



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL FARE SUBARAKNOİD KANAMA MODELİNDE ERKEN
DÖNEM KORTİKAL KAN AKIMI DEĞİŞİKLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Dr. Tural HİDAYETOV

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

ANKARA

2016



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL FARE SUBARAKNOİD KANAMA MODELİNDE ERKEN
DÖNEM KORTİKAL KAN AKIMI DEĞİŞİKLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Tural HİDAYETOV**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Melike MUT AŞKUN**

**ANKARA
2016**

TEŞEKKÜR

Nöroşirürji eğitimim süresince bilgi, birikim ve desteğini esirgemeyen; bu çalışmanın planlanması, hayata geçirilmesi ve sonuçlandırılmasında büyük emeği geçen tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Melike Mut Aşkun'a saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki ve sosyal deneyimlerini benimle paylaşan, mükemmel bir çalışma ortamı sağlayan, cerrahi prensip ve mesleki özgüvenimin oluşmasında büyük emeği olan, yanında çalışmaktan onur duyduğum Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Servet İnci ve değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Mustafa Berker, Sayın Prof. Dr. Atilla Akbay, Sayın Doç. Dr. Kamil Öge, Sayın Doç. Dr. Burçak Bilginer ve Sayın Uzm. Dr. Ahmet İlkay Işıkkay'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca eğitimim boyunca beraber çalıştığım bütün araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu çalışmadaki histopatolojik incelemeleri yapan Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Figen Söylemezoğlu ve Araş. Gör. Dr. Kübra Katipoğlu, ve yardımlarından dolayı teknisyen Sayın Mesut Fırat'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasının her aşamasında büyük katkıları olan değerli arkadaşım Sayın Araş. Gör. Dr. Şahin Hanalioğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen anneme, babama ve ablama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Hidayetov T. Deneysel fare subaraknoid kanama modelinde erken dönem kortikal kan akımı değişikliklerinin incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, Ankara 2016.

Giriş: İntrakranial anevrizma rüptürüne bağlı spontan subaraknoid kanama (SAK) önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Subaraknoid kanama ile ilgili temel araştırmalar geç dönemde ortaya çıkan vazospazmın mekanizmaları üzerine yoğunlaşmıştır. Subaraknoid kanama sonrası iskemik hasarın patofizyolojisinde erken dönem mikrosirkülasyon değişikliklerinin rolü giderek önem kazanmaktadır. Ancak literatürdeki mikrosirkülasyon değişiklikleri ile ilgili güncel bilgiler oldukça sınırlıdır.

Amaç: Bu çalışmada, yeni bir *in vivo* görüntüleme yöntemi olan “*laser speckle contrast imaging*” (lazer beneklenme kontrast görüntüleme (LBKG)) ile SAK sonrası erken dönem kortikal kan akımı değişikliklerinin hem mekansal (*spatial*) hem de zamansal (*temporal*) dinamiklerinin izlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca %5 CO₂ inhalasyonunun mikrosirkülasyon değişikliklerinin otheregülasyonu ve kortikal damarsal yanıtı nasıl etkilediği araştırılmıştır.

Metod: Çalışmada ağırlıkları 25 ile 40 gr arasında değişen 20 adet erkek Swiss albino fare kullanıldı, 5 denek SAK indüksiyonu sonrası erken mortalite nedeniyle çalışmaya alınmadı. Denekler 2 gruba ayrıldı; Grup 1: *Sham* grubu (5 hayvan): kranial kemik inceltmesi + boyun diseksiyonu + LBKG; Grup 2: SAK grubu (10 hayvan): kranial kemik inceltmesi + boyun diseksiyonu + SAK + LBKG. Deneklerde stereotaksik çerçevede pron pozisyonda kranial kemik inceltildikten sonra LBKG ile bazal görüntüler alındı. Daha sonra supin pozisyonda boyun diseksiyonu yapıldı ve takiben endovasküler filament perforasyon yöntemi ile SAK oluşturuldu. Tekrar pron pozisyona alınarak SAK oluşturulduktan sonra 90 dk boyunca LBKG kaydı ile mikrosirkülasyon değişiklikleri gözlemlendi. Deneklere 3 dakika boyunca %5 CO₂ solutularak kortikal damarların reaktivitesine bakıldı. Aynı zamanda spontan oluşan kortikal yayılan depolarizasyon (KYD) dalgaları kaydedildi. Toplamda 2 saat izlem sonrası hayvanlar bilinç ve nörolojik hasar yönünden muayene edildikten sonra sakrifiye edilerek beyinleri çıkartıldı. Çıkarılan beyinlerin bazal sistemlerindeki kan miktarı Sugawara SAK derecelendirme sakalasına göre değerlendirildi ve örnekler histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Subaraknoid kanamadan hemen sonra ipsilateral (SAK oluşan) hemisferde MCA sulama alanında derin iskemi ve serebral kan akımında (SKA) ortalama %62,6 (%38-85) düzeyinde azalma görüldü. Kontralateral hemisferde oluşan iskemi daha hafifti ve SKA'nda ortalama %32,8 (%13-58) azalma görüldü. SAK grubundaki 10 farenden 6'sında oluşan spontan KYD'lar sonrası normal beyinde beklenen hiperemik yanıt gözlenmedi, yayılan iskemi yanıtı izlendi. KYD sonrası ipsilateral iskemi arttı ve SKA'da azalma 30. dk'da ortalama %68,6 (%46-80), 60. dk'da ise ortalama %68,5 (%41-82) değerlerine ulaştı. Kontralateral hemisferde ise her KYD'a iskemi sonrası minimal hiperemik yanıtın eşlik ettiği görüldü. Aynı zamanda kontralateral hemisferde 3 denekte spontan, 3 denekte ise ipsilateral hemisferdeki KYD'ları takiben spontan KYD'lar izlendi. İskemi ağırlaşarak SKA'da azalma 30. dk'da ortalama %42,8 (%11-64), 60. dk'da ise ortalama %47,5 (%21-75) değerine ulaştı. Sadece bir denekte kontralateral hemisferde SAK sonrası SKA'da %20 oranda artış görüldü. İpsilateral hemisferde CO₂'e hiperemik yanıt - SKA'da ortalama %18,7 (%4-33) artış, kontralateral hemisferde ise ortalama %31,2 (%4-100) değerinde SKA artışı ile sonuçlanan hiperemik yanıt gözlemlendi.

Sonuç: Bu çalışma ile SAK sonrası erken dönemde ipsilateral hemisferde daha derin olmak üzere beyinde global iskemi geliştiği, bu iskeminin özellikle spontan KYD'ların geçişi ile daha da derinleştiği gözlemlenmiştir. İpsilateral hemisferde daha belirgin olmak üzere CO₂ verilmesi sonrası otoregülasyonun ve kortikal damarsal yanıtın bozulmuş olduğu ve KYD geçişi ile bu bozulmanın daha da arttığı ortaya konulmuştur. SAK sonrası 2. saatte histopatolojik değişiklik, enfarkt, mikrotrombus veya vasokonstriksiyon gözlenmemiştir; bu nedenle SAK sonrası erken iskemik hasarın sınırlandırılması ve geç dönem ilerleyici ikincil hasarın önlenmesi için ilk 2 saatte yapılacak mikrosirkülasyonu düzeltmeye yönelik tedaviler başarı sağlayabilir. Gelecekte yapılacak çalışmalar, SAK sonrası mikrosirkülasyondaki disfonksiyonun altında yatan mekanizmaları aydınlatığında, beyin hasarını önlemek ve klinik sonuçları iyileştirmek amacıyla yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için zemin hazırlayacaktır.

Anahtar kelimeler: subaraknoid kanama, serebral mikrosirkülasyon, lazer beneklenme kontrast görüntüleme, kortikal yayılan depolarizasyonlar

ABSTRACT

Hidayetov T. Investigation of early cortical blood flow changes in the experimental mouse model of subarachnoid hemorrhage, Hacettepe University School of Medicine, Department of Neurosurgery, Ankara 2016.

Introduction: Subarachnoid hemorrhage (SAH) caused by spontaneous rupture of a cerebral aneurysm has very high mortality and morbidity. Recent studies about SAH have focused on the mechanisms of vasospasm which occur in the late period. Early onset microcirculation changes after SAH have gained significant role on the pathophysiology of ischemic injury. However, current knowledge about microcirculation changes is quite limited in the literature.

Objective: In this study, spatial and temporal dynamics of early cortical blood flow (CBF) changes after subarachnoid hemorrhage were investigated with a new *in vivo* imaging method called laser speckle contrast imaging (LSCI). Additionally effects of CO₂ inhalation on autoregulation of microcirculation and cortical vascular response were studied.

Methods: Twenty male Swiss albino mice weighing 25-40 gr were included in this study, 5 mice excluded due to early mortality after induction of SAH. The remaining 15 were randomly divided into 2 groups; Group 1: Sham group (5 animals): thinning of cranium + neck dissection + LSCI; Group 2: SAH group (10 animals): thinning of cranium + neck dissection + SAH + LSCI. Fixed in stereotaxic frame in prone position, the cranium was thinned and LSCI basal images were taken. With the animals placed in supine position, neck dissection was carried out and SAH was performed using endovascular filament perforation method. The animals were placed in prone position again, LSCI was recorded for 90 minutes. Cortical vascular reactivity was evaluated with the inhalation of 5% CO₂ for 3 minutes. Meanwhile, spontaneous cortical spreading depolarizations (CSD) were recorded as phasic changes in CBF. After 2 hours of investigation, the mice were examined in terms of consciousness and neurological damage. Later on they were sacrificed and the brains were removed. The amount of blood in basal cisterns of *ex vivo* brains were evaluated according to Sugawara's SAH grading system and the samples were studied histopathologically.

Results: Immediately after SAH, severe ischemia and mean 62.6% (range: 38-85%) reduction of CBF were observed in the MCA territory of ipsilateral hemisphere

(SAH induced). On the other hand, the ischemia was milder and reduction of CBF was mean 32.8% (range: 13-58%) in the contralateral hemisphere. Hyperemic response to CSD that occurs in physiologic conditions (sham) was not observed in ipsilateral hemisphere; instead spreading ischemia was recorded. In 6 mice of the SAH group, ischemia after spontaneous CSDs was aggravated and reduction of CBF reached mean 42.8% (range: 11-64%) at the 30th min, mean 47.5% (range: 21-75%) at the 60th min. However, minimal hyperemic response to CSDs was observed in contralateral hemisphere. In contralateral hemispheres of 6 animals spontaneous CSDs were recorded: 3 of them had spontaneous ones, the remaining 3 had CSDs after ipsilateral pinprick. As the ischemia continued to spread, CBF reached mean 42.8% (range: 11-64%) and mean 47.5% (range: 21-75%) of the original value at the 30th and 60th minutes respectively. In only one of the cases an increase of 20% was observed in the CBF value of the contralateral hemisphere following SAH. Regarding hyperemic response to CO₂, an increase of mean 18.7% (range: 4-33%) in the ipsilateral hemisphere and mean 31.2% (range: 4-100%) in the contralateral hemisphere were observed in the CBF values.

Conclusion: According to the results of the present study, during the early phase following SAH, a global ischemia –deeper in the ipsilateral hemisphere– develops in the brain, which goes even deeper with the onset of spontaneous CSDs. Based on the CBF measurements, cortical vascular reactivity, evaluated by CO₂ inhalation, is found to be disrupted. This disruption, however, is worsened with the onset of CSDs. No histopathological changes, infarct, microthrombus or vasoconstriction were observed 2 hours after SAH. Hence, in order to minimize ischemic damages during early stages following SAH, as well as to prevent progressive secondary damages during late stages, it might be useful to apply treatments that improve microcirculation during the first 2 hours following SAH. Further investigations are needed to study the underlying mechanisms of post-SAH ischemia and microcirculation dysfunction. These studies might provide the basis for new treatment strategies preventing brain damage following SAH, hence improving clinical outcomes.

Key Words: subarachnoid hemorrhage, cerebral microcirculation, laser speckle contrast imaging, cortical spreading depolarizations

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Subaraknoid kanama.....	3
2.2. Subaraknoid kanamanın tarihçesi	4
2.3. Subaraknoid kanamada etyolojik faktörler	5
2.4. Subaraknoid kanamanın patofizyolojisi.....	6
2.5. Subaraknoid kanamada tanı ve klinik özellikler	14
2.6. Subaraknoid kanamanın evrelendirilmesi.....	21
2.7. Subaraknoid kanamanın tedavisi	23
2.8. Serebral mikrosirkülasyon ve otoregülasyon.....	27
2.9. Deneysel subaraknoid kanama modelleri	32
2.10. Lazer beneklenme kontrast görüntüleme (LBKG).....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. Etik kurul izni	36
3.2. Deney grupları	36
3.3. Anestezi ve deney düzeneğinin hazırlanması	38
3.4. Endovasküler filament perforasyonu ile subaraknoid kanama oluşturulması.....	41
3.5. LBKG ile serebral kan akımı değişikliklerinin izlenmesi.....	44
3.6. Sakrifikasyon ve beyinlerin çıkarılması.....	45
3.7. <i>Ex vivo</i> subaraknoid kanamanın derecelendirmesi	46
3.8. Histopatolojik değerlendirme.....	47
3.9. İstatistik değerlendirme.....	49
4. BULGULAR	50
4.1. Kan akımı değişikliklerinin analizi (LBKG sonuçları).....	51
4.2. <i>Ex vivo</i> subaraknoid kanamanın derecelendirilmesi bulguları.....	60
4.3. Histopatolojik bulgular	60

5. TARTIŞMA.....	62
6. SONUÇ.....	67
7. KAYNAKLAR.....	69



SİMGELER VE KISALTMALAR

SAK	Subaraknoid kanama
KYD	Kortikal yayılan depolarizasyonlar
LBKG	Lazer beneklenme kontrast görüntüleme
WFNS	Dünya Beyin Cerrahları Federasyonu
İKB	İntrakranial basınç
SPB	Serebral perfüzyon basıncı
SVD	Serebrovasküler direnç
SKA	Serebral kan akımı
GKS	Glasgow koma skalası
CO₂	Karbondioksit
BOS	Beyin omurilik sıvısı
LP	Lomber ponksiyon
Hb	Hemoglobin
OxyHb	Oksihemoglobin
ATP	Adenozin trifosfat
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
VEGF	Vasküler endotelial büyüme faktörü
5-HT	Serotonin,
TXA₂	Tromboksan A ₂
AVM	Arteriovenöz malformasyon
AVF	Arteriovenöz fistül
PDGF	Trombosit kökenli büyüme faktörü

VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
KBB	Kan beyin bariyeri
ACE	Anjiotensin dönüştürücü enzim
BT	Bilgisayarlı Tomografi
MR	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
ET-1	endotelin-1
20-HETE	20-hidroksieikazotetraenoik asit
ROS	Serbest oksijen radikalleri
PFA	Paraformaldehit
TTC	2,3,5-trifeniltetrazolium klorid
H/E	Hematoksilen-eozin
EC	Ekstrasellüler
SPC	Yavaş potansiyel değişim

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.4.1.	Subaraknoid mesafenin normal koşullarda ve SAK sonrası şematik çizimi	7
Şekil 2.4.2.	SAK'ta erken dönem beyin hasarının patogenezi.	9
Şekil 2.4.3.	Akut post-SAK iskemi ve vazospazmın kabul görmüş mekanizmaları	11
Şekil 2.4.4.	İnsan beyinde yayılan depolarizasyonlara nörovasküler ünitenin normal (yayılan hiperemi) ve ters (yayılan iskemi) yanıt	14
Şekil 2.5.1.	Ani başlangıçlı ve şiddetli başağrısına tanısal yaklaşım	19
Şekil 2.8.1.	Serebral otoregülasyon	30
Şekil 2.10.1.	Lazer beneklerinin oluşumu	34
Şekil 2.10.2.	LBKG düzeneğine örnek	35
Şekil 3.2.1.	Deney protokolunun akış şeması	37
Şekil 3.2.2.	Standart laboratuvar koşulları	38
Şekil 3.3.1.	Anestezi cihazı (eş zamanlı izofloran ve O ₂ inhalasyonunu sağlamak için), Pulse-oksümetre monitörü	39
Şekil 3.3.2.	Mikroskop altında stereotaksik çerçeveye yerleştirilen deney hayvanında fizyolojik monitörizasyon ve LBKG düzeneği	40
Şekil 3.3.3.	Stereotaksik çerçeveye yerleştirilen hayvanda kranyumun üstten görünümü	41
Şekil 3.4.1.	Filament perforasyon SAK modelinin şematik görünümü	43
Şekil 3.4.2.	Boyun diseksiyonu, mikroskopik görünüm	44
Şekil 3.6.1.	İntrakardiyak %4'lük PFA verilerek doku fiksasyonu yapılması	45
Şekil 3.7.1.	SAK'ın derecelenmesi için bazal sisternlerin 6 segmente bölünmesini gösteren şekil	46
Şekil 3.7.2.	SAK'ın derecelendirilmesi. Resimlerde sham, hafif, orta ve ağır SAK gruplarına örnek verilmiştir	47
Şekil 3.8.1.	Olfaktor bulblardan serebelluma kadar 2 mm'lik 5 eşit (A, B, C, D, E) koronal dilimlere ayrıldığını gösteren fare beyinin üstten görünümü	48
Şekil 3.8.2.	SAK oluşturulduktan sonra PFA perfüzyonunu takiben TTC boyası ile boyanmış beyin	48
Şekil 4.1.1	SAK öncesi bazal LBKG örneği	50

Şekil 4.1.2.	SAK sonrası LBKG örneği; Sağ hemisferde SAK sonrası iskemi: A-beneklenme kontrast görüntüsü, B-rölatif kan akımı görüntüsü	52
Şekil 4.1.3.	SAK sonrası ipsilateral (sağ) hemisferde bölgesel kortikal kan akımı değişikliklerinin grafiği	53
Şekil 4.1.4.	SAK sonrası her iki hemisferde bölgesel kan akımı değişikliklerinin üç ayrı zamandaki ortalamalarının karşılaştırılması	55
Şekil 4.1.5.	SAK sonrası bölgesel kan akımı değişiklikleri	55
Şekil 4.1.6.	SAK sonrası ipsilateral hemisferde oluşan spontan KYD'lerin iskemi düzeyi üzerine etkisi.	56
Şekil 4.1.7.	SAK sonrası CO ₂ reaktivitesine kortikal kan akımının yanıtı, LBKG görüntüsü (rölatif kan akımı)	57
Şekil 4.1.8.	CO ₂ inhalasyonuna karşı serebral kortekste oluşan kan akımı değişikliklerinin deney ve sham gruplarındaki ortalama değerleri	57
Şekil 4.1.9.	Sham grubunda KYD'ye oluşan bölgesel kan akımı değişikliği örneği	58
Şekil 4.3.1.	SAK grubu denekte H/E ile boyanmış beyin örneği	60
Şekil 4.3.2.	SAK grubu denekte fibrin boyama ile boyanmış beyin örneği	61

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.3.1.	Spontan subaraknoid kanama etyolojisi	6
Tablo 2.6.1.	Hunt – Hess Skalası	21
Tablo 2.6.2.	WFNS SAK’lı hasta değerlendirme skalası	22
Tablo 2.6.3.	SAK’ta Kranial BT’ye göre Fisher sınıflandırılması	22
Tablo 4.1.	SAK grubundaki deneklere ait parametrelerin özeti	59



1. GİRİŞ VE AMAÇ

İntrakranial anevrizma rüptürüne bağlı subaraknoid kanama (SAK) önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Görülme oranı 6-10/100.000 olup tüm inmelere %3-4'ünü oluşturmaktadır (1, 2). Subaraknoid kanama prevalansı 55 yaş civarında pik yapmaktadır, bu nedenle SAK, tüm inmelere bağlı üretken yaşam-yılı kayıplarının %25'inden sorumludur (3). Yıllık toplam ekonomik maliyetinin Avrupa Birliği ve ABD'de 5 milyar avronun üzerinde olduğu tahmin edilmektedir. Bu veriler ışığında SAK'nın, 20 kat daha sık görülen iskemik inmeyle neredeyse eşit bir sosyo-ekonomik yük getirdiği kabul edilmektedir (4, 5).

Spontan SAK'ların %85'inden beyin anevrizmalarının spontan rüptürü sorumludur. Daha az oranda olmak üzere arteriovenöz malformasyonlar (AVM), vaskülit, kan diskrazileri, enfeksiyöz hastalıklar, endojen ve kortikal venöz trombozis ve gebelik gibi bir dizi neden SAK'nın etyolojisinde rol oynamaktadır (6).

Subaraknoid mesafeye olan akut kanama, kanın dural kılıfla teması ve kafa içi basıncın ani yükselmesi nedeniyle çok şiddetli baş ağrısına neden olur. Kafa içi basınçtaki ani yükselmenin sebebi, damar içi basıncın (arteriyel tansiyon) intrakraniyal basınca yansması ve oluşan hematomdur. Eğer kafa içi basınçtaki artış devam ederse serebral perfüzyon basıncı düşer (SPB) ve hastada bilinç kaybı oluşarak global serebral iskemi sebebiyle dakikalar içerisinde ölüm gerçekleşebilir. SAK geçiren hastaların %21'i hastaneye ulaşmadan yaşamını kaybetmektedir (7). Acil ve yoğun bakım hizmetlerindeki önemli gelişmelere, yeniden kanamanın önlenmesinde cerrahi ve minimal invaziv tekniklerin ilerlemesine rağmen hastaneye ulaşabilen hastaların 30 günlük mortalitesi hala %30-35 civarındadır ki bu oran son 30 yılda neredeyse hiç değişmemiştir (8, 9).

Subaraknoid kanama sonrası mortalitenin ana sebebinin yaygın serebral enfarktler olduğu 1949 yılından beri bilinmektedir (10). İlk kanamayı takiben eden 7 ila 10. günlerde ortaya çıkan ve SAK hastalarının %40-60'ında görülen büyük arter spazmlarının ve gözlenen enfarktlerin esas sorumlusu olduğu düşünülmüştür. Ne var ki bugüne kadar gecikmiş vazospazmı hedefleyen tedavi stratejileri, SAK sonrası klinik sonuçları iyileştirmede başarılı olamamıştır. Bütün bu sonuçlar posthemorajik iskeminin büyük arter spazmlarından farklı bir mekanizmayla oluşabileceğini düşündürmektedir (11, 12). Subaraknoid kanama araştırmalarında paradigma değişikliği olarak kabul edilen bu

hipotez; gecikmiş büyük arter spazmlarından bağımsız, serebral mikrosirkülasyon düzeyindeki mekanizmaların patogenezin ana bileşenleri olduğunu ileri sürmektedir.

Crompton ve ark. 1964 yılında küçük yama tarzındaki enfarktlerin dağılımının, anevrizmanın bulunduğu damarın beslediği alanlarla her zaman korele olmadığını göstermiştir. Bu da enfarktlerin arterin obliterasyonu/spazmı ile tek başına açıklanamayacağını düşündürmüştür (13). Klinik çalışmalar; serebral kan akımındaki düşüşün bu beyin bölgelerini besleyen arterlerin spazmı ile örtüşmediğini, vazospazm varlığının mortalite ve kötü klinik sonuçlarla ilişkili olmadığını göstermiştir (14, 15). Yakın zamanda yapılan çalışmalar ise serebral perfüzyon basıncından bağımsız ve SAK sonrası 1. günde ortaya çıkan ciddi, uzun süreli serebral kan akımı düşüşlerini ortaya koymaktadır, ki bu da gecikmiş büyük arter spazmının ortaya çıkışından çok önce meydana gelmektedir. Bütün bunlar Bederson tarafından 20 yıl önce ileri sürüldüğü gibi posthemorajik iskeminin serebral mikrosirkülasyondaki değişiklikler sebebi ile oluştuğu fikrini desteklemektedir (16).

SAK sonrası kan akımındaki dramatik azalmaya bağlı ortaya çıkan global iskemiyeye ek olarak, damar çevresindeki kanın etkisiyle pial arter ve arteriollerde akut vazokonstriksiyon ortaya çıktığı ve bu mikrovazospazmların SAK sonrası 3. saatte bile görüldüğü ve en az 72 saat sürebildiği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir.

Bu çalışmada; literatürde bugüne kadarki deneysel SAK araştırmalarında kullanılan laser Doppler flowmetry ve floresan mikroskopi yöntemlerine ek olarak yeni bir *in vivo* görüntüleme yöntemi olan “*laser speckle contrast imaging*” (lazer beneklenme kontrast görüntüleme - LBKG) yönteminin kullanılmasıyla SAK sonrası erken dönem kortikal kan akımı değişikliklerinin hem bölgesel (*spatial*) hem de zamansal (*temporal*) dinamiklerinin izlenmesi ve mikrodolaşımdaki bu değişikliklerin histopatolojik sonuçlarla korelasyonunun araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Subaraknoid Kanama

Tüm subaraknoid kanamaların (SAK) en sık nedeni travmadır. Spontan (travmatik olmayan) SAK tüm intrakranial hemorajilerin %15'ini, inmelerin ise yaklaşık %3-4'ünü oluşturmaktadır. Spontan SAK'nın %85'ini anevrizma rüptürü, %10'unu benign perimezenesefalik kanama ve %5'ini arterivenöz malformasyon (AVM) kanaması ve diğer nedenler oluşturmaktadır (2).

Toplumda sakküler anevrizmaların görülme sıklığı yaklaşık %2 civarındadır (17). Anevrizma rüptürü 40-60 yaş arası insanlarda pik yapmaktadır. Tüm inmelerin yaklaşık %5-10'unu oluşturmalarına rağmen diğer inmelere göre daha genç popülasyonu etkilediği için üretken yaşam süresi üzerine daha fazla etki göstermektedir. Hastalığın familial formunun olması (18), polikistik böbrek hastalığı (19) ve Marfan sendromunda (20) görülme sıklığının artması, etkilenen bireylerin birinci ve ikinci derece yakınlarında prevalansın yüksek olması (21) genetik faktörlerin de anevrizma oluşumunda rol oynayabileceğini göstermektedir. SAK kadınlarda erkeklere oranla yaklaşık 1,5 kat daha fazla görülmektedir.

Hipertansiyon (HT), sigara kullanımı, aşırı alkol tüketimi de anevrizma oluşumunda ve rüptüre olmasında rol oynamaktadır (22).

Anevrizma rüptürüne bağlı SAK her yıl 100.000 kişiden 10'unda görülmektedir (23). Subaraknoid kanama ile ilişkili mortalite ve morbiditenin önemli bir kısmı kanamanın akut döneminde meydana gelmektedir. Hastaların yaklaşık %12'si hiçbir tıbbi destek almadan kanamanın ilk anında kaybedilmektedir. Hospitalize edilen hastaların yaklaşık %40'ı bir ay içinde hayatını kaybetmektedir. Geri kalanların 1/3'ünden fazlası ise majör nörolojik defisitle yaşamaktadır (24).

Kanamadan yaklaşık 3-7 gün sonra serebral arterlerin vazospazmı sonucu gecikmiş iskemik nörolojik hasar denilen tablo ortaya çıkar (17). Bu süreç bazen 21 güne kadar uzayabilir (25). Serebral vazospazm, hastaların yaklaşık %20'sinde ölüme, %50'sinde ise kalıcı nörolojik hasara neden olmaktadır. Vazospazm ve gecikmiş iskemik nörolojik defisit ilk defa 1859'da Sir William Gull tarafından tanımlanmıştır. Vazospazm ve gecikmiş serebral iskemi anjiyografik ve klinik olarak ikiye ayrılmaktadır (26). Anjiyografik vazospazm radyolojik bir tanıdır, %50-90 oranında görülür ve fokal veya diffüz olarak

serebral arterlerin daralmış görünümü ile karşımıza çıkmaktadır. Vazospazm kanamanın genellikle 3. gününde kendini gösterir 6-8. günlerde maksimuma ulaşır ve 2-3 hafta sürebilir.

Klinik ya da semptomatik vazospazm; hidrosefali, yeniden kanama, nöbet, hipoksi ya da metabolik anormallikler ile açıklanamayan, SAK sonrası gecikmiş dönemde ortaya çıkan yeni nörolojik semptomlar ile karşımıza çıkmaktadır (27). Bu nörolojik semptomlar mental durum ve bilinç değişiklikleri ya da fokal nörolojik defisitler şeklinde olabilir. Bununla birlikte vazospazmın varlığı ve ciddiyeti, her zaman iskemi veya enfarktın derecesi ile korele olmayabilir. Anjiyografide ciddi vazospazmı olan hastalar asemptomatik kalabilirken, anjiyografide daha hafif vazospazmı olan hastalar semptom verebilmektedir.

Son 30 senede önemli gelişmeler mortalite ve morbidite oranlarında azalmaya yol açsa da etkin ve kesin bir tedavi yoktur. Devam eden onca çalışmaya rağmen vazospazm ve gecikmiş iskemik nörolojik hasara yol açan mekanizmaların patofizyolojisi halen tam olarak aydınlatılmamıştır.

2.2. Subaraknoid Kanamanın Tarihçesi

Subaraknoid kanamanın tarihçesine bakıldığında ilk kayıtlara hipokratın yazılarında rastlandığı görülmekte ve SAK ile ilgili bilgilerimiz 18. yüzyıla uzanmaktadır. Morgagni 1761 yılında bir otopsi vakasında ilk kez intrakranial anevrizmayı tanımlayan kişidir. Subaraknoid kanama ile ilgili ilk yayın 1778 yılında Biumi tarafından gerçekleştirilmiştir. 1854 yılında Luschka intrakranial AVM'leri tanımlamış ve 1863 yılında Virchow bunların konjenital orjinli vasküler lezyonlar olup gerçek anlamda tümör olmadıklarını bildirmiştir. 1872 yılında Bortholew, 1877 yılında ise Osler anevrizma ile SAK arasındaki ilişkiyi öne sürmüştür. 1891 yılında Quincke spinal ponksiyonu tanı yöntemi olarak geliştirmesi sonucu yaşayan SAK'lı hastalarda beyin omurilik sıvısındaki değişiklikleri araştırmış ve önemli katkılarda bulunmuştur. Egas Moniz'in 1927 yılında serebral anjiyografiyi uygulamaya koyması ile SAK etyolojisi üzerindeki bilgiler artmıştır. 1931 yılında Dott bir intrakranial anevrizmaya ilk müdahale eden kişidir (wrapping yöntemi). İlk kez anevrizma boynunu klipleyen kişi ise Walter Dandy (1938 yılında) olmuştur. Ehrenberg 1936 yılında SAK'lı olguları travmatik ve spontan olarak, spontan olanlarıda primer ve sekonder olarak ikiye ayırmıştır. 1967 yılında Donaghy ve Yaşargil'in binoküler mikroskopu kullanması

anevrizma cerrahisinde çığır açmış, bu sayede cerrahi mortalite ve morbiditenin önemli miktarda azalmasına neden olmuştur. Arutinox 1974 yılında trabeküller içindeki serbest sinir uçlarının vasospazmla olan ilişkisinden bahsetmiştir (28). Anevrizma cerrahisinin gelişmesinde, anterior sirkülasyon anevrizmalarında Yaşargil'in ve posterior sirkülasyon anevrizmalarında ise Drake'in büyük katkıları olmuştur.

2.3. Subaraknoid Kanamada Etyolojik Faktörler

Spontan SAK bir arter veya venin yırtılması sonucu kanın subaraknoid mesafeye geçmesi ile oluşan kanamadır. Diğer nedenler ile subaraknoid aralığa olan kanamalar karıştırılmamalıdır. Bunlar sekonder kanama olarak ifade edilir.

Sekonder kanama nedenleri:

- Subdural aralıkta olan kan araknoid zarı delerek subaraknoid mesafeye sızabilir.
- Hemisferin yüzeysel bölümlerinde bir kanama pia materi yırtarak subaraknoid mesafeye girebilir.
- Beyin parenkiminde olan intraserebral kanama ventriküllerden birine açılarak buradan kan subaraknoid mesafeye ulaşabilir.

Son yıllarda tanı yöntemlerindeki fark edilir ilerleme, özellikle Bilgisayarlı tomografinin (BT) günlük kullanıma girmesi ve Dijital substraksiyon anjiografi teknikleri ile SAK'ların etyolojik sınıflamasında aydınlatılmayan olgu sayısı giderek azalmaktadır.

Subaraknoid kanama olgularının en sık görülen nedeni %75-80 ile intrakranial anevrizmalar, ve bunlar içinde de en sık olanı sakküler anevrizmalardır (29). Bu nedenle SAK'lar intrakranial sakküler anevrizmalarla hemen hemen özdeşleşmiş gibidir.

Anevrizma rüptürü dışında SAK'ya sıklıkla yol açan diğer nedenler vasküler malformasyonlar, hipertansiyon ve aterosklerozistir. Daha az oranda olmak üzere kan diskrazileri, enfeksiyöz hastalıklar, endojen ve kortikal venöz trombozis ve gebelik gibi bir dizi neden SAK'ya yol açabilir (29).

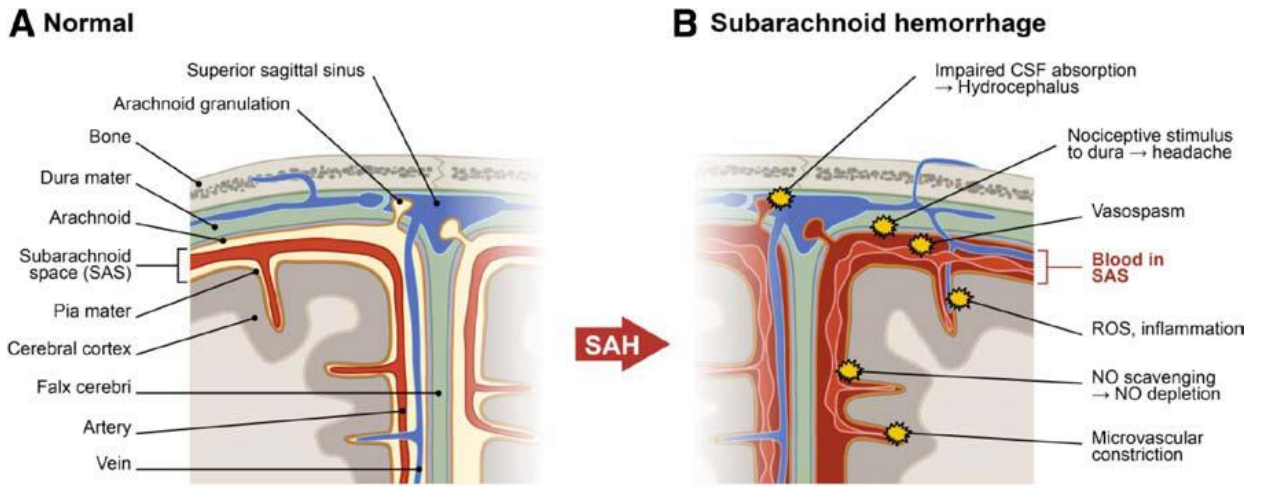
Subaraknoid kanamanın daha az sıklıkla görülen nedenleri Tablo 2.3.1.'de gösterilmiştir. Nedeni bilinmeyen SAK olgularının oranı günümüzde yaklaşık %20 civarındadır.

Tablo 2.3.1. Spontan subaraknoid kanama etyolojisi (2)

<ul style="list-style-type: none"> ❖ Anevrizma rüptürü (%85) ❖ Anevrizmatik olmayan nedenler (%15) <ul style="list-style-type: none"> ▪ Perimezensefalik hemoraji ▪ Diğer nadir nedenler <ul style="list-style-type: none"> • Tümör • Koagulopati • Venöz sinus trombozu • Arteryel diseksiyon • Vasküler lezyon <ul style="list-style-type: none"> ➤ AVM, dural AVF, amiloid anjiopati, diğerleri • Vaskülitler <ul style="list-style-type: none"> ➤ Behçet hastalığı, Churg-Strauss, Wegener granülomatatozis, diğerleri • Orak hücreli anemi • Mikotik anevrizmalar • İlaçlar <ul style="list-style-type: none"> ➤ Kokain bağımlılığı, antikoagulanlar
--

2.4. Subaraknoid Kanamanın Patofizyolojisi

Subaraknoid kanama sonrası kanın dural kılıflar ile teması (Şekil 2.4.1.) ve akut intrakranial basıncın (İKB) artması sonucu şiddetli baş ağrısı gelişir. İntrakranial basıncın ani yükselmesinin sebebi intravasküler ve intrakranial basınç arasında bağlantının oluşması ve kanama sonrası oluşan hematomdur. Yüksek değerlere ulaşmış intrakranial hipertansiyon devam ederse serebral perfüzyon basıncı (SPB) düşer, hastanın bilinci kapanır ve dakikalar içinde gelişen global serebral iskemi sonrası ölüm gerçekleşebilir. Bu yüzden SAK'lı hastaların yaklaşık %21'i tıbbi yardıma ulaşmadan ölmektedir (7). Güncel tıbbin tüm gelişmelerine rağmen hastaneye ulaşan hastaların bir ay içinde mortalitesi %33 civarındadır (30) ve neredeyse son 30 senede hiç değişmemiştir (8, 9).



Şekil 2.4.1. Subaraknoid mesafenin normal koşullarda (A) ve SAK sonrası şematik çizimi (B). CSF: beyin omurilik sıvısı, ROS: serbest oksijen radikalleri (31).

2.4.1. Posthemorajik İskeminin Mekanizması Olarak Büyük Arterlerin Spazmı

İlk kez 1949 senesinde Robertson (10) SAK sonrası mortalitenin ana sebebi olarak yaygın serebral enfarktların olduğunu göstermiştir. 1950 ve 1960'lı yıllarda yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda hastaların %40-60'ında kanamanın 7 ila 10. günlerinde büyük arter spazmlarının geliştiği gösterilmiş ve enfarktların en önemli sebebi olarak düşünülmüştür (32). Fakat günümüzde yapılan bir çok araştırma sonucu posthemorajik iskeminin büyük arter spazmı dışında farklı mekanizmalar ile geliştiği gösterilmiştir (11, 12). Subaraknoid kanama alanında bu paradigma değişikliği nedeniyle bu tez çalışmasında da kanama sonrası büyük arterlerin spazmından çok daha önce oluşan küçük damarların (arteriyol, kapiller) spazmı ve iskeminin patofizyolojisi araştırılmıştır.

2.4.2. Posthemorajik İskeminin Alternatif Mekanizmaları

1964 yılında Crompton küçük yama tarzındaki enfarktların dağılımının, anevrizmanın bulunduğu damarın beslediği alanlarla her zaman korele olmadığını göstermiştir, bu da, bu enfarktların arterin obliterasyonu/spazmı ile tek başına

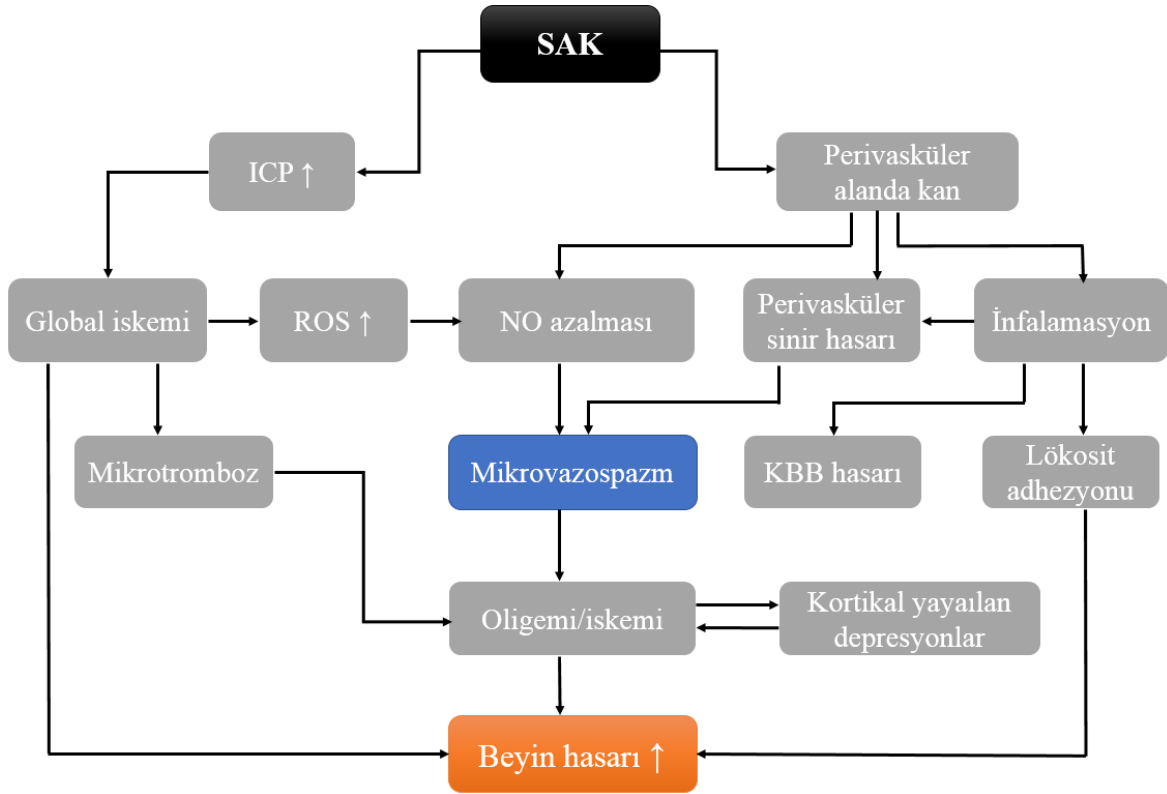
açıklanamayacağını düşündürmüştür (13). O yıllarda yapılan diğer klinik çalışmalar serebral kan akımının (SKA) azaldığı beyin alanlarının her zaman spazma uğrayan damarların beslediği alanlar ile örtüşmediğini göstermiştir (14, 15). Son zamanlarda yapılan klinik çalışmalarda gecikmiş büyük arter spazmlarından çok daha önce, SPB'dan bağımsız, SAK'nın ilk gününden itibaren gelişen ve uzun süren SKA'ında azalma olduğu gösterilmiştir (33, 34). Farklı çalışmalarda da spazma uğrayan geniş çaplı damarlar ile beyin parenkiminde gelişen iskemi arasında korelasyon saptanamamıştır (35, 36). Bederson ve ark. yaklaşık 20 yıl önce posthemorajik iskeminin serebral mikrosirkülasyon düzeyindeki değişikliklerin sebep olabileceği hipotezini ileri sürmüşler (16).

2.4.3. Mikrosirkülatuvar Disfonksiyon

Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalar posthemorajik serebral iskemide mikrosirkülasyonun rol oynadığını ileri sürmektedir. Akut SAK sonrası İKB dramatik yükselir ve belli bir seviyeye ulaştıktan sonra SKA (aynı zamanda SPB) sifira kadar iner (37) ve neticede global serebral iskemi oluşur (38, 39). Kanama durduktan sonra İKB hematomun büyüklüğüne bağlı olarak belli bir seviyeye iner ve SPB normalleşir. Aynı zamanda SAK'nın erken döneminde SPB normal olmasına rağmen SKA'nın iskemik seviyelere kadar azaldığı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (33, 34). Subaraknoid kanama sonrası erken dönemde büyük serebral damarlarda spazm olmadığı için iskeminin patofizyolojisi sadece mikrosirkülasyon düzeyindeki bozukluklar ile açıklanabilir. Posthemorajik oligemi/iskemi derecesinin yüksek olmasının daha kötü sonuçlar ve mortalite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.4.2.) (16).

Serebral damarları dıştan saran kanın akut vazokonstriksiyona sebep olabileceği 1975 yılında Herz ve ark. tarafından gösterilmiştir. Dura mater kaldırılarak pial mikrodamarların üzerine kan verildiğinde *in vivo* olarak arteriollerde spazm geliştiği izlenmiştir. (40). Önce Uhl ve ark. (41) daha sonra ise Pennings ve ark. (42) ilk kez post-SAK hastalarda serebral mikrosirkülasyonu izlemişlerdir. Her iki çalışma grubu tarafından pial arteriollerde yaygın "boncuk dizisine benzer" vazokonstriksiyon olduğu görülmüştür. Subaraknoid kanama sonrası küçük çaplı damarlarda gelişen vazospazmlar 3 saat sonra görünmeye başlar ve maksimum 72 saat devam eder. Mikrovazospazmlar hiçbir zaman pial venüllerde ve venlerde görülmemiş, çapı en fazla 10-20 µm olan arteriollerde görülmüştür. Oluşan mikrovazospazmlar sonrası beyin kan akımındaki azalmanın %60-

80'e kadar olduğu ölçülmüştür ki bu da iskemi oluşması için yeterli bir değerdir. Fakat bütün bu yapılan çalışmalara rağmen pial arteriollerdeki spazmın beyin parenkiminde nasıl iskemi oluşturduğu halen belli değildir ve daha ileri çalışmaların yapılmasını gerektirir.



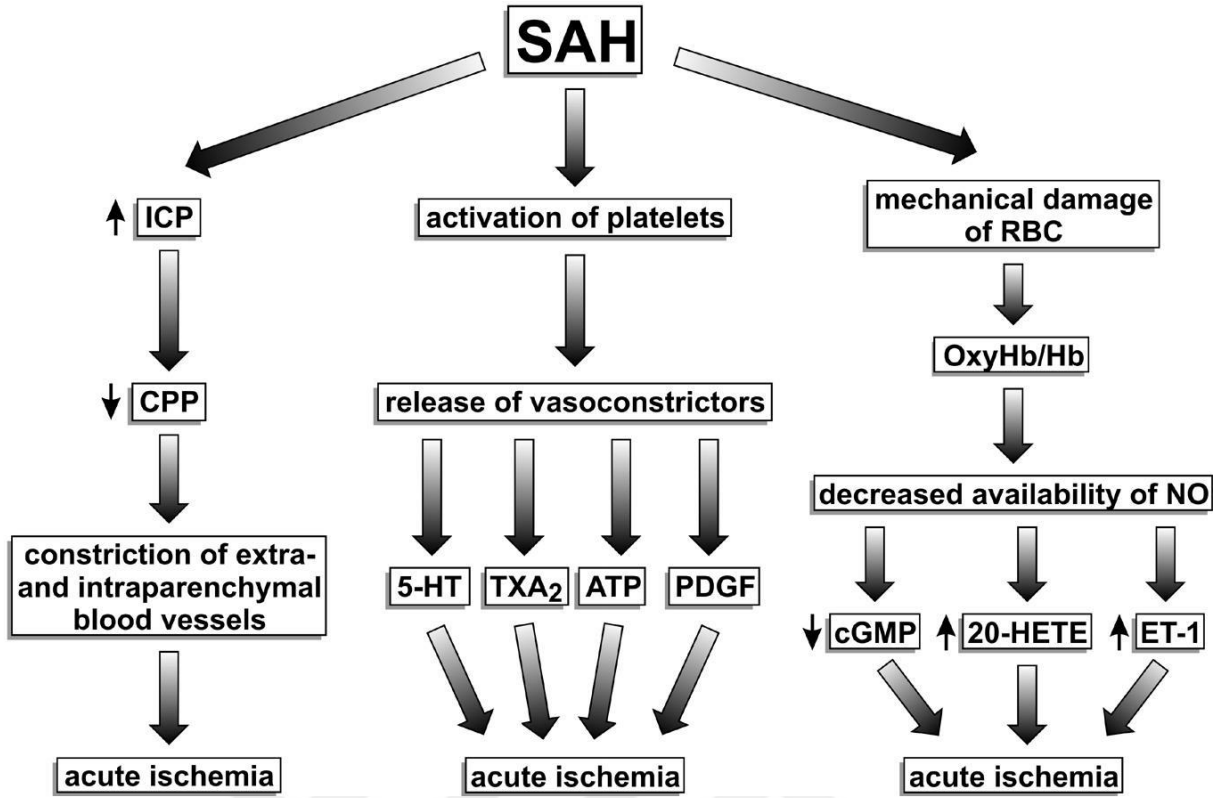
Şekil 2.4.2. SAK'ta erken dönem beyin hasarının patogenezi; ICP-intrakranial basınç, ROS-serbest oksijen radikalleri, KBB-kan beyin bariyeri, NO-nitrik oksit (31).

2.4.4. Mikrosirkülatuar Disfonksiyonun Mekanizmaları

Posthemorajik mikrovazospazmın kesin patofizyolojik mekanizmaları bilinmemekle birlikte, son zamanlarda yapılan klinik ve deneysel çalışmalar nitrik oksit (NO) eksikliğine bağlı endotelial disfonksiyonun olduğunu düşündürmektedir.

Subaraknoid kanama hastalarında kandaki karbondioksit (CO₂) konsantrasyon değişikliklerine serebral damarların yanıtı bozulmuştur (43, 44). Yakın tarihli bir çalışmada, hipoventilasyon veya %10 CO₂ inhalasyonu ile yapılan hiperkapni sonrası SAK'nın erken döneminde serebral mikrovasküler vazodilatasyona yol açmadığı gösterilmiştir (45). Serebral damarların CO₂'e reaktivitesi endotelial ve nöronal nitrik oksit sentaz (eNOS, nNOS) tarafından sağlanmaktadır (46), Subaraknoid kanamada CO₂'e reaktivitenin bozulmasının sebebi NO eksikliğidir ki bu da posthemorajik mikrovazospazmın ana sebebi olabilir (45). Kanamadan hemen sonra NO konsantrasyonu, eNOS aktivitesi ve NO-indüklenen vazodilatasyon yıkım ürünü olan siklik guanozin monofosfatın (cGMP) miktarı azalır (47, 48, 49). NO konsantrasyonu ve eNOS aktivitesinin azalması sonucu vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonu ve lökosit adhezyonu indüklenebilir. Deneysel SAK sonrası NO donörlerinin uygulanması sonucunda kontrakte olmuş serebral damarlarda dilatasyon ve eksitotoksistide azalma elde edilmiştir.

Serebral mikrodolaşımın azalmasına aynı zamanda İKB yükselmesi ve SPB azalması eşlik eder. Serebral perfüzyon basıncının düşmesi yaklaşık 10 dk devam ettiği için tek başına akut vazospazmın sebebi olamaz çünkü mikrodolaşım bozukluğu en az 30-60 dk devam eder. Deneysel SAK modellerinde kanama oluşturulan hemisferde mikrodolaşım bozukluğunun karşı hemisferden daha fazla olduğu gösterilmiştir (50). İntrakranial basıncın yükselmesi ve SPB azalması kanama sonrası kortikal iskeminin tek sebebi olsaydı mikrodolaşım bozukluğunun da simetrik şekilde düzelmesi gerekirdi. Aktif mikrovasküler kontraksiyonun akut iskeminin gelişmesinde rol oynadığı yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (51). SAK sonrası akut dönemde aktive olmuş trombosit ve mekanik hasara uğramış eritrositlerden potansiyel spazmogenler salınır ki bunlar da vazokonstriksiyona ve iskeminin artmasına neden olurlar (Şekil 2.4.3.). Deneysel SAK modellerinde subaraknoid mesafedeki kanın miktarı arttıkça anjiyografik olarak vazospazmın şiddetinin arttığı gösterilmiştir (52).



Şekil 2.4.3. Akut post-SAK iskemi ve vazospazmın kabul görmüş mekanizmaları. Kısaltmalar: SAH - SAK, ICP - intrakranial basınç, CPP - serebral perfüzyon basıncı, RBC - kırmızı kan hücreleri, OxyHb - oksihemoglobin, Hb - hemoglobin, NO - nitrik oksit, 5-HT - serotonin, TXA₂ - tromboksan A₂, PDGF - trombosit kökenli büyüme faktörü, cGMP - siklik guanozin monofosfat, 20-HETE - 20-hidroksieikozatetraenoik asit, ET-1 - endotelin-1 (51).

Filament perforasyon SAK modelinde kanamadan 10 dk sonra trombositlerin aktivasyonu Sehba ve ark. tarafından gösterilmiştir (53). Bu aynı zamanda post-SAK hastalarda da bildirilmiştir (54). Aktive olmuş trombositler tromboksan A₂ (TXA₂), serotonin, adozin trifosfat (ATP) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi güçlü vazokonstriktörler salgılar. Beyin omurilik sıvısı (BOS) ve plazmada bu mediatörlerin konsantrasyonunun arttığı hem deneysel çalışmalar hem de post-SAK hastalarda izlenmiştir (55, 56, 57). Bu mediatörlerin bazıları güçlü vazodilatatör olan NO'nin endotel hücrelerinden salınımını stimüle eder, böylece bu mediatörlerin vasküler düz kas hücreleri üzerine olan kendi eksitator etkilerini iki farklı mekanizmayla ortadan kaldırır: direkt olarak cGMP sentezini stimüle ederek (58, 59), indirekt olarak güçlü

vazokonstriktör olan endotelin-1 (ET-1) ve 20-hidroksieikozatetraenoik asitin (20-HETE) damar duvarındaki regülasyonunu aradan kaldırarak (60, 61, 62). SAK sonrası hemoglobinin NO'ü bağlaması sonucunda NO miktarında azalma bu inhibitör mekanizmanın aradan kalkmasına sebep olmaktadır (48, 63, 64). NO miktarında azalma taze pıhtı ve mekanik hasar görmüş eritrositlerle temas eden kan damarlarında SKA'da azalma ile sonuçlanan vazokonstriksiyona sebep olmaktadır. NO donörü olan S-nitrosoglutathion uygulanması ile akut iskeminin düzelmesi bu görüşü desteklemektedir (65). Benzer şekilde 20-HETE'nin sentezini inhibe ederek (62) ve ya selektif endotelin reseptör antagonisti uygulayarak akut vazospazm ve iskemi aradan kaldırılabilir (66). Akut iskemi sırasında plazma ve/veya BOS'daki ET-1 konsantrasyonundaki artışın diğer sebebi ise endotelial hücrelerde ET-1 üretiminin oksihemoglobin (OxyHb) tarafından direkt stimülasyonudur (67, 68). Subaraknoid kanama sonrası akut fazda ET-1 salınımının diğer stimülatörü vazopressindir. İntrakranial basıncın yükselmesi sırasında plazmadaki vazopressin konsantrasyonun arttığı bilinmektedir (69). Subaraknoid kanamanın akut fazında da vazopressinin plazma konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir (70).

Akut vazospazm/iskeminin patogeneğinde birçok faktör rol oynasa da NO regülasyonunun bozulmasının en önemli parametre olduğu düşünülmektedir.

2.4.5. Mikrotromboz

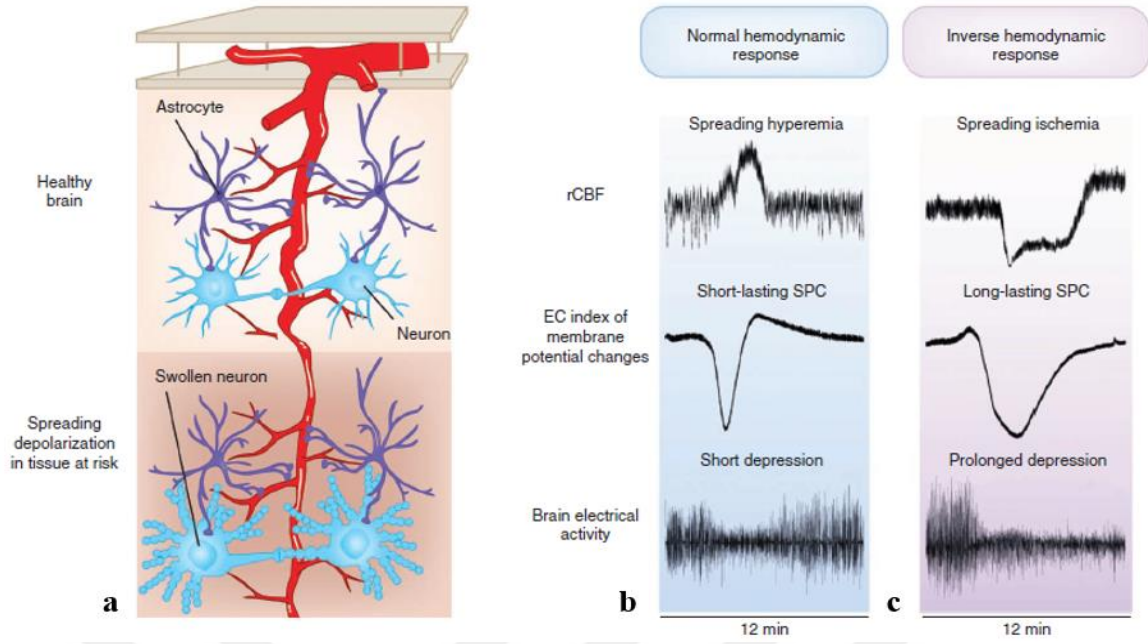
Vazokonstriksiyon dışında serebral mikrodamarların obstrüksiyonu da posthemorajik mikrosirkülasyon bozukluğuna sebep olabilir. Bunlardan biri de serebral mikrodamarlarda trombosit agregatları birikmesi sonucu oluşan mikrotrombozdur. Mikrotromboz oluşunun 10 ve 24. dakikalarda pik yaparak bifazik patern gösterdiği Sehba ve ark. (53) tarafından gösterilmiştir. Genellikle SAK'dan 48 saat sonra mikrotrombüslerin rezorbe olduğu bilinmektedir. Mikrotrombüsler sadece mikrovazospazma uğrayan pial arterlerde oluşur. Trombositlerin agregasyonu ve aktivasyonu sonucu sadece mekanik obstrüksiyon değil, aynı zamanda salgılanan mediatörlerin etkisi ile serebral mikrodamarlarda vazokonstriksiyon da oluşur; buna örnek koroner arterlerde tromboksanın etkisi ile vazospazm olduğu deneyler gösterilebilir (71, 72). Trombosit agregasyonu aynı zamanda endotelial hasara neden olarak kan-beyin bariyerini (KBB) bozabilir (73).

2.4.6. Kan-Beyin Bariyeri Hasarı

Subaraknoid kanama sonrası KBB bozulur. Bu durum SAK'dan en geç 3 gün sonra gelişen ve beyin su hacminde artışa neden olan vazojenik ödem ile sonuçlanır (74, 75). Yapılan deneysel çalışmalarda SAK'dan 3 saat sonra KBB'de hasar oluşabileceği gösterilmiştir. Kan-beyin bariyerinin bozulması global serebral perfüzyonun azalmasına, ödem sonrası mikrodamarların kompresyonuna ve global serebral iskemiye neden olmaktadır (76). Kan-beyin bariyerinin bozulmasının en önemli moleküler mekanizmalarından biri matriks metalloproteinazların (MMP)- özellikle MMP-9'un aktivasyonu sonucu vasküler bazal laminanın hasara uğramasıdır (77). Akuaporinlerin sentezinin artması (78), hipoksi ile indüklenen faktör 1 α , vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve mitojen aktive edici protein kinaz SAK sonrası oluşan KBB hasarının diğer nedenlerindedir (79).

2.4.7. Kortikal Yayılan Depolarizasyonlar

Kortikal yayılan depolarizasyonlar (KYD) serebral kortekste yayılan ve hızı 2-5 mm/dk olan depolarizasyon dalgalarıdır. Sağlıklı beyinde repolarize olan nöronların enerji ihtiyacını karşılayabilmek amacı ile KYD'lara reaktif hiperemi eşlik eder. Hasarlı beyinde ise bu hiperemik faz görülmez ve yayılan iskemi ile sonuçlanır. Subaraknoid kanama sonrası hastalarda KYD'lar kaydedilmiştir. Kanama sonrası mikrodamarlar etrafında hemoglobin varlığından (NO'ı tutarak ortamdan kaldırır) ve ya NOS inhibe olduğundan KYD'lara normalde beklenen kompensatuvar hiperemik yanıt gelişmeyip tam tersi yayılan iskemi oluştuğu düşünülmektedir. Böylece kompensatuvar hiperemi oluşmasını indükleyen NO'in serebral mikrodamarlarda fonksiyonunun bozulması SAK sonrası beyin hasarı gelişmesinin en önemli sebeplerinden biri olduğu düşünülmektedir (80, 81, 82, 83).



Şekil 2.4.4. İnsan beyninde yayılan depolarizasyonlara nörovasküler ünitenin normal (yayılan hiperemi) ve ters (yayılan iskemi) yanıtı (84). Nörovasküler ünite: nöron, astrosit, endotel, perisit ve vasküler düz kastan oluşmaktadır. KYD sonrası nöronlar şişer. Risk altında olan beyin dokusunda yayılan depolarizasyonlar vazokonstriksiyon ve iskemiye sebep olabilir (a). Yavaş potansiyel değişim (SPC) yayılan depolarizasyonun direkt ekstrasellüler (EC) elektrokortikografik göstergesidir (85). Fizyolojik koşullarda KYD sonrası normal nörovasküler cevap: kısa süreli depresyon sonrası vazodilatasyonla oluşan hiperemik yanıt (b); patolojik durumlarda: uzun süren depresyon sonrası vazokonstriksiyonla oluşan iskemik yanıt (86).

2.5. Subaraknoid Kanamada Tanı ve Klinik Özellikler

Subaraknoid kanamada başlangıç, gelişim ve seyir değişik şekillerde karşımıza çıkar. Anevrizmanın rüptüre olması dinlenme halinde olabildiği gibi stres, ıkınma, ağırlık kaldırma veya defekasyon esnasında da oluşabilir. Klinik tablonun ciddiyeti kanamanın miktarı, yeri ve yayılımı ile ilişkilidir. Rüptüre oluncaya kadar anevrizmaların yaklaşık %90'ı klinik bulgu vermez. Semptom veren anevrizmalar ise genellikle 0,5-1,5 cm çapında olanlardır. Çapı 5 mm'den küçük anevrizmaların rüptüre olması çok nadirdir. Dev anevrizmalarda (çapı > 2.5 cm) ayrıca kafa içi basınç artışı semptomları da eşlik edebilir.

Spontan SAK genellikle kusma, senkop, ense ağrısı (meningismus) ve fotofobi ile birlikte olan ani başlangıçlı şiddetli baş ağrısı ile kendini gösterir (87). Eğer bilinç kaybı varsa, hasta sonradan bilincini geri kazanabilir. Fokal kraniyal sinir defisitleri oluşabilir (örn. anevrizmal basıya bağlı, diplopi ve/veya pitoza neden olan 3. sinir felci). Baş ve boyunun hareketleri, ışık ve gürültü ağrının şiddetini arttırır. Bazen ağrı hastayı o denli rahatsız etmez, analjezikler ile geçiştirilir ve köken aranmaz, bazen de ağrı dışındaki bulgular örneğin, kusma, bilinç bulanıklığı, ateş ön planda bulunur. Bunlar kanamaya bağlı kimyasal menenjit sonucu ortaya çıkan bulgulardır. Bakteriyel menenjit ile ayrımı lomber ponksiyon (LP) ve BOS incelemesi ile yapılır. Ayrıca, lomber sinir köklerindeki kana bağlı irritasyon nedeni ile bel ağrısı da gelişebilir.

Nörolojik muayenede saptanan bulgular subaraknoid aralıktaki kanın miktarı ve kan birikiminin hızı ile ilişkilidir. Bir anevrizma rüptüründe arteriyel kanamanın oluşturacağı bulgular ile bir AVM'dan venöz sızıntı şeklindeki kanamanın oluşturacağı bulgular farklıdır. Ayrıca SAK sonrası beyin damarlarında oluşabilecek vazospazm da klinik seyri etkileyebilir.

Subaraknoid kanamanın majör semptomları aşağıdaki 5 başlık altında toplanabilir.

1. Baş ağrısı: En sık görülen semptomdur ve vakaların yaklaşık %97'sinde görülür. Yüksek basınç altındaki kanın subaraknoid aralığa hızla yayılması ile ani başlangıçlı ve şiddetli baş ağrısı (klasik tarif: "hayatımdaki en şiddetli baş ağrısı") ortaya çıkar. Başın herhangi bir bölgesinden başlayıp, kısa zamanda jeneralize olabileceği gibi fokal da kalabilir. Boyun fleksiyonu, baş hareketi, ses ve ışık uyaranları baş ağrısının artmasına sebep olabilir. Ayrıca, baş ağrısı kendiliğinden geçebilir ve hasta bu nedenle tıbbi yardım aramayabilir. Baş ağrısı ciddi ise veya bilinç düzeyinde gerileme ile birlikteyse hastaların çoğu tıbbi yardım için başvurur. Minör kanamalar nedeniyle baş ağrısı olan hastaların BT veya LP incelemelerinde kan görülür. Ancak, uyarıcı baş ağrıları SAK olmadan anevrizmal genişlemeye veya anevrizma duvarları ile sınırlı bir kanamaya bağlı olarak da görülebilir. Nöbetçi kanama/baş ağrısı olarak da adlandırılan bu uyarıcı baş ağrısı, SAK ile başvuran hastaların %30-60'ında görülür. Uyarıcı baş ağrısı genellikle ani başlangıçlı, şiddetli ve bir gün içinde geçen tarzdadır (88, 89).

2. Bilinç Bozukluğu: Hastaların bir kısmında baş ağrısını takiben kısa süreli bilinç kaybı olur. Bilinç kaybı ani olarak gelişip aynı düzeyde kalabilir, giderek düzelebilir veya daha da bozularak komaya kadar ilerleyebilir. Hastaların yaklaşık %30-40'ında hiçbir öykü

ve prodromal belirti olmaksızın birden koma ortaya çıkar. Aşağıdakilerin herhangi biri veya kombinasyonu nedeni ile SAK sonrası koma gelişebilir:

- Artmış intrakraniyal basınç
- Parankim içi kanama nedeni ile beyin dokusunda hasar (aynı zamanda İKB artışına katkıda bulunabilir)
- Hidrosefali
- Diffüz iskemi (İKB artışına ikincil oluşabilir)
- Nöbet
- Azalmış kardiyak çıkışa bağlı düşük kan akımı (azalmış SKA)

3. Meningeal İritasyon Bulguları: SAK sonrası subaraknoid mesafedeki kanın etkisi ile birkaç saat içinde meningeal iritasyon bulguları gelişir. Ense sertliği (özellikle fleksiyonda) sıklıkla 6-24 saat içinde oluşur. Hastalarda Kernig bulgusu (diz ve kalça 90 derece fleksiyonda iken diz ektansiyona alındığında hamstring kaslarında ağrı oluşuyor ise test pozitiftir) veya Brudzinski bulgusu (boyun fleksiyonu ile birlikte istemsiz kalça fleksiyonu gerçekleşiyorsa test pozitiftir) saptanabilir. Hastada iritabilite, hiperakuzi, hiperestezi ve fotofobi gibi subjektif sensoryel değişikliklerde olabilir. Fotofobi nedeniyle hastalar yataklarında gözlerini kapatır ve meninkslerdeki gerilimi azaltmak için dizlerini fleksiyona getirerek yatmayı tercih ederler.

4. Sistemik Bulgular: 24-36 saat içinde subaraknoid mesafedeki kana bağlı meningeal inflamasyonun etkisi ile hastaların ateşi yükselir. Kusma, terleme, titreme, kalp atım hızındaki değişiklikler (taşikardi, bradikardi, aritmiler), hipotalamik disfonksiyona bağlıdır. Şiddetli hipotalamik disfonksiyonda gastrointestinal kanama ve idrar retansiyonu olabilir. Ağrı ve hipotalamik disfonksiyon taşikardiye neden olurken İKB artışı bradikardiye yol açabilir. Hastalarda geçici arteriyel hipertansiyon gelişebilir. Ayrıca hiperglisemi, EKG değişiklikleri (akut miyokard enfarktüsü bulgularına benzer), glikozüri ve albüminüri bu semptomlara eşlik edebilirler.

5. Nörolojik Bulgular: Kanama yalnızca subaraknoid aralığa sınırlı ise fokal nörolojik bulgular hemen hemen yok sayılacak kadar az görülür. Parezi, disfazi, epilepsi nöbeti, kranial sinir tutulumu gibi bulgular değişik nedenlere bağlı olarak ortaya çıkar. Bu nedenler aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Kanın serebral parankime yayılımı
- Masif SAK ile beynin kompresyonu

- Anevrizma veya trombus ile bir arterin tıkanması
- Vazospazma bağlı serebral enfarktın gelişmesi
- Serebral ödem (28).

SAK sonrası ortaya çıkan bazı nörolojik bulgular anevrizmanın lokalizasyonu ile ilgili bilgi sağlayabilir. Örneğin 3. kranial sinir paralizi PComA (posterior kominikan arter) çıkışında veya SCA'de (superior serebellar arter) bir anevrizmayı, alt ekstremitelerde geçici pareziler, akinetik mutizm ve kişilik değişiklikleri AComA (anterior kominikan arter) ya da ACA'de (ön serebral arter) bir anevrizmayı, hemiparezi ya da afazi gibi bulgular MCA (orta serebral arter) ile ilgili bir anevrizmayı, alt kranial sinir paralizi ve suboksipital baş ağrısı ise posterior dolaşım sistemi anevrizmalarındaki rüptürü düşündürür (90).

SAK ile ilişkili olarak üç tip oküler kanama görülebilir. Subaraknoid kanamalı hastaların yaklaşık %20–40'ında tek başına ya da birlikte görülebilirler (91).

- 1) Subhiyaloid (preretinal) kanama: Olguların %11–33'ünde fundoskopik muayene ile optik disk etrafında, alttaki retinal damarları tıkayan, parlak kırmızı kan şeklinde görülebilir. Yüksek mortalite riski ile ilişkili olabilir (92).
- 2) Retinal kanama: Foveayı çevreleyebilir.
- 3) Vitröz humor içindeki kanama (Terson sendromu): Anevrizmal SAK vakalarının %4–27'sinde oluşur. Genellikle iki taraflıdır. Artmış İKB'nin diğer nedenleri ile birlikte de görülebilir (örn. rüptüre AVM). Fundoskopide vitröz opasiteler görülür. Genellikle ilk muayenede gözden kaçırılır. Görüldüğünde, genellikle ilk muayenede saptanmaktadır. Ancak SAK sonrası 12. güne kadar gelişebilir ve tekrar kanama ile ilişkili olabilir. Vitröz kanaması olan hastalarda mortalite oranı olmayanlara göre daha yüksek olabilir (93, 94, 95).

Subaraknoid kanamaya diğer bir dizi patolojiler eşlik edebilir, bunlar arasında; intraserebral kanama, intraventricüler kanama, subdural hematoma, serebral enfarkt ve kafa içi basınç artışı sayılabilir (96).

Bu bulguların dışında SAK sonrası hidrosefaliye bağlı olarak gelişebilecek yürümede bozukluk, demans ve üriner inkontinans gibi semptomları da unutmamak gerekir.

SAK şüphesi olan bir hastada izlenmesi gereken algoritma Şekil 2.5.1.'de özetlenmiştir.

- SAK tanısını koyan testler
 - ✓ Kontrastsız, yüksek çözünürlüklü Beyin BT
 - ✓ Eğer BT negatif ise: şüphelenilen vakalarda LP
- Doğrulanmış vakalarda veya yüksek şüphe uyandıran vakalarda serebral anjiyografi
- Eğer anjiyografi negatif ise: nedeni bilinmeyen SAK (anjiyografi-negatif SAK)

Subaraknoid kanamanın ilk 48 saati içinde çekilen, kaliteli, kontrastsız, yüksek çözünürlüklü BT vakaların yaklaşık %95'inde SAK varlığını teyit eder. Kan subaraknoid mesafelerde yüksek dansitede (beyaz) görünür. BT görüntüleme ile aynı zamanda aşağıdakiler de değerlendirilir:

- ✓ Ventrikül boyutları: olguların %21'inde akut olarak hidrosefali oluşur (97).
- ✓ Enfarkt
- ✓ Hematom: kitle etkisine neden olan intraserebral hematom veya büyük boyuttaki subdural kanın acilen boşaltılması gerekebilir.
- ✓ Subaraknoid sistern ve fissürlerdeki kanın miktarı: vazospazm için önemli bir risk faktörüdür, pretrunkal kanamayı gösterebilir.
- ✓ Birden fazla anevrizma varlığında BT ile hangi anevrizmanın kanadığı tespit edebilir. Vakaların %70'inde anevrizma yerleşim yerinin tahmin edilmesini sağlar (98)

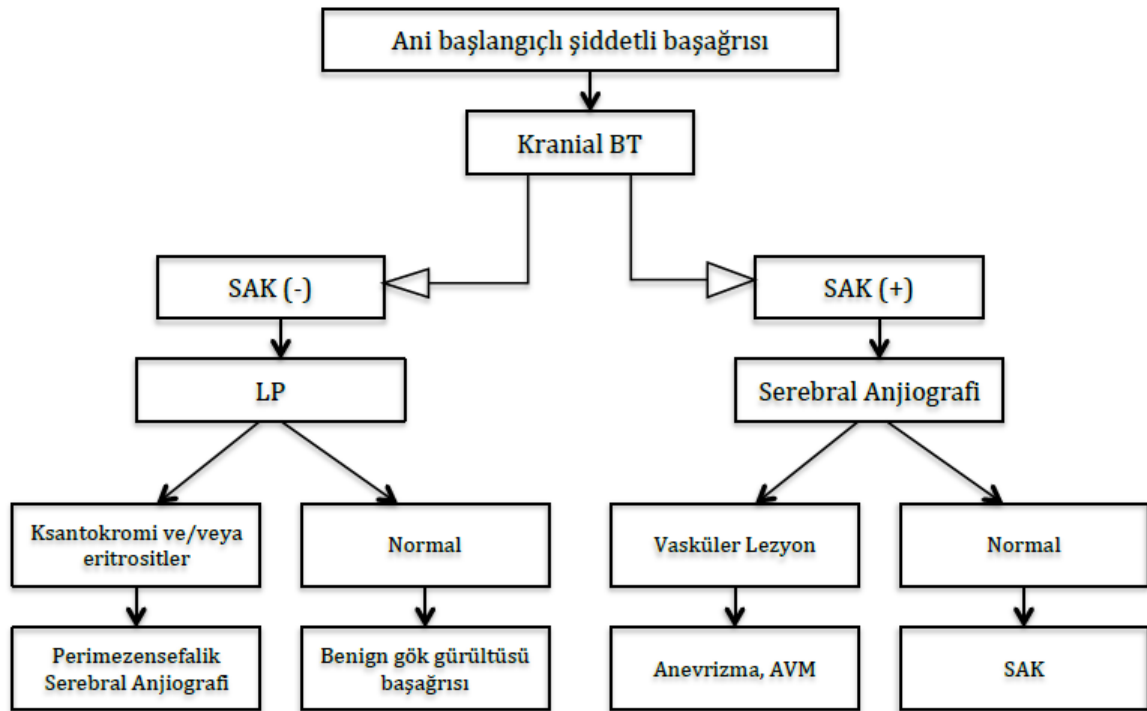
Lomber ponksiyon: SAK için en duyarlı testtir, fakat yanlış pozitif sonuç da verebilir (travmatik SAK). BOS basıncının azalması anevrizma duvarındaki transmural basıncı arttırarak tekrar kanamayı hızlandırabilir veya kanamaya sebep olabilir. Bu nedenle LP ince bir iğne ile yapılmalı ve az miktarda BOS alınmalıdır (99).

Dikkat edilmesi gereken LP bulguları:

- 1) Açılış basıncı: SAK'ta yükselir.
- 2) Görünüm:
 - Pıhtılaşmayan ve takip eden tüplerde berraklaşmayan kanlı sıvı
 - Ksantokromi: Eritrosit yıkımına bağlı olarak ortaya çıkan HEM pigmenti nedeni ile pembe/sarı renkteki BOS'tur. Travmatik LP'yi SAK'tan ayırmak için en güvenilir yöntemdir. Genellikle SAK'tan sonraki ilk 2-4 saat içinde görülmez. Kanamadan 12 saat sonra neredeyse %100 oranında görülür ve %70 hastada 3 hafta, %40 hastada da ise 4 hafta boyunca görülmeye devam eder. Spektrofotometre, inspeksiyondan daha doğru sonuç verir (100).

- 3) Hücre sayımı: Eritrosit sayısı $>100,000$ RBC/mm³. Eritrosit sayısı ilk tüp ile son tüp arasında karşılaştırılmalı, belirgin bir azalma olmamalıdır.
- 4) Protein: Kan yıkım ürünlerine bağlı olarak artar.
- 5) Glüköz: normal veya azalmış olur (kan hücreleri zamanla bir miktar glüközü metabolize edebilirler).

Kranial MRG: İlk 24–48 saat içindeki akut dönemde ve özellikle ince tabakalar oluşturan kanamalarda duyarlı değildir (101). Yaklaşık 4–7 gün sonra daha iyi sonuç verir (10–20 gün arası subakut ve geç dönemdeki SAK’da en iyi sonuç alınır). Birden fazla anevrizma varlığında hangisinin kanadığını tespit etmede ve geç dönemdeki SAK tespitinde yardımcı olabilir (FLAIR görüntülerin duyarlılığı BT görüntülemeye göre daha iyi olabilir).



Şekil 2.5.1. Ani başlangıçlı ve şiddetli baş ağrısına tanısal yaklaşım

Araştırmacılar optimal tarama protokollerini belirledikçe ve cihazların yazılım ve teknik özellikleri geliştikçe **MR anjiyografi** (MRA) deneyimleri de artmaktadır. Her ne

kadar %95 gibi oranlar bildirilmiş olsa da >3 mm serebral anevrizmaları saptamadaki duyarlılığı (intra-arteriyal dijital subtraksiyon anjiografisine kıyasla) ≈%86 civarındadır. MRA'de anevrizmaların saptanabilmesini etkileyen bazı faktörler boyut, anevrizma içindeki kan akımının miktarı veya manyetik alana göre yönü, tromboz ve kalsifikasyonun varlığı olarak sayılabilir. Günümüzde MRA birinci derece akrabalarında serebral anevrizması olan yüksek riskli hastalar için bir tarama testi olarak faydalı olabilir (102, 103).

BT anjiyografi (BTA): 2,2 mm'ye kadar olan anevrizmaları tespit etmede %95 duyarlılık ve %83 özgüllük göstermektedir. BTA üç boyutlu bir görüntü sunar ve kanamaya sebep olan anevrizmanın etraf kemik yapılarla olan ilişkisini gösterir (104).

Serebral anjiyografi: Serebral anevrizmaları değerlendirmek için "altın standart" olarak kabul edilen bir yöntemdir. Yaklaşık %80–85 vakada kaynağı (genellikle anevrizma) gösterir (geri kalanlar "sebebi bilinmeyen SAK" olarak adlandırılır). Radyolojik vazospazm olup olmadığını gösterir. Serebral anjiyografide genel prensipler:

- Hastanın kliniğindeki kötüleşme ve tetkikin sonlandırılma ihtimaline karşı en çok şüphelenilen damar önce görüntülenmelidir.
- Ek anevrizma varlığını ve kollateral dolaşımı değerlendirmek için dört damar görüntülemesi tamamlanmalıdır.
- Bir anevrizma bulunursa veya anevrizma varlığından şüphelenilirse, anevrizmanın boynunu ve oryantasyonunu belirlemek için ek görüntüler alınmalıdır.
- Bir anevrizma bulunamadığında anjiyografinin negatif olarak kabul edilebilmesi için:
 - ✓ Her iki posterior inferior serebellar arter (PICA) çıkışı görüntülenmeli: Anevrizmaların %1-2'si PICA çıkışında bulunur. Eğer karşı vertebral arterde (VA) yeterli geri akım varsa, her iki PICA tek VA aracılığı ile görüntülenebilir. Bazen kontralateral VA'nın PICA'ye geri akımından daha fazlasını görmek gerekir.
 - ✓ ACoA üzerinden kontrast uygulanmalı: Her iki ACA tek taraftan doluyorsa, genellikle yeterlidir. Karşı taraf karotid artere basılarak bir ön-arka görüntüleme yapmak (öncelikle basılacak karotid arterde plak

olmadığından emin olunmalı) ya da ACoA'den akımı kolaylaştırmak için daha hızlı akım kullanmak gerekebilir.

2.6. Subaraknoid Kanamanın evrelendirilmesi

Subaraknoid kanamada hastanın klinik durumu prognozun değerlendirmesinde ve tedavinin planlanmasında büyük rol oynar. Bu nedenle hastaların klinik tablolarının derecelendirilmesi amacı ile değişik sınıflamalar yapılmıştır. Burada, geniş kabul görmüş Hunt ve Hess sınıflaması (Tablo 2.6.1.), WFNS (Dünya Beyin Cerrahları Federasyonu) SAK'lı hasta değerlendirme skalası (Tablo 2.6.2.), SAK sonrası BT'de kanama miktarını ölçen Fisher sınıflaması (Tablo 2.6.3.) sunulmuştur.

Tablo 2.6.1 Hunt – Hess Skalası

Derece	Tanım
1.	Asemptomatik, hafif baş ağrısı, ense sertliği
2.	Orta – şiddetli baş ağrısı, ense sertliği, kraniyal sinir felci dışında nörolojik bulgu yok.
3.	Uyuklama, konfüzyon ve orta derecede nörolojik bulgu
4.	Stupor, orta – ciddi hemiparezi
5.	Derin koma ve deserebrasyon postürü

Evre 1 ve 2'ye uyan vakalar anevrizma tespit edilir edilmez opere edilmelidir. Evre ≥ 3 vakalar evre 2 veya 1'e uyacak şekilde düzeline kadar tıbbi olarak yönetilir. Hayatı tehdit eden hematoma veya birden fazla kanamanın varlığında evreye bakılmaksızın hastalar opere edilirler (105).

Tablo 2.6.2. WFNS (Dünya Beyin Cerrahları Federasyonu), SAK'lı hasta değerlendirme skalası. *Kraniyal sinir felçleri fokal nörolojik bulguya dahil değildir.

WFNS “derece”	Glasgow Koma Skalası (GKS)
I	15
II	14-13 (fokal nörolojik bulgu yok)*
III	14-13 (fokal nörolojik bulgu var)
IV	12-7
V	6-3

Baş ağrısı, ense sertliği ve ciddi fokal nörolojik defisit gibi faktörlerin önemi hakkındaki verilerin yetersizliği nedeni ile Dünya Beyin Cerrahları Federasyonu (WFNS) tarafından WFNS Skalası geliştirilmiştir. Bu sistemde bilinç seviyesini belirlemek için GKS'yi; derece 2 ile 3 arasında ayırım yapmak için ise ciddi fokal nörolojik defisit varlığını kullanmaktadır (106).

Tablo 2.6.3. SAK'ta kraniyal BT'de kanın miktarı ve lokalizasyonuna göre Fisher sınıflandırılması

Evre 1	Saptanabilen subaraknoid kan yok
Evre 2	1 mm kalınlıktan daha ince yaygın ya da düşey tabakalar
Evre 3	Lokalize pıhtı ve/ya da > 1 mm düşey tabaka
Evre 4	İntraserebral veya intraventriküler kan

Subaraknoid kanama sonrası ilk üç gün içerisinde çekilen BT ile kanama %90 oranında saptanabilir. Kanamanın BT'deki boyutu Fisher sınıflandırması ile değerlendirilir. Burada kanama miktarı ile klinik veya anjiyografik olarak vazospasm arasında bir ilişki kurulabilir (107).

2.7. Subaraknoid Kanamanın Tedavisi

Subaraknoid kanama geçirmiş hastaların tedavisi medikal müdahaleler ve cerrahi girişimlerini içerir ve bu ikisi birbiriyle bağlantılıdır. Günümüzde cerrahi mortalite %5'e kadar inmiştir. Bu yüzden klinik durumu uygun olan anevrizmalı hastalar için doğru zamanda yapılan cerrahi girişim hastalığın tedavisi için en iyi seçenektir. Ancak cerrahi girişime kadar geçen sürede kafa içi basıncını düşürmek, yeni kanamayı önlemek, vazospazmın etkilerini azaltmak için bazı özel durumlarda medikal tedavi öne çıkmaktadır. Bu durumlar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Serebral anjiyografide anevrizma veya başka vasküler bir patolojinin saptanmamış olması
- Anevrizma lokalizasyonunun cerrahi olarak ulaşabilir olmaması
- Hangisinin kanadığı belirlenemeyen multipl anevrizma olguları
- Hipertansiyon, kardiyopati gibi ciddi sistemik sorunların varlığı
- Cerrahi tedavinin hasta veya yakınlarınca kabul edilmemesi

2.7.1. Medikal tedavi

Subaraknoid kanamalı hastanın ilk müdahalesinde havayolu ve yeterli solunumun kontrol edilmesi ve dolaşım desteğinin sağlanmasına yönelik temel ilk yardım koşulları geçerlidir. Subaraknoid kanama sonrası kardiyak arrest gelişmesi genellikle kötü prognostik belirteç olarak kabul edilmesine rağmen son yıllarda Pothiawala ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada başarılı bir resüsitasyon ve yoğun tedavi ile iyi sonuçlar alınabileceğini göstermişlerdir (108). Bu da, SAK'ın erken döneminde, iyi resüsitasyon ve yoğun destek tedavisinin altını bir kez daha çizmektedir. Tanı konulduktan sonra, koşullar da elverişli olduğu takdirde, hastanın bir nöroşirürji/nöroloji yoğun bakım ünitesine nakli uygundur.

Analjezik tedavi çoğunlukla gereklidir ve bunun için narkotik ajanlar veya diğer analjezikler verilebilir. Hiperglisemi ve hiperterminin prognozu kötü yönde etkilediği gösterilmiştir ve mutlaka kontrol altında tutulmaları gerekir. Hastayı derin ven trombozundan korumak için aralıklı basınç uygulayan kompresyon sistemlerinden yararlanılmalı, en azından anti-tromboembolik çorapların giydirilmesi kesinlikle ihmal edilmemelidir. Anevrizma tedavi edildikten sonra bu tedaviye subkütan verilen düşük

molekül ağırlıklı heparinler de eklenebilir. Subaraknoid kanama sonrası erken dönemde antifibrinolitik ajanların kullanımının yeniden kanamayı önlediği bilirse de uzun süreli uygulamanın iskemik komplikasyonlar nedeniyle genel prognozu değiştirmedeği bilinmektedir. Kalsiyum kanal blokörü olarak kullanılan nimodipin profilaktik olarak uzun zamandır vazospazm tedavisinde kullanılmaktadır. Subaraknoid kanama sonrası oluşan vazospazmı azalttığına dair kesin veriler olmasa da (109), randomize çalışmaların meta-analizi, nimodipin kullanılan hastalarda nörolojik hasar ve serebral enfarkt oranının daha az olduğunu göstermiştir (110).

Vazospazmın medikal tedavisinde uzun zamandır kullanılan Triple “H” tedavisi hiperdinamik tedavi olarak da bilinir ve hipertansiyon, hipervoleminin ve hemodilüsyonun birlikte uygulanmasıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar hipertansiyonun, hipervolemi ve hemodilüsyona göre daha etkili olduğunu göstermiştir. Anevrizmal SAK olan hastaların önemli bir kısmı kardiyolojik patolojileri olan hastalardır. Bu durum Triple “H” tedavisinin kullanımını sınırlamaktadır (111). Güvenliği sağlanmamış (kliplenmemiş) bir anevrizma varlığında, nazik bir şekilde yapılan hacim genişletmesi, hemodilüsyon ve orta dereceli tansiyon yüksekliği vazospazm ve serebral tuz kaybı sendromlarının yan etkilerini azaltmaya yardımcı olabilir (112). Ancak tekrar kanama riski nedeni ile aşırı hipertansiyondan kaçınılmalıdır. Kliplenmiş anevrizma varlığında hiperdinamik tedavi ile sağlanan agresif hacim genişlemesi kullanılmaktadır.

İdeal kan basıncı değeri tartışmalı olup hastanın olay öncesindeki bazal tansiyon değerleri dikkate alınmalıdır. Manşon ile yaklaşık 120–150 civarındaki sistolik kan basıncı idealdir. Kan basıncı kontrolü düzenli değilse bir arteriyel yol ile birlikte labetalol kullanılabilir. İskemiye arttırabileceği için hipotansiyondan kaçınılmalıdır. Uzun etkili ilaçlar (örn. Kaptopril gibi anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri) devamlı tedavi ihtiyacı olan hastalara başlanmalıdır. Subaraknoid kanama öncesinde normotansif olup SAK sonrasında kolaylıkla kontrol edilebilen hipertansif olan hastalarda ihtiyaç duyuldukça bir beta blokör (örn. labetalol) ile birlikte kaptopril kullanılabilir.

2.7.2. Cerrahi tedavi

Anevrizmal SAK sonrası mortalite ve morbidite başlıca, ilk kanamanın etkilerine, yeniden kanamaya ve vazospazma bağlı olduğu için tedavideki ilk amaç, hastanın genel

durumu izin verdiği takdirde anevrizmanın dolaşım dışı bırakılarak yeniden kanamanın önlenmesi ve serebral vazospazm ile daha yoğun mücadele edilebilmesidir.

Bir anevrizma için en iyi tedavi şekli hastanın durumuna, anevrizmanın anatomisine, cerrahın yeteneğine bağlıdır ve hastalığın doğal hikayesi göz önüne alınarak seçilmelidir. Tedavi endikasyonu bulunduğu, birçok kanamış anevrizma için anevrizma boynunda yapılan cerrahi “klipleme” ile anevrizmanın dolaşımdan çıkartılması en uygun tedavi olarak kabul görmektedir. Kanamamış anevrizmalar için, cerrahi tedavinin amacı, normal damarlara zarar vermeden anevrizma boynu etrafına klip yerleştirerek onu dolaşımdan çıkartmaktır. Anevrizmanın doğası veya hastanın durumu nedeni ile anevrizma kliplenemediğinde aşağıdaki durumlar unutulmamalıdır. Tedavi seçeneği belirlenirken anevrizmaların doğal hikayesi de dikkate alınmalıdır. Bu temel olarak aşağıdaki bilgilerle ilişkilidir:

1. Subaraknoid mesafeye kanama riski:

- Kanamış anevrizmalar için: Bu tekrar kanama riskidir
- Kanamamış anevrizmalar için: En iyi koşullarda bile, cerrahi olsun olmasın, SAK sonrası sonuçlar kötüdür. Hastaların yaklaşık %65’i ilk SAK sonrası ölmektedir. Anevrizma kanaması sonrası nörolojik defisiti olmayan hastaların bile sadece %46’sı tam olarak iyileşmekte ve sadece %44’ü eski işlerine geri dönebilmektedir. Tesadüfi anevrizmaların toplumdaki hesaplanan prevalansı %5-10’dur.
- Kavernöz karotid arter anevrizmaları için: Bu risk çok düşüktür.

2. Bir anevrizmanın kendiliğinden (spontan) tromboze olması nadir görülen bir durumdur (*otopsi* serilerinde %9-13) (113, 114, 115). Ancak tekrar ortaya çıkabilirler ve yıllar sonra geç dönemde kanama görülebilir (116, 117).

Anevrizmalar için cerrahi tedavi:

- 1) Anevrizma boynuna klip yerleştirilmesi: “Altın standart” olarak kabul edilmektedir
- 2) Anevrizma etrafının sarılması (wrapping): Her ne kadar bu hiçbir zaman cerrahinin amacı olmasa da başka bir şey yapılamayacak durumlarda kullanılabilir (örn. fuziform baziler arter anevrizması, domdan dal veren anevrizma veya boynu kavernöz sinüs içinde olan anevrizmalarda). Wrapping aşağıda verilen yöntemlerle yapılabilir:

- Kas ile: Anevrizma cerrahisi için kullanılan ilk yöntem (hasta tekrar kanama nedeniyle ölmüştür)
- Pamuk veya kumaş ile: Gillingham tarafından yaygın olarak kullanılmıştır. 60 hastanın analizi %8,5'inin <6 ayda tekrar kanadığını ve yıllık tekrar kanama riskinin %1,5 olduğunu göstermiştir (anevrizmaların doğal hikayesine benzer)
- Plastik reçine veya başka bir polimer ile: Kas veya kumaştan biraz daha iyi. Uzun takip süreli bir çalışmada ilk ayda tekrar kanamaya karşı koruyucu etkisi olmadığı ancak daha sonraki kanama riskinin doğal hikayeden biraz daha düşük olduğu bulunmuştur. Diğer çalışmalar anevrizmaların doğal seyrinden farklı olmadığını göstermektedir (118).

2.7.3. Doğrudan anevrizmaları hedef almayan tedaviler

Buradaki umut anevrizmanın kanamayacağı ve tromboza gideceğidir.

- Kabul sırasında başlatılan tedaviye devam edilmesi: Örn. HT kontrolü, kalsiyum kanal blokörlerinin verilmesi, gaita yumuşatıcıları, bir hafta yatak istirahati vs.
- Genellikle kullanılmayan tedavi seçenekleri:
 - ✓ Antifibrinolitik tedavi (örn. ε-aminokaproik asit (EACA)): Tekrar kanamayı azaltır ancak arteriyel vazospazm ve hidrosefali insidansını artırır (119).
 - ✓ LP'ler: Tarihsel bir tedavi, anevrizma kanama riskini arttırabilir (120).

2.7.4. Endovasküler ve diğer “cerrahi dışı” teknikler

1. Tuzaklama (trapping): Etkili tedavi, cerrahi olarak (ligasyon veya klip ile tıkama), balon yerleştirerek veya bunların kombinasyonu ile distal ve proksimal arteriyel tıkamayı gerektirir (121). Tıkanmış segmentin distalinde kan akımını sağlamak üzere bypass teknikleri de (örn. ECA-ICA) kullanılabilir (122).
2. Proksimal ligasyon (Hunterian ligasyon): Dev anevrizmalar için faydalıdır (123, 124). Dev olmayan anevrizmalar için sağladığı fayda düşüktür ve tabloya

tromboembolizm riskini ekler (bu risk ICA'nın değil de CCA'in tıkanması ile giderilebilir). Bu tedavi şekli karşı dolaşımında anevrizma gelişme riskini arttırabilir.

3. Anevrizmanın tromboze edilmesi:
 - a. Guglielmi elektrolitik olarak ayrılabilir koiller ile koilleme.
 - b. Balon embolizasyon: Girişimsel nöroradyolojik teknik balonun anevrizma içine yerleştirilmesi. Riskler; olası yeni anevrizma gelişme ihtimali, balonun şişirilmesi sırasında kanama, trombus embolizasyonu, balonun sönməsi. Bu teknik koil embolizasyon lehine geri plana itilmiştir (125).

2.8. Serebral Mikrosirkülasyon ve Otoregülasyon

Serebral mikrodamarlar, penetran damarların beyin parankimi dalları olup lokal mikrosirkülasyonun kontrolünü sağlamaktadırlar. Büyük damarların en dış tabakasını oluşturan adventisiya tabakası bu mikrodamarlarda bulunmamaktadır. Bu yüzden serebral mikrodamarların duvarı esas olarak endotelial ve düz kas tabakalarından oluşmaktadır (126).

Damarın toplam kesit çapı ve eş merkezli olarak dizilen vasüler düz kas tabaka sayısı mikrodamarların sınıflandırılması için morfolojik bir temel oluşturuyor:

1. Kassal arterioller (çapı: 30-100 mm; düz kas tabaka sayısı: 2-3)
2. Terminal arterioller (çapı: 10-30 mm; tek ve kesintisiz bir düz kas tabakası)
3. Prekapiller arterioller (çapı: 8-10 mm; aralıklı bir düz kas tabakası)
4. Kapillerler (5-8 mm; düz kas hücreleri olmaksızın sadece dağınık bir şekilde olan perisitler) (127, 128)

Komşu düz kas hücreleri genişliği 2-3 nm olan ara bağlantılar yoluyla birbirleri ile elektriksel bağlantı kurup vazoreaktivitenin ana kontraktıl komponentini oluştururlar.

Perisitler mikrodamarların diğer kontraktıl komponenti olup düz kas hücreleri gibi aktin, desmin ve endotelin reseptörlerini ekprese eder. Her ne kadar da perisitlerin kapiller düzeyde vazoreaktivite kontrolünde vasküler düz kas hücrelerine benzer görev yapır

yapmadığı tartışma konusu olsa da son zamanlarda yapılan morfolojik ve immünitokimyasal çalışmalar perisitlerin serebral mikrosirkülasyonu regüle etme özelliğine sahip olduğunu ortaya koymuştur (129).

Beyin, metabolik ihtiyacı yüksek olan bir organdır. İnsan beyni metabolik ihtiyacını karşılayacak olan enerjiyi diğer organlardan farklı olarak sadece glikozdan elde eder. Glikoz kullanımı 100 gram beyin için dakikada 4,5 ile 7 miligram arasında değişir. Beynin günlük glikoz gereksinimi 125 gramdır. Glikoz beyinde anaerob ve aerobik yol ile metabolize olur. Anaerob glikoliz ile ortaya çıkan enerji daha küçüktür. Bu nedenle laktik asit hücre içi ve dışında birikir ve hücre içi kalsiyum miktarı artar. Sonuç olarak kendi oksijen ve glikoz rezervi düşük olan beyin dokusu, işlevsel ve yapısal bütünlüğünü sürdürebilmek için yeterli oksijen ve glikoz içeren sürekli kan akımına muhtaçtır.

Beyin için gerekli sabit oksijen ve glikoz, kardiyak debinin %15'ini oluşturan ve dakikada 800 ml olan kan akımından karşılanır. Bu değerlere karşılık gelen SKA ihtiyacı 100 gram beyin için dakikada 40-60 mililitredir. İstirahat halinde SKA, dokunun metabolik ihtiyacını karşılayacak düzeydedir. Metabolik ihtiyacı fazla olan gri maddede bölgesel SKA metabolik ihtiyacı daha az olan ak maddeden fazladır. Serebral korteksin oksijen kullanımı 6ml/100g/dk olmasına karşılık ak maddenin bir dakikadaki oksijen kullanımı 100 gram beyin için iki mililitredir. Normal şartlarda beyindeki kan akımını kafa tabanındaki SPB ile serebrovasküler direnç (SVD) belirler. Serebrovasküler direnç kan viskozitesi ve damar çapından etkilenir.

$$SKA = SPB/SVD$$

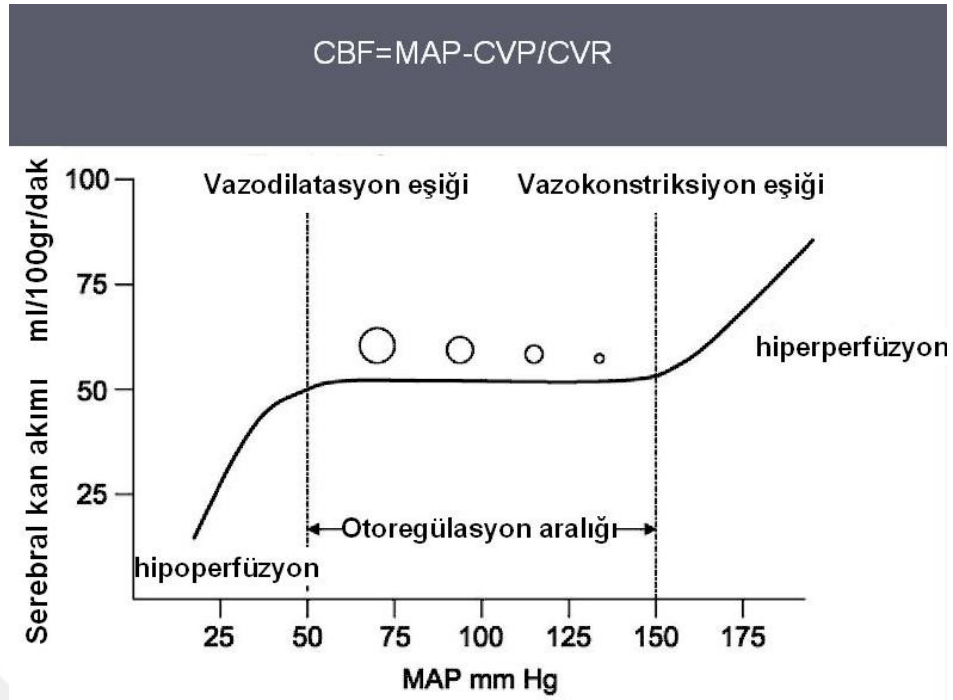
Ortalama SPB, serebral dolaşımdaki ortalama arteryel kan basıncı (OAKB) ile İKB arasındaki farka eşittir. Bu değer normalde 90 mmHg düzeyindedir.

$$SPB = OAKB - İKB$$

Ortalama arter basıncı, diyastolik kan basıncına nabız basıncının (sistolik basınç-diyastolik basınç) üçte biri eklenerek hesaplanır (130).

$$OAKB = diyastolik KB + nabız basıncı/3$$

Serebral perfüzyon basıncı normal olan istirahat durumundaki beyinde, beyin kan akımı, dokunun metabolik ihtiyacını karşılayacak düzeydedir. Bu durumda, farklı beyin bölgelerinde, kandan elde edilen oksijen ve glikoz değerleri genellikle eşittir. İstemli hareket ile motor korteks uyarıldığında bu bölgenin metabolik ihtiyacı artar. Beyin kan akımı bölgesel olarak artarak ihtiyacı karşılar. Beyin kan akımı çeşitli nöronal ve kimyasal olaylardan etkilenir. Örneğin kandaki O₂ basıncı, CO₂ basıncı beyin kan akımını etkilediği gibi, kan akımı kafa içi basınç değişikliklerinden de etkilenir. Fizyolojik şartlarda, yukarıdaki denklemlerde görüldüğü gibi beyin kan akımını sabit tutan mekanizmalar vardır. Ortalama arteryel basınç azaldığında veya KİB arttığında SPB azalır. Bununla birlikte prekapiler damarların çapındaki genişleme ile SVD düşer ve SKA'mı sabit kalır. Serebral perfüzyon basıncı arttığında damar çapında daralma gerçekleşir, direnç artar ve SKA'mı sabit kalır. Sistemik ortalama arter basıncı 60 ile 160 mmHg değerleri arasında kaldığı sürece beyin kan akımının sabit kalmasını sağlayan bu mekanizma otopregülasyon olarak adlandırılır (Şekil 2.8.1.) (130).



Şekil 2.8.1. Serebral otonöregülasyon. Serebral perfüzyon basıncı düştükçe otonöregülasyon kapasitesi aşıldıkça vazodilatasyon beyin kan akımını korur. CBF-serebral kan akımı, MAP-ortalama arter kan basıncı, CVP-santral venöz basıncı, CVR-serebral vasküler direnç.

Ortalama arteryel kan basıncı 60 mmHg'nın altına düştüğünde prekapiler damarların genişleme kapasitesi aşıılır. Damarlar daha fazla genişleyemez ve sonunda SPB ve buna bağlı SKA da azalır. Ortalama arteryel kan basıncı 160 mmHg üzerine çıktığında ise damarlardaki daralma en üst düzeyine ulaşır. Damar çapı daha fazla daralamaz ve hiperemi, vazojenik ödem gelişir. İntrakranial basıncı artar ve hipertansif ensefalopati bulguları ortaya çıkar. Her iki durumda da artık otonöregülasyon bozulmuş ve SKA kan basıncına bağımlı hale gelmiştir. Uzun süredir hipertansiyonu olan insanlarda otonöregülasyon değerlerinin alt ve üst sınırları da yükselir. Yani otonöregülasyon eğrisi yukarıya kayar. Hipertansiyonu olan kişilerde yüksek kan basıncı değerlerine tolerans artarken hipotansiyona da duyarlılık artar. İskemik inme, subaraknoid kanama, kafa travması, kanda parsiyel karbondioksit basıncının artması gibi serebral otonöregülasyonun bozulduğu durumlarda da SKA, perfüzyon basıncındaki değişikliklere bağımlı duruma gelir.

2.8.1. Serebral Otoregülasyona Etki Eden Faktörler

Hem hipoksemi (arteriel kan oksijen basıncında düşme) hem de hiperkapni (arteriel karbondioksit basıncında yükselme) serebral damarlarda vazodilatasyon yapma özelliklerine dolayısı ile de serebral kan akımını arttırma özelliğine sahiptirler. Arteriyel kandaki oksijen basıncında (PO_2) görülen değişiklikler, arteriel kandaki karbondioksit basıncındaki (PCO_2) değişikliklere göre beyin rezistans damarları üzerinde daha az etkilidir (131).

Hiperkapni: Etkisi ekstrasellüler bölgede artmış hidrojen moleküllerine bağlıdır. PCO_2 'nin normal değeri 35-45 mmHg'dır. Karbondioksit artmaya başladığında rezistans damarlarda dilatasyon başlar ve beyin akımı artmaya başlar. $PCO_2 > 80$ mmHg olduğunda rezistans damarlar (tüm arteriyel sistem) maksimal dilatasyon gösterir ve beyin kan akımı da en üst düzeye gelir. Bu miktarın üzerinde ki hiperkapnilerde ilave beyin akımı artışı görülmez.

Hipokapni: Hipokapni rezistans damarlarda vazokonstriksiyon geliştirme özelliğine sahiptir. PCO_2 40 mmHg değerinin altına düşmeye başladığında beyin kan akımı, rezistans damarlarda gelişen vazokonstriksiyon nedeni ile azalır. Akut beyin ödemlerinde bu nedenle hiperventilasyon uygulanır. $PCO_2 < 20$ mmHg olduğunda kan akımında rezistans damarlarda daha fazla vazokonstriksiyon görülmez.

Hipoksi: PaO_2 kandaki parsiel oksijen basıncını gösterir. Normal değeri 80-100 mmHg'dır. Bu değer düşük olması hipoksidir. Hipoksi, intrakranial damarlarda güçlü bir dilatasyon etkisine sahiptir. PO_2 50 mmHg altına düşmediği sürece kan akımında değişiklik olmaz. Daha da düşecek olur ise damarların dilatasyonuna bağlı olarak kan akımı da daha çok artar. Bu artış serebral metabolizmayı değiştirmez ancak hemoglobinin oksijen saturasyonu azalır. Hipoksi beyin damarlarını iki yolla etkiler; 1-ATP seviyeleri düşer, damar düz kaslarında ATP kanalları açılır. Bunların sonucunda düz kaslarda hiperpolarizasyon ve vazodilatasyon gelişir. 2-Hipoksi lokal olarak azot dioksiti ve adenosin ATP yapımını hızlandırır, sonuçta vazodilatasyon gelişir. Kronik hipokside görülen artmış kan akımı kapiller sayısının artışına bağlıdır (132).

2.9. Deneysel Subaraknoid Kanama Modelleri

Deney hayvanlarında SAK subaraknoid mesafeye otolog kan enjeksiyonu (enjeksiyon modeli), karotid arterin intrakranial kısmının endovasküler yolla perforasyonu (perforasyon modeli) ve ya baziler arterin delinmesi ile yapılabilir. Bu modeller en çok fare ve sıçanlarda yapılmakla birlikte köpek ve tavşanlarda da yapılabilir (16, 133, 134). Modeller akut iskeminin şiddeti ve geçikmiş vazospazm ve aynı zamanda mortalite sonuçları ile biri birinden farklılık göstermektedir (135, 136).

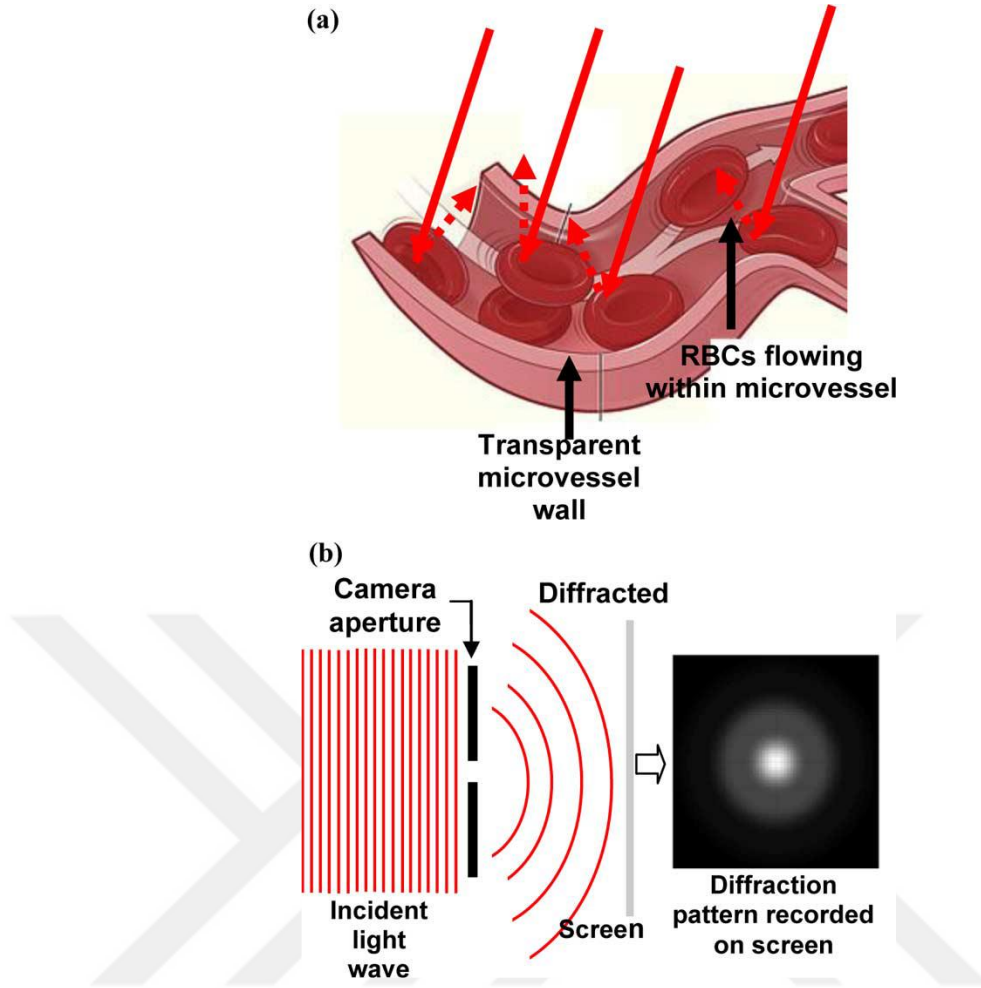
Enjeksiyon modeli (sisterna mangaya tek seferde kan verilmesi) kısa süreli yaklaşık %35-40 SKA'nda azalmaya neden olur. Yaklaşık 15 dk sonra kan akımı enjeksiyon öncesi değere ulaşır (136). Bu modelde baziler arterin morfometrik çalışması post-SAK 48 saat sonra %20 iç perimetre ve %62 iç diyametrede küçülme görülmektedir. Enjeksiyon modelinin modifiye edilmiş versiyonunda (2 gün arayla kanın 2 kez intrasisternal enjeksiyonu) daha büyük morfometrik değişikliklerin oluştuğu (ilk enjeksiyondan 7 gün sonra) gösterilmiş, fakat ikisi arasında iskeminin şiddetinde anlamlı fark görülmemiştir. Enjeksiyon modelinin avantajı mortalitenin az olmasıdır: %0 tek enjeksiyonda, %9 iki kez yapılan enjeksiyonda. Geçikmiş vazospazmın oluşma mekanizmalarını incelemek için en uygun model enjeksiyon modeli kabul edilmektedir.

Baziler arterin delinmesi modelinde mikrodolaşım akut dönemde %30'a kadar düşer. Daha sonra çok yavaş hızla ilk bir saate başlangıç değerini %60'na ulaşır. Mortalitesi enjeksiyon modeline göre daha yüksek, baziler arterdeki morfometrik değişiklikler ilk 4 günden itibaren görülebilmektedir.

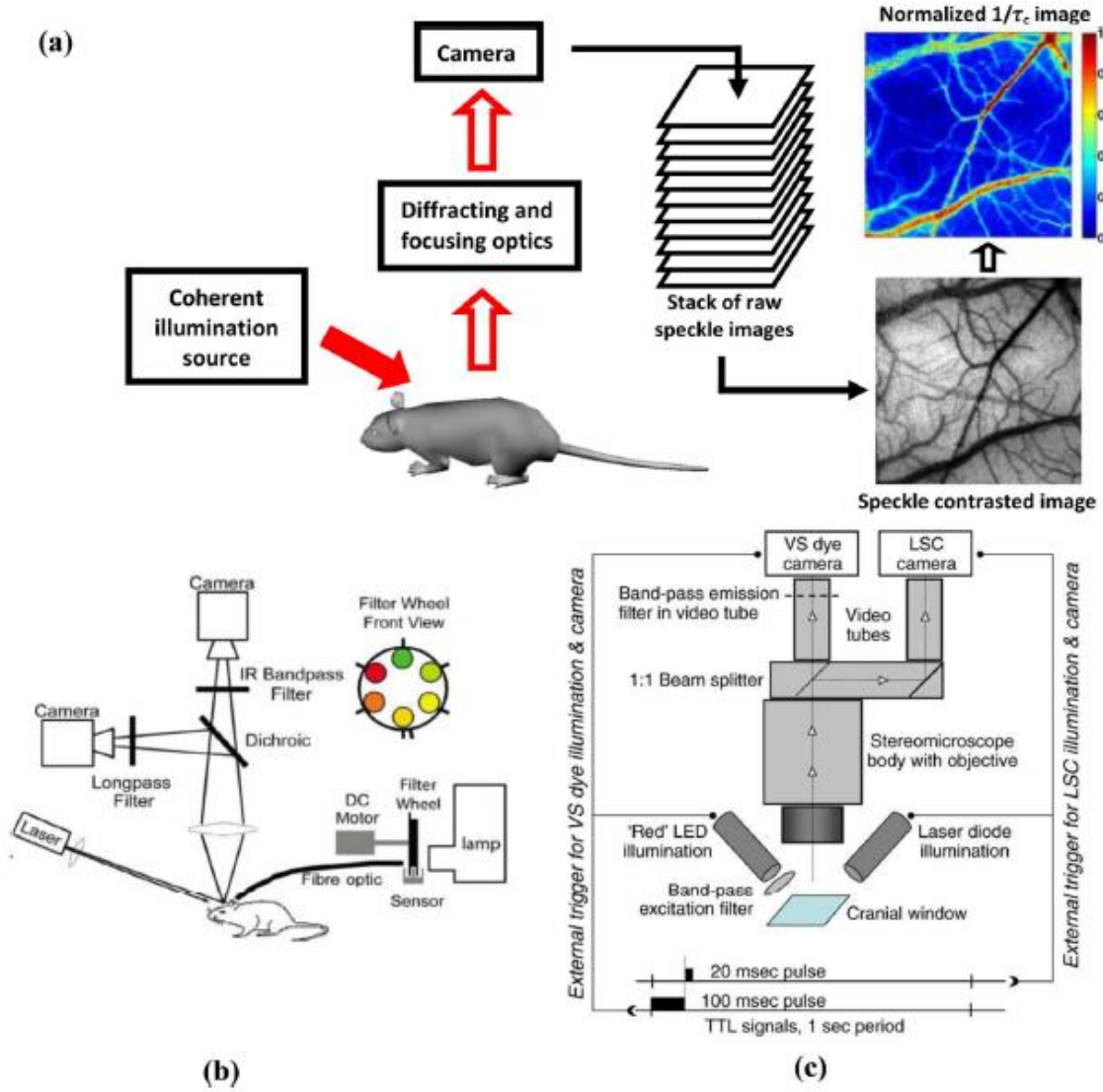
Filament perforasyon modelinde mikrosirkülasyon daha çok etkilenir ve damar delindikten sonra ekstravaze olan kanın miktarına, delinen damarın lokalizasyonu ve çapına bağlı olarak mortalite enjeksiyon modeline göre daha fazladır (16). Bu modelde ICA bifurkasyonu perfore olursa oluşan pıhtı daha büyük, MCA perfore olur ise oluşan pıhtı daha küçüktür. Damar delindikten sonra mikrodolaşım %10-15'e kadar azalır, takiben yavaş hızla ilk bir saate başlangıç akımının %45-50 (ağır SAK) veya %60-70'ne (hafif SAK) ulaşır. Endovasküler perforasyon modeli yüksek mortalite oranı ile (yaklaşık %50) insanda anevrizma rüptürü ile oluşan SAK'yı daha iyi taklit eder. Bu çalışmada SAK sonrası erken dönem kortikal kan akımı değişikliklerinin incelenmesi amacı ile *filament perforasyon modeli* uygulanmıştır.

2.10. Lazer beneklenme kontrast görüntüleme

Lazer beneklenme kontrast görüntüleme (LBKG) kan akımını izlemek için kullanılan geniş görüntü alanına sahip optik bir tekniktir. Biyolojik dokudan geri saçılan ışınlar odaklanma merceği üzerindeki açıklıktan geçerken kırılır ve böylece benekler ortaya çıkar. Dokularda kırmızı kan hücreleri (eritrositler) hareketli yansıtıcının ana kaynağıdır. Bu sebepten dolayı kan akımı kan damarlarının anatomik yapısını gösteren sanal bir kontrast madde olarak görev alır. LBKG'nin bölgesel (*spatial*) ve zamansal (*temporal*) çözünürlüğü (10 ms den 10 s'ye kadar) geniş uygulama imkanı yaratmaktadır. Lazer ışınları penetrasyon derinliği ile sınırlı olduğundan dolayı, LBKG sadece yüzeysel kan akımını görüntüleyebilir. Ayrıca, tarama yapmaması nedeniyle de LBKG, konfokal mikroskopi gibi derinliği çözümleyen görüntüler sağlayamaz. Basit kurulumu ve ekzojen kontrast maddelere ihtiyaç duymamasından dolayı LBKG damar yapısı ve kan akımı dinamiklerini incelemek için son zamanlarda en sık kullanılan görüntüleme araçlarından biri haline gelmiştir (137).



Şekil 2.10.1. Lazer beneklerinin oluşumu (a) Lazer kaynağından çıkan ışınlar (kalın kırmızı oklar) mikrodamarlarda hareket eden eritrositlerden geri yansımaktadır (noktalı kırmızı oklar). (b) Böylece yansıyan ışık dalgaları kameranın diyaframından geçerek kırılır ve ekran üzerinde bir patern oluşturur. Kolay anlaşılması için diyaframdan geçen ışık tek biçimli bir dalga şeklinde gösterilmiştir, ancak gerçekte her bir kırmızı kan hücresi ışık kaynağı olarak görev alır ve birleşik bir dalga oluşturur (137).



Şekil 2.10.2. LBKG düzeneği (a) Tipik LBKG sistemi: bir sürekli ışık kaynağı (deneğin incelenen bölgesine lazer ışını yansıtır), odaklama ve kırılma optikleri (benekleri oluşturur) ve bir kameradan oluşur. İşlenmemiş bir dizi benek görüntüleri kontrastlanma işleminden geçerek benek kontrast görüntüler oluşturulur. Rölatif kan akımı haritasını oluşturabilmek için her piksele verilen kontrast değeri hıza göre belirlenir. LBKG'nin basit kurulumundan dolayı eş zamanlı multimodal görüntüler elde etmek için diğer görüntüleme yöntemleri ile kombine edilebilir, örneğin (b) multispektral yansıma görüntüleme ve (c) floresan görüntüleme (voltaj duyarlı boya ile görüntüleme örneği verilmiştir) (137).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Etik Kurul İzni

Bu çalışmaya ait deney protokolü Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından incelendi ve 15.12.2015 tarihindeki oturumda 2015/90-01 karar numarası ile onaylandı. Çalışma Hacettepe Üniversitesi Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.2 Deney Grupları

Bu çalışmada ağırlıkları 25 ile 40 gr arasında değişen 20 adet erkek Swiss albino fare kullanıldı. Deney süresince hayvanlar standart laboratuvar koşullarında (polikarbon kafeslerde, %50-60 nem aralığında, 20-25^oC'de, 12 saatlik karanlık - aydınlık döngüsünde, tutuldu ve standart yem (ad libitum su ve pellet yem) ile beslendi (Şekil 3.2.2.).

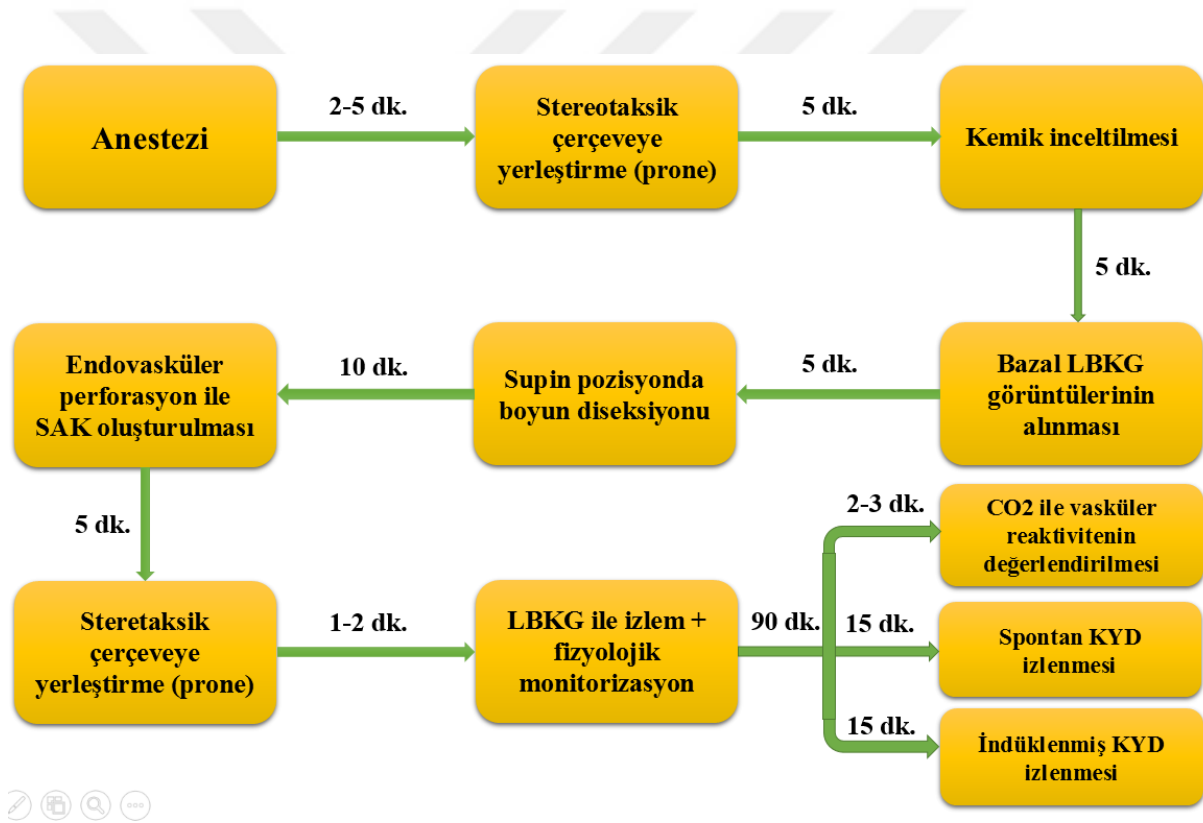
SAK grubunda 5 denek SAK oluşumunu takiben erken dönemde (ilk 30 dk içerisinde) mortalite nedeniyle yeterli görüntü alınamadığından çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmada denekler 2 gruba ayrıldı:

- **Grup 1: Sham grubu (5 hayvan):** Kranial kemik inceltilmesi + boyun diseksiyonu + LBKG
- **Grup 2: SAK grubu (10 hayvan):** kranial kemik inceltilmesi + boyun diseksiyonu + SAK + LBKG

SAK grubunda deneklerde, izofloran anestezisi altında stereotaksik çerçevede pron pozisyonda kranial kemik inceltildikten sonra LBKG ile bazal görüntüler alındı. Sonra supin pozisyona alınarak boyun diseksiyonu sonrası filament perforasyon yöntemi ile SAK oluşturuldu (yöntemin ayrıntılı açıklaması aşağıdadır). Tekrar pron pozisyona alınarak SAK oluşturulduktan yaklaşık 5 dk sonra LBKG kaydına tekrar başlandı (toplam kayıt süresi 90 dk). Bu sırada deneklere 3 dakika boyunca %5 CO₂ solutularak kortikal damarların reaktivitesine bakıldı. Aynı zamanda spontan oluşan KYD'ler kaydedildi. Spontan KYD oluşmadığı durumlarda ise kortekse iğne batırılarak KYD oluşturuldu

(indüklenmiş KYD) ve kayıt alındı. Toplamda 1,5 saat izlem sonrası anestezi kesilerek histopatolojik çalışma için örneklerin alınması amacı ile denekler sakrifiye edildi. Sham grubunda ise pron pozisyonda kranial kemik inceltildikten sonra bazal LBKG görüntüleri alındı. Sonra supin pozisyona alınarak boyun diseksiyonu yapıldı, ancak SAK oluşturulmadan hayvan tekrar pron pozisyona alınarak stereotaksik çerçeveye yerleştirildi ve LBKG görüntüleri alınmaya başlandı. Bu sırada %5 CO₂ verilerek vasküler reaktivite incelendi ve takiben kortekse iğne batırılarak KYD oluşturuldu ve kayıt alındı. Toplamda 1,5 saat izlem sonrası hayvan uyandırılarak histopatolojik çalışma için örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildi (Şekil 3.2.1.).



Şekil 3.2.1. Deney protokolünün akış şeması (SAK grubu için)

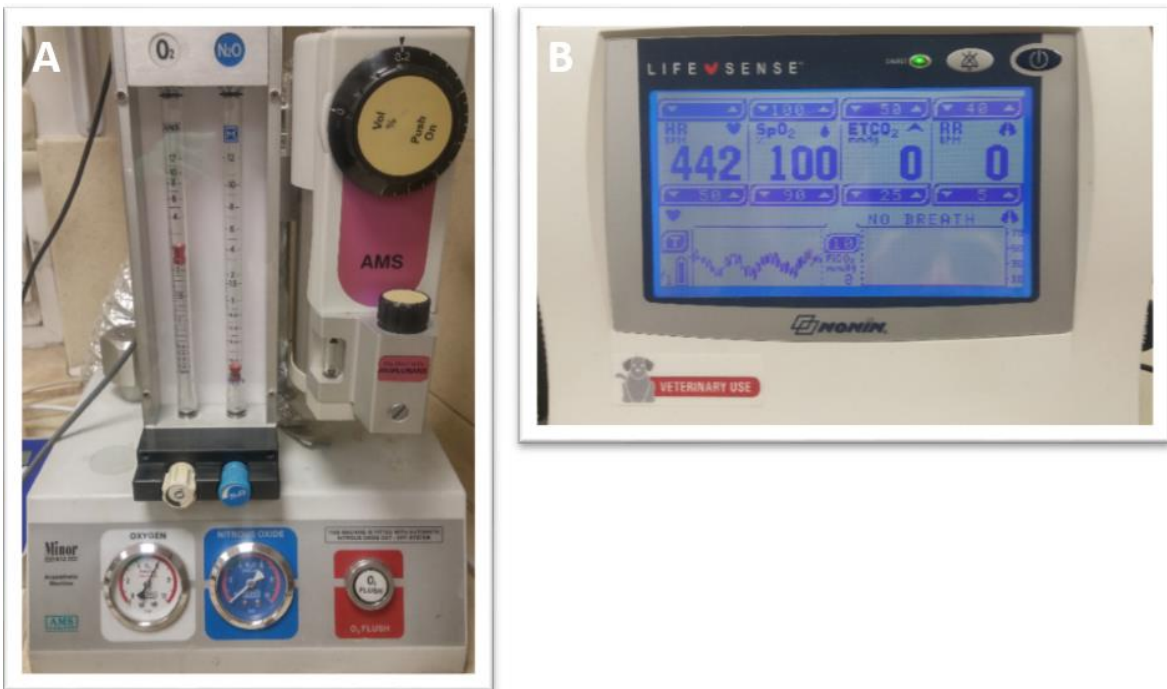


Şekil 3.2.2. Standart laboratuvar koşulları

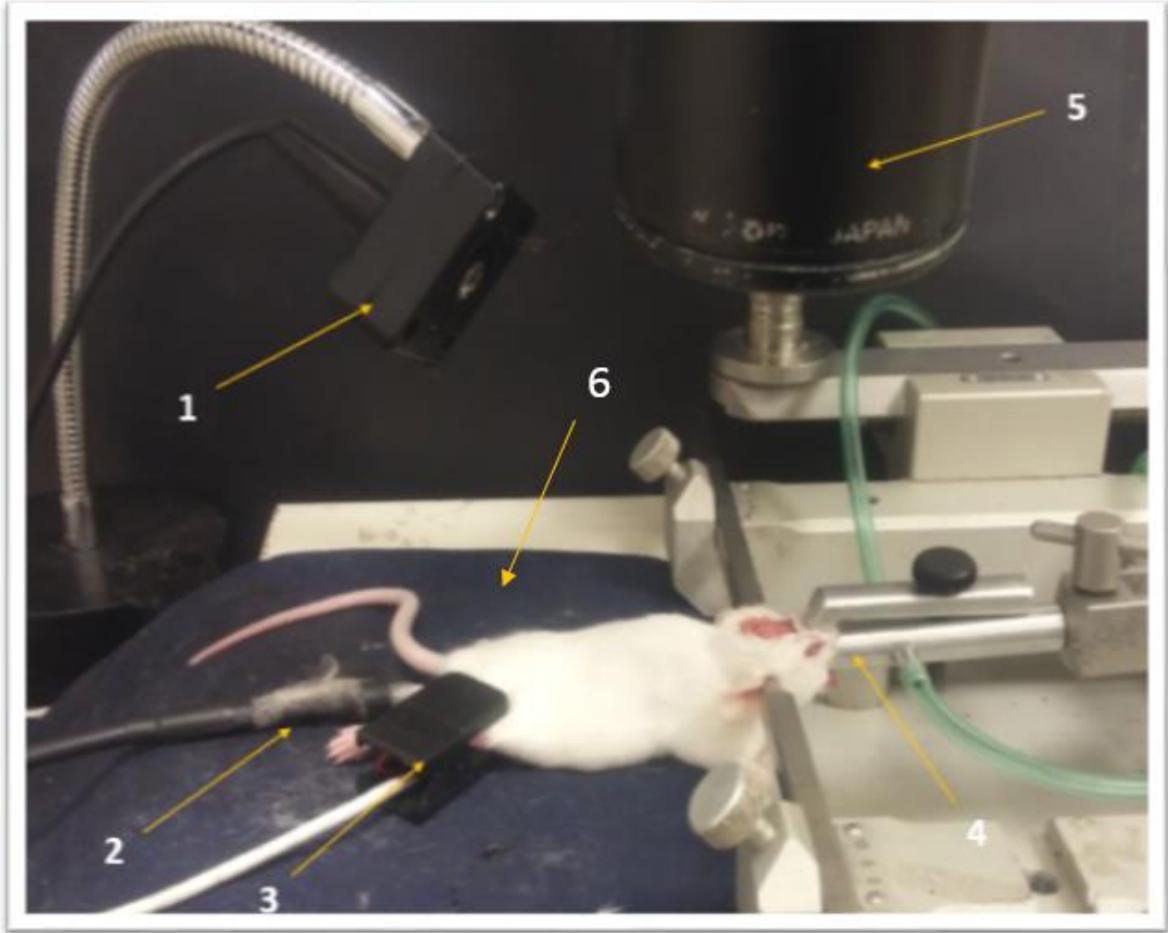
3.3. Anestezi ve Deney Düzenəğinin Hazırlanması

1. Altı saatlik açlık sonrası %5 izofluran inhalasyonu ile anestezi indüksiyonu sağlandı.
2. Genel anestezi derinliğı parmak sıkıştırma tekniğı ile teyit edildikten sonra hayvan prone pozisyona alındı, kafası iki kulak deliğı ve burundan sabitlenerek stereotaksik çerçeveye yerleştirildi.
3. Rektal sıcaklık probu yerleştirilerek homeotermik battaniye üzerinde alınan hayvanın vücut sıcaklığı deney boyunca $37.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ tutuldu.
4. Oksijen desteğı (2 lt/dk), %2 izofluran idame anestezisi sağlandı ve pulse-oksometre cihazı ile devamlı nabız ve satürasyon takibi yapıldı (Şekil 3.3.1.).
5. On dk aralıklarla anestezi derinliğı parmak sıkıştırma yöntemiyle kontrol edilerek anestezi dozu ayarlandı.

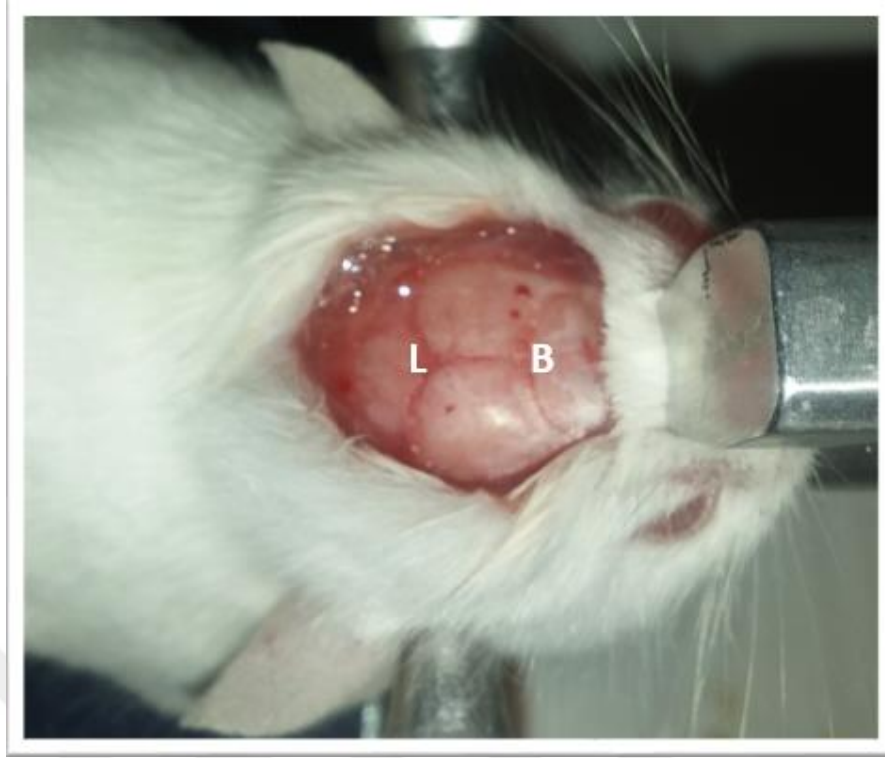
6. Kafatası üzerindeki cildi bilateral frontal ve paryetal kemikler ortaya konulacak şekilde orta hat insizyonu ile açıldı ve periost sıyrıldı.
7. LBKG için kemiğin yeterince transparan olması gerektiğinden dolayı yüksek hızlı dental drill ile kranium inceltildi. Termal hasarı önlemek amacı ile drilleme süresince kranium soğuk serum fizyolojik ile devamlı irrije edildi.
8. Mikroskop altında inceltirilmiş kranium üzerinden kortikal kan akımı değışikliklerinin kaydı için LBKG başlandı ve bazal görüntüler alındı.



Şekil 3.3.1. A-anestezi cihazı (eş zamanlı izofloran ve O₂ inhalasyonunu sağlamak için), B-pulse-oksometre monitörü



Şekil 3.3.2. Homeotermik battaniye üzerinde mikroskop altında stereotaksik çerçeveye yerleştirilen deney hayvanında fizyolojik monitörizasyon ve LBKG düzeneği; 1-lazer ışık kaynağı, 2-rektal sıcaklık probu, 3-pulse-oksimetre probu, 4-inhalasyon düzeneği, 5-mikroskop lensi, 6-homeotermik battaniye

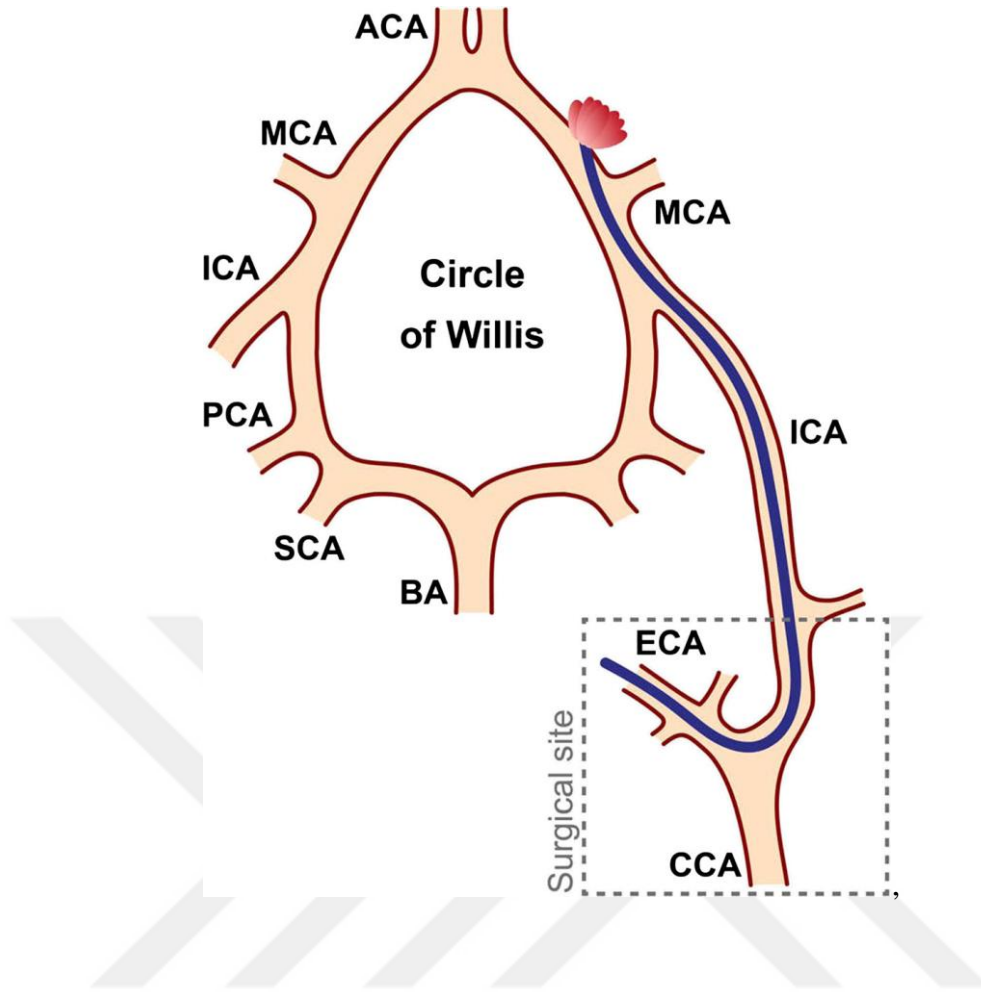


Şekil 3.3.3. Stereotaksik çerçeveye yerleştirilen hayvanda kraniumun üstten görünümü; L-lambda, B-bregma.

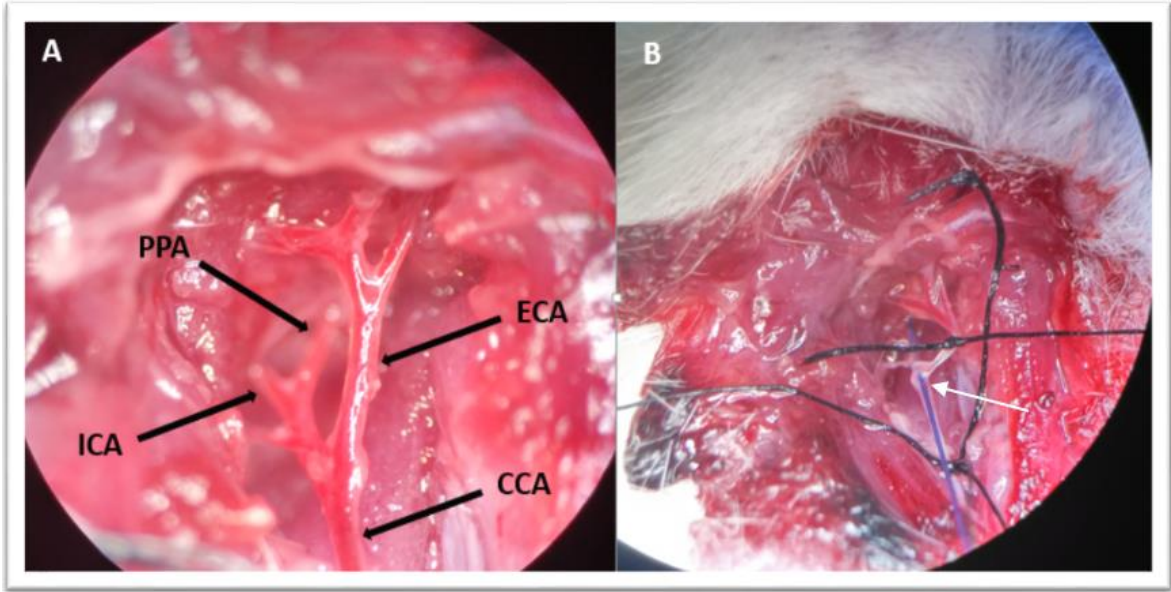
3.4. Endovasküler Filament Perforasyonu ile Subaraknoid Kanama Oluşturulması

1. Denek supin pozisyona alınarak homeotermik battaniye üzerinde sabitlendi, oksijen desteği ve izofloran idame anestezisi sağlanarak devamlı nabız ve satürasyon takibi yapıldı.
2. Çene ile sternumu birleştiren orta hattın cilt insizyonu yapılarak cilt altı dokular geçildi.
3. Ardından küt diseksiyonla sağ karotid kılıf bulunarak içerisindeki ana karotid arter (CCA), juguler ven ve vagus siniri ortaya konuldu. Takiben kranial yönde ilerlenerek internal (ICA) ve eksternal (ECA) karotid arter ayırım noktasına ulaşıldı.

4. Bu noktada damarlar iyice disseke edildikten sonra, önce ECA'in distali bir adet sütür ile oblitere edildi.
5. ECA proksimaline bir adet ipek sütür konularak gevsek bırakıldı; daha sonra ise CCA ve ICA birer adet 6-0 ipek ile asıldı ve hafif traksiyonla her iki damardaki akım geçici olarak durduruldu.
6. Hemen ardından ECA proksimaline mikromakas ile kk bir insizyon yapıldı, ve bu insizyondan 6-0 prolent dikiş ipe (filament) ICA'e doğru yönlendirildi.
7. ICA'deki ipe gevsetilerek filament yavaca kranial yönde 12-13 mm ilerletilerek MCA-ACA bilekesinin distalinden damar duvarı perforate edildi.
8. Bu sırada CCA'deki ipe de gevsetilerek kan akımının devamlılığı sağlandı.
9. Perforasyonun ardından filament hemen geri çekilerek ECA'e kadar getirildi ve ICA'de reperfüzyon sağlandı.
10. ECA proksimaline önceden konulmuş ipek sütür bağlanarak kanın ekstravaze olması nlendi.



Şekil 3.4.1. Filament perforasyon SAK modelinin şematik görünümü. Sol ECA'dan ICA'ya ilerletilen filamanetle (6-0 prolene, 12-13 mm) ACA-MCA bileşkesi delinir, hızlı şekilde filament geri çekilerek reperfüzyon sağlanır ve böylece SAK oluşturulur. ACA-anterior serebral arter, BA-baziler arter, CCA-ana karotid arter, ECA-eksternal karotid arter, ICA-internal karotid arter, MCA-orta serebral arter, PCA-posterior serebral arter, SCA-superior serebellar arter (138)



Şekil 3.4.2. Boyun diseksiyonu, mikroskopik görünüm; (A) CCA-ana karotid arter, ICA-internal karotid arter, ECA-eksternal karotid arter, PPA-pterygopalatin arter; (B) ICA içerisinde 6-0 prolene filament (beyaz okla gösterilmiştir).

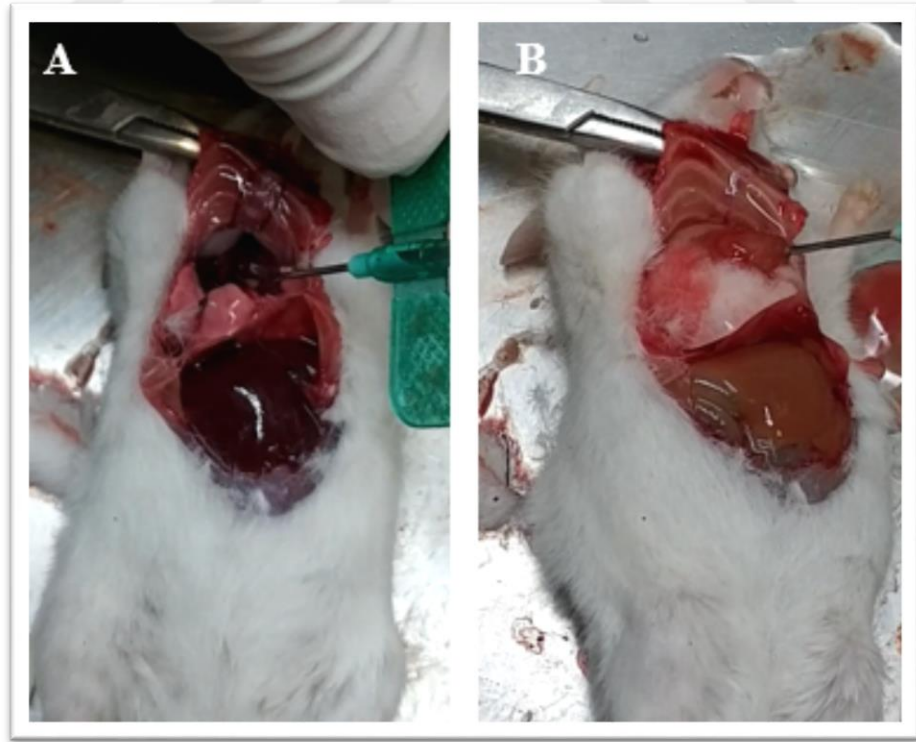
3.5. LBKG ile Serebral Kan Akımı Değişikliklerinin İzlenmesi

1. SAK oluşturulduktan sonra hayvan yeniden prone pozisyona döndürülerek stereotaksik çerçeveye yerleştirildi, monitörizasyon ve idame izofloran anestezisi sağlandı.
2. Mikroskop altına alınan hayvanda önceden kaydedilen bazal görüntüler üzerine LBKG başlandı.
3. 90 dk boyunca her 15 sn'de bir görüntüler alınarak kortikal kan akımı kaydedildi.
4. 90 dk'nın sonunda hayvan 3 dk boyunca %5 CO₂ ile solutularak kortikal vasküler reaktivitenin değerlendirilmesi için seri görüntüler alındı (her 15 sn'de bir).
5. 15 dk daha kayıt yapıldıktan sonra sağ frontal kemikte drill ile açılan burr hole'den iğne batırılarak oluşturulan KYD'a kan akımı yanıtları LBKG ile kaydedildi.

6. Sonra hayvan stereotaksik çerçeveden çıkarıldı ve histopatolojik çalışma için örneklerin alınması amacı ile sakrifiye edildi.
7. Beneklenme kontrast (speckle contrast) ham görüntüleri ImageJ programında analiz edilerek seçilen kortikal alanlardaki kan akımının zamansal değişim eğrileri çıkartıldı.

3.6 Sakrifikasyon ve Beyinlerin Çıkarılması

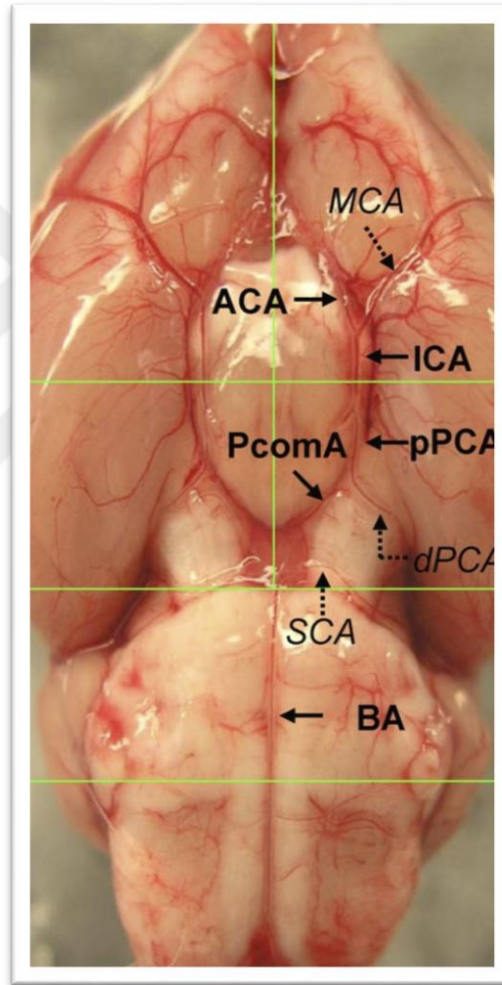
Genel anestezi altındaki hayvanlara torakotomi yapılarak kalp ortaya konulduktan sonra sol ventrikülden hayvanın karaciğeri beyazlaşınca kadar heparinli solüsyon verildi, sonrasında ise hayvanın vücudu sertleşinceye kadar sabit hızda %4 paraformaldehit (PFA) (0,1 mol/L sodyum fosfat tamponu içinde, pH 7,4) verilerek doku fiksasyonu yapıldı. Ardından hayvanlar dekapite edilerek beyinleri çıkarıldı ve %4'lük paraformaldehit solüsyonu içerisinde fikse edildi (TTC boyası ile boyanan beyinler hariç). Fikse edilmiş beyinler içerisinde %4'lük PFA solüsyonu olan kaplarda +4°C'de muhafaza edildi.



Şekil 3.6.1. İntrakardiyak %4'lük PFA verilerek doku fiksasyonu yapılması; A-PFA verilmeden önce, B-PFA verildikten sonra.

3.7. *Ex vivo* Subaraknoid Kanamannın Derecelendirilmesi

Sakrifiye edilerek çıkarılan beyinlerin %4'lük paraformaldehit solüsyonu içerisinde fikse edilmeden önce gross görüntüleri alındı. Alınmış görüntülerde bazal sistemler Şekil 3.7.1'de gösterildiği gibi 6 segmente bölündü (139). Her segment SAK sonrası oluşan subaraknoid kanın miktarına göre 0-3 arasında derecelendirildi; derece 0: kan yok; derece 1: minimal subaraknoid kan; derece 2: arterlerin görünebileceği kadar orta derecede kan; derece 3: segmentteki bütün arterlerin üzerini kapatacak kadar subaraknoid kan.



Şekil 3.7.1. SAK'nın derecelenmesi için bazal sistemlerin 6 segmente bölündüğünü gösteren şekil (139). ACA-anterior serebral arter, MCA-orta serebral arter, ICA-internal karotid arter, PComA-posterior komünikasyon arter, PCA-posterior serebral arter, SCA-superior serebellar arter, BA-baziller arter

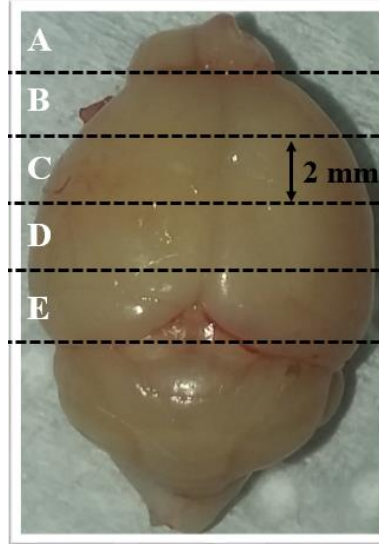
Bütün segmentler toplamda 0-18 arasında bir puan ile değerlendirilerek 3 gruba ayrıldı; 0-7 puan: hafif SAK, 8-12 puan: orta derecede SAK, 13-18 puan: ağır SAK (Sugawara SAK derecelendirme skalası (139)). Sham grubunda hiç kan olmadığı için 0 puan verildi. SAK derecelendirilmesi yapıldıktan sonra her iki grubun (Sham ve SAK) LBKG verilerinin histopatolojik inceleme sonuçları ile korelasyonu sağlandı.



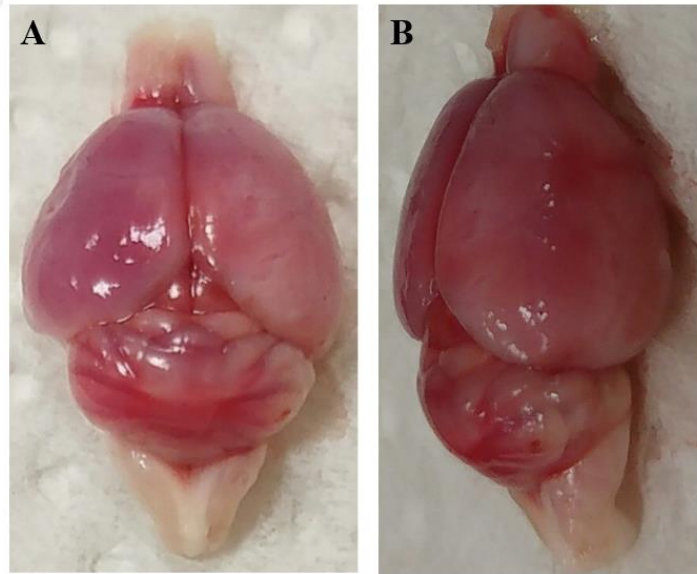
Şekil 3.7.2. SAK'ın Sugawara skalası ile derecelendirilmesi. Resimlerde sham, hafif, orta ve ağır SAK gruplarına örnek verilmiştir.

3.8. Histopatolojik Değerlendirme

Farelerde SAK sonrası enfarkt oluşumu ve hücre hasarının incelenmesi için histopatolojik çalışma yapıldı. %4'lük paraformaldehit içerisinde tespit edilen beyinler olfaktor bulblardan serebelluma kadar 2 mm'lik 5 eşit koronal dilimlere ayrıldı (A, B, C, D, E) ve tüm parçalar parafine gömüldü (Şekil 3.8.1.). Gross olarak enfarkt oluşumunu incelemek amacıyla iki SAK'lı beyin %4'lük paraformaldehit içerisinde tespit edilmeden 2,3,5-trifeniltetrazolium klorid (TTC) boyası ile boyandı ve takiben parafine gömüldü (Şekil 3.8.2.).



Şekil 3.8.1. Olfaktor bulblardan serebelluma kadar 2 mm'lik 5 eşit (A, B, C, D, E) koronal dilimlere ayrıldığı gösteren fare beyninin üstten görünümü.



Şekil 3.8.2. SAK oluşturulduktan sonra PFA perfüzyonunu takiben TTC boyası ile boyanmış beyin; A-üstten görünüm, B-sağ yandan görünüm; SAK oluşan sağ hemisferde sola göre daha az boyanma iskeminin oluştuğunu göstermektedir.

3.8.1. Parafin Bloklama ve Kesitlerin Alınması

Alınan tüm parçalar %10 tamponlu nötral formalinde 48 saat tespit edildi. Doku örnekleri takip cihazına alındı. Takip cihazında dehidratasyonu sağlamak için sırayla %70, %80, %90, %96 ve %100'lük alkollerden geçirildi. Şeffaflaştırma için doku örnekleri birer saatten 2 kere ksilolden geçirildikten sonra parafine alıştırma için 2,5 saat saf parafinde bekletildi. Doku takip cihazından alınan örnekler Leica Eg1150H parafin istasyonunda saf parafine gömülerek parafin bloklar elde edildi. Elde edilen parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan kesitler bir gece 60⁰ C etüvde bırakıldıktan sonra 45 dakika ksilolde tutularak deparafinize edildiler. Örnekler dereceli alkol serilerinden (%100, %96, %80) geçirilerek rehidrate edildi. Hematoksilen–eozin (H/E) ile boyandıktan sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildiler. Kesitler Leica DM 6000B mikroskobu ile incelendi ve DC 500 model Leica dijital kamera ile fotoğrafları çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı.

3.9. İstatistik Değerlendirme

Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesi için SPSS for Mac 22 programı kullanıldı. Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis, bağımsız iki grup ortalamalarının karşılaştırılmasında ise Mann Whitney U testleri kullanıldı. P<0,05 anlamlı kabul edildi.

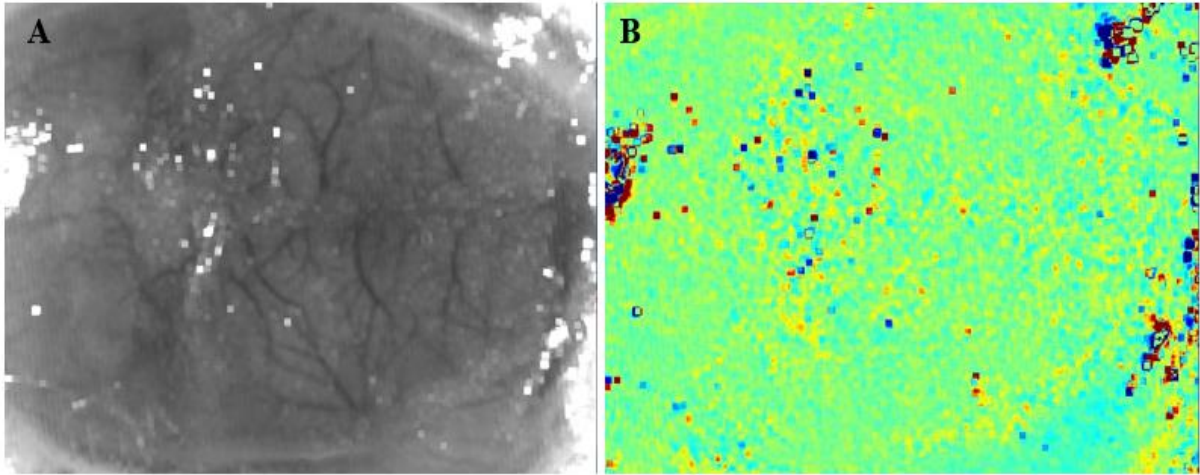
4. BULGULAR

4.1. Kan akımı değişikliklerinin analizi (LBKG sonuçları)

Her iki gruptaki (Sham ve SAK grubu) hayvanların serebral kortikal kan akımı değişiklikleri pron pozisyonda 1,5 saat LBKG ile izlendi. Görüntüleme sırasında denekler %5 CO₂ ile solutularak vasküler reaktivite incelendi. Bu sırada oluşan spontan KYD'lar kaydedildi, en son ise kortekse iğne ucu batırılarak KYD oluşturuldu ve kayıt yapıldı. Toplamda 10 hayvanda SAK sonrası (SAK grubu), 5 hayvanda ise SAK oluşturulmadan (Sham grubu) LBKG ile kayıt yapıldı.

4.1.1 Bazal LBKG görüntülerinin alınması

Genel anestezi altında pron pozisyonda ve başı stereotaksik çerçevede sabitlenen deneklerde kranial kemik inceltildikten sonra bazal LBKG görüntüleri alındı (Şekil 4.1.1.). Bazal kan akımı görüntülemesinde bölgesel kan akımlarının fizyolojik aralıklarda değişkenlik (\pm %5) gösterdiği görüldü.



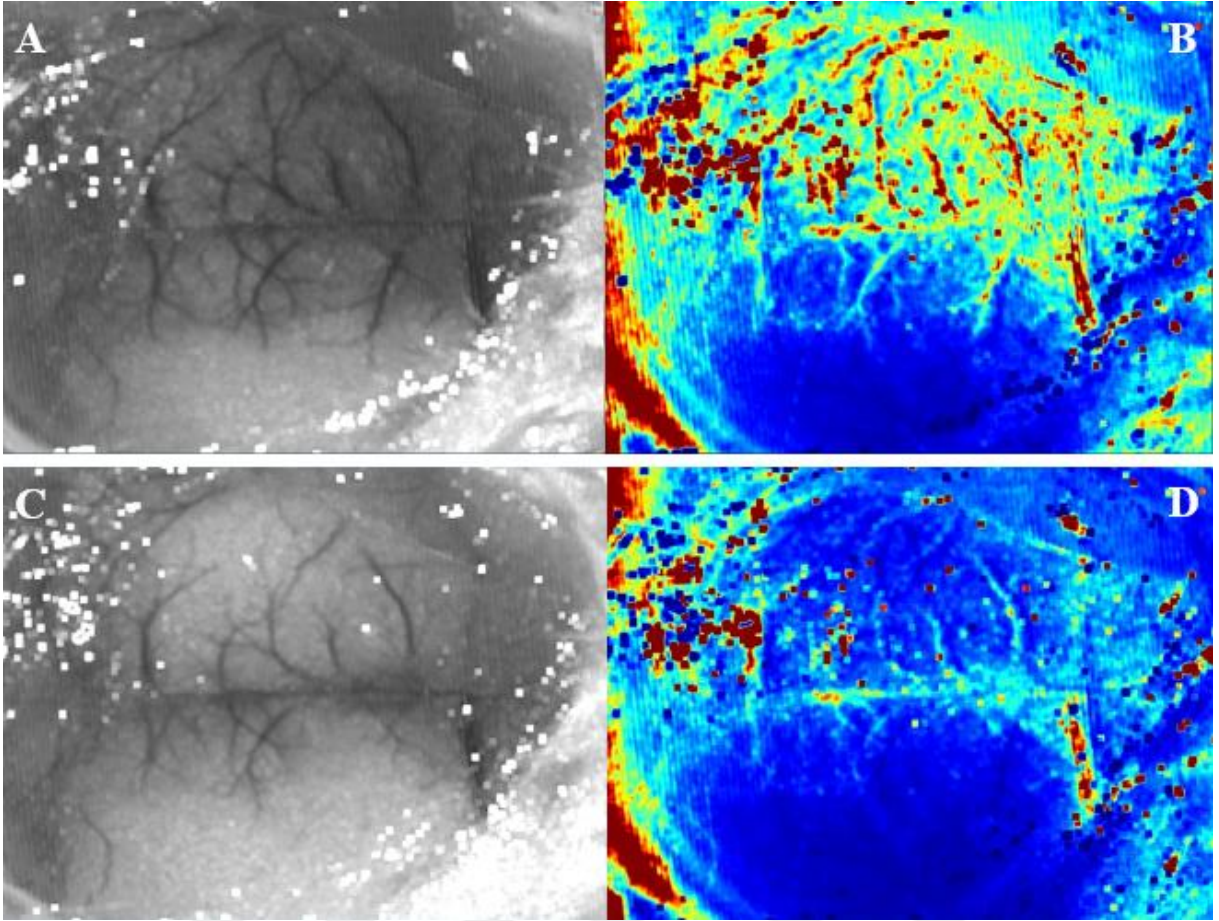
Şekil 4.1.1. SAK öncesi bazal LBKG; beneklenme kontrast görüntüsü (A), rölatif kan akımı görüntüsü (B) (yeşil renk %100'lük kan akımını temsil etmektedir)

4.1.2. Endovasküler Filament Perforasyonla Subaraknoid Kanama Oluşturulduktan Sonra LBKG görüntülerinin alınması

Bazal LBKG görüntüleri alındıktan sonra denek supin pozisyona alınarak SAK oluşturuldu ve tekrar pron pozisyona alınarak stereotaksik çereçevde başı sabitlendi. Takiben LBKG kaydı başlandı. SAK indüksiyonu ile sonrasında alınan ilk LBKG görüntüsü arasında geçen ortalama süre $4,5 \pm 1$ dk idi. Takiben 90 dk boyunca her 15 sn'de bir seri görüntüler alındı. Bu sırada oluşan spontan KYD'lar (yayılan iskemiler şeklinde) kaydedildi (Şekil 4.1.2.). LBKG ölçümleri standart olarak bilateral orta hattın 2 mm lateralde ve bregmadan 2 mm posteriorda yapıldı (MCA sulama alanı).

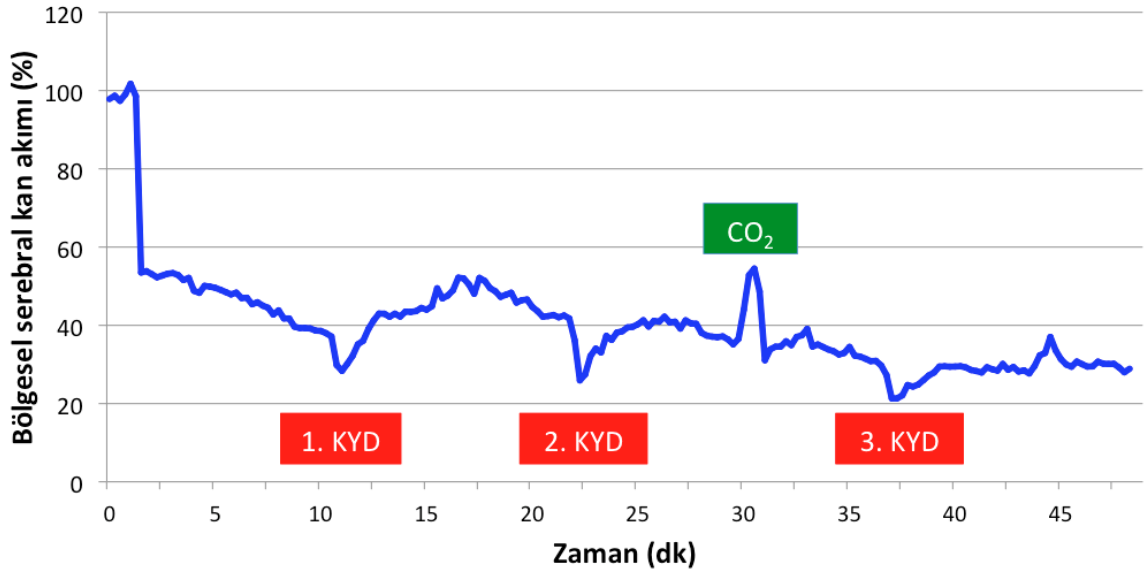
SAK'dan sonra ipsilateral (endovasküler perforasyon yapılan) hemisferde MCA sulama alanında yapılan ilk ölçümlerde bazale göre ortalama %62,6 (%38-85) değerinde SKA'nda azalma görüldü. Kontralateral hemisferde oluşan iskemi ise ortalama %32,8 (%13-58) değerindeydi. Bazı deneklerde hiperakut dönemde oluşan iskeminin zaman içerisinde düzeldiği, bazılarında görece stabil seyrettiği bazılarında ise daha da ağırlaştığı gözlemlendi (Şekil 4.1.2., Şekil 4.1.4., Şekil 4.1.5.).

İpsilateral hemisferde oluşan KYD'lara iskemi sonrası normal beyinde beklenen geçici hiperemik yanıt gözlenmedi. 6 denekte oluşan spontan KYD'lar sonrası iskemi arttı ve SKA'nda azalma 30. dk'da ortalama %68,6 (%46-80), 60. dk'da ise ortalama %68,5 (%41-82) değerlerine ulaştı. Spontan KYD oluşumu gözlenmeyen hayvanlarda (n=4) ise iskeminin zamanla bir miktar hafiflediği izlendi (Şekil 4.1.6.). Kontralateral hemisferde ise KYD'ların çoğuna iskemi sonrası minimal hiperemik yanıtın eşlik ettiği görüldü. Kontralateral hemisferde 3 denekte spontan, 3 denekte ise ipsilateral hemisfere iğne batırıldıktan sonra spontan KYD oluşumu izlendi. Spontan KYD izlenen kontralateral hemisferlerde iskemi ağırlaşarak SKA'nda azalma 30. dk'da ortalama %42,8 (%11-64), 60. dk'da ise ortalama %47,5 (%21-75) değerine ulaştı. Sadece bir denekte kontralateral hemisferde SAK sonrası erken dönemde SKA'nda %20 oranda artış, 60. dk'da ise bazale göre net %26 SKA'nda azalma izlendi.

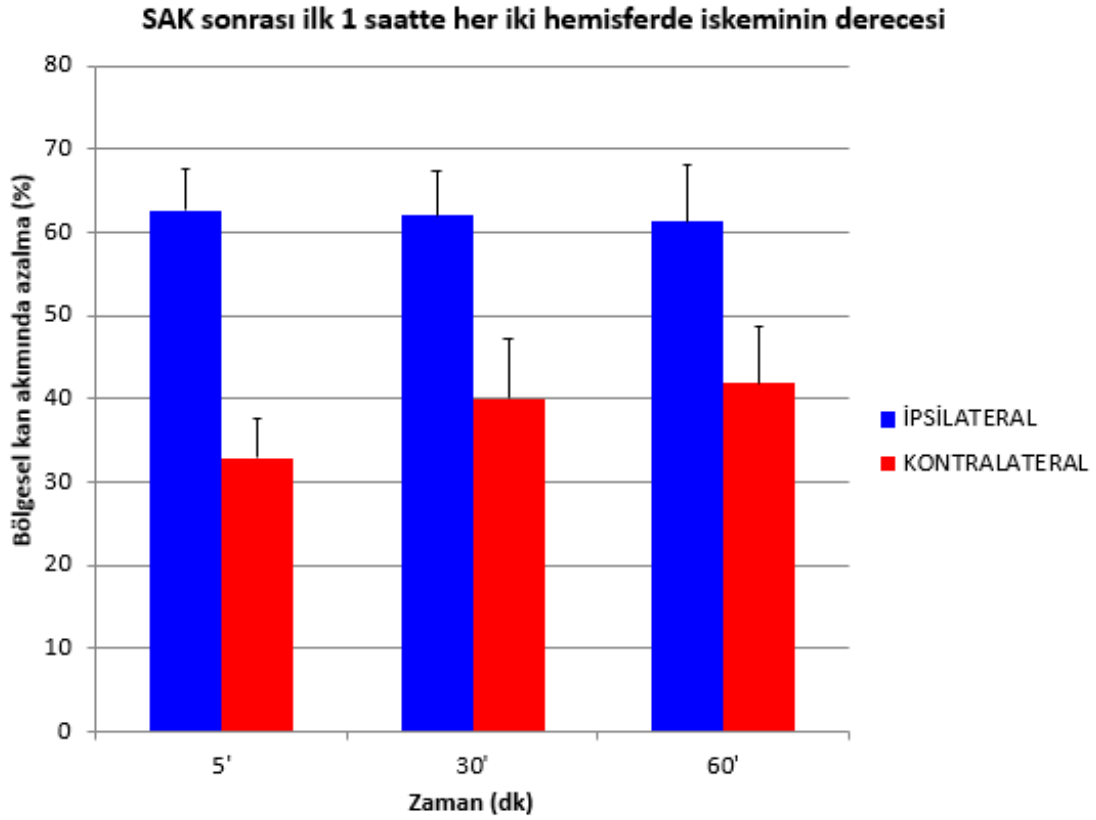


Şekil 4.1.2. SAK sonrası LBKG örneği; Sağ hemisferde SAK sonrası iskemi: A-beneklenme kontrast görüntüsü, B-rölatif kan akımı görüntüsü (mavi renk kan akımının azaldığını gösterir). Her iki hemisferde KYD oluştuktan (spontan KYD) sonra global iskemi: C-beneklenme kontrast görüntüsü, D-rölatif kan akımı görüntüsü.

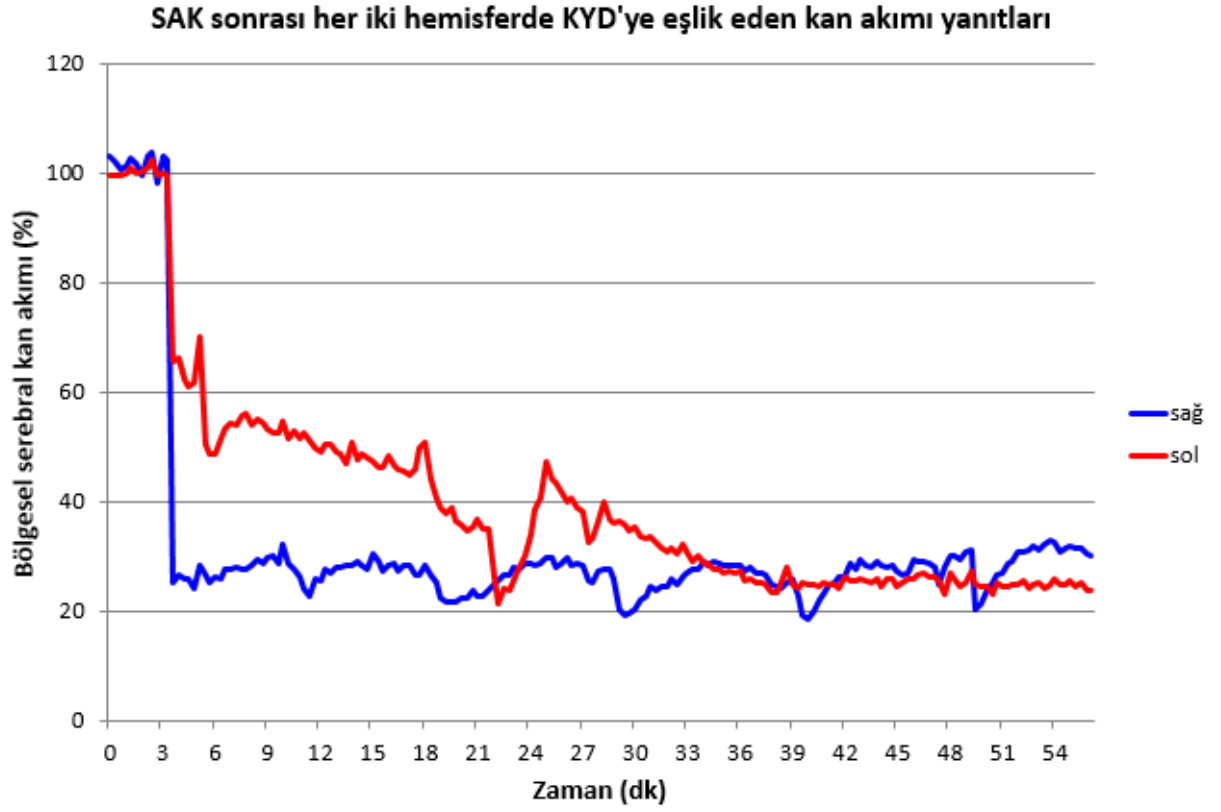
SAK sonrası ipsilateral hemisferde kortikal kan akımı



Şekil 4.1.3. SAK sonrası ipsilateral (sağ) hemisferde bölgesel kortikal kan akımı değişikliklerinin grafiği. 11, 23 ve 37. dk'larda oluşan her bir KYD sonrası bölgesel serebral kan akımının azaldığı, 28. dk'da CO₂'e hiperemik yanıtın oluştuğu görülmektedir.

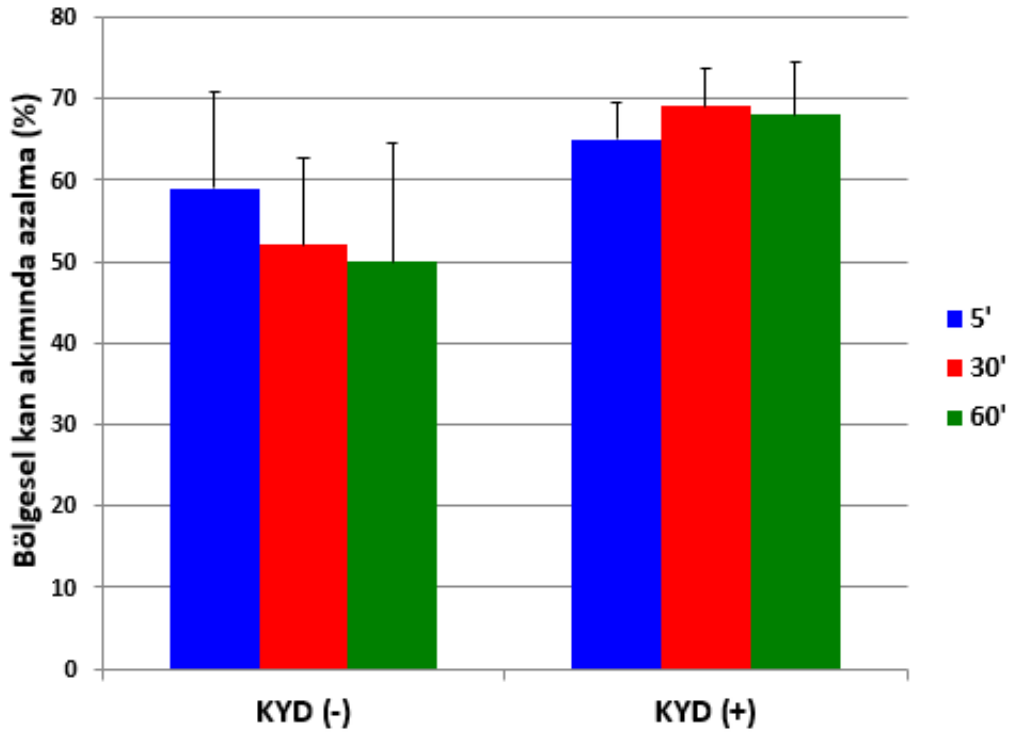


Şekil 4.1.4. SAK sonrası her iki hemisferde bölgesel kan akımı değişikliklerinin üç ayrı zamandaki ortalamalarının karşılaştırılması. İpsilateral hemisferdeki iskemi düzeyi bakılan 3 farklı zaman diliminde de karşı hemisfere göre daha derindi. (5. dk için $p=0.001$; 30. dk için $p=0,007$; 60. dk için $p=0,035$; Mann-Whitney U testi)



Şekil 4.1.5. SAK sonrası bölgesel kan akımı değişiklikleri. Bu hayvanda ipsilateral hemisferde SAK sonrası derin iskemi ve bunu takip eden spontan KYD'lar izlenmektedir (mavi eğri). Karşı hemisferde ise iskeminin tedricen derinleştiği ve oluşan büyük çaplı spontan KYD'nun iskeminin daha da derinleşmesine yol açtığı görülmektedir (kırmızı eğri).

İpsilateral hemisferde spontan KYD varlığının iskemi düzeyi ile ilişkisi

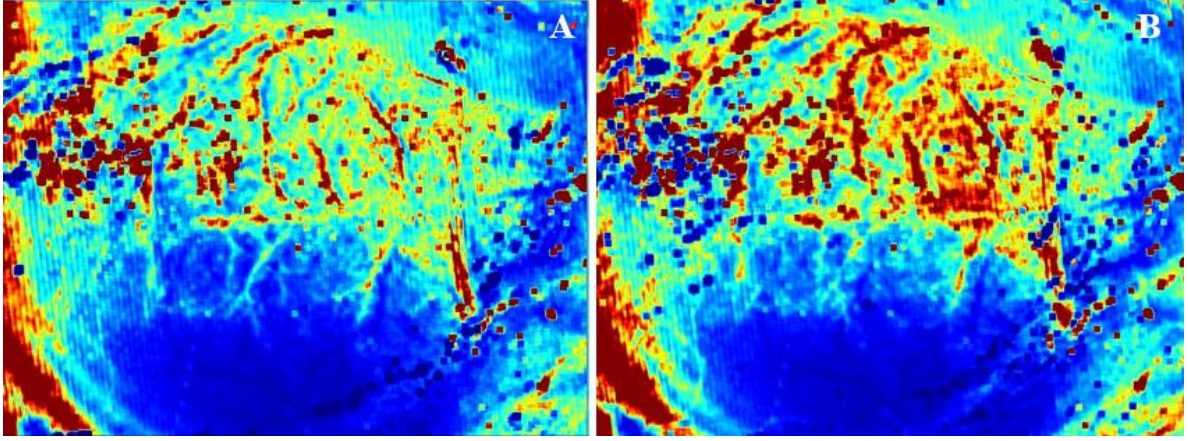


Şekil 4.1.6. SAK sonrası ipsilateral hemisferde oluşan spontan KYD'ların iskemi düzeyi üzerine etkisi.

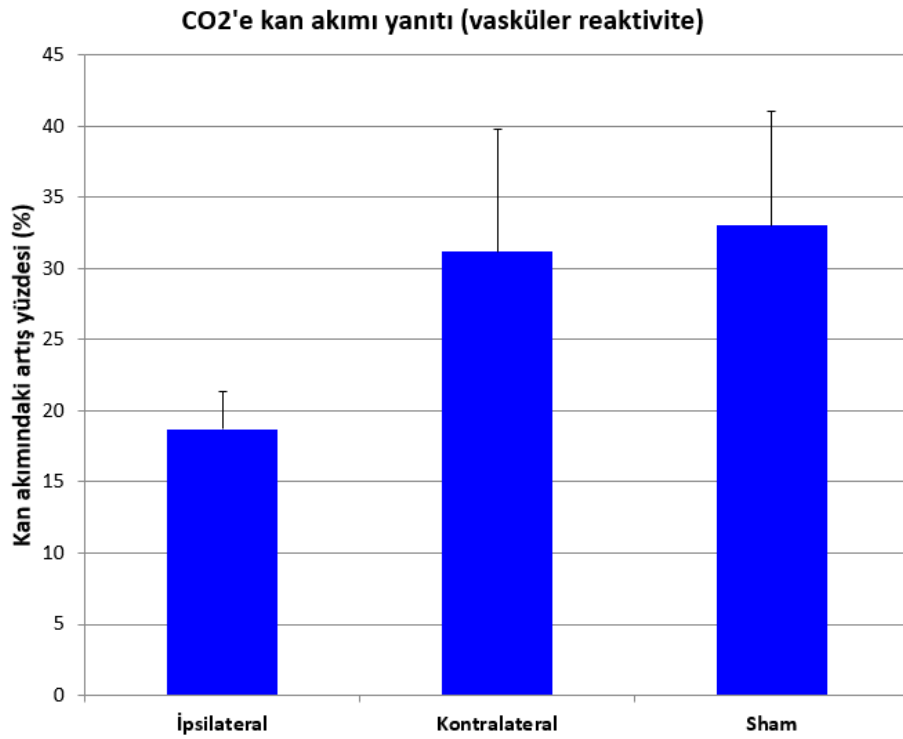
4.1.3. Vasküler reaktivitenin değerlendirilmesi ve indüklenmiş KYD'ların kaydı

SAK sonrası 1,5 saat LBKG kaydı yapıldıktan sonra 3 dk boyunca denekler %5 CO₂ ile solutuldu ve kortikal kan akımında oluşan yanıtlar (vasküler reaktivite) incelendi. CO₂ etkisi geçtikten 10 dk sonra ise sağ frontal kemikte açılan burr hole'den kortekse iğne batırılarak KYD oluşturuldu (indüklenmiş KYD) ve kayıt alındı.

İpsilateral hemisferde CO₂'e karşılık kortikal kan akımında oluşan hiperemi (ortalama %18,7 aralık: %4-33) yanıtının, kontralateral hemisferdekinden (ortalama: %31,2, aralık: %4-100) ve Sham grubundakinden daha düşük düzeyde olduğu bulundu (Şekil 4.1.8.).



Şekil 4.1.7. SAK sonrası CO₂ reaktivitesine kortikal kan akımının yanıtı, LBKG görüntüsü (rölatif kan akımı); A-CO₂ verilmeden önce, B-CO₂ verildikten sonra (SAK oluşan sağ hemisferde yanıt yok, intakt sol hemisferde kan akımında artış (kırmızı renk kan akımının artışını göstermektedir))



Şekil 4.1.8. CO₂ inhalasyonuna karşı serebral kortekste oluşan kan akımı değişikliklerinin SAK ve Sham gruplarındaki ortalama değerleri. İpsilateral hemisferde CO₂

yanıtları hem karşı hemisfere hem de sham grubuna göre azalmış olarak bulundu, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.079$; Kruskal-Wallis testi).



Şekil 4.1.9. Sham grubunda KYD'a oluşan bölgesel kan akımı değişikliği örneği; Sağ hemisferde (mavi eğri) indüklemiş KYD: tipik iskemi sonrası hiperemik yanıt ve takiben 45 dk devam eden iskemi 1.saatin sonunda kan akımının bazal değere ulaştığı görülmekte, sol hemisferde (kırmızı eğri) bazal kan akımının değişmediği görülmektedir.

Tablo 4.1. SAK grubundaki deneklere ait parametrelerin özeti; (+) ipsilateral hemisfer iğne ile uyarıldıktan sonra kontralateral hemisferde oluşan spontan KYD, (*) iskemiyin derecesinde artış (diğer tüm deneklerde azalma)

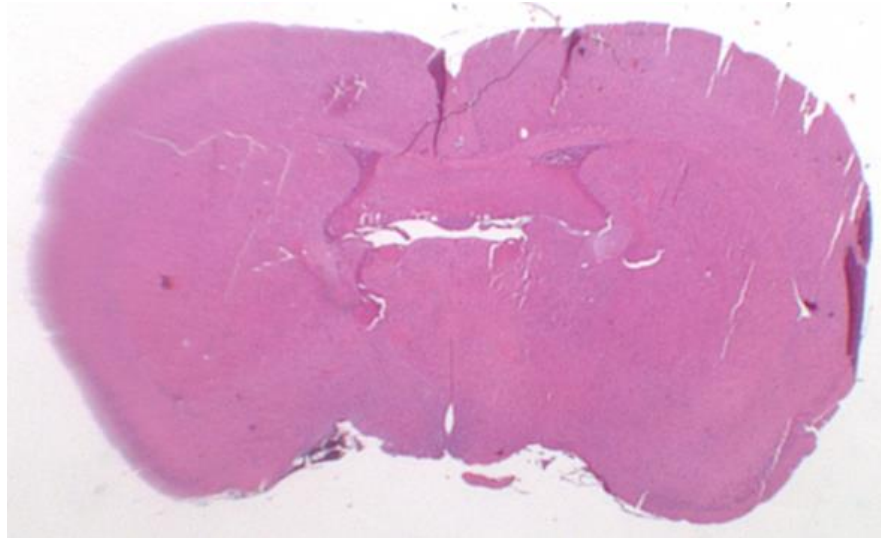
Denek No.	Ağırlık (gr)	SAK'in derecesi	Kayıt süresi (saat)	İpsilateral hemisferde kan akımı						Kontralateral hemisferde kan akımı					
				İskemiyin derecesi (% azalma)	Spontan KYD	CO ₂ yanıtı (% artış)	30. dk (% azalma)	60. dk (% azalma)	İskemiyin derecesi (% azalma)	Spontan KYD	CO ₂ yanıtı (% artış)	30. dk (% azalma)	60. dk (% azalma)		
1.	28	Hafif	1,5	38	-	26	32	28	15	-	26	14	16		
2.	30	Orta	1,5	40	-	17	35	22	32	-	9	24	23		
3.	25	Orta	1,5	47	+	16	46	41	42	(+)	19	48	40		
4.	39	Orta	1,5	69	+	18	70	78	21	+	22	60	61		
5.	29	Ağır	1,5	57	+	15	70	61	13	+	22	17	28		
6.	26	Ağır	1,5	85	-	13	70	73	51	(+)	19	11	21		
7.	25	Ağır	1,5	75	+	4	73	69	34	+	4	64	75		
8.	28	Orta	1,5	73	-	33	71	78	58	(+)	50	57	60		
9.	35	Ağır	1,5	69	+	30	80	82	29	-	100	65	68		
10.	33	Hafif	1,5	73	+	15	73	80	20(*)	(+)	41	20(*)	26		

4.2. *Ex vivo* subaraknoid kanamanın derecelendirilmesi bulguları

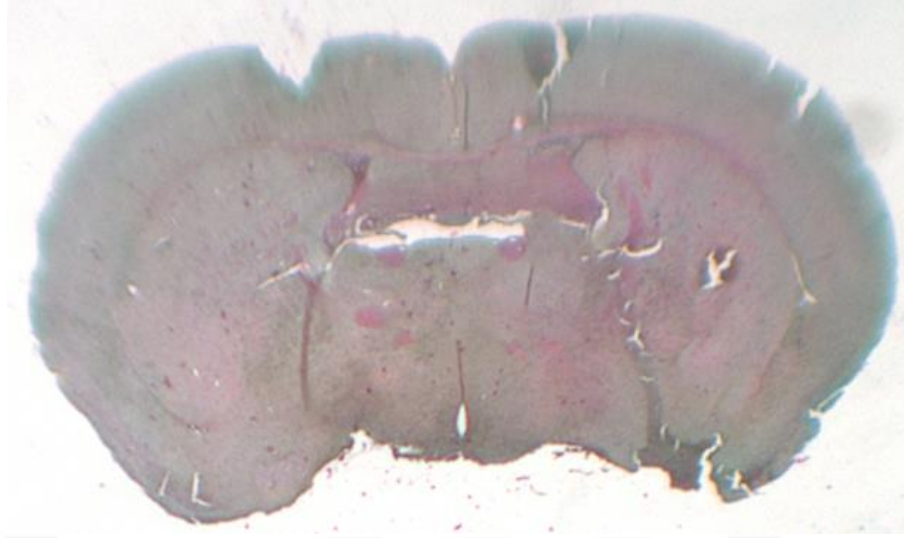
Lazer beneklenme kontrast görüntüleme kaydı yapıldıktan sonra %4'lik PFA ile perfüze edilerek sakrifiye edilen deneklerin beyinleri çıkarıldı ve gross görüntüleri alındı. Tüm beyinlerin Sugawara SAK skalası ile derecesi değerlendirildi. Hafif, orta ve ağır olarak 3 gruba ayrıldı. 2 hayvanda-hafif, 4 hayvanda-orta, 4 hayvanda-ağır SAK olduğu görüldü. SAK derecesi ile farklı zamanlardaki iskemi düzeyi, spontan KYD oluşumu veya vasküler reaktivite arasında herhangi bir ilişki bulunamadı.

4.3. Histopatolojik bulgular

SAK indüksiyonundan 2 saat sonra sakrifiye edilen hayvanların beyinlerinden alınan koronal kesitlerde hematoksilin-eozin ve fibrin boyası ile yapılan histopatolojik incelemede gerek hemisferler arasında gerekse sham grubu ile kıyaslandığında hücre hasarı veya mikrotrombüs lehine anlamlı bulgu izlenmedi. SAK sonrasında geçen sürenin (2 saat), iskeminin histopatolojik düzeydeki etkilerinin görünür hale gelmesi için yetersiz kalmış olduğu düşünüldü.



Şekil 4.3.1. SAK grubu denekte H/E ile boyanmış beyin örneği. Nöronal hasar lehine anlamlı bulgu görülmemiştir.



Şekil 4.3.2. SAK grubu denekte fibrin boyama ile boyanmış beyin örneği. Mikrotrombüs lehine anlamlı bulgu görülmemiştir.

5. TARTIŞMA

Subaraknoid kanama intrakraniyal kanamaların en kötü sonuçları olan alt tipidir: hastaların %40'ı kanamadan sonra 1 ay içinde ölmektedir (140), sağ kalanların büyük kısmında ise kalıcı nörolojik defisiter gelişmektedir. Spontan SAK'ların büyük kısmı (%80) AComA, PComA, MCA ve baziler arter yerleşimli anevrizmaların kanaması sonucu oluşur (2). Anevrizma modeli oluşturmak çok zor olduğundan deneysel SAK modelleri genelde sisternal otolog kan enjeksiyonu veya endovasküler filament perforasyonla yapılır. Sisterna magnaya otolog kan enjeksiyonu işlemin kolay olması, verilen kanın hacminin kontrolü ve mortalitenin az olması nedeniyle sık kullanılan yöntemdir. Fakat bu model SAK'nın gerçek patofizyolojisini (vasküler hasar vs.) tam ortaya koymamaktadır.

MCA-ACA bileşkesinde Willis Poligonunun endovasküler perforasyonu modeli insandaki gerçek SAK'yı en iyi taklit eden modeldir (37). Bu yöntem ilk kez sıçanlarda Bedersen ve ark. ve benzer tarihlerde Veelken ve ark. tarafından geliştirilmiştir (16, 141). Daha sonra bu model farelere uygulanmaya başlanmıştır (142, 143). Bu modelde; MCA-ACA bileşkesinde filament damarı delerek beynin bazal yüzeyinde subaraknoid mesafeye kanamaya neden olur, sonra kan damarların yüzeyleri ve fissürlerle tüm sisternlere yayılır. Perforasyonun olduğu yerde pıhtı oluşarak kanama durur, ancak SAK hastalarında olduğu gibi tekrar kanamalar da olabilir (144). Bu yüzden endovasküler filament modeli son yıllarda en sık kullanılan SAK modeli haline gelmiştir.

Serebral iskemi SAK sonrası prognozu etkileyen en önemli faktördür. Klinik ve deneysel çalışmalar posthemorajik iskeminin ana sebebinin pial arteriollerin spazmı ve disfonksiyonu olduğunu göstermektedir. Beyin ödemi oluşması, KYD'lar ve büyük serebral arterlerin gecikmiş spazmları mikrosirkülatuvar disfonksiyonu arttırarak daha fazla beyin hasarına neden olur. Subaraknoid kanama sonrası geç dönemde ortaya çıkan makrovazospazmlar bilinen bir antite olmakla beraber, literatürde mikrosirkülasyondaki değişikliklerin patofizyolojik mekanizmaları ile ilgili bilgiler oldukça sınırlıdır.

Bu çalışmada; literatürde bugüne kadarki endovasküler filament perforasyon SAK modellerinde kullanılan laser doppler flowmetry ve floresan mikroskopi yöntemlerine ek olarak görece yeni bir *in vivo* görüntüleme yöntemi olan "*laser speckle contrast imaging*" (lazer beneklenme kontrast görüntüleme - LBKG) yönteminin kullanılmasıyla SAK sonrası hiperakut dönemde kortikal kan akımı değişikliklerinin hem bölgesel (*spatial*) hem de

zamansal (*temporal*) dinamikleri izlenerek mikrodolaşımdaki bu değişikliklerin histopatolojik sonuçlarla ilişkisi araştırılmıştır.

Kan akımı dinamiklerinin *in vivo* inceleme metotları hem klinik hem de deneysel çalışmaların ilgi kaynağıdır. MR, BT ve ultrasonografi (USG) klinik pratikte en sık kullanılan yöntemlerdir. Ancak araştırma ortamlarında, dinamik ışık saçılmasına dayanan optik teknikler olan lazer Doppler, beneklenme kontrast görüntüleme ve foton korelasyon spektroskopisi yöntemleri kan akımı dinamiklerini izlemek için en sık kullanılan yöntemlerdir (145). Bu tekniklerin her biri ölçüm geometrisi ve analizi ile bir birinden ayrılrsa da hepsinin temeli dinamik ışık saçılımına dayanır. Lazer Doppler flowmetry kan akımını ölçmek için en iyi bilinen teknik olsa da genellikle tek bölgesel alan ölçümü ile sınırlıdır. Son zamanlarda LBKG farklı dokularda kan akımını izlemek için hem deneysel hem de klinik çalışmalarda yaygın kullanılmaya başlanmıştır. LBKG basit cihazlar kullanarak tüm yüzey alanında kan akımını izlemesi ile lazer Doppler flowmetry gibi diğer tekniklerden daha avantajlıdır.

Çalışmamızda endovasküler perforasyon yöntemi ile SAK oluşturularak erken dönemde (ilk 1,5 saat) LBKG ile kortikal akım dinamikleri izlendi. Subaraknoid kanama oluşturulan ipsilateral hemisferde kanamadan 5 dk sonra (supin pozisyondan pron pozisyona alınarak stereotaksik çerçeveye yerleştirene kadar geçen süre) SKA'nda ortalama %62,6 (%38-85) değerinde azalma izlendi. Kontralateral hemisferde ise SKA'nda azalmanın ortalama %32,8 (%13-58) değerinde olduğu kaydedildi. İzlem sırasında 6 denekte spontan KYD oluşumu görüldü. Bu oran (%60) literatürdeki insan çalışmalarıyla benzerlik göstermektedir (84). KYD'lar sonrası iskeminin arttığı ve ipsilateral hemisferde SKA'nda azalmanın 30. dk'da ortalama %68,6 (%46-80), 60. dk'da ise ortalama %68,5 (%41-82) değerlerine ulaştığı görüldü. Bu da kortikal yayılan depolarizasyonların hasarlı beyinde iskeminin derinleşmesi şeklindeki yıkıcı etkilerini doğrulayan bir bulgu olmuştur (146). Kortikal yayılan depolarizasyonlar sonrası normal beyinde beklenen hiperemik faz oluşmadı. Kontralateral hemisferde ise her KYD'lara iskemi sonrası minimal hiperemik yanıtın eşlik ettiği ve 3 denekte spontan, 3 denekte ise ipsilateral hemisfere iğne batırıldıktan sonra spontan KYD'lar izlendi. İskemi ağırlaşarak SKA'nda azalma 30. dk'da ortalama %42,8 (%11-64), 60. dk'da ise ortalama %47,5 (%21-75) değerine ulaştı. İki spontan KYD arasında denek %5 CO₂ ile solutularak kortikal vaksüler reaktivite değerlendirildi; ipsilateral hemisferde CO₂'e hiperemik yanıt-SKA'nda ortalama %18,7

(%4-33) artış, kontralateral hemisferde ise ortalama %31,2 (%4-100) değerinde SKA artışı ile sonuçlanan hiperemik yanıt gözlemlendi.

Subaraknoid kanama sonrası SKA azalmasına aynı zamanda İKB yükselmesi ve SPB azalması eşlik eder. Deneysel SAK modellerinde kanama oluşturulan hemisferde mikrodolaşım bozukluğunun karşı hemisferden daha fazla olduğu gösterilmiştir (50). İKB yükselmesi ve SPB azalması kanama sonrası kortikal iskeminin tek sebebi olsaydı mikrodolaşım bozukluğunun da simetrik şekilde düzelmesi beklenirdi. Aktif mikrovasküler kontraksiyonun akut iskeminin gelişmesinde rol oynadığı yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Subaraknoid kanama sonrası akut dönemde aktive olmuş trombosit ve mekanik hasara uğramış eritrositlerden potansiyel spazmogenler salınır ki bunlar da vazokonstriksiyona ve iskeminin artmasına neden olurlar (51).

Daha önce yapılan klinik çalışmalarda gecikmiş büyük arter spazmlarından çok daha önce, SPB'dan bağımsız, SAK sonrası hiperkut dönemde gelişen serebral kan akımında azalma olduğu gösterilmiştir (33, 34). Bederson ve ark. yaklaşık 20 yıl önce posthemorajik iskeminin serebral mikrosirkülasyon düzeyindeki değişikliklerin sebep olabileceği hipotezini ileri sürmüşler (16). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada SAK hastalarında kandaki karbondioksit (CO₂) konsantrasyon değişikliklerine serebral damarların yanıtının bozulduğu, hipovekilasyon veya %10 CO₂ inhalasyonu ile yapılan hiperkapni sonrası mikrodamarlarda vazodilatasyonun izlenmemesi sonucu gösterilmiştir (45). Subaraknoid kanamada CO₂'e reaktivitenin bozulmasının sebebi NO eksikliği olduğu düşünülmektedir ki bu da mikrovazospazmın ana sebeplerinden biri olabilir. NO konsantrasyonu ve eNOS aktivitesinin azalması sonucu vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonu ve lökosit adhezyonu indüklenebilir (45).

Daha önce yapılan bir çalışmada İKB'in SAK'dan hemen sonra 70 mmHg'ya kadar yükseldiği, 5 dk sonra 30 mmHg, 20 dk sonra 25 mmHg, 24 saat sonra 10 mmHg, 3 gün sonra ise normale döndüğü gösterilmiştir. Aynı çalışmada eşzamanlı Laser Doppler flowmetry ile SKA takibi yapılmış ve SAK'nın ilk dakikalarında %10'a kadar azalan kan akımının 5 dk sonra %80 değerine ulaştıktan sonra ilk 20 dk'da %70 civarında sabitlendiği görülmüştür (138). Ancak bizim çalışmamızda bölgesel serebral kan akımı ipsilateral hemisferde %50'ler düzeyine düşmekte ve çoğu kez oluşan iskemi izleyen 1 saat içerisinde daha da derinleşmekteydi.

Farklı bir çalışmada SAK sonrası subaraknoid mesafede kan dağılımının İKB ile korele olmadığı görülmüştür. Subaraknoid kanama sırasında İKB orta derecede yükselen

deneklerde kanın daha az ekstravaze olduğu düşünölmekteydi, fakat Plesnila ve ark. yaptığı çalışmada İKB yükselmesinin sadece bazal yüzde oluşan hematoma ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Sistemlerdeki kanın yayılımı ve miktarı ile İKB yükselişinin pik değerleri hayvanlar arasında farklılık göstermemiştir (147).

Ağır iskemi sonrası kalıcı nöronal hasarın gelişmesi için gerekli olan sürenin minimum 6 saat olduğu düşünölmektedir (148). Hafif iskemide ise reperfüzyon 6 saatten geç sağlandığında bile nöron kaybının önlenebileceği daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (149). Nöronal mitokondriyal metabolizmanın disfonksiyonu enfarktın erken döneminde görölen bozukluklardan biridir. Enfarktın erken döneminde H/E ile boyama yapıldığında kırmızı, eozinofilik nöronların görölməsi bu bozukluğu destekleyen bulgulardır. Erken nöronal hasarda sitoplazmada eozinofili artar ve nükleusun boyutu küçölerek koyu bazofilik göröner veya kromatin kümeleri oluşur. Daha geç dönemlerde nöronların sitoplazmalarında vakuolların oluşması, küçölmesi veya hematoksiline affinitede azalma (“hayalet nöronlar”) görölür. Bizim çalışmamızda SAK indüksiyonundan 2 saat sonra sakrifiye edilen hayvanların beyinlerinden alınan koronal kesitlerde hematoksilen-eozin ve fibrin boyası ile yapılan histopatolojik incelemede gerek hemisferler arasında gerekse sham grubu ile kıyaslandığında hücre hasarı veya mikrotrombüs lehine anlamlı bulgu izlenmemiştir. SAK sonrasında geçen süre (2 saat), iskeminin histopatolojik düzeydeki etkilerinin göröner hale gelmesi için yetersiz kalmış olabilir. Bir başka açıdan bakıldığında kanama sonrası ilk 2 saat içinde kalıcı mekanik hasar ve hücre fonksiyonlarında geri dönüşsüz bozukluk görölmediğinden mikrosirkülasyonu düzelterek terapötik yaklaşımların yapılması için uygun bir zaman aralığıdır. Bu zaman aralığında klinik kötüleşme ve ikincil hasar önlenabilir.

Subaraknoid kanama sonrası erken dönem SKA değışikliklerinin temporo-spasial (zamansal-bölgesel) dinamiklerinin LBKG ile yüksek hassasiyetle görüntölmesi ve spontan KYD’ların kaydedilmesi çalışmamızın kuvvetli yanlarını oluştururken, İKB monitorizasyonu yapılmaması, kan basıncı ve kan gazı ölçümlerinin uygulanmaması, uzun süreli (24-48 saat) izlem sonuçlarının bulunmaması ise zayıf yönleri arasında sayılabilir.

Elde edilen veriler ışığında iskemik inmelere olduğu gibi, SAK’nın etkilenen damarın sulama alanında gelişen bir takım nöronal hasarlar ile sınırlı kalmayıp bütün beyni etkileyen bir serebrovasküler olay olduğu bir kez daha ortaya konulmuştur.

Mekanistik olarak, endotelyal NO eksikliği posthemorajik mikrosirkülasyon disfonksiyonun altında yatan temel faktörlerden biri olabilir. Subaraknoid kanama sonrası

iskeminin ve mikrosirkülasyondaki disfonksiyonun altında yatan mekanizmaları tamamen anlamak için daha fazla araştırma yapılması gerekir. Bu tür araştırmalar için genetik olarak değiştirilmiş, üremesi kolay hayvanlarda standarda uygun hayvan modeller oluşturulması çok önemlidir. Subaraknoid kanama sonrası halen uygulanmakta olan tedavi yöntemlerinin oldukça kısıtlı ve çoğu kez etkisiz olduğu bir gerçektir. Sunulan bu araştırma ve gelecekte yapılacak benzer çalışmalar bir arada değerlendirilerek muhtemelen SAK sonrası beyin hasarını önlemek ve klinik sonuçları iyileştirmek için tasarlanmış yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için bir zemin hazırlayacaktır.



6. SONUÇ

Yaptığımız çalışmada farelerde endovasküler filament perforasyon tekniği ile SAK modeli oluşturulmuş ve fizyolojik monitorizasyon altında erken dönemde (SAK'dan 4,5±1 dk sonra) kortikal kan akımı değişiklikleri incelenmiştir. Sonuç olarak:

1. Subaraknoid kanamadan hemen sonra ipsilateral (SAK oluşan) hemisferde MCA sulama alanında bazale göre ortalama %62,6 (%38-85) değerinde SKA'nda azalma görüldü. Kontralateral (intakt) hemisferde oluşan iskemi ortalama %32,8 (%13-58) olarak saptandı. İpsilateral hemisferdeki iskemi düzeyi bakılan 3 farklı zaman diliminde de karşı hemisfere göre daha derin olduğu görüldü. (5. dk için p=0.001; 30. dk için p=0,007; 60. dk için p=0,035)
2. 1.5 saatlik izlemde 6 denekte (%60) ipsilateral spontan KYD'lar kaydedildi. İpsilateral hemisferde KYD'lara iskemi sonrası normal beyinde beklenen hiperemik yanıt gözlenmedi. Her KYD sonrası iskemi daha da ağırlaşarak SKA'nda azalma 30. dk'da ortalama %68,6 (%46-80), 60. dk'da ise ortalama %68,5 (%41-82) değerlerine ulaştı. Kontralateral hemisferde ise her KYD'lara iskemi sonrası minimal hiperemik yanıtın eşlik ettiği görüldü ve 3 denekte spontan, 3 denekte ise ipsilateral hemisfere iğne batırıldıktan sonra spontan KYD'lar izlendi. İskemi ağırlaşarak SKA'nda azalma 30. dk'da ortalama %42,8 (%11-64), 60. dk'da ise ortalama %47,5 (%21-75) değerine ulaştı.
3. Kayıt sırasında denek %5 CO₂ ile solutularak kortikal vasküler reaktivite incelendi. Bilindiği gibi CO₂ beyinde en potent vazodilatatörlerden biridir. İpsilateral hemisferde CO₂'e hiperemik yanıt-SKA'nda ortalama %18,7 (%4-33) artış, kontralateral hemisferde ise ortalama %31,2 (%4-100) değerinde SKA artışı ile sonuçlanan hiperemik yanıt gözlemlendi. İpsilateral hemisferde CO₂ yanıtları hem karşı hemisfere hem de sham grubuna göre azalmış olarak bulundu, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.079).
4. Lazer beneklenme kontrast görüntüleme kaydı yapıldıktan sonra %4'lük PFA ile perfüze edilerek sakrifiye edilen deneklerin beyinleri çıkarıldı ve gross görüntüleri alındı. Tüm beyinlerin Sugawara SAK skalası ile derecesi değerlendirildi. Hafif, orta ve ağır olmakla 3 gruba ayrıldı. 2 hayvanda-hafif, 4 hayvanda-orta ve 4 hayvanda ise ağır SAK olduğu görüldü. SAK derecesi ile farklı zamanlardaki

iskemi düzeyi, spontan KYD oluşumu veya vasküler reaktivite arasında herhangi bir korelasyon bulunamadı.

5. Kortikal kan akımı görüntülemesi ile izlenen iskeminin erken dönem sonuçları TTC, H/E ve fibrin boyamaları ile histopatolojik olarak teyit edildi. SAK indüksiyonundan 2 saat sonra sakrifiye edilen hayvanların beyinlerinden alınan koronal kesitlerde hematoksilin-eozin ve fibrin boyası ile yapılan histopatolojik incelemede gerek hemisferler arasında gerekse sham grubu ile kıyaslandığında hücre hasarı veya mikrotrombüs lehine anlamlı bulgu izlenmedi. SAK grubunda iki beyin TTC boyası ile boyandı. İpsilateral hemisferin TTC ile az boyanması iskemi lehine bulgu olarak değerlendirildi.



7. KAYNAKLAR

1. Van Asch CJ, Luitse MJ, Rinkel GJ, van der Tweel I, Algra A, Klijn CJ. Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2010; 9:167–176.
2. Van Gijn J, Rinkel GJ. Subarachnoid haemorrhage: diagnosis, causes and management. *Brain.* 2001;124 (Pt 2):249–278.
3. Johnston SC, Selvin S, Gress DR. The burden, trends, and demographics of mortality from subarachnoid hemorrhage. *Neurology.* 1998; 50:1413–1418.
4. Rivero-Arias O, Gray A, Wolstenholme J. Burden of disease and costs of aneurysmal subarachnoid haemorrhage (aSAH) in the United Kingdom. *Cost Eff Resour Alloc.* 2010;8:6.
5. Dodel R, Winter Y, Ringel F, Spottke A, Gharevi N, Müller I, et al. Cost of illness in subarachnoid hemorrhage: a German longitudinal study. *Stroke.* 2010;41:2918–2923.
6. Carvi y Nievas MN, Archavlis E. Atypical causes of nontraumatic intracranial subarachnoid hemorrhage. *Clin Neurol Neurosurg.* 2009;111:354–358.
7. Huang J, van Gelder JM. The probability of sudden death from rupture of intracranial aneurysms: a meta-analysis. *Neurosurgery.* 2002;51:1101–5, discussion 1105.
8. Nieuwkamp DJ, Setz LE, Algra A, Linn FH, de Rooij NK, Rinkel GJ. Changes in case fatality of aneurysmal subarachnoid haemorrhage over time, according to age, sex, and region: a meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2009;8:635–642.
9. Hop JW, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J. Case-fatality rates and functional outcome after subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *Stroke.* 1997; 28:660–664.
10. Robertson EG. Cerebral lesions due to intracranial aneurysms. *Brain.* 1949;72 (Pt. 2):150–185.
11. Sehba FA, Hou J, Pluta RM, Zhang JH. The importance of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Prog Neurobiol.* 2012; 97:14–37.

12. Budohoski KP, Guilfoyle M, Helmy A, Huuskonen T, Czosnyka M, Kirollos R, et al. The pathophysiology and treatment of delayed cerebral ischaemia following subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014; 85:1343–1353
13. Crompton MR. Cerebral infarction following the rupture of cerebral artery aneurysms. *Brain*. 2014;2:263–80.
14. Heilbrun MP, Olesen J, Lassen NA. Regional cerebral blood flow studies in subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1972;37:36–44.
15. Zingesser LH, Schechter MM, Dexter J, Katzman R, Scheinberg LC. On the significance of spasm associated with rupture of a cerebral aneurysm. The relationship between spasm as noted angiographically and regional blood flow determinations. *Arch Neurol*. 1968;18:520–528.
16. 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;26:1086–91, discussion 1091.
17. Pluta RM: Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis, and proposed treatment. *Pharmacol Ther*. 105:23-56, 2000
18. Ronkainen, A, Hernesniemi J, Tromp G: Special features of familial intracranial aneurysms: report of 215 familial aneurysms. *Neurosurgery* 37:43-46, 1995
19. Ikeda H, Yoshimoto T: Pathological study of Willis's circle in autopsy cases of polycystic kidney disease. *No To Shinkei* 39:909-13, 1987
20. Schievink, WI: Intracranial aneurysms in Marfan's syndrome: an autopsy study. *Neurosurgery* 41:866-870, 1997
21. Juvola S, Porras M, Poussa K: Natural history of unruptured intracranial aneurysms: probability of and risk factors for aneurysm rupture. *J Neurosurg*. 93:379-387, 2000
22. Penn DL, Witte SR, Komotar R, Connolly ES: Pathological mechanisms underlying aneurysmal subarachnoid hemorrhage and vasospasm. *J Clin Neurosci*. 22:1-5, 2015-03-15
23. Schievink WI: Intracranial aneurysms. *N Engl J Med*. 336:28-40, 1997
24. Wardlaw JM, White PM: The detection and management of unruptured intracranial aneurysms. *Brain* 123:205-221, 2000
25. Wilkins RH: Cerebral vasospasm. *Crit Rev Neurobiol*. 6:51-77, 1990
26. Dusick JR, Gonzalez NR: Management of arterial vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Seminars In Neurology* 33: 488-497, 2013

27. Weir B, MacDonald RL, Stoodley M: Etiology of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir Suppl* (Wien). 72:27-46, 1999
28. Kumral K. Serebrovasküler hastalıklar. Bornova, İzmir: *Ege Üniversitesi Matbaası*, 1975.
29. Weir B. Intracranial aneurysm and SAH. In Wilkins RH and Rengachary SS (Eds). *Neurosurgery*, New York: McGraw Hill Book Comp, 1985;1308-1329
30. Lovelock CE, Rinkel GJ, Rothwell PM. Time trends in outcome of subarachnoid hemorrhage: population-based study and systematic review. *Neurology*. 2010;74:1494–1501
31. Terpolilli NA, Brem C, Bühler D, Plesnila N. Are We Barking Up the Wrong Vessels? Cerebral Microcirculation After Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*. 2015 Oct;46(10):3014-9.
32. Stornelli SA, French JD. Subarachnoid hemorrhage—factors in prognosis and management. *J Neurosurg*. 1964;21:769–780.
33. Schubert GA, Seiz M, Hegewald AA, Manville J, Thomé C. Hypoperfusion in the acute phase of subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;110(Pt 1):35–38.
34. Honda M, Sase S, Yokota K, Ichibayashi R, Yoshihara K, Sakata Y, et al. Early cerebral circulatory disturbance in patients suffering subarachnoid hemorrhage prior to the delayed cerebral vasospasm stage: xenon computed tomography and perfusion computed tomography study. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2012;52:488–494.
35. Ohkuma H, Manabe H, Tanaka M, Suzuki S. Impact of cerebral microcirculatory changes on cerebral blood flow during cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2000;31:1621–1627.
36. Weidauer S, Vatter H, Beck J, Raabe A, Lanfermann H, Seifert V, et al. Focal laminar cortical infarcts following aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Neuroradiology*. 2008;50:1–8
37. Feiler S, Friedrich B, Schöller K, Thal SC, Plesnila N. Standardized induction of subarachnoid hemorrhage in mice by intracranial pressure monitoring. *J Neurosci Methods*. 2010;190:164–170.
38. Claassen J, Carhuapoma JR, Kreiter KT, Du EY, Connolly ES, Mayer SA. Global cerebral edema after subarachnoid hemorrhage: frequency, predictors, and impact on outcome. *Stroke*. 2002;33:1225–1232.

39. Plesnila N. Pathophysiological role of global cerebral ischemia following subarachnoid hemorrhage: the current experimental evidence. *Stroke Res Treat.* 2013;2013:651958.
40. Herz DA, Baez S, Shulman K. Pial microcirculation in subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 1975;6:417–424.
41. Uhl E, Lehmborg J, Steiger HJ, Messmer K. Intraoperative detection of early microvasospasm in patients with subarachnoid hemorrhage by using orthogonal polarization spectral imaging. *Neurosurgery.* 2003;52:1307–15, discussion 1315.
42. Pennings FA, Bouma GJ, Ince C. Direct observation of the human cerebral microcirculation during aneurysm surgery reveals increased arteriolar contractility. *Stroke.* 2004;35:1284–1288.
43. Carrera E, Kurtz P, Badjatia N, Fernandez L, Claassen J, Lee K, et al. Cerebrovascular carbon dioxide reactivity and delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. *Arch Neurol.* 2010;67:434–439.
44. Budohoski KP, Czosnyka M, Smielewski P, Kaspruwicz M, Helmy A, Bulters D, et al. Impairment of cerebral autoregulation predicts delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage: a prospective observational study. *Stroke.* 2012;43:3230–3237.
45. Friedrich B, Müller F, Feiler S, Schöller K, Plesnila N. Experimental subarachnoid hemorrhage causes early and long-lasting microarterial constriction and microthrombosis: an in-vivo microscopy study. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012;32:447–455.
46. Iadecola C, Pelligrino DA, Moskowitz MA, Lassen NA. Nitric oxide synthase inhibition and cerebrovascular regulation. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1994;14:175–192.
47. Nishizawa S, Yamamoto S, Yokoyama T, Ryu H, Uemura K. Chronological changes of arterial diameter, cGMP, and protein kinase C in the development of vasospasm. *Stroke.* 1995;26:1916–20, discussion 1920.
48. Sehba FA, Schwartz AY, Cheresnev I, Bederson JB. Acute decrease in cerebral nitric oxide levels after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2000;20:604–611.
49. Sun BL, Zhang SM, Xia ZL, Yang MF, Yuan H, Zhang J, et al. L-arginine improves cerebral blood perfusion and vasomotion of microvessels following subarachnoid hemorrhage in rats. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2003;29:391–400.

50. Borcuch K, Michalik R, Domasiewicz A. Structure and function of cerebral microcirculation after subarachnoid hemorrhage caused by puncture of the bifurcation of the internal carotid artery in the rat. *Brain05 Proc*, 2005; A. 149.
51. Koźniewska E, Michalik R, Rafałowska J, Gadamski R, Walski M, Frontczak-Baniewicz M, Piotrowski P, Czernicki Z. Mechanisms of vascular dysfunction after subarachnoid hemorrhage. *J Physiol Pharmacol*. 2006 Nov;57 Suppl 11:145-60.
52. Zabramski JM, Spetzler RF, Bonstelle C: Chronic cerebral vasospasm: effect of volume and timing of hemorrhage in a canine model. *Neurosurgery* 18:1–6, 1986
53. Sehba FA, Mostafa G, Friedrich V Jr, Bederson JB. Acute microvascular platelet aggregation after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2005;102:1094–1100.
54. Kasuya H, Shimizu T, Okada T, et al. Activation of the coagulation system in the subarachnoid space after subarachnoid hemorrhage: serial measurements of fibrinogen peptide A and bradykinin of cerebrospinal fluid and plasma in patients with subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)* 1988; 91: 120-125.
55. Pickard JD, Walker V, Brandt L, Zygmunt S, Smythe J. Effect of intraventricular haemorrhage and rebleeding following subarachnoid haemorrhage on CSF eicosanoids. *Acta Neurochir (Wien)* 1994; 129: 152-157.
56. Macdonald RL, Weir BK, Marton LS, et al. Role of adenosine5'-triphosphate in vasospasm after subarachnoid hemorrhage: human investigations. *Neurosurgery* 2001; 48: 854-862.
57. Saida A, Ito H, Shibuya T, Watanabe Y. Time-course alterations of monoamine levels and cerebral blood flow in brain regions after subarachnoid hemorrhage in rats. *Brain Res Bull* 1997; 43: 69-80.
58. Ignarro L. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1990; 30: 535-560.
59. Ignarro L. Nitric oxide as unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53: 503-514.
60. Clozel M, Watanabe H. BQ-123, a peptidergic endothelin ETA receptor antagonist, prevents the early cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage after intracisternal but not intravenous injection. *Life Sci* 1993; 52: 825-834.
61. Alonso-Galicia M, Hudetz AG, Shen H, Harder DR, Roman RJ. Contribution of 20-HETE to vasodilator actions of nitric oxide in cerebral microcirculation. *Stroke* 1999; 30: 2727-2734.

62. Kehl F, Cambj-Sapunar L, Maier K, et al. 20-HETE contributes to the acute fall in cerebral blood flow after subarachnoid hemorrhage in the rat. *Am J Physiol* 2002; 282: H1556-H1565.
63. Bederson JB, Levy AL, Ding W, et al. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1998; 42, 352-362.
64. Kasuya H, Weir BKA, Nakane M, et al. Nitric oxide synthase and guanylate cyclase levels in canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1995; 82: 250-255.
65. Sehba FA, Ding WH, Cheresnev I., Bederson JB. Effects of S-nitrosoglutathione on acute vasoconstriction and glutamate release after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1999; 30:1955-1961.
66. Nishizawa S, Chen D, Yokoyama T, Yokota N, Otha S. Endothelin-1 initiates the development of spasm after subarachnoid haemorrhage through protein kinase C activation, but does not contribute to prolonged vasospasm. *Acta Neurochir (Wien)* 2000; 142: 1409-1415.
67. Lin G, Macdonald LR, Marton LS. Hemoglobin increases endothelin-1 in endothelial cells by decreasing nitric oxide. *Biochem Biophys Res Comm* 2001; 280: 824-830.
68. Cocks T, Malta E, King SJ, Woods RL, Angus JA. Oxyhemoglobin increases the production of endothelin-1 by endothelial cells in culture. *Eur J Pharmacol* 1991; 196: 177-182.
69. Rap ZM, Chwalbińska-Moneta J. Vasopressin concentration in the blood during short-term intracranial hypertension in cats. *Adv Neurol* 1978; 20: 381-388.
70. Kleindienst A, Hildebrandt G, Kroemer SA, et al. Hypothalamic neuropeptide release after experimental subarachnoid hemorrhage: in vivo microdialysis study. *Acta Neurol Scand* 2004; 109: 361-368.
71. Golino P, Ashton JH, Buja LM, Rosolowsky M, Taylor AL, McNatt J, et al. Local platelet activation causes vasoconstriction of large epicardial canine coronary arteries in vivo. Thromboxane A2 and serotonin are possible mediators. *Circulation*. 1989;79:154–166.
72. Konidala S, Gutterman DD. Coronary vasospasm and the regulation of coronary blood flow. *Prog Cardiovasc Dis*. 2004;46:349–373.
73. Rosenblum WI. Platelet adhesion and aggregation without endothelial denudation or exposure of basal lamina and/or collagen. *J Vasc Res*. 1997;34:409–417.

74. Dóczi T. The pathogenetic and prognostic significance of blood-brain barrier damage at the acute stage of aneurysmal subarachnoid haemorrhage. Clinical and experimental studies. *Acta Neurochir (Wien)*. 1985;77:110–132.
75. Kamiya K, Kuyama H, Symon L. An experimental study of the acute stage of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1983;59:917–924.
76. Johshita H, Kassell NF, Sasaki T, Ogawa H. Impaired capillary perfusion and brain edema following experimental subarachnoid hemorrhage: a morphometric study. *J Neurosurg*. 1990;73:410–417.
77. Feiler S, Plesnila N, Thal SC, Zausinger S, Schöller K. Contribution of matrix metalloproteinase-9 to cerebral edema and functional outcome following experimental subarachnoid hemorrhage. *Cerebrovasc Dis*. 2011;32:289–295.
78. Badaut J, Brunet JF, Grollmund L, Hamou MF, Magistretti PJ, Villemure JG, et al. Aquaporin 1 and aquaporin 4 expression in human brain after subarachnoid hemorrhage and in peritumoral tissue. *Acta Neurochir Suppl*. 2003;86:495–498.
79. Ostrowski RP, Colohan AR, Zhang JH. Molecular mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*. 2006;28:399–414.
80. Hansen AJ, Lauritzen M. The role of spreading depression in acute brain disorders. *An Acad Bras Cienc*. 1984;56:457–479.
81. Bosche B, Graf R, Ernestus RI, Dohmen C, Reithmeier T, Brinker G, et al; Members of the Cooperative Study of Brain Injury Depolarizations (COSBID). Recurrent spreading depolarizations after subarachnoid hemorrhage decreases oxygen availability in human cerebral cortex. *Ann Neurol*. 2010;67:607–61
82. Dreier JP, Körner K, Ebert N, Görner A, Rubin I, Back T, et al. Nitric oxide scavenging by hemoglobin or nitric oxide synthase inhibition by N-nitro-L-arginine induces cortical spreading ischemia when K⁺ is increased in the subarachnoid space. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1998;18:978–990.
83. Offenhauser N, Windmüller O, Strong AJ, Fuhr S, Dreier JP. The gamut of blood flow responses coupled to spreading depolarization in rat and human brain: from hyperemia to prolonged ischemia. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;110 (Pt 1):119–124.
84. Dreier JP. The role of spreading depression, spreading depolarization and spreading ischemia in neurological disease. *Nat Med*. 2011 Apr;17(4):439-47.
85. Canals, S. *et al*. Longitudinal depolarization gradients along the somatodendritic axis of CA1 pyramidal cells: a novel feature of spreading depression. *J Neurophysiol*. 94, 943–951 (2005).

86. Sukhotinsky, I., Dilekoz, E., Moskowitz, M.A. & Ayata, C. Hypoxia and hypotension transform the blood flow response to cortical spreading depression from hyperemia into hypoperfusion in the rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 28, 1369–1376 (2008).
87. Mohr J P, Caplan L R, Melski J W, *et al.*: The Harvard cooperative stroke registry: A prospective study. *Neurology* 28: 754-62, 1978.
88. Verweij R D, Wijdicks E F M, van Gijn J: Warning headache in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A casecontrol study. *Arch Neurol* 45: 1019-20, 1988.
89. Linn F H H, Wijdicks E F M, van der Graaf Y, *et al.*: Prospective study of sentinel headache in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Lancet* 344: 590-3, 1994.
90. Kumral K. İntrakranial kanamalarda klinik bulgular. Ed.Özdamar N, Ayın kitabı 43, *İntrakranial kanamalar*. İzmir, Ege Üniversitesi Matbaası, 1985; 5-25.
91. Manschot W A: Subarachnoid hemorrhage. Intraocular symptoms and their pathogenesis. *Am J Ophthalmol* 38: 501-5, 1954.
92. Tsementzis S A, Williams A: Ophthalmological signs and prognosis in patients with a subarachnoid hemorrhage. *Neurochirurgia* 27: 133-5, 1984.
93. Vanderlinden R G, Chisholm L D: Vitreous hemorrhages and sudden increased intracranial pressure. *J Neurosurg* 41: 167-76, 1974.
94. Pfausler B, Belcl R, Metzler R, *et al.*: Terson's syndrome in spontaneous subarachnoid hemorrhage: A prospective study in 60 consecutive patients. *J Neurosurg* 85: 392-4, 1996.
95. Garfinkle A M, Danys I R, Nicole D A, *et al.*: Terson's syndrome: A reversible cause of blindness following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 76: 766-71, 1992.
96. Loughheed WM, Barnette HJM. Lesions producing spontaneous hemorrhage. In Youmans JR. (Ed). *Neurological Surgery*, Toronto:WB Saunders Co, 1973:709-723.
97. Milhorat T H: Acute hydrocephalus after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 20: 15-20, 1987.
98. Karttunen AI, Jartti PH, Ukkola VA, Sajanti J, Haapea M. Value of the quantity and distribution of subarachnoid haemorrhage on CT in the localization of a ruptured cerebral aneurysm. *Acta Neurochir (Wien)*. 2003 Aug;145(8):655-61; discussion 661, 2003

99. Gorchynski J, Oman J, Newton T. Interpretation of Traumatic Lumbar Punctures in the Setting of Possible Subarachnoid Hemorrhage: Who Can Be Safely Discharged? *The California Journal of Emergency Medicine* VIII:1 February 2007
100. Perry JJ, Sivilotti ML, Stiell IG, Wells GA, Raymond J, Mortensen M, Symington C. Should spectrophotometry be used to identify xanthochromia in the cerebrospinal fluid of alert patients suspected of having subarachnoid hemorrhage? *Stroke* 37(10): 2467-72, 2006
101. Consensus Conference: Magnetic resonance imaging. *JAMA* 259: 2132-8, 1988.
102. White PM, Wardlaw JM, Easton V. Can noninvasive imaging accurately depict intracranial aneurysms? A systematic review. *Radiology*. 217(2):361-70, 2000
103. Ross J S, Masaryk T J, Modic M T, *et al.*: Intracranial aneurysms: Evaluation by MR angiography. *AJNR* 11: 449-56, 1990.
104. Kelliny M, Maeder P, Binaghi S, Marc Levivier M. Cerebral aneurysm exclusion by CT angiography based on subarachnoid hemorrhage pattern: a retrospective study. *BMC Neurology* 2011, 11:8
105. Cedzich C, Roth A. Neurological and psychosocial outcome after subarachnoid haemorrhage, and the hunt and hess scale as a predictor of clinical outcome. *Zentralbl Neurochir.* 2005 Aug;66(3):112-8.
106. Sano H, Satoh A, Murayama Y, Kato Y, Origasa H, Inamasu J, Nouri M, Cherian I, Saito N; members of the 38 registered institutions and WFNS Cerebrovascular Disease & Treatment Committee. Modified World Federation of Neurosurgical Societies subarachnoid hemorrhage grading system. *World Neurosurg.* 2015 May;83(5):801-7.
107. Dorsch N W C, Young N, Kingston R J, *et al.*: Early experience with spiral CT in the diagnosis of intracranial aneurysms. *Neurosurgery* 36: 230-8, 1995.
108. Pothiwala S. Spontaneous subarachnoid hemorrhage as a differential diagnosis of pre-hospital cardiac arrest. *Indian J Crit Care Med.* 2012 Oct;16(4):216-8.
109. Petruk KC, West M, Mohr G: Nimodipine treatment in poorgrade aneurysm patients. Results of a multicenter double-blind placebo-controlled trial. *J Neurosurg.* 68:505-517, 1988
110. Rinkel GJ, Feigin VL, Algra A, van den Bergh WM, Vermeulen M, van Gijn J: Calcium antagonists for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(1):CD000277

111. Connolly ES Jr, Rabinstein AA, Carhuapoma JR: American Heart Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Clinical Cardiology. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 43:1711–1737, 2012
112. Soloman R A, Fink M E, Lennihan L: Prophylactic volume expansion therapy for the prevention of delayed cerebral ischemia after early aneurysm surgery. *Arch Neurol* 45:325-32, 1988.
113. Davila S, Oliver B, Molet J, *et al.*: Spontaneous thrombosis of an intracranial aneurysm. *Surg Neurol* 22: 29-32, 1984.
114. Kumar S, Rao V R K, Mandalam K R, *et al.*: Disappearance of a cerebral aneurysm: An unusual angiographic event. *Clin Neurol Neurosurg* 93: 151-3, 1991.
115. Sobel D F, Dalessio D, Copeland B, *et al.*: Cerebral aneurysm thrombosis, shrinkage, then disappearance after subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol* 45:133-7, 1996.
116. Spetzler R F, Winestock D, Newton H T, *et al.*: Disappearance and reappearance of cerebral aneurysm in serial arteriograms: Case report. *J Neurosurg* 41: 508-10, 1974
117. Atkinson J L D, Lane J I, Colbassani H J, *et al.*: Spontaneous thrombosis of posterior cerebral artery aneurysm with angiographic reappearance. *J Neurosurg* 79: 434-7, 1993.
118. Morioka M, Marubayashi T, Masumitsu T, Hori T, Ushio Y. Wrapping of intracranial aneurysms with gauze sponge. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 1991 Mar;31(3):135-40.
119. Kassell N F, Torner J C, Adams H P: Antifibrinolytic therapy in the acute period following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: Preliminary observations from the cooperative aneurysm study. *J Neurosurg* 61: 225-30, 1984.
120. Aring C D: Treatment of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Arch Neurol* 47: 450-1, 1990.
121. Fox A J, Vinuela F, Pelz D M, *et al.*: Use of detachable balloons for proximal artery occlusion in the treatment of unclippable cerebral aneurysm. *J Neurosurg* 66: 40-6, 1987.

122. Bey L, Connolly S, Duong H, *et al.*: Treatment of inoperable carotid aneurysms with endovascular carotid occlusion after extracranial-intracranial bypass surgery. *Neurosurgery* 41: 1225-34, 1997.
123. Drake C G: Ligation of the vertebral (unilateral or bilateral) or basilar artery in the treatment of large intracranial aneurysms. *J Neurosurg* 43: 255-74, 1975.
124. Swearingen B, Heros R C: Common carotid occlusion for unclippable carotid aneurysms: An old but still effective operation. *Neurosurgery* 21: 288-95, 1987.
125. Weir RU, Marcellus ML, Do HM, Steinberg GK, Marks MP. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage in patients with Hunt and Hess grade 4 or 5: treatment using the Guglielmi detachable coil system. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2003 Apr;24(4):585-90. PubMed PMID: 12695185
126. Peters A, Palay SL, deWebster HF. *The Fine Structure of the Nervous System: Neurons and their Supporting Cells.* New York: Oxford University Press; 1991. p. 344-55.
127. Uehara Y, Fujihwara T, Kaido T. Morphology of vascular smooth muscle fibers and pericytes: Scanning electron microscopic studies. In: Motta PM, editor. *Ultrastructure of Smooth Muscle Cell.* Boston, MA: Kluwer Academic; 1990. p. 237-51.
128. Ushiwata I, Ushiki T. Cytoarchitecture of the smooth muscles and pericytes of rat cerebral blood vessels. A scanning electron microscopic study. *J Neurosurg* 1990;73:82-90.
129. Peppiatt CM, Howarth C, Mobbs P, Attwell D. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature* 2006; 443:700-4.
130. Wilson MH. Monro-Kellie 2.0: The dynamic vascular and venous pathophysiological components of intracranial pressure. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016 May 12.
131. Raichle ME, Grubb RL Jr, Gado MH, Eichling JO, Ter-Pogossian MM. Correlation between regional cerebral blood flow and oxidative metabolism. In vivo studies in man. *Arch Neurol.* 1976 Aug;33(8):523-6.
132. Powers WJ, Grubb RL Jr, Darriet D, Raichle ME. Cerebral blood flow and cerebral metabolic rate of oxygen requirements for cerebral function and viability in humans. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1985 Dec;5(4):600-8.
133. Meguro T, Clower B, Carpenter R. Improved rat model for cerebral vasospasm studies. *Neurol Res* 2001; 23: 761-766.

134. Prunell GF, Mathiesen T, Svendgaard N-A. A new experimental model in rats for study of the pathophysiology of subarachnoid hemorrhage. *NeuroReport* 2002; 13 (18): 2553-2556.
135. Gules I, Satoh M, Clower BR, Nanda A, Zhang JH. Comparison of three rat models of cerebral vasospasm. *Am J Physiol* 2002, 283: H2551-H2559.
136. Prunell GF, Mathiesen T, Diemer NH, Svendgaard N-A. Experimental subarachnoid hemorrhage: subarachnoid blood volume, mortality rate, neuronal death, cerebral blood flow, and perfusion pressure in three different rat models. *Neurosurgery* 2003; 52: 165-176.
137. Janaka Senarathna, Student Member, IEEE, Abhishek Rege, Nan Li, and Nitish V. Thakor, Fellow, IEEE. Laser Speckle Contrast Imaging: Theory, Instrumentation and Applications. IEEE Reviews in biomedical engineering, Vol. 6, 2013
138. Bühler D, Schüller K, Plesnila N. Protocol for the induction of subarachnoid hemorrhage in mice by perforation of the Circle of Willis with an endovascular filament. *Transl Stroke Res.* 2014 Dec;5(6):653-9
139. Sugawara T, Ayer R, Jadhav V, Zhang JH. A new grading system evaluating bleeding scale in filament perforation subarachnoid hemorrhage rat model. *J Neurosci Methods.* 2008 Jan 30;167(2):327-34. Epub 2007 Aug 12
140. Cahill J, Zhang JH. Subarachnoid hemorrhage: is it time for a new direction? *Stroke.* 2009 Mar;40(3 Suppl):S86-7.
141. Veelken JA, Laing RJ, Jakubowski J. The Sheffield model of subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke.* 1995 Jul;26(7):1279-83
142. Kamii H, Kato I, Kinouchi H, Chan PH, Epstein CJ, Akabane A, Okamoto H, Yoshimoto T. Amelioration of vasospasm after subarachnoid hemorrhage in transgenic mice overexpressing CuZn-superoxide dismutase. *Stroke.* 1999 Apr;30(4):867-71
143. Parra A, McGirt MJ, Sheng H, Laskowitz DT, Pearlstein RD, Warner DS. Mouse model of subarachnoid hemorrhage associated cerebral vasospasm: methodological analysis. *Neurol Res.* 2002 Jul;24(5):510-6.
144. Thal SC, Plesnila N. Non-invasive intraoperative monitoring of blood pressure and arterial pCO₂ during surgical anesthesia in mice. *J Neurosci Methods.* 2007 Jan 30;159(2):261-7
145. Briers JD. Laser Doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiol Meas.* 2001 Nov;22(4):R35-66. Review.

146. Dreier, J.P. *et al.* Delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage are associated with clusters of spreading depolarizations. *Brain* 129, 3224–3237 (2006).
147. Schüller, K., Bühler, D., Plesnila, N. A Murine Model of Subarachnoid Hemorrhage. *J. Vis. Exp.* (81), e50845, 2013.
148. Adams HP Jr, Adams RJ, Brott T, del Zoppo GJ, Furlan A, Goldstein LB, Grubb RL, Higashida R, Kidwell C, Kwiatkowski TG, Marler JR, Hademenos GJ; Stroke Council of the American Stroke Association. Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: A scientific statement from the Stroke Council of the American Stroke Association. *Stroke*. 2003 Apr;34(4):1056-83.
149. An H, Ford AL, Eldeniz C, Chen Y, Vo KD, Zhu H, Powers WJ, Lin W, Lee JM. Reperfusion Beyond 6 Hours Reduces Infarct Probability in Moderately Ischemic Brain Tissue. *Stroke*. 2016 Jan;47(1):99-105.