

## ARAŞTIRMA MAKALESİ/RESEARCH ARTICLE

# DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMA SONRASI VAZOSPAZMDA SPERMIN/NİTRİK OKSİD KOMPLEKSİN İNTRAAROTİD İNFÜZYONU

O. Fikret SÖNMEZ<sup>1</sup>, Bünyamin ÜNAL<sup>2,4</sup>, Serap S. İNALÖZ<sup>2</sup>  
Ayhan ERALP<sup>2</sup>, Abdullah AYDIN<sup>3</sup>, Mehmet YÜNCÜ<sup>2</sup>

### ÖZ

Subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazm hemen herzaman kan damarı otoregülasyonu bozukluğuna yol açar. Bu çalışmada, uzun süreli intrakarotid Spermin Nitrik Oksid Kompleksin (SPER/NO) infüzyonunun deneysel subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazmın tedavisinde etkisi araştırıldı.

Çalışmada, 24 tavşan biri kontrol olmak üzere, dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu tavşanlarında sistemik ve karotis basınç ölçümleri yapıldı ve basiller arter duvarı histopatolojik olarak incelendi. Deneysel grubu tavşanların tümüne, deneysel subaraknoid kanama yaratmak için otolog femoral arteriyel kan sisterna magnaya verildi. İkinci deney grubu tavşanlarda sadece deneysel SAK oluşturuldu. Üçüncü deney grubu tavşanlarına SAK sonrası serum fizyolojik verilmesine rağmen dördüncü deneysel grubu tavşanlarına SPER/NO intrakarotid olarak verildi. İkinci deney grubu tavşanlarda, serebral baziller arterde belirgin bir histolog dejenerasyon gözlemlendi ve artmış serebral perfüzyon basıncı saptandı. Benzer bulgular üçüncü deney grubu tavşanlarında da gözlenip, ikinci ve üçüncü deney grubu tavşanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ). Ancak, dördüncü deney grubu tavşanlarda arteriel yapılar histolojik olarak korunmuştu. Dördüncü grup ile diğer deneysel gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olan düşük karotid arteriyel basıncı bulundu ( $p<0.01$ ).

Bu çalışmada, ikinci deney grubu ile kontrol grubu arasında karşılaştırılma yapıldığında, karotid arteriyel basınçta bir artış olduğu saptandı (38.9%). Buna ek olarak, SPER/NO verilmesinin karotid arteriel basıncını azalttığı saptandı (47%).

Tek doz intrakarotid SPER/NO infüzyonu daha önce literatürde araştırılmamıştır. Bu tedavinin, SAK sonrası gelişen vazospazmın engellenmesinde serebral damar basıncını düşürerek etkili olabileceğini sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Subaraknoid kanama, Vazospazm, Vazodilatör, Spermin/nitrik oksid kompleks.

## INTRACAROTID INFUSION OF SPERMINE/NITRIC OXIDE IN EXPERIMENTAL VASOSPASM AFTER SUBARACHNOID HEMORRHAGE

### ABSTRACT

Vasospasm following subarachnoidal hemorrhage (SAH) always leads to impairment of the blood vessel auto-regulation. In this study, the effect of long-term intracarotid infusion of "spermine/nitric oxide (SPER/NO)" was investigated in the treatment of vasospasm following experimental subarachnoidal hemorrhage.

Twenty-four rabbits were separated into one control and three experimental groups. The control group of rabbits were subjected to systemic and carotid arterial measurements and a histopathological examination of the basilar artery were performed. In all experimental rabbits, an autologous femoral arterial blood was injected slowly into the cisterna magna in order to create an experimental SAH. The second experimental group of rabbits were subjected only to experimental SAH. The third experimental group of rabbits were given saline following SAH whereas

<sup>1</sup> Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı, Gaziantep.

<sup>2</sup> Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.

<sup>3</sup> Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.

<sup>4</sup> Tel: 0 (342) 360 12 00 - 3503; Faks: 0 (342) 360 16 17; E-posta: bunyaminal@hotmail.com

Geliş: 19 Eylül 2000; Düzeltme: 23 Kasım 2000; Kabul: 31 Ocak 2001.

the fourth experimental group of rabbits were administered SPER/NO intracarotidly. In the second experimental group of rabbits, a striking histopathological degeneration was observed within the cerebral basilar artery and an increased cerebral perfusion pressure was noted. Similar findings were also observed in the third experimental group of rabbits in which a statistically significant difference was not found between the second and third experimental groups of rabbits ( $p>0.05$ ). However, arterial structures were preserved histologically in the fourth experimental group of rabbits. A statistically significant lower carotid arterial pressure was found between fourth and other experimental groups ( $p<0.01$ ).

In this study, an increment in the carotid arterial pressure was noted in the second experimental group compared to the control group (38.9%). Moreover, SPER/NO administration was found to decrease the carotid arterial pressure (47%).

The single dose intracarotid infusion of SPER/NO has not been investigated previously in the literature. We conclude that this treatment could be effective in the prevention of vasospasm following SAH by decreasing cerebral vessel pressure and regulating blood flow.

**Key Words:** Subarachnoid hemorrhage, Vasospasm, Vasodilator, Spermine/Nitric oxide complex.

## 1. GİRİŞ

Subaraknoid kanama (SAK) sonrası gelişen vazospazm, nöroşirürjiyenler için tedavisi güç bir komplikasyondur. Serebral vazospazm insidansı anjiyografik olarak %50-66, semptomatik olarak da %30-40 civarındadır. Bütün tedavi protokollerine rağmen, %15'lik morbidite ve mortaliteye sahiptir (Mayberg, 1998). SAK sonucu gelişen vazospazmın etiopatogenezinde birçok mekanizma suçlanmaktadır (Alabadi vd. 1997; Macdonald ve Weir, 1991; Rise ve Kirbeby, 1992). Etkin bir tedavinin olmaması, bu konudaki araştırmaların devam etmesini sağlamaktadır.

Endotelial doku, vasküler tonusun ayarlanmasında önemli bir etkidir (Hino vd. 1996). Damar duvarı düz kasında, vazodilatasyonu sağlayan endotelial kaynaklı gevşetici faktörün (Endothelium-derived relaxing factor =EDRF), nitrik oksid (NO) veya onun bir metaboliti olduğu bildirilmektedir (Wolf vd. 1998). NO, organizmanın çeşitli yerlerinde gördüğü fonksiyonların yarısına önemli bir endojen vazodilatatördür (Kwan vd. 1998, Nakao vd. 1996, Ohta vd. 1997). Günümüzde NO'nun, vücudun bir çok yerinde gördüğü önemli fonksiyonlar ve işlevini bozan hastalıklar bilinmektedir. Önceden kardiovasküler sistem hastalıklarında kullanılan nitrovazodilatatörler ve diğer nitratlar, henüz deneysel aşamada olmasına rağmen, başka sistem patolojilerinde de kullanılmaya başlanmıştır (Afshar vd. 1995, Bayındır vd. 1996, Kowaluk vd. 1992, Marangoz, 1996).

NO; lipofilik, kimyasal stabilitesi olmayan, reseptörlerden bağımsız diffüze olabilen ve bilinen en düşük molekül ağırlıklı biyoaktif hücre sekresyon ürünüdür. Sağlam damar endoteli de, bazal bir seviyede sürekli olarak EDRF/NO oluşturmaktadır (Bayındır vd. 1996, Faraci ve Brian 1994, Hino vd. 1996, Miranda vd. 1996, Ohta vd. 1997, Pluta vd. 1997). Fizyolojik bir stimülüs veya agonist bir etki ile bu yanıt artırılabilen ve intrasellüler kalsiyum artışına paralel, nitrik oksit

sentetaz aktive olarak, L-argininden NO sentezlenmektedir. Oluşan NO, endotel hücrelerinden düz kaslara diffüzyonla geçerek guanilat siklaz ve siklik guanozin monofosfatı artırarak vazodilatasyona neden olmaktadır (Kwan vd.1998, Nakao vd. 1996, Ohta vd. 1997).

SAK sonrası histopatolojik çalışmalarda, bu sistemin özellikle EDRF'nin yapım ve salınım azalmasına bağlı bozulduğu ve bunun vazospazm patogenezinde önemli bir etken olduğu belirtilmektedir (Hino vd. 1996). Ortaya çıkan patolojinin ana sebebi olarak, kanama sonrası subaraknoid mesafede hemolize olan eritrositlerden açığa çıkan oksihemoglobin (OxyHb) gösterilmektedir (Macdonald ve Weir 1991, Suzuki vd. 1997, Wolf vd. 1998). Oksihemoglobin ve çeşitli metabolitleri, NO ile reaksiyona girerek, dokuda bulunan NO'nun hem bazal seviyesini azaltmakta, hemde fonksiyon yapamaz duruma gelmesine sebep olmaktadır (Macdonald ve Weir 1991, Suzuki vd. 1997). SAK sonrası gelişen vazospazmda, NO replasman tedavisi halen deneysel çalışmalarla yürütülmektedir (Afshar vd. 1995, Boock vd. 1996, Pluta vd. 1997, Thomas ve Rosenwasser 1999, Wolf vd. 1998). Belli bir ilaç ve uygulama şekli ile ilgili kesin kurallar mevcut değildir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, in-vivo şartlarda kinetik davranışları önceden tahmin edilebilen NO donörleriyle tekrarlanan dozlarla yapılan uygulamalarda, başarılı sonuçlar bildirilmektedir (Pluta vd. 1997).

NO'in çeşitli metabolitlere bağlanarak bazal seviyesinin azalması veya oluşumunun çeşitli nedenlerle gerçekleşmemesi (Edwards vd. 1992, Faraci ve Brian 1994, Hino vd. 1996, Kajita vd. 1998, Kasuya vd. 1995, Miranda vd. 1996, Ohta vd. 1997, Onoue vd. 1998, Pluta vd. 1997) hipotezine dayanarak, bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan SAK sonrası serebral vazospazmın tedavisinde, yarılanma ömrü uzun, zwitteriyonik yapısı ile non-enzimatik saf NO vericisi Spermin/Nitrik oksid kompleksi (SPER/NO) (Diodati vd. 1993, Hrabie

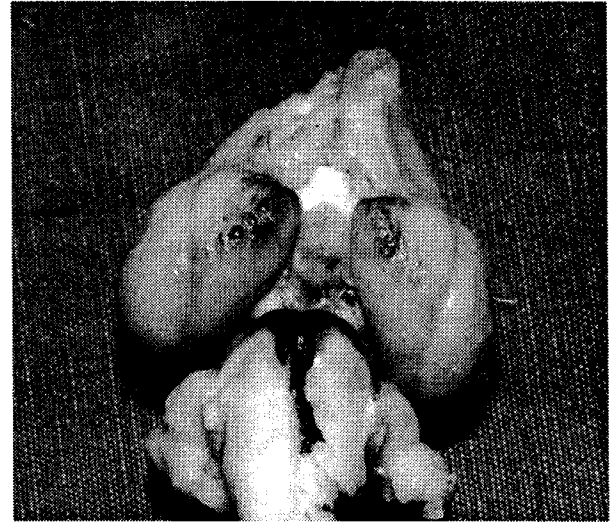
vd. 1993, Maragos vd. 1991), deneklere intrakarotid infüzyonla tek doz vererek uygulamanın etkinliğini; karotis arter yansıyan basıncı /sistemik basınç ve SAK sonrası vazospazmdan direkt etkilenen baziller arter duvarının histopatolojik yapısı incelenerek değerlendirildi.

## 2. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, 7-8 aylık, ağırlıkları 2.6-3.4 kg arasında değişen, erkek 24 adet Yeni Zellanda tipi tavşan rastlantısal dört eşit gruba bölünerek, numaralandırıldı. 1. Grup; kontrol grubu olarak, 2. grup; SAK, 3. grup; Plasebo ve 4. grup; ilaç grubu olarak çalışıldı. 2., 3. ve 4. gruplardaki denekler, 8 mg/kg xylazine (Rompun ampul, Bayer) ve eter ile uyutulduktan sonra, prone pozisyona alındı ve suboksipital bölgeleri traş edildi. %10 povidon-iyot (Betadin solüsyon, Kansuk) ile müdahale sahasının cildi temizlendi. Suboksipital bölgeden, 23 numara kelebek set (Bıçakçılar ®) ile perkütan ilerlenerek, subaraknoid kanama oluşturulacak deneğin sisterna magnası bulundu. Bir miktar BOS gelişinden sonra, 0.7 ml/kg femoral yolla alınan nonheparinize otolog arterial kan, 2 dakika içerisinde yavaş infüzyon ile sisterna magnaya verildi. Sonra kanın sisternalara dağılılabilmesi için, denekler 5-10 dakika 45° transvers pozisyonunda bekletildi.

SAK oluşturulduğu gün, sıfırıncı gün kabul edildi. 48 saat sonra bütün denekler (1., 2., 3. ve 4. grup) ameliyat masasına alınarak, 4mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar ampul, Eczacıbaşı) ve 8mg/kg xylazine (Rompun ampul, Bayer) intramusküler (I.M.) verilerek, anestezi sağlandı. Yapılan bu işlemlerle eş zamanlı olarak yerleştirilen rektal termometre kontrolünde, blanket ile vücut ısılarının 36-37.5°C arasında olması sağlandı. Cerrahi işlem öncesi profilaktik amaçlı 25mg/kg tek doz cephalthin (Keflin flakon, Lilly) I.M. olarak uygulandı. İntravenöz (I.V.) mayii replasmanı için kulaktan 1/3 serum fizyolojik (SF) (Eczacıbaşı-Baxter) takıldı. Supine pozisyonunda, transservikal-transklival yaklaşım ve femoral artere kateter uygulaması için boyun ve sağ inguinal sahalar traş edildi. Ardından, cerrahi sahaların %10 povidon-iyot ile cild temizliği yapıldı. Sağ femoral artere polietilen kateter (Portex No:18,UK) yerleştirilerek, kateterin sağ Common karotis artere ulaşması sağlandı.

Kateter yerleştirilmesi dışında, başka bir işlem yapılmayan 1. gruptaki (kontrol grubu) hayvanlar ile deneysel subaraknoid kanama oluşturulan 2. grubdaki hayvanların karotis arter ve sistemik kan basınçları 1 dakika süreyle ölçüldükten hemen sonra, perfüzyonla fiksasyonla öldürüldüler. Üçüncü grubtaki deneklere (plasebo grubu), serum fizyolojik (kateter vasıtasıyla 30 ml 1/3 SF 30 dakikada), 4. grubtakilere (ilaç grubu) ise, SPER/NO (kateter vasıtasıyla 325.2 mg/kg spermin/NO kompleksi 30 dakikada) verilip, karotis arter ve sis-



**Resim 1. Sisterna Magnaya Otolog Arteriyal Kan Verilerek Subaraknoid Kanama Oluşturulan Denekte, Perfüzyon ile Fiksasyon Sonrası antero-posterior Pozisyonda Baziller Arter ve Çevresinin Görünümü.**

temik kan basınçları aynı yolla ölçüldükten 24 saat sonra perfüzyonla fiksasyonla öldürüldüler.

Perfüzyon işlemi önce toraks bölgesi açılarak, sol ventrikül kanüle edilip heparinize edildi. Sonra sağ aurikulanın küçük bir insizyonla açılmasıyla eş zamanlı olarak, inen aorta klemplendi. Yapılan bu uygulamanın ardından, vasküler sistemin yıkanması için sol ventriküle girilen bir kanül yardımıyla, önce 300 ml'lik Hanks' dengeli tuz solüsyonu (Sigma pH: 7.4) verildi. Sonra 500 ml %1'lik paraformaldehit ve %1.5'lik glutaraldehit solüsyonu ile perfüzyon yapılarak, fiksasyon işlemi tamamlandı. Beyin dokusunu alabilmek için, kranial boşluğa servikal 2. ve 1. vertebra hizasında laminektomi yapıldı, sonra foramen magnum arkasından ilerlenerek total kraniektomi oluşturuldu. Frontal lob antero-inferiorundan ilerlenerek optik sinirler ve kiazma eksize edilip, nervus vestibulokohlearis beyin dokusuna en yakın noktadan ve medulla spinalis 2. servikal vertebra hizasından mikromakasla kesilerek, beyin dokusu damar yapılarıyla birlikte çıkartıldı (Resim 1). Alınan doku, perfüzyon için kullanılan fiksatif içine bırakılarak, + 4 derecede, 48 saat bekletilip, tesbit edildi. Alkol takibi yapılan dokular, 7 mikronluk kesitler hazırlanmak üzere parafin bloklara gömüldü.

### 2.1. Araştırma İlacı ve Uygulama Şekli

Bu çalışmada, patenti National Institutes of Health'a ait (US patent 5,155,137) zwitteriyon poliamin derivelerinden spermin/nitrik oksit kompleksinin (SPER/NO, N-(2-Aminoethyl)-N-(2-Hydroxy-2-Nitrosohydrazino)-1,2-Ethylenediamine), 25mg solubl solüsyonu (37 °C de fosfat tamponlu pH 7.4) kullanıldı. Bu madde; saf NO verici olması, enzimatik bir yol iste-

memesi, yarılanma ömrünün uzun (30 dakika) olması, saklama kolaylığı ve vücut ısılarında NO salıvermesi sebebiyle seçildi. SPER/NO doz skalası, Maragos vd. (1991) tarafından belirtilen kanda EC<sub>50</sub> dozu, 6.2 mikromole ulaşabilmek için 325.2 mikrogram madde, 1 ml SF içinde çözülerek hazırlandı ve çözelti tavşanların ağırlıkları göz önüne alınarak uygulandı.

Plasebo ve ilaç gruplarında long-term (uzun süreli) infüzyon uygulaması için, Flo-Gard 6201 (Eczacıbaşı-Baxter) marka infüzyon pompası kullanıldı. Plasebo grubunda, 30 ml SF 30 dakikada intrakarotid polietilen kateterden verildi. İlaç grubuna ise, 0.33 ml/Kg SPER/NO (325.2 mmol/ ml) 30 ml ye tamamlanarak, 30 dakikada intrakarotid yolla gönderildi.

## 2.2. Sistemik ve Karotis Arter Basınçlarının Ölçülmesi

Serebral kan akımı, kan basıncı ile serebral damar yatağı direncine bağlıdır. Buna göre "Serebral Kan Akımı = Serebral Perfüzyon Basıncı / Serebral Vasküler Direnç" formülünden yararlanılarak bulunur. SAK sonrası gelişen vazospazmda, serebral vasküler direnç artacağından akım düşecektir. Perfüzyon akımını normal seviyede tutabilmek için, basıncın artması gerekmektedir. Yaptığımız çalışmada, yerleştirilen kateter ucuna taktığımız bir osilograf (Universal oscillograph, Harvard) ile karotid arterdeki kan basıncını bir dakika süreyle kaydettik. Sonra katater geri çekilerek, ucu femoral artere getirilmek suretiyle sistemik kan basınçlarını ölçtük.

Gruplar arasındaki istatistiki değerlendirmeler, Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar, Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

## 2.3. Damar Duvarının Histopatolojik Yönden İncelenmesi

DeneySEL SAK sonrası ortaya çıkan vazospazmın arteria bazillaris duvar ve lümenindeki değişiklikleri, tüm gruplarda ışık mikroskobu (Zeiss Axiophot, Japan) düzeyinde x100, x200, x400 büyütmelerde değerlendirildi.

## 3. SONUÇLAR

### A. Klinik gözlemler

SAK oluşturulan 2. grup, plasebo grubu (3.grup) ve SPER/NO tedavisi yapılan 4. grup arasında, deneklerin apatik olmaları dışında, focal nörolojik defisit tespit edilmedi. Postoperatif takip edilen tavşanların hiçbirinde enfeksiyon gözlenmedi.

### B. Karotis ve Sistemik Arterde Ölçülen Basınç Değerleri ve Diğer Fizyolojik Parametreler

Deneklerin arteriyel kan gazı ve pH ölçümleri, normal fizyolojik sınırlar içinde idi (pH:7.35-7.45, pO<sub>2</sub>: 85-110 mmHg, pCO<sub>2</sub>: 33-40 mmHg, rektal ısı: 36.5-37.5°C).

Karotise yerleştirilen kateter ve femoral arterden ölçülen kan basınçlarının ortalama değerleri, Tablo-1'de verilmiştir. Karotis basınçları açısından normal grupla, SAK grubu arasında anlamlı farklılık vardı (p<0.01). Bu sonuç deneyimizde, oluşturulan vazospazmın beyin damarsal direncini belirgin ölçüde artırdığımızı (~ % 38.9) göstermektedir. Yine SAK grubu ile SPER/NO grubunda anlamlı farklılık bulundu (p<0.01). Plasebo ile SAK grubu arasında anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05). SPER/NO ile plasebo arasında anlamlı farklılığın olması (p<0.01), ilacın etkin olduğunu göstermektedir.

SPER/NO, karotis damar direncini düşürmesi açısından deney verileri baz alındığında, normal deneklerde % 16.62 oranında, SAK sonrası vazospazm oluşmuş damarda ise, % 47 oranında direnci azaltmaktadır.

SAK grubundaki sistemik arter basıncı kontrol grubuna göre artmıştı (p<0.01). Fakat tüm gruplarda sistemik arter basıncı, normal fizyolojik sınırlar içindeydi. Ancak SPER/NO grubundaki sistemik arter basıncı, kontrol grubundakinden %16.38 oranında daha düşüktü (p<0.01). Bu son sonuç, SPER/NO'nun intrakarotid infüzyon ile verilmesinde, % 16 civarında hipotansif etkisi olacağını göstermiştir.

Tablo 1. Grupların Karotis Yansıyan Basınç ve Sistemik Arteriyel Basınç Ortalamaları.

GRUPLAR	Karotis Yansıyan Basınç Ortalamaları ± SD (mmHg)	Sistemik Arteriyel Basınç Ortalamaları ± SD (mmHg)
KONTROL GRUBU (n=6)	60.17±5.70	96.67±7.53
SAK GRUBU (n=6)	83.58±5.20	108.33±6.83
PLASEBO GRUBU (n=6)	78.50±3.51	104.17±5.85
SPER/NO GRUBU (n=6)	50.17±5.38	80.83±3.76

### C. Işık Mikroskobu Bulguları

Kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda, deneklerin sisternalarında kan elemanları gözlemlendi. Kontrol grubu baziller arter lümenlerinin, diğer gruplardan geniş ve endotel tabakasının düzenli olduğu, internal elastik laminanın arter lümenini çevrelediği gözlemlendi. Media ve adventisya tabakaları normal görünümdeydi (Resim 2a).

SAK grubunda, endotel tabakada belirgin distorsiyon, internal elastik laminada belirgin konvolusyon (kıvrılma), tunika mediada düz kas hipertrofisi ve adventisyada mononükleer hücre artışı görüldü (Resim 2b).

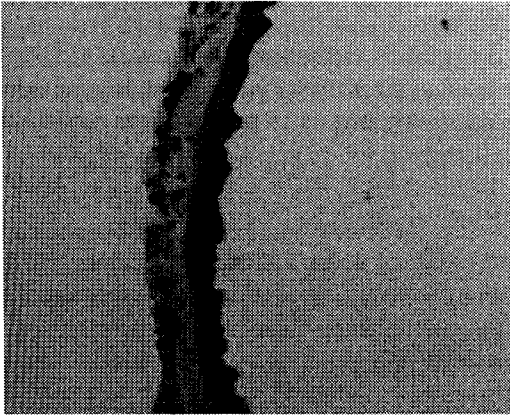
Plasebo grubunda, endotelde bir miktar distorsiyon, internal elastik laminada belli oranda konvolusyon artışı, mediada düz kas hipertrofisi görüldü. Bu gruptaki histopatolojik bulgular, SAK grubundakilere benzemektedir (Resim 2c).

SPER/NO uygulanan gruptaki histopatolojik bulgular, diğer iki gruba göre daha azdı. Endoteldeki distorsiyon ve internal elastik laminadaki konvolusyon oldukça azalmıştı. Mediadaki hipertrofi ve adventisyal mononükleer hücre artışı çok azdı (Resim 2d).

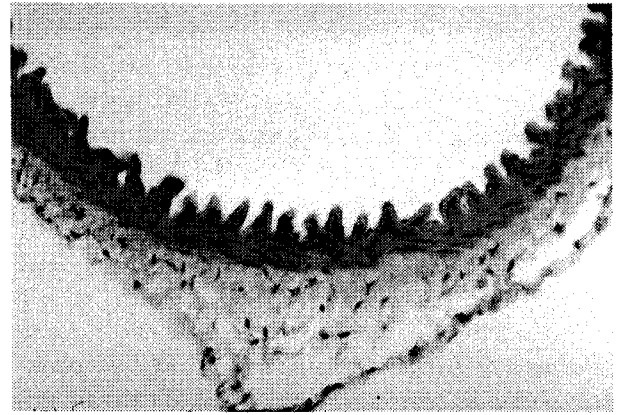
### 4. TARTIŞMA

Bir çok vazodilatatör, SAK sonrası ortaya çıkan gecikmiş serebrovasküler vazospazmın geri döndürülmesi veya önlenmesi için kullanılmıştır. Deneysel çalışmalarda elde edilen olumlu sonuçlara rağmen, kullanılan ilaçların hiçbirini klinik uygulamalarda hastalara önemli bir fayda sağlamamıştır. Bunun nedenlerinden en önemlisi, kullanılan vazodilatatörlerin kontrolü zor bir sistemik hipotansiyona sebep olmasıdır. SAK sonrası serebral damarların vazospazmı sırasında arterlerin otonom regülasyon mekanizmaları bozulmakta ve her hangi bir sistemik hipotansiyon, özellikle spastik damarların dağılım bölgelerinde iskemik ataklara sebep olabilmektedir (Egemen vd. 1993, Mayberg, 1998).

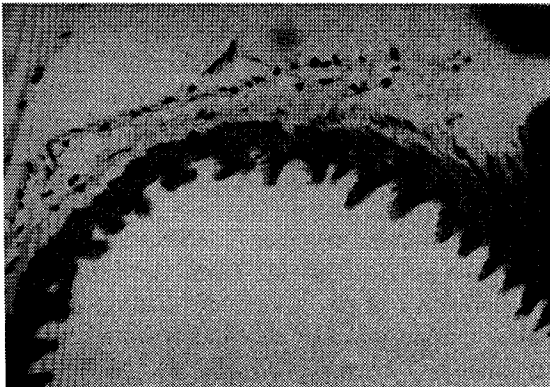
NO, vasküler dilatasyonun en önemli ayarlayıcısı olarak kabul edilmektedir (Faraci ve Brian 1994). NO'nun devamlı bazal bir seviyede salındığı ve bu maddenin vasküler tonusu düzenlediği fare, sıçan ve kemiricilerde yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (Wolf vd. 1998). Vazospazmın NO seviyesinin veya onun üretiminin azalmasından kaynaklandığı iddia edilmektedir (Faraci ve Brian, 1994, Goadsby vd. 1992, Hilton vd. 1993). McDonald ve Weir (1991), SAK son-



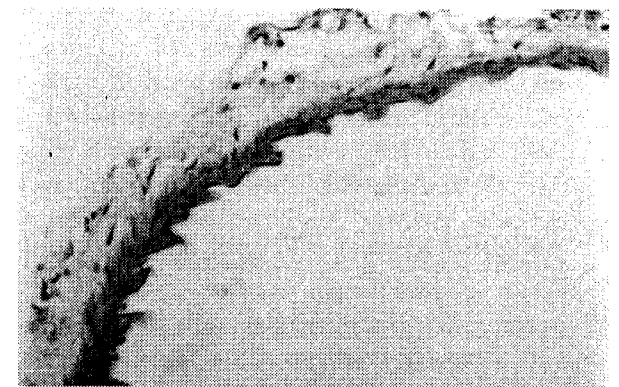
2a



2b



2c



2d

Resim 2. a. Kontrol grubu deneklerde baziller arter duvarının görünümü, b. SAK grubu deneklerde basiller arter duvarı, c. Plasebo grubu deneklerin baziller arter duvarı, d. SPER/NO ile tedavi edilen deneklerin baziller arter duvarı (H&E, x400).

rasında parçalanan eritrositlerin yıkım ürünü olan oksihemoglobinin, putative bir spazmojen olduğunu göstermişlerdir. Endotelden salınan NO direkt olarak oksihemoglobinle reaksiyona girerek, methemoglobin ve nitrat formuna dönüşüp, vazodilatasyon aktivitesi ortadan kalkmaktadır. Başka bir ifadeyle, SAK'da ortaya çıkan vazoaaktif maddelerin etkilediği endotelial dokudaki EDRF sistemi, görevini tam olarak yerine getirememektedir (Wolf vd.1998). Vazospazmda dokuya verilecek NO prekürsörünün aktivitesi sınırlı olduğundan, tedaviye erken dönemde başlamak gerekmektedir (Morikawa vd. 1994). Nitekim bir çok araştırmacı, nitrogliserin ve nitroprusid gibi NO prekürsörlerini kullanarak deneysel vazospazmı geri döndürmeye çalışmışlardır da, ilaçların periferik vasküler tonusu düşürmesi ve kinetik özelliklerinden dolayı, çalışmaların başarısı sınırlı kalmıştır (Bavbek ve Caner 1998, Bavbek vd. 1997, Faraci ve Brian, 1994).

SAK sonucu azalan EDRF'nin NO ile aktiflenerek vasküler regülasyonun tekrar kazanılması, bir tedavi metodu olarak düşünülmüştür. Bu tedavi vazodilatasyonun sağlanması yanında, vazospazmın gelişmesinde etkin olduğu belirtilen bazı mekanizmaları da (artmış trombosit agregasyonu ve lökosit adezyonu, vazopresin ve nöronal uyarının inhibisyonu), ters yönde etkilemesiyle diğer tedavi planlarına göre üstünlük sağlamaktadır (Faraci ve Brian, 1994, Nakao vd. 1996, Rosenblum, 1992).

Saf NO salıveren, nonenzimatik NO donörlerinin SAK'ta kullanımı hakkında şu ana kadar çok az çalışma rapor edilmiş olup, NO donörü olarak diethylamine-NO, proly-NO, glucantime-NO kullanılmıştır (Boock vd. 1996, Ohta vd. 1997, Onoue vd. 1998, Pluta vd. 1997, Wolf vd. 1998). Bu maddelerin yarılanma ömrü, 18 saniye ile 2.3 dakika arasında değiştiğinden, kısa sürede NO salıvermesi sebebiyle tercih edilmiştir. Ancak çalışmada kullanılan diethylamine-NO, NO salıvermesinin uzun süreli olması ve sistemik yan etkisinin çıkması nedeniyle kayda değer bulunmamıştır (Pluta vd. 1997).

Çalışmamızda; kısa sürede replasman ve uzun etki için, nonenzimatik, uzun yarı ömürlü, toksik marjı geniş ( $EC_{50}$ : 3.252mg/kg -  $LD_{50}$ : 33mg/kg) ve serebral kan akımının düzenlenmesinin yanı sıra, vazospazmda bozulan sistemik mekanizmaları da etkileyebilecek oranda kontrollü NO salıveren (Diodati vd. 1993, Hrabie vd. 1993), SPER-NO kullanılarak, sonuç alınmaya çalışılmıştır.

Vazospazmın geri döndürülmesinde NO replasmanının etkili bir tedavi olduğu düşünülmese rağmen, ilacın uygulama şekliyle ilgili tartışmalar devam etmektedir (Faraci ve Brian 1994, Pluta vd. 1997). Bugün, NO'yu yerine koymak için yaygın olarak üç değişik yol

kullanılmaktadır. Bu yollardan biri; sistemik uygulama olup, ilaç oral tabletler halinde verildiğinde karaciğer ve benzeri dokularda yıkımın fazla olması nedeniyle, etkin bir şekilde NO'nun beyin dokusuna geçmesi sağlanamamaktadır (Bayındır vd. 1996). Dozun artırılması ise, sistemik yan etkilerin ortaya çıkmasına sebep olacaktır. Sistemik intravenöz uygulama, yıkımın azalmasını engellemekle birlikte, vasküler yatağın direkt cevabı ile vazodilatasyon oluşturacağından, sistemik hipotansiyona yol açmaktadır. Bu durum SAK'lı bir hastada, serebral perfüzyon basıncını düşürerek akımın azalmasına ve yeni infarktın oluşmasına sebep olacaktır (Mayberg, 1998).

İkinci yol, ilacın BOS dolaşımına verilmesidir. İntrasisternal, intraventriküler ya da intratekal uygulama ile yapılabilir (Thomas ve Rosenwasser 1999, Wolf vd. 1998). Subaraknoid mesafeye NO verilerek, hem musküler tabakaya geçmesi düşünülmüş, hem de bozulan adventisyal nöronal regülasyonun yeniden sağlanması amaçlanmıştır (Wolf vd. 1998). SAK sonrası sisternalarda biriken kan elamanlarından, eritrositlerin yıkılmasıyla oluşan OxyHb (Macdonald ve Weir 1991), verilen NO'yu bağlayacağından intrasisternal NO etkinliği azalacaktır. Bu sırada, SAK sonrası subaraknoid mesafede demir ve OxyHb'den tetiklenen lipid peroksidasyonunun ortamda hidroksil radikallerinin bulunmasını sağlayacağı da göz önüne alınmalıdır (Macdonald ve Weir 1991). Hidroksil radikalleri, primer toksisitesinin yanında lokal uygulanan NO'yu da bağlayarak lipidperoksit, peroksinitrit anyonu ve peroksinitroz asid oluşturacaktır (Bayındır vd. 1996, Wolf vd. 1998). Bu durum, replasmanla verilen NO'nun tedavi yerine, toksik bir madde haline gelmesine sebep olacaktır.

NO donörü olarak DETA/NO kullanan WE Wolf vd. (1998), intratekal uygulamayı denemişlerdir. Nispeten uzun etkili olan bu ilacın bazal aktivitesinin 4. saatte maksimal olduğu, daha sonra bu etkisinin azaldığı bildirilmektedir. İntratekal verilen bir maddenin BOS dolaşımının tersi yönde ilerleyerek, bazal sisternalar içinde dağılması için, BOS'tan daha ağır bir molekül yapısına sahip olması ve hastanın belli bir pozisyon alması gerekmektedir. Ayrıca, artan intrakranial basınç etkisiyle de sisterna kapalı olacaktır. Bu duruma sisternalar içindeki kanın blokaj etkisi de eklenince, NO donörünün etkinliğinin sisternal dolaşım ile daha az olacağı düşünülebilir.

İntraventriküler uygulama, intrasisternal uygulamadan daha kolay bir yoldur. Fakat ventriküle verilen NO donörünün kısa yarı ömre sahip olması halinde, sisternalara ulaşmaya kadar etkisini kaybetmesi ve ventrikül içinde NO vererek, nörotoksik etki göstermesi gibi problemler çıkabilir. İntraventriküler tedavinin uygulama biçiminden kaynaklanan belirli bir morbiditenin olması da diğer bir dezavantajdır.

Biz, NO'nun üçüncü replasman şekli olan intrakarotid yolla serebral kan dolaşımına NO donörü verilmesini uyguladık (Boock vd. 1996, Pluta vd. 1997).

R.M. Pluta vd. (1997), kısa etki süreli NO donörleri ile yaptıkları uzun süreli replasman tedavisinde intrakarotid katateri 5 gün boyunca karotis içerisinde tutmaktadırlar. Bu uygulamanın dezavantajı, uzun süre kalan kataterin karotisin çapının daralmasına ve bu kısımdan gidecek serebral kanın azalmasına sebep olmasıdır.

Çalışmamızın ışık mikroskobu düzeyindeki histopatolojik bulguları, SPER/NO 'nun SAK sonrası oluşan vazospazmı büyük oranda önlediğini göstermiştir.

Genelde, ilacın serebral perfüzyon basıncına etkisi, intraserebral basınç ve anjiyografik damar çapı ölçülmesi ile araştırılmaktadır (Boock vd. 1996, Pluta vd. 1997). Fakat serebral kan akımının belirlenmesinde, önemli olan serebral vasküler direncin ne kadar kırıldığıdır. Biz, karotisten uygulanan katater vasıtası ile karotise yansıyan basıncı ölçmeye çalıştık. Amacımız, SAK'ta artan vasküler rezistansın NO tedavisi ile ne kadar azaldığını tayin etmektir. Elde ettiğimiz karotis arter basıncındaki %38.9 oranındaki iyileşme, R.J. Boock vd. (1996) elde ettiği orandan daha iyi bulundu.

Çalışmamızda, ilacın %16 civarında bir sistemik hipotansif etkisi görülmüştür. Fakat SAK sonrası vazospazmlı damarlarda %40 oranında vazodilatasyon yaptığı unutulmamalıdır.

Bu çalışmanın sonuçları, intrakarotid SPER/NO tedavisinin özellikle cerrahi girişim esnasında ve manipülasyonlara bağlı vazospazm gelişiminin engellenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca operasyonda oluşabilecek hipertansif atakları engelleyebileceği de işaret etmektedir.

SPER/NO kompleksinin klinik kullanıma girebilmesi için, daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

## KAYNAKÇA

- Alabadi, J.A., Terregrosa, G., Miranda, F.J. ve Salom, J.B., (1997). İmpeirment of the modulatory role of nitric oxide on the endothelin-1-elicited contraction of cerebral arteries: A pathogenetic factor in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 41, 245-253.
- Afshar, J.K., Pluta, R.M., Boock, R.J. ve Thompsen, B.G. Oldfield, E.H. (1995). Effect of intracarotid nitric oxide on primate cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurgery* 83, 118-122.
- Bayındır, O., Soydan, İ. ve Ülker, S. (1996). Nitrik oksidin patolojik olaylardaki rolü. Ed.: S. Koşay, Ege Üniversitesi Yayınları No:83, Bornova/İzmir.
- Bavbek, M. ve Caner, H.H. (1998). Vazospazmın tedavisi, Temel Nöroşirürji'den, Ed.: K.Baykaner, Ankara,153-169.
- Bavbek, M., Kwan, A-L., Polin, R., Kassell, N.F. ve Lee, K. (1997). Prevention of cerebral vasospasm by monoclonal antibodies againsts the adhesion molecules ICAM-1 and CD-18 in an experimental model of subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 28, 248.
- Boock, J.R., Pluta, R.M., Afshar, K.B. ve Oldfield, E.H. (1996). Intracarotid infusion of a nitric oxide donating compaund in primates increases cerebral blood flow and resolves cerebral vasospasm, 19 th international joint conference on stroke and cerebral circulation.
- Diodati, J.G., Quyyumi, A.A. ve Keefer, L.K. (1993). Complexes of nitric oxide with nucleophiles as agents for the controlled biological release of nitric oxide: Hemodynamic effect in the rabbit, *J. Cardiovas. Pharmacology* 22, 287-292.
- Edwards, D.H., Byrne, J.V. ve Griffith, T.M. (1992). The effect of chronic subarachnoid hemorrhage on basal endothelium-derived relaxing factor activity in intrathecal cerebral arteries. *J. Neurosurgery* 76, 830-837.
- Egemen, N., Türker, R.K. ve Şanlıdilek, U. (1993) The effect of intratehecal sodium-nitroprusside on severe chronic vasospasm. *Neurol.Res.* 15, 310-315.
- Faraci, F.M. ve Brian, J.E. (1994). Nitric oxide and the cerebral circulation. *Stroke* 25(3), 692-703.
- Goadsby, P.J., Kaube, H. ve Hoskin, K.L. (1992). Nitric oxide synthesis couples cerebral blood flow and metabolism. *Brain Res.* 595, 167-170.
- Hilton, D.L. Jr. ve Einhaus, S.L. (1993). Early assessment of neurologic deficiids in the fluid percussison model of brain injury. *J. Neurotrauma* 10, 121-133.
- Hino, A., Tokuyama, Y., Weir, B., Takeda, J., Yano, H. ve Macdonald, R.L. (1996). Changes in endothelial nitric oxide synthase mRNA during vasospasm after subarachnoid hemorrhage in monkeys. *Neurosurgery* 39, 562-568.
- Hrabie, A.J., Klose, R.J., Wing, D.A. ve Keefer, K.L. (1993). New nitric oxide- releasing zwitterions derived from polyamines. *J. Org. Chem.* 58, 1472-1476.
- Kajita, Y., Takayasu, M., Dietrich, H.H. ve Dacey, R.G. Jr. (1998). Possible role of nitric oxide in autoregulatory response in rat intracerebral arterioles, *Neurosurgery* 42, 834-842.



- Kasuya, H., Weir, B.K.A., Nakane, M. ve Pollock, J.S. (1995). Nitric oxide synthase and guanylate cyclase levels in canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurgery* 82, 250-255.
- Kowaluk, EA., Fung, H. ve Seth, P. (1992). Metabolic activation of sodium nitroprussid to nitric oxide in vascular smooth muscle. *J. Pharm. Exp. Ther.* 262, 916-922.
- Kwan, A-L., Lin, C-L., Yanamoto, H., Howng, S-L., Kassell, N.F. ve Lee, K. (1998). Systemic administration of the potassium channel activator cromacalim attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 42, 347-351.
- Macdonald, R.L., Weir, B.K.A. (1991). A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke* 22, 971-982.
- Maragos, C.M., Morley, D., Wing, D.A. ve Dunans, T.M. (1991). Complexes of nitric oxide with nucleophiles as agents for the controlled biological release of nitric oxide. Vasorelaxant effects. *J. Med. Chemistry* 34, 3242-3247.
- Marangoz, C. (1996). Nitrik oksit ve deneysel epilepsi. *O.M.Ü. Tıp Dergisi* 13(3), 165-183.
- Mayberg, M.R. (1998). Cerebral vasospasm, *Neurosurg. Clin. North Am.* 9(3), 615-627.
- Miranda, F.J., Alabadi, J.A., Terregrosa, G. ve Salom, J.B. (1996). Modulatory role of endothelial and nonendothelial nitric oxide in 5-hydroxytryptamine-induced contraction in cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 39, 998-1003.
- Morikawa, E., Moskowitz, M.A., Huang, Z. ve Yoshida, T. (1994). L-Arginine infusion promotes nitric oxide-dependent vasodilatation, increases regional cerebral blood flow, and reduces infarction volume in the rat. *Stroke* 25, 429-435.
- Nakao, K., Murata, H., Kanamaru, K. ve Waga, S. (1996). Effects of nitroglycerin on vasospasm and cyclic nucleotides in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 27, 1882-1888.
- Ohta, K., Rosner, G. ve Graf, R. (1997). Nitric oxide generation from sodium nitroprusside and hydroxylamine in brain. *Neuroreport* 8(9-10), 2229-2235.
- Onoue, H., Tsutsui, M., O'Brien, T. ve Katusic, Z.S. (1998). Expression and function of recombinant endothelial nitric oxide synthase gene in canine basilar artery after experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 29, 1959-1966.
- Pluta, R.M., Oldfield, E.H. ve Bloock, R.J. (1997). Reversal and prevention of cerebral vasospasm by intracarotid infusion of nitric oxide donors in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurgery* 87, 746-751.
- Rise, I.R. ve Kirkeby, O.J. (1998). Effect of reduces cerebral perfusion pressure on cerebral blood flow following inhibition of nitric oxide synthesis. *J. Neurosurgery* 89, 448-453.
- Rosenblum, W.I. (1992). Endothelium-derived relaxing factor in brain blood vessels is not nitric oxide. *Stroke* 23, 1527-1532.
- Suzuki, Y., Osuka, K., Noda, A., Tanazawa, T. ve Takayasu, M. (1997). Nitric oxide metabolites in the cisternal cerebral spinal fluid of patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 41, 807-812.
- Thomas, J.E. ve Rosenwasser, R.H. (1999). Reversal of severe cerebral vasospasm in three patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: Observations regarding the use of intraventricular sodium nitroprusside in humans. *Neurosurgery* 44, 48-58.
- Wolf, E.W., Banerjee, A., Soble-Smith, J., Dohan, F.C. ve White, R.P. (1998). Reversal of cerebral vasospasm using an intrathecally administered nitric oxide donor. *J. Neurosurgery* 89, 279-288.



**Bünyamin Ünal**, 1968 yılında Erzurum'da doğdu. 1994 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldu. 1999 yılında Doktora öğrenimini aynı fakültenin Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında tamamladı.

New Castle Upon Tyne Üniversitesi Tıp Fakültesi Nörobilim Dalında Elektron mikroskopisi ile ilgili eğitim gördü. Halen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesinde Yardımcı Doçent olarak görev yapmaktadır.