

Deneysel Subaraknoid Kanamada Oktreotid Asetat'ın Serebral Vazospazma Etkisi

The Effect of Octreotid Acetate to Cerebral Vasospasm in Experimental Subarachnoid Hemorrhage

CENGİZ ÇOKLUK, ALPARSLAN ŞENEL, LEVENT TÜMKAYA, ÖMER İYİGÜN,
ARIF ÖNDER, FAHRETTİN ÇELİK, CEMİL RAKUNT

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirürji ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalları, Samsun

Geliş Tarihi: 10.12.1998 ⇔ Kabul Tarihi: 15.4.1999

Özet: Bu çalışmada, tavşan deneysel subaraknoid kanama (SAK) modelinde, vazospazmın önlenmesi amacıyla sentetik bir somatostatin analogu olan oktreotid asetat (OA) kullanıldı. Tedavi sonrası baziller arter yüzey alanı ölçümleri stereolojik görüntü analiz metoduyla yapıldı. Yüzey alanı ölçüm sonuçları kontrol grubunda $323 \pm 48 \mu\text{m}^2 \times 10^3$, tedavisiz SAK grubunda $111 \pm 7 \mu\text{m}^2 \times 10^3$, plasebo+SAK grubunda $115 \pm 5 \mu\text{m}^2 \times 10^3$, 150 $\mu\text{gr/gün}$ OA+SAK grubunda $196 \pm 17 \mu\text{m}^2 \times 10^3$ olarak ölçüldü. Tedavi verilen ve verilmeyen gruplar arası farklar istatistiksel yönden anlamlı olarak bulundu. Bu deneysel çalışma OA tedavisinin SAK'tan sonra serebral vazospazmın önlenmesinde etkili olduğunu düşündürmektedir. Yan etki profilinin oldukça düşük olması ve subkutan yolla kullanılabilmesi diğer avantajlarıdır. Ancak bu deneysel çalışmanın sonuçlarının diğer klinik ve laboratuvar çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Oktreotid asetat, serebral vazospazm, subaraknoid kanama

Abstract: In this study, octreotid acetate (OA), a synthetic analog of somatostatin was used for the prevention of vasospasm in the experimental rabbit basilar artery subarachnoid hemorrhage (SAH) model. Basilar artery cross-sectional area was measured by using stereological image analysing method as $323 \pm 48 \mu\text{m}^2 \times 10^3$ for the control group, $111 \pm 7 \mu\text{m}^2 \times 10^3$ for untreated SAH group, $115 \pm 5 \mu\text{m}^2 \times 10^3$ for the placebo+SAH group, and $196 \pm 17 \mu\text{m}^2 \times 10^3$ for the 150 $\mu\text{gr/day}$ OA+SAH group. Differences between the values of treated and untreated groups were statistically significant. Our results suggest that OA treatment can be effective in the prevention of cerebral vasospasm after SAH. Low side effect profile and practical subcutaneous use are other advantages. The results of other clinical and laboratory researchs are necessary to support this experimental results.

Key Words: Cerebral vasospasm, octreotid acetate, subarachnoid hemorrhage.

GİRİŞ

Serebral vazospazm subaraknoid kanama (SAK)'dan sonra bazal serebral arterlerde fokal, segmental veya diffüz daralma olarak tanımlanabilir (71). Vazospazmın en yaygın nedeni anevrizmal SAK'dır, ancak arteriovenöz malformasyon kanaması, tümörler ve kafa travmalarından sonra da

ortaya çıkabilir (71). Laboratuvar ve klinik araştırmalar bu bozukluğun etyoloji, patofizyoloji ve tedavi modaliteleri üzerinde yoğunlaşmış, ancak henüz serebral vazospazmın temel mekanizmaları tam olarak aydınlatılmadığı gibi tedavisi de palyatif sınırlar içerisinde kalmıştır (37).

Bu çalışmada, tavşan deneysel subaraknoid

kanama modelinde, vazospazmın önlenmesi amacıyla sentetik bir somatostatin analogu olan OA kullanıldı. Somatostatin etkisini spesifik membran reseptörleri aracılığı ile oluşturmaktadır (33). Somatostatin, growth hormon, growth faktörler ve insülin sekresyonunu inhibe eder (33). OA somatostatinden daha güçlü ve daha uzun etkili, sentetik somatostatin analogudur. Somatostatin gibi sadece infüzyon yoluyla değil, subkutan yolla da uygulanabilmektedir (33).

Bizim çalışmamızda OA'ın serebral vazospazmda etkin bir rol oynayan endotelin (ET)'lerin sentezinin growth hormon ve growth faktörlerin inhibisyonu yoluyla engellenerek serebral vazospazmın şiddetinin azaltılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, ağırlıkları 2,7-3,1 kg arasında değişen, beyaz renkli, dişi, 38 erişkin Yeni Zelanda tipi tavşan kullanıldı. Tablo I'de gösterildiği şekilde denekler dört gruba ayrıldı.

Tavşanlara intramusküler 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar ampul, Eczacıbaşı) ve 8 mg/kg xylazine (Rompun ampul, Bayer) ile anestezi verilerek, spontan solunuma bırakıldı. Femoral artere steril polietilen kateter ve üç yönlü stepkak yerleştirilerek, işlem süresince civalı manometre ile arterial kan basıncı monitorizasyonu ve arterial kan gazı ölçümleri yapıldı. SAK oluşturmak için nonheparinize arterial kan bu kateterden alındı. Tavşanların PaCO₂ basıncının 35-45 mm Hg, SAK oluşturmadan önceki arterial kan basıncının 85-105 mm Hg arasında kalması sağlandı. Tavşanların altına blanket yerleştirilerek, rektal termometre ile vücut ısısı ölçümleri yapıldı. Cerrahi girişimden önce subokspital bölge traş edilerek, %10 povidon-iyot (Betadine solüsyon, Kansuk) solüsyonu ile cilt temizliği sağlandı. Saha yeşil delikli kompres ile örtülerek, üzeri steril cerrahi drape ile kapatıldı.

Daha önceden femoral artere yerleştirilen ve üç yönlü stepkak takılan polietilen kateterden 3-4 ml

nonheparinize arterial kan alındı. Perkütan yoldan, 23 numara kelebek iğne ile 0,5-1 ml BOS aspire edilerek iğnenin sisterna magna içerisinde olup olmadığı kontrol edildikten sonra mesafeye 5-7 dakikada, oldukça yavaşça enjekte edildi. İğne çıkarılarak, kanın üst subaraknoid sistemlere yerçekimine bağlı olarak serbestçe ulaşabilmesi için, baş 45 derece aşağıda kalacak şekilde 15 dakika bekletildi.

SAK'ın oluşturulduğu gün, 0. gün olarak kabul edildi. Grup IV'teki tavşanlara subkutan OA (Sandostatin 100, SANDOZ AG) ve grup III'teki tavşanlara plasebo (subkutan, %0,9'luk NaCl solüsyonu) tedavisi uygulandı. İlk doz kanamadan hemen sonra verildi. Bütün tavşanlar aynı ortam şartlarında, mikropellet yem diyeti ile beslendi. Tedaviye denekler üçüncü günde sakrifiye edilene kadar devam edildi.

SAK'tan iki gün sonra tavşanlara intramusküler ketamin (50 mg/kg) ve xylazine (8 mg/kg) ile tekrar anestezi uygulandı. Femoral arter kateterize edilerek arterial kan basıncı monitorizasyonu ve arterial kan gazı ölçümleri yapıldı. Arterial kan gazları, kan basıncı ve vücut ısısının fizyolojik sınırlar içerisinde kalması sağlandı.

Bütün tavşanlar gerçeğe en yakın histopatolojik görüntüyü elde edebilmek amacıyla perfüzyon fiksasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Perfüzyon fiksasyon işlemi aşağıdaki şekilde uygulandı; Toraks açıldı, sol ventrikül kanüle edilerek heparin verildi. Perfüzyona başlamadan hemen önce sağ aurikula açılarak inen aorta klemplendi. Oda sıcaklığında, vasküler sistem 300 ml'lik Hanks' dengeli tuz solüsyonu (Sigma, pH 7,4) ile yıkandı. Bunu takiben, 500 ml %1 paraformaldehit ve %1,5 glutaraldehit içeren Hanks' dengeli tuz solüsyonu (pH 7,4) verildi. Tüm tavşanların perfüzyon işlemi 75 mm Hg'da gerçekleştirildi. Perfüzyon fiksasyon işlemi tamamlandıktan sonra kafa açılarak kan pıhtısı kontrol edildi. Tavşanların beyin ve beyinsapı çıkarılıp fiksatif solüsyon içerisine bırakılarak, bir gün boyunca 4°C bekletildi. Gruplar kodlanarak araştırmacının tedavi gruplarından habersiz olması sağlandı.

Tablo I: Grupların genel özellikleri

Gruplar	Tavşan sayısı	Özellikler
Grup I	7	Kontrol grubu (sham operasyonu yapılan grup)
Grup II	10	SAK oluşturulan ancak tedavi verilmeyen grup
Grup III	7	Plasebo, SC, 3x0.5 ml %0.9 NaCl solüsyonu ile tedavi edilen grup
Grup IV	7	OA 3x50 µgr OA ile tedavi edilen grup

Baziller Arter Kesitsel Yüzey Alanının Stereolojik Ölçümü:

Örneklerin Hazırlanması:

Vertebral arter bileşkesinin hemen üzerindeki baziller arter segmenti, ameliyat mikroskobu altında (Zeiss, 100-127V), beyin sapı ile birlikte eşit uzunlukta dört parçaya ayrılarak doku takibine alındı. Ayrılan bu segmentler parafin içerisine yerleştirilerek bloklandı. 5m kalınlığında kesitler alınarak lam üzerine yerleştirildi. Hematoksilen ve eozin ile boyanarak, lamel ile kapatıldı. Aynı tavşana ait dört blok ve bu bloklardan hazırlanan mikroskopik slaytlar aynı rakam ile kodlandı. Kod numaralarının hangi gruptaki tavşana ait olduğu araştırmacı tarafından bilinmiyordu.

Nokta Sayım Metodu

500 referans noktali şeffaf test ölçeği (iki nokta arasındaki uzaklık 10 mm) monitör ekranı üzerine konularak nokta sayımı yöntemi ile baziller arter kesitsel alanına düşen nokta sayısı bulundu. Her bir tavşanın baziller arter yüzey alanı ölçümü aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Alan} = d^2/M^2 \times 1/4 \times \sum_{i=1}^4 P_i$$

Burada d; şeffaf test ölçeğindeki noktalar arası uzaklık, M; mikroskopik görüntülerin monitör ekranına aktarılmasındaki magnifikasyon derecesi, P_i; monitör ekranında sayılan nokta sayısını ifade etmektedir.

İstatistiksel Analiz:

İstatistiksel analiz için Student's eşleştirilmemiş t testi kullanılmış, p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Fizyolojik Parametreler ve Klinik Gözlemler:

OA tedavisi verilen ve tedavi verilmeyen SAK'lı tavşanlar arasında önemli klinik farklılık gözlenmedi.

Tüm tavşanların başlangıç ortalama sistemik arteriyel kan basıncı (OSAB) 78-82 mmHg olarak ölçüldü. Gruplar arasında farklılık saptanmadı. Sisterna magna içerisine arteriyel kan verilmesinden hemen sonra OSAB 25 mmHg (Standart sapma=5 mmHg) yükseldi. OSAB 2-3 dakika sonra kademeli olarak enjeksiyon öncesi normal değerlerine geri döndü.

Tavşanların ilk arteriyel kan gazı ölçümü enjeksiyondan 5 dakika önce yapıldı ve işlem süresince normal fizyolojik sınırlar içerisinde (pH: 7.35-7.45, pO₂: 80-100 mmHg, pCO₂: 35-40 mmHg) tutuldu.

Bazı tavşanlar anesteziden çıktıktan sonra geçici bir süre apatik ve konfüze olarak kaldı. SAK, tavşanların hiçbirisinde fokal nörolojik defisite neden olmadı.

Gros ve Işık mikroskopik Morfolojik Bulgular:

Gros Gözlemler:

Kan pıhtısı özellikle ponsun ventral yüzü, baziller arter çevresi ve sisterna magna içerisinde diğer bölgelerdekenden daha fazla gözlendi. SAK oluşturulmayan gruptaki tavşanların bazal beyin ve beyin sapı yüzeylerinde gros morfolojik değişiklik gözlenmedi.

Işık Mikroskopik Bulgular:

a. Kontrol Grubu (Sham operasyonu yapılan, SAK oluşturulmayan ve tedavi uygulanmayan grup): İncelenen baziller arter lümeni diğer gruplardaki tavşanların baziller arter lümeninden daha geniştir. Lümeni tek sıralı endotel tabakası çevirmektedir. Endotel tabakası, altındaki internal elastik lamina düzensizlik göstermeksizin arteri çevrelemektedir. Media tabakası düz kas hücrelerinde ve adventisiada önemli morfolojik değişiklikler saptanmadı.

b. Tedavi Uygulanmayan SAK'lı Grup: Bu gruptaki tavşanların baziller arter lümeni daralmıştır. Endotel tabakası bütünlüğü korunmuş ve tek sıralı olarak lümeni çevrelemektedir. İnternal elastik lamina belirgin derecede düzensizleşerek daralmıştır. Media tabakası düz kas hücreleri proliferasyona uğramışlardır.

c. %0.9 NaCl ile Placebo Tedavisi Uygulanan Grup: Bu gruptaki tavşanların baziller arter lümeni daralmıştır. İnternal elastik lamina düzensiz ve dardır. Media tabakası düz kas hücreleri proliferasyona uğramıştır.

d. OA Tedavisi Uygulanan SAK'lı Grup: Bu gruptaki tavşanlarda baziller arter lümeni tedavi uygulanmayan SAK'lı tavşanlardakinden daha geniştir. Endotel tabakası bütünlüğü korunmuş olarak tek sıralıdır. İnternal elastik laminadaki düzensizlik ve media tabakasındaki düz kas hücre proliferasyonu tedavi uygulanmayan SAK'lı tavşanlardakinden daha azdır.

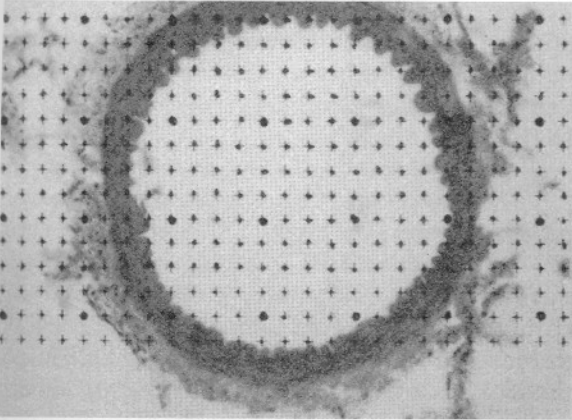
Morfometrik Bulgular:

Grupların baziller arter lümen yüzölçümleri mikrometre cinsinden hesaplandı. SAK oluşturulan ve hiçbir tedavi uygulanmayan gruptaki tavşanların ortalama baziller arter lümen yüzölçümü (Ortalama \pm SEM) $111.2 \times 10^3 \mu\text{m}^2 \pm 2.09$ olarak hesaplandı (Şekil 1). Kontrol grubu tavşanlarının ortalama baziller arter lümen yüzölçümü $322.7 \times 10^3 \pm 18.3 \mu\text{m}^2$ (Şekil 2), 150 $\mu\text{gr}/\text{gün}$ OA ile tedavi edilen grupta $196 \times 10^3 \pm 6.3 \mu\text{m}^2$ olarak bulundu (Şekil 3). Sonuçlar toplu olarak Tablo II'de gösterilmiştir.

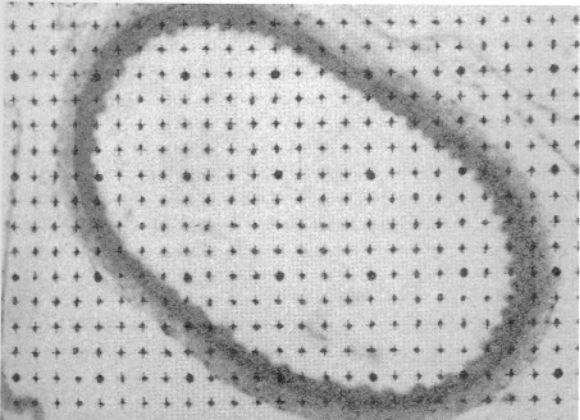
İstatistiksel analiz:

İstatistiksel analiz için Student's eşleştirilmemiş t testi kullanıldı ve $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

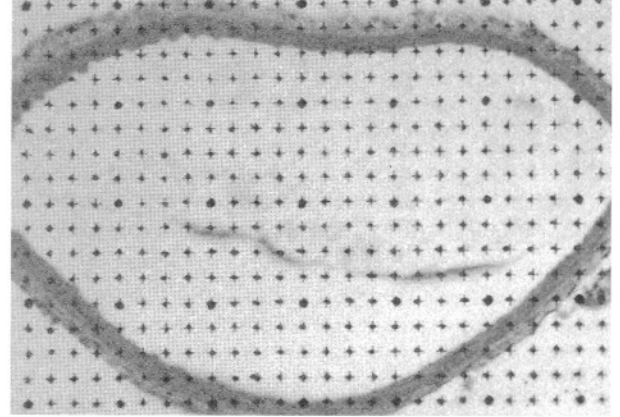
Plasebo tedavisi uygulanan SAK grubu ile tedavi uygulanmayan SAK grubu arasında istatistiksel yönden anlamlı farklılık saptanmadı ($p < 0.05$).



Şekil 1: SAK oluşturulan ve OA tedavisi uygulanmayan gruptaki tavşanların baziller arter kesiti (H&E x200).



Şekil 2: OA tedavisi uygulanan SAK'lı gruptaki tavşanların baziller arter kesiti (H&E x200).



Şekil 3: Kontrol grubu (SAK oluşturulmayan ve tedavi uygulanmayan) tavşanlarının baziller arter kesiti (H&E x200).

SAK oluşturulan ve tedavi verilmeyen grup ile 150 mikrogram/gün OA uygulanan grup arasındaki fark istatistiksel yönden anlamlı olarak bulundu ($p > 0.05$).

SAK oluşturulan ve tedavi verilmeyen grup ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel yönden anlamlı olarak bulundu ($p = 0.05$).

Kontrol grubu ile OA tedavisi uygulanan grupların baziller arter kesitsel yüzölçümleri arasındaki fark istatistiksel yönden anlamlı bulundu ($p = 0.05$).

TARTIŞMA

Kalıcı serebral enfarktüsle sonuçlanabilen serebral vazospazm teşhis ve tedavideki ilerlemelere rağmen özellikle anevrizmal SAK'lı hastalarda morbidite ve mortalitenin en büyük sebebi olarak

Tablo II: Tavşanların fizyolojik parametreleri ve baziller arter kesitsel yüzölçümlerinin toplu olarak değerleri

Parametreler	Kontrol	SAK	Plasebo	OA
Denek sayısı	7	10	7	7
Vücut Ağırlığı (Kg)	2.9 \pm 0.2	3.1 \pm 0.1	2.8 \pm 0.1	3.1 \pm 0.2
O.S.A.B (mmHg)	79 \pm 11	81 \pm 12	82 \pm 11	81 \pm 16
PaCO ₂ (mmHg)	40.2 \pm 2.3	38.2 \pm 2.6	39.3 \pm 2.5	38.9 \pm 2.1
Baziller arter alanı ($\mu\text{m}^2 \times 10^3$)	323 \pm 48	111 \pm 7	115 \pm 5	196 \pm 17

durmaktadır (1, 37, 72). Geniş serilerde, olguların %15'i maksimal tedaviye rağmen vazospazm nedeniyle stroke veya ölüme maruz kalmaktadır (20). Oksihemoglobin endotel ve düz kas hücrelerinde "ET-1 mRNA" üretimini başlatarak ET salınımında temel rolü oynamaktadır (27). Oksihemoglobine bağlı ET-1 üretimi hem proteinkinaz C hem de cAMP tarafından artırılmaktadır (27). Proteinkinaz C, ET sentezini artırıcı etkisinin yanında, vasküler kaslarda kontraksiyonuna neden olabilen önemli bir enzimdir (59).

SAK'tan sonra serebral arterlerin düz kas hücrelerinde potasyum kanallarının aktivasyonlarının azalmasına bağlı olarak hücreler depolarizasyona uğrar (59). Bunun aksine kalsiyumun hücre içerisine girişi artar. Potasyum kanallarının aktivasyonlarındaki bu azalmanın nedeni muhtemelen nitrik oksit etkinliğinin bozulması ve proteinkinaz C aktivasyonunun artmasıdır (59).

Platelet kökenli growth faktör (PDGF) ve transforming growth faktör beta (TGF- β) gibi hücrel growth faktörler hücrelerde peptid sentezinde temel rol oynayan mRNA'ların üretimini artırır. OA, growth faktörlerin reseptörlerinin fosforilasyonunu engelleyerek bu maddelerin etkilerini önlemesinin yanında, aktivator protein (AP-1)'in bağlanması ve transkripsiyon işlemi de bloke ederek ET'lerin sentezlenmesini engeller (64). Ayrıca G-proteinleri, cAMP, Ca²⁺, proteinkinaz C ve tirozin fosfatazın içinde bulunduğu multiple postreseptör sinyal iletim mekanizmalarını bloke ederek ET'lerin salınımını inhibe eder. OA spesifik membran reseptörleri aracılığı ile kalsiyumun hücre içerisine girişini azaltırken potasyum kanallarını aktive ederek hücrenin depolarizasyonunu engeller (33).

Bizim çalışmamızın temel amacı OA'nın ET sentezini azaltıcı ve iyon kanalları üzerine olan etkilerinden yararlanarak serebral vazospazmın önlenmesidir.

ET'ler serebral vazospazmın oluşumunda anahtar rol oynamaktadırlar (72). 1988 yılında Yanagisawa ve ark. (75) porcine endotel hücre kültüründen izole ettikleri 21 aminoasit dizisinden oluşan peptid yapılı maddeye ET-1 adını vermişlerdir. Aminoasit dizilimindeki farklılığa göre ET'lerin ET-1, ET-2 ve ET-3 olmak üzere üç değişik şekli bulunmaktadır (54). ET'lerin üç formu da 21 aminoasit dizisinden oluşur, iki adet disülfit köprüsü

taşımaktadırlar ve yirmibirinci sırada triptofan aminoasidine bağlı hidrofob bir C terminali ile sonlanmaktadır (77).

Endotel hücrelerinde ET-1 sentezi prepro ET-1 mesenger ribonükleik asit (prepro ET-1 mRNA)'in indüksiyonuyla başlamaktadır. Spesifik bir endopeptidaz enzimi prepro ET-1'i Big ET-1'e çevirmektedir. Big ET-1 yine spesifik bir endopeptidaz enzimi (ET-dönüştürücü enzim) tarafından etkin bileşik olan ET-1'e dönüştürülmektedir (36, 61). ET-1 endotelden başka nöronlar, glial hücreler, koroid pleksus hücreleri, hipotalamus ve patolojik şartlar altında beyine yerleşen makrofajlar tarafından da salgılanmaktadır (13, 34). ET-2 ve ET-3'ün sentezlendiği bölge kesin olarak belli olmamakla birlikte ET-3'ün salındığı yerlerden birisinin nöral doku olduğu bildirilmektedir (13). Endotel hücrelerinde peptidleri veya onların öncülerini depolayacak granüller olmadığından ET-1 sentezi peptid sentez indüksiyonu sonucu gerçekleşmektedir (74,77). ET-1 sentezi trombin, transforming growth faktör, angiotensin II, oksihemoglobin ve interlökin I gibi değişik stimuluslar tarafından artırılmaktadır (27, 43, 55, 75, 76).

ET etkisini spesifik reseptörlerine bağlanarak göstermektedir. Üç farklı ET reseptör tipi ayırt edilmiştir. Bunlardan ET_A 50 000-70 000 molekül ağırlığındadır. ET_B 30,000-40,000 molekül ağırlığındadır, ET_{B1} ve ET_{B2} olmak üzere iki farklı grubu vardır. ET_A reseptör tipi ET-1 ve ET-2 için yüksek affinite gösterirken ET-3 için daha az affinite göstermektedir (22, 40). ET_A reseptörleri vasküler düz kas hücrelerinde lokalizedir ve ET'lerin vazokonstriksiyon yapıcı etkilerinden sorumludur. ET_{B1} reseptörleri vasküler endotel hücre membranlarında bulunmaktadır, endotel-bağımlı vazodilatasyon etkisinden sorumludur. ET_{B2} reseptörleri ise düz kas hücrelerinde bulunmaktadır etkileri vazokonstriksiyondur (10, 21, 39, 63, 70).

ET-1 ve ET-2'nin vazokonstriktör etkisi yaklaşık olarak birbirine eşittir. ET-3'ün etkisi diğerlerinden daha azdır (77). SAK'lı hastaların BOS ve plazmalarında değişik konsantrasyonlarda ET'ler saptanmıştır. Bunlardan en çok big-ET-1, daha az miktarlarda da ET-1 ve ET-3 bulunmaktadır. ET-2 saptanamamıştır (18, 75).

Yamaura ve ark (73), köpek deneysel SAK modelinde baziller arterde ET-1 seviyesinin 0. günden 2. güne kadar belirgin derecede artış

gösterdiğini 2-7. günler arasında hızla düştüğünü bildirmişlerdir. 2. günde topikal monoklonal antikor uygulamasının vazospazmı kısmen düzelttiği ancak 7. gündeki uygulamanın vazospazmın şiddetinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmektedir (73).

OA kullanılarak ET sentezinin azaltılmasını amaçlayan çalışmamızda tedaviye kanamanın oluşturulduğu günde kanamadan hemen sonra başlanılmış ve iki gün devam edilmiştir. Tavşanlar 3. gün sakrifiye edildi, bu şekilde ET-1'in baziller arter üzerindeki etkisinin en yüksek olduğu günde baziller arterin histolojik ve stereolojik tekniklerle incelenmesi amaçlandı.

DeneySEL çalışmalarda ET'lerin serebral vazospazm yapıcı etkilerini önlemek amacıyla pek çok değişik madde kullanılmıştır. Bu maddeleri ET'leri transkripsiyon, konversiyon ve reseptöre bağlanma evrelerinde bloke edenler olmak üzere üç gruba ayırabiliriz.

Hino ve ark. (23) maymun deneySEL SAK modelinde ET reseptör mRNA üretimin belirgin derecede arttığını bildirmiştir. Onoda ve ark. (44) ise prepro-ET-1 mRNA antisens oligodeoksiribonükleik asitin intrasisternal uygulamasının serebral vazospazmın şiddetinde belirgin derecede azalmaya neden olduğunu bildirmektedirler. Bir RNA sentez inhibitörü olan aktinomisin-D'nin köpek deneySEL SAK modelinde serebral vazospazmın şiddetini azaltıcı etki gösterdiği bildirilmiştir (57). Diğer RNA sentez inhibitörlerinin de ET sentezini azaltarak serebral vazospazmın etkisini azalttıkları bildirilmektedir (38). Bu çalışmada kullandığımız OA'nın da temel etkisi ET sentezini transkripsiyon evresinde engellemesidir. OA growth faktörlere ait reseptörlerin fosforilasyonunu engelleyerek PDGF ve TGF-b gibi mRNA üretimini artıran maddelerin etkisini önleyerek ET sentezini bloke eder.

Konversiyon safhasında etkili olan maddeler Big ET-1'in ET-1'e dönüşümünü engelleyerek serebral vazospazmın etkisini azaltırlar. Bu maddelere örnek olarak CGS 26303 ve fosforamidon verilebilir (8, 30, 31, 58, 67).

DeneySEL SAK modellerinde serebral vazospazmın önlenmesi amacıyla pek çok değişik peptid ve nonpeptid yapılı ET reseptör antagonistleri kullanılmıştır. Peptid yapılı ET_A reseptör antagonistlerinden BQ 123, FR139317, BQ 485 ve BQ 788'in intrasisternal uygulamalarının değişik

derecelerde serebral vazospazmın şiddetini azalttığı bildirilmektedir (11, 12, 16, 24, 25, 26, 42, 79). Nonpeptid ET reseptör antagonistlerinden RO 46-2005, RO 47-0203, RO 61-1790, PD 145065, PD 155080, TBC 11251, A-127722 ve S-0139 kullanılmış bunların da ET_A ve ET_B reseptörlerini bloke ederek ET-1'in vazospazm yapıcı etkisini değişik derecelerde önlediği bildirilmiştir (7, 17, 29, 50, 53, 54, 62, 69, 78, 80).

Somatostatin ilk kez rat hipotalamusunda growth hormon salgılatıcı faktörün çalışıldığı sırada bulunmuştur. 14 adet amino asitten oluşan siklik yapısı ortaya çıkarılmış ve somatostatin olarak adlandırılmıştır (48). Somatostatinin somatostatin-14 ve somatostatin-28 olmak üzere iki önemli biyoaktif şekli vardır (48). Diğer hormonlarda olduğu gibi somatostatin, büyük bir prohormonun enzimatik yolla yıkılması sonucu ortaya çıkan biyoaktif ürünler olarak sentezlenmektedir (6). Somatostatin etkisini spesifik membran reseptörlerine bağlanarak oluşturmaktadır. İnsan somatostatin reseptörlerinin SSTR1, SSTR2, SSTR3, SSTR4 ve SSTR5 olmak üzere beş alt grubu tanımlanmıştır(6). Bu reseptör alt gruplarının aminoasit dizilimleri %42-60 oranında birbirine benzemektedir (46). Somatostatin reseptörleri beyin değişik bölgeleri, leptomeninksler (araknoid ve piamater), ön hipofiz, endokrin ve ekzokrin pankreas, gastrointestinal sistem mukozası ve immün sistem hücrelerinde bulunmaktadır (49).

Somatostatin'in klinikte kullanımını oldukça zordur, bunun nedenleri arasında somatostatin'in intravenöz infüzyon gerektirmesi, etki süresinin oldukça kısa olması (dolaşımdaki yarılanma ömrü 3 dakikadan daha azdır) ve growth hormon, insülin ve glukagon gibi hormonların infüzyon sonrası rebound hipersekresyonu sayılabilir (48). Sentetik somatostatin analogları bu dezavantajlara sahip değildir (32, 33).

Oktreotid klinikte ilk kullanılan sentetik somatostatin analogudur (5, 9, 28). Oktreotid maymunlarda growth hormon, glukagon ve insülini somatostatin-14'ten sırasıyla 45, 11 ve 1.3 kez daha fazla inhibe etmektedir (5, 9, 28). Subkutan uygulamadan sonra eliminasyon yarılanma ömrü 2 saattir, rebound hipersekresyon etkisi görülmez (28).

OA emniyet marjı geniş bir ilaç olup, deneySEL çalışmalarda 12 mg'dan 1 mgr/kg'a kadar değişen dozlarda kullanılmıştır(2, 69). Bizler bu çalışmada sekiz saat aryla subkutan uygulanan 150 mgr/gün'lük (50 mgr/kg/gün) OA tedavisini yeterli gördük.

OA (Sandostatin) klinikte metastatik karsinoid tümörlü olgularda (hipokalemiyi düzeltmek ve diyareyi kontrol altına almak için), vazoaaktif intestinal peptid salgılayan tümörlerde, ortostatik hipotansiyonda ve akromegalide kullanılmaktadır (14, 19, 35, 41, 47, 52, 56, 60, 68). OA aynı zamanda endoskopik retrograt kolanjiopankreatikografide pankreas motilitesini azaltmak amacıyla da kullanılmaktadır (60, 65, 66). OA'ın yan etki profili oldukça düşüktür ve bunlar (enjeksiyon bölgesinde orta derecede ağrı ve yanma, abdominal ağrı ve diyare) tanındığı zaman medikal yolla tedavi edilebilir (9).

SAK'tan sonra serebral damarların endotel ve düz kas hücrelerindeki K⁺ kanallarının aktivasyonu azalır. Bunun sonucu olarak hücre depolarizasyona uğrar. Buna karşın Ca²⁺ kanalları aktive olarak hücre dışındaki Ca²⁺ hücre içerisine girişi artar. OA G_o proteini üzerinden Ca²⁺ kanallarını bloke ederek Ca²⁺'un hücre içerisine girişini engellerken, G_k proteini üzerinden K⁺ kanallarını aktive ederek hücrenin depolarizasyonunu önler (33). Bu şekilde SAK'ın iyon kanalları üzerinden vazospazm yapıcı etkisi OA tarafından engellenmiş olur.

OA, SSTR birleşmesi G proteini aracılığı ile tirozin fosfatazı aktive eder, tirozin fosfataz ise epidermal growth faktör (EGF)-reseptör fosforilasyonunu inhibe eder (33). OA, SSTR birleşmesi G_i proteinin adenilat siklaz enzimi üzerine olan inhibe edici etkisiyle ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü azaltır, bu şekilde hücre içi cAMP miktarı düşer (33). Somatostatin analogları G proteinleri, cAMP, Ca²⁺, protein kinaz C ve tirozin fosfatazın içinde bulunduğu multiple postreseptör sinyal iletim mekanizmaları yoluyla peptid salınımı ve hücre büyümesini inhibe ederler (33, 45).

Bu çalışmada OA tedavisi, tavşanlarda vazospazmın şiddetini azaltıcı etki göstermiştir. 150 mgr/gün OA ile tedavi edilen tavşanlar, tedavi uygulanmayan SAK'lı tavşanlarla karşılaştırıldığında serebral vazospazmın şiddetinde %39.9 iyileşme gözlenmiştir (p=0,022). Oktreotid tedavisi uygulanan SAK'lı tavşan grubu ile tedavi uygulanmayan SAK'lı tavşan grubu arasındaki fark istatistiksel olarak (p<0.05) anlamlıdır.

Tavşan deneysel SAK modelinde OA'ın serebral vazospazmın şiddetini azaltıcı etki göstermesinin muhtemel mekanizmaları şu şekilde özetlenebilir; 1)PDGF ve TGF-b'nin inhibisyonuyla mRNA üretiminin azaltılması, 2) G proteinleri,

cAMP, kalsiyum, protein kinaz C ve tirozin fosfatazın içinde bulunduğu postreseptör sinyal iletim mekanizmaları yoluyla peptid salınımı ve hücre büyümesinin inhibisyonu, 3) AP-1'in bağlanması ve transkripsiyonunu bloke ederek ET sentezinin inhibisyonu, 4) c-myc, c-fos ve c-jun gibi protoonkogenlerin üretimini önlenmesi, 5) tirozin fosfataz üzerinden EGF-reseptör birleşiminin engellenmesi, 6) Kalsiyumun hücre içerisine girişinin azaltılmasına ilave olarak potasyum kanallarının aktive edilmesi.

Deneyisel modellerde, vazospazmın değerlendirilmesi için serebral anjiyografi ve/veya damarın histolojik (ışık veya elektron mikroskop) incelemesi yapılmaktadır. Gros mikroskopik incelemede; internal elastik laminanın düzensiz, kıvrımlı bir şekil alması, damar lümeninin daralması ve damar çeperinin kalınlığının artması vazospazm lehinde yorumlanmaktadır. Histolojik incelemede baziller arter çapını ölçenlerin (37) yanında, damarın kesitsel yüzölçümünü hesaplayan yayınlar da (15) bulunmaktadır. Damarın kesitsel yüzölçümü bilgisayarlı görüntü analiz sistemi (15) veya stereolojik olarak nokta sayım metodu yoluyla yapılabilir. Yapılan histolojik çalışmalarda (3, 4, 37), stereolojik metodun sonuçlarının güvenilir olduğu bildirilmiştir. Mikroskopik görüntülerin alan veya volümlerinin hesaplanması amacıyla kullanılan stereolojinin prensipleri ve uygulama metodları Royet (51) tarafından yayınlanmıştır.

Bu çalışmada, OA tedavisi tavşan deneysel SAK modelinde serebral vazospazmın şiddetini tam olarak önleyememiştir. Bunun muhtemel nedeni serebral vazospazmın multifaktöriyel orijinli olmasıdır. Sadece ET sentezinin önlenmesi veya azaltılması serebral vazospazmı tam olarak önleyemez, bunun yanında serbest radikal mekanizmaları, immünolojik ve inflamatuvar reaksiyonlar, nöropeptid Y ve nitrik oksit gibi faktörlerin de önemini büyük olduğu unutulmamalıdır.

SONUÇ

Bu deneysel çalışma subkutan OA tedavisinin klinikte SAK sonrası gelişebilen serebral vazospazmın şiddetinin azaltılmasında kullanılabileceğini telkin etmektedir.

OA tedavisinin yan etki profili oldukça düşüktür. Subkutan yol gibi kolay bir şekilde

kullanılabilmektedir. Etkisi kısa süre içerisinde başlamaktadır.

OA'nın serebral vazospazmı önleyici etkisi diğer klinik ve laboratuvar çalışmalarıyla da desteklenmektedir.

Yazışma Adresi: Cengiz Çokluk
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Nöroşirürji Anabilim Dalı
55139 SAMSUN

KAYNAKLAR

- Allen GS: Cerebral arterial spasm. Clin Neurosurg 32: 70-78, 1984
- Amblar GR, Butler AA, Padmanabhan J, Breier BH, Gluckman PD: The effects of octreotide on GH receptor and IGF-I expression in the GH-deficient rat. J Endocrinology 149: 223-31, 1996
- Augsburger HR, Cruz-Otrive LM, Arnold S: Morphology and stereology of the female canine urethra correlated with the urethral pressure profile. Acta Anat 148: 197-205, 1993
- Augsburger HR, Orive-Cruz LM: Stereological analysis of the uretra in sexually intact and spayed female dogs. Acta Anat 154: 135-142, 1995
- Bauer W, Briner U, Doepfner W, et al: SMS 201-995: a very potent and selective octapeptide analogue of somatostatin with prolonged action. Life Sci 31: 1133-40, 1982
- Bell GI, Reisine T: Molecular biology of somatostatin receptors. Trends in Neurosurg 16: 34-38, 1993
- Breu V, Löffler BM, Clozel M: In vitro characterization of Ro 46-2005, a novel synthetic non-peptid endothelin antagonist of ETA and ETB receptors. FEBS Lett 334: 210-214, 1993
- Caner HH, Kwan AL, Arthur A, Jeng AY, Lappe RW, Kassel NF, Lee KS: Systemic administration of an inhibitor of endothelin-converting enzyme for attenuation of cerebral vasospasm following experimental subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 85: 917-922, 1996
- Claussen D: Sandostatin (octreotide acetate). Gastroenterol Nurs 15:122-4, 1992
- Clozel M, Gray GA, Breu V, Löffler BM, Osterwalder R: The endothelin ETB receptor mediates both vasodilatation and vasoconstriction in vivo. Biochem Biophys Res Commun 186: 867-873, 1992
- Clozel M, Watanabe H: BQ-123, a peptidic endothelin ETA receptor antagonist, prevents the early cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage after intracisternal but not intravenous injection. Life Sci 52:825-34, 1993
- Cosentino F, McMahon EG, Carter JS, Katusic ZS: Effect of endothelinA-receptor antagonist BQ-123 and phosporamidon on cerebral vasospasm. J Cardiovasc Pharmacol 22(Suppl 8):S332-5, 1993
- Ehrenreich H, Kehrl JH, Anderson W, Rieckmann P, Vitkovic L, Coligan JE, Fauci AS: A vasoactive peptide, endothelin-3, is produced by and specifically binds to primary astrocytes. Brain Res 538: 54-58, 1991
- Ezzat S, Snyder PJ, Young WF, Boyajy LD, Newman C, Klibanski A, Molitch ME, Boyd AE, Sheeler L, Cook DM: Octreotide treatment of acromegaly. A randomized, multicenter study. Ann Intern Med 117: 711-8, 1992
- Fadel MM, Foley PL, Kassel NF, et al: Histidine attenuates cerebral vasospasm in a rabbit model of subarachnoid hemorrhage. Surg Neurol 43: 52-8, 1995
- Feuerstein G, Gu JL, Ohlstein EH, Barone FC, Yue TL: Peptidic endothelin-1 receptor antagonist, BQ-123, and neuroprotection. Peptides 15:467-9, 1994
- Foley PL, Caner HH, Kassel NF, Lee KS: Reversal of subarachnoid hemorrhage-induced vasoconstriction with an endothelin receptor antagonist. Neurosurgery 34: 108-12; discussion 112-3, 1994
- Fujimori A, Yanagisawa M, Saito A, Goto K, Masaki T, Mima T, Takakura K, Shigeno T: Endothelin in plasma and cerebrospinal fluid of patients with subarachnoid hemorrhage. Lancet 336: 633, 1989
- Grass P, Marbach P, Bruns C, Lancranjan I: Sandostatin LAR (microencapsulated octreotide acetate) in acromegaly: pharmacokinetic and pharmacodynamic relationships. Metabolism 45(Suppl 1):27-30, 1996
- Haley EC Jr., Kassel NF, Torner JC, et al: The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery. The North American Experience. Stroke 23: 205-214, 1992
- Harrison VJ, Randriantsoa A, Schoeffter P: Heterogeneity of endothelin-sarafotoxin receptors mediating contraction of pig coronary artery. Br J Pharmacol 105: 511-513, 1992
- Hirata Y, Yoshimi H, Takata S, Watanabe TX, Kumagai S, Nakajima K, Sakakibara S: Cellular mechanism of action by a novel vasoconstrictor endothelin in cultured rat vascular smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun 154: 868-875, 1988
- Hino A, Tokuyama Y, Kobayashi M, Yano M, Weir B, Takeda J, Wang X, Bell GI, Macdonald RL: Increased expression of endothelin B receptor mRNA following subarachnoid hemorrhage in monkeys. J Cereb Blood Flow Metab 16: 688-97, 1996
- Itoh S, Sasaki T, Asai A, Kuchino Y: Prevention of delayed vasospasm by an endothelin ETA receptor antagonist, BQ-123: change of ETA receptor mRNA expression in a canine subarachnoid hemorrhage model. J Neurosurg 81: 759-64, 1994
- Itoh S, Sasaki T, Ide K, Ishikawa K, Nishikibe M, Yano M: A novel endothelin ETA receptor antagonist, BQ-485, and its preventive effect on experimental cerebral vasospasm in dogs. Biochem Biophys Res Commun 195: 969-75, 1993
- Josko J, Hendryk S, Jedrzejowska-Szypula H, Gwozdz B, Herman ZS, Gawlik R: Influence endothelin ETA receptor antagonist--BQ-123--on changes of endothelin-1 level in plasma of rats with acute

- vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *J Physiol Pharmacol* 49: 367-75, 1998
27. Kasuya H, Weir BKA, White DM, Stefanson K: Mechanism of oxyhemoglobin induced release of endothelin-1 from cultured vascular endothelial cells and smooth muscle cells. *J Neurosurg* 79: 892-898, 1993.
 28. Katz MD, Erstad BL: Octreotide, a new somatostatin analogue. *Clin Pharm* 8: 255-73, 1989
 29. Kita T, Kubo K, Hiramatsu K, Sakaki T, Yonetani Y, Sato S, Fujimoto M, Nakashima T: Profiles of an intravenously available endothelin A-receptor antagonist, S-0139, for preventing cerebral vasospasm in a canine two-hemorrhage model. *Life Sci* 63: 305-15, 1998
 30. Kwan AL, Bavbek M, Jeng AY, Maniara W, Toyoda T, Lappe RW, Kassell NF, Lee KS: Prevention and reversal of cerebral vasospasm by an endothelin-converting enzyme inhibitor, CGS 26303, in an experimental model of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 87: 281-6, 1997
 31. Kwan AL, Bavbek M, Jeng AY, Toyoda T, Kassell NF, Lee KS: Attenuation of experimental subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm by CGS 26303, an endothelin-converting enzyme inhibitor. *J Cardiovasc Pharmacol* 31 (Suppl 1): 320-2, 1998
 32. Lamberts SWJ, Krenning EP, Reubi JC: The role of somatostatin and its analogs in the diagnosis and treatment of tumors. *Endocr Rev* 12: 450-482, 1991
 33. Lamberts SWJ, Lely AJ, Herder WW, Hofland LJ: Octreotide. *The New Engl J of Med* 334: 246-254, 1996
 34. Lee ME, de la Monte SM, Ng SC, Bloch DB, Quertermous T: Expression of the potent vasoconstrictor endothelin in the human central nervous system. *J Clin Invest* 86: 141-147, 1990
 35. Lokich J: Carcinoid tumor regression with high-dose octreotide acetate: a patient report. *Am J Clin Oncol* 21: 246-7, 1998
 36. Matsumura Y, Ikegawa R, Tsukahara Y, Takaoka M, Morimoto S: Conversion of big endothelin-1 to endothelin-1 by two types of metalloproteases derived from porcine aortic endothelial cells. *FEBS Lett* 272: 166-170, 1990
 37. Mayberg MR: Intracranial arterial spasm. In Wilkins RH (ed.) *Neurosurgery* (2nd ed). Vol. 2. McGraw-Hill Co., 1996, 2245-2254
 38. Mima T, Mostafa MG, Mori K: Therapeutic dose and timing of administration of RNA synthesis inhibitors for preventing cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 70:65-7, 1997
 39. Moreland S, McMullen DM, Delaney CL, Lee VG, Hunt JT: Venous smooth muscle contains vasoconstrictor ET-B-like receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 184: 100-106, 1992
 40. Naylor WG. Endothelin : Isoforms, binding sites, and possible implication in pathology. *Trends Pharmacol Sci* 11: 96-99, 1990
 41. Newman CB, Melmed S, Snyder PJ, Young WF, Boyajy LD, Levy R, Stewart WN, Klibanski A, Molitch ME, Gagel RF: Safety and efficacy of long-term octreotide therapy of acromegaly: results of a multicenter trial in 103 patients—a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 2768-75, 1995
 42. Nirei H, Hamada K, Shoubo M, Sogabe K, Notsu Y, Ono T: An endothelin ETA receptor antagonist, FR139317, ameliorates cerebral vasospasm in dogs. *Life Sci* 52: 1869-74, 1993
 43. Ohlstein EH, Storer BL: Oxyhemoglobin stimulation of endothelin production in cultured endothelial cells. *J Neurosurg* 77: 274-8, 1992
 44. Onoda K, Ono S, Ogihara K, Shiota T, Asari S, Ohmoto T, Ninomiya Y: Inhibition of vascular contraction by intracisternal administration of preproendothelin-1 mRNA antisense oligoDNA in a rat experimental vasospasm model. *J Neurosurg* 85: 846-52, 1996
 45. Patel PC, Barrie R, Hill N, Landeck S, Kurozawa D, Woltering EA: Postreceptor signal transduction mechanisms involved in octreotide-induced inhibition of angiogenesis. *Surgery* 116: 1148-52, 1994
 46. Patel PC, Srikant CB: Subtype selectivity of peptide analogs for five cloned human somatostatin receptors (hsstr 1-5). *Endocrinol* 135: 2814-7, 1994
 47. Petrelli NJ, Rodriguez-Bigas M, Rustum Y, Herrera L, Creaven P: Bowel rest, intravenous hydration, and continuous high-dose infusion of octreotide acetate for the treatment of chemotherapy-induced diarrhea in patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 72: 1543-6, 1993
 48. Reichlin S: Somatostatin. *N Eng J Med* 309: 1495-1563, 1983
 49. Reubi JC, Kvols L, Krenning E, Lamberts SWJ: Distribution of somatostatin receptors in normal and tumor tissue. *Metabolism* 39 (suppl 2): 78-81, 1990
 50. Roux S, Breu V, Giller T, Neidhart W, Ramuz H, Coassolo P, Clozel JP, Clozel M: Ro 61-1790, a new hydrosoluble endothelin antagonist: general pharmacology and effects on experimental cerebral vasospasm. *J Pharmacol Exp Ther* 283: 1110-8, 1997.
 51. Royet JP: Stereology: A method for analyzing images. *Progress in Neurobiology* 37: 433-474, 1991
 52. Rubin J, Ajani J, Schirmer W, Venook AP, Bukowski R, Pommier R, Saltz L, Dandona P, Anthony L: Octreotide acetate long-acting formulation versus open-label subcutaneous octreotide acetate in malignant carcinoid syndrome. *J Clin Oncol* 17: 600-6, 1999
 53. Saida K, Mitsui Y, Ishida N: A Novel peptide, vasoactive intestinal peptide, vasoactive intestinal contractor of a new (endothelin) peptide family: molecular cloning, expression, and biological activity. *J Biol Chem* 264: 14613-14616, 1989
 54. Sato S, Yonetani Y, Fujimoto M, Kita T, Kubo K, Nakashima T: Effects of an endothelin ET(A)-receptor antagonist, S-0139, on cerebral vasospasm and behavioral changes in dogs intracisternally administered endothelin-1. *Life Sci* 62: 191-7, 1998
 55. Schini VB, Hendrickson H, Heublein DM: Thrombin enhances the release of endothelin from porcine aortic

- endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 165: 333-334, 1989
56. Schonfeld WH, Eikin EP, Woltering EA, Modlin IM, Anthony L, Villa KF, Zagari M: The cost-effectiveness of octreotide acetate in the treatment of carcinoid syndrome and VIPoma. *Int J Technol Assess Health Care* 14: 514-25, 1998
 57. Shigeno T, Mima T, Yanagisawa M, Saito A, Goto K, Yamashita K, Takenouchi T, Matsuura N, Yamasaki Y, Yamada K, Masaki T, Takakura K: Prevention of cerebral vasospasm by actinomycin D. *J Neurosurg* 74: 940-943, 1991
 58. Shinyama H, Uchida T, Kido H, Hayashi K, Watanabe M, Matsumura Y, Ikegawa R, Takaoka M, Morimoto S: Phosphoramidon inhibits the conversion of intracisternally administered big endothelin-1 to endothelin-1. *J Neurosurg* 85: 917-22, 1996
 59. Sobey CG, Faraci FM: Subarachnoid haemorrhage: what happens to the cerebral arteries? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 25: 867-76, 1998
 60. Stumpf JL, Mitrzyk B: Management of orthostatic hypotension. *Am J Hosp Pharm* 51: 648-60; quiz 697-8, 1994
 61. Takaoka M, Takenobu Y, Miyata Y, Ikegawa R, Matsumura Y, Morimoto S: Pepsin an aspartic protease, converts porcine big endothelin to 21 residue endothelin. *Biochem Biophys Res Commun* 166: 436-442, 1990
 62. Tatlisumak T, Carano RA, Takano K, Opgenorth TJ, Sotak CH, Fisher M: A novel endothelin antagonist, A-127722, attenuates ischemic lesion size in rats with temporary middle cerebral artery occlusion: a diffusion and perfusion MRI study. *Stroke* 29: 850-7; discussion 857-8, 1998
 63. Teerlink JR, Breu V, Sprecher U, Clozel M, Clozel JP: Potent vasoconstriction mediated by endothelin ET-B receptor in canine coronary arteries. *Circ Res* 74: 105-114, 1994
 64. Todisco A, Seva C, Takeuchi Y, Dickinson CJ, Yamada T: Somatostatin inhibits AP-1 function via multiple protein phosphatases. *Am J Physiol* 269: 160-6, 1995
 65. Tulassay Z, Dobronte Z, Pronai L, Zagoni T, Juhasz L: Octreotide in the prevention of pancreatic injury associated with endoscopic cholangiopancreatography. *Aliment Pharmacol Ther* 12: 1109-12, 1998
 66. Van Dam J, Catalano MF, Ferguson DR, Barnes DS, Zuccaro G Jr, Sivak MV Jr: A prospective, double-blind trial of somatostatin analog (octreotide) versus glucagon for the inhibition of small intestinal motility during endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Gastrointest Endosc* 42: 321-4, 1995
 67. Vatter H, Schilling L, Schmiedek P, Ehrenreich H: Evidence for functional endothelin-converting enzyme activity in isolated rat basilar artery: effect of inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 31 (Suppl 1): 64-7, 1998
 68. Von Schonfeld J, Meisse F, Muller MK: Rat pancreas after long term treatment with the somatostatin analogue octreotide. *Experimental Physiology* 80: 1031-8, 1995
 69. Wanebo JE, Arthur AS, Louis HG, West K, Kassell NF, Lee KS, Helm GA: Systemic administration of the endothelin-A receptor antagonist TBC 11251 attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage: dose study and review of endothelin-based therapies in the literature on cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 43: 1409-17; discussion 1417-8, 1998
 70. Williams DL, Jones KL, Pettibone DJ, Lis EV, Clineschmidt BV: Sarafotoxin S6c: An agonist which distinguishes between endothelin receptor subtypes. *Biochem Biophys Res Commun* 175: 556-561, 1991
 71. Wilkins RH: Attempts at prevention or treatment of intracranial arterial spasm: an update. *Neurosurg* 18: 808-825, 1986
 72. Wilkins RH: Cerebral vasospasm. *Contemp Neurosurg* 10: 1-66, 1988
 73. Yamaura I, Tani E, Maeda Y, Minami N, Shindo H: Endothelin-1 of canine basilar artery. *J Neurosurg* 76: 99-105, 1992
 74. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kabayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by the vascular endothelial cells. *Nature* 332: 411-415, 1988
 75. Yanagisawa M, Masaki T: Molecular biology and biochemistry of the endothelins. *Trends Pharmacol Sci* 10: 374-378, 1989
 76. Yoshizumi M, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, Yazaki Y: Interleukin 1 increases the production of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 166: 324-329, 1990
 77. Zimmermann M, Seifert V: Endothelin and subarachnoid hemorrhage: an overview. *Neurosurgery* 43: 863-75, 1998
 78. Zimmermann M, Seifert V: Prevention of cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage by the endothelin receptor antagonist RO 47-0203. *Zentralbl Neurochir* 57: 143-9, 1996
 79. Zuccarello M, Boccaletti R, Romano A, Rapoport RM: Endothelin B receptor antagonists attenuate subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *Stroke* 29: 1924-9, 1998
 80. Zuccarello M, Soattin GB, Lewis AI, Breu V, Hallak H, Rapoport RM: Prevention of subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm by oral administration of endothelin receptor antagonists. *J Neurosurg* 84: 503-7, 1996