoksisi
	Lokal serbest radikal oluşumu
	Uridin diphosphate, uridine triphosphate

Tablo 5: Serebral vazospazma karşı doğal savunmalar (83)

- Serebral arter ve leptomeninksler tarafından sentezlenen prostasiklin
- Serebrovasküler endotel tarafından sentezlenen endotel-bağımlı relaksan faktörler (EDRF)
- Serebral perivasküler sinirler tarafından salgılanan calcitonin gene related peptide (CGRP)
- Aminlerin nöronal geri alınımı (serotonin gibi)
- Desensitizasyon ve/veya taşıflaksi
- Lokal asidoz
- BOS dilüsyonu
- BOS içindeki antioksidanlar
- Kanama sonrası BOS içinde bulunan inhibitör plazma proteinleri (haptoglobulin, alfa-2 makroglobulin, antitrombin-III)
- Serebral arterlerin farmakodinamik farklılıkları

A - Arter duvarı ultrayapısal değişiklikleri:

1964 yılında Crompton, subaraknoid kanamanın 3. haftasından sonra ölen hastaların serebral arterlerinde histolojik değişiklikleri tanımlamıştır (83). Anjiyografik olarak vazospazmı saptanan hastaların bir çoğunda subendotelial lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu ve vazospastik segmentlerde geç dönemde fibrozis görülmüştür. Ayrıca üçüncü haftadan önce ölen hastalarda, adventisyada bazı enflamatuar değişiklikler ve tunika media'da nekroz alanları bulunmuştur. Bu değişiklikler "proliferatif vaskülopati" veya "arteriopati" olarak tanımlanmıştır (83). Daha sonraki çalışmalarda, tunika adventisyanın ödem nedeniyle kalınlaştığı ve lenfositler, plazma hücreleri, ve makrofajlar tarafından çevrildiği gösterilmiştir (46). SAK' tan en az 3 hafta sonra ise arterlerde, dış çapın büyüdüğü, lümenin normal veya daraldığı ve duvarın normalden kalın olduğu, özellikle subendotelial fibrözün neden olduğu anormal intima kalınlaşması ve tunika medianın atrofik olduğu saptanmıştır. Küçük arterlerde genellikle subintimal kalınlaşma görülmektedir (47).

Deneyisel olarak oluşturulan geç vazospasm modellerinde, bazal arter duvarlarında belirgin ultrayapısal değişiklikler, özellikle miyonekroz gösterilmiştir (1,107). Tunika media'da miyonekroz süreci SAK sonrası 1.ve 4.aylar arasında maksimuma ulaşmakta ve bir yıldan daha uzun bir süre devam etmektedir. Gerçek patofizyolojik mekanizmaların hala tanımlanamamasına rağmen, bu ultrayapısal değişikliklerin başlamasında periarteriyel kan pıhtısının gerekli olduğuna inanılmaktadır (60).

B - Vazospazmın moleküler temeli:

Kan ürünlerinin, özellikle oksihemoglobinin serebral vazospazmın oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir (97). Oluşan vazospasm bifazik paterne sahiptir. SAK' in 1-3 gününde akut vazospasm görülür, bunu gecikmiş faz izler (7,71). Bununla birlikte, vazospazmın akut ve gecikmiş fazından sorumlu tutulan ajanlar tam olarak tanımlanamamıştır (16). Akut vazospasm, yüksek mortalite, kafa içi basınç artışı, serebral kan akımının ve serebral perfüzyon basıncının azalması ile karakterizedir. Fakat insanlarda akut vazokonstrüksiyon nadiren görülmektedir. SAK sonrası oluşan gecikmiş vazospasm tedaviye dirençli ciddi bir klinik problemdir ve yüksek morbidite mortaliteye sahiptir (23). Vazospazmın patogenezi multifaktöryel ve son derece karmaşıktır. Vazospazmın tedavisi ile ilgilenen araştırmacılar ve klinisyenlerin tablonun moleküler biyolojik temelini detaylı ve sistematik bir şekilde bilmeleri son derece önemlidir.

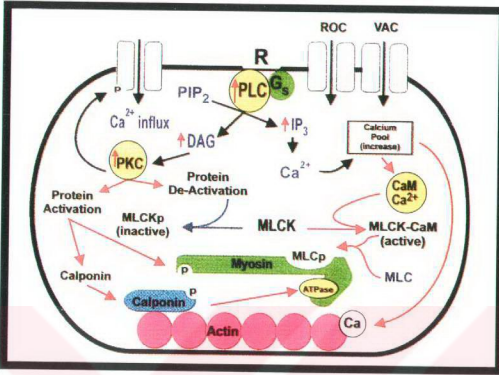
1 - Vasküler tonus regülasyonu:

Vasküler düz kas hücresi ve endoteliumda, vasküler tonusu kontrol eden çeşitli metabolik mekanizmalar etkili olduğu düşünülmektedir. Bu mekanizmaların belki en önemlisi, vasküler düz kasın ve endotel hücrelerinin arter kan basıncı ve akımı gibi temel fiziksel faktörlere olan cevabıdır. Arter duvarının stres ve gerilmesiyle tetiklenen bu mekanizmalar, kan basıncındaki büyük değişikliklere rağmen serebral kan akımının sabit tutulmasını sağlamaktadırlar. Damar duvarında stresin artmasıyla düz kas hücresi aktive olmakta (Bayliss etkisi), damar çapı azalmakta

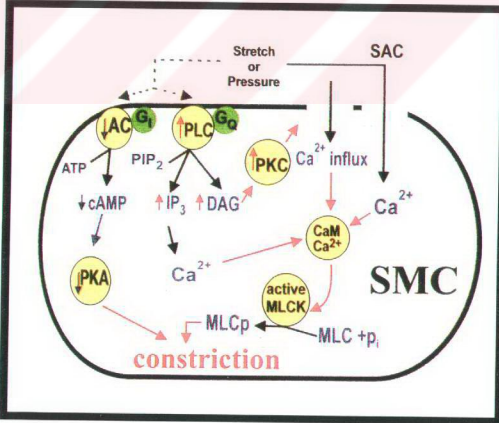
ve direnç artmaktadır (23,73). Bu değişiklikler de damar duvarının gerilmesinde artış sonucunda aralarında özellikle NO (nitrik oksit) de bulunan EDRF' lerin (endothelial derived relaxing faktors) damar duvarından salınmasına yol açmakta ve böylece oluşan vazospazmı engellenmeye çalışmaktadır (32,72). Düz kas hücreleri ve endotel arasındaki bunca hassas dengeler, çeşitli metabolik, hormonal ve nöronal faktörlerin etkileşimi ile sağlanmaktadır (Şema 2).

Vasküler tonusu etkileyen metabolik faktörler çok çeşitlidir. Bunların en önemlileri hücre dışı PH, laktik asit, adenosin, adenosin trifosfat (ATP), oksijen (O₂), karbondioksit (CO₂) tir. Bu maddeler genelde ya arterin hemen komşuluğunda üretilip direkt etki göstermekte veya başka yerde üretilip mikrovasküler yatağa salınarak vazomotor kondüksiyon yoluyla küçük damarlardan büyük damarlara vazoaktif mesajlar taşımaktadır (22,23). Büyük serebral damarlar sempatik ve parasempatik uyarı almaktadırlar ancak damar çapları küçüldükçe bu uyarıların yoğunluğu da hızla azalmaktadır. Bu bilgilere dayanarak bazı ko-transmitterlerin (örneğin ATP) sirkülasyona geçip vazoaktif etkilerini gösterdikleri tahmin edilmektedir. Serebral sirkülasyonun venöz fazda özellikle çeşitli santral nükleuslardan innerve edilmektedir ancak bu innervasyonun fizyolojik temeli henüz tam olarak bilinmemektedir (23,75) (Şema 1).

Şema 1: Vasküler düz kas hücresinin tonusunu etkileyen faktörler (23).



Şema 2: Gerilim sonucu düz kas hücresi kontraksiyonu (23).

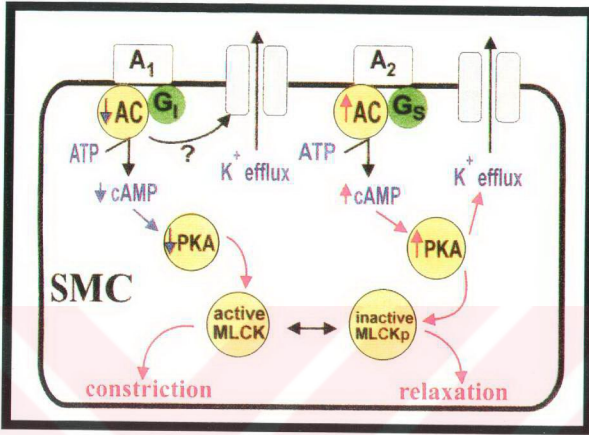


a - Düz kas hücresi:

Sitozol'deki kalsiyum (CA^{2+}) aktivitesi, düz kas hücre kontraktilitesinin regülasyonunda merkezi rol oynamaktadır (112). Kalsiyum, kalmodulini aktive eder ve buda miyozin hafif zincir kinazı (MLCK) aktive etmektedir. Bunların sonucunda serin 19 pozisyonundaki miyozin hafif zincirinin (MLC) fosforilasyonu oluşmaktadır. Fosforile MLC aktin filamanlarla interaksiyona girmesi sonucu kontraksiyon gerçekleşmektedir (55). Düz kas hücresi aktivasyonunda en önemli rolü oynayan kalsiyum aktivitesinin yanında, diğer hücre içi mekanizmalar da, özellikle protein fosforilasyonu ve de fosforilasyonu, hücre içi kalsiyum aktivitesini değiştirmeden damar düz kas tonusunu etkilemektedirler. Bu mekanizmaların örnekleri, Serine 19 harici diğer pozisyonlardaki miyozin fosforilasyonu, aktin regüle edici proteinlerden kaldesmon ve kalponinin protein kinaz C (PKC) tarafından fosforilasyonu, MLCK'nın fosforilasyonu sonucu inaktif hale gelmesidir (23,55).

Hücre içi kalsiyum özellikle sarkoplazmik retikulumda ve daha az miktarlarda hücre membranına bağlı veya düz kas hücrelerinde bulunan mitokondrin içinde depolanmaktadır. Ekstraselluler aralıkta bulunan kalsiyum da aynı zamanda önemli bir kaynaktır. Ekstraselluler kalsiyumun hücre içine alınmasını sağlayan çeşitli kalsiyum kanalları bulunmaktadır. Bu kanallar voltaj veya reseptöre bağımlı olarak veya mekanik gerilmelere karşı cevaben açılmaktadırlar. Öte yandan, sarkoplazmik retikulum, hücre içi inositol 1,4,5 trifosfat artışı veya ryanodine duyarlı reseptörlerin aktivasyonu sonucu kalsiyum salınmaktadır. Siklik guanozin mono fosfat (cGMP), ayrıca, sarkoplazmik membrana bağlı kalsiyum pompalarını aktive ederek hücre içi kalsiyumun sekestrasyonunu sağlamaktadır. İntrasellüler kalsiyumun azalması birlikte düz kas hücrelerini relaksasyonu oluşmaktadır (23,121). cGMP üretiminde rol alan guanilat siklaz'ın (GC) asıl aktive eden en önemli faktör nitrik oksitir (NO) (121). Siklik adenosin mono fosfat (cAMP), protein kinaz A'yı inaktive ederek ve sonuç olarak MLCK'nın aktivitesi azaltarak vazorelaksasyon oluşturmaktadır (23) (Şema 3).

Şema 3: Düz kas hücresinde reseptöre bağlı G proteinleri ve onların inhibisyon / aktivasyonu sonucu gelişen relaksasyon/ konstriksiyon (23).



b - Endotel Hücresi:

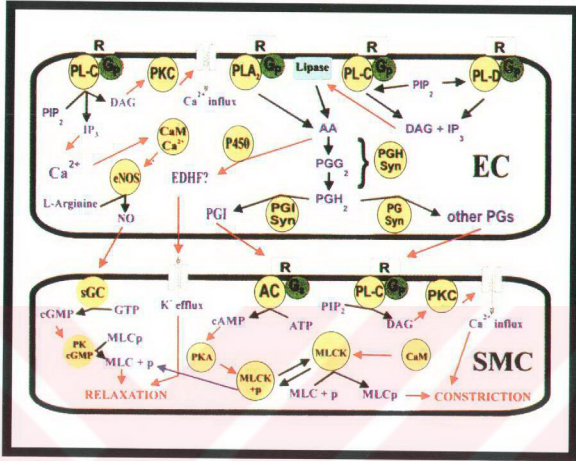
Endotel hücrelerinde, relaksasyon faktörlerle birlikte (EDRFs) konstriksiyon faktörleri (EDCFs) de üretilmektedir. EDRF'leri majör olarak NO ve NO-ilişkili maddelerin oluşturduğu bilinmektedir. Ancak, prostaglandin deriveleri (Prostasiklin) ve endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) gibi maddeler de bu gruba dahildir. Hücre içi kalsiyum, aynı zamanda, NO sentaz (NOS) ve siklooksijenaz gibi anahtar enzimlerin aktivasyonunda da önemli rol oynamaktadır (15,70,81). NOS, L-arjininin NO ve sitriline metabolize olmasından sorumludur ve santral sinir sisteminde etki gösteren 3 değişik izoformu tanımlanmıştır (23). Yüksek çözünürlük özelliği olan NO düz kas hücrelerine girerek GC'i aktive etmekte ve cGMP'nin oluşmasına neden olmaktadır. cGMP konsantrasyonunun artması sarkoplazmik retikuluma bağımlı kalsiyum pompalarını aktive ederek sitozol kalsiyumunun sarkoplazmik retikuluma girmesini sağlamaktadır. Hücre içi kalsiyumun 200 nmol/L' ye kadar yükselmesinin NO üretimini kolaylaştırdığı

bilinmektedir. Daha fazla artış prostaglandine bağımlı maddelerin üretimini artırmaktadır (23). Prostaglandine bağımlı EDRF'ler düz kas hücresinde EDHF, adenilat siklazı (prostasiklin) veya potasyum kanallarını aktive etmektedir (9,82). EDHF'in sitokrom P₄₅₀'nin derivesi olduğu ve düz kas hiperpolarizasyonu yoluyla kalsiyumun hücreden çıkışını sağladığı düşünülmektedir. Endotelden salınan potasyumun da başlı başına, bir EDHF olduğu ve vazodilatasyona yol açtığı tahmin edilmektedir (23). Prostasiklin, adenilat siklazı aktive etmekte gerek potasyum kanallarının aktivasyonu ve gerekse MLCK'nın inaktivasyonu yoluyla vazorelaksasyon oluşturmaktadır (82).

c - EDRF'lerin etki mekanizması:

EDRF'lerin gerilme streslerine bağımlı olarak salındığını açıklamaya çalışan çeşitli mekanizmalar vardır. Luminal gerilmeyle aktive edilen kalsiyum kanalları endotel hücrelerine kalsiyumun girişini sağlar. Diğer bir mekanizma da gerilmeyle aktive olan fosfolipaz C aktivasyonudur. Fosfolipaz C, inositol1,4,5-trifosfat üzerinden endoplazmik retikulum kalsiyumunun ortama verilmesini veya diasilgliserolu artırarak PKC –bağımlı NOS aktivasyonunu sağlamaktadır. Benzer şekilde, strese duyarlı potasyum kanallarının aktivasyonu sonucu endotel hücreleri hiperpolarize olmakta ve voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını aktive ederek hücre içi kalsiyum ve NOS aktivasyonunu artırmaktadır (8,23) (Şema 4). Bunun yanında, parakrin ATP salgılanması sonucunda NO üretimi ve endotel hücrelerden parakrin NO salgılanmasında gözlenen başka bir mekanizmadır (38).

Şema 4: Endotelden salgılanan EDRF'ler ve düz kas hücresi üzerinde etkileri (23).



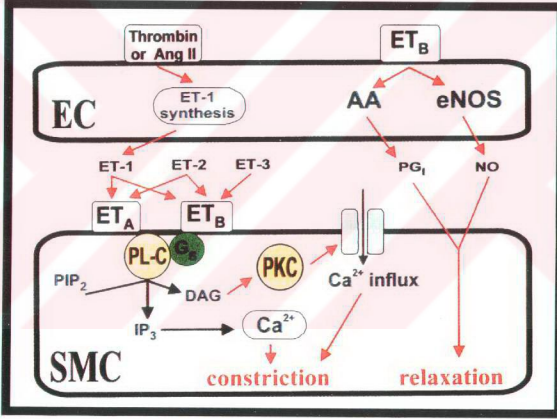
d - EDCF' ler:

Endotelin (ET), en etkili EDCF olarak bilinmektedir, ancak, endotelden salgılanan anjiotensin II ve tromboksan gibi diğer vazokonstriktif maddeler de bu gruba dahil edilmektedir. ET, primer olarak, Trombin veya anjiotensin stimülasyonu sonucu endotel hücrelerinde üretilmektedir. Ekstrasellüler aralıkta ve düz kas hücrelerinde de ET üretilmektedir (124). ET'nin 3 farklı izoformu vardır (ET-1, ET-2, ET-3), bunlardan ET-1 serebral arterler üzerinde daha fazla etkilidir. ET'ler en az 3 farklı reseptör (ET_A, ET_{B1}, ET_{B2}) üzerinden etkisini göstermektedir. Vasküler düz kas hücrelerinde bulunan ET_A reseptörleri vazokonstrüksiyon sağlamaktadır. ET_{B1} alt grup reseptörleri vasküler endotel hücrelerinde bulunmakta ve EDRF üzerinden

endotele bağımlı vazodilatasyon oluşturmaktadır. ET_{B2} alt grup reseptörleri ise düz kas hücrelerinde fosfolipaz C ile PKC aktivasyonu sonucu artan kalsiyum üzerinden vazokonstriksiyon oluşturmaktadır (85,124,125). ET-1 ve ET-2 ler, ET_A ve ET_B reseptörlerinin her ikisine bağlanmalarına karşın, ET-3'ler, ET_B reseptörü için daha spesifiktir (23).

Anjiyotensin II ve vazokonstriktör prostaglandinler (Prostaglandin_{2α}, Trombokzanlar) diğer EDCF' lerdir. Hipoksi gibi bazı uyarılar prostasiklin sentezini azaltarak indirekt olarak vazokonstriksiyon oluşturabilmektedirler (23,53) (Şema 5).

Şema 5: Endotelinler ve etki mekanizmaları (23).



2 - SAK sonrası gelişen vazospazmda yer alan moleküler mekanizmalar:

Subaraknoid kanama, lokalize vazospazm oluşturarak, serebrovasküler direnci artırmakta ve otoregülasyonu bozarak serebral kan akımını etkilemektedir. Bunların sonucunda, beyin, serebral perfüzyon basıncındaki geçici değişikliklerden daha fazla etkilenmektedir. Buna karşın deneysel olarak oluşturulan SAK' larda otoregülasyonun tamamen bozulmadığı ancak sağa şift ile daha yüksek kan basıncına doğru kaymakta olduğu ve bunun da otoregülasyon kapasitenin kısmen azaldığını gösterdiği ortaya konulmuştur (122). SAK sonrası, insanlarda, serebral kan akımının otoregülasyonu bozulmaktadır. Vazospastik damarların distalinde, parankimal damarların dilatasyon kapasitesinin azalması, mikrosirkülasyonun tutulumunu göstermektedir (123). Bunun yanında, damarlarda, vazoaaktif ajanlara karşı vazodilatör cevabın azaldığı da bildirilmiştir (78).

a – Endotel' de moleküler değişiklikler:

Vazospazmın patofizyolojisinde endotelial mekanizmaların primer bir rol oynadığı bilinmektedir (33). Bu mekanizmalar, endotele bağımlı relaksasyonun bozulması, EDCF' lerin üretiminin artışı ve potasyum kanal aktivitesinin bozulmasıdır. Endotele bağımlı relaksasyonun bozulmasında oksihemoglobin ve bilirübünin önemli rol oynadığı (85,106) deneysel (27) ve klinik çalışmalarda (78) gösterilmiştir. Oksihemoglobin, etkisini; NO'yu ortamdaki temizleyerek veya inaktive ederek, GC'yi inaktive ederek ve oksijen serbest radikallerinin üretimini artırarak göstermektedir. NO'un ortamdaki temizlenmesi veya aktivasyonunun azalması, GC aktivasyonunun azalmasına yol açmakta ve bunun sonucunda vazokonstriksiyon oluşmaktadır. Hemoglobin, ferröz hem grubuna bağımlı enzimleri oksitleyerek GC'yi inaktive etmektedir (23, 63). Hemoglobin ve diğer ferröz bileşikler endotel ve düz kas hücrelerine zarar veren oksijen serbest radikalleri oluşmasına yol açarak vazospazm oluşturmaktadırlar (39). Endotel geçirgenliğinin artması, hücre içi kalsiyum ve inositol 1,4,5 trifosfat seviyelerinin yükselmesi ile gelişen hücre depolarizasyonunun vazospazma sebep olduğu tahmin edilmektedir (23). İnsanlarda SAK'dan sonra dokudaki üretiminin azalması

nedeniyle, sisternal süperoksit dismutaz (SOD) seviyesi azalmakta ve böylece koruyucu etkisini gösterememektedir (41).

Endotelial NO yokluğunda, ET vazospazm oluşumuna aktif şekilde katılabilmektedir. Subaraknoid kanamalardan sonra ET-1 vazospazmı oluşturan en önemli sebep olarak bilinmektedir. ET-1 serebral arterlerin adventisyalına etki ederek (lümende değil) uzun süreli ve doza bağımlı vazokonstriksiyon oluşturmaktadır (124).

b - Düz kas hücresinde değişiklikler:

Düz kas hücresi SAK'dan sonra depolarize olmaktadır. Burada potasyum kanallarının inhibisyonu veya enerji metabolizmasının bozulması nedeniyle iyon pompalarının disfonksiyonu etkili olduğu mekanizmalardır (23). Bu noktada potasyum kanallarının aktive edilmesi yoluyla vazospazmın tedavi edilebileceği düşünülmektedir. Ancak bu aşamaya gelmeden önce potasyum kanallarının değişik tiplerinin tanımlanması ve fonksiyonlarının bilinmesi gerekmektedir (78,125).

Subaraknoid kanamalardan sonra kalsiyum kanallarının aktivasyonunun düz kas hücresinin kontraksiyonuna sebep olduğu düşünülmektedir. Oksihemoglobinin hücre içi kalsiyumu azaltması sonucu, voltaj'dan bağımsız kalsiyum kanalları yoluyla ekstrasellüler kalsiyum hücre içine girmektedir. Subaraknoid kanamalardan sonra gelişen hücre içi kalsiyum artışı bu mekanizmalarla açıklanabilmektedir (13,55). Serebral vazospazmın tedavisinde kalsiyum kanal inhibitörlerinin kullanımı faydalı klinik etkiler göstermektedir ancak bu etkilerin hangi mekanizmalar yoluyla geliştiği bilinmemektedir (34). Aynı şekilde, cAMP, cGMP, PKC, ve kalponinin vazospazmın oluşumunda gösterdikleri değişiklikler ve bunun doğrultusunda spazmın önlenmesinde oynayabilecekleri roller yapılacak çalışmalar sonucunda belirlenecektir (23).

VI - Adrenomedullin (AM):

Adrenomedullin (AM) ilk kez insan feokromasitoma dokularında bulunan ve etkisi rat trombositlerinde cAMP konsantrasyonu monitarizasyonu yöntemiyle denenen yeni bir hipotansif peptiddir (56). İnsan adrenomedullini 52 amino asitten oluşmakta ve biyolojik aktivitesinde çok önemli rol oynayan C-terminalinde tirozin amid (Tyr52-NH₂) ve intramoleküler disülfid bantlarının oluşturduğu halkalı bir yapıya sahiptir (56,28). AM, yapısal olarak, güçlü hipotansif ve vazodilatatör etkiye sahip olan CGRP'ye (calcitonin gene related peptide) kısmen benzerlik göstermektedir (49,56,74). CGRP gibi, AM de büyük serebral damarlarda etkili vazodilatasyon oluşturmakta ve bu nedenle perifer vasküler sistemin yanı sıra serebral kan akımı (CBF) regülasyonunda da aktif bir rolü olduğu düşünülmektedir (56,74,92). Adrenomedullin ve amilin CGRP ile aynı reseptörleri paylaşmakta ve gösterdikleri benzer etkileri nedeniyle CGRP grubu olarak sınıflanırlar. AM endotelden salınan bir hormon veya lokal bir vazodilatatör ajan olarak görev yaparken CGRP bir nöropeptid olarak etkisini göstermektedir (5,19,49,56,74,92). AM' i kodlayan cDNA insan ve sıçan dokularından izole edilmiş ve literatürde bildirilmiştir (56).

İnsan vücudunda, AM, serebral korteks dahil birçok dokuda bulunmaktadır. Adrenomedullin mRNA, özellikle kalp, akciğer, böbrek, aort, dalak, duodenum, adrenal bezler, ve submandibular bezler gibi periferik dokularda sentezlenmekte ve daha az miktarlarda da santral sinir sisteminde sentezlenmektedir (24,56). Ayrıca, AM'in endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde aktif şekilde sentezlediği ve adrenomedullin mRNA'nin bu iki dokuda yüksek miktarlarda bulunduğu bildirilmiştir (24,57). Aynı şekilde bu hücrelerde, yapımın göstergesi olan, AM gen transkripsiyonu da adrenal bez ve akciğer gibi dokulara göre çok yüksek seviyelerdedir (99,100). AM gen transkripsiyonun yüksek bulunması vasküler dokuların plazma AM' inin asıl kaynağı olduğunun bir göstergesidir (54). AM'nin vasküler dokudan sekresyonun özellikle endotel kaynaklı vazokonstriktör bir peptid olan endotelin-1'e benzemesi de, plazma AM'in kaynağı olarak vasküler dokuyu desteklemektedir (24,45). Neonatal rat kardiyak miyositlerinden elde edilen doku kültürlerinde AM'nin üretimi ve sekresyonu gösterilmiş ve AM'nin kardiyak

dokunun gelişiminde otokrin veya parakrin bir role sahip olduğu düşünülmüştür (51).

Yapılan çalışmalarda, AM' nin, intravenöz yolla verildiğinde güçlü bir hipotansif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (56,49). Ayrıca in-vivo çalışmalarda köpek vertebral ve baziller arterlerinde derin bir vazodilatasyon yarattığı görülmüştür (5). Köpek vasküler halkaların kullanıldığı in-vitro çalışmalarda, AM' e karşı heterojen duyarlılık olduğu ve bu duyarlılığın baziller ve mezenter arterlerde renal, koroner ve femoral arterlere nazaran daha güçlü olduğu tespit edilmiştir (74). Buna karşın, diğer bir çalışmada, izole köpek baziller ve orta serebral arterlerinde, AM' ye yalnızca zayıf bir yanıt alındığı açıklanmıştır (5).

Sağlıklı insanlarda, AM plazmada yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur ve bu peptidin gerek vazodilatatör gerekse hipotansif bir ajan gibi davranarak sistemik kan akımını kontrol ettiği düşünülmektedir (5,56). Ancak, AM'nin plazma konsantrasyonunun kontrolünü sağlamakla görevli olan organlar henüz tam olarak ortaya konamamıştır. AM'in kardiyovasküler sistem ve mezenter damar yatakları üzerindeki etkilerini incelenmesi sonucunda peptidin negatif inotropik bir ajandan ziyade periferik vasküler sisteme direkt etkili olduğu görülmektedir (5).

Hipertansiyon, kronik böbrek yetmezliği, konjestif kalp yetmezliği, akut miyokard enfarktüsü, endotoksik şok ve serebral iskemi gibi bir çok hastalık durumunda AM'in plazma ve doku konsantrasyonları değişmektedir (59,76,88). Gebelik sırasında plazma AM konsantrasyonunun kontrol grubuna göre yükseldiği tespit edilmiştir (20). Ayrıca pre-eklempside, fetüste tespit edilen fokal AM konsantrasyon artışının bozulan intrauterine ortama reaksiyon olarak geliştiği düşünülmektedir (21).

AM santral sinir sistemi üzerindeki etkilerini sempatik aktiviteyi uyararak, hipertansiyon oluşturarak ve sıvı-elektrolit balansını kontrol ederek göstermektedir (90,102).

İn-vivo bir çalışmada, AM'in, serebral arteriollerde temelli bir dilatasyon sağladığı saptanmış ve peptidin serebrovasküler fizyolojik ve patolojik olaylarda önemli rol oynadığı düşünülmüştür (59). Ancak diğer çalışmalarda, AM'in, intraserebral damarların normal tonusunun sağlanmasında büyük bir etkisi olmadığı ileri sürülmüştür (44). Dışarıdan verildiğinde, AM, kendine özel veya CGRP reseptörleri yoluyla kortikal mikrodamarlarda geçici bir dilatasyon yapmaktadır (103). Ayrıca, AM, endotelini (ET) inhibe ederek iskemik beyin hasarını engellemektedir (59).

Doğan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada anestezi altındaki Sprague Dawley ratlarda AM intravenöz olarak verildiğinde sistemik kan basıncı ve kan gazları etkilenmeksizin, maksimum %45'e varan ve doza bağımlı bir şekilde serebral kan akımını (CBF) arttırdığı kaydedilmiştir (24). Köpek izole orta serebral ve vertebral arterlerinde (5,115), in-sitü rat pial arterlerde (115) ve rat intraserebral arteriollerinde (24) elde edilen vazodilatatör cevap, AM'nin serebral damarlar üzerinde vazoaaktif etkisi olduğunu göstermektedir. Bütün bu çalışmaların sonuçları bir arada değerlendirildiğinde, AM'in serebral kan akımının kontrolünde vazoaaktif bir peptid olarak önemli rol aldığı anlaşılmaktadır.

Köpeklerde vertebral artere direkt enjekte edildiğinde, AM' nin, kan akımını arttırdığı gösterilmiştir (5). İn-vivo çalışmalarda da, AM' nin, büyük serebral arterlerde vazodilatasyonu indüklediği ve aynı zamanda endotelden bağımsız olarak baziller ve orta serebral arterlerde dilatasyon sağladığı gösterilmiştir (5,115).

Adrenomedullinin, 1 pmol/L gibi konsantrasyonlarda serebral arteriollerde gerçek bir dilatasyon oluşturduğu ve bu etkinin tekrarlanan dozlarla taşıflaksi görülmeksizin yine elde edilebildiği bildirilmiştir (59). AM'nin intraventriküler enjeksiyonu sonucunda sistemik arter basıncında ve renal sempatik sinir aktivitesinde (RSNA) doza bağımlı bir artış görülmüştür. Ayrıca, uyanık tavşanda AM ve CGRP'nin intraventriküler verilmesi sonucu RSNA ve kalp atım hızını kontrol eden barorefllekslerin güçlendiği tespit edilmiştir. Baro-reflekslerin modülasyonunu area postrema, soliter trakt nükleusu, ve ventrolateral medlla gibi bölgelerden kontrol edildiği tahmin edilmektedir (67). Bu bulguların ışığında, AM ve CGRP' nin, kardiyovasküler regülasyonda, sadece vasküler düz kaslara direkt etkisiyle değil aynı zamanda santral sinir sistemindeki etkileriyle indirekt olarak rol oynadığı düşünülmektedir.

Hipofizde ve beynin tüm bölgelerinde AM mRNA ekspresyonu gösterilmiştir (99,102). Ratlarda, başta hipofiz olmak üzere, paraventriküler, supra-optik ve infundibular hipotalamus çekirdekleri, beyin sapı, koroid pleksus, serebellum ve beynin diğer bölgelerinde immuno-reaktif AM yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Ayrıca "Adrenomedullin-benzeri immünoreaktivite gösteren nöronlar" tespit edilmiş ve aksonlarının nrohipofizde ve median eminansta sonlandığı düşünülmektedir (48,80,92,108,116). AM hipotalamus ve beyin sapındaki kemoreseptrlere etki ederek su ve tuz alımını, ayrıca anterior hipofiz

hormonlarını (ACTH gibi) ve beslenmenin modülasyonu kontrol ettiği bildirilmiştir (89). AM, Hipotalamus dışında beynin diğer bölgelerinde nöronlar, vasküler endotel hücreleri, ve düz kas hücreleri tarafından üretilmektedir (99,100,102). AM'in sentez ve salınımın göstergesi olan peptid/mRNA oranı beynin değişik bölgelerinde hesaplanmış ve değişik oranlarla karşılaşılmıştır. Buna göre en yüksek peptid/mRNA oranı beyin sapında tespit edilmiş ve bunu hipotalamus izlemektedir (48).

İnsan beyinde AM' e özel reseptörler tespit edilmiş ve bunların da aynı zamanda CGRP'den de etkilendiği ortaya konulmuştur. Bu da AM ve CGRP'nin insan beyinde nöromodülatör veya nörotransmitter rolü olduğunu kanıtlamaktadır. AM, beyinde nörotransmitter veya nöromodülatör, ve hipofizde nörohormon, otokrin veya parakrin bir faktör olarak görev yapmaktadır (96,99,100,102).

AM'nin biyosentezinde, glisin-uzanımlı AM'in (olgunlaşmamış adrenomedullin; iAM), pro-AM'den ayrıldığı ve bir sonraki aşamada, enzimatik amidasyonla AM(1-52)-NH₂'e (aktif veya olgunlaşmış adrenomedullin; mAM) dönüştürüldüğü bilinmektedir. Plazma ve değişik dokularda bulunan AM'nin bu iki formu (iAM ve mAM) mevcut radioimmünassay (RIA) yöntemleriyle ayırtedilememektedir (45,57). Ayrıca, insanlarda, iAM'nin sekresyon ve klirans mekanizmaları halen bilinmemektedir (45).

Yapılan çalışmalarda, AM'nin, izole mezenter arterlerdeki relaksasyonu veya vasküler düz kas hücresinde cAMP stimülasyonu gibi etkilerinin, CGRP antagonisti olan CGRP-(8-37) ile bloke edildiği bildirilmiştir (59). Bu bulgular, AM ve CGRP'nin en azından bazı dokularda CGRP reseptörünün alt tipi olan aynı reseptörü paylaştıklarının göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Buna karşın, rat renal dokusunda ve insan endotel doku kültüründe yapılan çalışmalarda AM'nin etkisi CGRP inhibitörü (CGRP-[8-37]) tarafından bloke edilememekte ve böylece AM' e özgün başka reseptör tip/tiplerinin de var olduğu düşünülmektedir. CGRP ve AM, G-proteinler ve adenilat siklaz (AC) yardımıyla aynı reseptörü paylaştıkları tahmin edilmektedir (59). Rat aorta hücre kültüründe yapılan bir çalışmada vasküler düz kas hücrelerinde AM için yüksek affiniteye sahip tek bir reseptör tipi bulunmuştur (24). CGRP de aynı zamanda bu reseptörlere bağlanabilmektedir. Bu reseptörlerin AM'nin yarattığı vazodilatatör etkinin büyük bir bölümünden sorumlu olduğu düşünülmektedir (59,88). Diğer taraftan, endotel hücrelerinde bulunan

reseptörlerinin AM için daha spesifik olduğu ve hücre içi cAMP' nin artışına sebep olduğu düşünülmektedir (50).

AM'nin vasküler düz kas hücresinde cAMP sentezinin artışı ile dilatasyona sebep olduğu düşünülmektedir. AM reseptörlerinin aktivasyonu adenilat siklaz'i (AC) uyarmakta ve bunun sonucunda hücre içi cAMP artmaktadır. cGMP, serebral arterlerde bulunan ATP-duyarlı potasyum kanallarını aktive etmektedir (5,58,88). AM'nin intrasisternal yolla verilmesinden sonra BOS' ta cAMP' nin artması da bu hipotezi desteklemektedir (5). Rat pial arterlerinde CGRP ve P maddesinin yarattığı vazodilatasyonun endotele bağımlı olduğu gösterilmiştir (87). Benzer şekilde, AM'nin oluşturduğu vazodilatasyonun da en azından kısmen endotele bağımlı olduğu düşünülmektedir. AM'nin oluşturduğu etki sadece cAMP' ye değil, aynı zamanda NO-cGMP mekanizmasına da bağlı olabilmektedir. Vasküler endotel hücreler ve düz kas hücrelerinde sentezlendiğinden dolayı, AM, NO-cGMP mekanizması üzerinden vasküler tonusu regüle ettiği ve oluşan vazodilatatör etkisi çok hızlı olduğundan (15 saniyeden daha az), relaksasyonda yer alan NOS tipi cNOS olabileceği tahmin edilmektedir (44). AM, EDRF grubunun bir üyesi olarak endotel ve düz kas hücrelerinde cAMP oluşumunu arttıran reseptörlere bağlandığı düşünülmektedir (24). Sonuç olarak, AM'nin vazodilatatör etkisi en az iki mekanizma ile açıklanabilmektedir. Birinci mekanizmada AM düz kas hücrelerinde bulunan reseptörlere direkt etki ederek hücre içi cAMP artışına sebep olmaktadır (50). İkinci mekanizmada ise, AM endotel hücrelerinde bulunan reseptörlere indirekt etki ederek NO salınımını, hücre içi kalsiyumu, fosfolipaz C aktivitesini, ve hücre içi cAMP' yi arttırmaktadır (94). Her iki ATP-duyarlı ve kalsiyum-bağımlı potasyum kanallarının da AM'nin oluşturduğu serebral vazodilatasyonda aktif yer aldıkları düşünülmektedir (44).

Yapılan deneysel çalışmalarda, fokal iskemi modelinde AM konsantrasyonunun 22 kata kadar arttığı ve yaklaşık 15 güne kadar yüksek kaldığı gözlenmiştir (35,115). Subaraknoid kanama geçiren insanlarda yapılan iki ayrı çalışmada da AM konsantrasyonu plazmada ve BOS' ta arttığı ve BOS' taki artışın gelişen serebral vazospazmla orantılı olduğu bildirilmiştir (54,40).

VII- Subaraknoid kanamanın deneysel modelleri:

Vazospazm fenomeni ilk kez insanlarda gözlenmesinden sonra çeşitli hayvan türlerinde de tespit edilmiştir. İnsanlarda in-vivo çalışmalar mümkün olmadığı gibi, post-mortem patolojik çalışmalardan da sınırlı bilgiler elde edilmektedir (62,93). Aynı şekilde deneysel İn-vitro modellerde, vazospazm, arterlerin buldukları ortamlardan alınması ve suni manipulasyonlar sonucu geliştirildiği için bu tür çalışmalardan da yeterli kadar bilgi elde edilememektedir. Bu limitasyonların sonucunda SAK ve vazospazmın in-vivo hayvan modelleri geliştirilmiş olup ideal modeller üzerinde çalışılmaktadır (68).

Bir in-vivo modelde bulunması gereken temel komponent, canlı bir hayvanda, damar etrafında kan pıhtısının oluşturulmasıdır. Kan pıhtısı, devamlılık ve tekrar oluşturulabilme özelliklerine sahip bir vazokonstriksiyona yol açmalı ve bunun da günlerce devam etmesi ve gecikmiş vazokonstrüksiyona dönüşebilmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra, ideal bir modelde, deneyde kullanılacak hayvan mümkün olduğunca insanlara benzemeli ve oluşturulacak SAK mümkün olduğunca anevrizmal patlama sonucundakine benzer olmalıdır. Elde edilen vazospazm belirlenebilmeli, oluşma zamanı ve rezolüsyonu insanlarınkine benzer olmalıdır. Fakat bu çalışmalar için uygun model hala oluşturulabilmiş değildir ve çalışmaları sınırlı kılan sadece insanlarınkine benzeyen modeli oluşturma zorluğu değil aynı zamanda pahalı oluşu, etik kurallar ve teknik zorluklardır (16,68).

1928 yılında Begley, ilk kez bir hayvan modelinde, subaraknoid alana kan enjekte ettiğini bildirmiştir. Deney sonuçlarının insanlarınkine benzemesi amacıyla, Begley ve arkadaşları, köpeğin sisterna magnasına ve ventriküllerine otolog venöz kanı enjekte etmiş ve bunun sonucunda hayvanlarda klinik gidişatın değiştiği ve boyanmış histopatolojik spesimenlerde patolojik değişmelerin görüldüğü bildirilmiştir. 1961 yılında Loughheed ve Tom SAK'ın deneysel modellerinde vazospazm oluşturmak amacıyla ilk kez köpekleri kullandıklarını yayınlamışlardır. Bu tarihten itibaren sıçanların, tavşanların, kedilerin, köpeklerin ve primatların kullanıldığı çeşitli hayvan modelleri açıklanmıştır. Bu deneysel modeller

vazospazmın doğal seyrinin, patojenezinin, patolojisinin, teşhisinin ve tedavisinin ortaya çıkarılmasında kullanılmıştır (68).

Megyesi ve arkadaşlarının yakın zamanda yayınladığı bir yazıda, literatürde bulunan bütün deneysel SAK ve vazospazm modelleri gözden geçirilmiş ve 57 model arasında en çok kullanılan modelin köpek (canine) "çift-kanama" modeli olduğu bildirilmiştir (68). 48 Saat arayla köpeklerin bazal sisternalarına yapılan iki enjeksiyon sonucu oluşturulan arteriyal vazokonstrüksiyon, tek enjeksiyonlu modellere göre daha kuvvetli olduğu tespit edilmiştir (104,109). İnsanda oluşan subaraknoid kanamaya benzerliği ve SAK sonrası gelişebilecek vazospazmın güvenilir bir şekilde tahmin edilebilmesi açısından en iyi vazospazm modelinin primat modellerin olduğu bildirilmiştir. Bu modellerde kan pıhtısı cerrahi yöntemlerle maymun kafa tabanında büyük damarların çevresine yerleştirilmektedir (30,31,68). Günümüzde ise en sık kullanılan model otolog kanın sisterna magnaya enjekte edildiği tavşan modelidir. Tavşanlarda serebral anjiyografi sıçanlara oranla daha kolay yapılabilmekte ve vazospazm zamanı daha iyi belirlenebilmektedir (3,29,68,79,98).

Diğer modellere nazaran maddi avantajları ve kolay uygulanışı açısından, deneysel rat SAK modelleri de sık olarak kullanılmaktadır (6,18, 84,86,95,110). Rat vazospazm modeli ilk kez Barry ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (4). Bu modelde transklival yaklaşımla baziller arter ponksiyonu ile SAK yaratılmıştır. Gelişen vazospazmın derecesi daha sonra direkt obzervasyonla gözlenmiştir. Bu modelde vazospazmın post-op 2. günde maksimum olduğu ve 3. günden itibaren subaraknoid mesafeden kanın temizlenmesiyle paralel çözülmeye başladığı ortaya konulmuştur. Geliştirilen diğer rat vazospazm modellerinde, SAK, otolog kanın sisterna magnaya (18,95), veya perikiazmatik sisternaya (84) direkt enjeksiyonla, internal karotis arter (6) veya anterior serebral arter (110) ponksiyonu ile oluşturulmuştur. Diğer hayvan SAK modelleriyle karşılaştırıldığında, rat modellerinde, hayvanın küçük olması, vazospazmın anjiyografi ile ortaya konmasını güçleştirmektedir (17,18,84). Ayrıca, ratlarda vazospazmın zaman süreci, diğer hayvanların aksine tam olarak karakterize edilememiştir (68).

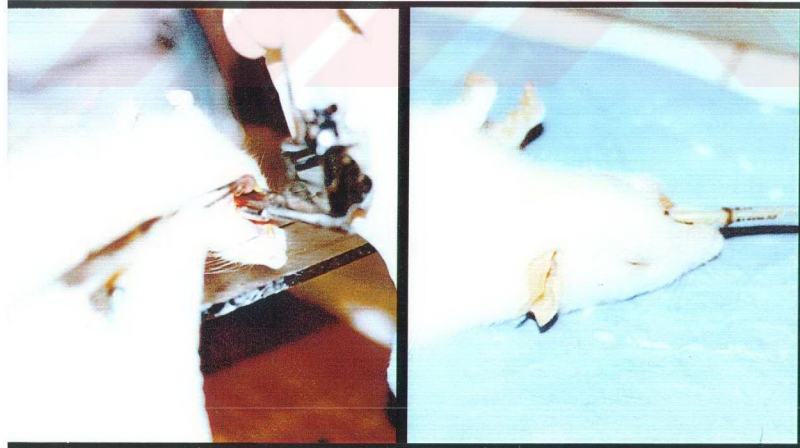
Materyal ve Metod

4- Deneysel protokolü:

Bu çalışmanın bütün aşamaları İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Deneysel Hayvanlar Üretim ve Araştırma Laboratuvarı, ve Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen ($320,25 \pm 27.8$) 35 erkek Sprague-Dawley cinsi rat kullanılmıştır. Ratlar SAK (n=28) ve kontrol (n=7) gruplarına ayrılmıştır. SAK grubunu oluşturan 28 hayvana 50 mg/kg dozunda sodyum hiopental (Pentothal[®], Abbot) intraperitoneal yolla uygulanmış ve genel anestezi sağlanmıştır. Anestezinin idamesi gerektiğinde subkütan dozlarla devam ettirilmiştir. Denekler özel polietilen entübasyon tüpü (PE-240) kullanarak endotrakeal yolla entübe edilmiştir ve özel rat vantilatörü (Harvard Rodent Ventilator; Model: 683, Harvard Apparatus, Inc, USA) desteği ve oda havasıyla mekanik ventilasyonu sağlanmıştır (Resim 1,2).

Resim 1,2 - Ratların endotrakeal entübasyonu ve mekanik ventilasyonu:

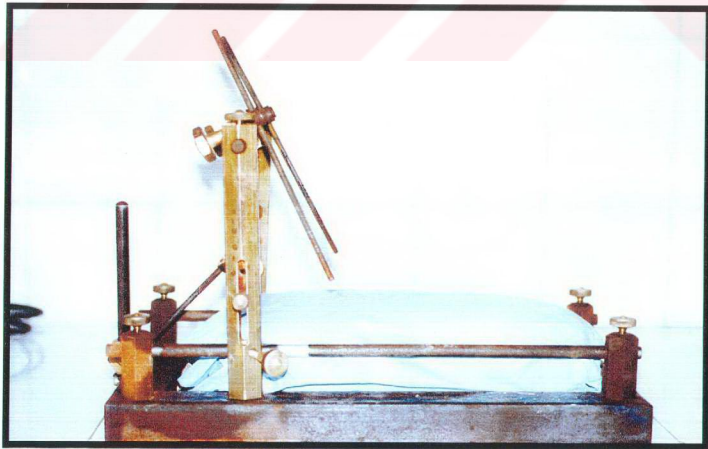
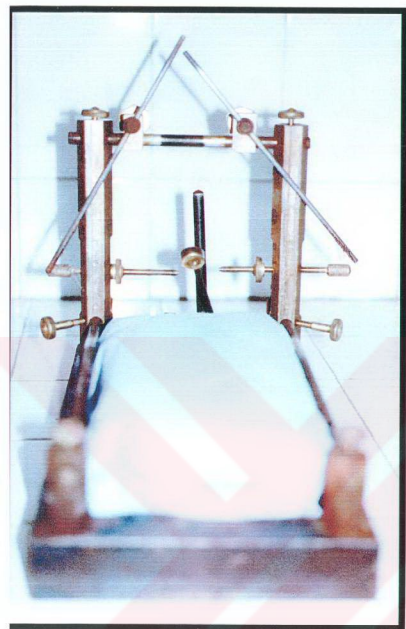


Deney boyunca ratların vücut ısıları rektal termometre ile ölçülmüş ve sıcak pedler kullanılarak ısı 37 derece civarında sabit tutulmuştur. Deneysel SAK Solomon ve meslektaşları tarafından tarif edilen modele göre yaratılmıştır (95). Kısaca özetlemek istersek, anestezi altındaki ratlarda kuyruğun ventral yüzü temizlenmiş ve tıraşlanmıştır. Loop büyütmesi altında (x4) kuyruğun ventral yüzünün en proksimal kısmında orta hatta lineer insizyon yaparak ve künt ve keskin diseksiyonla kuyruk arter ortaya konulmuştur (Resim 3). Mikromakas ile küçük bir insizyon açıldıktan sonra artere heparinle yıkanmış bir mikrokateter (PE-50) yerleştirilmiş ve 4/0 ipek ipliği ile tespit edilmiş ve insizyon kapatılmıştır. Mikrokatetere takılan üçlü musluk (Braun Melsungen ag. D-34209) vasıtasıyla deney için gereken otolog kan ve arter kan gazı örnekleri alınmış ve aynı zamanda invazif arter kan basıncı ve kalp atım hızının devamlı monitorizasyonu (Propaq 104, Protocol Systems Inc. Oregon USA) Sağlanmıştır. Alınan arter kan gazı sonuçlarına göre mekanik ventilasyon parametreleri ayarlanmıştır. Ratlar daha sonra prone pozisyona getirerek başları 30 derece fleksiyona ve her iki meatus akustikus eksterna kalp seviyesinden yaklaşık 1 Cm. üstte gelecek şekilde sterotaktik frame (İ.T.Ü Mukavemet Bölümü Laboratuvarı, İstanbul) (Resim 4,5) yerleştirerek tespit edilmiştir (Resim 6).

Resim 3 - Kuyruk arterin diseksiyonu:



Resim 4,5 – Deneylerde kullanılan stereotaktik frame (İ.T.Ü Mukavemet Bölümü Laboratuvarı, İstanbul) :

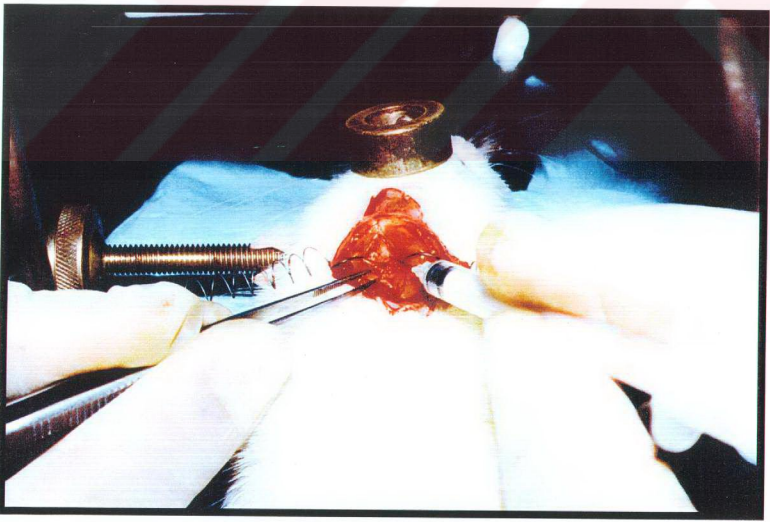
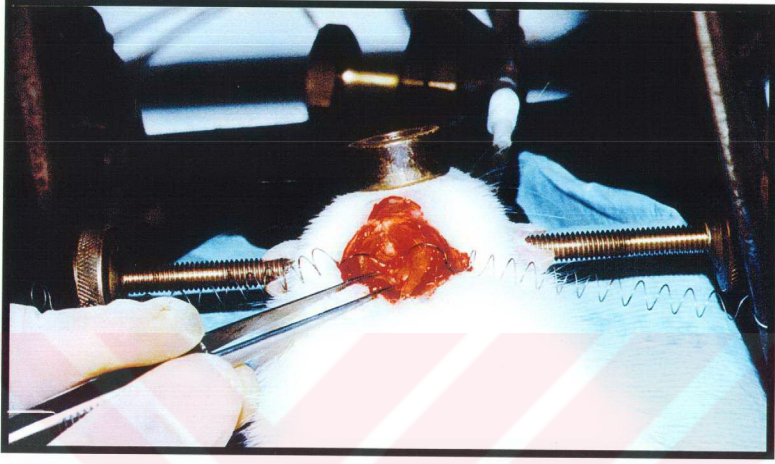


Resim 6 - Stereotaktik frame de tespit:

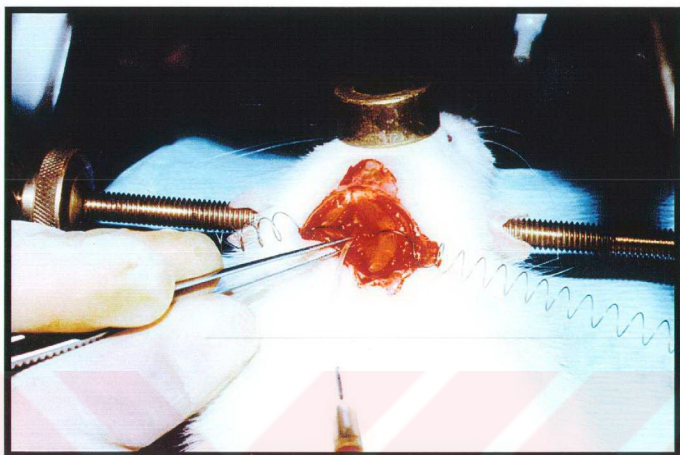


Kalvariumun ortasından alt servikal bölgeye uzanan alanda cilt temizliği ve tıraş yapıldıktan sonra orta hat cilt ve cilt altı insizyonu ve keskin disseksiyonla adaleler oksipital kemikten temizlenmiştir (Resim 7). Loop büyütmesi (x4) altında ve adalelerin retraksiyonu ile atlanto-oksipital membran ortaya konulmuştur. Atlanto-oksipital membran 24-no'lu iğne ile BOS çıkana kadar ponksiyon edilmiş (Resim 8) ve daha sonra kuyruk arterden alınan 0.2 mL heparinsiz olog kan mikrokateter (PE-50) vasıtasıyla yaklaşık 2 dakika süreyle enjekte edilmiştir (Resim 9). Enjeksiyon sırasında ve sonrasında kalp atım hızı ve arter kan basıncı değerleri not edilmiş ve ciddi bradikardi veya hipertansiyon görüldüğü takdirde kan verme işlemi uzatılmıştır (maksimum 5 dk). Bu aşamadan sonra BOS ve kan sızıntısını önlemek amacıyla küçük bir Gealfome parçası birkaç dakika ponksiyon alanına bekletilip ve daha sonra adaleler ve cilt karşı karşıya getirilmiş 3/0 ipek ipliği ile dikilmiştir. Enjekte edilen canın bazal sisternalara daha kolay ulaşması için denekler 30 dakika süreyle 30 derece baş aşağı pozisyonunda tutulmuştur (Resim 10).

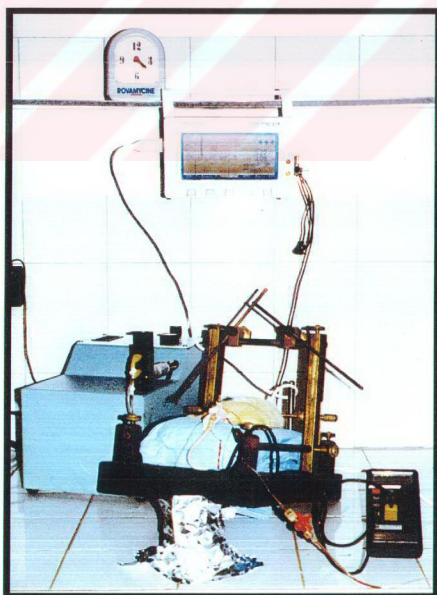
Resim 7,8 - Oksipitoservikal diseksiyon ve atlanto-oksipital membran ponksiyonu:



Resim 9 - Sisterna magna'ya kan enjeksiyonu.



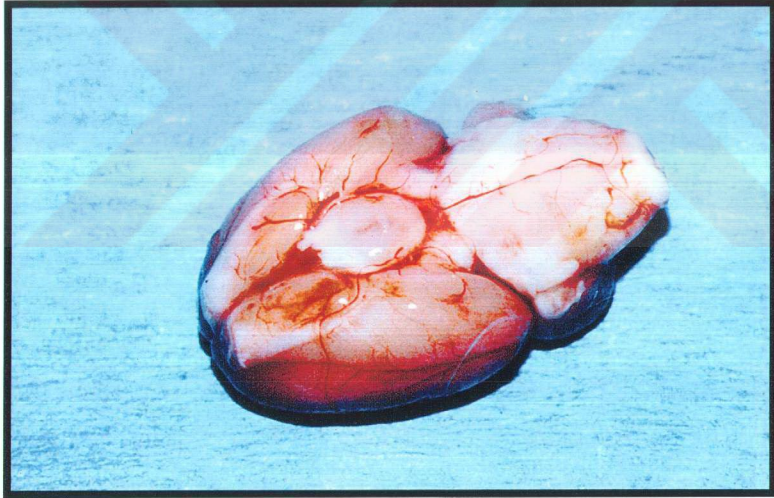
Resim 10 - Enjeksiyon sonrası denekler baş aşağı pozisyonunda 30 dk. bekletilmiştir.



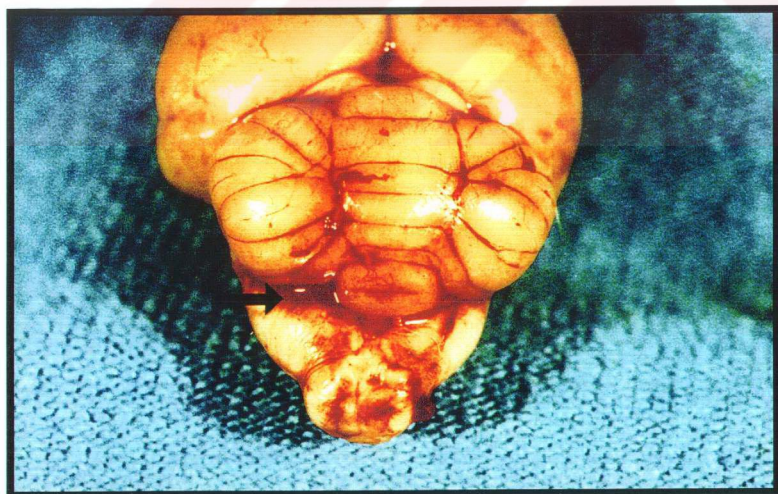
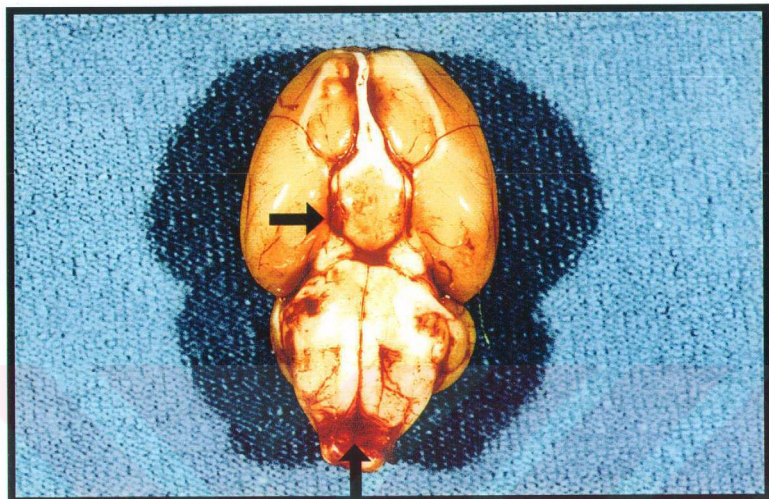
Ratlar daha sonra sterotaksik aletten çıkarılmış ve normal solunum tespit edilinceye dek bekletilmiştir. Normal solunum ve uyanıklık tespit edildikten sonra hayvanlar xütübe edilerek normal ortamlarına bırakılmışlardır.

İAK uygulandıktan sonra bu grubun denekleri (n=28), 7şer rattan oluşan 4 gruba B,C,D,E) ayrılmıştır. Ratlar B grubunda, SAK'ın 4. saatinde, C grubunda 1.gününde, D grubunda 3.gününde, ve E grubunda SAK'ın 7. gününde intrakardiak sodyum yopental uygulayarak sakrifiye edilmiştir. Kontrol grubundaki 7 rat herhangi bir cerrahi işlem yapılmaksızın direkt olarak aynı şekilde sakrifiye edilmiştir. Ratlar derinden dekapite edilip beyinler hızlı bir şekilde ve anatomik bütünlüğü korunarak çıkarılmış ve -80 derecede saklanmıştır (Resim 11-13).

Resim 11 – Dekapitasyon sonrası beyinler, anatomik bütünlüğü korunarak çıkarılmıştır:



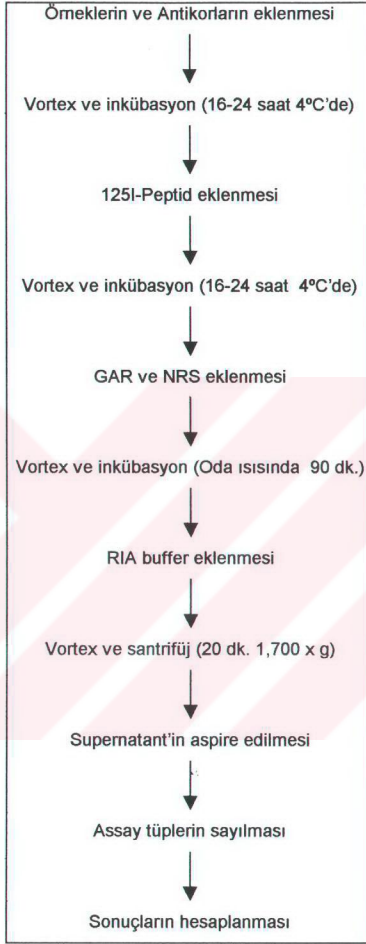
Resim 12,13 – Bazal sisternalar ve sisterna magna da kan pıhtıları gözlenmektedir:



B- Peptid ekstraksiyonu ve RIA (radioimmüno assay) protokolü:

Peptidler, radioimmünoassay (Phoenix Pharmaceuticals , USA) doku ekstraksiyon protokolüne uygun olarak dokulardan elde edilmiştir. Kısaca, her doku örneğine 1mL 0.1 molar asetik asit solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika kaynar su banyosunda tutulmuştur. Buz üstünde soğutulduktan sonra örnekler polipropilen tüplerinde homojenize edilmiştir. Elede edilen homojenatlar 13,000 g' de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Peletler 3 N NaOH içinde resüspanse edilip total protein miktarı tayini yapılmıştır. Protein assay için, her örnekten 150 µl süpernatant ayrılmış ve kalan supernatan liyofilize edilerek daha sonra a-MSH RIA için kullanılmıştır. RIA kiti (Rat adrenomedullin RIA kit, Phoenix Pharmaceuticals Inc. Arz USA) kullanılmadan önce ayarlanmıştır. PVN doku doz-cevap eğrisi ve rat PVN doku örneğine eklenen a-MSH 'ın artan konsantrasyon eğrisi standart ($P<0.05$) eğri ile koreleydi. Rat PVN doku ekstresine eklenen a-MSH (1-32 pg. arası) 100 µl ekstreden (%90-100) titiz bir şekilde elde edildi. Assay duyarlılığı 4 pg/tüp idi. Phoenix Pharmaceutical tarafından sağlanan çapraz reaksiyon testi opioid peptidlerle %0, b- ve g-MSH ile %0 reaksiyon verdi ve a-MSH assay ile ACTH çapraz reaksiyon %0.02 şeklindeydi.

Tablo 6: RIA Protokol Özeti:



GAR: Goat Anti-Rabbit IgG serumu, NRS: Normal Rabbit Serum

Sonuçlar

Değerler ortalama (Mean) \pm standart sapma (SD) olarak belirlenmiştir. Elde edilen değerler SPSS (Ver. 9,05) programında ve tek yönlü ANOVA (One way analysis of variance) yöntemini kullanarak değerlendirilmiştir. Gruplar arasında karşılaştırma Tukey testi ile yapılmıştır. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlar sırasıyla tablo 8 -12 de gösterilmektedir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (A: $0,5243 \pm 0,09$ $\mu\text{mol/gr.w.t}$) 4. saat grubunda (B: $0,5986 \pm 0,09$ $\mu\text{mol/gr w.t.}$) beyin dokusunda AM konsantrasyonu minimal bir artış görülmektedir ($P=0,85$). 1.gün grubunda da (C: $0,60 \pm 0,06$ $\mu\text{mol/gr.w.t}$) aynı şekilde anlamlı bir artış yoktur. Ancak, AM artışı 3. günde (D: $0,91 \pm 0,25$ $\mu\text{mol/gr.w.t}$) kontrol grubuna göre istatistiksel çok anlamlı artış göstermektedir ($P=0,000$). Serebral dokuda AM düzeyi daha sonra düşerek 7. günde (E: $0,5229 \pm 0,08$ $\mu\text{mol/gr.w.t}$) normal kontrole yakın bir seviyeye indiği görülmektedir.

Gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında (Tablo 11) 4. saat (grup B) ve 3. gün (grup D) arasındaki artışın istatistiksel anlamlı olduğu gösterilmiştir ($P=0,002$). Aynı şekilde grup C (1.gün) ve D (3.gün) arasındaki artış da anlamlı olarak kabul edilmiştir ($P=0,002$). AM düzeyinin tekrar düşüşü ele alındığında (3. ve 7. gün arasında) istatistiksel çok anlamlıdır ($P=0,000$).

Tablo 7- Deney sırasında alınan arter kan gazı ve arter kan basıncı (OAB) ortalama değerleri:

PH	7.43±0.03
PaCO ₂	33.9±1.7 mm Hg
PaO ₂	131,6±19.1 mm Hg
OAB	112.8±5.2 mm Hg

Tablo8: Deney grupları, ve elde edilen istatistik değerler:

Descriptives								
ADRENOMEDULLIN								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A (Control)	7	,5243	9,676E-02	3,657E-02	,4348	,6138	,36	,66
B (4th Hr)	7	,5986	9,974E-02	3,770E-02	,5063	,6908	,50	,81
C (1st Day)	7	,6000	6,481E-02	2,449E-02	,5401	,6599	,51	,68
D (3rd Day)	7	,9100	,2597	9,817E-02	,6698	1,1502	,58	1,41
E (7th Day)	7	,5229	8,655E-02	3,271E-02	,4428	,6029	,44	,69
Total	35	,6311	,1964	3,320E-02	,5637	,6986	,36	1,41

Tablo 9: Varians dağılımı

Test of Homogeneity of Variances			
ADRENOMEDULLIN			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,367	4	30	,269

Tablo 10: Varians analizi

ANOVA					
ADRENOMEDULLIN					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,721	4	,180	9,147	,000
Within Groups	,591	30	1,969E-02		
Total	1,311	34			

Tablo 11: Gruplar arasında varians analizi

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: ADRENOMEDULLIN						
Tukey HSD						
(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
A (Control)	B (4th Hr)	-7,429E-02	7,501E-02	,858	-,2919	,1433
	C (1st Day)	-7,571E-02	7,501E-02	,849	-,2933	,1419
	D (3rd Day)	-,3857*	7,501E-02	,000	-,6033	-,1681
	E (7th Day)	1,429E-03	7,501E-02	1,000	-,2162	,2190
B (4th Hr)	A (Control)	7,429E-02	7,501E-02	,858	-,1433	,2919
	C (1st Day)	-1,429E-03	7,501E-02	1,000	-,2190	,2162
	D (3rd Day)	-,3114*	7,501E-02	,002	-,5290	-9,38E-02
	E (7th Day)	7,571E-02	7,501E-02	,849	-,1419	,2933
C (1st Day)	A (Control)	7,571E-02	7,501E-02	,849	-,1419	,2933
	B (4th Hr)	1,429E-03	7,501E-02	1,000	-,2162	,2190
	D (3rd Day)	-,3100*	7,501E-02	,002	-,5276	-9,24E-02
	E (7th Day)	7,714E-02	7,501E-02	,840	-,1404	,2947
D (3rd Day)	A (Control)	,3857*	7,501E-02	,000	,1681	,6033
	B (4th Hr)	,3114*	7,501E-02	,002	9,385E-02	,5290
	C (1st Day)	,3100*	7,501E-02	,002	9,242E-02	,5276
	E (7th Day)	,3871*	7,501E-02	,000	,1696	,6047
E (7th Day)	A (Control)	-1,429E-03	7,501E-02	1,000	-,2190	,2162
	B (4th Hr)	-7,571E-02	7,501E-02	,849	-,2933	,1419
	C (1st Day)	-7,714E-02	7,501E-02	,840	-,2947	,1404
	D (3rd Day)	-,3871*	7,501E-02	,000	-,6047	-,1696

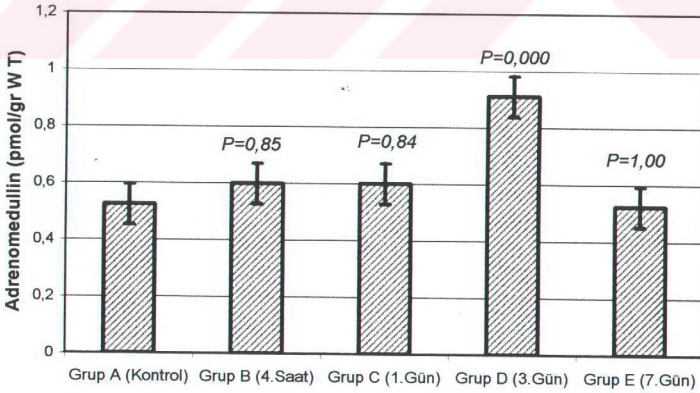
*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tablo 12: Tukey testi ile grupların karşılaştırılması

ADRENOMEDULLIN			
Tukey HSD ^a			
GROUP	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
E (7th Day)	7	,5229	
A (Control)	7	,5243	
B (4th Hr)	7	,5986	
C (1st Day)	7	,6000	
D (3rd Day)	7		,9100
Sig.		,840	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Grafik 1: Ratların beyin dokusunda Adrenomedullin konsantrasyonu (pmol/gr wet tissue)



Tartışma

Subaraknoid kanamadan sonra gelişen vazospazm mortalite ve ağır nörolojik morbiditeye sebep olan en önemli faktördür (120). İlk 24 saat içinde hastaların yaklaşık %50' sinin kaybedildiği SAK' in en ciddi komplikasyonlarından birisi de yaşayan hastaların %20-40' ında ortaya çıkan vazospazmdır (10,23,120).

SAK sonucunda gelişen serebral vazospazmın en önemli ve en kritik özelliği tedaviye dirençli olmasıdır. Birçok farmakolojik ajan gerek deneysel modellerde gerekse klinik çalışmalarda kullanılmış ve yalnızca kısmi bir başarı elde edilmiştir (16). Bu nedenle vazospazmın mekanizmasını daha açık ve net öğrenmek amacıyla daha detaylı temel ve klinik araştırmaların yapılması şarttır.

İlk kez Ecker ve Riemenschneider tarafından 1951 de bildirilen vazospazmın patofizyolojik temelini açıklamak amacıyla birçok araştırma yapılmıştır. Günümüzde artık vazospazmı başlatan etkenin kan ürünleri ve özellikle oksihemoglobin olduğu yaygın bir şekilde kabul edilmektedir (97). Gelişen arterial daralmanın bifazik olduğu, bunun akut fazının SAK den 1-3 gün sonra görüldüğü ve daha sonra kronik vazospazma dönüşebileceği de ayrıca bilinmektedir (7,71). Ancak, bu akut ve geç fazların gelişmesinden hangi ajan/ajanların sorumlu olduğu tamamen açıklanmış değildir (16).

Akut vazospazm, ICP' nin yükselmesi, CBF'in azalması, CPP' nin azalması ve yüksek mortalite ile karakterizedir (2,7). SAK'dan hemen sonra gelişen vazokonstriksiyonun hayvan modellerinde rahatça görülmesine rağmen (71,77), insanlarda çok nadir görülmektedir. Ancak SAK'dan hemen sonra kaydedilen ICP artışı ve CBF ile CPP de azalma, mikrosirkülasyonu ciddi şekilde etkilediğini göstermektedir. Vazospazmın erken fazının tedavi edilebileceği bazı araştırmacı tarafından düşünülmektedir (23). Geç dönem vazospazm ciddi nörolojik morbidite ve ölümlerden sorumludur ve bir çoğu zaman tedaviye dirençlidir (16). Akut vazospazmın geç vazospazma öncülük edip etmediği veya şiddetini artırıp arttırmadığı tam bilinmemektedir.

Vazospazmın mekanizması karmaşık ve tartışmalıdır. Bugüne kadar kullanılan değişik deneysel modeller ve yöntemlere rağmen tartışmalar devam etmektedir.

SAK' ın vasküler düz kas ve endotel üzerindeki etkilerini araştırırken zaman zaman çelişkili sonuçlar vermektedir. Aynı amaç için kullanılan değişik model ve yöntemlerin bu çelişkilere neden olduğu düşünülmektedir (23). Deneysel SAK yaratmak için en sık kullanılan yöntem İntrasisternal kan enjeksiyonu ve en sık kullanılan hayvan modeli de köpek modelidir. Bu deneylerde genellikle SAK sonrası gelişen vazospazmın moleküler temelini bütün beyinde araştırılmaktadır. Ancak, bütün bunlara rağmen araştırmacılar hala vazospazmın karmaşık ve bazen anlaşılmasız patogenezi ile uğraşmaktadırlar (23).

Vazospazmın önlemesi ve tedavisini amaçlayan birçok deneysel ve klinik çalışma yapılmış ve deneyler fare den insana kadar değişik canlılarda yapılmıştır. Bu çalışmalar genelde aşağıda belirtilen faktörleri önlemeyi veya iyileştirmeyi amaçlayarak yapılmıştır (120).

- Arterial konstriksiyon
- Arterlerdeki morfolojik değişiklikler
- Global veya bölgesel kan akımının azalması
- Serebral iskemi veya infarktın radyolojik ve patolojik bulguları
- İskemik nörolojik defisitlerin gelişmesi

Nöroşirurji pratiğinde vazospazmın tedavisinde önerilen ilk adım, hiç şüphesiz, erken cerrahi ve kliptenimin yanı sıra manipulasyon veya sisternal irrigasyonla kan pıhtıların ortamdan uzaklaştırılmasıdır. Serebral perfüzyon basıncını arttırmaya yönelik yapılan 3 H tedavisi (Hipertansiyon, Hipervölemi, ve Hemodilüsyon), daha fazla vazospazma sekonder gelişen iskemik bulguları gidermektedir. Bu yöntemlerin, ayrıca, kendine has komplikasyonları ve limitasyonları vardır (120). Kalsiyum kanal blokerlerinin kullanımı, vazospazmın tedavisinde, kısmi de olsa başarı göstermektedir. Lazaroid'ler (21-aminosteriond trilazad mesylate), endotelin antagonistler, nitrik oksid veya nitrogliserin gibi vazodilatatörler, glutamat antagonistleri, lökosit adheziyon inhibitörleri, perfluoro karbonlar, ve diğer farmakolojik ajanlar deneysel çalışmalarda kullanılmış ancak hiçbirinin tedavi edici rolleri ispatlanmış değildir. Anjioplasti ve intraarterial

papaverin kullanımı başarılı olmasına rağmen yüksek komplikasyon oranları mevcuttur(16,120).

Yukarıda da belirtildiği gibi serebral vazospazma uygun bir tedavi yöntemi bulmak için subaraknoid kanama sonrası gelişen ve serebrovasküler regülasyonu bozan karmaşık mekanizmaların detaylarını bilmek son derece önemli bir gereksinimdir. Bu konularda araştırmalar son hızla devam etmekte ve gelişen moleküler biyoloji ve genetik teknoloji ile paralel başarılı sonuçlar elde edilmektedir.

Son yıllarda serebravasküler etkileri nedeniyle gündeme gelen maddelerin biri de adrenomedullindir. Adrenomedullin (AM) ilk kez insan feokromasitoma dokularında bulunan ve vazodilatatör etkisi olan bir peptiddir (56). AM, moleküler yapısı, etki mekanizması, ve bağlandığı reseptörleri ile güçlü bir vazodilatatör olan CGRP' e (Calcitonin gene related peptide) benzerlik göstermekte ve CGRP gibi CBF regülasyonunda aktif rol oynadığı düşünülmektedir (49,56,74,92). AM endotel' den salgılanan bir hormon veya lokal bir vazodilatatör ajan olarak görev yaparken CGRP bir nöropeptid olarak etkisini göstermektedir (5,19,49,56,74,92). Adrenomedullin periferik dokularda olduğu gibi santral sinir sisteminde sentezlenmektedir (24,56). Ancak diğer dokulara göre, AM, endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde daha yüksek miktarlarda bulunduğu bildirilmiş (24,56,99,100) ve bu dokuların plazma AM' inin asıl kaynağı olduğu düşünülmüştür (24,45,54). Deneysel çalışmalarda AM'in güçlü hipotansif etki gösterdiği (56,49), ve ayrıca vertebral ve baziler arterlerde daha fazla olmak üzere arterial sitemde vazodilatasyon yarattığı (5,74) bilinmektedir.

Sağlıklı insanlarda, plazmada, yüksek konsantrasyonlarda bulunan AM (5,56), gebelik gibi fizyolojik durumlarda 20 ve aynı zamanda hipertansiyon, kronik böbrek yetmezliği, konjestif kalp yetmezliği, akut miyokard enfarktüs, endotoksik şok, pre-eklempsi, ve serebral iskemisi gibi bir çok hastalık durumunda artmaktadır (20,21,59,76,88).

Yapılan çalışmalarda (5,24,115) AM'in, serebral arteriollerde uzun süreli bir dilatasyon sağladığı (59), ancak intraserebral damarların normal tonusunun sağlanmasında büyük bir etkisi olmadığı (44) bildirilmiştir. AM, kortikal mikrodamarlarda geçici bir dilatasyon yaptığı ve bunu da AM' e özel veya CGRP reseptörleri vasıtasıyla yaptığı düşünülmüştür (103). Ayrıca, AM, endotelini (ET) inhibe ederek iskemik beyin hasarını engellediği tespit edilmiştir (59). AM

kardiyovasküler sistem üzerinde etkisini sadece vasküler düz kas hücresi seviyesinde değil aynı zamanda santral sinir sisteminde baro-reflekslerin modülasyonundan sorumlu olan area postrema, soliter trakt nükleusu, ve ventrolateral medulla gibi bölgeleri de uyarak gösterdiği düşünülmektedir (67).

DeneySEL çalışmalarda, AM 'in, başta hipofiz olmak üzere, paraventriküler, supra-optik ve infundibular hipotalamus çekirdekleri, beyin sapı, koroid pleksus, serebellum ve beynin diğer bölgelerinde bulunduğu gösterilmiştir (48,80,92,99,108,102,116). Ayrıca, AM, hipotalamus ve beyin sapı üzerinden etki ederek su ve tuz alınımını, anterior hipofiz hormonlarını (ACTH gibi), ve beslenmenin modülasyonunu kontrol ettiği bildirilmiştir (89).

Özetle, AM 'in nörotransmitter, nöromodülatör, nörohormon, otokrin veya parakrin etkilere olarak görev yaptığı düşünülmektedir (96,99,100,102). AM ve CGRP genellikle G-proteinine bağlı reseptörlerin üzerinden AC ve PKA aktivasyonu ile göstermektedir (24,44,59,88). AM aynı zamanda intrasellüler kalsiyumu artırma ve cGMP-NO sistemini uyarmakla vazodilatasyonu sağlamaktadır (43,44,50,94). Ayrıca potasyum kanallarının her iki tipi de (ATP-duyarlı ve kalsiyum-bağımlı) AM'nin oluşturduğu serebral vazodilatasyonda rol aldıkları düşünülmektedir (44). Bu bulgular dikkate alındığında AM 'in etkisi kısmen endotele bağımlı olduğu ve EDRF lerini bir üyesi gibi de sayılabileceği anlaşılmaktadır.

DeneySEL çalışmalarda, Serebral iskemide, adrenomedullin mRNA ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Sıçan orta serebral arter oklüzyon modelini kullanarak oluşturulan fokal iskeMi çalışmasında, oklüzyondan 3 ve 6 saat sonra AM gen ekspresyonunun iskemik beyin dokusunda sırası ile 17.7 ve 21.7 kat arttığı ve 15 gün süreyle yüksek kaldığı gösterilmiştir (115,35). Bu bulgular AM 'in, beyin dokusunda, iskemiyeye cevap olarak ve nöral dokuyu korumak amacıyla arttığını göstermektedir. Buna karşın Wang ve arkadaşları çalışmalarında orta serebral arter oklüzyonundan 1 saat önce ve 6 saat sonra intraventriküler yolla verilen yüksek dozda AM (8nM) ilginç bir şekilde hemisferik ödem ve enfarkt alanının artmasına sebep olmuştur (115). Bu bulgular Doğan ve arkadaşlarının bulguları ile (24) uymamaktadır. Bu durum AM 'nin vazodilatasyonla birlikte damar geçirgenliğini de arttırdığı ve bu nedenle enfarkt alanını büyüttüğü şeklinde açıklanabilir (35).

Bilgilerimize göre, literatürde, serebrovasküler olayların AM ile ilişkisini gösteren yalnızca iki çalışma vardır. 1998 de, Kikimoto ve arkadaşları tarafından, SAK 'ın

plazma AM konsantrasyonu ile ilişkisi araştırılmıştır (54). Çalışmanın sonucuna göre SAK' lı hastalarda AM plazma konsantrasyonu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş ve bu artışın nörolojik tablosu kötü olan hastalarda daha fazla olduğunu bildirilmiştir. Aynı çalışmada AM plazma konsantrasyonu ile anjiyografik vazospazm arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmadığı ancak kanamanın ciddiyetini gösterebileceği belirtilmiştir.

Bu konuda diğer çalışma Fujioka ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (40). Anevrizmal SAK'lı hastalarda plazma ve BOS AM konsantrasyonları araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Kikumoto ve arkadaşlarının da belirttiği gibi plazma AM konsantrasyonu anjiyografik vazospazmdan bağımsız ve kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artmıştır. BOS adrenomedullin konsantrasyonu, plazma AM2 in tam tersine vazospastik hastalarda hem vazospazmı olmayan SAK' lı hastalar hem kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır. Fujioka ve arkadaşları BOS adrenomedullinin, iskemik nöronlar, reaktif astrositler, iskemik dokuya infiltrate enflamatuar hücreler veya oksidatif stres altında olan serebral vasküler hücrelerden kaynaklandığı bildirmektedirler (40,44). Aynı çalışmada, santral sinir sisteminde AM' nin serebral vazospazm ve serebral iskemide hafifletici bir etkisi olduğu ve BOS adrenomedullin konsantrasyonunun semptomatik vazospazmın bir markeri olarak kullanılabilmesi de ifade edilmiştir (40).

Bu bilgiler ışığında, SAK sonrası gelişen vazospazmın serebral AM konsantrasyonu üzerine etkisini araştırmak amacıyla bu çalışma planlanmıştır. Hipotezimize göre AM konsantrasyonu vazospazm nedeniyle gelişen fokal veya global iskemide sonuca serebral dokuda artacaktır.

Çalışmamız, deneysel rat subaraknoid kanama modelinde beyin dokusunda AM konsantrasyonu değişikliklerini araştıran literatürdeki ilk çalışmadır.

Sonuçlarımız değerlendirildiğinde, serebral dokuda AM konsantrasyonu, SAK sonrası ilk birkaç saat içinde (B: $0,5986 \pm 0,09 \mu\text{mol/gr w.t.}$) kontrol grubuna (A: $0,5243 \pm 0,09 \mu\text{mol/gr.w.t.}$) oranla artmaya başlamıştır. Bu artış istatistiksel anlamlı olmaması ile birlikte ($P=0,85$) akut vazokonstriksiyonun bir göstergesi olduğu düşünülmektedir.

AM konsantrasyonunda artışın 1. günde de devam ettiği (C: $0,60 \pm 0,06 \mu\text{mol/gr.w.t.}$), ($P=0,85$) ve 3. günde maksimuma ulaştığı (D: $0,91 \pm 0,25$

$\mu\text{mol/gr.w.t}$) görülmektedir. Bu grupta AM konsantrasyonunda artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P=0,000$). 7. günde AM' in azaldığı ve normal kontrol grubun değerlerine yakın bir değere ($E: 0,5229 \pm 0,08 \mu\text{mol/gr.w.t}$) indiği görülmektedir.

Daha önceki çalışmalarda, kullandığımız rat vazospazm modelinde serebral kan akımındaki (CBF) azalmanın SAK dan birkaç dakika sonra başladığı gösterilmiştir (7,95). CBF teki bu azalma uzun süre devam ettiği takdirde erken mortaliteye yol açmaktadır (7). Öte yandan, akut serebral iskemi, vazokonstriksiyondan bağımsız olarak ortaya çıkmaktadır. İlk dakikalarda ICP yükselmekte ve buna bağlı olarak CBF ve CPP azalmaktadırlar. Bu çalışmada kullandığımız modelin akut dönemde gözlenen global CBF azalması daha önce bildirilmiştir (95). Sonuçlarımızda 4. saat ve 1. gün gruplarında gözlenen AM seviyesindeki minimal artış literatür bilgileri ile uymaktadır. Daha önce de belirtildiği gibi rat SAK modelinde, vazospazm 2. ve 3. günler arasında maksimuma ulaşmakta ve 3. günden sonra da giderek ortadan kalkmaktadır (68). Sonuçlarımız bu aşamada da literatür bilgilerine ve hipotezimize uyum göstermektedir. AM konsantrasyonu 3. günde maksimuma ulaşmış ve bu artış istatistiksel olarak çok anlamlı ($P=0,000$) bulunmuştur. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar da bu sonuçları desteklemektedir.

Bu çalışmada kullanılan deneysel modelin belki en önemli eksikliği, yalnızca akut vazospazmı göstermesidir. Hızlı BOS dolaşımından dolayı subaraknoid mesafedeki kan pıhtısı yıkanmakta ve bu modelde kronik vazospazm görülmemektedir. 7.günde görülen AM konsantrasyonundaki azalma da bunu desteklemektedir. 3. gün ile 7.gün arasında istatistiksel olarak çok anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Çalışmamızda, gelişen vazospazmın anjiyografik olarak ortaya konamaması da bir eksiklik olarak kabul edilebilir.

Sonuçlarımız, insanlarda 7. ve 9. günler (40) arasında BOS AM konsantrasyonlarında ciddi bir artış olduğunu gösteren Fujioka ve arkadaşlarının bulgularını ile paralellik göstermektedir.

Sonuçlarımıza dayanarak, AM' in beyin parankiminde normal şartlar altında aktif halde bulunduğu ve SAK sonrası gelişen vazospazm ve buna sekonder iskemi sonucunda artabileceği kanısındayız. 3. günde elde edilen en yüksek değerler ve daha sonraki düşüş bunu desteklemek ile birlikte akut vazospazmın geri dönüşümlü bir süreç olduğunu ve normal CBF sağlandığında AM' in tekrar normal seviyelere geri dönebileceğini düşündürmektedir.

Daha önce bildirilen fokal rat orta serebral arter iskemi modelinde (115) AM gen ekspresyonu 3. saatten itibaren 17.4 kat gibi bir artış göstermekte ve bu artış 15 gün gibi uzun bir süre devam etmektedir. Bu bulgular bizim elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırıldığında akut vazospazm sonucu gelişen iskeminin geçici ve geri dönüşümlü olduğunu tahmin etmek güç değildir.

Bütün bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, AM'nin gerek fokal gerekse global serebral kan akımının regülasyonunda aktif bir rol oynadığı kabul edilebilir.

Sonuç

Sonuçlarımıza göre, deneysel rat subaraknoid kanama modelinde beyin dokusunda radioimmünoassay yöntemi ile bakılan adrenomedullin konsantrasyonları artmaktadır. Bu artışın, SAK' ın 3. gününde istatistik olarak anlamlı olması, modelde akut vazospazm sonucu gelişen iskemik değişikliklere bağlı olduğunu düşündürmektedir.

3. günden itibaren görülen AM düzeyindeki azalma akut vazospazmın geri dönüşümlü olabileceğini göstermektedir. Adrenomedullin, endotelden kaynaklanan bir vazodilatör ajan olarak EDRF' lerin bir üyesi sayılabilir. AM, diğer vazodilatör peptidlerle birlikte santral sinir sistemini iskemiye karşı koruyan doğal savunma sisteminin önemli bir üyesi olarak fokal veya global serebral kan akımını sağlamakta önemli bir rol oynamaktadır. Sonuçlarımız, ayrıca, AM' in semptomatik vazospazmın bir markeri olarak kullanılabileceğini de desteklemektedir.

Adrenomedullinin serebrovasküler olaylarda rolü detaylı şekilde anlaşıldıktan sonra bu peptidin vazospazmın tedavisinde kullanımı söz konusu olabileceği kanısındayız. Ancak bunun için değişik deneysel SAK modelleri kullanılarak serebral dokudaki değişikliklerini daha iyi saptamak için daha titiz yöntemler (gen ekspresyonu tayını) geliştirilmelidir.

Kaynaklar

1 – Alksne JF, Greenhoot JH. Experimental catecholamine-induced chronic cerebral vasospasm. Myonecrosis in vessel wall. J Neurosurg 1974; 41:440-445.

2 – Asano T, Sano K. Pathogenetic role of no-reflow phenomenon in experimental subarachnoid hemorrhage in dogs. J Neurosurg 1977;46:454-466.

3 – Baker KF, Zervas NT, Pile-Spellman J. Angiographic evidence of basilar artery constriction in the rabbit: A new model of vasospasm. Surg Neurol 1987;27:107-112.

4 - Barry KJ, Gogjian MA, Stein BM. Small animal model for investigation of subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm. Stroke 1979;10:538-541.

5 - Başkaya MK, Suzuki Y, Anzai M, Seki Y, Saito K, Takayasu M, Shibuya M, Sugita K. Effects of adrenomedullin, calcitonin gene-related peptide, and amylin on cerebral circulation in dogs. J Cereb Blood Flow Metab 1995;15:827-834.

6 – Bederson JB, Germano IM, Guarino L. Cortical blood flow and cerebral perfusion pressure in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat. Stroke 1995;26:1086-1091.

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

8 – Bodin P, Burnstock G. ATP-stimulated release of ATP by human endothelial cells. J Cardiovasc Pharmacol 1996;27:872-875.

9 – Bolton TB, Lang RJ, Takewaki T. Mechanism of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea-pig anterior mesenteric artery. *J Physiol (Lond)* 1984;;351:459-572.

10 – Broderick JP, Brott TG, Duldner JE, Tomsick T, Lach A. Initial and recurrent bleeding are the major causes of death following subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1994;25:1342-1347.

11 – Brinker T, Seifert V, Stolke D. Acute changes in the dynamics of the cerebrospinal fluid system during experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1990;27:369-372.

12 – Brinker T, Seifert V, Dietz H. Cerebral blood flow and intracranial pressure during experimental subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir* 1992;115:47-52.

13 – Butler WE, Peterson JW, Zervas NT, Morgan KG: Intracellular calcium, myosin light chain phosphorelation, and contractile force in cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 1996; 38:781-788.

14 – Carpenter DA, Grubb RL, Tempel LW, Powers WJ. Cerebral oxygen metabolism after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991;11:837-844.

15 – Chen G, Suzuki h; Weston AH. Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *Br J Pharmacol* 1988;95:1165-1174.

16 - Cook DA. Mechanisms of cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Pharmac.Ther* 1995; 66:259-284.

17 – Cuevas P, Carceller F, Nieto I, Gimenez-Gallego G, Spasmolytic effect of acidic fibroblast growth factor in early cerebral vasospasm in the rat. *Surg Neurol* 1998;49:176-180.

18 – Delgado TJ, Brismar J, Svendgaard NA: Subarachnoid hemorrhage in the rat: Angiography and fluorescence microscopy of the major cerebral arteries. *Stroke* 1985;16:595-602.

19 - DeWitt BJ, Cheng DY, Caminiti GN, Nossaman BD, Coy DH, Murphy WA, Kadowitz PJ. Comparison of responses to adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide in the pulmonary vascular bed of the cat. *Eur J Pharmacol* 1994;257:303-306.

20 – Di Iorio R, Marinoni E, Scavo D, Letizia C, Cosmi EV. Adrenomedullin in pregnancy. *Lancet* 1997;349:328.Letter.

21 – Di Iorio R, Marinoni E, Letizia C, Alo P, Villacio B, Cosmi EV. Adrenomedullin, a new vasoactive peptide, is increased in preeclampsia. *Hypertension* 1998;32:758-763.

22 – Dietrich HH, Kajita Y, Dacey RG Jr. Local and conducted vasomotor responses in isolated rat cerebral arterioles. *Am J Physiol* 1996;271:H1109-H1116.

23 – Dietrich HH, Dacey RG Jr. Molecular keys to the problems of cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 2000;46:517-530.

24 - Doğan A, Suzuki Y, Koketsu N, Osuka K, Saito K, Takayasu M, Shibuya M, Yoshida J. Intravenous infusion of Adrenomedullin and increase in regional cerebral blood flow and prevention of ischemic brain injury after middle cerebral artery occlusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997;17(1):19-25.

25 – Dorsch NWC. Cerebral arterial spasm: A clinical review. *Br J Neurosurg* 1995;9:403-412.

26 – Ecker A, Riemenschneider PA. Arteriographic demonstration of spasm of the intracranial arteries with special reference to saccular arterial aneurysm. *J Neurosurg* 1951;8:660-667.

27 – Edwards DH, Byrne JV, Griffith TM. The effect of chronic subarachnoid hemorrhage on basal endothelium derived relaxing factor activity in intratechal cerebral arteries. *J Neurosurg* 1992; 76:830-837.

28 – Eguchi S, Hirata Y, Iwasaki H, Sato K, Watanabe TX, Inui T, Nakajima K, Sakakibara S, Marumo F. Structure-activity relationship of adrenomedullin, a novel vasodilatory peptide, in cultured rat vascular smooth muscle cells. *Endocrinology* 1994;135:2454-2458.

29 – Endo S, Branson PJ, Alksne JF. Experimental model of symptomatic vasospasm in rabbits. *Stroke* 1988;19:1420-1425.

30 - Epinosa F, Weir B, Overton T, Castor W, Grace M, Boisvert D. A randomized placebo-controlled double-blind trial of nimodipin after SAH in monkeys: Part I-Clinical and radiological findings. *J Neurosurg* 1984; 60:1167-1175.

31 - Epinosa F, Weir B, Shnitka T, Overton T, Boisvert D. A randomized placebo-controlled double-blind trial of nimodipin after SAH in monkeys: Part 2 -Clinical and radiological findings. *J Neurosurg* 1984; 60:1176-1185.

32 – Faraci FM. Role of nitric oxide in regulation of basilar artery tone in vivo. *Am J Physiol* 1990;259:H1216-H1221.

33 – Faraci FM, Heistad DD. Regulation of the cerebral circulation: Role of endothelium and potassium channels. *Physiol Rev* 1998; 78:53-97.

34 – Feigin VL, Rinkel GJ, Algra A, Vermuelen M, Van Gijn J. Calcium antagonists in patients with aneurismal subarachnoid hemorrhage: A systemic review. *Neurology* 1998;50:876-883.

35 – Feuerstein GZ, Wang X. Use of differential display reverse transcription-polymerase chain reaction for discovery of induced adrenomedullin gene expression in focal stroke. *Can J Physiol Pharmacol* 1997;75:731-734.

36 – Fisher CM, Robertson GH, Ojeman RG. Cerebral vasospasm with ruptured saccular aneurysm: The clinical manifestations. *Neurosurgery* 1977;1:245-258.

37 - Fisher CM, Kistler JP, Davis JM. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage, visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery* 1980;6:1-9.

38 – Fleming I, Bauersachs J, Busse R. Paracrine functions of the coronary vascular endothelium. *Mol Cell Biochem* 1996;157:137-145.

39 – Fox JL. Intracranial vasospasm : A study with iron compounds. *Surg Neurol* 1979; 11:363-368.

40 – Fujioka K, Nishio K, Sakaki T, Minamino N, Kitamura K. Adrenomedullin in patients with cerebral vasospasm after aneurismal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2000;31:3079-3083.

41 – Gaetani P, Café C, Rodriguez Y, Baena R, Tancioni F, Torri C, Tartara F, Marzatico F. Superoxide dismutase activity in cisternal cerebrospinal fluid after aneurismal subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)* 1997; 139:1033-1037.

42 – Grubb RL, Raichle MF, Eichling JO, Gado MH. Effects of subarachnoid hemorrhage on cerebral blood volume, blood flow, and oxygen utilization in humans. *J Neurosurg* 1997; 46:446-453.

43 – Hattori Y, Nakanishi N, Gross SS, Kasai K. Adrenomedullin augments nitric oxide and tetrahydrobiopterin synthesis in cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells. *Cardiovascular Research* 1999;44:207-214.

44 – Hinson JP, Kapas S, Smith DM. Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. *Endocrine reviews* 200;21:138-167.

45 – Hirayama N, Kitamura K, Imamura T, Kato J, Koiwaya Y, Eto T. Secretion and clearance of the mature form of adrenomedullin in humans. *Life Sciences* 1999;64:2505-2509.

46 – Hughes JT, Schianchi PM. Cerebral artery spasm. *J Neurosurg* 1978; 48:515-525.

47 - Hughes JT. Pathological changes associated with cerebral vasospasm. In: Boullin, DJ (ed) *Cerebral vasospasm*, pp. 171-206. John Wiley, Chichester. 1980

48 – Hwang ISS, Tang F. The distribution and gene expression of Adrenomedullin in the rat brain: peptide/mRNA and precursor/active peptide relationships. *Neuroscience letters* 1999; 267: 85-88.

49 - Ishiyama Y, Kitamura K, Ichiki Y, Nkamura S, Kida O, Kanagawa K, Eto T. Hemodynamic effects of a novel hypotensive peptide, human adrenomedullin, in rats. *Eur J Pharmacol* 1993;241:271-273.

50 – Ishizaki Y, Ishizaki Y, Tanaka M, Kitamura K, Kanagawa K, Minamino N, Matso H, Eto T. Adrenomedullin stimulated cyclic AMP formation in rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200:642-646.

51 – Jogasaki M, Schirger JA, Simari RD, Burnett JC. Autocrine role for the endothelin-B receptor in the secretion of adrenomedullin. *Hypertension* 1998;32:917-922.

52 - Kassel NF, Drake CG. Timing of aneurysmal surgery. *Neurosurgery* 1982;10:514-519.

53 – Katusic ZS, Shepherd JT. Endothelium derived vasoactive factors: Part II – Endothelium dependent contraction. *Hypertension* 1991; 18:1186-1192.

54 – Kikumoto K, Kubo a, Hayashi Y, Minamino N, Inoue S, Dohi K, Kitamura K, Kanagawa K, Matsuo H, Furuya H. Increased plasma concentration of Adrenomedullin in patients with subarachnoid hemorrhage. *Anesth Analg* 1998; 87:859-863.

55 – Kim I, Leinweber B, Morgalla M, Butler W, Seto M, Sasaki Y, Peterson JW, Morgan KG. Thin and thick filament regulation of contractility in experimental cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 2000;46:440-447.

56 - Kitamura K, Kanagawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys res Commun* 1993;192:553-560.

57 - Kitamura K, Kanagawa K, Ishiyama Y, Washimine H, Ichiki Y, Kawamoto M, Minamino N, Matsuo H, Eto T. Identification and hypotensive activity of proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP). *FEBS Lett* 1994;351:35-37.

58 – Kitazono T, Heistad DD, Faraci FM. Role of ATP-sensitive K⁺ channels in CGRP induced dilatation of basilar artery in vivo. *Am J Physiol* 1993;265:581-585.

59 - Lang MG, Paterno R, Faraci FM, Heistad DD. Mechanism of adrenomedullin-induced dilatation of cerebral arterioles. *Stroke* 1997;28:181-185.

60 – Liszczak TM, Black PMcl, Tzouras A, Foley L, Zervas NT. Morphological changes of the basilar artery, ventricles, and choroids plexus after experimental SAH. *J Neurosurg* 1984;61:486-493.

61 – Longstreth WT, Nelson LM, Koepsell TD, Van BG. Subarachnoid hemorrhage and hormonal factors in women. A population based study. *Ann Intern Med* 1994;121:168-173.

62 - Lye RH, Paul KS, Forster CM, Whalley ET, Dutton J. Effect of fibrin-fibrinogen degradation products on human basilar artery preparations. *J Neurosurg* 1982;56:339-343.

63 – Martin W, Smith JA, White DG. The mechanisms by which hemoglobin inhibits the relaxation of rabbit aorta induced by nitrovasodilators, nitric oxide, or bovine retractor penis inhibitory factor. *Br J Pharmac* 1986;89:563-571.

64- Marzatico F, Gaetani P, Rodriguez y, Baena R, Silvani V, Paoletti P, Benzi G. Bioenergetics of different brain areas after experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke* 1988;19:378-384.

65 – Mayberg MR. Intracranial arterial spasm. In Wilkins RH, Rengachery SS (eds.) *Neurosurgery*. 2nd ed. McGraw-Hill. NY.

66 – Mayberg MR, Batjer HH, Dacey R. Guidelines for the the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A statement fro healthcare

professionals from a special writing group of the Stroke Council. American heart association. Stroke 1994;25:2315-2328.

67 – Matsumura K, Abe I, Tsuchihashi T, Fujishima M. Central adrenomedullin augments the baroreceptor reflex in conscious rabbits. Hypertension 1999;33:992-997.

68 - Megyesi JF, Vollrath B, Cook DA, Findally JM. In vivo animal models of cerebral vasospasm: a review. Neurosurgery 2000; 46(2): 448-461

69 – Misra HP, Fridovich I. The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. J Biol Chem 1972; 247:6960-6962.

70 – Myers PR, Guerra R Jr, Harrison DG. Release of NO and EDRF from cultured bovine endothelial cells. Am J Physiol 1989;256:H1030-H1037.

71 - Nagai H, Suzuki Y, Sugiura M, Noda S, Mabe H. Experimental cerebral vasospasm: Part I-Factors contributing to early spasm. J Neurosurg 1974;41:285-292.

72 – Nagai AC, Winn HR. Modulation of cerebral arteriolar diameter by intraluminal flow and pressure. Circ Res 1995;77:832-840.

73 – Nagasawa S, Handa H, Naruo Y, Moritake K, Hayashi K. Experimental cerebral vasospasm. Arterial wall mechanics and connective tissue composition. Stroke 1982;13:595-600.

74 - Nakamura K, Toda H, Terasako K, Kakuyama M, Hatano Y, Mori K, Kangawa K. Vasodilative effect of adrenomedullin in isolated arteries of the dog. Jpn J Pharmacol 1995;67:259-262.

75 – Nelson E, Rennels M. Innervation of intracranial arteries. Brain 1970;93:475-490.

76 – Nishikimi T, Kitamura K, Saito Y, Shimada K, Ishimitsu T, Takamiya M, Kanagawa K, Matsuo H, Eto T, Omae T, Matsuoka H. Clinical studies for the sites of production and clearance of circulating adrenomedullin in human subjects. *Hypertension* 1994;24:600-604.

77 – Ono S, Date I, Nakajima M, Onoda K, Ogihara K, Shiota T, Asari S, Ninomiya Y, Yabuno N, Ohmoto T. Three-dimensional analysis of vasospastic major cerebral arteries in rats with the corrosion cast technique. *Stroke* 1997;28:1631-1638.

78 – Onoue H, Kaito N, Akiyama M, Tomii M, Tokudome S, Abe T. Altered reactivity of human cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1995; 83:510-515.

79 - Otsuji T, Endo S, Hirashima Y, Nishijima M, Takaku A. An experimental model of symptomatic vasospasm induced by oxyhemoglobin in rabbits. *Stroke* 1994;25:657-662.

80 - Owji AA, Smith DM, Coppcock HA, Morgan GA, Bhogal R, Ghattei MA, Bloom SR. An abundant and specific binding sites for the novel vasodilator adrenomedullin in the rat. *Endocrinology* 1995; 136: 2127-2134.

81 – Palmer RM, Ferrige AG, Monocada S. Nitric oxide accounts for the biological activity of endothelium-dependent relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-526.

82 – Paterno R, Faraci FM, Heistad DD. Role of Ca²⁺-dependent K⁺ channels in cerebral vasodilation induced by increase in cyclic GMP and cyclic AMP in the rat. *Stroke* 1996;27:2347-2352.

83 - Pickard JD, Nelson RJ, Martin JL. Cerebral vasospasm. In Crockard A, Hayward R, Hoff JT (eds.): *Neurosurgery, the scientific basis of clinical practice*. Boston, Blackwell Scientific Publications inc. 1992, vol.1, pp 417-437

84 - Piepgras A, Thome C, Schmiedek P. Characterization of an anterior circulation rat subarachnoid hemorrhage model. *Stroke* 1995;26:2347-2352.

85 – Pluta RM, Boock RJ, Afshar JK, Clouse K, Bacic M, Ehrenreich H, Oldfield EH. Source and cause of endothelin-1 release into cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1997; 87:287-293.

86 – Ram Z, Sahar A, Hadani M. Vasospasm due to massive subarachnoid hemorrhage: A rat model. *Acta Neurochir (Wien)* 1991;110:181-184.

87 – Rosenblum WI, Shimizu T, Nelson GH. Endothelium-dependent effects of substance P and calcitonin gene-related peptide on mouse pial arteriols. *Stroke* 1993;24:1043-1048.

88 - Sakai K, Saito K, Ishizuka N. Adrenomedullin synergistically interacts with endogenous vasodilators in rats: a possible role of KATP Channels. *European Journal of Pharmacology* 1998;359: 151-159.

89 - Samson WK, Murphy TC, Schell DA. A novel vasoactive peptide, adrenomedullin, inhibits pituitary adrenocorticotropin release. *Endocrinology* 1995; 136: 2349-2352.

90 – Samson WK, Murphy TC. Adrenomedullin inhibits salt peptide. *Endocrinology* 1997; 138: 613-616.

91 – Sarioğlu AÇ. Etiyolojik faktörler. In Sarioğlu AÇ (ed): Subaraknoid kanama. Logos Yayıncılık A.Ş. İstanbul 1997; pp:5-22.

92 - Satoh F, Takahashi K, Murakami O, Totsune K, Ohenda M, Abei K, Miura Y, Hayashi Y, Sasano H, Ouri T. Adrenomedullin in human brain, adrenal glands and tumor tissues of Pheochromocytoma, Ganglioglioma, Neuroblastoma and Neuroblastoma. *J clin endocrin metabol* 1995;80 (5):1751-53

93 - Shibata S, Cheng JB, Murakami W. Reactivity of isolated human cerebral arteries to biogenic amines. *Blood Vessels* 1975; 14: 356-365.

94 – Shimekake Y, Nagata K, Ohata S, Kambayashi Y, Teraoka H, Kitamura K, Eto T, Kanagawa K, Matsuo H. Adrenomedullin stimulates two signal transduction pathways, cAMP accumulation and Ca²⁺ mobilization, in bovine aortic endothelial cells. *J Biol Chem* 1995;270:4412-4417.

95 - Solomon RA, Antunes JL, Chen RY, Bland L, Chein S. Decrease in cerebral blood flow in rats after experimental subarachnoid hemorrhage: A new animal model. *Stroke* 1985; 16:58-64.

96 – Sone M, Takahashi K, Satoh F, Osamu M, Totsune K, Ohenda M, Sasano H, Ito H, Mouri T. Specific adrenomedullin binding sites in the human brain. *Peptides* 1997;18:1125-1129.

97 – sonobe M, Suzuki J. Vasospasmogenic substrates produced following subarachnoid hemorrhage, and its fate. *Acta Neurochir (Wein)* 1978;44:97-106.

98 – Spallone A, Pastore FS. Cerebral vasospasm in a double-injection model in rabbit. *Surg Neurol* 1989;32:408-417.

99 – Sugo S, Minamino N, Kanagawa K, Miyamoto K, Kitamura K, Sakata J, Eto T, Matsuo H. Endothelial cells actively synthesize and secrete adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commu* 1994;201:1160-1166.

100 - Sugo S, Minamino N, Shoji H, Kanagawa K, Kitamura K, Eto T, Matsuo H. Production and secretion of adrenomedullin from vascular smooth muscle cells: augmented production by tumor necrosis factor-alpha. *Biochem Biophys Res Commu* 1994;203:719-726.

101 – Svendgaard NA, Brismar J, Delgado TJ, Rosengren E. Subarachnoid hemorrhage in the rat: Effect on the development of vasospasm of selective lesions of the catecholamine systems in the lower brain stem. *Stroke* 1985; 16(4): 602-608.

102 – Takahashi H, Watanabe T, Nishimura M, Nakanishi T, Sakamoto M, Yoshimura M, Komiyama Y, Masuda M, Murakami T. Centrally induced vasopressor and sympathetic responses to a novel endogenous peptide, adrenomedullin, in anesthetized rats. *Am J Hypertens* 1994;7:478-482.

103 – Takao M, Tomita M, Tanahashi N, Kobari M, Fukuuchi Y. Transient vasodilatory effects of adrenomedullin in cerebral parenchymal microvessels in cats. *Neuroscience Letters* 1999;268:147-150.

104 - Takayasu M, Suzuki Y, Shibuya M, Asano T, Kanamori M, Okada T, Kageyama N, Hidaka H. The effects of HA compound calcium antagonists on delayed cerebral vasospasm in dogs. *J Neurosurg* 1986;65:80-85.

105 – Tanabe Y, Sakata K, Yamada H, Ito T, Takada M. Cerebral vasospasm and ultrastructural changes in cerebral arterial wall. *J Neurosurg* 1978; 49:229-238.

106 – Tanaka Y, Kassell NF, Machi T, Toshima M, Dougherty DA. Effects of bilirubin on rabbit cerebral arteries in vivo and in vitro. *Neurosurgery* 1992; 30:195-201.

107 – Tani E, Yamagata S, Ito Y. Intercellular granules and vesicles in prolonged cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 1978;48:179-189.

108 – Ueta Y, Hara Y, Setiadji S, Isse T, Shibuya I, Kitamura K, Kanagawa K, Matsuo H, Eto T, Hattori Y, Yamashita H. Adrenomedullin – like immunoreactivity in the rat hypothalamo, neurohypophysial tract. *Peptides* 1999; 20: 199-204.

109 – Varsos VG, Liszczak TM, Han DH, Kistler JP, Vielma J, Black PMcL, Heros R, Zervas NT. Delayed cerebral vasospasm is not reversible by aminophylline, nimodipine, or papaverine in a “two-hemorrhage” canine model. *J Neurosurg* 1983;58:11-17.

110 – Veelken JA, Laing RJC, Jakubowski J. The Sheffield model of subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke* 1995;26:1279-1284.

111 – Voldby B, Enevoldsen EM. Intracranial pressure changes following aneurysm rupture: Part 1 clinical and angiographic correlations. *J Neurosurg* 1982;56:186-196.

112 – Voldby B, Peterson F, Buhl M, Jakobsen P, Ostergaard R. Reversal of cerebral arterial spasm by intratecal administration of a calcium antagonist (Nimodipine). *Acta Neurochirurgica* 1984;70:243-254.

113 – Voldby B, Enevoldsen EM, Jensen FT. Regional CBF, intraventricular pressure, and cerebral metabolism in patients with ruptured intracranial aneurysms. *J Neurosurg* 1985;62:48-54.

114 – Voldby B: Pathophysiology of subarachnoid hemorrhage: Experimental and clinical data. *Acta Neurochir* 1988;45:1-6.

115 - Wang X, Yue TL, Barone FC, White RF, Clark RK, Willette RN, Sulpizio AC, Aiyar NV, Ruffolo RR, Feuerstein GZ. Discovery of adrenomedullin in rat ischemic cortex and evidence for its role in exacerbating focal brain ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:11480-11484.

116 – Washimine H, Asada Y, Kitamura K, Ichiki Y, Yamamoto Y, Kanagawa K, Sumiyoshi A, Eto T. Immunohistochemical identification of adrenomedullin in human, rat, and porcine tissue. *Histochem Cell Biol* 1995; 103:251-254.

117 – Weir B, Grace M, Hansen J, Rothberg C. Time course of vasospasm in man. *J Neurosurg* 1970; 33:395-406.

118 - Weir B, Grace M, Hansen J, Rothberg C. Time course of vasospasm in man. *J. Neurosurg* 1987; 48:173-178.

119 – Weir B. The pathophysiology of cerebral vasospasm. *Br.J. Neurosurg* 1995;9:375-390.

120 – Weir B. (ed.) *Subarachnoid hemorrhage: Causes and cures.* Oxford University Press. NY. 1998.

121 – Wolf EW, Banerje A, Soble-Smith J, Dohan FC, White RP, Robertson JT. Reversal of cerebral vasospasm using an intrathecally administered nitric oxide donor. *J Neurosurg* 1998; 89:279-288

122 – Yamamoto S, Nishizawa S, Tsukada H, Kakiuchi T, Yokoyama T, Ryu H, Uemura K. Cerebral blood flow autoregulation following subarachnoid hemorrhage in rats: chronic vasospasm shifts the upper and lower limits of the autoregulatory range toward higher blood pressure. *Brain Res* 1998; 782:194-201.

123 – Yundt KD, Grubb RL Jr, Diringner MN, Powers WJ. Autoregulatory vasodilation of parenchymal vessels is impaired during cerebral vasospasm. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18:419-424.

124 – Zimmermann M, Seifert V. Endothelin and subarachnoid hemorrhage: An overview. *Neurosurgery* 1998; 43:863-876.

125 – Zucarello M, Boccaletti R, Romano A, Rappaport RM. Endothelin B receptor antagonists attenuate subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *Stroke* 1998; 29:1924-1929.