

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**Deneyssel Subaraknoid Kanama Modelinde
Necrostatin-1'in
Serebral Vazospazm Üzerine Etkisinin
Değerlendirilmesi**

DR. MEHMET HAKAN ŞAHİN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. HAKAN HADİ KADIOĞLU

ERZURUM

2017

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İLGİ: 22.06.2017 tarih ve 42190979-01-02/ E.17000180603 sayılı yazınız.

TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

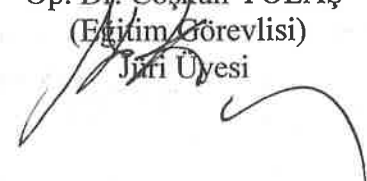
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı tıpta uzmanlık öğrencisi Arş.Gör.Dr Mehmet Hakan ŞAHİN'in "Deneysel Subaraknoid Kanama Modelinde Necrostatin-1'in Serebral Vazospazm Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi" konulu tezini incelemek üzere oluşturulan tez jürisine üye olarak seçildiğimizin ilgi yazınızla bildirilmesi üzerine jüri üyeleri, 22/06/2017 tarihinde toplanmış ve ilgili öğrenci tez savunmasına alınmıştır.

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda adı geçenin tezi jüri üyelerince oy birliği ile kabul edilmiştir.

Bilgilerinize arz ederiz.


Prof. Dr. Hakan Hadi KADIOĞLU
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Gökşin ŞENGÜL
Jüri Üyesi

Op. Dr. Coşkun YOLAŞ
(Eğitim Görevlisi)
Jüri Üyesi


TEŞEKKÜR

Anabilim dalı başkanımız ve tez danışmanım Prof. Dr. Hakan Hadi Kadioğlu'na, tüm eğitimim boyunca ve tezimi hazırladığım süre zarfında bana yol gösterdiği ve öncülük ettiği için teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca klinik eğitimime emeklerinden dolayı anabilim dalımızın öğretim üyelerine, tez çalışmamın biyokimyasal hazırlıklarında ve deneysel çalışmam süresince yardımcı olan araştırma görevlileri ve diğer çalışma arkadaşlarıma, patolojik spesmenlerin incelenmesinde yardımcı ve öğretici olan Yrd. Doç. Dr. Betül Gündoğdu'ya, istatistiksel değerlendirmelerdeki hassasiyeti sayesinde elde ettiğimiz sonuçları ortaya çıkarmada pay sahibi olan Yrd. Doç. Dr. Zahide Koşan'a, teşekkür ederim.

Tabiki asistanlığımın her aşamasında gece gündüz bana desteklerini esirgemeyen sevgili eşime ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Mehmet Hakan Şahin

Haziran 2017

ÖZET

Deneyisel Subaraknoid Kanama Modelinde Necrostatin-1'in Serebral Vazospazm Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

MEHMET HAKAN ŞAHİN

ERZURUM 2017

Amaç: Bu çalışmada Necrostatin-1(NEC-1)' in ratlarda oluşturulan deneyisel subaraknoid kanama (SAK) modelinde vazospazm üzerine etkileri incelendi.

Gereç ve Yöntem: 56 adet erkek Wistar cinsi albino rat, altı gruba ayrıldı. Grup 1 (kontrol), grup 2 (sham), grup 3 (SAK sonrası birinci saatte dekapitasyon), grup 4 (SAK sonrası 48.saatte dekapitasyon), grup 5 (SAK oluşturulmadan önce NEC-1 verilip, 15 dakika sonrasında SAK oluşturulup bundan 1 saat sonra ise sakrifiye edilen grup) ve grup 6 (SAK oluşturulup 24 saat sonra NEC-1 verilip 2.günde sakrifiye edilen grup) olarak tanzim edildi. NEC-1, 1 uq dimetil sülfoksit(DMSO) içerisinde çözülmüş 2.6 uq dozunda intrasisternal yolla verildi. Dekapitasyon işlemi sonrasında baziler arterlerin lümen alanları ve duvar kalınlıkları stereolojik yöntemle histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: SAK oluşturulmadan önce uygulanan NEC-1'in SAK sonrası gelişen vazospazmı istatistiksel olarak anlamlı şekilde önlediği gözlemlendi. Arter duvar kalınlıklarının ise sadece SAK yapılan gruplarda istatistiksel olarak arttığı, normal grup, sham grubu ve NEC-1 verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı artışlar olmadığı tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışmada elde edilen bulgular, NEC-1'in ratlarda SAK sonrası vazospazmı önleyici olabileceğini göstermektedir. Klinik uygulamaya geçilebilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Necrostatin-1, stereoloji, subaraknoid kanama, vazospazm

ABSTRACT

Evaluation of Necrostatin-1 Effect on Cerebral Vasospasm after Experimental Subarachnoid Hemorrhage Model

MEHMET HAKAN ŞAHİN

ERZURUM 2017

Objective: In this study, we investigated the effects of necrostatin-1(NEC-1) on subarachnoid hemorrhage (SAH) induced vasospasm in a rat model.

Material and Method: 56, male Wistar albino rats were randomly divided into six groups. Group 1 (control), group 2 (sham), group 3 (decapitation one hour after SAH), group 4 (decapitation 48 hours after SAH), group 5 (NEC-1 given 15 minutes before SAH and decapitation one hour after SAH), group 6 (NEC-1 24th hours after SAH and decapitation after 48th hour). NEC-1 was applied intracisternal with a 1 uq in dimethyl sulfoxide (DMSO) is resolved at a dose of 2.6 uq. After decapitation, basilar arteries cross sectional areas and wall thicknesses were determined histopathologically by stereological methods.

Results: NEC-1 which was applied before SAH was found statistically significant to be preventive on vasospasm following SAH. Arterial wall thicknesses were found to be statistically increased only in the SAH group, but not statistically significant in the normal group, the sham group and the NEC-1 treated groups.

Conclusion: The findings which are obtained from this study demonstrates that NEC-1 may be preventive in vasospasm after SAH in rats. Further studies are needed for clinical use of this agent.

Keywords: Necrostatin-1, stereology, subarachnoid hemorrhage, vasospasm

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1.2 TEZ METNİ	1
1.2.1 GİRİŞ ve AMAÇ	1
1.2.2 GENEL BİLGİLER.....	3
1.2.2.1 Subaraknoid Kanama	3
1.2.2.1.1 Tanım.....	3
1.2.2.1.2 Epidemiyoloji	3
1.2.2.1.3 Etiyoloji	4
1.2.2.1.4 Risk Faktörleri	4
1.2.2.1.5 Semptom ve Bulgular, Klinik Evrelemeler	5
1.2.2.1.5.1 Semptom ve Bulgular	5
1.2.2.1.5.2 Klinik Evrelemeler	7
1.2.2.1.6 Yardımcı Tetkikler	9
1.2.2.1.7 Anevrizmatik Subaraknoid Kanama'nın Doğal Seyri ve Prognozu.....	10
1.2.2.2 Anevrizmatik Subaraknoid Kanama'nın Komplikasyonları	10
1.2.2.3 Serebral Vazospazm	13
1.2.2.3.1 Vazospazm İnsidansı ve Zaman Aralığı.....	13
1.2.2.3.2 Vazospazmın Klinik Belirtileri ve Tanısı.....	14
1.2.2.3.3 Etiyoloji ve Patogenez	14
1.2.2.3.3.1 Damar Düz Kaslarında Kasılma.....	15
1.2.2.3.3.2 Spazmojenler	15
1.2.2.3.4 Vazospazm-İnflamasyon İlişkisi	17
1.2.2.3.4.1 Subaraknoid Kanama Sonrası Akut İnflamasyonun Belirlenmesi	17
1.2.2.3.4.1.1 Subaraknoid Kanama Sonrası BOS'ta İnflamatuar Aracılar	17
1.2.2.3.4.1.2 Subaraknoid Kanama Sonrası Kandaki İnflamatuar Aracılar	19
1.2.2.3.4.1.3 İnflamasyon ve Anevrizma Oluşumu	19
1.2.2.3.4.2 Subaraknoid Kanama Hayvan Modellerinde İnflamasyon	19

1.2.2.3.4.3 Subaraknoid Kanama Sonrası İnflamasyonun Vazospazmdaki rolü .	20
1.2.2.3.4.3.1 Proinflamatuvar Ajanlarla Vazospazm İndüksiyonu.....	20
1.2.2.3.4.3.2 Vazospazm Gelişimine Bağlı İnflamasyon Molekülleri	21
1.2.2.3.4.3.3 Vazospazm Tedavisinde Anti-İnflamatuvar Denemeler	23
1.2.2.3.4.4 Subaraknoid Kanama Sonrası Erken Beyin Hasarında ve Gecikmiş Nörolojik Bozulmada İnflamasyonun Rolü	25
1.2.2.3.5 Vazospazmı Önleyici ve Tedavi Edici Yöntemler	26
1.2.2.3.5.1 Tıbbi Terapiler.....	26
1.2.2.3.5.2 Hemodinamik Arttırma	27
1.2.2.3.5.3 Vazorelaksanlar	28
1.2.2.3.5.4 Girişimsel Terapiler.....	28
1.2.2.3.5.4.1 Tıbbi İntraarteriyel Tedaviler	28
1.2.2.3.5.4.2 Mekanik İntraarteriyel Tedaviler.....	28
1.2.2.3.5.4.2.1 Anjiyoplasti	28
1.2.2.3.5.4.2.2 Aort Obstrüksiyonu	29
1.2.2.4 Hücre Ölüm Mekanizmaları: Apoptoz, Nekroz ve Nekropitoz	29
1.2.2.4.1 Nekropitozun Moleküler Mekanizması	30
1.2.2.5 Nekrostatin-1	32
1.2.2.5.1 Nekrostatin-1 ile İlgili Beyinde Yapılan Çalışmalar	32
1.2.3 GEREÇ ve YÖNTEM	34
1.2.3.1 Deney Grupları	34
1.2.3.2 Cerrahi İşlem	35
1.2.3.3 Spesmenleri İnceleme Yöntemleri	40
1.2.4 BULGULAR	42
1.2.4.1 Makroskopik İnceleme	42
1.2.4.2 Histolojik İnceleme	42
1.2.4.3 Stereolojik İnceleme	48
1.2.4.3.1 Stereolojik Olarak Ölçülen Baziler Arter Lümen Alanı.....	48
1.2.4.3.2 Stereolojik Olarak Ölçülen Baziler Arter Duvar Kalınlığı.....	49
1.2.4.4 Histopatolojik Olarak Baziler Artere Ait Elde Edilen Ölçüm Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	50
1.2.5 TARTIŞMA.....	54
1.2.6 SONUÇ ve ÖNERİLER	59

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Subaraknoid Kanama Etyolojik Sebepleri.....	4
Tablo 2. Anevrizmal Subaraknoid Kanama Klinik Sınıflaması.....	7
Tablo 3. Anevrizmal Subaraknoid Kanama Radyolojik Sınıflaması.....	8
Tablo 4 Stereolojik Olarak Ölçülen Her Bir Deneğe Ait Ortalama Baziler Arter Lümen Alanı (μm^2).....	50
Tablo 5. Stereolojik Olarak Ölçülen Baziler Arter Ortalama Lümen Alanları.....	51
Tablo 6. Her Bir Deneğe Ait Ortalama Baziler Arter Duvar Kalınlıkları (μm).....	52
Tablo 7. Baziler Arter Ortalama Duvar Kalınlıkları	52
Tablo 8. Baziler Arter Lümen Alanlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	53
Tablo 9. Baziler Arter Duvar Kalınlıklarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kontrol grubuna ait bir denekte perfüzyon fiksasyon işlemi yapıldıktan sonra oksipitoservikal bölgeden frontale doğru yapılan kraniektomi sonrası çıkarılan beyin dokusunun ventral ve dorsal açıdan görünüşleri.	36
Şekil 2. Sisterna magnaya 0.15cc steril serum fizyolojik enjeksiyonu.....	37
Şekil 3. Soldaki resimde supin pozisyonundaki denekte kalbin sol ventrikülünden otolog kan alınması görülmekte olup, sağdaki resimde alınan kanın sisterna magnaya enjekte edilişi gösterilmektedir.	38
Şekil 4. SAK oluşturulan grupta kraniektomi sonrası çıkarılan nöral doku i.....	38
Şekil 5. Fiksasyon sonrası alınan dokular ve dokulardan alınan kesitler	40
Şekil 6. 200'lük büyütmede stereolojik olarak baziler lümen alanı ölçümü	41
Şekil 7. Kontrol grubuna ait bir deneğin baziller arter kesiti.....	42
Şekil 8. Sham grubuna ait bir deneğin baziller arter kesiti	43
Şekil 9. SAK grubuna ait bir deneğin baziller arter kesiti.....	44
Şekil 10. Subaraknoid kanamadan 48 saat sonra dekapite edilen gruba ait bir deneğin baziller arter kesiti.....	45
Şekil 11. Profilaktik olarak NEC-1 verildikten sonra SAK oluşturulan gruba ait bir deneğin baziller arter kesiti	46
Şekil 12. SAK oluşturulan 24.saatte NEC-1 verilip 48.saatten sonra dekapite edilen gruba ait bir deneğin baziller arter kesiti	47
Şekil 13. H Baziler arter lümen alanlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucu 3. Grubun diğer gruplara göre anlamlı olduğunu gösteren grafik.....	51
Şekil 14. Baziler arter duvar kalınlıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucu üçüncü grubun diğer gruplara göre anlamlı olduğunu gösteren grafik.	53

SİMGELER ve KISALTMALAR

3D-DSA: üç boyutlu dijital subtraksiyon anjiyografi

AA: araşidonik asit

ACoA: anterior kommunikan arter

ADMA: asimetrik dimetil arjinin

ANOVA: analysis of variance

aSAK: anevrizmatik subaraknoid kanama

AVS: anjiyografik vazospazm

BMI: vücut kitle indeksi

BT: bilgisayarlı tomografi

BTA: bilgisayarlı tomografi anjiyografi

BTA-MMBE: bilgisayarlı tomografi anjiyografi-matched mask bone elemiation

cAMP: siklik adenzin monofosfat

CARAT: cerebral aneurysm rerupture after treatment

COX: siklooksijenaz

CYP: sitokrom P450

CYLD: cylindromatosis

DAMP: damage associated moleculars patern

DMSO: dimetil sülfoksit

DR: death reseptör

DSA: dijital subtraksiyon anjiyografi

EET: epoksikosatrenoik asit

eNO: endotelial nitrik oksit

ET: endotelin

ETRA: endotelin reseptör antagonisti

EVD: eksternal ventriküler drenaj

FA: formaldehit

FLAIR: fluid attenuation inverted recovery

FS: Fostadil Serin

GKS: glaskow koma skalası

Hb: hemoglobin

HMGB-1: high mobility group box-1

Hp: haptoglobulin

HpS: heat-shock protein

HPETE: hidroksikosatrenoik asit

IL: interlökin

İA: intraarteriyel

İV: intravenöz

JNK: Juvenil N Terminal Kinaz

LD: lomber drenaj

LFA-1: Lenfosit fonksiyon antijen-1

LOX: lipooksijenaz

LP: lomber ponksiyon

LT: lökotrien

LUBAC: lineer ubiquitin zincir kompleksi

MAPK: mitojen aktive protein kinaz

MCA: orta serebral arter

MLKL: mixed lineage kinase domain like

MRG: manyetik rezonans görüntüleme

NEC-1 : necrostatin-1

NSAİD: non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar

NF-κB: nükleer faktör kappa B

nNO: nöronal nitrik oksit

NO: nitrik oksit

NOS: nitrik oksit sentaz

PARP: Poli (ADP-Riboz) polimeraz

PG: prostoglandin

RIP: receptor interacting protein

RIPK: receptor interacting protein kinaz

SAK: subaraknoid kanama

SVS: semptomatik vazospazm

TEM: transmission elektron mikroskop

TNF: tümör nekrozis faktör

TNFR1: tümör nekrozis faktör reseptör 1

TLR: toll-like reseptör

TXA₂: tromboksan

VS: vazospazm

WHO: dünya sağlık örgütü

1.2.1 GİRİŞ VE AMAÇ

Beyinde subaraknoid mesafede arteriyel veya daha nadiren venöz kaynaklı kanamalara subaraknoid kanama (SAK) denilmektedir. SAK etyolojisi içerisinde travma, anevrizma, vasküler malformasyon, kanama bozuklukları, beyin tümörleri, antikoagülan kullanımı ve idiyopatik sebepler yer almaktadır. Non-travmatik SAK'ın en sık sebebi anevrizma kanamalarıdır. Anevrizmal SAK'ın görülme sıklığı Finlandiya ve Japon ırklarında daha fazla olmak birlikte ortalama 6-7/100.000'dir. Anevrizmal SAK'lar ciddi morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır. Anevrizmal SAK'ların %50'si mortal seyretmekte olup, her 8 hastadan 1'i hastaneye ulaşmadan ölmektedir (1, 2).

SAK geçirip hastaneye yatırılan hastalarda ise; serebral vazospazm, serebral iskemi, intraserebral hematoma, hidrosefali morbidite ve mortaliteyi etkileyen önemli etkenler olup, serebral vazospazm en ciddi komplikasyondur (3, 4). SAK'da vazospazm kanamayı takiben 3-14.günler arasında izlenmekte olup, 7-10.günlerde pik düzeye ulaşmaktadır. Serebral vazospazm, anevrizmal SAK geçiren hastalara yapılan arteriyogram sonuçlarına göre %67 oranında görülmektedir. Bu hastaların %20-30'unda ise beraberinde klinik vazospazm görülmektedir. Klinik vazospazmda artan baş ağrısı, bilinç bulanıklığı, artmış meningismus bulguları ve fokal nörolojik defisit görülmektedir (1, 5, 6).

Yıllardan beri yapılan klinik, laboratuvar ve deneysel çalışmalara rağmen hala vazospazma dair açıklanamayan hususlar bulunmaktadır. Yapılan çalışmaların bir kısmında ise nöroinflamasyonun vazospazm üzerinde anahtar rol üstlendiği görülmektedir. İnflamasyon dinamik bir süreç olup endojen veya eksojen inflamatuvar mediatörler tarafından yönetilmektedir. İnflamatuvar süreç enfeksiyon etkenlerinden salınan eksojen mediatörler ve enfeksiyon dışı hücresel travmalar sonucu oluşan nekrotik hücrelerden salınan endojen mediatörler üzerinden tetiklenir. Nekrotik hücrelerden salınan bu endojen mediatörlere; “damage-associated molecular patterns (DAMPs)” adı verilmektedir (7-10). DAMPs ; “high mobility group box-1(HMGB-1)”, “heat shock protein (HSPs)”, heparan sülfat, hyaluronik asit ve fibrinojen içermektedir. DAMPs “toll-like reseptörler (TLR)” ile etkileşime girip, “MyD88-nuclear factor κ B(NF- κ B)” bağımlı patolojik sinyal yolağı üzerinden tümör

nekrotizan faktör alfa (TNF- α), İnterlökün 1b (IL-1B) ve interlökün 6 (IL-6) başta olmak üzere inflamatuvar sitokinlerin salınımını sağlar (11, 12). HMGB1, HSPs, IL-1, IL-6 ve TNF- α 'nın yapılan çalışmalarda subaraknoid kanamada vazospazımda etken oldukları gösterilmiştir (13-15).

SAK sonrası inflamatuvar sürecin başlamasında merkez rolü bulunan nötrofiller hasar bölgesine ulaşp birikmektedir. Nötrofillerin birikimiyle birlikte apopitotik ve nekrotik süreç başlamaktadır. Apopitotik yıkım inflamasyonun rezülasyonunda çok önemli rol oynamaktadır. Bunun aksine nekrotik nötrofillerin sebep olduğu nekropitozise ise, nekrotik hücre duvarından salınan DAMPs aracılığı ile inflamatuvar cevap giderek artan şekilde tetiklenmektedir (16-18).

Necrostatin-1 (NEC-1) , “receptor interacting protein-1 (RIP1)” kinaz inhibitörü olup, nekropitozun etkili ve spesifik bir inhibitörüdür. NEC-1 in nöroprotektif etkileri travmatik beyin hasarlanması ve intraserebral hematom ile ilgili yapılmış olan deneysel hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (19-21).

NEC-1'in nekropitoz sürecini engellemesi sonucu, DAMPs ve TLR üzerinden spazmolitik sitokinlerin üretimini engelleyerek, serebral vazospazm üzerinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

1.2.2 GENEL BİLGİLER

1.2.2.1 Subaraknoid Kanama

1.2.2.1.1 Tanım

Duramater, piameter ve araknoid mater beyin ve spinal kordu saran ve koruyan zar yapılarıdır. Araknoid mater ile piamater arasındaki subaraknoid boşluğa olan kanamalara subaraknoid kanama (SAK) denilmektedir. Sebepleri travmatik ve travmatik olmayan SAK'lar şeklinde iki ana başlık altında toplanmaktadır. Travmatik olmayan SAK'lar ise %85 oranında anevrizmalar sebebiyle meydana gelmektedir (2, 22).

1.2.2.1.2 Epidemiyoloji

İnsidansı ırklar arasında farklılık göstermektedir. Her 100.000 kişide Japonlarda 22.7, Finlandiyada 19.7, Güney ve Orta Amerika'da 4.2 ve 22 ülkeyi içeren bu çalışmada geri kalan ülkelerde ise 9.1 insidans oranı bulunmaktadır. Tüm dünya genelinde ortalama insidansın 7-13/100000 olduğu görülmektedir.

Yaşla birlikte insidansı artmaktadır. 25-55 yaş arası erkeklerde, 55-85 yaş arası ise kadınlarda daha sık görülmektedir. 25-45 yaş arası yıllık insidans artışı 0,10 oranında iken, bu oran 55-85 yaş arası yıllık insidans artışı 1,61 olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmalarda aSAK'ın kadınlarda 1.24-1.58 kat daha fazla oranda gözükmektedir. Orta ve güney amerika'da yapılan bir çalışmada ise erkeklere daha sık olduğu gözükmektedir (23).

1.2.2.1.3 Etyoloji

Erişkinlerde travmatik olmayan SAK'ın yaklaşık olarak %85 nedeni sakküler anevrizmaların rüptüre olmasıdır. Yaklaşık %10'luk kısım non-anevrizmatik perimezensefalik SAK olup, %5 oranında ise nadir sebepler karşımıza çıkmaktadır (2). Subaraknoid kanama etyolojik sebepleri tablo 1'de özetlenmiştir (24).

Tablo 1. Subaraknoid Kanama Etiyolojik Sebepleri

Vasküler malformasyonlar	Serebral anevrizmalar(%80), aterosklerotik anevrizmalar, miyotik anevrizmalar, fuziform anevrizmalar
Arteriovenöz malformasyonlar	Arteriovenöz dural fistüller, kavernomlar, kapiller telenjektiazi, spinal vasküler malformasyonlar
Serebral Hemodinamik değişiklikler	Serebral venöz tromboz, moya moya sendromu, hiperperfüzyon sendromu, posterior ensefalopati sendromu, serebral vazokonstriksiyon sendromu, kritik karotid arter stenozu, orta serebral arter stenozu, sickle cell anemisi
Vasküler hastalıklar	Amiloid anjiyopati, fibromusküler displazi, vaskülitler, kollajen hastalıklar, Osler-Rendu-Weber hastalığı
Kan diskrazileri	Konjenital pıhtılaşma bozuklukları, Kazanılmış pıhtılaşma bozuklukları (antikoagülan ve fibronolitik kullanımı), Trombositopeni, Dissemine intravasküler koagülasyon, Lösemi
Enfeksiyonlar	Sepsis, meningoensefalit, bakteriyel endokardit, parazitler
Toksik Etkenler	Uyuşturucu maddeler (kokain, amfetamin) ve ilaçlar (fenilefrin ve sildenafil)
Serebral neoplaziler	Gliomalar, metastazlar, pitüiter apopleksi, hemanjioblastomalar
Cerrahi Müdahaleler	Kranial ve spinal cerrahiler
Perimezensefalik ve idiopatik kanamalar	
Kafa Travmaları	

1.2.2.1.4 Risk Faktörleri

Vasküler risk faktörlerini değiştirilebilir ve değiştirilemeyenler şeklinde 2 ana grup altında toplanabilir.

Değiştirilebilir etkenler içerisinde arteriyel hipertansiyon, alkol ve sigara kullanımı en ön sırayı almaktadır. Ayrıca aşırı fiziksel aktivitede risk faktörleri

içerisinde yer almaktadır. Diabetes Mellitus'un ise sadece SAK'ın alttıpi olan perimezensefalik kanamalarda risk faktörü olduğu görülmektedir (25, 26). Ayrıca hipertansiyon öyküsü olan ve beraberinde sigara kullanımı olan hastalarda, bu beraberliğin olmadığı hastalara göre anevrizma rüptür riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir (27). Diyetin SAK'da yeri vardır. Hiperlipidemi hastalarda SAK riski artarken bu oran vejeteryanlarda belirgin olarak azalmaktadır. Yapılan bir çalışmada hiperlipidemi ve hipertansiyonun kontrol altına alınması ve sigara kullanımının azaltılmasıyla birlikte SAK riskinde kayda değer bir artışın olmadığı görülmektedir (28, 29).

Değiştirilemez etkenler içerisinde genetik geçişli 1.derece yakınlık ilişkisi içeren konnektif doku hastalıkları yer almaktadır. Bunlar polikistik böbrek hastalığı, Ehlers-Danlos sendromu tip 4, hereditör hemorajik telenjektiaziler, psödoksantoma elastikum, multiple endokrin neoplazi tip 1 ve nörofibromatozis tip 1'dir (30).

İntrakraniyal anevrizmalar, eksternal elastik membranı olmayan tunika adventisya tabakası ince olan serebral arterlerin bifurkasyon noktalarında yüksek damar makaslanma stresi sonucunda oluşurlar. Bu şekilde bifurkasyon noktalarında oluşan anevrizmanın duvarına infiltre olan inflamatuvar hücreler ve bu hücrelerden salınan çeşitli inflamatuvar ajanlar anevrizma kesesinin genişlemesine ve rüptüre olmasına sebep olurlar (31, 32). Anevrizma kese genişliği >7mm ve dar boyunlu anevrizması olan hastalarda rüptür riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir (33, 34).

Risk faktörleri arasında ayrıca tedavi edilen hastalarda yeni gelişen komplikasyonlarda yer almaktadır. Serebral anevrizmalarda tedavi sonrasında yeniden rüptür (Cerebral Aneurysm Rerupture After Treatment-CARAT) çalışmasında yeniden rüptüre olma ihtimalinin en sık olduğu dönem ilk 3 gündür. Nadiren 1 yıl sonra rüptüre olabilmektedir. International Subarachnoid Aneurysm Trial(ISAT) çalışmasında ise aSAK sonrası tam oblitere edilmiş anevrizmalar sonrasında 5 yıl içinde rüptüre olma riski oldukça düşük olduğu belirtilmiştir (35, 36).

1.2.2.1.5 Semptom ve Bulgular, Klinik Evrelemeler

1.2.2.1.5.1 Semptom ve Bulgular

Baş ağrısı, SAK'ın en karakteristik semptomudur. SAK hastalarının 3/4' ü baş ağrısı şikayeti ile başvurmaktadır. Baş ağrısı, saniyeler içerisinde başlar ve çok

şiddetlidir. Şiddetinden ziyade ani başlangıçlı olması SAK için daha karakteristik bir özelliktir. Ani baş ağrısı ile başvuran hastaların 1/10'unda sebep SAK'tır. Baş ağrısı genellikle 1-2 hafta kadar veya daha uzun sürmektedir. Bu baş ağrısı özellikleri bile SAK'da görülen baş ağrısını SAK olmayan baş ağrısından ayırt etmede güvenilir özellikler değildir.

Kusma sıklıkla görülmekle birlikte SAK dışı şiddetli baş ağrısı şikayeti olan hastaların yarısında görülebildiğinden herhangi bir karakteristik özelliği yoktur. Kanama sonrası nöbet semptomu 1/14 oranındadır. Nöbet anevrizma olmayan veya perimezenesefalik kanamalarda görülmemektedir. Nöbet, anevrizmal kanamalarda görülmektedir ve anevrizmal kanamalar sonrası oluşan şiddetli baş ağrısının da indükleyen bir etkidir.

Hastaların 2/3'ü şuur geriliği ile hastaneye müracaat edilirken bunların yaklaşık yarısı koma halindedir. Ayrıca hastalar değişken derecede alert, letarjik, konfüze veya ajite olabilirler.

Ense sertliği SAK'da genel bir semptom olup, serbest kan elemanlarına subaraknoid mesafede gelişen inflamatuvar cevap sonucu oluşmaktadır. Kanamayı takiben 3-12 saat içinde gelişmektedir. Derin komada olan veya küçük boyutlarda olan kanamalarda bu semptom görülmeyebilir (2, 37).

Fundoskopik muayene aSAK'lı hastaların 1/7'sinde görüldüğünden önem arz etmektedir. İntraoküler hemorajilerin ana sebebi intrakraniyal basınç ve BOS basıncının artışı sonucu santral retinal venin bası altında kalarak venöz kanamaya sebebiyet vermesidir. Bu kanamalar preretinal (subhiyaloid) tabakada gerçekleşmektedir. Bu kanamalarını büyümesi sonucunda vitröz humor içine uzanım gösterebilir ve hastalarda görme yetisini kaybedebilirler (38, 39).

Fokal nörolojik defistler; anevrizmanın kranial sinire basısı, beyin parankimine kanamalar veya anevrizmanın rüptüre olması sonrasında gelişen akut vazokonstriksiyon sonucu oluşan fokal iskemi sonrası gelişmektedir. Bu nedenle rüptüre anevrizmanın klinik bulguları, intraserebral hematoma veya serebral enfarkt sonucu oluşan inme sendromunun klinik bulgularıyla ayırt edilemez. Tam veya kısmi üçüncü sinir paralizi, anevrizmaların rüptüründen sonra iyi bilinen bir işarettir. Genellikle PCoA yerleşimli anevrizma kanamaları sonrasında görülmektedir.

SAK'lı hastalarda akut dönemde EKG değişiklikleri gözlenebilmektedir. Bu değişiklikler hipoksi, hipertansiyon ve miyokard iskemisine sekonder gelişmektedir (40).

1.2.2.1.5.2 Klinik Evrelemeler

Klinik prezentasyonun genişliliği, aSAK'lı hastalarda prognozu zorlaştıran bir faktördür. Bu yüzden prognozu tahmin edebilmek, hastanın klinik durumunu standardize edilebilmek, beyin cerrahları arasında hastalarla ilgili iletişimi kolaylaştırmak, çok merkezli çalışmaların yapılabilmesine olanak sağlamak ve özellikle resüsitasyon yapılmış veya ventriküler drenaj uygulanmış aSAK'lı hastalarda prognozu önceden belirlemek amacı ile Botterel, Hunt-Hess, Dünya Nörolojik Cerrahlar Federasyonu (World Federation of Neurological Surgeons-WFNS) ve SAK'ın radyolojik olarak miktarını tayin etmek amacıyla Fisher tarafından kategorize edilmiş evrelemeler kullanılmaktadır (41, 42).

Tablo 2. aSAK Klinik Sınıflamaları

Botterel Sınıflaması	Evre 1: Şuur açık, menengial irritasyon belirtileri var veya yok
	Evre 2: Uykuya eğilimli, nörolojik defisit yok.
	Evre 3: Uykuya eğilimli, nörolojik defisit ve bazen intraserebral hematoma var.
	Evre 4: Şuur kapalı ve nörolojik defisit var.
	Evre 5: Derin Koma ve deserebrasyon rijiditesi var.
Hunt-Hess Sınıflaması	Evre 1: Asemptomatik, hafif baş ağrısı ve ense sertliği var.
	Evre 2: Orta ve şiddetli baş ağrısı, ense sertliği, kranial sinir felci var.

	Evre 3: Uykuya eğilimli, hafif derecede fokal nörolojik defisit
	Evre 4: Stupor, orta ve ağır hemiparezi, rijidite, vejetatif bozukluk var.
	Evre 5: Derin koma ve deserebrasyon rijiditesi var.
WFNS Sınıflaması	Evre 1: GKS 15 Motor defisit yok
	Evre 2: GKS 13-14 Motor defisit yok
	Evre 3: GKS 13-14 Motor defisit var
	Evre 4: GKS 7-12 Motor defisit var veya yok
	Evre 5: GKS 3-6 Motor defisit var veya yok

Tablo 3. aSAK Radyolojik Sınıflaması

Fischer Sınıflaması	1.Derece: Saptanabilen subaraknoid kanama yok
	2.Derece: 1 mm kalınlıktan daha ince diffüz ya da vertikal tabakalar*
	3.Derece: 1 mm pıhtı ve\veya 1mm vertikal tabaka*
	4.Derece: Diffüz SAK ile ya da SAK olmaksızın intraserebral veya intraventriküler pıhtı

*Vertikal tabaka : İnterhemisferik fissür, insular sisterna ve ambient sisternayı içeren subaraknoid mesafelerdeki kanamayı ifade eder.

1.2.2.1.6 Yardımcı Tetkikler

aSAK'lı hastalarda kanamanın ve/veya altta yatan vasküler patolojinin tanısını koyabilmek ve takip edebilmek için BT, MRG, lomber ponksiyon (LP), üç boyutlu dijital subtraksiyon anjiyografi (3 dimensional-3D DSA), MR anjiyografi (MRA), BT anjiyografi (BTA), BTA-MMBE (matched mask bone elimination) ve dual enerji BTA gibi tetkiklerden yararlanılmaktadır. Tanı koymada hızlı ve kolay ulaşılabilir olması nedeniyle BT, ilk tercih edilmesi gereken tanı aracıdır (43). İlk gün içerisinde BT'de SAK görülebilme ihtimali %95 civarında iken bu oran ilk üç gün içerisinde ise BT'nin tanıdaki sensitivitesi %100'e ulaşmaktadır (44, 45). BT'nin ulaşılabilirlik ve çekim kolaylığı da göz önünde bulundurulduğunda MRG'nin aSAK'ın akut döneminde etkin bir tanı aracı olmadığı sonucu ortaya çıkmaktadır. Ancak bazı çalışmalarda ilk birkaç saat ve sonraki günler içerisinde proton dansiteli MRG ve FLAIR'ın (fluid attenuation inverted recovery), sensitivite ve spesivitesinin BT kadar fazla olduğu belirtilmektedir (46). İlk günler geçtikten sonra ise kanamanın rezorbsiyonuna bağlı olarak BT etkinliğini kaybeder ve MRG, kalan kanı göstermede üstünlük sağlar. Özellikle de FLAIR ve T2 ağırlıklı görüntülemeler, bu dönemde sensitivitesi yüksek olan tekniklerdir (47).

LP, ani baş ağrısı ile müracaat edip, BT'de bulgu saptanmayan hasta grubunda önemli bir tanı yöntemidir. aSAK sonrası ilk 12 saat içerisinde BOS'ta hemoglobin metabolitleri hakkında bilgi verir ve bizleri anjiyografiye yönlendirir. Ksantokromik BOS görüntüsü SAK lehine bulgu verir ve tanı açısından yeterlidir (48). BOS'ta ksantokromi ise kanama sonrası ekstravaze olan eritrositlerin yıkımı sonrası açığa çıkan hemoglobinin yıkılması ile oluşan bilirubin sayesinde olmaktadır. Ksantokromik BOS'ta bilirubini kesin olarak tayin etmek için spektrofotometri yapılabilir (49). BT normal olan ve ani başlangıçlı baş ağrısı ile müracaat eden hastalarda LP'nin mutlak endikasyonu bulunmaktadır. Ayrıca yapılan LP sonrası berrak renkte BOS geldi ise mutlaka BOS basıncı ölçülmelidir. Çünkü, ani başlangıçlı baş ağrısı ile müracaat eden ve LP'de BOS berrak renkte olduğu gözlenen hastalarda BOS basıncının yüksek olması durumunda genellikle akla ilk gelmesi gereken tanı serebral venöz trombozudur. BOS'un berrak renkte olup basıncın düşük olması ise spontan intrakraniyal hipotansiyonu akla getirmelidir. Ayrıca berrak renkteki BOS'tan kültür ve hücre incelemesi için örnekler gönderilmelidir. Çünkü

özellikle pnömokok menenjitleri, akut dönemde berrak renkte BOS ile karşımıza çıkabilmektedir (2).

3D DSA, anevrizma tanısı koymada altın standart tanı aracıdır (50, 51). Bu yöntemle hem tanı koymak hem de aynı seansta mevcut anevrizmayı endovasküler yolla tedavi etmek mümkün olabilmektedir. En önemli dezavantajları ise yüksek dozlarda radyasyon maruziyeti ve yüksek oranda kontrast madde enjeksiyonudur (52-54). Ayrıca MRA, BTA, yeni teknikler olan BTA-MMBE ve dual enerji BTA'da anevrizma tanısı koymada kullanılabilecek diğer tanı araçlarıdır (55-58). Eğer cerrahi yöntemle anevrizmayı tedavi etmek planlanıyor ise BTA ilk tanı aracı olarak tercih edilebilir (59).

1.2.2.1.7 Anevrizmatik Subaraknoid Kanama'nın Doğal Seyri ve Prognozu

aSAK hastalarında mortalite oranları yapılan çalışmalarda büyük farklılıklar göstermektedir. Genelleme bir sonuç ile % 8-67 olduğu gözükmemektedir. Ortalama değerler Japonyada %27 iken, Amerika'da % 32, Avrupa'da % 44 olduğu görülmektedir. Hunt-Hess sınıflamasına göre grade 4 ve 5 olarak kabul edilen hastalar klinik seyri ve prognozu kötü olan hastaları göstermektedir (60, 61).

aSAK geçirmiş hastalarda %20'sinde global kognitif bozukluk kalıcıdır (62). Kognitif defisitler ve fonksiyonel çöküş depresyon, anksiyete gibi duygudurum bozuklukları, bitkinlik ve uyku bozukluklarını içermektedir (63). Bunun sonucu olarak fiziksel ve mental dayanıklılık bozularak hastaların eski uğraşlarına geri dönmesini zorlaştırmaktadır (64).

Kötü prognoz faktörler içerisinde; ileri yaş, tekrarlayan kanamalar, semptomatik vazospazm ve buna ikincil serebral enfarkt, yaygın serebral ödem, intraserebral ve/veya intraventriküler kanama ayrıca ateş, anemi, pnömoni, hiperglisemi ve sepsis gibi diğer sistemik problemlerin birlikteliği yer almaktadır (65, 66). Büyüklük, lokalizasyon, multi ve/veya kompleks anevrizmaların mevcudiyeti de anevrizmaya bağlı kötü prognositik sebeplerdir. aSAK geçiren hastaların cerrahi veya endovasküler tedavilerinin yüksek başarı oranlarına sahip merkezlerde yapılması ise iyi prognositik faktör olarak sayılmaktadır (67-70).

1.2.2.2 Anevrizmatik Subaraknoid Kanama'nın Komplikasyonları

SAK sonrası vazospazm (VS), yeniden kanama, hidrosefali, intraventriküler ve intraserebral kanamalar, nöbet, sıvı elektrolit bozuklukları, hipertermi,

hiperglisemi, anemi, derin ven trombozu, nöropsikiyatrik bozukluklar, kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal komplikasyonlar görülebilmektedir.

aSAK'lı hastalarda yeniden kanama, mortalite ve morbiditeyi yüksek oranda arttırmaktadır. İlk 24 saat içerisinde tekrar kanama olasılığı % 4-13,6 arasındadır. Yeniden kanamanın böylesine erken saatlerde yaşandığı hastalarda mortalite ve morbidite, daha sonraki saatlerde görülenlere göre daha yüksektir (71-73).

Anjiyografik olarak tespit edilen VS, aSAK geçiren hastalarla sıklıkla görülen bir durumdur. Genellikle 7-10. günlerde belirgin hale gelir ve 21 gün sonrasında kendiliğinden geçme eğilimindedir. Hastaların yaklaşık olarak % 70'inde görülen anjiyografik vazospazm (AVS), semptomatik vazospazm (SVS) halinde % 30 oranında karşımıza çıkar. Yani, AVS gelişen hastaların ancak %50'sinde SVS görülmektedir. Geri kalanı zamanla radyolojik olarak düzelme eğilimindedir. Arteriyel vazospazm ile birliktelik gösteren uzamış serebral iskemi, aSAK geçiren hastalarda mortalite ve morbiditenin en önemli sebeplerindendir. Vazospazm ve iskemi hakkında belirtildiği üzere ayrı bir başlık altında detaylı bilgi verilecektir (74).

aSAK sonrası akut hidrosefali, hastaların yaklaşık olarak % 15-87 arasında görülebilmektedir (75, 76). aSAK sonrasında gelişen akut hidrosefali, genellikle eksternal ventriküler drenaj (EVD) veya lomber drenaj (LD) ile tedavi edilmektedir ve bu yöntemler sonrasında hastalarda çoğunlukla nörolojik düzelme sağlanmaktadır (77). Drenaj sistemlerinin uygulanmasının tekrar kanama riskini artırdığına ilişkin yayınlar olmakla birlikte bu durumun oluşmadığını belirten birçok yayında bulunmaktadır. Seri LP'lerin EVD veya LD yerine de uygulanabileceği literatürde görülmektedir (78, 79). Kronik hidrosefali gelişmesi halinde ise tedavi yöntemi, ventriküloperitoneal şant uygulamasıdır. Ayrıca aSAK geçirip akut dönemde operasyona alınan hastalarda cerrahi sırasında lamina terminalisin fenestre edilmesinin hidrosefali gelişme ihtimalini düşürdüğünü belirten bir çalışmada mevcuttur (80).

aSAK sonrası intraventriküler kanama klinik olarak % 13-28 oranında görülmekle birlikte bu oran otopsi serilerinde % 37-54 seviyelerine ulaşmaktadır. % 40 oranında anterior kommunikan arter (ACoA), % 25 oranında internal karotis arter (İCA) ve % 21 oranında ise middle serebral arter (MCA) lokalizasyonundaki

anevrizmaların kanaması sonucu karşımıza çıkmakla birlikte bu hastaların yaklaşık %50'sinde klinik grade düşüktür ve mortalite oranı yaklaşık olarak % 64 olarak bildirilmiştir (41).

aSAK sonrası intraserebral kanama ise hastaların yaklaşık olarak % 24.4'ünde görülmekle birlikte kanamanın, lokalizasyon olarak sıklık sırasına göre frontal, temporal ve perisylvian bölgelerde olduğu son yıllarda yapılan bir seride bildirilmiştir. İntraserebral kanama sonucu, klinik evrenin kötüleşmesi ile birlikte uzamış serebral iskemi oranının arttığı ve sonuç olarak mortalite ve morbiditeyi olumsuz olarak etkilediği bildirilmiştir (81).

Nöbet, aSAK geçiren hastaların % 6-18 oranında nöbet geçirme ihtimali olduğu, %3-7 oranında ise tekrarlayan nöbetlerin olabileceği bildirilmektedir. MCA anevrizmalarına bağlı aSAK olması, kanamanın kalınlığı, intraserebral hematoma, tekrar kanama, iskemik enfarkt, düşük nörolojik grade ve hipertansiyon öyküsü nöbet gelişmesindeki risk faktörleridir (82-84).

En sık karşılaşılan elektrolit bozukluğu hiponatremidir. Hiponatremi sıklıkla serebral vazospazmı takiben ortaya çıkmaktadır. Serebral tuz kaybı sendromu ise aşırı natriüretik peptit ve sonucunda fazlaca natriürezis gerçekleşmesi ile seyreden klinik bir tablodur. Serebral tuz kaybı sendromu genellikle ACoA anevrizmalarına bağlı kanamalarda görülmektedir. Klinik seyri kötü olan ve hidrosefali gelişmiş olan hastalarda beraberliği olup, sonuç olarak klinik tablonun daha da kötüleşmesine neden olmaktadır (85-88).

Ateş, en sık görülen ekstrakraniyal komplikasyondur. Santral kaynaklı ateş görülme ihtimali, hasarın şiddeti, kanamanın miktarı, açığa çıkan kan ürünlerinin etkisi ve vazospazm etkisi ile birlikte artış göstermektedir. Yapılan araştırmalarda aSAK'lı hastalarda ateş olmasının kötü klinik gidişatı işaret ettiği görülmüştür (89-91).

Kan glukoz düzeylerinin aSAK'lı hastalarda, hastalığın seyrinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur, hatta yapılan bir çalışmada hiperlisemik hastalarda glukoz düzeylerinin kontrolünün klinik gidişi iyi etkilediği gösterilmektedir (92).

aSAK'lı hastalarda immobilizasyon sonucu derin ven trombozu karşımıza çıkabilecek bir durumdur. Tedavisinde ise subkutan heparinoidler ve eksternal pnömotik kompresyonlar önerilmektedir (93, 94).

aSAK sonrası hastalar iyi tedavi edilse bile kognitif defisitler ve psikosozyal disfonksiyonlar bu hastaların ilk yıllarında sık görülen durumlardandır. Hastaların hayat kalitelerinin artması ve normale gelmesi 1-2 yılı bulmaktadır. Hastaların sadece %25'inin eski hayatına dönebildiği, iyi bir tedavi alan hastaların bile yaklaşık % 60'ında kişilik değişikliği, % 37'sinde irritabilite ve % 29'unda ise emosyonel değişikliklerin karşımıza çıktığı görülebilmektedir (95-97).

Kötü klinik seyrinde sadece nörolojik durumun kötü olması değil beraberinde komplikasyonlarında eşlik etmesinin çok daha belirleyici olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bunlar içerisinde; hipotansiyon, hipernatremi, hipomagnezemi, kardiyak bozukluklar, kardiyak arrest, pulmoner ödem ve pnömoni aSAK'lılarda karşılaşılabilecek yaklaşık %50'sinde görülebilen sistemik komplikasyonlardır (66, 98).

1.2.2.3 Serebral Vazospazm

Vazospazm terimi, damar kalibresinde azalma anlamına gelir fakat SAK'da birden çok anlamı vardır. SAK ile indüklenen vazospazmda kısmen gecikmeli ve geri dönüşümlü vaskülopatiden otoregülasyon işlevinde bozulmaya, serebral perfüzyonda azalma sonrası gelişen hipovolemi sonucu ikincil iskemiye neden olabilecek karmaşık bir süreçtir. Vazospazmın radyografik bulguları SAK'lı hastaların %50-70'inde gelişir, ancak bunların yalnızca yarısı nörolojik semptomlarını yaşar (99, 100)

1.2.2.3.1 Serebral Vazospazm Zaman Aralığı ve İnsidansı

Serebral vazospazm ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında Ecker, SAK'ı takiben arteriyel spazmın ortaya çıkabileceğini, Robertson ise, SAK hastalarının otopsisinde bulunan iskemik beyin lezyonlarını muhtemelen arter spazmına ikincil olarak geliştiğini düşündü. Literatürde artışa rağmen, 1977 yılında Fisher ve meslektaşlarının yaptığı bir çalışmada, vazospazm ile nörolojik defisitler (gecikmiş iskemik defisitler olarak da bilinir) arasındaki ilişki net olarak gösterilmiştir (101-103).

Vazospazm, aSAK sonrası gelişen, mortalite ve morbiditeyi belirgin oranda artıran ve pek çok klinik ve temel araştırmaya rağmen halen önlenmesi veya tedavisi için fazlaca ilerleme kaydedilememiş bir komplikasyondur.

1.2.2.3.2 Vazospazmın Klinik Belirtileri ve Tanısı

Vazosospazmda kendini klinik olarak şiddetli baş ağrısından ağır nörolojik defistlere kadar geniş bir yelpaze içerisinde gösterebilir. Vazospazm klinik bulguları spesifik olmadığından radyolojik olarakta desteklenmelidir (104).

Transkraniyal doppler ultrasonografi, vazospazmın saptanmasında birinci noninvaziv yöntem olmaya devam etmektedir. Ortalama serebral kan akım hızlarındaki yükselmeleri ölçerek, vazospazmın saptanmasında klasik anjiyogram kadar hassas bir yöntemdir. Beyin DSA, damar çapı ve geçiş zamanı hesaplamaları ile radyografik vazospazmın tanısında altın standart olarak kalmaya devam etmektedir. Dezavantajlar radyasyon kontrast madde maruziyeti, iyatrojenik inme riski veya girişime ikincil vasküler yaralanma, ayrıca nispeten yüksek maliyet ve deneyimli bir operatöre gereksinimdir. Son yıllarda, BT perfüzyonu, Xenon ile güçlendirilmiş BT, difüzyon ağırlıklı MRG ve tek foton emisyonlu BT gibi görüntüleme yöntemleride denenmektedir. Bu yöntemler, damar çapı ve akış hızları yerine bölgesel perfüzyonu ölçerek vazospazm hakkında bilgi vermeye çalışmaktadır. Vazospazma ikincil gelişen serebral iskemi erken teşhisinde yeni bir uygulama olarak elektroensefalogramda denenmektedir (105-107).

1.2.2.3.3 Etyoloji ve Patogenez

SAK sonrası gelişen serebral vazospazmın etyoloji ve patogenezini bu konuda yapılan geniş araştırmalara rağmen çok iyi anlaşılamamış ve serebral vazospazmda halen etkin bir medikal tedavi yöntemi bulunamamıştır. Serebral vazospazm patogenezinde vazokonstriksiyon ve yapısal teoriler üzerinde sıklıkla durulmuştur. Vazokonstriksiyon teorileri içerisinde; serbest lipit peroksidasyon radikalleri eicosanoid üretiminin bozulması, nitrik oksit(NO) azalması, endotelin artışı ve nörojenik faktörler yer almaktadır. Yapısal teoriler ise vaskülopati ve inflamasyonu üzerinde yoğunlaşmaktadır (108).

Vazospazm patogeneğinde sürecin başlangıcı ile ilgili genel kanı subaraknoid mesafeye ekstrasvaze olan kanın sağlam olan damar duvarı ile teması sonucu damar düz kaslarında kasılmaya sebep olduğudur. BT’de subaraknoid mesafede bulunan kan miktarı ve bu kanın sisternalarda kalma süresi, vazospazm gelişme olasılığının en güçlü göstergesidir (109).

1.2.2.3.3.1 Damar Düz Kaslarında Kasılma

Serebral vazospazm, aSAK sonrasında vasküler düz kasların anormal ve uzun süreli kasılması sonucu oluşmaktadır. İntrasellüler serbest kalsiyum (Ca^{2+}), kontraktilitenin başlamasında ana rolü oynamaktadır.

Deneyisel araştırmalar sonucunda vazospazmın Ca^{2+} bağımlı veya bağımsız olarak gerçekleşebileceği gösterilmiştir. Ancak bunun nasıl olduğu mekanizma olarak henüz tam net değildir (110).

1.2.2.3.3.2 Spazmojenler

aSAK sonrası subaraknoid mesafeye yayılan kan ürünlerinin vasküler yapılarda kontraksiyona sebep olmaktadır

Oksihemoglobinin serebral vazospazmda spazmojenik etkinliği olduğunu ve serebral vazospazm süresi boyunca BOS’ta bulunan oksihemoglobin miktarının yüksekliği ile vazospazm arasında bir doğru orantı olduğu gösterilmiştir (111).

Ayrıca araşidonik asit metabolitleri, endotelin, serbest radikaller, serotonin, adenosin ve okside bilirubin ürünlerinin (hem, bilirubin, biliverdin) serebral vazospazmda ciddi rol oynadıkları görülmüştür (112).

Endotelyum, vasküler tonus dengesi için önemlidir. Endotelyum tarafından salınan vazorelaksan faktörler nitrik oksit (NO), hiperpolarizan faktör ve prostosiklinlerdir. Endotelyum tarafından üretilen vazokonstriktör faktörler ise araşidonik asitin siklooksijenaz ürünleri ve endotelinlerdir (110).

NO, salıverilebilmesi sonrası dağılabilen ve dakikalar içinde yarılanma ömrü tamamlanan serbest radikal bir gazdır. Temel NO, endotelyal NO (eNO) ve nöronal NO (nNO) olmak üzere iki bileşenden oluşur. Bunlar, guanilil siklazı aktive ederek guanozin trifosfatı 3’, 5’-siklik guanozin monofosfata (cGMP) çevirir. cGMP, çeşitli yollarla düz kas hücrelerinde relaksasyona yol açar. NO üretimi NO ve NO sentaz (NOS) arasındaki negatif feedback ve L-arjinin metilasyonu ile regüle edilmektedir. L- arjinin rezidülerinin metilasyonu sırasında sentezlenen asimetrik dimetilarjinin

(ADMA), endojen NOS (eNOS) inhibitörüdür ve NO'nun kullanılabilirliğini azaltmaktadır. NO miktarının azalması ile nNO'dan NO sentezinin azalması ve eNOS'un ADMA tarafından inhibe edilmesi sonucu serebral vazospazma katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (111, 113).

Endotelin (ET), doğal vazokonstrüktör etkisi ortaya konan 21 aminoasitten oluşan bir peptiddir. Serebral vazospazmlı hastalarda BOS'ta plazma endotelin-1 (ET-1) düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir. Bu artmış ET-1 düzeylerinin de vazospazm oluşumunu tetiklediği öne sürülmüştür. Endotelinlerin dört izoformundan biri olan ET-1, vazokonstrüksiyonda en önemli rolü oynar (114).

Araşidonik asit (AA), membran fosfolipidlerinin dokusal komponentidir ve poliansatüre bir yağ asididir. Fosfolipaz A₂ tarafından mobilize edilen AA, siklooksijenaz (COX), lipooksijenaz (LOX) ve sitokrom P450 (CYP) tarafından metabolize edilmektedir. COX yolağı ile prostosiklin (PGI₂), tromboksan (TXA₂) ve primer prostoglandinler (PG) olan PGE₂, PGD₂ ve PGF_{2α} açığa çıkar. PGE₂, PGF_{2α} ve TXA₂ vazokonstrüksiyona, PGI₂ ise vazodilatasyona sebebiyet vermektedir. LOX yolağı ile lökotrienler (LT) ve hidroperoksikosatetrenoik asit(HPETE) deriveleri açığa çıkar. Deneysel çalışmalarda LT antagonistlerinin serebral vazospazmı hafiflettiği, LT'nin SAK sonrası gelişen inflamatuvar olaylarla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. CYP yolağı ise öncelikli olarak AA'yı, 20-HETE ve epoksikosatetrenoik asite (EET) metabolize ederek, vasküler düz kas hücreleri ile vazokonstrüksiyon, endotelyal hücreler vasıtasıyla vazodilatasyon yapmaktadırlar (110, 115).

Serebral arterlerin tunika media tabakalarının dış kısımlarında ve tunika adventisya tabakalarında sempatik, parasempatik ve duyuşal innervasyonlar olduğu histopatolojik olarak gösterilmiştir. Subaraknoid mesafede bulunan kan, nöral innervasyonu azalmış olan vasküler yapı ile direkt temasa geçerek denervasyona neden olur. Denervasyon ise, SAK sonrası nöronal regülatuar mekanizmalarda meydana gelen dengesizlik sonucunda vasküler düz kas hücrelerinde vazokonstriksiyona neden olmaktadır (110, 116).

SAK ve serebral vazospazm, serebral arterlerin intima, media ve adventisya tabakalarını etkileyen ve morfolojik olarak bu katmanlarda değişikliklere neden olan patolojik süreçlerdir. Vazospazmda vasküler hücre proliferasyonuna ve endotelyal

hücrelerin inflamasyonu görülmektedir. Hücre proliferasyonuna, subaraknoid mesafedeki klotlaşmış olan kanda kümeleşen plateletlerden açığa çıkan maddelerin aracılık ettiği ve sonuç olarak arteriyel duvar kalınlaşmasına neden olarak serebral vazospazma yol açtığı görülmüştür. Özellikle transmission elektron mikroskop (TEM) ile tespit edilen endotelyal apoptozisin ise kan beyin bariyerini bozarak vasküler düz kas hücrelerini vazokonstrüksiyona maruz bırakıp serebral vazospazma yol açtığı düşünülmüştür (111, 117, 118).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise inflamasyonun vazospazm üzerinde anahtar rol oynadığı düşünülmektedir.

1.2.2.3.4 Vazospazm-İnflamasyon İlişkisi

SAK sonrası serebral arterlerde meydana gelen yapısal değişiklikler ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile incelendiğinde; damar duvarında kalınlaşma, lümen çapında azalma, internal elastik laminada kalınlaşma, endotelyal hücre yapısında ve devamlılığında bozulma, düz kaslarda vakuoller, intimaya proliferasyon, perivasküler akson kaybı ile birlikte olan perivasküler inflamasyon gösterilmiştir (119).

SAK'lı hastaların kanında dolaşan yüksek miktarda immün kompleks varlığı ilk kez 1981 yılında Pellettieri ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (120). SAK sonrası gelişen hücre immünite cevaplarının sadece endotelyal tabakayla sınırlı olmadığı, media yüzündede immün hasar meydana geldiği ve vazospazm patogeneze katıldığı, SAK'ı takiben makrofaj, nötrofil ve diğer inflamatuvar hücrelerin intima, media ve subaraknoid mesafeye infiltrasyonunun vazospazm inflamasyonun rolü olduğu gösterilmiştir (121).

Peterson ve arkadaşları ayrıca, subaraknoid kanama sonrası vazospastik damar duvarında histolojik olarak şiddetli inflamasyon varlığını saptamışlar ve bu inflamasyonun diğer sebeplerle birlikte vazospazmı indüklediğini, inflamasyonun engellenmesinin vazospazm gelişimini önleyebileceğini bildirmişlerdir (121).

1.2.2.3.4.1 Subaraknoid Kanamadan Sonra Akut İnflamasyonun Belirlenmesi

1.2.2.3.4.1.1 SAK Sonrası BOS'ta İnflamatuvar Aracılar

Yapılan insan çalışmalarında SAK sonrasında BOS'ta artmış inflamatuvar mediatörler görülmektedir. Bu araştırmalar BOS'ta inflamatuvar eleman fazlalığının

vasospazm artışı ile bunun sonucunda ise nörolojik tablonun kötüleşmesi arasında tutarlı bir ilişki olduğu göstermektedir (122, 123). Polin ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, SAK sonrasında vazospazm gelişen hastaların, lökosit aderansı ve ekstrasvazasyonunda görev alan endotel hücre elemanı olan E-selektinin CSF düzeyleri yükselmektedir (124). SAK sonrasında BOS'ta E-selektin düzeyinin yükseldiğini gösteren başka çalışmalar olmasına rağmen, buna karşılık bir çalışmada ise BOS'ta E-selektin saptanamamıştır (125, 126). SAK'de rol oynadığı sıklıkla düşünülen TNF α , IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi inflamatuvar mediatörlerin farklı çalışmalarda farklı oranlarda yükseldiği ekspresyonunda geniş bir varyasyon olduğu görülmektedir. Örneğin, Kikuchi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada SAK sonrasında BOS'ta interlökin- (IL-) 6 ve IL-8 düzeylerini yükseldiği ancak TNF α düzeylerinde değişiklik olmadığı bulunmuşken, diğer çalışmalarda SAK sonrası BOS'ta TNF α yüksekliği bulunmuştur (123, 127, 128). Yine yapılan bir çalışmada ise SAK sonrasında hastaların sadece % 30'unda BOS'ta saptanabilir TNF α seviyeleri bulunmuştur. Bu durum SAK sonrası inflamatuvar cevabın oldukça heterojen olabileceğini göstermektedir (129).

SAK'da en çok çalışılan moleküllerden biri, endotel hücreleri tarafından üretilen ve bir vazokonstriktör olan ET-1 'dir. BOS'ta SAK'lı hastalarda ET-1 saptanmıştır ve SAK'lı hastalarının BOS'undan izole edilen monositler tarafından üretilmektedir. ET-1, SAK sonrasında vazospazm gelişiminde rol oynadığı düşünülmese de diğer birçok proenflamatuvar moleküllerde olduğu gibi ET-1 ile ilgili çalışmalarda oldukça değişkendir. Fassbender ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, ET-1'in kontrol deneklerin BOS'unda bulunmadığı ve SAK'lı hastaların yalnızca % 46'sında saptandığı görülmüştür. Her iki grubun da ortalama sonuçları SAK sonrası ET-1'de belirgin bir artış olduğunu ortaya koysa da, SAK'lı tüm hastaların aynı inflamatuvar yanıtı sahip olmadığını göstermektedir. Dahası, farklı bir gruptan yapılan bir çalışmada ise SAK sonrasında ET-1 saptanamamıştır (130-132). Bu çalışmalar arasındaki farklılıklar, SAK sonrası farklı BOS toplama zamanlarının, kullanılan alternatif tarama yöntemlerinin veya çeşitli hasta popülasyonlarının sonucu olabilir. Buna ek olarak subaraknoid boşlukta bulunan kan hacmi BOS'taki mevcut sitokinlerin seviyelerini açıkça etkileyebileceğinden beyindeki inflamatuvar cevabın büyüklüğü hakkında net bilgi verememektedir.

1.2.2.3.4.1.2 SAK Sonrası Kandaki İnflamatuvar Aracılar

SAK sonrası BOS'da bulunan inflamatuvar sitokinlere ek olarak, SAK sonrası kanda sistematik olarak inflamatuvar mediatörlerde artış olduğu yapılan çalışmalarda ispat edilmiştir (122, 133, 134). SAK sonrasında inflamatuvar sitokinlerin sistemik olarak artması kötü prognoz göstergesi olabileceğine dair çalışmalar vardır (135, 136). Yüksek vücut ısı ve lökositoz gibi sistemik inflamasyonun diğer belirteçlerinin SAK'ta kötü prognozla ilişkili olabileceği; bununla birlikte, periferik inflamasyon ile intraserebral patoloji arasında ise hiçbir nedensel ilişki kurulamadığı görülmektedir (137, 138). SAK'da prognostik sonuç için inflamatuvar biyobelirteçlerin geliştirilmesi konusunda çalışmalar artmaktadır fakat plazmada inflamatuvar sitokinlerin varlığı intraserebral süreçlerden ne dereceye kadar veya kan sitokin düzeylerinin beyin içindeki inflamasyonun ile bağlantısının ne kadar kuvvetli korelasyona sahip olduğu belli değildir. Kanda inflamatuvar sitokinlerin SAK sonrasında beyin hasarına katkıda bulunduğu da mümkündür; SAK sonrası kan beyin bariyerinin dağılması, serum sitokinlerinin beyin parankimine girmesine ve orada doku hasarına yol açmasına izin verebileceği düşünülmektedir (129, 139).

1.2.2.3.4.1.3 İnflamasyon ve Anevrizma Oluşumu

Anevrizma oluşumunda inflamasyonun rol oynadığı düşünülmektedir (32). Bir klinik çalışmada rüptüre ve düzensiz anevrizmaların duvarlarında siklooksijenaz artışı bulunmuştur ve aynı grupta, aspirinin antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı anevrizma rüptür hızını azaltabileceğini gösterilmiştir (140, 141). Ayrıca başka bir çalışmada e-selektin de anevrizmaların duvarlarında yüksek seviyelerde bulunmuştur ve proinflamatuvar bir duruma katkıda bulunan çevresel faktörlerde anevrizma oluşumuna katkıda bulunabilir (142, 143).

1.2.2.3.4.2 SAK Hayvan Modellerinde İnflamasyon

Hayvan modelleri, SAK sonrası inflamasyon ve beyin hasarı arasında nedensel bir ilişki kurmak için kullanılmıştır. SAK için çeşitli hayvan modelleri mevcuttur ve herbirinin kendi avantajları ve dezavantajları vardır (144). Yaygın modeller arasında, hayvanların bazal sisternalara kan enjeksiyonu ya da

endovasküler perforasyona bulunmaktadır; bunların her ikisi de vazospazm ve inflamatuvar cevap üretir (145, 146). İnsana ait SAK çalışmalarında olduğu gibi, hayvan çalışmalarında da inflamatuvar cevaplarda kayda değer değişiklikler bulunmaktadır. Ayrıca SAK için yapılan hayvan çalışmalarında BOS, beyin parankimi ve vasküler dokularda olmak üzere tüm intraserebral bölmelerde inflamasyon bulguları görülmektedir (147-150).

Hayvan çalışmaları SAK sonrası inflamasyonu, serebral ödemi ve hücre ölümünü araştırmak için kullanılmaktadır. Anestezik izofluranın deneysel SAK sonrasında TNFa üretimini, lökosit adezyon molekül ekspresyonunu ve kan beyin bariyeri permeabilitesini azalttığı gösterilmiştir (151, 152). Bu çalışmaların sonuçları umut vericidir ancak etkilenen dokudaki azalmış TNFa düzeylerinin, azalmış lökosit infiltrasyonunun bir nedeni veya sonucu olup olmadığı kanıtlanmamaktadır. Bununla birlikte, TNFa'nın SAK sonrasında nöronal hasar üzerinde doğrudan rol oynadığına dair kanıtlar vardır. Yapılan bir çalışmada ise SAK sonrası hipokampusta TNFa blokajının apoptozu azalttığı gösterilmiştir (153). Sinaptik kayıp ve beyaz cevher yaralanmasında nörolojik hastalık modellerinde inflamasyon aracılık eder; Bununla birlikte SAK sonrasında inflamasyonun hücre ölümü ve hasar üzerindeki kesin rolünü anlamak için daha fazla çalışma gerekmektedir (154-156).

SAK'ın hayvan modelleri, SAK sonrasında inflamasyonun vazospazm ile bağdaştırmada önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

1.2.2.3.4.3 SAK Sonrası İnflamasyonun Vazospazmdaki Rolü

1.2.2.3.4.3.1 Proinflamatuvar Ajanlarla Vazospazm İndüksiyonu

Enfeksiyon yokluğunda vazospazm ve ateş arasında bir korelasyon gösteren klinik çalışmalar, inflamasyon ile vazospazm arasında bir bağlantı olduğuna işaret etmektedir (157, 158). Vazospazmın kan yokluğunda oluşabileceğini göstermek için intrasisternal olarak, talk (kristalize sulu magnezyum sülfat), lateks, polistiren ve dekstranlipopolisakkarid (LPS) ve tenascin-C gibi birçok proinflamatuvar ajan uygulandı ve bu çalışmalar sonucunda, vazospazmın kırmızı kan hücrelerine veya hemoglobine (Hgb) bağımlı olmadığı ve vazospazm gelişiminde inflamasyonun rolü olduğu gösterilmiştir (159, 160).

1.2.2.3.4.3.2 Vazospazm gelişimine bağlı inflamasyon molekülleri

Serebral vazospazm ile ilişkili inflamatuvar moleküller arasında, E-selektin, trombosit-(P-) selektin ve lökosit- (L-) selektin olmak üzere üç üyeden oluşan selektin ailesinde kapsamlı bir çalışma yapılmıştır. Bu moleküller, lökosit bağlanmasını ve vasküler endotel yol ile hasarlı dokuya geçişi kolaylaştırır. L-selektin ve E-selektin, hücre yüzeylerinde yapısal olarak eksprese edilirken, P-selektin ekspresyonu histamin veya trombin ile aktivasyon gerektirir (161). SAK hastalarının BOS'unda E-selektin yükselir, orta veya şiddetli vazospazm gelişen hastalarda da yüksek konsantrasyonlarda görülür (124). E-selektinin inhibitör antikorunun, intranasal olarak uygulanması ile E-selektin tolerans inhibisyonu sonucu, kemirgen SAK modellerinde vazospazmın azalmasına neden olmuştur (162). SAK sonrası serebral iskemi gelişmiş olan hastalarda P-selektin düzeyleri daha yüksek iken, gecikmiş iskemi gelişmeyen hastalarda ise L-selektinlerin daha yüksek olduğu görülmüştür (163).

İntegrinler, hücre-hücre yapışmasını ve etkileşimini kolaylaştıran hücre yüzey proteinleridir. Lökosit adezyonu ve migrasyonu ile ilgili olan ana integrinler lenfosit fonksiyonuyla ilişkili antijen 1 (LFA-1) ve Mac-1 integrinidir (CD11b / CD18). Sistemik olarak uygulanan anti-LFA-1 ve Mac-1 monoklonal antikorlarının SAK modellerinde vazospazmı azalttığı görülmektedir (164, 165). ICAM-1 gibi immunoglobulin ailesine ait proteinlerin, lökosit adezyonunda rol oynadığı ve SAK modellerinde klinik vazospazma neden olduğu gösterilmiştir (124, 149). Anti-ICAM-1 monoklonal antikorların, femoral arter vazospazmını azalttığı ve kemirgen modelinde makrofajların ve nötrofillerin kan damarında dışarı sızmasını önlediği kemirgen SAK modelinde vazospazmı azalttığı gösterilmiştir (166).

Vazospazmı olan hastalar ve deneysel modellerde IL-1B, IL-6, IL-8, TNF α ve MCP-1 gibi yükselmiş önemli proinflamatuvar sitokinleri içermektedir. IL-6'nın SAK sonrasında zirveye ulaştığı gösterilmiştir, bu durum vazospazm gelişimini öngörmek için erken bir belirteç olabilir (128, 149, 167-170). Ayrıca SAK hastalarında TNF α düzeylerinin vazospazm şiddeti ile korele olduğu da gösterilmiştir (171). Beraberinde sitokin inhibitörü CNI-1493 (172), anti-IL-6 antikorları, anti-IL-1B antikorları ve TNF α inhibitörleri ile yapılan hayvan çalışmalarında vazospazmı azalttığı da gösterilmiştir (173-175).

Çeşitli çalışmalarda, inflamasyon sırasında aktive olan intraselüler sinyal yollarını ve bunların vazospazmdaki rollerini incelemiştir. İnflamatuvar immün yanıtların üretilmesinde mitojenle aktive protein kinaz (MAPK) ve nükleer faktör kappa-B (NfκB) hücre içi sinyal yolları önemlidir (176). MAPK ailesinin bir parçası olan N-terminal kinaz 1 (JNK1) ve JNK2, deneysel SAK sonrasında serebral vasküler dokularda aktive olduğu ve inhibisyonu sonucu vazospazmı azalttığı görülmüştür (177). Tenascin-C ile JNK'nın inhibisyonu sonucu, sıçan SAK modelinde vazokonstriktif etkilerinin tersine çevrilmesinde de etkili olmuştur (160). Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP), inflamasyon sırasında adezyon molekülü ekspresyonunu ve nötrofil alımını düzenleyen nükleer bir enzimdir. SAK'ın bir tavşan modelinde, Satoh ve arkadaşları, PARP inhibisyonunun vasospazm şiddetini azalttığını göstermektedir (178).

Oksidatif sinyal ve oksidatif stres, birçok merkezi sinir sistemi hastalığında immün yanıtın efektörleridir ve muhtemelen oksidatif stres ve antioksidan dengesinin SAK'a yanıtı ve ondan kurtulmasını sağladığı düşünülmektedir. Haptoglobin, iki α ve iki β zincirinin tetramerinden oluşan serum proteindir. Ana faaliyeti serbest hemoglobini bağlamak sonrasında alımını ve temizlenmesini kolaylaştırmaktır. Bu, serbest hemoglobin kaynaklı oksidatif stresin azaltılmasında net etkiye sahiptir (179). Haptoglobin (Hp) üç fenotipi insanlarda tespit edilmiştir: Hp 1-1, Hp 2-1 ve Hp 2-2. İnsanlarda, α -2 altbirimleri olan haptoglobin proteinleri, haptoglobin α 1- α 1'e kıyasla daha yüksek vasospazm oranları ile ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde genetik olarak modifiye edilmiş Hp 2-2 farelerinde yapılan deneysel SAK çalışmasında daha şiddetli vazospazm ve SAK sonrasında daha kötü fonksiyonel sonuçlar ortaya çıkmıştır (180, 181).

Endotel kaynaklı gevşetici faktör veya nitrik oksit (NO) enzimatik olarak üç ana izoformu bulunmaktadır. Bunlar endotel (eNOS), nöronal (nNOS) ve makrofaj indüklenabilir NOS (iNOS)'dur. Fizyolojik koşullar altında, NO vazodilatasyon ve sitoproteksiyon için sinyal yollarını etkiler (182).

Vasküler endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücreleri tarafından eksprese edilen güçlü bir vazokonstriktör ve proinflamatuvar mediatör olan endotelinler, doku inflamasyonuna ve serebral ödeme katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda semptomatik vazospazmlı SAK hastalarında ve sisternalarındaki kan

miktarının BOS'taki ET-1 seviyesi ile korele olduğunu gösterilmiştir (183). Bununla birlikte, diğer bir çalışmada ise SAK sonrası ET-1'in anlamlı yükselmesi veya ET-1 seviyeleri ile vazospazm arasında bir korelasyon bulunamadığı görülmektedir (184). Ayrıca ET-1 fazla salınımını sağlanan transgenik farelerde daha belirgin vazospazm ve serebral ödem görülmüş ve ET-A reseptör antagonisti aynı çalışmada vazospazmı ve ödemi azaltmıştır (185).

1.2.2.3.4.3.3 Vazospazm Tedavisinde Anti-İnflamatuar Maddelerle İlgili Denemeler

Subaraknoid kanın SAK'daki akut enflamasyonun çoğunu ürettiği düşünülürken, subaraknoid pıhtının hızlı bir şekilde temizlenmesi SAK sonrasında sonuçları iyileştirebilir. Bu teori test edilmiş ve intratekal trombolitik ajanların uygulanması, SAK sonrasında vasospazmı azaltmış ve sonuçlarını iyileştirmiştir (186). Yamamoto ve arkadaşlarının bir klinik çalışmasında, rüptüre intrakranyal anevrizmaların cerrahi tedaviyi takiben hastalarda doku plazminojen aktivatörünün sisternal irrigasyon şeklinde kullanılması, serum inflamasyon belirteçlerini ve iskemik lezyon insidansını azalttığı ve daha iyi nörolojik sonuç ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (187). Kim ve meslektaşları son zamanlarda bir fosfodiesteraz inhibitörü ve güçlü vazodilatatör olan papaverinin sisternal irrigasyonu ile trombolitik ürokinazın karşılaştırıldığında etkinlik bakımından benzer olduğunu ve her ikisinde de vazospazm insidansını azalttığını gösterdi (188).

Kortikosteroidler, güçlü anti-inflamatuarlardır ve birçok insanda SAK denemesinde kullanılmıştır. Yüksek doz metilprednizolonun deneysel olarak uygulanmasının, anjiyografik vazospazmı azalttığı ve arteriyel duvar anormalliklerini iyileştirdiği gösterilmiştir (189). SAK sonrası intravenöz hidrokortizon uygulamasına yönelik çok merkezli bir çalışmada, tedaviden 1 ay sonra zihinsel durum, konuşma ve motor fonksiyonları üzerinde yararlı olduğu görülürken buna karşılık, başka randomize kontrollü bir hidrokortizon deneyinde SAK sonrasında nörolojik sonuç üzerinde herhangi bir etki göstermediği görülmüştür (190, 191). Bununla birlikte, büyük çift kör, randomize yapılan bir çalışmada ise, SAK'dan bir yıl sonra metilprednizolonun fonksiyonel faydalı bir etkiye sahip olduğunu, ancak vazospazm

üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını göstermiştir (192). Bu çalışmalar, SAK sonuçlarının yalnızca vazospazm gelişimine bağlı olmadığını altını çizmektedir.

Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler), prostaglandin sentezini azaltan kısmen siklooksijenaz ekspresyonunun inhibisyonuna aracılık edilen güçlü antienflamatuvar özelliklere sahiptirler. İbuprofenin, SAK'ın kemirgen modelinde femoral arter vazospazmını inhibe ettiği ve periadventisyel monositleri ve makrofajları düşürdüğü ve serebrovasküler çapı artırabildiği gösterilmiştir (193). Nonsteroid antienflamatuvar ilaçlar parekoksib ve selekoksib de vazospazm için tedavi seçenekleri olarak vaat etmektedir (194). Bu ilaçlar insanlarda nispeten güvenli ve iyi çalıştıklarından, vasospazm için klinik olarak uygulanabilir tedavi seçenekleri vaat etmektedirler.

Siklosporin gibi immünsupresif maddeler, interlökin-2 (IL-2) transkripsiyonunu inhibe ederek T hücre işlev bozukluğuna neden olurlar ve bazı deneysel SAK çalışmalarında etkili olduğu görülmektedir. Fakat başka bir çalışmada siklosporin ile yapılan klinik çalışmada etkinliği değişken olup ve ağır SAK'lı hastalarda siklosporinin hiçbir yararlı etkisini gösterilememiştir (195-197).

Statinler klinik olarak kolesterol düşürücü maddeler olarak kullanılan 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktaz inhibitörleridir. Proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azaltma ve lökosit integrinlerini inhibe etme yetenekleri, güçlü anti-inflamatuvar aktivite sağlamaktadır. SAK sonrası statinler vazospazmı hafifletirken ET-1 seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir (198, 199). SAK öncesinde veya sonrasında simvastatin tedavisinin, muhtemelen endotel nitrik oksit upregülasyonu yoluyla serebral vasospazm ve nörolojik defisitleri zayıflatığı ve perivasküler granülosit göçünü azalttığı da gösterilmektedir (200). Bir çalışma SAK öncesinde statin alan hastaların 14 günlük takiplerinde nörolojik tabloyu ve serebral vasospazmı iyileştirdiğini gösterirken, başka daha yeni bir çalışmada ise SAK sonrasında statinler alan hastaların anjiyografik veya klinik vazospazmın şiddetinde veya nörolojik sonuçlarında anlamlı farklılıklar bulunmadığı görülmüştür. Bir başka vaka kontrol çalışmasında, oral atorvastatin tedavisinin vazospazmı ve serebral iskemiye azalttığını, ancak SAK'dan 1 yıl sonra belirgin fonksiyonel düzelmeye yol açmadığı görülmüştür (201, 202). SAK sonrasında statin üzerine yapılan geniş bir klinik araştırmada, simvastatin vazospazm, mortalite ve fonksiyonel

sonuçlar üzerine faydasının olduğu fakat bu faydaların istatistiksel olarak anlamlı olmadığıdır (203).

Nitrik oksit (NO) tükenmesi SAK sonrası gelişen serebral vazospazm patogenezeine etkildir(201). Bu nedenle, vazospazm tedavisi için çeşitli NO vericiler araştırılmıştır. Deneysel ve klinik çalışmalarda NO tedavisinin vazospazm insidansını azaltabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (111, 204).

Bir sentetik endotelin reseptör antagonisti (ETRA) olan clazosentan, subaraknoid kanamadan sonra vazospazm için olası bir tedavi yöntemi olarak araştırılmıştır (205). Bir çalışmada clazosentan intravenöz infüzyonu vazospazmı düşürmüş ancak bu çalışma, morbidite ve mortalitedeki değişiklikleri hakkında bilgi vermemektedir (206). Ayrıca vazospazmın tedavisi için kullanılan ETRA'ların için 2601 sayıda hasta içeren bir çalışmada, ETRA'ların anjiyografik vazospazm insidansını azalttığını fakat vazospazm ile ilişkili serebral enfarktüsü veya mortaliteyi iyileştirmedeği görülmektedir (207).

Silostazol, iskemik periferik damar hastalığını tedavi etmek için kullanılan selektif bir fosfodiesteraz III inhibitörüdür ve mikrogial aktivasyonu inhibe etmek de dahil olmak üzere anti-inflamatuar özellikler sergiler (208). Klinik çalışmalar silostazolün vazospazm sıklığını ve şiddetini azaltmada etkinliğini ortaya koymuştur fakat, silostazol için çok merkezli randomize bir klinik araştırmada, anjiyografik vazospazmda bir azalma olduğu, ancak SAK sonrası 6. ayda sonuçlarda bir iyileşme olmadığını göstermiştir (209, 210).

Bu çalışmalar, tek başına vazospazmanın SAK sonrasında nörolojik defisitleri ve fonksiyonel sonuçları açıklayamayacağını ve vazospazmı iyileştirmeyi veya önlemeyi hedefleyen tedavi stratejilerinin başarılı olamayacağını desteklemektedir

1.2.2.3.4.4 SAK Sonrası Erken Beyin Hasarında ve Gecikmiş Nörolojik Bozulmada İnflamasyonun Rolü

İnflamasyonun, SAK sonrasında vasküler spazm sonucu doku hasarına aracılık ettiği kadar, rejenerasyon veya iyileşme açısından da önemli rol oynadığı düşünülmektedir (211). Yakın zamanda, "erken beyin hasarı" terimi SAK sonrası akut nörolojik bozulma mekanizmalarını tanımlamak için kullanılmıştır (212). Erken beyin hasarı, SAK sonrasında ortaya çıkan hücre ölümü, serebral ödem ve nöronal

fonksiyon bozukluğunu içerir. Vazospazm SAK sonrasında klinik bozulmanın ana nedenlerinden biri olmasına rağmen, son düşünce SAK sonrası kötü hasta sonuçlarına katkıda bulunanın tek vazospazm olmadığı gerçeğine odaklanmıştır (213). Çoğu hasta SAK sonrasında nörolojik bozulmaya gecikmiş bir şekilde geçmektedir. Bu, tipik olarak SAK'dan 7 ila 14 gün sonra doruğa çıkan serebral vazospazmdan kaynaklanabilir, ancak vazospazm yokluğunda da ortaya çıkar. Bu subakut nörolojik düşüş, "gecikmiş nörolojik bozulma" olarak adlandırılır ve gecikmiş iskemi (vazospazm olsun veya olmasın), nöbetler ve ateşler de dahil olmak üzere birden fazla farklı sebepten kaynaklanabilir (213). Muhtemelen erken beyin hasarı ve gecikmiş nörolojik bozulma bir süreklilik boyunca ortaya çıkmaktadır.

Klinik olarak, hücre ölümünün, serebral ödemin ve vazospazmın varlığı SAK sonrasında kötü sonuçlara neden olur. İnsanlarda hücre kaybının ölçülmesi zor olsa da, manyetik rezonans görüntülemeye dayanan SAK sonrası hipokampal nöronal kaybın kanıtı ve BOS'ta artmış nörofilament seviyeleri, aksonal bozulma ile klinik sonuç arasında bir bağlantı olduğunu göstermekte, SAK sonrası fonksiyonel sonuç ile korelasyon göstermektedir. Diğer nörolojik hastalıklarda olduğu gibi inflamasyon hem akut hasarda hem de iyileşmede ikili bir rol oynamaktadır (214, 215).

Günümüze kadar yapılan hayvan çalışmalarından elde edilen deneysel kanıtlar, inflamatuvar yolaklarını bloke etmenin SAK sonrasında hem kan beyin bariyeri bozulmasını önleyebileceği hem de nöronal sağkalımı geliştirebileceğini göstermektedir (216, 217). Fakat bu araştırmalara rağmen günümüzde SAK sonrası sonucu iyileştirmek için anti-inflamatuvar tedavilerin kabul edilebilir bir kullanımı yoktur.

1.2.2.3.5 Vazospazmı Önleyici ve Tedavi Edici Yöntemler

1.2.2.3.5.1 Tıbbi Terapiler

Kalsiyum kanal blokerleri, statinler, endotelyal reseptör antagonistleri ve bahsettiğimiz antiinflamatuvarlar dahil olmak üzere vazospazmı önlemek için sayısız tıbbi seçenekler öne sürülmüştür (218). Nispeten az sayıda araştırma, vazospazmın etkilerini tersine çevirmek veya en aza indirmek üzerine yoğunlaşmaktadır. Neredeyse evrensel olarak var olan literatür, randomize olmamış küçük, kontrolsüz

araştırmalardan veya bir kontrol grubundan gelmektedir. Kesin terapötik tavsiyelerin, daha yüksek seviyede kanıt olmadan onaylanması zordur.

1.2.2.3.5.2 Hemodinamik Arttırma

"Üçlü H terapisi" (hipervolemi, hipertansiyon ve hemodilüsyon) klinik ve radyografik vazospazmın medikal tedavisinin önemli bir yönü olarak kalmaya devam etmektedir (219). Bu teknik intravasküler kan hacmini genişleterek, kan viskozitesini düşürüp serebral kan akışını destekleyerek serebral kan akışını artırır. Serebral perfüzyonun artırılması hastaların yaklaşık% 75'inde semptomları iyileştirir. Bu stratejinin pulmoner ödem ve hipoksemi gibi gelişebilecek komplikasyonları ise faydasını sınırlamaktadır. Literatür, semptomatik vazospazmdan önce üçlü H terapisini desteklemez (220). Profilaktik hipervolemiyi değerlendiren çalışmalar, vazospazm insidansında ve serebral iskeminin geciktirilmesinde bir azalma göstermediğini tersine daha fazla tıbbi komplikasyon ve artan bakım maliyetine sebep olduğu göstermektedir (221).

İndükte hipertansiyon, geç serebral iskemik hastalarının yaklaşık üçte ikisinde nörolojik defisitlerin tersine çevrilmesi ile ilişkilendirilmiştir (222). Araştırmacılar öncelikle klinik çalışmalarda kan basıncını artırmak için dopamine odaklanmıştır, fakat klinisyenler sıklıkla fenilefrin ve norepinefrin kullanmaktadır. Dopaminin, doza bağlı olmayan kardiyak output değişikliklerinden ve dopaminden serebral kan akışından dolayı ve intrakranyal basıncın arttırması dezavantajlarıdır (223, 224). Prospektif çalışmalara fenilefrinin, korunmuş sol ventrikül fonksiyonu ile güvenli ve etkin olduğunu ortaya koymaktadır (225).

Milrinon inotropik bir ajan olup, siklik adenosin monofosfat (cAMP) yollarla etkileşime girip fosfodiesteraz III inhibisyonu yaparak damarlarda vazodilatör etki göstermektedir. Lannes ve ark. vazospazmı için homeostatik protokol ile tedavi edilen ve milrinon infüzyonunu içeren büyük bir hasta serisini sundu. Montreal Nörolojik Hastane tarafından yapılan bir çalışmada, sempatik vazospazmı olan ve övolemik hastalarda ortalama 9.8 gün infüzyon tedavisi verilen 88 hastaya milrinon uygulandı. Pulmoner ödem, miyokardiyal iskemik, şiddetli hipotansiyon ve aritmi dahil tıbbi komplikasyonların azaldığı görüldü. Hastaların % 75'inde 1 yıllık nörolojik sonuçlar iyi olarak değerlendirildi. Bu bulgulara rağmen

milrinonun vazospazmın medikal tedavisine güvenli bir ilave olabilmesi için prospektif kontrollü bir çalışmaya ihtiyaç duymaktadır (226, 227).

1.2.2.3.5.3 Vazorelaksanlar

Kalsiyum kanal blokerleri, vazospazm profilaksisinde ve tedavisinde geçmişten bugüne yerini korumaktadır. Özellikle nikardipin ve nimodipin kullanımını yaygın olup, intratekal verilmesini savunan yayınlarda bulunmaktadır (228, 229). Bunların dışında ayrıca NO ve magnezyum tedavilerinde vazorelaksan etki gösterdiği görülmektedir. Yalnız vazorelaksanlar, anjiyografik olarak vazodilatatör etki göstermesine rağmen, hastaların vazospazma bağlı klinik durumlarında belirgin düzelme göstermediği görülmektedir (230-232).

1.2.2.3.5.4 Girişimsel Terapiler

1.2.2.3.5.4.1 Tıbbi İntraarteriyel Tedaviler

Papaverinin intra-arteriyel (IA) infüzyonu, refrakter vazospazmı çözerek vazodilatasyon oluşturduğu ve nörolojik defisitlerin iyileştirdiği düşünülmektedir . Bununla birlikte IA papaverinin etkinliğinin şüpheli yaklaşılan, hatta paradoksik vazospazma sebep olabileceğini bildiren yayınlarda mevcuttur (233).

İntra-arteriyel bir kateter yoluyla bolus tek doz IA verapamil , semptomatik vasospazmı düzelttiği beraberinde nörolojik düzelmeyide sağladığı düşünülmektedir (234). Bunun aksine bir çalışmada ise IA verapamil'in damarların kalibresini değiştiremeyeceğini ve basit vazodilatasyonun nörolojik iyileşmeyi sağlamayacağı düşünülmektedir (235). Ayrıca IA bolus nikardipin anjiyografik spazmı azalttığı görülmektedir (236).

1.2.2.3.5.4.2 Mekanik İntraarteriyel Tedavileri

1.2.2.3.5.4.2.1 Anjiyoplasti

Intraluminal balon anjiyoplasti ilk önce 30 yıl önce bildirilmiş ve muhtemelen literatürde refrakter vazospazm için en iyi tedavilerden biridir. Literatürde tedaviden sonra hem damar çapında hem de nörolojik semptomlarda iyileşme gözlemlendiği bildirilmiştir. Anjiyoplasti ile ilgili başlıca komplikasyonlar arasında vasküler hasar veya perforasyon, kanama ve ölümden bulunmaktadır (237, 238).

1.2.2.3.5.4.2.2 Aorta obstrüksiyonu

Vazospazmdaki serebral perfüzyonun iyileştirilmesine yönelik yeni yaklaşımlar arasında geçici aortik tıkamaya bulunmaktadır. Karın aort lümenini çapının% 70'ini tıkamak için femoral artere bir balon kateter yerleştirilir ve böbrek arterlerinin hemen altında şişirilir. Deneysel iskemik inmeli hastalarda aortik tıkanıklığın serebral kan akışını iyileştirdiği gösterilmiştir (239).

1.2.2.4 Hücre Ölüm Mekanizmaları: Apoptoz, Nekroz ve Nekropitoz

Hücre ölümü, çok hücreli organizmaların gelişimini şekillendiren önemli bir biyolojik süreçtir. Bağışıklık sisteminde, hücre ölümünün bağışık hücre gelişimi ve patojen savunmasında kritik rolleri vardır. Apoptoz, kromatin yoğunlaşması ve DNA fragmentasyonunun olduğu düzgün bir hücre ölüm şeklidir. Apoptoz, TNF süper ailesindeki reseptörler (dışsal yolak) veya mitokondriyal efektörlerin (içsel yolak) doğrudan harekete geçirilmesi yoluyla tetiklenebilir. Kaspazlar, apoptozu yönlendiren sistein proteazlarıdır (240). Efektör kaspazların aktivasyonu sonrasında hücre yüzeyinde yerleşim gösteren fosfatidil serinler (FS) tıpkı bir bayrak görevi görerek ölmekte olan hücrenin makrofajlar tarafından fark edilerek fagositoz edilmesini sağlar (241). Apoptotik hücrelerin hızla temizlenmesi, zararlı enflamasyon riski minimuma indirir. Bu, çok hücreli organizmaların gelişme sırasında istenmeyen hücreleri elimine edilmesinde tercih edilen ve baskın yol olan apoptozun nedenini açıklar. Buna karşılık, nekroz, plazma membran bütünlüğünün hızlı bir şekilde kaybedilmesi ile belgindir. Nekrozdaki erken plazma zarının kopması, inflamasyonun güçlü uyarıcıları olan DAMP'leri serbest bırakır ve inflamasyonun artan bir şekilde tetiklenmesini sağlar (242). Bu nedenle, nekroz genellikle enfeksiyonlarda ve enflamatuvar hastalıklarda bulunur.

Patologlar tarihsel olarak apoptozis ile nekrozu birbirinden ayırmak için morfolojiye güveniyorlardı. Apoptoz hücre küçülmesi, apoptotik cisimler adı verilen membran kümeleşmesi ve kromatin yoğunlaşması ile belgindir. Buna karşılık, nekroz hücre ve organel şişme ile ilişkilidir ve kromatin yoğunlaşmasıyla sınırlı değildir. Biyologlar uzun süredir nekrozu travma veya kaza sonucu yaralanmanın sonucu olarak görüyorlar. Bu görüş, şimdi, nekrotik hücre ölümünü kontrol eden

adanmış moleküler yollarının varlığını gösteren son gelişmelerle revize edilmiştir. Apoptozu tanımlayan klasik belirteçlerin bazen nekrozda saptanabildiği görülmüştür.

Örneğin, Annexin V boyama, erken apoptotik hücrelerdeki plazma membranının dış kısmında FS'yi saptamak için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bazı nekrotik hücrelerde, FS'nin maruziyeti belirgin plazma zar kaçıışı olmaksızında tespit edildiği görülmüştür (243). FS maruziyetinin, apoptotik hücreleri fagositler tarafından temizlenmesi için işaretlemesi beklenir. Bununla birlikte, nekrotik hücreleri tanıyan reseptörler de tarif edilmiştir (244, 245). Dahası, DNA ipliğini algılayan TUNEL boyama, sadece apoptozda değil, nekrotik hücrelerde de tespit edilir (246). Bu gözlemler apoptoz ve nekrozun morfolojik tanımının bu iki hücre ölüm modülünü ayırt etmek için yetersiz olduğunu göstermektedir. Bunun yerine, genetik yollara dayalı bir moleküler tanımlama ihtiyaç göstermiştir. "Programlanmış nekroz", "Düzenlenmiş nekroz" veya "nekroptoz" gibi RIP kinaz (RIPK) tarafından indüklenen nekrozu, tanımlamak için kullanılmıştır (247). Buna ek olarak, belirli formlarda düzenlenmiş nekroz RIP kinazları olmadan da ortaya çıkabilir (248, 249). "Nekroptoz" terimi, RIPK'ya bağlı nekrozu diğer düzenlenmiş ölüm formlarından ayırmak için kullanılmaktadır. Nekroptozu ve inflamasyonu kontrol eden yollar üzerinde çakışan sinyal odakları bulunmaktadır. Ortak sinyal bağdaştırıcılarının paylaşımı, inflamasyon ile nekroptoz arasında yakın bir bağlantı kurar (249).

1.2.2.4.1 Nekroptozun Moleküler Mekanizması

Nekroptoz, ölüm reseptörleri olan TNF süper ailesi üyesi olan, TLR3, TLR4 ve interferon reseptörleri tarafından aktive edilmektedir. Nekroptoz için sinyal yolağı, en iyi şekilde TNF reseptör 1 (TNFR1) üzerinden karakterize edilmektedir. TNFR1, TNF reseptör süper ailesinin bir alt prototip üyesi olup ölüm bölgesi olarak adlandırılan önemli bir protein etkileşim alanını kontrol etmektedir. Ölüm bölgesinde TNFR1 ölüm reseptörü dışında arasında Fas / CD95 / APO-1, TRAIL reseptörü 1 ve 2, death reseptör 3 (DR3), DR6 ve ektodisplazin A reseptörü (EDAR)'de bulunmaktadır. Bununla birlikte hücre ölümü sadece bu sinyal verme sonucu gelişmemektedir. NF-κB aktivasyonu, çoğunlukla, bu reseptörlerden kaynaklanan dominant bir cevaptır. TNFR1 bu reseptörler arasında başlıca bir örnektir (249).

Yapılan çalışmalarda TNFR1 trimerinin TNF ile ligasyonu sonrasında oluşan sinyal "Kompleks I" olarak adlandırılan kısa ömürlü zar-sinyal kompleksinde konformasyon değişikliğine sebep olmaktadır. Bu membran kompleksi TRADD, TRAF2, RIPK1, cIAP1, cIAP2 ve lineer ubiquitin zincir kompleksi kompleksi (LUBAC) 'dan oluşur. LUBAC içindeki E3 ligazları cIAP1, cIAP2 ve HOIL-1, Kompleks I içindeki bağdaştırıcıların çoğunun kritik olarak kontrol edilmesinde görevlidir. Farklı türdeki Ubiquitin bağları, Kompleks I'de sinyal iletiminde çeşitli görevleri bulunur (250-252). Sitosolik ölümü indükleyen TNFR1 kompleks I'den TNFR1 kompleksi II'ye geçişi bir ubiquitin zincir yapısında olan cylindromatosis (CYLD) aktivasyonu ile olmaktadır (253). TNFR1 kompleks II içinde, apoptotik sistemin elemanları olan FADD, c-FLIP ve kaspaz-8 bulunmaktadır ve bunlar nekroptozun indüksiyonunu baskılamaktadır. Kaspaz-8 proteolitik bölünme yoluyla RIPK1 ve RIPK3'ü inaktive eder ve proapoptotik kaspaz aktivasyonu başlatılır (254). CYLD, nekroz ve kaspaz-8 proteolizi için gereklidir (255). Kaspaz-8 devre dışı bırakıldığında veya yok olduğunda, RIPK1 ve RIPK3 parçalanmaz ve fosforile olur (256). Daha sonra bir nekrozom oluşturur ve hücre nekroptozuna uğrar (254, 257). Fosforile RIPK1 ve RIPK3 birleşimi kendi arasında bir RIP kompleks oluştururlar ve sinyal iletimini mixed-lineage kinase domain-like (MLKL) proteine fosforillenmesini sağlayarak aktarır ve Fosforile MLKL, tetramers oluşturur ve plazma membranında translokasyona sebebiyet vererek içeriye Ca^{2+} girişini başlatır (258, 259). Bunun sonucunda membran bütünlüğü bozulması ile yeni DAMPs proteinleri nekroptozu artan bir şekilde tetikler. Hangi moleküler geçiş mekanizmasının, apoptoz veya nekroptozisin yürütülüp yürütülmeyeceğini kararlaştırdığı halen net değildir (260). Nekroptoz, kaspazdan bağımsızdır ve kaspaz inhibitörleri tarafından inhibe edilememiştir.

Nekroptozisin proenflamatuar etkenlerin salınımına sebep olduğu düşünülmektedir (261). Nekroptozun hasara bağlı moleküler kalıpların (DAMP'ler) salınmasına yol açtığı da gösterilmiştir (262). Hücre dışı çevredeki DAMP'lar inflamasyonu tetikler ve bu zincirleme bir reaksiyonla sürekli artarak devam eder. Yüksek mobilite gruplu protein B1 (HMGB-1), TLL-2 ve TLR-4 reseptörlerine benzer reseptörlerden inflamasyonu başlatan tipik bir DAMP molekülüdür. Lau ve

ark., RIPK1 / RIPK3 aracılı nekroptozun HMGB-1 salınımını düzenlediğini göstermiştir (263, 264).

1.2.2.5 Nekrostatin-1 (NEC-1)

RIPK1 ve RIPK3'ün nekroptozdaki rolü sebebiyle bu enzimlerin inhibisyonu nekroptozu karşı iyi bir strateji olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla RIPK1'e spesifik Nec-1, 2005 yılında Degterev tarafından insan ve fare hücrelerinde nekrotik hücre ölümünü bloke eden bir bileşik olarak tanımlandı (265). Hayvan modellerinde nekrostatinlerin çok yararlı olduğu deneysel sonuçlarla birlikte ispatlandı (266). Son zamanlarda, Nekrostatin-1 (veya Nec-1) olarak adlandırılan 5-(1H-indol-3-ilmetil) -2-tiohidantoin'in, TNF- α ile uyarılan nekroptozu inhibe ettiği bildirilmiştir (267, 268). Ancak bugüne kadar klinik öncesi aşamada kullanılan bu ilaç daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyduğundan klinik çalışmalarda henüz kullanılamamaktadır.

1.2.2.5.1 Necrostatin-1 ile ilgili Beyinde Yapılan Çalışmalar

Nekroptoz, yenidoğan hipoksi-iskemi (HI) beyin hasarında önemli yaralanma mekanizması olarak bilinmektedir. Yenidoğan HI fare modelinde, NEC-1'in nöronlarda RIPK1 ve RIPK3 etkileşimini bloke ederek, IL-1 β , IL-6 ve TNF α salınımını ve NF- κ B aktivasyonunu inhibe etmektedir. Bu çalışmalarla nöroinflamasyon baskılanarak Nekrostatin-1'in yenidoğan beyin hasarına karşı koruyucu olabileceği gösterilmektedir (269, 270).

Nekroptozun travmatik beyin hasarı sırasında hücre ölümü patogeneğinde kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir (271). Nekrostatin-1 ile verilen farelerde, beyin hasarında azalma ve TBI sonrası motor ve bilişsel performansda iyileşme olmuştur. Nekrostatin-1'in beyin nötrofil infiltrasyonunu azalttığı ve mikrogliyal aktivasyonu baskıladığı da gösterilmiştir (265).

İskemik inme patolojisinde nekroptozun rolü Degterev ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. İntraserebroventriküler NEC-1 uygulaması, infark hacmini belirgin bir şekilde düşürerek inme için terapötik bir potansiyele sahip olduğunun bu çalışmada gösterilmektedir (265).

Hemorajik inme sonrası nekropitotik hücre ölümünün rolü tespit edilmiştir ve intraserebral hemoraji oluşturulan fare modelinde, NEC-1 uygulaması sonrası hematoma hacmi, nöronal hücre ölümü, reaktif astrogliosisi ve nörovasküler hasarı önemli ölçüde azaldığı görülmüş ayrıca NEC-1 tedavisinden sonra nörolojik sonuçlarda da anlamlı olarak düzelme sağlanmıştır (21).

Re ve ark.nın yaptığı bir çalışmada nekropitozisin, hem sporadik hem de ailesel amiotrofik lateral skleroz tipinde (ALS) nörodejenerasyonunda kilit rol oynadığı görülmüştür. Sporadik ve ailesel ALS astrositlerinde, RIPK1'e bağımlı şekilde nekropitoz sonrası nöronal ölümün gerçekleştiği ve NEC-1'in, ALS'de fare motor nöron kaybını önlediği gösterilmiştir (272).

Nekropitozun, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi kronik nörodejenerasyon ile ilişkili nöronal hasardan sorumlu olduğu görülmüştür (273). NEC-1 ile tedavi, hipokampal HT-22 hücrelerini glutamata bağlı oksitoza karşı korur. Ayrıca sıçanlarda NMDA ile indüklenen kortikal hasar etkilerinin NEC-1 ile azaltılabildiği de gösterilmiştir (274). 24-S-hidroksikolesterol (24-S-OHC) molekülünün, nöroblastoma hücrelerinde nekropitozis yoluyla nöronal hücre ölümüne neden olduğu bulunmuştur (275). Bu 24 S- OHC molekülü, genellikle Alzheimer hastalığı olan hastalarda artmış seviyelerde, beyinde bir kolesterol eliminatörü olarak bulunmaktadır (276). Nekrostatin-1 tedavisi ile, 24 S -OHC ile indüklenen hücre ölümünü önemli derecede bastırdığı yapılan çalışmalarda gösterildi (277, 278).

1.2.3 GEREÇ ve YÖNTEM

1.2.3.1 Deney Grupları

Bu çalışma, Erzurum Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 05.08.2016 tarih ve 130 numaralı alınan izinle yapıldı.

Çalışmada, toplam 60 adet her biri 300-400 gram ağırlığında Wistar cinsi erkek albino rat kullanıldı. Kullanılan 60 adet rattan bir tanesi, deneysel işlem sırasında kaybedildi ve gruplardaki kalan rat sayıları istatistiksel veriler oluşturmak açısından yeterli sayılara ulaştığından ölen ratın yerine yenisi konulmadı. Değerlendirme 59 rat üzerinden yapıldı. Ratlar, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Tüm deneysel işlemler sırasında Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne sadık kalındı. Ratlar, tüm çalışma boyunca oda sıcaklığında tutuldu; takipleri süresince yemek içmekte serbest bırakıldı. Çalışmamızda, hala deneysel subaraknoid kanama modelleri arasında tercih edilen tekli kanama modeli kullanıldı ve toplam deney süresi 48 saat olarak belirlendi (144, 279).

Ratlar altı gruba ayrıldı. Bu gruplar aşağıda belirtilmektedir:

- 1. Grup (kontrol grubu, n=10):** Her hangi bir müdahale yapılmayan denekler perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edildikten sonra alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi.
- 2. Grup (sham grubu, n=10):** Subaraknoid kanama oluşturulmaksızın sisterna magnaya 0.15 cc steril serum fizyolojik verildikten bir saat sonra perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilerek alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi.
- 3. Grup (subaraknoid kanama grubu, n=10):** Sisterna magnaya tek sefere mahsus 0.15 cc otolog nonheparinize kan enjekte edildikten bir saat sonra perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilerek alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi.
- 4. Grup (subaraknoid kanamadan 48 saat sonra dekapite edilen grup, n=9):** Sisterna magnadan 0.15 cc otolog nonheparinize kan verildikten sonra

48 saat süre ile takip edilen ve ardından perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilerek alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi.

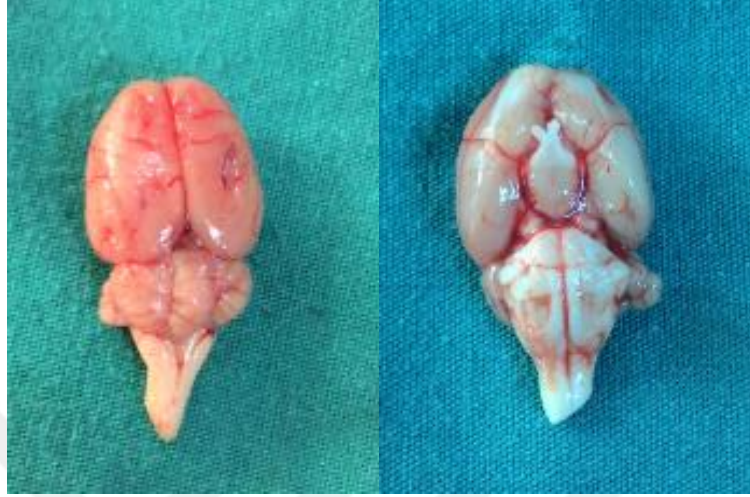
5. **Grup (proflaktik NEC-1 verildikten sonra subaraknoid kanama yapılan grup, n=10):** NEC-1 intrasisternal yolla verildikten onbeş dakika sonra sisterna magnaya 0.15 cc otolog nonheparinize kan enjekte edilip takip eden birinci saatte perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilerek alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi.
6. **Grup (subaraknoid kanama sonrası NEC-1 verilip 48 saat sonra dekapite edilen grup, n=10):** Sisterna magnaya 0.15 cc otolog nonheparinize kan enjekte edilip 24. saat tek doz intrasisternal yolla NEC-1 verildikten 24 sonra perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilerek alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi.

1.2.3.2 Cerrahi İşlem

Denekler işlem öncesi sekiz saat süre ile aç bırakıldı. İntramüsküler ketamin hidroklorür 50 mg/kg ve xylazin 5 mg/kg ile anestetize edilen denekler, yapılacak işleme göre supin veya prone pozisyonda masaya tespit edildi ve deneklerin işlem yapılacak anatomik sahaları işlem öncesinde traşlanarak dezenfekte edildi. Deneyler sırasında kullanılan NEC-1, Sigma-Aldrich® firması tarafından üretilmiştir ve katalog numarası N9037'dir. Üretici firma tarafından iyofilize halde -20°C'de saklanarak teslim edilen NEC-1, oda sıcaklığında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda dimetil sülfoksit (DMSO) yardımı ile dilüe edildi.

1. **Grup:** Kontrol grubuna anestezi uygulandıktan sonra ratlarda deneysel ve cerrahi teknikler arasında bulunan kalpten kan alma işlemi, usulüne uygun bir şekilde sol el işaret parmağı ile kalp atımı tespit edilip atım alınan noktanın lateralindeki interkostal aralıktan perkütan yolla kalbin sol ventrikülüne girilerek yaklaşık 10 cc kan alınıp ventrikül içerisine 10 cc steril serum fizyolojik ve sonrasında 20 cc % 10'luk formaldehit (FA) infüzyonu yapıp perfüzyon fiksasyon işlemi tamamlandı. Yaklaşık 10 dakika sonra foramen

magnumdan frontal bölgeye kadar uzanan kraniektomi yapılarak beyin dokusu çıkarıldı ve FA içerisine konuldu (Şekil 1).



Şekil 1. Kontrol grubuna ait bir denekte perfüzyon fiksasyon işlemi yapıldıktan sonra oksipitoservikal bölgeden frontale doğru yapılan kraniektomi sonrası çıkarılan beyin dokusunun ventral ve dorsal açıdan görünüşleri.

2. **Grup:** Sham grubuna anestezi uygulandıktan sonra ratlar prone pozisyonda operasyon masasına alınarak önceden traşlanmış olan oksiput-C1 arası bölge tespit edildi. Steril 26 G insülin enjektörü ile transperkütan olarak sisterna magnaya girilerek BOS geldiği görüldü ve 0.15 cc steril serum fizyolojik çekilmiş olan enjektörün haznesi sisterna magnadaki enjektörün iğne kısmına takılarak sisterna magnaya steril serum fizyolojik enjekte edildi (Şekil 2). Ratlar bir saat süre ile takibe alındı. Bir saatin sonunda kalbin sol ventrikülünden yaklaşık 10 cc kan alınıp ventrikül içerisine 10 cc steril serum fizyolojik ve sonrasında 20 cc % 10'luk FA infüzyonu yapılarak perfüzyon fiksasyon işlemi tamamlandı. 10 dakika sonra foramen magnumdan frontal bölgeye kadar uzanan kraniektomi yapılarak beyin dokusu çıkarıldı ve FA içerisine konuldu.
3. **Grup:** SAK grubuna anestezi uygulandıktan sonra supin pozisyonda operasyon masasına alınıp kalbin sol ventrikülüne steril insülin enjektörü ile girilerek 0.15 cc otolog kan alındı (Şekil 3) ve deneğe prone pozisyon verilerek oksiput-C1 arası tespit edildi. Başka bir steril insülin enjektörü ile transperkütan yolla sisterna magnaya girilerek BOS geldiği tespit edilip,

içerisinde kan bulunan enjektörün hazne kısmı alınarak sisterna magnadaki enjektörün iğne kısmına takıldı ve sisterna magnaya nonheparinize otolog kan enjekte edildi (Şekil 3).Enjeksiyon sonrası ratlar 15 dakika baş aşağı şekilde tutuldu. Bir saat takip edilen ratların stupor halde oldukları görüldü. Bir saatin sonunda perkütan yolla kalbin sol ventrikülüne girildi. Sol ventrikülden kan alındıktan sonra ventrikül içerisine 10 cc steril serum fizyolojik ve sonrasında 20 cc % 10'luk FA infüzyonu yapılarak perfüzyon fiksasyon işlemi tamamlandı.10 dakika sonra foramen magnumdan frontal bölgeye kadar uzanan kraniektomi yapılarak beyin dokusu çıkarıldı ve FA içerisine konuldu.



Şekil 2. Sisterna magnaya 0.15cc steril serum fizyolojik enjeksiyonu



Şekil 3. Soldaki resimde supin pozisyonundaki denekte kalbin sol ventrikülünden otolog kan alınması görülmekte olup, sağdaki resimde alınan kanın sisterna magnaya enjekte edilişi gösterilmektedir.



Şekil 4. SAK oluşturulan grupta kraniektomi sonrası çıkarılan beyin dokusu

- 4. Grup:** Anestezi uygulandıktan sonra supin pozisyonunda operasyon masasına alınıp kalbin sol ventrikülüne steril insulin enjektörü ile girilerek 0.15 cc otolog kan alınıp rata prone pozisyon verildi ve oksiput-C1 arası tespit edildi. Başka bir steril insulin enjektörü ile transperkütan yolla sisterna magnaya girilerek BOS geldiği tespit edildi ve içerisinde kan bulunan enjektörün hazne kısmı alınıp sisterna magnadaki enjektörün iğne kısmına takılarak sisterna magnaya nonheparinize otolog kan enjekte edildi. 48 saat süre ile takip edilen ratların işlem sonrası yaklaşık bir saat süre ile stupor oldukları, ilerleyen saatlerde şuurlarının kademeli olarak açıldığı ve motor kuvvetin normal

olduğu görüldü. 48 saatin sonunda perkütan yolla kalbin sol ventrikülüne girildi. Sol ventrikülden kan alındıktan sonra ventrikül içerisine 10 cc steril serum fizyolojik ve sonrasında 20 cc % 10'luk FA infüzyonu yapılarak perfüzyon fiksasyon işlemi tamamlandı. 10 dakika sonra foramen magnumdan frontal bölgeye kadar uzanan kraniektomi yapılarak beyin dokusu çıkarıldı ve FA içerisine konuldu.

5. **Grup:** Anestezi uygulandıktan sonra intrasisternal 2.6 uq NEC-1 enjekte edilen ratlar, onbeş dakika sonra supin pozisyonda operasyon masasına alınıp kalbin sol ventrikülüne steril insulin enjektörü ile girilerek 0.15 cc otolog kan alındı ve rata prone pozisyon verildi. Oksiput-C1 arası tespit edildi. Başka bir steril insulin enjektörü ile transperkütan yolla sisterna magnaya girilerek BOS geldiği tespit edilip, içerisinde kan bulunan enjektörün hazne kısmı alınarak sisterna magnadaki enjektörün iğne kısmına takıldı ve sisterna magnaya nonheparinize otolog kan enjekte edildi. Ratlar bir saat süre ile takibe alındı. Bir saat sonunda perkütan yolla kalbin sol ventrikülüne girildi. Sol ventrikülden kan alındıktan sonra ventrikül içerisine 10 cc steril serum fizyolojik ve sonrasında 20 cc % 10'luk FA infüzyonu yapılarak perfüzyon fiksasyon işlemi tamamlandı. 10 dakika sonra foramen magnumdan frontal bölgeye kadar uzanan kraniektomi yapılarak beyin dokusu çıkarıldı ve FA içerisine konuldu.
6. **Grup:** Anestezi uygulandıktan sonra supin pozisyonda operasyon masasına alınıp kalbin sol ventrikülüne steril insulin enjektörü ile girilerek 0.15 cc otolog kan alınıp rata prone pozisyon verildi ve oksiput-C1 arası tespit edildi. Başka bir steril insulin enjektörü ile transperkütan yolla sisterna magnaya girilerek BOS geldiği tespit edildikten sonra, içerisinde kan bulunan enjektörün hazne kısmı alınıp sisterna magnadaki enjektörün iğne kısmına takılarak sisterna magnaya nonheparinize otolog kan enjekte edildi. Sisterna magnaya kan enjekte edildikten sonraki 24. saatte tek doz intrasisternal 2.6uq NEC-1 enjekte edilen ratlar, 48 saat süre ile takibe alındı. Takiplerinin birinci saatinde stupor halde olan ratların birinci saatten sonra kademeli olarak şuurlarının açıldığı ve 48. saatin sonunda şuurlarının açık motor kuvvetlerinin tam olduğu tespit edildi. 48.saatte perkütan yolla kalbin sol

ventrikülüne girildi. Sol ventrikülden kan alınıp ventrikül içerisine 10 cc steril serum fizyolojik ve sonrasında da 20 cc % 10'luk FA infüzyonu yapılarak perfüzyon fiksasyon işlemi tamamlandı. 10 dakika sonra foramen magnumdan frontal bölgeye kadar uzanan kraniektomi yapılarak beyin dokusu çıkarıldı ve FA içerisine konuldu.

1.2.3.3 Spesmenleri İnceleme Yöntemleri

Alınan dokuların histolojik inceleme için hazırlanması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı'nda yapılmış olup, histolojik incelemeler Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Makroskopik inceleme, foramen magnumdan frontal bölgeye kadar uzanan kraniektomi yapılarak beyin dokuları çıkarıldı. Beyin dokuları baziller arterin anatomik seyri göz önünde bulundurularak üst sınır mamiller cisimler, alt sınır pons ile bulbusun birleşim noktası olacak şekilde proksimal, orta ve distal kısımlardan kesitler alınarak (Şekil 5) rutin takip işlemi için SAKURA® firmasının ürettiği Tissue-Tek VIP adlı doku takip cihazı içerisine yerleştirilerek izleme alındı.

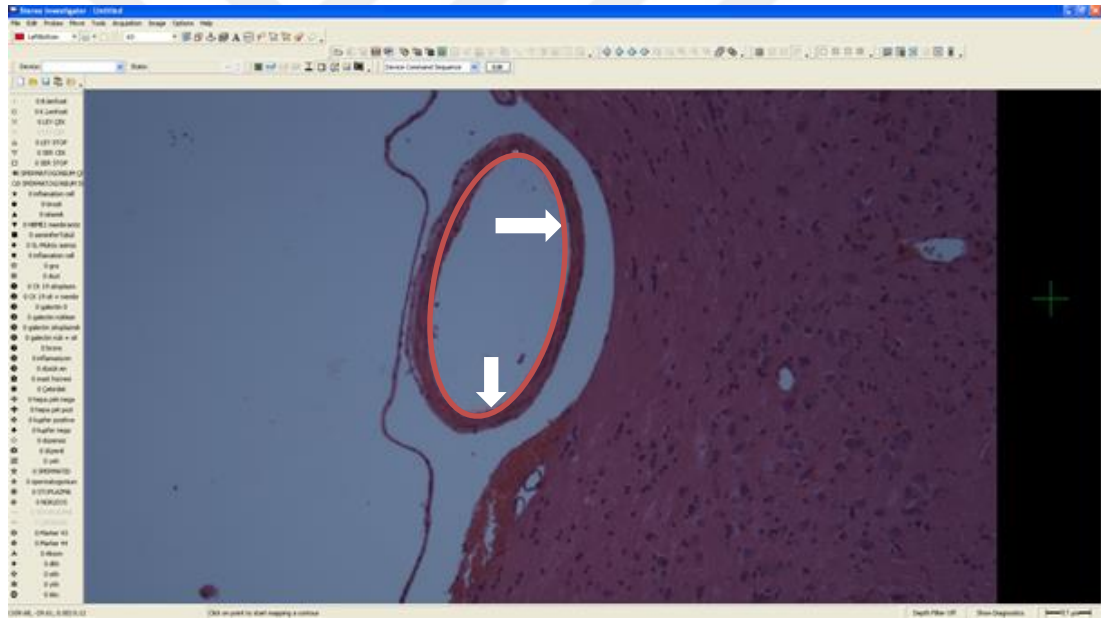


Şekil 5. Fiksasyon sonrası alınan dokular ve dokulardan alınan kesitler

Histolojik inceleme, takip işlemi tamamlanan dokular, parafin bloklara gömüldü. Hematoksilen & Eosin ve TUNEL boyaları uygulamak için 0.5 mikrometre (μm) kalınlıkta kesitler alındı. Her bir rata ait baziller arterden proksimal,

orta ve distal kısımlar olmak üzere çıkarılan üçer kesit, 10'luk, 100'lük ve 200'lük magnifikasyonla incelendi.

Stereolojik İncelemede kesitler, grupların dağılımını bilmeyen iki patolog tarafından Leica marka ışık mikroskobu altında MBF® Bioscience firmasına ait Stereo Investigator adlı yazılım eşliğinde bilgisayar ortamında incelendi ve baziler arter lümen alanlarının ölçülmesi ve kesitlerin fotoğraflanması bu program yardımı ile yapıldı Arter lümen alanı, her bir rata ait baziler arterin üç farklı kesiti, endotel tabakaları boyunca bilgisayar ortamında “Stereo Investigator” program yardımı ile çizilerek metrik olarak belirlendi ve üç kesitin ortalaması nihai değer olarak kaydedildi (Şekil 6). Damar duvar kalınlıkları da, her bir rata ait baziler arterin üç farklı kesiti, metrik olarak ölçülüp ortalaması alınarak nihai değer olarak kaydedildi.



Şekil 6. 200'lük büyütmede stereolojik olarak baziler lümen alanı ölçümü (beyaz oklarla gösterilen kırmızı hat).

İstatistik İncelemede her bir deneğe ait ortalama baziler arter lümen alanı ve gruplara ait ortalama baziler arter lümen alanları, baziler arter duvar kalınlıkları ve gruplara ait ortalama baziler arter duvar kalınlıkları stereolojik yöntemle ölçülerek sonuçlar, One-way ANOVA (analysis of variance) içerisinde LSD (least significant difference) testine tabi tutuldu.

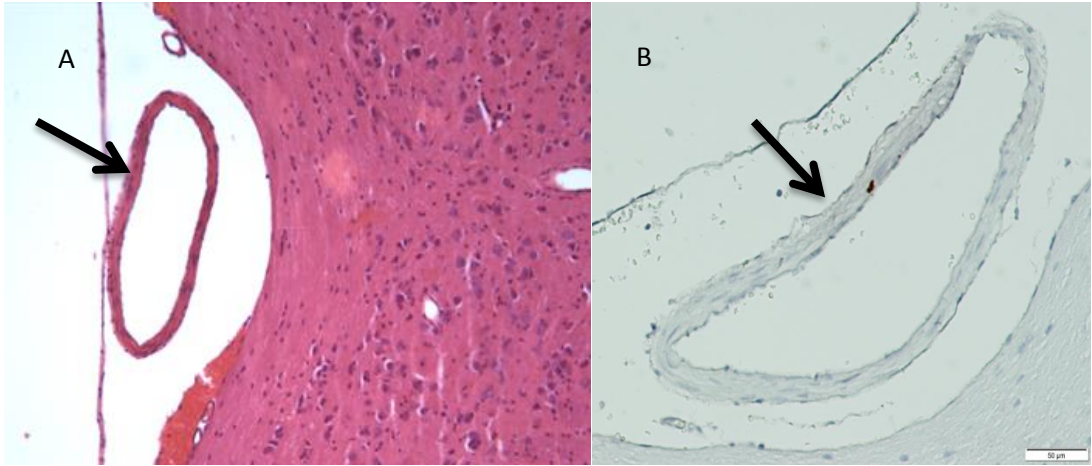
1.2.4 BULGULAR

1.2.4.1 Makroskopik İnceleme

Grup 1 ve 2'den alınan beyin örnekleri normal beyin dokusu görünümünde idi. Grup 3 ve 5'den alınan beyin örneklerinde beyin dokusunun ödemli olduğu ve kırmızı taze kanın bazal sisternalara görünür bir şekilde yayıldığını tespit ettik. Grup 4 ve 6'nın az ödemli olduğu ve koyu kırmızı-siyah renkli subakut kanamanın bazal sisternalara görünür bir şekilde yayıldığı izlendi.

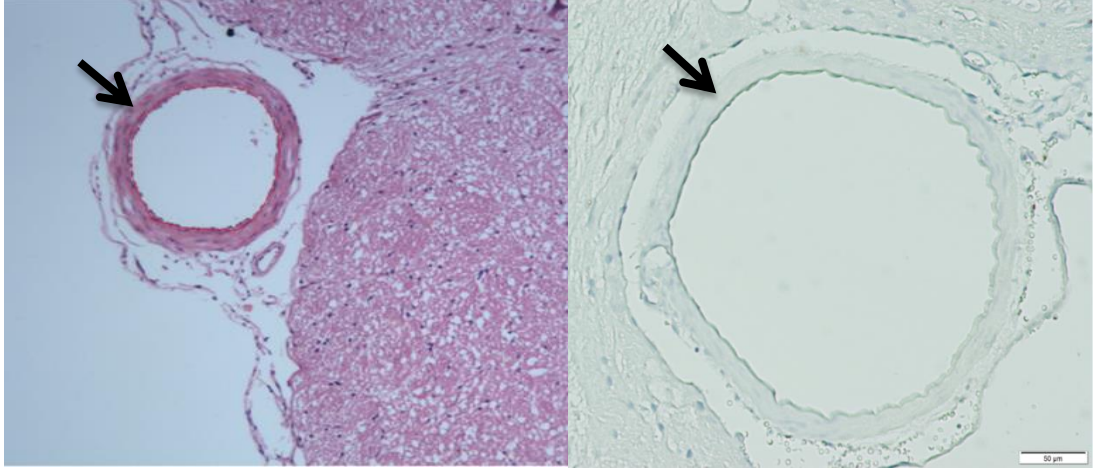
1.2.4.2 Histolojik İnceleme

Grup 1 ve 2'nin histolojik incelemeleri benzer özellik gösterdi. Işık mikroskopik incelemede arter duvarının içten dışa doğru normal histolojik yapıda intima, media ve adventisya tabakalarını içerdiği görüldü. Arter lümeni açık ve düzgün olarak izlendi. Lüminal yüzde, tek sıra yassı endotel hücreleri ile döşenmişti. Media tabakası birbirine paralel, sirküler seyirli düz kas hücre tabakalarından oluşmuştu. Adventisya tabakası gevşek bağ dokusu yapısında izlendi. Perivasküler alan ve çevre sinir dokusu normal histolojik yapıda değerlendirildi. TUNEL boyama yapılan preparatlarda endotel, media ve adventisya tabakalarında apoptozu düşündürücü morfolojik bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 7, 8).



Şekil 7. Kontrol grubuna ait bir deneğin baziller arter kesiti

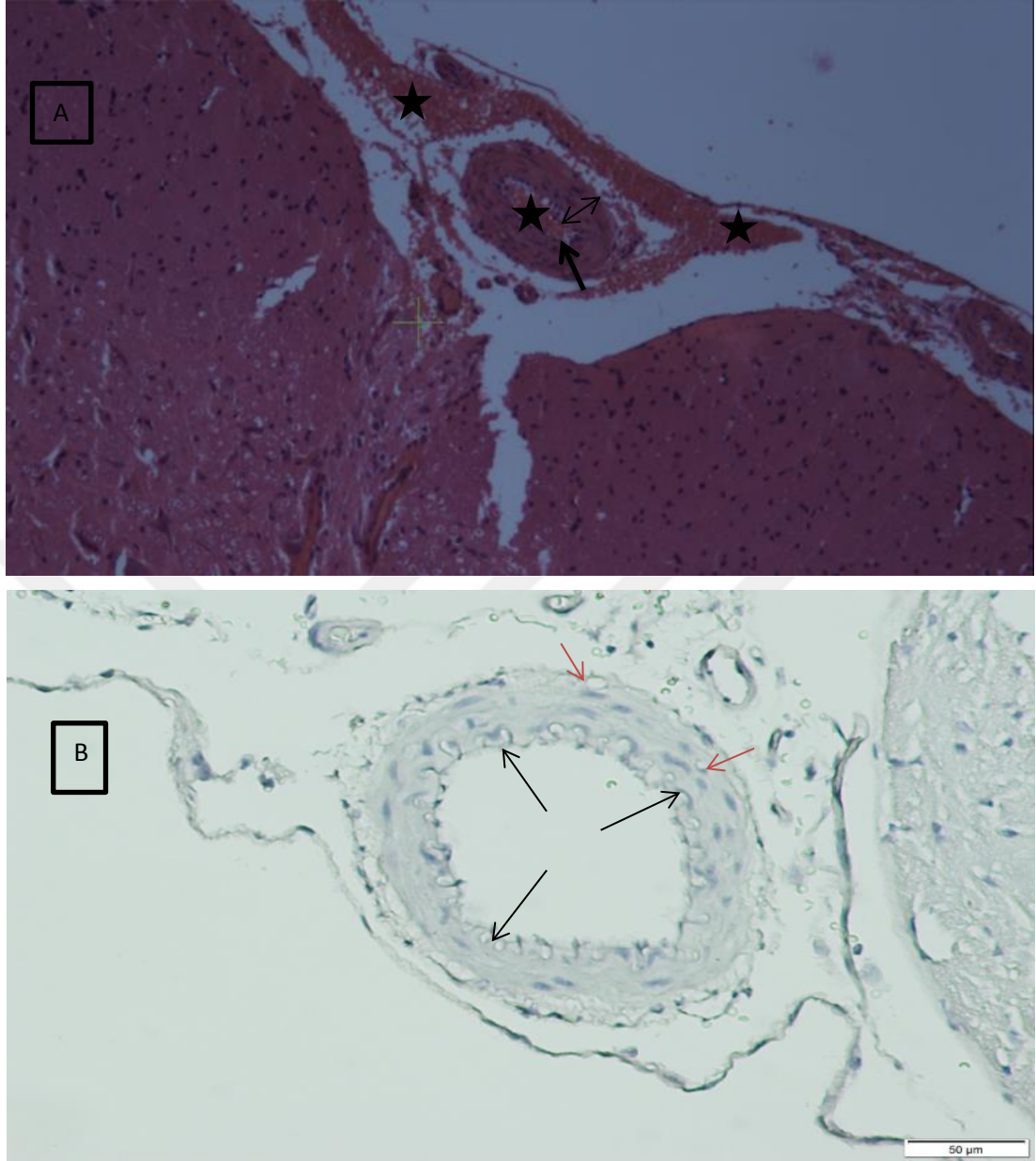
- A) Normal morfolojiye sahip baziller arter görünümü (siyah ok), H&E, x100
- B) Apoptotik/ Nekropitotik hücre ölümü görülmemiş baziller arter görünümü (siyah ok), TUNEL, x200



Şekil 8. Sham grubuna ait bir deneğin baziller arter kesiti

- A) Normal morfolojiye sahip baziller arter görünümü (siyah ok), H&E, x100
- B) Apoptotik/ nekropitotik hücre ölümü görülmemiş baziller arter görünümü (siyah ok), TUNEL, x200

Grup 3' te yapılan histolojik incelemede H&E boyama yapılan preparatlarda endotel tabakada yer yer kıvrımlaşmanın olduğu, damar duvar kalınlığının arttığı, damar lümen alanının azaldığı ve media tabakasının düz kas hücrelerinin kontraksiyonunda artış olduğu ve boylarının kısaldığı saptandı. Düz kas hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon ve şişme gözlemlendi. TUNEL boyama yapılan preparatlarda endotel, media ve adventisya tabakalarında apoptozu düşündürücü morfolojik bir değişiklik gözlenmedi. Endotel hücrelerinde lümene doğru çıkıntı, perinuklear alanda intrasellüler ödem ve yer yer alttaki elastik laminadan ayrılmalar görüldü (Şekil 9).

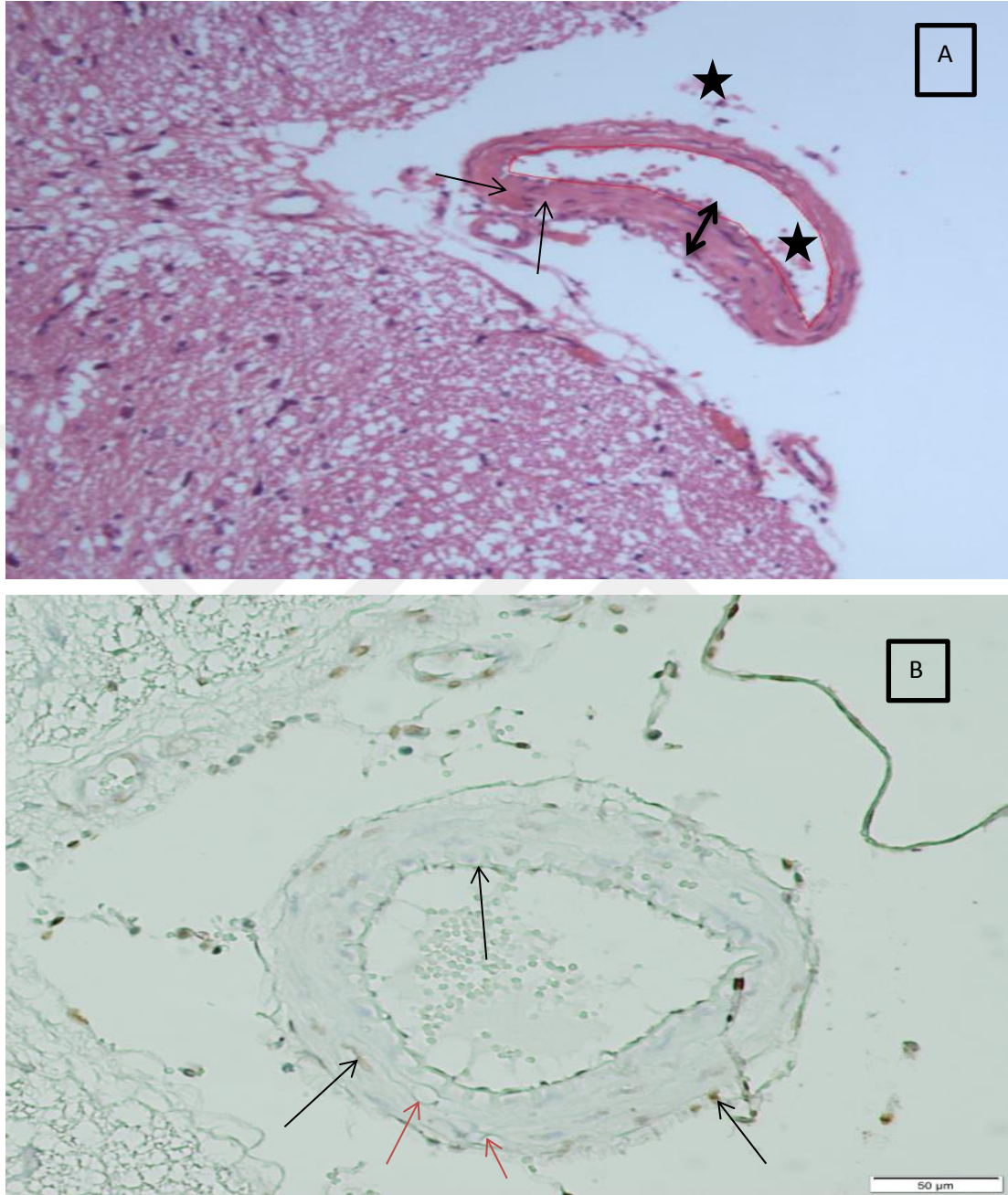


Şekil 9. SAK grubuna ait bir deneğin baziller arter kesiti

- A) Baziller arter lumen alanında daralma, damar duvarında kalınlaşma(çift uçlu siyah ok), endotelde kıvrımlaşma (siyah ok) ve subaraknoid mesafede perivasküler alanda kan elemanları (siyah yıldız), H&E, x100
- B) Endotel kıvrımlaşmaların belirgin olduğu (siyah oklar), sitoplazmik vakuolizasyonun görüldüğü (kırmızı ok) ve apoptotik/ nekrotik hücre ölümü görülmemiş baziller arter görünümü TUNEL, x200

Grup 4'te endotel hücrelerinin nükleuslarının lümene doğru çıkıntı yaptığı, lamina elastika internanın kıvrıntılı seyrettiği ve media tabakası düz kas hücrelerinde belirgin kontraksiyon olduğu saptandı. Ayrıca düz kas hücrelerinde yer yer sitoplazmik vakuolizasyon izlendi. TUNEL boyama yapılan preparatlarda endotel,

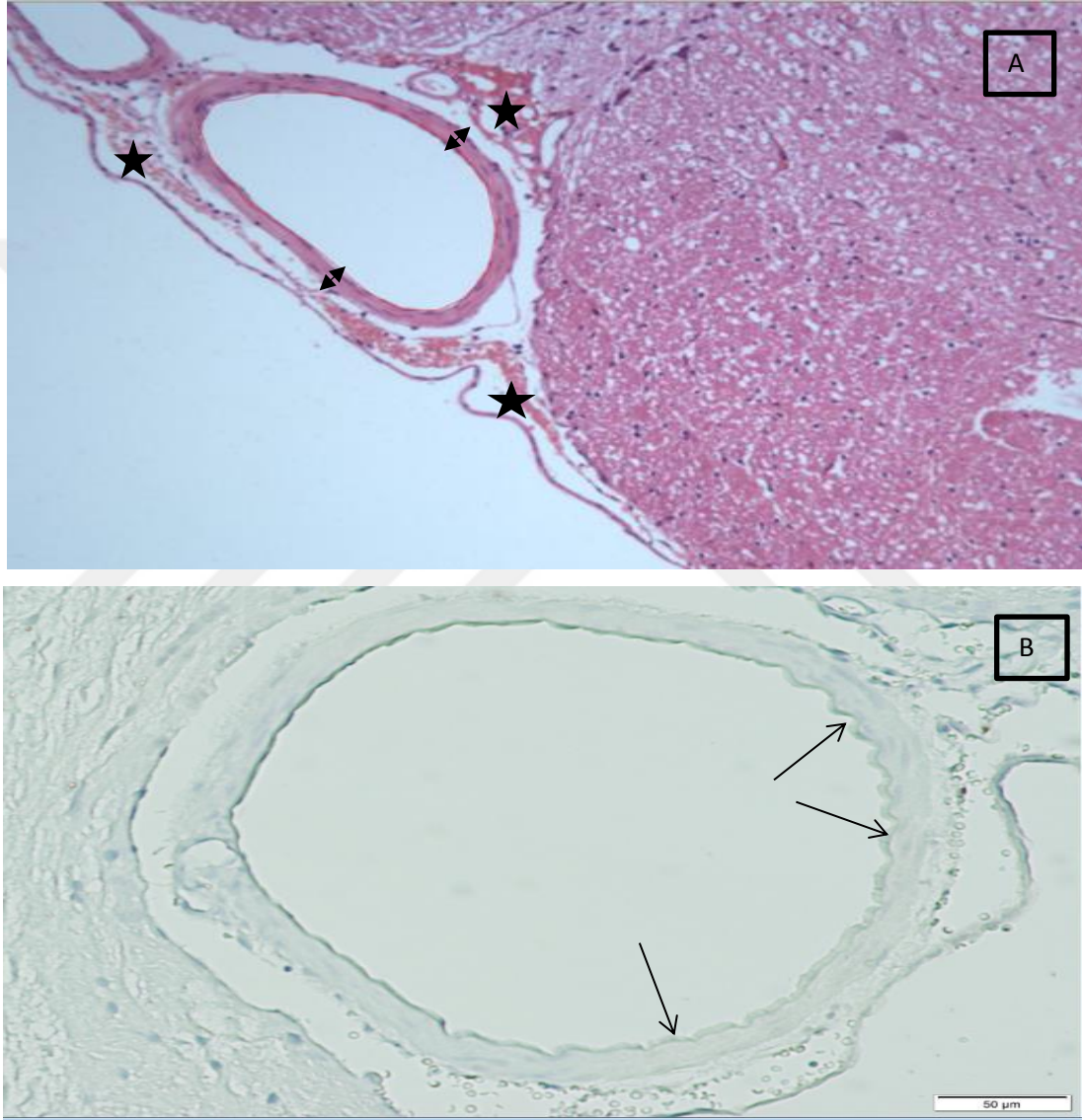
media ve adventisya tabakalarının her birinde apoptozu düşündürücü belirgin morfolojik değişiklikler izlendi (Şekil 10).



Şekil 10. Subaraknoid kanamadan 48 saat sonra dekapite edilen gruba ait bir deneğin baziller arter kesiti

- A) Baziller arter lumen alanında daralma, damar duvarında kalınlaşma (çift uçlu siyah ok), endotelde kıvrımlaşma (siyah oklar) ve subaraknoid mesafede perivasküler alanda kan elemanları (siyah yıldızlar), H&E, x100
- B) Damar duvarında sitoplazmik vakuolizasyonun görüldüğü (kırmızı oklar) ve endotel, media ve adventisya tabakalarının her birinde apoptotik hücre ölümünün izlendiği (siyah oklar) baziller arter görünümü, TUNEL, x200

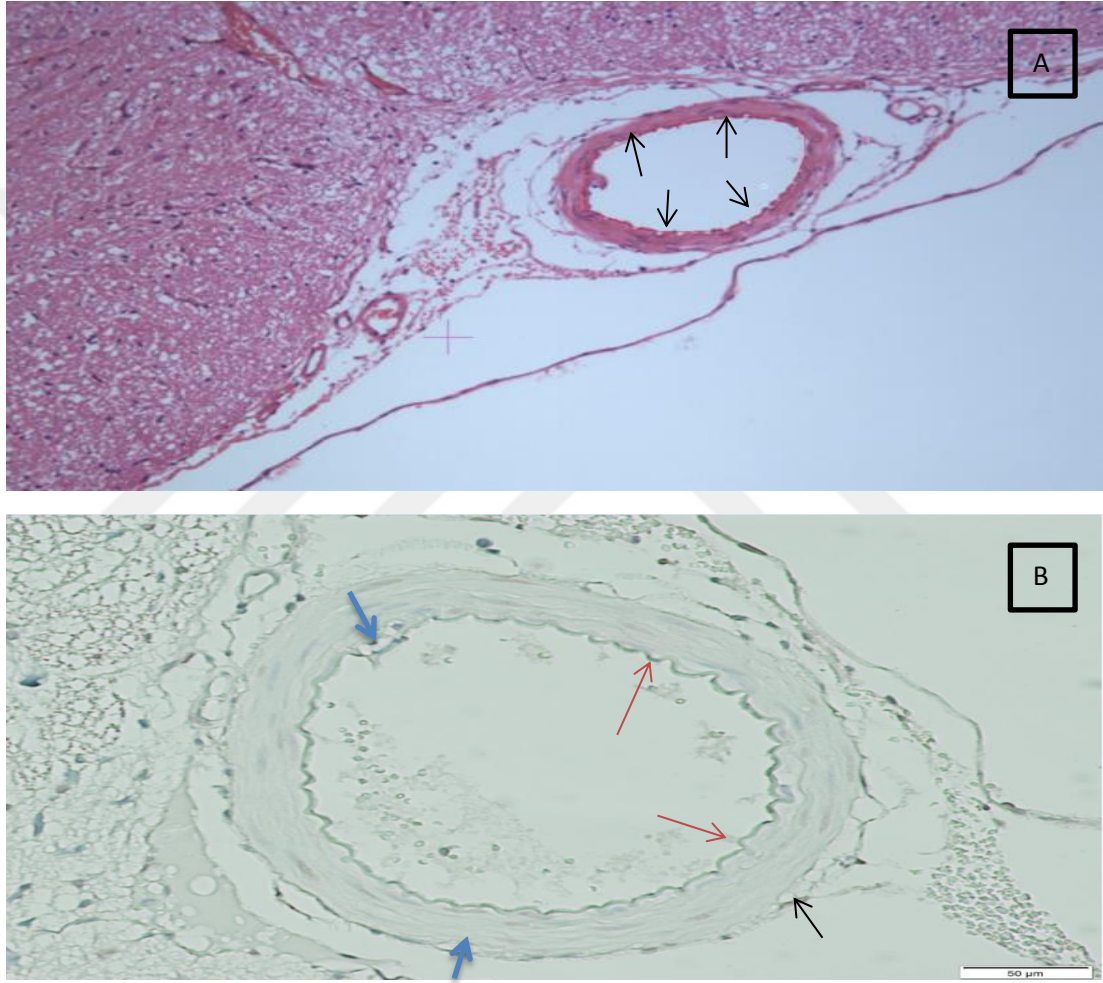
Grup 5' te H&E boyama yapılan preparatlarda endotel tabakada yer yer kıvrımlaşmaların olduğu, damar duvar kalınlığının ve damar lumen alanının belirgin artmadığı, media tabakası düz kas hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon morfolojik olarak izlenmediği görüldü. TUNEL boyama yapılan preparatlarda endotel, media ve adventisya tabakalarının her birinde apoptozu düşündürücü morfolojik değişiklikler izlenmedi (Şekil 11).



Şekil 11. Profilaktik olarak NEC-1 verildikten sonra SAK oluşturulan gruba ait bir deneğin baziller arter kesiti

- A) Damar duvar kalınlığının ve damar lumen alanının belirgin artmadığı (çift uçlu siyah oklar) baziller arter ve damar etrafındaki subaraknoid mesafede kan elemanları mevcut (siyah yıldız). H&E, x100
- B) Endotelial kıvrımlaşmaların yer yer görüldüğü (siyah oklar) ve apoptotik-nekrotik hücre ölümünün görülmediği baziller arter görünümü TUNEL, x200

Grup 6’da endotel tabakada kıvrımlaşmaların olduğu, damar duvar kalınlığının ve damar lumen alanının arttığı görüldü. TUNEL boyama yapılan preparatlarda ise endotel, media ve adventisya tabakalarının yer yer apoptoz görülmektedir. Endotel hücrelerinin nukleuslarının lümene doğru çıkıntı yaptığı, lamina elastika internanın kıvrıntılı seyrettiği ve media tabakası düz kas hücrelerinde kontraksiyon olduğu saptandı. Ayrıca düz kas hücrelerinde yer yer sitoplazmik vakuolizasyon izlendi (Şekil 12).



Şekil 12. SAK oluşturulan 24.saatte NEC-1 verilip 48.saatten sonra dekapite edilen gruba ait bir deneğin baziller arter kesiti

- A) Baziller arter damar duvar kalınlığı ve damar lümen alanının kontrol grubuna yakın olduğu, kontrol grubundan farklı olarak endotelial kıvrımlaşmanın belirgin olduğu (siyah oklar) görülmekte H&E, x100
- B) Damar duvarında yer yer sitoplazmik vakuolizasyon izlendiği (mavi ok), baziller artere ait intima, media ve adventisya tabakaların TUNNEL pozitifliğinin (siyah ok) yer yer izlendiği ve endotelial kıvrımlaşmanın belirgin olduğu (kırmızı oklar) görülmekte TUNEL, x200

1.2.4.3 Stereolojik İnceleme

1.2.4.3.1 Stereolojik Olarak Ölçülen Baziler Arter Lümen Alanı

Grup 1, stereolojik olarak ölçülen baziller arter lümen alanı denekler içerisinde en küçük $401,12 \mu\text{m}^2$, en büyük $813,11 \mu\text{m}^2$ ortalama $612,33 \pm 142,1 \mu\text{m}^2$ olarak ölçüldü (tablo 4, 5). Grup 2, stereolojik olarak ölçülen baziller arter lümen alanı denekler içerisinde en küçük $504,18 \mu\text{m}^2$, en büyük $701,21 \mu\text{m}^2$ ortalama $583,53 \pm 68,4 \mu\text{m}^2$ olarak ölçüldü (tablo 4, 5). Grup 3, stereolojik olarak ölçülen baziller arter lümen alanı denekler içerisinde en küçük $236,60 \mu\text{m}^2$, en büyük $316,48 \mu\text{m}^2$ ortalama $296,16 \pm 35,6 \mu\text{m}^2$ olarak ölçüldü. Grup 4, stereolojik olarak ölçülen baziller arter lümen alanı denekler içerisinde en küçük $477,20 \mu\text{m}^2$, en büyük $632,31 \mu\text{m}^2$ ortalama $558,42 \pm 54,3 \mu\text{m}^2$ olarak ölçüldü. Grup 5, stereolojik olarak ölçülen baziller arter lümen alanı denekler içerisinde en küçük $470,22 \mu\text{m}^2$, en büyük $629,14 \mu\text{m}^2$ ortalama $559,46 \pm 54,3 \mu\text{m}^2$ olarak ölçüldü. Grup 6, stereolojik olarak ölçülen baziller arter lümen alanı denekler içerisinde en küçük $477,44 \mu\text{m}^2$, en büyük $610,12 \mu\text{m}^2$ ortalama $527,64 \pm 47,6 \mu\text{m}^2$ olarak ölçüldü (Tablo 4, 5).

Tablo 4. Stereolojik Olarak Ölçülen Her Bir Deneğe Ait Ortalama Baziler Arter Lümen Alanı (μm^2)

Denekler	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
1. denek	801,96	532,11	311,21	575,32	510,51	610,12
2. denek	703,31	545,41	316,48	488,21	470,22	488,34
3. denek	466,22	566,12	288,17	616,20	530,34	495,20
4. denek	484,90	633,29	274,41	632,31	580,40	513,22
5. denek	603,40	504,18	375,10	614,40	505,22	524,31
6. denek	711,61	678,17	236,60	491,10	610,21	511,28
7. denek	813,11	701,21	301,90	477,20	625,71	565,29
8. denek	544,42	532,20	277,42	531,12	570,30	600,10
9. denek	593,23	534,50	288,89	578,43	562,57	491,12
10. denek	401,12	611,10	291,40	-	629,14	477,44

Tablo 5. Stereolojik Olarak Ölçülen Baziler Arter Ortalama Lümen Alanları

Gruplar	Baziler Arter Lümen Alanı (μm^2)
Grup 1	612,3280 $\pm$ 142,07140
Grup 2	583,5290 $\pm$ 68,37807
Grup 3	296,1580 $\pm$ 35,62382
Grup 4	558,4230 $\pm$ 54,29899
Grup 5	559,4620 $\pm$ 54,29899
Grup 6	527,6440 $\pm$ 47,61757

1.2.4.3.2 Stereolojik Olarak Ölçülen Baziler Arter Duvar Kalınlığı

Grup 1, stereolojik olarak ölçülen baziller arter duvar kalınlığı denekler içerisinde en küçük 19,9 μm , en büyük 21,6 μm ortalama 21,1200 $\pm$ 1,07269 μm olarak ölçüldü. Grup 2, stereolojik olarak ölçülen baziller arter duvar kalınlığı denekler içerisinde en küçük 20,4 μm , en büyük 24,4 μm ortalama 22,4300 $\pm$ 1,37925 μm olarak ölçüldü. Grup 3, stereolojik olarak ölçülen baziller arter duvar kalınlığı denekler içerisinde en küçük 22,1 μm , en büyük 32,2 μm ortalama 27,8000 $\pm$ 2,73496 μm olarak ölçüldü. Grup 4, stereolojik olarak ölçülen baziller arter duvar kalınlığı denekler içerisinde en küçük 23,3 μm , en büyük 26,8 μm ortalama 23,8500 $\pm$ 1,12571 μm olarak ölçüldü. Grup 5, stereolojik olarak ölçülen baziller arter duvar kalınlığı denekler içerisinde en küçük 20,4 μm , en büyük 22,9 μm ortalama 21,6400 $\pm$ 0,87965 μm olarak ölçüldü. Grup 6, stereolojik olarak ölçülen baziller arter duvar kalınlığı denekler içerisinde en küçük 23,0 μm , en büyük 27,6 μm ortalama 23,7500 $\pm$ 1,59878 μm olarak ölçüldü (Tablo 6, 7).

Tablo 6. Her Bir Deneğe Ait Ortalama Baziler Arter Duvar Kalınlıkları (µm)

Denekler	Grup 1 (n:8)	Grup 2 (n:8)	Grup 3 (n:9)	Grup 4 (n:6)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:9)
1. denek	20,1	22,8	22,1	24,6	22,9	24,2
2. denek	20,8	23,1	29,4	24,2	22,9	23,0
3. denek	21,1	23,2	29,2	25,3	21,6	23,7
4. denek	21,6	20,4	29,1	25,5	21,4	23,6
5. denek	20,8	24,1	27,2	24,3	22,4	23,9
6. denek	20,7	21,8	32,2	24,5	20,9	23,8
7. denek	19,9	20,9	28,1	24,9	20,4	24,4
8. denek	21,1	22,7	29,4	23,3	21,3	26,4
9. denek	21,3	24,4	30,7	26,8	21,9	27,6
10. denek	23,8	20,9	30,6	-	20,7	26,9

Tablo 7. Baziler Arter Ortalama Duvar Kalınlıkları

Gruplar	Baziler Arter Duvar Kalınlığı (µm)
Grup 1	21,1200 ± 1,07269
Grup 2	22,4300 ± 1,37925
Grup 3	27,8000 ± 2,73496
Grup 4	23,8500 ± 1,12571
Grup 5	21,6400 ± 0,87965
Grup 6	23,7500 ± 1,59878

1.2.4.4 Histopatolojik Olarak Baziler Artere Ait Elde Edilen Ölçüm Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

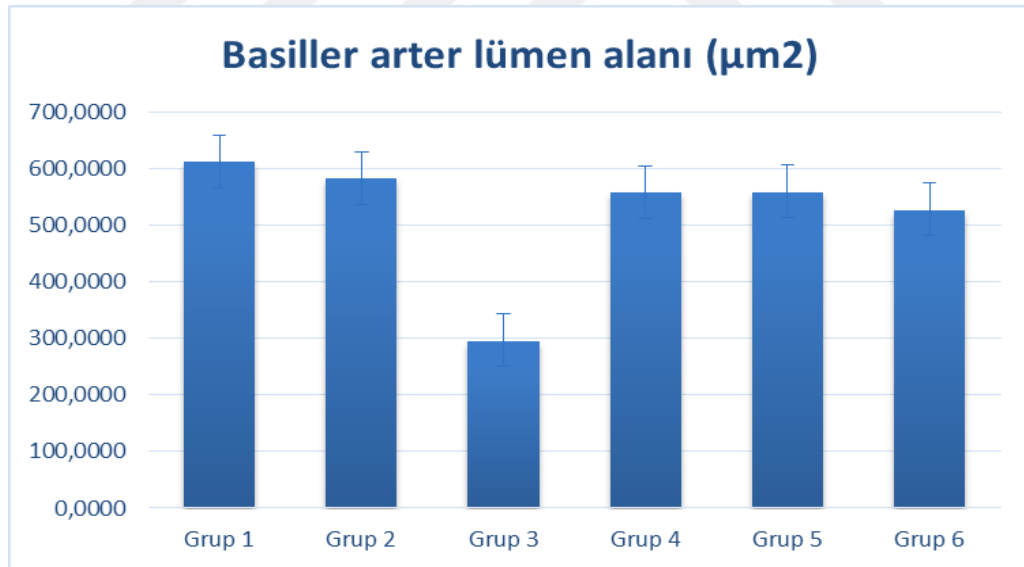
Bu sonuçlara göre damar lümen alanlarına bakıldığında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak dördüncü ve altıncı gruplar az anlamlı, diğer gruplar anlamsızdır. Sham grubuna göre ise istatistiksel olarak yine üçüncü grup çok anlamlı, diğer gruplar ise anlamsızdır. SAK oluşturulduktan bir saat sonra dekapite edilen gruba göre ise tüm gruplar istatistiksel olarak çok anlamlıdır ($p<0,001$). SAK sonrası 48.saatte dekapite edilen gruba göre ise yine üçüncü grup çok anlamlı($p<0,001$), diğer gruplar ise anlamsızdır. Profilaktik olarak NEC-1 verilip sonrasında SAK oluşturulan ve bir saat sonra dekapite edilen gruba göre ise istatistiksel olarak üçüncü grup çok anlamlı ($p<0,001$), diğer gruplar anlamlı değildir. SAK oluşturulup 24.saatte NEC-1 verilip,

48.saatte dekapite edilen gruba göre istatistiksel olarak üçüncü grup çok anlamlı ($p<0,001$), altıncı grup az anlamlı ($p<0,01$) ancak diğer gruplar anlamsızdır (Tablo 8, Şekil 13).

Tablo 8. Baziler Arter Lümen Alanlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Baziler Arter Lümen Alanı	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
Grup 1	612	(-)	(-)	*	(-)	*
Grup 2	(-)	583	***	(-)	(-)	(-)
Grup 3	***	***	296	***	***	***
Grup 4	(-)	(-)	***	558	(-)	(-)
Grup 5	(-)	(-)	***	(-)	559	(-)
Grup 6	*	(-)	***	(-)	(-)	527

$p<0,05$ = *- az anlamlı, $p<0,01$ = **- anlamlı, $p<0,001$ = ***- çok anlamlı, (-) = anlamsız



Şekil 13. Baziler arter lümen alanlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucu 3. Grubun diğer gruplara göre anlamlı olduğunu gösteren grafik.

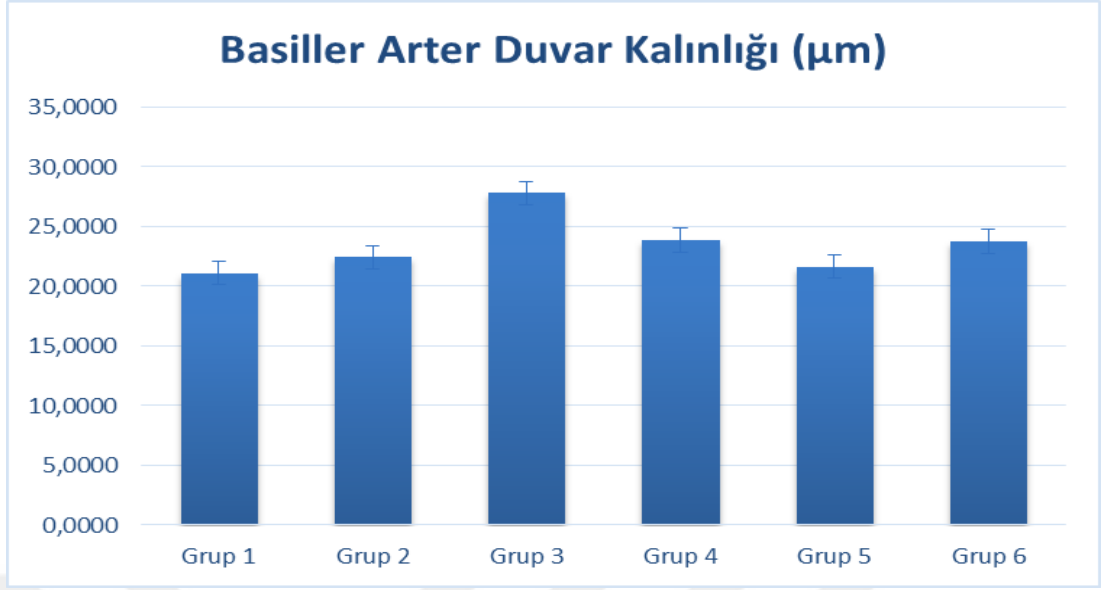
Bu sonuçlara göre ise damar duvar kalınlıklarına bakıldığında kontrol grubu ile üçüncü, dördüncü ve altıncı gruplar çok anlamlı, ikinci ve beşinci gruplar anlamlı değildir. Sham grubuna göre ise istatistiksel olarak yine üçüncü grup çok anlamlı,

diğer gruplar istatistiksel olarak anlamlı değildir. SAK oluşturulduktan bir saat sonra dekapite edilen gruba göre ise birinci, ikinci ve beşinci gruplara göre istatistiksel olarak çok anlamlı ($p<0,001$), dördüncü ve altıncı gruplara göre ise anlamlı ($p<0,01$) olarak değerlendirildi. SAK sonrası 48.saatte dekapite edilen gruba göre ise üçüncü grup çok anlamlı ($p<0,05$), dördüncü ve altıncı gruplar az anlamlı, diğer gruplar ise istatistiksel olarak anlamlı değildir. Proflaktik olarak NEC-1 verilip sonrasında SAK oluşturulan ve bir saat sonra dekapite edilen gruba göre ise istatistiksel olarak üçüncü grup çok anlamlı ($p<0,001$), dördüncü ve altıncı gruplar anlamlı ($p<0,01$), diğer gruplar anlamsızdır. SAK oluşturulup 24.saat tek doz NEC-1 verilip ve 48.saatte dekapite edilen gruba göre ise istatistiksel olarak birinci ve üçüncü gruplar çok anlamlı ($p<0,001$), beşinci grup anlamlı olduğu ($p<0,05$), diğer grupların anlamsız olduğu tespit edildi (Tablo 9, Şekil 14).

Tablo 9. Baziler Arter Duvar Kalınlıklarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Baziler Arter Duvar Kalınlıkları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
Grup 1	21	(-)	***	***	(-)	***
Grup 2	(-)	22	***	(-)	(-)	(-)
Grup 3	***	***	28	**	***	**
Grup 4	***	(-)	***	24	**	(-)
Grup 5	(-)	(-)	***	**	22	**
Grup 6	***	(-)	***	(-)	**	24

$p<0,05$ = *- az anlamlı, $p<0,01$ = **- anlamlı, $p<0,001$ = ***- çok anlamlı, (-) = anlamsız



Şekil 14. Baziler arter duvar kalınlıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucu üçüncü grubun diğer gruplara göre anlamlı olduğunu gösteren grafik.

1.2.5 TARTIŞMA

Subaraknoid kanamaya günümüzde ciddi morbidite ve mortalite sebebidir. SAK'ın sebepleri içerisinde birçok etyolojik ajan bulunmaktadır. Bu nedenler başlıca travmatik ve travmatik olmayan sebepler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Anevrizmalar, travmatik olmayan SAK'lar içerisinde en sık etkindir. Yaşla birlikte görülme ihtimali artmaktadır. İnsidansı ırklar arasında farklılık göstermekle birlikte insidansı 7-13/100000'dir. aSAK'ların % 50'si mortal seyretmekte olup, her 8 hastadan 1'i hastaneye ulaşmadan ölmektedir (23). aSAK geçirip hastaneye yatırılan hastalarda serebral vazospazm, serebral iske mi, intraserebral hematoma ve hidrosefali morbidite ve mortaliteyi arttıran önemli etkenlerdir. Bu etkenler içerisinde serebral vazospazm aSAK'ın en ciddi komplikasyonudur (1-4).

SAK'da vazospazm kanamayı takiben 3-14. günler arasında izlenmekte olup, 7-10.günlerde en üst seviyeye ulaşmaktadır. SAK ile indüklenen vazospazmda kısmen gecikmeli ve geri dönüşümlü vaskülopatiden otoregülasyon işlevinde bozulmaya, serebral perfüzyonda azalma sonrası gelişen hipovolemi sonucu ikincil iske miye neden olabilecek kadar karmaşık bir süreçtir. Vazospazmın radyografik bulguları SAK'lı hastaların % 50-70'inde gelişir, ancak bunların yalnızca yarısı nörolojik semptomlarını yaşar. Vazospazm kendini klinik olarak şiddetli baş ağrısından ağır nörolojik defisitlere kadar geniş bir yelpaze içerisinde gösterebilir. Vazospazmın klinik bulguları spesifik olmadığından tanının radyolojik olarak da konulması gerekir (99, 100, 104). Transkraniyal doppler ultrasonografi vazospazmın saptanmasında birinci noninvaziv yöntemdir. DSA, damar çapı ve geçiş zamanı hesaplamaları ile radyografik vazospazmın tanısında altın standart olarak kalmaya devam etmektedir (105-107).

Vazospazm patogenezi konusunda kesin bilgileri henüz tam olarak bilmememize rağmen sürecin başlangıcı ile ilgili genel kanı subaraknoid mesafeye ekstre vaze olan kanın sağlam olan damar duvarı ile teması sonucu damar düz kaslarında kontraksiyona sebep olduğudur (109). aSAK sonrası subaraknoid mesafeye yayılan kan ürünleri vasküler yapılarda kontraksiyona sebep olmaktadır. Bunlar oksihemoglobin, arasıdonik asitin siklooksijenaz ürünleri, endotelin, serbest radikaller, serotonin, adenosin ve okside bilirubin ürünleridir (112). Ayrıca NO gibi vazodilatör etkenlerin SAK sonrası endotelden salınımının azalması da vazospazmı

arttırmaktadır (113). Bununla beraber subaraknoid mesafede bulunan kan, nöral innervasyonu azalmış olan vasküler yapı ile direkt temasa geçerek denervasyona, bunun sonucu olarak düz kas hücrelerinde vazokonstrüktif yanıtı sebebiyet vermektedir (116). SAK ve serebral vazospazm, serebral arterlerin intima, media ve adventisya tabakalarını etkileyen ve morfolojik olarak bu katmanlarda değişikliklere neden olan patolojik süreçlerdir. Vazospazmda endotelial hücrelerin inflamasyonuna görülmektedir (117, 118).

Son yıllarda inflamasyonun vazospazm üzerinde belirleyici rol oynadığı düşünülmektedir. İnflamasyonun endoteli tutmak suretiyle KBB'yi bozduğu, damar düz kaslarının kontraksiyonunu uyardığı ve sonuçta vazospazmı doğurduğu iddia edilmektedir (117, 118). Bu inflamasyon teorisini destekleyen bir başka görüş de, vazospazm tedavisinde sıklıkla denenen vazodilatatör ajanların radyolojik olarak vazospazma etkili olduğu fakat hastaların erken ve geç nörolojik durumlarında beklenen düzelmeyi sağlayamadığı ve farklı patofizyolojik mekanizmaların etken olabileceğidir. SAK'de rol oynadığı sıklıkla düşünülen E-selektin, TNF α , IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi inflamatuvar mediatörlerin farklı çalışmalarda farklı oranlarda da olsa yükseldiği görülmektedir (125, 127, 128). Ayrıca SAK sonrası BOS'da bulunan inflamatuvar sitokinlere, SAK sonrası kanda sistematik olarak inflamatuvar mediatörlerde artış olduğu yapılan çalışmalarda ispat edilmiştir (133, 134). Yapılan çalışmalarda intrasisternal olarak, talk, lateks, polistiren ve dekstranlipopolisakkarid ve tenascin-C gibi birçok proenflamatuvar ajan uygulanması sonrasında vazospazm geliştiği, vazospazmın kırmızı kan hücrelerine veya hemoglobine (Hgb) bağımlı olmadığı ve vazospazm gelişiminde inflamasyonun rolü olduğu gösterilmiştir (159, 160). Yapılan çalışmalar arasında inflamatuvar sitokinlerin ne düzeyde yükseldiği ve buna ikincil etkileri hakkında görüş birliği yoktur. Bunun sebebi yapılan çalışmalarda SAK sonrası farklı zamanlarda alınan BOS ve kan örneklerinin incelenmesi, kullanılan farklı alternatif tarama yöntemleri veya hasta popülasyonlarındaki farklılıklardır. Ayrıca subaraknoid boşlukta bulunan kan miktarı BOS'taki mevcut sitokinlerin seviyelerini açıkça etkileyebilir. İnflamasyonun, SAK sonrasında vazospazma sebebiyet vererek doku hasarına aracılık ettiği beraberinde iyileşme açısından da önemli rol oynadığı düşünülmektedir (211). Vazospazm, SAK sonrasında klinik bozulmanın ana nedendir fakat SAK sonrası nörolojik hasara

katkıda bulunanın tek vazospazm değildir (213). Hastaların çoğunda nörolojik bozulma aSAK'dan 7 ila 14 gün sonra doruğa çıkan serebral vazospazmdan kaynaklıdır, ancak vazospazm yokluğunda da ortaya çıkabilir. Klinik olarak, hücre ölümü, serebral ödemin ve vazospazmın varlığı SAK sonrasında kötü sonuçlara neden olur. Yapılan çalışmalarda SAK sonrası hipokampal nöronal kayıp ve BOS'ta artmış nörofilament seviyeleri, aksonal bozulma ile klinik sonuç arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir (214, 215). İnflamatuar yolakların bloke edilmesi ise SAK sonrasında hem kan beyin bariyeri bozulmasını önleyebileceği hem de nöronal sağkalımı arttırabileceği göstermektedir. (216, 217).

Hücre ölümü, çok hücreli organizmaların gelişimini şekillendiren önemli bir biyolojik süreçtir. Bağışıklık sisteminde, hücre ölümünün bağışık hücre gelişimi ve patojen savunmasında kritik rolleri vardır. Apoptoz, kromatin yoğunlaşması ve DNA fragmentasyonunun olduğu düzgün bir hücre ölüm şeklidir. Apoptotik hücrelerin hızla temizlenmesi, enflamasyon riskini minimuma indirir (240). Buna karşılık, nekroz, plazma membran bütünlüğünün hızlı bir şekilde kaybedilmesi ile belgindir. Nekrozdaki erken plazma zarının kopması, enflamasyonun güçlü uyarıcıları olan DAMP'leri serbest bırakır ve enflamasyonun artan bir şekilde tetiklenmesini sağlar (242). Patologlar tarihsel olarak apoptozis ile nekrozu birbirinden ayırmak için morfolojiye güveniyorlardı fakat apoptozu tanımlayan klasik belirteçlerin bazen nekrozda saptanabildiği görülmüştür. Bu gözlemler apoptoz ve nekrozun morfolojik tanımının bu iki hücre ölüm modülünü ayırt etmek için yetersiz olduğunu göstermektedir. Bunun yerine, genetik yollara dayalı bir moleküler tanımlama ihtiyaç göstermiştir. Programlanmış nekroz, düzenlenmiş nekroz veya nekropitoz gibi terimler reseptör ile etkileşen protein kinazlar (RIPK) tarafından indüklenen nekrozu, tanımlamak için kullanılmaktadır (247). Nekropitozu ve enflamasyonu kontrol eden yollar üzerinde çakışan sinyal odakları bulunmaktadır. Ortak sinyal bağdaştırıcılarının paylaşımı, enflamasyon ile nekroptoz arasında yakın bir bağlantı kurar (248).

Nekropitoz, ölüm reseptörleri olan TNF süper ailesi üyesi olan TLR3, TLR4 ve interferon reseptörleri tarafından aktive edilmektedir. Nekropitoz için sinyal yolağı, en iyi şekilde TNFR1 reseptörü üzerinden karakterize edilmektedir. TNFR1 trimerinin TNF ile ligasyonu sonrasında oluşan sinyal "Kompleks I" olarak

adlandırılan kısa ömürlü zar-sinyal kompleksinde konformasyon değişikliğine sebep olmaktadır. Kompleks I'den Kompleks II'ye geçişi bir ubiquitin zincir yapısında olan CYLD aktivasyonu ile olmaktadır (253). Kaspaz-8 devre dışı bırakıldığında veya yok olduğunda, RIPK1 ve RIPK3 parçalanmaz ve fosforile olmaktadır (256). Daha sonrasında bir nekrozom oluşturur ve hücre nekroptozuna uğrar (254, 257). Fosforile RIPK1 ve RIPK3 birleşimi kendi arasında bir RIP kompleks oluştururlar ve sinyal iletimini MLKL proteine fosforillenmesini sağlayarak aktarır, sonucunda tetramers oluşturur ve plazma membranında translokasyona sebebiyet vererek içeriye Ca^{2+} girişini başlatır (258, 259). Bunun sonucunda membran bütünlüğü bozulması ile yeni DAMPs proteinleri nekropitozu artan bir şekilde tetikler. Hangi moleküler geçiş mekanizmasının, apopitoz veya nekropitozisin yürütülüp yürütülmeyeceğini kararlaştırdığı halen net değildir (260). Nekropitoz, kaspazdan bağımsızdır ve kaspaz inhibitörleri tarafından inhibe edilememektedir. Nekropitozisin proenflamatuar olduğu düşünülmektedir (261). Hayvan çalışmaları, inflammatuar hastalıkların patogeneğinde nekropitoz için önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. Nekropitozun hasara bağlı moleküler kalıpları olan DAMP'lerin salınmasına yol açtığı da gösterilmiştir (262). Hücre dışı çevredeki DAMP'lar inflamasyonu tetikler ve bu zincirleme bir reaksiyonla sürekli artarak devam eder.

RIPK1 ve RIPK3'ün nekropitozdaki rolü sebebiyle bu enzimlerin inhibisyonu nekropitoza karşı iyi bir strateji olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla RIPK1'e spesifik Nec-1 bulunmuştur (265). Hayvan hastalığı modellerinde nekrostatinlerin çok yararlı olduğu deneysel sonuçlarla birlikte ispatlanmıştır (266, 267).

Çalışmamızda kullanılan deneysel SAK modeli, literatürde ilk olarak Solomon ve arkadaşları tarafından ortaya konulmuş olan sisterna magnaya kan enjeksiyonu yöntemidir. Literatürde ratlarda sisternaya otolog kan verilmesi sureti ile tekli kanama modeli kullanılarak oluşturulan SAK sonrası vazospazmın en şiddetli birinci saat sonunda ortaya çıktığı ve 48 saat zarfında vazospazmın devam ederek 48 saatten sonra yavaş yavaş azaldığını göstermektedir (279).

Çalışmamızda 59 adet rat 6 grup halinde sınıflandırılmıştır. Her grup içerisindeki her bir deneğe ait preparatlara inflamasyonu ve vazospazmı göstermek amacıyla histopatolojik inceleme için H&E ve TUNEL boyama yapılmıştır. Ayrıca

her bir denekten baziller arter lumen alanı ve baziller arter damar duvarı kalınlığı hesaplanarak istatistik çalışmaları da yapılmıştır. Yaptığımız çalışmada SAK sonrası apoptoz/nekropitoz göstergesi TUNEL (+) olan doku preparatlarının subaraknoid kanamadan 48 saat sonra dekapite edilen 4.grup ile subaraknoid kanama sonrası NEC-1 verilip 48 saat sonra dekapite edilen 6.gruba ait olduğu görüldü. İki grup karşılaştırıldığında NEC-1 tedavi alan gruba ait endotel, media ve adventisya tabakalarının 4.gruba göre daha az TUNEL boyama tuttuğu ve endotelyal katlanmalarının daha az olduğu izlendi. Yine bu iki grup karşılaştırıldığında ise damar lümeni alanı ve damar duvar kalınlığı açısından aralarında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. Subaraknoid kanama sonrası verilen NEC-1'in inflamasyonu azalttığı fakat vazospazmı azaltmadığı görüldü. Ayrıca SAK oluşturulup 1. saat sonunda dekapite edilen 3. grup ile Proflaktik NEC-1 verildikten sonra subaraknoid kanama yapılan 5. grup ve subaraknoid kanama sonrası NEC-1 verilip 48 saat sonra dekapite edilen 6. grup karşılaştırıldığında; 3. ve 5. gruplarda ki TUNEL boyamının SAK'ın erken döneminde inflamasyon hakkında fikir vermediği görüldü. Ayrıca damar lümeni alanı ve damar duvar kalınlığı kıyaslamalarında 5 ve 6. grupların 3. gruba göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu görüldü.

1.2.6 SONUÇ ve ÖNERİLER

Yaptığımız deneysel çalışmada elde ettiğimiz verilere göre, literatürde daha önce santral sinir sistemi ile ilgili yapılan SAK modeli dışındaki deneysel çalışmalarda antiinflamatuvar, antiapoptotik, nöroprotektif etkinliği gösterilmiş olan NEC-1'in yaptığımız SAK modeli sonrası ana vasküler yapılarda gelişen vazospazm ve damar duvarında gelişen inflamasyonda tedavi edici etkisinin olduğunu tespit ettik.

Yaptığımız deneysel çalışmada proflaktik verilen NEC-1'in, SAK sonrası ilk saatte oluşacak olan vazospazmı anlamlı bir şekilde çözebildiği, SAK sonrası verilen NEC-1'in ise vazospazm üzerinde anlamlı bir sonuç vermediği yönündedir.NEC-1 vazospazm üzerine daha ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç duymaktadır.

Yaptığımız literatür taraması sonucu NEC-1'in etkinliği ve güvenilirliği hakkında edindiğimiz bilgiler, deneylerimiz sonucu elde ettiğimiz patolojik bulgular

ve istatistiki değerlendirmeler doğrultusunda çıkarabildiğimiz sonuç güvenilir bir Şekilde kullanılabileceği yönündedir.



KAYNAKLAR

1. Grasso G, Alafaci C, Macdonald RL. Management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: State of the art and future perspectives. *Surg Neurol Int.* 2017; 8: 11.
2. van Gijn J, Kerr RS, Rinkel GJ. Subarachnoid haemorrhage. *Lancet.* 2007; 369: 306-18.
3. Lucke-Wold BP, Logsdon AF, Manoranjan B, et al. Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage and Neuroinflammation: A Comprehensive Review. *Int J Mol Sci.* 2016; 17: 497.
4. Miller BA, Turan N, Chau M, et al. Inflammation, vasospasm, and brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 384342.
5. Bederson JB, Levy AL, Ding WH, et al. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 1998; 42: 352-60; discussion 60-2.
6. Lai PM, Du R. Association between S100B Levels and Long-Term Outcome after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Systematic Review and Pooled Analysis. *PLoS One.* 2016; 11: e0151853.
7. Makino H, Tada Y, Wada K, et al. Pharmacological stabilization of intracranial aneurysms in mice: a feasibility study. *Stroke.* 2012; 43: 2450-6.
8. Hirsiger S, Simmen HP, Werner CM, et al. Danger signals activating the immune response after trauma. *Mediators Inflamm.* 2012; 2012: 315941.
9. Hwang PF, Porterfield N, Pannell D, et al. Trauma is danger. *J Transl Med.* 2011; 9: 92.
10. Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol.* 2007; 81: 1-5.
11. Pourrajab F, Yazdi MB, Zarch MB, et al. Cross talk of the first-line defense TLRs with PI3K/Akt pathway, in preconditioning therapeutic approach. *Mol Cell Ther.* 2015; 3: 4.
12. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010; 11: 373-84.
13. Zhao XD, Mao HY, Lv J, et al. Expression of high-mobility group box-1 (HMGB1) in the basilar artery after experimental subarachnoid hemorrhage. *J Clin Neurosci.* 2016; 27: 161-5.

14. Maurer MH, Haux D, Sakowitz OW, et al. Identification of early markers for symptomatic vasospasm in human cerebral microdialysate after subarachnoid hemorrhage: preliminary results of a proteome-wide screening. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007; 27: 1675-83.
15. Eisenhut M. Vasospasm in cerebral inflammation. *Int J Inflam.* 2014; 2014: 509707.
16. Jie H, He Y, Huang X, et al. Necrostatin-1 enhances the resolution of inflammation by specifically inducing neutrophil apoptosis. *Oncotarget.* 2016; 7: 19367-81.
17. Bratton DL, Henson PM. Neutrophil clearance: when the party is over, clean-up begins. *Trends Immunol.* 2011; 32: 350-7.
18. Provencio JJ, Fu X, Siu A, et al. CSF neutrophils are implicated in the development of vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care.* 2010; 12: 244-51.
19. Vandenabeele P, Grootjans S, Callewaert N, et al. Necrostatin-1 blocks both RIPK1 and IDO: consequences for the study of cell death in experimental disease models. *Cell Death Differ.* 2013; 20: 185-7.
20. Wang YQ, Wang L, Zhang MY, et al. Necrostatin-1 suppresses autophagy and apoptosis in mice traumatic brain injury model. *Neurochem Res.* 2012; 37: 1849-58.
21. King MD, Whitaker-Lea WA, Campbell JM, et al. Necrostatin-1 reduces neurovascular injury after intracerebral hemorrhage. *Int J Cell Biol.* 2014; 2014: 495817.
22. Brown RD, Jr., Broderick JP. Unruptured intracranial aneurysms: epidemiology, natural history, management options, and familial screening. *Lancet Neurol.* 2014; 13: 393-404.
23. de Rooij NK, Linn FH, van der Plas JA, et al. Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007; 78: 1365-72.
24. Vivancos J, Gilo F, Frutos R, et al. Clinical management guidelines for subarachnoid haemorrhage. Diagnosis and treatment. *Neurologia.* 2014; 29: 353-70.

25. Sandvei MS, Romundstad PR, Muller TB, et al. Risk factors for aneurysmal subarachnoid hemorrhage in a prospective population study: the HUNT study in Norway. *Stroke*. 2009; 40: 1958-62.
26. Sarabia R, Lagares A, Fernandez-Alen JA, et al. Idiopathic subarachnoid hemorrhage: a multicentre series of 220 patients. *Neurocirugia (Astur)*. 2010; 21: 441-51.
27. Etminan N, Beseoglu K, Steiger HJ, et al. The impact of hypertension and nicotine on the size of ruptured intracranial aneurysms. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011; 82: 4-7.
28. Larsson SC, Mannisto S, Virtanen MJ, et al. Dietary fiber and fiber-rich food intake in relation to risk of stroke in male smokers. *Eur J Clin Nutr*. 2009; 63: 1016-24.
29. Lovelock CE, Rinkel GJ, Rothwell PM. Time trends in outcome of subarachnoid hemorrhage: Population-based study and systematic review. *Neurology*. 2010; 74: 1494-501.
30. Brown RD, Jr., Huston J, Hornung R, et al. Screening for brain aneurysm in the Familial Intracranial Aneurysm study: frequency and predictors of lesion detection. *J Neurosurg*. 2008; 108: 1132-8.
31. Fukuda M, Aoki T. Molecular basis for intracranial aneurysm formation. *Acta Neurochir Suppl*. 2015; 120: 13-5.
32. Aoki T, Nishimura M. Targeting chronic inflammation in cerebral aneurysms: focusing on NF-kappaB as a putative target of medical therapy. *Expert Opin Ther Targets*. 2010; 14: 265-73.
33. Lall RR, Eddleman CS, Bendok BR, et al. Unruptured intracranial aneurysms and the assessment of rupture risk based on anatomical and morphological factors: sifting through the sands of data. *Neurosurg Focus*. 2009; 26: E2.
34. Dhar S, Tremmel M, Mocco J, et al. Morphology parameters for intracranial aneurysm rupture risk assessment. *Neurosurgery*. 2008; 63: 185-96; discussion 96-7.
35. Eljovich L, Higashida RT, Lawton MT, et al. Predictors and outcomes of intraprocedural rupture in patients treated for ruptured intracranial aneurysms: the CARAT study. *Stroke*. 2008; 39: 1501-6.

36. Molyneux AJ, Kerr RS, Birks J, et al. Risk of recurrent subarachnoid haemorrhage, death, or dependence and standardised mortality ratios after clipping or coiling of an intracranial aneurysm in the International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT): long-term follow-up. *Lancet Neurol.* 2009; 8: 427-33.
37. Butzkueven H, Evans AH, Pitman A, et al. Onset seizures independently predict poor outcome after subarachnoid hemorrhage. *Neurology.* 2000; 55: 1315-20.
38. McCarron MO, Alberts MJ, McCarron P. A systematic review of Terson's syndrome: frequency and prognosis after subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004; 75: 491-3.
39. Stiebel-Kalish H, Turtel LS, Kupersmith MJ. The natural history of nontraumatic subarachnoid hemorrhage-related intraocular hemorrhages. *Retina.* 2004; 24: 36-40.
40. Khechinashvili G, Asplund K. Electrocardiographic changes in patients with acute stroke: a systematic review. *Cerebrovasc Dis.* 2002; 14: 67-76.
41. Spears J, Macdonald R, Weir B. Perioperative management of subarachnoid hemorrhage. In: Winn RH, ed., *Youmans Neurological Surgery* 6th ed: Saunders, 2011.
42. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery.* 1980; 6: 1-9.
43. Bederson JB, Connolly ES, Jr., Batjer HH, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association. *Stroke.* 2009; 40: 994-1025.
44. Boesiger BM, Shiber JR. Subarachnoid hemorrhage diagnosis by computed tomography and lumbar puncture: are fifth generation CT scanners better at identifying subarachnoid hemorrhage? *J Emerg Med.* 2005; 29: 23-7.
45. Cortnum S, Sorensen P, Jorgensen J. Determining the sensitivity of computed tomography scanning in early detection of subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2010; 66: 900-2; discussion 03.

46. Fiebach JB, Schellinger PD, Gass A, et al. Stroke magnetic resonance imaging is accurate in hyperacute intracerebral hemorrhage: a multicenter study on the validity of stroke imaging. *Stroke*. 2004; 35: 502-6.
47. Mitchell P, Wilkinson ID, Hoggard N, et al. Detection of subarachnoid haemorrhage with magnetic resonance imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001; 70: 205-11.
48. Linn FH, Voorbij HA, Rinkel GJ, et al. Visual inspection versus spectrophotometry in detecting bilirubin in cerebrospinal fluid. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005; 76: 1452-4.
49. Beetham R, group UNfIW. Recommendations for CSF analysis in subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004; 75: 528.
50. van Rooij WJ, Peluso JP, Sluzewski M, et al. Additional value of 3D rotational angiography in angiographically negative aneurysmal subarachnoid hemorrhage: how negative is negative? *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008; 29: 962-6.
51. Struffert T, Eyupoglu IY, Huttner HB, et al. Clinical evaluation of flat-panel detector compared with multislice computed tomography in 65 patients with acute intracranial hemorrhage: initial results. *Clinical article. J Neurosurg*. 2010; 113: 901-7.
52. Doelken M, Struffert T, Richter G, et al. Flat-panel detector volumetric CT for visualization of subarachnoid hemorrhage and ventricles: preliminary results compared to conventional CT. *Neuroradiology*. 2008; 50: 517-23.
53. Gelfand AA, Josephson SA. Substantial radiation exposure for patients with subarachnoid hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2011; 20: 131-3.
54. Mamourian AC, Young H, Stiefel MF. Cumulative radiation dose in patients admitted with subarachnoid hemorrhage: a prospective study using a self-developing film badge. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2010; 31: 1787-90.
55. Donmez H, Serifov E, Kahrman G, et al. Comparison of 16-row multislice CT angiography with conventional angiography for detection and evaluation of intracranial aneurysms. *Eur J Radiol*. 2011; 80: 455-61.
56. McKinney AM, Palmer CS, Truwit CL, et al. Detection of aneurysms by 64-section multidetector CT angiography in patients acutely suspected of having an

intracranial aneurysm and comparison with digital subtraction and 3D rotational angiography. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008; 29: 594-602.

57. Romijn M, Gratama van Andel HA, van Walderveen MA, et al. Diagnostic accuracy of CT angiography with matched mask bone elimination for detection of intracranial aneurysms: comparison with digital subtraction angiography and 3D rotational angiography. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008; 29: 134-9.

58. Zhang LJ, Wu SY, Niu JB, et al. Dual-energy CT angiography in the evaluation of intracranial aneurysms: image quality, radiation dose, and comparison with 3D rotational digital subtraction angiography. *AJR Am J Roentgenol*. 2010; 194: 23-30.

59. Nagai M, Watanabe E. Benefits of clipping surgery based on three-dimensional computed tomography angiography. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2010; 50: 630-7.

60. Nieuwkamp DJ, Setz LE, Algra A, et al. Changes in case fatality of aneurysmal subarachnoid haemorrhage over time, according to age, sex, and region: a meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2009; 8: 635-42.

61. Malhotra A, Wu X, Forman HP, et al. Growth and Rupture Risk of Small Unruptured Intracranial Aneurysms: A Systematic Review. *Ann Intern Med*. 2017.

62. Samra SK, Giordani B, Caveney AF, et al. Recovery of cognitive function after surgery for aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2007; 38: 1864-72.

63. Al-Khindi T, Macdonald RL, Schweizer TA. Cognitive and functional outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2010; 41: e519-36.

64. Wermer MJ, Kool H, Albrecht KW, et al. Subarachnoid hemorrhage treated with clipping: long-term effects on employment, relationships, personality, and mood. *Neurosurgery*. 2007; 60: 91-7; discussion 97-8.

65. Rabinstein AA, Weigand S, Atkinson JL, et al. Patterns of cerebral infarction in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2005; 36: 992-7.

66. Wartenberg KE, Schmidt JM, Claassen J, et al. Impact of medical complications on outcome after subarachnoid hemorrhage. *Crit Care Med*. 2006; 34: 617-23; quiz 24.

67. Pierot L, Cognard C, Anxionnat R, et al. Ruptured intracranial aneurysms: factors affecting the rate and outcome of endovascular treatment complications in a series of 782 patients (CLARITY study). *Radiology*. 2010; 256: 916-23.
68. Berman MF, Solomon RA, Mayer SA, et al. Impact of hospital-related factors on outcome after treatment of cerebral aneurysms. *Stroke*. 2003; 34: 2200-7.
69. Cross DT, 3rd, Tirschwell DL, Clark MA, et al. Mortality rates after subarachnoid hemorrhage: variations according to hospital case volume in 18 states. *J Neurosurg*. 2003; 99: 810-7.
70. Johnston SC. Effect of endovascular services and hospital volume on cerebral aneurysm treatment outcomes. *Stroke*. 2000; 31: 111-7.
71. Naidech AM, Janjua N, Kreiter KT, et al. Predictors and impact of aneurysm rebleeding after subarachnoid hemorrhage. *Arch Neurol*. 2005; 62: 410-6.
72. Ohkuma H, Tsurutani H, Suzuki S. Incidence and significance of early aneurysmal rebleeding before neurosurgical or neurological management. *Stroke*. 2001; 32: 1176-80.
73. Cha KC, Kim JH, Kang HI, et al. Aneurysmal rebleeding : factors associated with clinical outcome in the rebleeding patients. *J Korean Neurosurg Soc*. 2010; 47: 119-23.
74. Vergouwen MD, Vermeulen M, van Gijn J, et al. Definition of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage as an outcome event in clinical trials and observational studies: proposal of a multidisciplinary research group. *Stroke*. 2010; 41: 2391-5.
75. Komotar RJ, Hahn DK, Kim GH, et al. The impact of microsurgical fenestration of the lamina terminalis on shunt-dependent hydrocephalus and vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2008; 62: 123-32; discussion 32-4.
76. Little AS, Zabramski JM, Peterson M, et al. Ventriculoperitoneal shunting after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: analysis of the indications, complications, and outcome with a focus on patients with borderline ventriculomegaly. *Neurosurgery*. 2008; 62: 618-27; discussion 18-27.
77. Mura J, Rojas-Zalazar D, Ruiz A, et al. Improved outcome in high-grade aneurysmal subarachnoid hemorrhage by enhancement of endogenous clearance of

cisternal blood clots: a prospective study that demonstrates the role of lamina terminalis fenestration combined with modern microsurgical cisternal blood evacuation. *Minim Invasive Neurosurg.* 2007; 50: 355-62.

78. Hellingman CA, van den Bergh WM, Beijer IS, et al. Risk of rebleeding after treatment of acute hydrocephalus in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2007; 38: 96-9.

79. McIver JI, Friedman JA, Wijdicks EF, et al. Preoperative ventriculostomy and rebleeding after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2002; 97: 1042-4.

80. Komotar RJ, Hahn DK, Kim GH, et al. Efficacy of lamina terminalis fenestration in reducing shunt-dependent hydrocephalus following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *Clinical article. J Neurosurg.* 2009; 111: 147-54.

81. Platz J, Guresir E, Wagner M, et al. Increased risk of delayed cerebral ischemia in subarachnoid hemorrhage patients with additional intracerebral hematoma. *J Neurosurg.* 2017; 126: 504-10.

82. Connolly ES, Jr., Rabinstein AA, Carhuapoma JR, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/american Stroke Association. *Stroke.* 2012; 43: 1711-37.

83. Choi KS, Chun HJ, Yi HJ, et al. Seizures and Epilepsy following Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage : Incidence and Risk Factors. *J Korean Neurosurg Soc.* 2009; 46: 93-8.

84. Lin CL, Dumont AS, Lieu AS, et al. Characterization of perioperative seizures and epilepsy following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2003; 99: 978-85.

85. Chandy D, Sy R, Aronow WS, et al. Hyponatremia and cerebrovascular spasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurol India.* 2006; 54: 273-5.

86. Nakagawa I, Kurokawa S, Takayama K, et al. [Increased urinary sodium excretion in the early phase of aneurysmal subarachnoid hemorrhage as a predictor of cerebral salt wasting syndrome]. *Brain Nerve.* 2009; 61: 1419-23.

87. Rahman M, Friedman WA. Hyponatremia in neurosurgical patients: clinical guidelines development. *Neurosurgery*. 2009; 65: 925-35; discussion 35-6.
88. Sayama T, Inamura T, Matsushima T, et al. High incidence of hyponatremia in patients with ruptured anterior communicating artery aneurysms. *Neurol Res*. 2000; 22: 151-5.
89. Kilpatrick MM, Lowry DW, Firlik AD, et al. Hyperthermia in the neurosurgical intensive care unit. *Neurosurgery*. 2000; 47: 850-5; discussion 55-6.
90. Stevens RD, Nyquist PA. The systemic implications of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurol Sci*. 2007; 261: 143-56.
91. Fernandez A, Schmidt JM, Claassen J, et al. Fever after subarachnoid hemorrhage: risk factors and impact on outcome. *Neurology*. 2007; 68: 1013-9.
92. Schlenk F, Vajkoczy P, Sarrafzadeh A. Inpatient hyperglycemia following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: relation to cerebral metabolism and outcome. *Neurocrit Care*. 2009; 11: 56-63.
93. Ray WZ, Strom RG, Blackburn SL, et al. Incidence of deep venous thrombosis after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2009; 110: 1010-4.
94. Mack WJ, Ducruet AF, Hickman ZL, et al. Doppler ultrasonography screening of poor-grade subarachnoid hemorrhage patients increases the diagnosis of deep venous thrombosis. *Neurol Res*. 2008; 30: 889-92.
95. Hackett ML, Anderson CS. Health outcomes 1 year after subarachnoid hemorrhage: An international population-based study. The Australian Cooperative Research on Subarachnoid Hemorrhage Study Group. *Neurology*. 2000; 55: 658-62.
96. Mayer SA, Kreiter KT, Copeland D, et al. Global and domain-specific cognitive impairment and outcome after subarachnoid hemorrhage. *Neurology*. 2002; 59: 1750-8.
97. Powell J, Kitchen N, Heslin J, et al. Psychosocial outcomes at three and nine months after good neurological recovery from aneurysmal subarachnoid haemorrhage: predictors and prognosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002; 72: 772-81.
98. Schuiling WJ, de Weerd AW, Dennesen PJ, et al. The simplified acute physiology score to predict outcome in patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2005; 57: 230-6; discussion 30-6.

99. Sarrafzadeh AS, Haux D, Ludemann L, et al. Cerebral ischemia in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a correlative microdialysis-PET study. *Stroke*. 2004; 35: 638-43.
100. Vajkoczy P, Horn P, Thome C, et al. Regional cerebral blood flow monitoring in the diagnosis of delayed ischemia following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2003; 98: 1227-34.
101. Ecker A, Riemenschneider PA. Arteriographic demonstration of spasm of the intracranial arteries, with special reference to saccular arterial aneurysms. *J Neurosurg*. 1951; 8: 660-7.
102. Robertson EG. Cerebral lesions due to intracranial aneurysms. *Brain*. 1949; 72: 150-85.
103. Fisher CM, Roberson GH, Ojemann RG. Cerebral vasospasm with ruptured saccular aneurysm--the clinical manifestations. *Neurosurgery*. 1977; 1: 245-8.
104. Keyrouz SG, Diringier MN. Clinical review: Prevention and therapy of vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Crit Care*. 2007; 11: 220.
105. Mills JN, Mehta V, Russin J, et al. Advanced imaging modalities in the detection of cerebral vasospasm. *Neurol Res Int*. 2013; 2013: 415960.
106. Carlson AP, Yonas H. Radiographic assessment of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: the physiological perspective. *Neurol Res*. 2009; 31: 593-604.
107. Claassen J, Hirsch LJ, Kreiter KT, et al. Quantitative continuous EEG for detecting delayed cerebral ischemia in patients with poor-grade subarachnoid hemorrhage. *Clin Neurophysiol*. 2004; 115: 2699-710.
108. Tani E. Molecular mechanisms involved in development of cerebral vasospasm. *Neurosurg Focus*. 2002; 12: ECP1.
109. Dietrich HH, Dacey RG, Jr. Molecular keys to the problems of cerebral vasospasm. *Neurosurgery*. 2000; 46: 517-30.
110. Kolias AG, Sen J, Belli A. Pathogenesis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: putative mechanisms and novel approaches. *J Neurosci Res*. 2009; 87: 1-11.
111. Pluta RM. Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis, and proposed treatment. *Pharmacol Ther*. 2005; 105: 23-56.

112. Clark JF, Sharp FR. Bilirubin oxidation products (BOXes) and their role in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2006; 26: 1223-33.
113. Jung CS, Iuliano BA, Harvey-White J, et al. Association between cerebrospinal fluid levels of asymmetric dimethyl-L-arginine, an endogenous inhibitor of endothelial nitric oxide synthase, and cerebral vasospasm in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2004; 101: 836-42.
114. Kessler IM, Pacheco YG, Lozzi SP, et al. Endothelin-1 levels in plasma and cerebrospinal fluid of patients with cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol.* 2005; 64 Suppl 1: S1:2-5; discussion S1:5.
115. Roman RJ. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev.* 2002; 82: 131-85.
116. Sercombe R, Dinh YR, Gomis P. Cerebrovascular inflammation following subarachnoid hemorrhage. *Jpn J Pharmacol.* 2002; 88: 227-49.
117. Borel CO, McKee A, Parra A, et al. Possible role for vascular cell proliferation in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2003; 34: 427-33.
118. Zubkov AY, Ogihara K, Bernanke DH, et al. Apoptosis of endothelial cells in vessels affected by cerebral vasospasm. *Surg Neurol.* 2000; 53: 260-6.
119. Gules I, Satoh M, Clower BR, et al. Comparison of three rat models of cerebral vasospasm. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002; 283: H2551-9.
120. Pellettieri L, Carlson CA, Lindholm L. Is the vasospasm following subarachnoidal hemorrhage an immunoreactive disease? *Experientia.* 1981; 37: 1170-1.
121. Peterson JW, Kwun BD, Hackett JD, et al. The role of inflammation in experimental cerebral vasospasm. *J Neurosurg.* 1990; 72: 767-74.
122. Kaynar MY, Tanriverdi T, Kafadar AM, et al. Detection of soluble intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in both cerebrospinal fluid and serum of patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2004; 101: 1030-6.
123. Kikuchi T, Okuda Y, Kaito N, et al. Cytokine production in cerebrospinal fluid after subarachnoid haemorrhage. *Neurol Res.* 1995; 17: 106-8.

124. Polin RS, Bavbek M, Shaffrey ME, et al. Detection of soluble E-selectin, ICAM-1, VCAM-1, and L-selectin in the cerebrospinal fluid of patients after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1998; 89: 559-67.
125. Tanriverdi T, Sanus GZ, Ulu MO, et al. Serum and cerebrospinal fluid concentrations of E-selectin in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Braz J Med Biol Res.* 2005; 38: 1703-10.
126. Gaetani P, Tartara F, Pignatti P, et al. Cisternal CSF levels of cytokines after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res.* 1998; 20: 337-42.
127. Xie X, Wu X, Cui J, et al. Increase ICAM-1 and LFA-1 expression by cerebrospinal fluid of subarachnoid hemorrhage patients: involvement of TNF-alpha. *Brain Res.* 2013; 1512: 89-96.
128. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, et al. Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2001; 70: 534-7.
129. Hopkins SJ, McMahon CJ, Singh N, et al. Cerebrospinal fluid and plasma cytokines after subarachnoid haemorrhage: CSF interleukin-6 may be an early marker of infection. *J Neuroinflammation.* 2012; 9: 255.
130. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, et al. Endothelin-1 in subarachnoid hemorrhage: An acute-phase reactant produced by cerebrospinal fluid leukocytes. *Stroke.* 2000; 31: 2971-5.
131. Masaoka H, Suzuki R, Hirata Y, et al. Raised plasma endothelin in aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Lancet.* 1989; 2: 1402.
132. Ehrenreich H, Lange M, Near KA, et al. Long term monitoring of immunoreactive endothelin-1 and endothelin-3 in ventricular cerebrospinal fluid, plasma, and 24-h urine of patients with subarachnoid hemorrhage. *Res Exp Med (Berl).* 1992; 192: 257-68.
133. Horstmann S, Su Y, Koziol J, et al. MMP-2 and MMP-9 levels in peripheral blood after subarachnoid hemorrhage. *J Neurol Sci.* 2006; 251: 82-6.
134. Mocco J, Mack WJ, Kim GH, et al. Rise in serum soluble intercellular adhesion molecule-1 levels with vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2002; 97: 537-41.

135. Nissen JJ, Mantle D, Blackburn A, et al. The selectin superfamily: the role of selectin adhesion molecules in delayed cerebral ischaemia after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir Suppl.* 2000; 76: 55-60.
136. Kubo Y, Ogasawara K, Kakino S, et al. Serum inflammatory adhesion molecules and high-sensitivity C-reactive protein correlates with delayed ischemic neurologic deficits after subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol.* 2008; 69: 592-6; discussion 96.
137. Dhar R, Diringner MN. The burden of the systemic inflammatory response predicts vasospasm and outcome after subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care.* 2008; 8: 404-12.
138. Tam AK, Ilodigwe D, Mocco J, et al. Impact of systemic inflammatory response syndrome on vasospasm, cerebral infarction, and outcome after subarachnoid hemorrhage: exploratory analysis of CONSCIOUS-1 database. *Neurocrit Care.* 2010; 13: 182-9.
139. de Pablo R, Monserrat J, Reyes E, et al. Circulating sICAM-1 and sE-Selectin as biomarker of infection and prognosis in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Eur J Intern Med.* 2013; 24: 132-8.
140. Hasan D, Hashimoto T, Kung D, et al. Upregulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) and microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1) in wall of ruptured human cerebral aneurysms: preliminary results. *Stroke.* 2012; 43: 1964-7.
141. Hasan DM, Mahaney KB, Brown RD, Jr., et al. Aspirin as a promising agent for decreasing incidence of cerebral aneurysm rupture. *Stroke.* 2011; 42: 3156-62.
142. Jia W, Wang R, Zhao J, et al. E-selectin expression increased in human ruptured cerebral aneurysm tissues. *Can J Neurol Sci.* 2011; 38: 858-62.
143. Chalouhi N, Ali MS, Starke RM, et al. Cigarette smoke and inflammation: role in cerebral aneurysm formation and rupture. *Mediators Inflamm.* 2012; 2012: 271582.
144. Marbacher S, Fandino J, Kitchen ND. Standard intracranial in vivo animal models of delayed cerebral vasospasm. *Br J Neurosurg.* 2010; 24: 415-34.
145. Han BH, Vellimana AK, Zhou ML, et al. Phosphodiesterase 5 inhibition attenuates cerebral vasospasm and improves functional recovery after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2012; 70: 178-86; discussion 86-7.

146. Altay O, Hasegawa Y, Sherchan P, et al. Isoflurane delays the development of early brain injury after subarachnoid hemorrhage through sphingosine-related pathway activation in mice. *Crit Care Med.* 2012; 40: 1908-13.
147. Prunell GF, Svendgaard NA, Alkass K, et al. Inflammation in the brain after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2005; 56: 1082-92; discussion 82-92.
148. Kooijman E, Nijboer CH, van Velthoven CT, et al. The rodent endovascular puncture model of subarachnoid hemorrhage: mechanisms of brain damage and therapeutic strategies. *J Neuroinflammation.* 2014; 11: 2.
149. Aihara Y, Kasuya H, Onda H, et al. Quantitative analysis of gene expressions related to inflammation in canine spastic artery after subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2001; 32: 212-7.
150. Ma CX, Yin WN, Cai BW, et al. Toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B signaling detected in brain after early subarachnoid hemorrhage. *Chin Med J (Engl).* 2009; 122: 1575-81.
151. Altay O, Suzuki H, Hasegawa Y, et al. Isoflurane on brain inflammation. *Neurobiol Dis.* 2014; 62: 365-71.
152. Altay O, Suzuki H, Hasegawa Y, et al. Isoflurane attenuates blood-brain barrier disruption in ipsilateral hemisphere after subarachnoid hemorrhage in mice. *Stroke.* 2012; 43: 2513-6.
153. Jiang Y, Liu DW, Han XY, et al. Neuroprotective effects of anti-tumor necrosis factor-alpha antibody on apoptosis following subarachnoid hemorrhage in a rat model. *J Clin Neurosci.* 2012; 19: 866-72.
154. Tong L, Prieto GA, Kramar EA, et al. Brain-derived neurotrophic factor-dependent synaptic plasticity is suppressed by interleukin-1beta via p38 mitogen-activated protein kinase. *J Neurosci.* 2012; 32: 17714-24.
155. Simard JM, Tosun C, Ivanova S, et al. Heparin reduces neuroinflammation and transsynaptic neuronal apoptosis in a model of subarachnoid hemorrhage. *Transl Stroke Res.* 2012; 3: 155-65.
156. Cobelens PM, Tiebosch IA, Dijkhuizen RM, et al. Interferon-beta attenuates lung inflammation following experimental subarachnoid hemorrhage. *Crit Care.* 2010; 14: R157.

157. Rousseaux P, Scherpereel B, Bernard MH, et al. Fever and cerebral vasospasm in ruptured intracranial aneurysms. *Surg Neurol.* 1980; 14: 459-65.
158. McGirt MJ, Mavropoulos JC, McGirt LY, et al. Leukocytosis as an independent risk factor for cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2003; 98: 1222-6.
159. Recinos PF, Pradilla G, Thai QA, et al. Controlled release of lipopolysaccharide in the subarachnoid space of rabbits induces chronic vasospasm in the absence of blood. *Surg Neurol.* 2006; 66: 463-9; discussion 69.
160. Fujimoto M, Suzuki H, Shiba M, et al. Tenascin-C induces prolonged constriction of cerebral arteries in rats. *Neurobiol Dis.* 2013; 55: 104-9.
161. Schmidt S, Moser M, Sperandio M. The molecular basis of leukocyte recruitment and its deficiencies. *Mol Immunol.* 2013; 55: 49-58.
162. Nakayama T, Illoh K, Ruetzler C, et al. Intranasal administration of E-selectin to induce immunological tolerization can suppress subarachnoid hemorrhage-induced vasospasm implicating immune and inflammatory mechanisms in its genesis. *Brain Res.* 2007; 1132: 177-84.
163. Nissen JJ, Mantle D, Gregson B, et al. Serum concentration of adhesion molecules in patients with delayed ischaemic neurological deficit after aneurysmal subarachnoid haemorrhage: the immunoglobulin and selectin superfamilies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2001; 71: 329-33.
164. Clatterbuck RE, Oshiro EM, Hoffman PA, et al. Inhibition of vasospasm with lymphocyte function-associated antigen-1 monoclonal antibody in a femoral artery model in rats. *J Neurosurg.* 2002; 97: 676-82.
165. Pradilla G, Wang PP, Legnani FG, et al. Prevention of vasospasm by anti-CD11/CD18 monoclonal antibody therapy following subarachnoid hemorrhage in rabbits. *J Neurosurg.* 2004; 101: 88-92.
166. Bavbek M, Polin R, Kwan AL, et al. Monoclonal antibodies against ICAM-1 and CD18 attenuate cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Stroke.* 1998; 29: 1930-5; discussion 35-6.
167. Ni W, Gu YX, Song DL, et al. The relationship between IL-6 in CSF and occurrence of vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl.* 2011; 110: 203-8.

168. Hendryk S, Jarzab B, Josko J. Increase of the IL-1 beta and IL-6 levels in CSF in patients with vasospasm following aneurysmal SAH. *Neuro Endocrinol Lett.* 2004; 25: 141-7.
169. Wang Y, Zhong M, Tan XX, et al. Expression change of interleukin-8 gene in rabbit basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *Neurosci Bull.* 2007; 23: 151-5.
170. Lu H, Shi JX, Chen HL, et al. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in the cerebral artery after experimental subarachnoid hemorrhage. *Brain Res.* 2009; 1262: 73-80.
171. Hanafy KA, Stuart RM, Khandji AG, et al. Relationship between brain interstitial fluid tumor necrosis factor-alpha and cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Clin Neurosci.* 2010; 17: 853-6.
172. Bowman G, Bonneau RH, Chinchilli VM, et al. A novel inhibitor of inflammatory cytokine production (CNI-1493) reduces rodent post-hemorrhagic vasospasm. *Neurocrit Care.* 2006; 5: 222-9.
173. Bowman G, Dixit S, Bonneau RH, et al. Neutralizing antibody against interleukin-6 attenuates posthemorrhagic vasospasm in the rat femoral artery model. *Neurosurgery.* 2004; 54: 719-25; discussion 25-6.
174. Jedrzejowska-Szypulka H, Larysz-Brysz M, Kukla M, et al. Neutralization of interleukin-1beta reduces vasospasm and alters cerebral blood vessel density following experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Curr Neurovasc Res.* 2009; 6: 95-103.
175. Vecchione C, Frati A, Di Pardo A, et al. Tumor necrosis factor-alpha mediates hemolysis-induced vasoconstriction and the cerebral vasospasm evoked by subarachnoid hemorrhage. *Hypertension.* 2009; 54: 150-6.
176. Arthur JS, Ley SC. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2013; 13: 679-92.
177. Yatsushige H, Yamaguchi-Okada M, Zhou C, et al. Inhibition of c-Jun N-terminal kinase pathway attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage through the suppression of apoptosis. *Acta Neurochir Suppl.* 2008; 104: 27-31.

178. Satoh M, Date I, Nakajima M, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase attenuates cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Stroke*. 2001; 32: 225-31.
179. Hsieh HL, Yang CM. Role of redox signaling in neuroinflammation and neurodegenerative diseases. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 484613.
180. Borsody M, Burke A, Coplin W, et al. Haptoglobin and the development of cerebral artery vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurology*. 2006; 66: 634-40.
181. Chaichana KL, Levy AP, Miller-Lotan R, et al. Haptoglobin 2-2 genotype determines chronic vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2007; 38: 3266-71.
182. van Faassen EE, Bahrami S, Feelisch M, et al. Nitrite as regulator of hypoxic signaling in mammalian physiology. *Med Res Rev*. 2009; 29: 683-741.
183. Mascia L, Fedorko L, Stewart DJ, et al. Temporal relationship between endothelin-1 concentrations and cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2001; 32: 1185-90.
184. Jung CS, Lange B, Zimmermann M, et al. The CSF concentration of ADMA, but not of ET-1, is correlated with the occurrence and severity of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosci Lett*. 2012; 524: 20-4.
185. Yeung PK, Shen J, Chung SS, et al. Targeted over-expression of endothelin-1 in astrocytes leads to more severe brain damage and vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *BMC Neurosci*. 2013; 14: 131.
186. Kai Y, Ito K, Watanabe M, et al. Development of a kit to treat subarachnoid hemorrhage by intrathecal simple urokinase infusion (ITSUKI) therapy: preliminary results in patients with World Federation of Neurological Surgery (WFNS) grade V subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg*. 2011; 75: 485-90.
187. Yamamoto T, Esaki T, Nakao Y, et al. Efficacy of low-dose tissue-plasminogen activator intracisternal administration for the prevention of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg*. 2010; 73: 675-82.
188. Kim JH, Yi HJ, Ko Y, et al. Effectiveness of papaverine cisternal irrigation for cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and measurement of biomarkers. *Neurol Sci*. 2014; 35: 715-22.

189. Chyatte D, Fode NC, Nichols DA, et al. Preliminary report: effects of high dose methylprednisolone on delayed cerebral ischemia in patients at high risk for vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 1987; 21: 157-60.
190. Hashi K, Takakura K, Sano K, et al. [Intravenous hydrocortisone in large doses in the treatment of delayed ischemic neurological deficits following subarachnoid hemorrhage--results of a multi-center controlled double-blind clinical study]. *No To Shinkei*. 1988; 40: 373-82.
191. Katayama Y, Haraoka J, Hirabayashi H, et al. A randomized controlled trial of hydrocortisone against hyponatremia in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2007; 38: 2373-5.
192. Gomis P, Graftieaux JP, Sercombe R, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of high-dose methylprednisolone in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2010; 112: 681-8.
193. Frazier JL, Pradilla G, Wang PP, et al. Inhibition of cerebral vasospasm by intracranial delivery of ibuprofen from a controlled-release polymer in a rabbit model of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2004; 101: 93-8.
194. Celik O, Bilginer B, Korkmaz A, et al. Effects of intramuscular parecoxib administration on vasospasm in an experimental subarachnoid hemorrhage model. *Int J Neurosci*. 2011; 121: 316-22.
195. Pritchard DI. Sourcing a chemical succession for cyclosporin from parasites and human pathogens. *Drug Discov Today*. 2005; 10: 688-91.
196. Peterson JW, Nishizawa S, Hackett JD, et al. Cyclosporine A reduces cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in dogs. *Stroke*. 1990; 21: 133-7.
197. Manno EM, Gress DR, Ogilvy CS, et al. The safety and efficacy of cyclosporine A in the prevention of vasospasm in patients with Fisher grade 3 subarachnoid hemorrhages: a pilot study. *Neurosurgery*. 1997; 40: 289-93.
198. Ascer E, Bertolami MC, Venturinelli ML, et al. Atorvastatin reduces proinflammatory markers in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis*. 2004; 177: 161-6.

199. Chang CZ, Wu SC, Lin CL, et al. Atorvastatin preconditioning attenuates the production of endothelin-1 and prevents experimental vasospasm in rats. *Acta Neurochir (Wien)*. 2010; 152: 1399-406; discussion 405-6.
200. McGirt MJ, Pradilla G, Legnani FG, et al. Systemic administration of simvastatin after the onset of experimental subarachnoid hemorrhage attenuates cerebral vasospasm. *Neurosurgery*. 2006; 58: 945-51; discussion 45-51.
201. Parra A, Kreiter KT, Williams S, et al. Effect of prior statin use on functional outcome and delayed vasospasm after acute aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a matched controlled cohort study. *Neurosurgery*. 2005; 56: 476-84; discussion 76-84.
202. McGirt MJ, Garces Ambrossi GL, Huang J, et al. Simvastatin for the prevention of symptomatic cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a single-institution prospective cohort study. *J Neurosurg*. 2009; 110: 968-74.
203. Liu Z, Liu L, Zhang Z, et al. Cholesterol-reducing agents for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013: CD008184.
204. Pradilla G, Thai QA, Legnani FG, et al. Delayed intracranial delivery of a nitric oxide donor from a controlled-release polymer prevents experimental cerebral vasospasm in rabbits. *Neurosurgery*. 2004; 55: 1393-9; discussion 99-400.
205. Chen G, Tariq A, Ai J, et al. Different effects of clazosentan on consequences of subarachnoid hemorrhage in rats. *Brain Res*. 2011; 1392: 132-9.
206. Macdonald RL, Kassell NF, Mayer S, et al. Clazosentan to overcome neurological ischemia and infarction occurring after subarachnoid hemorrhage (CONSCIOUS-1): randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 dose-finding trial. *Stroke*. 2008; 39: 3015-21.
207. Vergouwen MD, Algra A, Rinkel GJ. Endothelin receptor antagonists for aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review and meta-analysis update. *Stroke*. 2012; 43: 2671-6.
208. Jung WK, Lee DY, Park C, et al. Cilostazol is anti-inflammatory in BV2 microglial cells by inactivating nuclear factor-kappaB and inhibiting mitogen-activated protein kinases. *Br J Pharmacol*. 2010; 159: 1274-85.

209. Murahashi T, Kamiyama K, Hara K, et al. [The efficiency of cilostazol for cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage]. *No Shinkei Geka*. 2013; 41: 393-400.
210. Senbokuya N, Kinouchi H, Kanemaru K, et al. Effects of cilostazol on cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a multicenter prospective, randomized, open-label blinded end point trial. *J Neurosurg*. 2013; 118: 121-30.
211. Shechter R, Schwartz M. Harnessing monocyte-derived macrophages to control central nervous system pathologies: no longer 'if' but 'how'. *J Pathol*. 2013; 229: 332-46.
212. Ostrowski RP, Colohan AR, Zhang JH. Molecular mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*. 2006; 28: 399-414.
213. Macdonald RL. Delayed neurological deterioration after subarachnoid haemorrhage. *Nat Rev Neurol*. 2014; 10: 44-58.
214. Bendel P, Koivisto T, Hanninen T, et al. Subarachnoid hemorrhage is followed by temporomesial volume loss: MRI volumetric study. *Neurology*. 2006; 67: 575-82.
215. Donnelly DJ, Popovich PG. Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration and functional recovery after spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2008; 209: 378-88.
216. Caner B, Hou J, Altay O, et al. Transition of research focus from vasospasm to early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *J Neurochem*. 2012; 123 Suppl 2: 12-21.
217. Yatsushige H, Ostrowski RP, Tsubokawa T, et al. Role of c-Jun N-terminal kinase in early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosci Res*. 2007; 85: 1436-48.
218. Adamczyk P, He S, Amar AP, et al. Medical Management of Cerebral Vasospasm following Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Review of Current and Emerging Therapeutic Interventions. *Neurol Res Int*. 2013; 2013: 462491.
219. Treggiari MM, Walder B, Suter PM, et al. Systematic review of the prevention of delayed ischemic neurological deficits with hypertension,

hypervolemia, and hemodilution therapy following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2003; 98: 978-84.

220. Egge A, Waterloo K, Sjöholm H, et al. Prophylactic hyperdynamic postoperative fluid therapy after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a clinical, prospective, randomized, controlled study. *Neurosurgery*. 2001; 49: 593-605; discussion 05-6.

221. Dankbaar JW, Slooter AJ, Rinkel GJ, et al. Effect of different components of triple-H therapy on cerebral perfusion in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage: a systematic review. *Crit Care*. 2010; 14: R23.

222. Treggiari MM, Participants in the International Multi-disciplinary Consensus Conference on the Critical Care Management of Subarachnoid H. Hemodynamic management of subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2011; 15: 329-35.

223. Darby JM, Yonas H, Marks EC, et al. Acute cerebral blood flow response to dopamine-induced hypertension after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1994; 80: 857-64.

224. Meyer R, Deem S, Yanez ND, et al. Current practices of triple-H prophylaxis and therapy in patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2011; 14: 24-36.

225. Komotar RJ, Schmidt JM, Starke RM, et al. Resuscitation and critical care of poor-grade subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2009; 64: 397-410; discussion 10-1.

226. Lannes M, Teitelbaum J, del Pilar Cortes M, et al. Milrinone and homeostasis to treat cerebral vasospasm associated with subarachnoid hemorrhage: the Montreal Neurological Hospital protocol. *Neurocrit Care*. 2012; 16: 354-62.

227. Romero CM, Morales D, Reccius A, et al. Milrinone as a rescue therapy for symptomatic refractory cerebral vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2009; 11: 165-71.

228. Zhang YP, Shields LB, Yao TL, et al. Intrathecal treatment of cerebral vasospasm. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2013; 22: 1201-11.

229. Goodson K, Lapointe M, Monroe T, et al. Intraventricular nicardipine for refractory cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2008; 8: 247-52.

230. Agrawal A, Patir R, Kato Y, et al. Role of intraventricular sodium nitroprusside in vasospasm secondary to aneurysmal subarachnoid haemorrhage: a 5-year prospective study with review of the literature. *Minim Invasive Neurosurg*. 2009; 52: 5-8.
231. Mukherjee KK, Singh SK, Khosla VK, et al. Safety and efficacy of sildenafil citrate in reversal of cerebral vasospasm: A feasibility study. *Surg Neurol Int*. 2012; 3: 3.
232. Dorhout Mees SM, Algra A, Vandertop WP, et al. Magnesium for aneurysmal subarachnoid haemorrhage (MASH-2): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2012; 380: 44-9.
233. Vajkoczy P, Horn P, Bauhuf C, et al. Effect of intra-arterial papaverine on regional cerebral blood flow in hemodynamically relevant cerebral vasospasm. *Stroke*. 2001; 32: 498-505.
234. Keuskamp J, Murali R, Chao KH. High-dose intraarterial verapamil in the treatment of cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2008; 108: 458-63.
235. Mazumdar A, Rivet DJ, Derdeyn CP, et al. Effect of intraarterial verapamil on the diameter of vasospastic intracranial arteries in patients with cerebral vasospasm. *Neurosurg Focus*. 2006; 21: E15.
236. Linfante I, Delgado-Mederos R, Andreone V, et al. Angiographic and hemodynamic effect of high concentration of intra-arterial nicardipine in cerebral vasospasm. *Neurosurgery*. 2008; 63: 1080-6; discussion 86-7.
237. Polin RS, Coenen VA, Hansen CA, et al. Efficacy of transluminal angioplasty for the management of symptomatic cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2000; 92: 284-90.
238. Umeoka K, Kominami S, Mizunari T, et al. Cerebral artery restenosis following transluminal balloon angioplasty for vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol Int*. 2011; 2: 43.
239. Lylyk P, Vila JF, Miranda C, et al. Partial aortic obstruction improves cerebral perfusion and clinical symptoms in patients with symptomatic vasospasm. *Neurol Res*. 2005; 27 Suppl 1: S129-35.

240. Segawa K, Kurata S, Yanagihashi Y, et al. Caspase-mediated cleavage of phospholipid flippase for apoptotic phosphatidylserine exposure. *Science*. 2014; 344: 1164-8.
241. Hochreiter-Hufford A, Ravichandran KS. Clearing the dead: apoptotic cell sensing, recognition, engulfment, and digestion. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013; 5: a008748.
242. Kono H, Rock KL. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8: 279-89.
243. Sawai H, Domae N. Discrimination between primary necrosis and apoptosis by necrostatin-1 in Annexin V-positive/propidium iodide-negative cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011; 411: 569-73.
244. Yamasaki S, Ishikawa E, Sakuma M, et al. Mincle is an ITAM-coupled activating receptor that senses damaged cells. *Nat Immunol*. 2008; 9: 1179-88.
245. Sancho D, Joffre OP, Keller AM, et al. Identification of a dendritic cell receptor that couples sensing of necrosis to immunity. *Nature*. 2009; 458: 899-903.
246. Gunther C, Martini E, Wittkopf N, et al. Caspase-8 regulates TNF-alpha-induced epithelial necroptosis and terminal ileitis. *Nature*. 2011; 477: 335-9.
247. Moriwaki K, Chan FK. RIP3: a molecular switch for necrosis and inflammation. *Genes Dev*. 2013; 27: 1640-9.
248. Sosna J, Voigt S, Mathieu S, et al. TNF-induced necroptosis and PARP-1-mediated necrosis represent distinct routes to programmed necrotic cell death. *Cell Mol Life Sci*. 2014; 71: 331-48.
249. Fu D, Jordan JJ, Samson LD. Human ALKBH7 is required for alkylation and oxidation-induced programmed necrosis. *Genes Dev*. 2013; 27: 1089-100.
250. Chan FK, Chun HJ, Zheng L, et al. A domain in TNF receptors that mediates ligand-independent receptor assembly and signaling. *Science*. 2000; 288: 2351-4.
251. Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell*. 2003; 114: 181-90.
252. Rieser E, Cordier SM, Walczak H. Linear ubiquitination: a newly discovered regulator of cell signalling. *Trends Biochem Sci*. 2013; 38: 94-102.

253. Hitomi J, Christofferson DE, Ng A, et al. Identification of a molecular signaling network that regulates a cellular necrotic cell death pathway. *Cell*. 2008; 135: 1311-23.
254. Vanlangenakker N, Bertrand MJ, Bogaert P, et al. TNF-induced necroptosis in L929 cells is tightly regulated by multiple TNFR1 complex I and II members. *Cell Death Dis*. 2011; 2: e230.
255. O'Donnell MA, Perez-Jimenez E, Oberst A, et al. Caspase 8 inhibits programmed necrosis by processing CYLD. *Nat Cell Biol*. 2011; 13: 1437-42.
256. Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, et al. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010; 11: 700-14.
257. Li J, McQuade T, Siemer AB, et al. The RIP1/RIP3 necrosome forms a functional amyloid signaling complex required for programmed necrosis. *Cell*. 2012; 150: 339-50.
258. Sun L, Wang H, Wang Z, et al. Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase. *Cell*. 2012; 148: 213-27.
259. Cai Z, Jitkaew S, Zhao J, et al. Plasma membrane translocation of trimerized MLKL protein is required for TNF-induced necroptosis. *Nat Cell Biol*. 2014; 16: 55-65.
260. Morioka S, Broglie P, Omori E, et al. TAK1 kinase switches cell fate from apoptosis to necrosis following TNF stimulation. *J Cell Biol*. 2014; 204: 607-23.
261. Davidovich P, Kearney CJ, Martin SJ. Inflammatory outcomes of apoptosis, necrosis and necroptosis. *Biol Chem*. 2014; 395: 1163-71.
262. Pasparakis M, Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation. *Nature*. 2015; 517: 311-20.
263. Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol*. 2005; 5: 331-42.
264. Lau A, Wang S, Jiang J, et al. RIPK3-mediated necroptosis promotes donor kidney inflammatory injury and reduces allograft survival. *Am J Transplant*. 2013; 13: 2805-18.

265. Degterev A, Huang Z, Boyce M, et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol.* 2005; 1: 112-9.
266. Zhou Z, Han V, Han J. New components of the necroptotic pathway. *Protein Cell.* 2012; 3: 811-7.
267. Degterev A, Hitomi J, Gemscheid M, et al. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins. *Nat Chem Biol.* 2008; 4: 313-21.
268. Ofengeim D, Yuan J. Regulation of RIP1 kinase signalling at the crossroads of inflammation and cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013; 14: 727-36.
269. Chavez-Valdez R, Martin LJ, Northington FJ. Programmed Necrosis: A Prominent Mechanism of Cell Death following Neonatal Brain Injury. *Neurol Res Int.* 2012; 2012: 257563.
270. Northington FJ, Chavez-Valdez R, Graham EM, et al. Necrostatin decreases oxidative damage, inflammation, and injury after neonatal HI. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011; 31: 178-89.
271. You Z, Savitz SI, Yang J, et al. Necrostatin-1 reduces histopathology and improves functional outcome after controlled cortical impact in mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2008; 28: 1564-73.
272. Re DB, Le Verche V, Yu C, et al. Necroptosis drives motor neuron death in models of both sporadic and familial ALS. *Neuron.* 2014; 81: 1001-8.
273. Christofferson DE, Yuan J. Necroptosis as an alternative form of programmed cell death. *Curr Opin Cell Biol.* 2010; 22: 263-8.
274. Xu X, Chua CC, Kong J, et al. Necrostatin-1 protects against glutamate-induced glutathione depletion and caspase-independent cell death in HT-22 cells. *J Neurochem.* 2007; 103: 2004-14.
275. Yamanaka K, Saito Y, Yamamori T, et al. 24(S)-hydroxycholesterol induces neuronal cell death through necroptosis, a form of programmed necrosis. *J Biol Chem.* 2011; 286: 24666-73.
276. Kolsch H, Ludwig M, Lutjohann D, et al. Neurotoxicity of 24-hydroxycholesterol, an important cholesterol elimination product of the brain, may be prevented by vitamin E and estradiol-17beta. *J Neural Transm (Vienna).* 2001; 108: 475-88.

277. Hughes TM, Kuller LH, Lopez OL, et al. Markers of cholesterol metabolism in the brain show stronger associations with cerebrovascular disease than Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2012; 30: 53-61.
278. Yamanaka K, Urano Y, Takabe W, et al. Induction of apoptosis and necroptosis by 24(S)-hydroxycholesterol is dependent on activity of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase 1. *Cell Death Dis.* 2014; 5: e990.
279. Barry KJ, Gogjian MA, Stein BM. Small animal model for investigation of subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm. *Stroke.* 1979; 10: 538-41.

