

# Tirofibanın Geçici Önbeyin İskemisi Sonrası Hipokampal Ca1 Nöronlarına Olan Koruyucu Etkisi

## Protective Effect of Tirofiban on Hippocampal CA1 Neurons After Transient Forebrain Ischemia

### ÖZ

**AMAÇ:** Bu çalışmada, deneysel geçici ön beyin iskemisi oluşturulmuş ratlarda bir nonpeptit trombosit GPIIb/IIIa-reseptör antagonisti olan tirofibanın CA1 hipokampal nöronlara olan etkisi incelenmiştir.

**YÖNTEM VE GEREÇ:** Geçici önbeyin iskemisi, bilateral carotis communis arterlerin oklüzyonu ile oluşturulmuştur. Tedavi grubundaki denekler kendi aralarında 3 gruba ayrılarak iskemiden yarım saat önce, hemen sonra ve 1 saat sonra i.v. 0,4 µgr/kg/dakika ve 0,8 µgr/kg/dakika dozlarında 30 dakika süreyle infüzyon şeklinde tirofiban verilmiştir. Hayvanlar, iskemi sonrası 7 günde sakrifiye edildi ve hipokampal CA1 bölgesinde ortalama intakt nöron sayısı hesaplanarak iskeminin etkileri ve tedavinin etkinliği gösterildi.

**BULGULAR:** Önbeyin iskemisinden yarım saat önce i.v. 0,4 µg/kg/dk dozla tedavi edilen ratlarda % 37'lik bir koruyucu etki görüldü. İskemiden yarım saat önce i.v. 0,8 µg/kg/dk tirofiban hydrochloride infüzyonu yapılan grupta sağlanan koruyuculuk % 46,7 bulundu. İskemiden hemen sonra verilen 0,4 µg/kg/dk tirofiban tedavisi ile herhangi bir koruyucu etki sağlanamazken 0,8 µg/kg/dk doz ile verilen tedavide ise % 32,2'lik bir iyileşme bulundu. İskemiden 1 saat sonra başlanan her iki dozda da tedaviye yanıt alınmadı.

**SONUÇ:** Bulgularımız, iskemi sonrası uygun doz ve zamanda verilen tirofibanın akut serebral iskemi tedavisinde etkin bir alternatif ilaç seçeneği olabileceğini düşündürmektedir.

**ANAHTAR SÖZCÜKLER:** Beyin iskemisi, Nöroproteksiyon, Ratlar, Trombosit agregasyon inhibitörleri, Trombosit glikoprotein GPIIb/IIIa kompleks.

### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** In this study, the effects of tirofiban, which is a non-peptide platelet GPIIb/IIIa-receptor antagonist, on CA1 hippocampal neurons were investigated on the rats subjected to the transient forebrain ischemia.

**MATERIAL AND METHODS:** The transient forebrain ischemia was performed by the occlusion of bilateral carotis communis arteries. The animals in the treatment group were divided into three groups and were received doses of either 0.4 µg/kg/minute or 0.8 µg/kg/minute of tirofiban, at 30 minutes before the ischemia, at immediately after the ischemia and one hour post-ischemia. At the end of 7 days, the rats were sacrificed, and the effects of the ischemia and the efficacy of the treatment were investigated by counting of the intact neurons in the hippocampal CA1 region.

**RESULTS:** A 37% rate of protective influence was seen on the rats treated with a dose of 0.4 µg/kg/minute at 30 minutes before ischemia. The protection in the group that were treated with a dose of 0.8 µg/kg/minute tirofiban infusion was found as 46.7%. With the 0.4 µg/kg/minute dose of tirofiban treatment, no protective effect was noted whereas with the 0.8 µg/kg/minute dose of tirofiban treatment there was 32.2% recovery. No significant results were observed in the treatment doses that started 1 hour after the ischemia.

**CONCLUSION:** Our findings have suggested that tirofiban may be an efficient alternative agent in the treatment of acute cerebral ischemia when administrated at appropriate dose and time during the post-injury period.

**KEY WORDS:** Brain ischemia, Neuroprotection, Platelet aggregation inhibitors, Platelet glycoprotein GPIIb/IIIa complex, rats.

Alper KARAOĞLAN<sup>1</sup>

Osman AKDEMİR<sup>2</sup>

Sibel GÖKTÜRK<sup>3</sup>

Mustafa TAŞYÜREKLİ<sup>4</sup>

Ahmet ÇOLAK<sup>5</sup>

1,2,5 Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroşirürji Kliniği, İstanbul

3,4 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji AD., İstanbul

Geliş Tarihi: 23.02.2007

Kabul Tarihi: 02.03.2007

Yazışma adresi:

**Ahmet ÇOLAK**

E-posta: drahmetcolak@yahoo.com

## GİRİŞ

Antiplatelet, antikoagülan veya trombolitik ilaçları içeren farmakolojik stratejilerdeki esas amaç, akut iskemik beyin hasarını geri çevirmek veya en azından minimize etmeye yöneliktir. Akut iskemik beyin hasarında trombosit aktivasyonu ve agregasyonu sonucu post-kapiller venüllerde polimorfonükleer lökosit-fibrin-trombosit agregatları sebebiyle yeniden akımın olmadığı gözlenmiş, mikrovasküler oklüzyon oluşumunda trombosit ve polimorfonükleer lökositlerin aktif katılımı olduğu ileri sürülmüştür (3,11). Aktive trombositler embolik olayların genelinde kritik bir role sahiptir. Aktive eden stimulusun ne olduğuna bakmaksızın trombosit agregasyonu glikoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) reseptörleri aracılığı ile gerçekleşir (23). Bu fibrinojen reseptörleri, integrin ailesinin üyesidirler ve yalnızca trombositler üzerinde tarif edilmiştir. Aktive edilen GPIIb/IIIa reseptörleri fibrinojen moleküllerini bağlayarak komşu trombositler arasında köprü formu oluştururlar ve böylece trombosit agregasyonu ve kümelenmesini kolaylaştırırlar (36).

Antiplatelet terapi son zamanlara kadar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (5,17,24,26). Geçen on yıl içinde akut myokardiyal iskemide tedavisinde bu ajanlarla sağlanan yüksek başarı oranlarına rağmen, akut serebral iskemide aynı başarının tam olarak sağlanamadığı bildirilmektedir (9,6). Bu durum, uygulanan antiplatelet ajanın farmakolojik özelliği, uygulama zamanı ve verilmesi gereken dozun uygun olup olmadığı ile yakın ilişkilidir. Son yıllarda bir nonpeptid GPIIb/IIIa-reseptör antagonisti olan tirofiban, akut myokard iskemisi tedavisinde etkili olduğu gösterilerek klinik kullanımına başlanmıştır (8,12,31,32,38). İntravenöz olarak verilen tirofiban, bolus uygulama sonrası fibrinojen bağımlı trombosit agregasyonunu yüksek bir selektivitede ve etkin olarak dakikalar içinde inhibe etmektedir. Tarafımızca daha önce yapılan bir ön çalışmada, deneysel olarak geçici ön beyin iskemisi oluşturulan ratlarda tirofibanın nöroprotektif etkisi doku MDA, NO, SOD ve ATP seviyelerindeki düzelme ile ortaya konmuştur (19).

Bu çalışmada deneysel geçici ön beyin iskemisi oluşturulmuş ratlarda tirofibanın CA1 hipokampal nöronlara olan etkisi doz ve zaman ilişkisi de göz önünde bulundurularak incelenmiştir.

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Türk Nöroşirürji Dergisi'de yayınlanan (12: 40-47, 2002) önçalışma sonuçlarının devamı olarak yerel etik komiteden geçirilerek yapılmıştır. Çalışmada 250-300 gr. ağırlığında 40 adet erişkin erkek Wistar albino rat kullanıldı. Hayvanlar bir gün önceden aç bırakılarak İ.M. 60 mg./kg. ketamine (Ketalar, Parke-Davis, Eczacıbaşı, İstanbul) ve İ.M. 9 mg./kg. Xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul) ile anestezileri sağlandı. Operasyon sırasında gerektiğinde ek dozlar yapıldı. % 0,9 Na Cl solüsyonu ve ilaç infüzyonu için femoral ven kateterizasyonu, PaO<sub>2</sub>, pH, PaCO<sub>2</sub>, nabız ve arteriyel kan basıncı monitörizasyonu için femoral arter kateterizasyonu yapıldı. Vücut sıcaklığı bir rektal termometre ile monitörize edilerek, ısıtıcı lamba ile 37 °C de tutuldu.

Ratlar supine pozisyonda sabitlendi. Servikal orta hattan transvers bir insizyonla bilateral carotis communis arterler ortaya konuldu ve her iki carotis communis, Yaşargil Anevrizma Klip'leri ile 10 dk. süre ile kliplendi. Sonra klipler açılarak reperfüzyon sağlandı. İskemiden 7 gün sonra hayvanlar histopatolojik inceleme için intrakardiyak 200 mL heparinize serum fizyolojik ile perfüzyon işlemi sonrası, 200 mL 0.1 M fosfat tamponlu %10 formaldehit solüsyonu ile tespit edildi. Geniş kraniektomiyle beyinler bir bütün olarak çıkarılıp 0.1 M fosfat tamponlu %10 formaldehit içine konuldu.

### DENEY PROTOKOLÜ:

*Grup I (n=5; Sham-operated kontrol grubu):* Bu gruptaki hayvanlar servikal orta hatta bir insizyonla bilateral carotis communis arterler ortaya çıkarıldıktan daha sonra ciltleri 3-0 ipek ile kapatıldı. 7 gün sonra hayvanlara yukarıda belirtildiği şekilde perfüzyon ve fiksasyon işlemleri uygulandı.

*Grup II (n=5; Kontrol grubu):* Bu gruptaki hayvanların 1. grupta olduğu gibi bilateral carotis communis arterleri ortaya konuldu. Arterler, anevrizma klipleri kullanılarak 10 dakika süreyle kliplenerek ön beyin iskemisi oluşturuldu. Daha sonra klipler açılarak reperfüzyon sağlandı. Bu gruptaki hayvanlara hiçbir tedavi verilmedi. Hayvanların, iskemiden 7 gün sonra perfüze ve fiske edilerek çıkarılan beyinleri, histopatolojik inceleme için formaldehit solüsyonu içine konuldu.

*Grup III (n=30; Tedavi Grubu):* Bu gruptaki hayvanların bir kısmına iskemiden yarım saat önce 30 dakika süreyle i.v. 0,4 µg/kg/dk ve 0,8 µg/kg/dk dozlarında tirofiban hydrochloride infüzyonu

yapılarak 2. grupta olduğu gibi bilateral carotis communis arterler ortaya konuldu ve 10 dakika süre ile anevrizma klipleri ile kliplendikten sonra klipler açılarak reperfüzyon sağlandı. Bir kısım hayvanlara iskemi-reperfüzyondan hemen sonra, 30 dakika süreyle i.v. 0,4 µg/kg/dk (n=5) ve 0,8 µg/kg/dk (n=5) dozlarında tirofiban hydrochloride infüzyonu yapıldı. Diğer hayvanlara ise iskemi reperfüzyondan 1 saat sonra 0,4 µg/kg/dk (n=5) ve 0,8 µg/kg/dk (n=5) dozlarında tirofiban hydrochloride tedavisi uygulandı. İskemi reperfüzyondan 7 gün sonra hayvanlar, 1. ve 2. gruplarda olduğu gibi perfüze ve fikse edilerek histopatolojik incelemeye alındı.

#### HİSTOLOJİK İNCELEME:

Cerrahi işlemlerden 7 gün sonra yukarıda belirttiği şekilde alınan hayvanların beyinlerinde histopatolojik incelemeler yapıldı. Hayvanların Hipokampusunu içeren beyin bölgesi %70, %80, %95, %100 alkol serilerinden ve xylolden geçirildi ve parafin blokları elde edildi. Parafin bloklardan "Reichert" kızaklı mikrotomunda dorsal hipokampal CA1 bölgesinden (bregmanın 3,3-3,5 mm posterioru) yaklaşık 5°m kalınlığında seri kesitler alındı. Bu kesitlere krezil viyolet (KV) boyaması yapıldı. Sayımlar Olympus marka ışık mikroskopunun 10'luk büyütmesi (objektif 10x0.25, oküler 10x18) kullanılarak yapıldı. Sayım çerçevesinin alanı 53x53 µm'dir. Sayım çerçevesi, CA1 bölgesinin piramidal hücre tabakasına doğru rasgele dağıtıldı. Her kesitten toplam 5 tane 2809 µm<sup>2</sup>'lik alan içinde BrdU işaretli ve KV boyalı sağlam nöronlar deney gruplarından habersiz araştırmacılar tarafından sayıldı. Daha sonra birim çerçeve alanı (53x53 µm) başına düşen ortalama sağlam nöron sayısı hesaplandı.

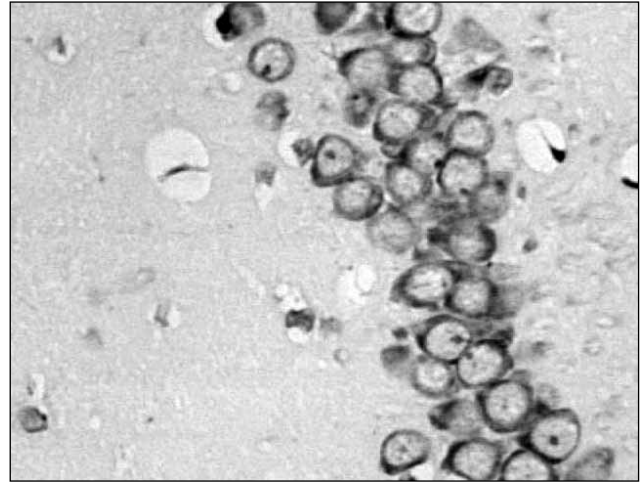
#### İSTATİKSEL DEĞERLENDİRMELER:

İstatistiksel değerlendirmeler gruplar arasındaki farklar, tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD testi ile yapıldı. Sonuçlar p<0,001'e göre anlamlı kabul edildi.

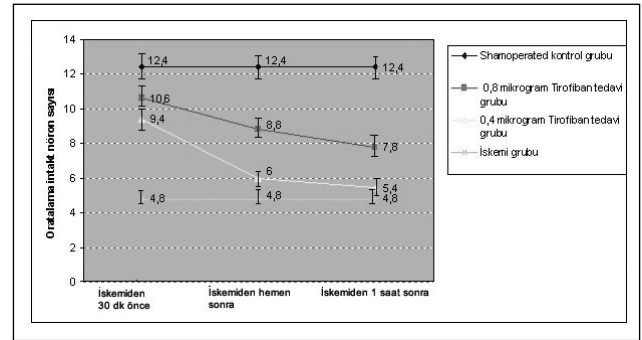
#### BULGULAR

Ratlarda peroperatif ölüm gözlenmedi. Tedavi gruplarındaki hayvanlarda herhangi bir hemoraji gelişmedi.

Grup 1 de beklenildiği gibi herhangi bir patoloji saptanmadı (Şekil 1). 7. günün sonunda dorsal hipokampal CA1 bölgesinde sayılan ortalama sağlam nöron sayısı (12,4±1,51) idi (Grafik 1).



Şekil 1: Sham-operated kontrol grubunda dorsal CA1 hipokampal bölgede herhangi bir nöronal hasar gözlenmedi (Krezil viyolet boyaması, orijinal magnifikasyon x40).

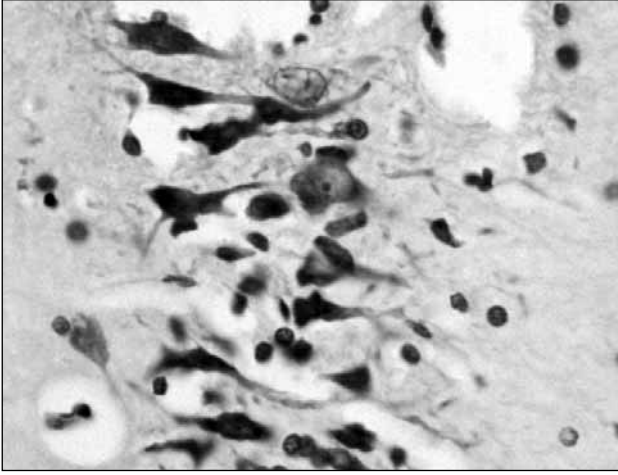


Grafik 1: Grafikte iskemiden 30 dk önce başlanan tüm dozlarla, iskemiden hemen sonra başlanan 0,8 µgr Tirofiban dozunun anlamlı düzelleme sağladığı görülmektedir. Gruplardaki standart sapmalar Y hata çubuğu olarak gösterilmiştir.

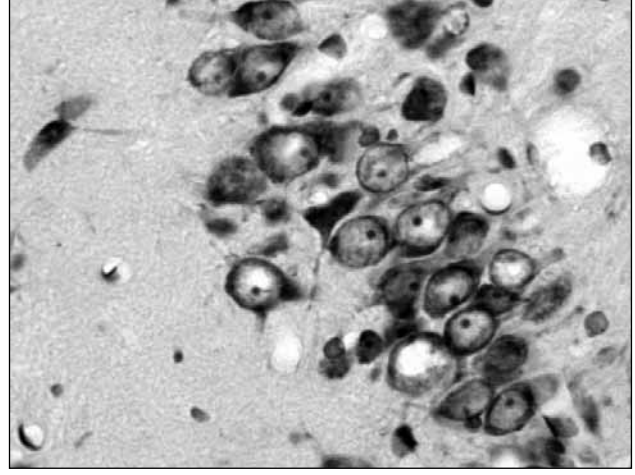
Grup 2 ratlardan alınan kesitlerde dorsal hipokampusun CA1 bölgesi, eozinofilik sitoplazmalı, piknotik nükleuslu iskemik hücreler ile karakterize görünüme sahipti (Şekil 2). Önbeyin iskemisi uygulanan tedavi almamış ratlarda 7. günün sonunda bu CA1 bölgesinde sayılan ortalama intakt nöron sayısı 4,8±0,83 idi. Bu değer sham operated kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (12,4±1,51), aradaki fark istatistiksel yönden anlamlıydı (p<0.001) (Grafik 1).

#### Grup 3

İskemiden yarım saat önce, 30 dakika süreyle i.v. 0,4 µg/kg/dk tirofiban hydrochloride infüzyonu yapılan grupta ortalama sağlam nöron sayısı 9,4±1,14 idi. Bu değer tedavisiz gruptakiyle karşılaştırıl-



**Şekil 2:** Önbeyin iskemisi uygulanan tedavi almamış ratlarda 7. günün sonunda dorsal hipokampal CA1 bölgesinde yaygın nöronal hasar saptandı. Not: sağlam nöron görülmemesine dikkat ediniz (Krezil viyolet boyaması, orijinal magnifikasyon x40).



**Şekil 3:** İskemiden hemen sonra 30 dakika süreyle İ.V. infüzyon olarak verilen 0,8 µg/kg/dk tirofiban hydrochloride tedavisi sonrası nöronal hasarın azaldığı görüldü (Krezil viyolet boyaması, orijinal magnifikasyon x40).

dığında, aradaki fark da anlamlıydı ( $p < 0.001$ ). Bir başka deyişle, iskemiden yarım saat önce i.v. 0,4 µg/kg/dk dozunda verilen tedavi ile % 37'lik bir koruyucu etki sağlandı. Yine iskemiden yarım saat önce 30 dakika süreyle i.v. 0,8 µg/kg/dk dozunda ilaç infüzyonu yapılan hayvanlardaki ortalama intakt nöron sayısı ise  $10,6 \pm 1,81$  idi. Diğer bir ifadeyle, bu dozda verilen tedavi ile sağlanan koruyuculuk % 46,7'dir (Grafik 1).

İskemiden hemen sonra 30 dakika süreyle i.v. infüzyon olarak verilen 0,4 µg/kg/dk tirofiban hydrochloride tedavisi sonrası ortalama intakt nöron sayısı  $6 \pm 0,70$  olarak bulundu. 2. grup ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p = 0,7276$ ). 0,8 µg/kg/dk doz ile verilen tedavide ise ortalama sağlam nöron sayısı  $8,8 \pm 0,83$  idi. Bu değer, 2. gruptaki ile karşılaştırıldığında % 32,2'lik bir iyileşme demektir ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p = 0,001$ ) (Şekil 3) (Grafik 1).

İskemiden 1 saat sonra 0,4 µg/kg/dk tirofiban hydrochloride tedavisi başlanan grupta ortalama intakt nöron sayısı  $5,4 \pm 1,14$  idi. Tedavisiz iske mi grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p = 0,9909$ ). 0,8 µg/kg/dk dozla yapılan ilaç tedavisi sonrası ortalama sağlam nöron sayısı  $7,8 \pm 0,83$  olarak hesaplandı. Bu değer 2 grup ile karşılaştırıldığında farklı gibi görünse de bu fark, istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p = 0,006$ ) (Grafik 1).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, nöroşirürji pratiğinde sık karşılaşılan sorunlardan biri olan iskemide, bir antiplatelet ajan olan tirofibanın nöroprotektif etkinliği, hayvanların dorsal hipokampus CA1 bölgesindeki nöronların sayısı karşılaştırılarak gösterilmiştir. Çalışmada, daha önceki araştırmalarda da kullanılan geçici ön beyin iskemisi modeli seçilmiştir (20,22,35). Geçici ön beyin iskemisi modeli, hayvanda spontan solunumu ve arteriyel kan gazlarını bozmadan minimal bir iske mi oluşturduğu için tercih edilmiştir (13).

Geçen son dekatta iske mi sonrası beyin patolojilerinin temel mekanizmalarının anlaşılmasında dramatik ilerlemeler sağlanmıştır. Yeni tedavi seçenekleri ile hızlı ve güvenilir bir şekilde beyin hasarının azaltılması, hasar gerçekleşmeden önlenmesi amaçlanır. Serebral vasküler akım hızındaki azalma veya kesinti enerji yetmezliğiyle birlikte hücre ölümüne giden yolları başlatır. Serebral arterlerdeki oklüzyon sonrası dolaşımdaki trombositler, iskemik alan içerisinde aktive olurlar ve kümelenirler (10,11,14,28). Oklüzyonun bir sonucu olarak gelişen mikrovasküler obstrüksiyonda trombosit agregasyonu ve lökosit adhesyonu rol alır. Bu olayın primatlarda lokal iskemiyeye ve beyinin hücre sel hasarına yol açtığı gösterilmiştir (11). Serebral iskemide antiplatelet ajanlar ile bu süreç önlenmeye

çalışılmıştır (1-4). Rutin klinik kullanımda olan bu ajanlar, trombosit aktivasyon yollarının adhezyon veya agregasyonun üst basamaklarının inhibisyonu ve relatif bir trombosit agregasyonu blokajı sağlamakla birlikte nispeten yetersizdirler (7). Kullanılan bu antiplatelet ve trombolitik ajanlarla tedavi sırasında serebral hemoraji riskinin olduğu, tedavinin kesilmesine rağmen bu riskin uzun süre devam ettiği gösterilmiştir (6,17). Bu çalışmada kullanılan tirofiban, aspirin veya thienopyridinler gibi yaygın kullanımı olan antiplatelet ajanların aksine, bloke edici etkisi trombosit aktivasyon mekanizmasından bağımsızdır ve kısa eliminasyon yarı ömrü nedeniyle (t1/2: 2 saat) trombosit fonksiyonu infüzyonun kesilmesinden sonra saatler içinde geri döner (16,25).

Trombositler subendotelial kollojen veya fibronektinin spesifik membran reseptörlerine hızla bağlanırlar. Trombosit aktivasyonundaki major membran reseptörleri birçok alt grubu bulunan (GP) glikoproteinlerdir (30). GP IIb/IIIa kompleksi fibrinojen, fibronektin ve von Willebrand faktörü için temel bir reseptördür. Bu bağlantı spesifik olup irreversibldir. GP IIb/IIIa reseptörüne bağlantıyı irreversibl olarak inhibe eden antiplatelet ajanlar (monoklonal antikorlar gibi) anlamlı hemoraji riski nedeniyle dezavantajlı olabilirler (15,16).

Daha önceki çalışmalarda GP IIb/IIIa reseptör blokajının hayvan koroner ve karotid arter stenozu modellerinde tromboz ve retrombozu önlemede aspirinden daha etkili olduğu rapor edilmiştir (33,34,37). Ohman ve ark.'nın (27) yaptıkları klinik çalışmada integrilin ile akut myokard infarktüsünde reperfüzyonun düzeldiği gösterilmiştir. GP IIb/IIIa reseptör antagonistleri ile serebral iskemi modellerinde yapılan çalışmalar oldukça nadirdir. Kaku ve ark. (18) tarafından rat orta serebral arter tromboz modelinde GP IIb/IIIa reseptör antagonistleri olan disintegrin ve triflavinin etkileri değerlendirilmiş ve serebral arteriyel trombozisin önlenmesinde GP IIb/IIIa reseptör blokajının faydalı olabileceği gözlenmiştir. Diğer bir çalışmada yine bir GP IIb/IIIa reseptör antagonisti olan TP 9201'in deneysel akut fokal serebral iskemide mikrovasküler koruyucu etkisinin bulunduğu ve yalnızca yüksek dozlarda parankimal hemoraji riski taşıdığı bildirilmiştir (1). Bu çalışmada kullanılan GP IIb/IIIa reseptör antagonisti tirofiban tedavisi ile uygulanan dozların hiçbirinde parankimal hemoraji ile karşılaşılması.

Tirofiban (N-(butylsulfonyl)-o-[4-(4piperidinyl) butyl]-L tyrosine monohydrochloride) fibrinojenin GP IIb/IIIa reseptörüne bağlanmasını geri dönüşümlü olarak antagonize eden non-peptid bir moleküldür. Tirofiban verilen doza ve uygulanan konsantrasyonuna bağlı olarak trombosit agregasyonunu inhibe eder. İlacın 30 dk. infüzyon sonunda % 90'ın üzerinde bir inhibisyon sağladığı bildirilmektedir (29). Tirofiban ile sağlanan trombosit agregasyonu inhibisyonu, geri dönüşümlü antagonistik etki sebebi ile infüzyonunun kesilmesini takiben geri döndüğü ifade edilmektedir (29). Tirofiban daha önce King ve ark. (21) tarafından koroner anjioplasti sonrası hastalarda 36 saat boyunca infüzyon tarzında kullanılmış ve infüzyon süresince akut iskemik komplikasyonları azalttığı, bu etkisinin ilaç kesildikten birkaç gün daha devam ettiği gösterilmiştir. Önceki çalışmalarda, koroner sendromlu hastalarda tirofiban, aspirin ve heparinle birlikte kombine edildiğinde, tek başına heparin ve aspirin verilen hastalara oranla iskemik hasarın anlamlı düzeyde azalttığı, tirofibanla bağlı intrakraniyal hemoraji ve ölüm görülmediği, nadiren trombositopeni geliştiği ve bu komplikasyonun herhangi bir sekel bırakmadan kendiliğinden düzeldiği bildirilmiştir (8,12,29,31,32,38). Laboratuvarımızda tarafımızdan daha önce tirofibanla yapılan bir ön çalışmada, geçici ön beyin iskemisi ile doku MDA ile NO seviyelerinde artış, SOD ve ATP seviyelerinde de düşme gözlenmiş; tirofiban tedavisi ile MDA ve NO seviyelerinde düşme, SOD ve ATP değerlerinde ise artış saptanmıştır. Tirofibanın bu etkisini iskemi sonrası reperfüzyonu artırması, bunun sonucu olarak da mitokondriyal hasar ve dolayısıyla hücre içi kalsiyum salınımını azaltması, serbest radikallerin oluşumunu önleyerek oksidatif stresi azaltmasıyla ilgili olabileceği düşünülmüştür (19). Bu çalışmada, ise tirofibanın nöroprotektif etkisi, benzer şekilde önbeyin iskemisi oluşturulmuş ratlarda ortalama intakt CA1 nöron sayısı hesaplanarak araştırılmıştır.

Bu çalışmada, önbeyin iskemisinden yarım saat önce i.v. 0,4 µg/kg/dk dozunda verilen tedavi ile ratlarda % 37'lik bir koruyucu etki sağlandı. İskemiden yarım saat önce 30 dakika süreyle i.v. 0,8 µg/kg/dk tirofiban hydrochloride infüzyonu yapılan grupta sağlanan koruyuculuk % 46,7 bulundu. İskemiden hemen sonra verilen 0,4 µg/kg/dk tirofiban hydrochloride tedavisi ile herhangi bir koruyucu etki sağlanamazken 0,8

$\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dk}$  doz ile verilen tedavide ise % 32,2'lik bir iyileşme bulundu. İskemiden 1 saat sonra başlanan her iki dozda tedaviye de yanıt alınmadı. Tedavi alan hiçbir grupta serebral hemorajiye rastlanmadı.

Sonuç olarak bu çalışma ile tirofibanın antiplatelet bir ajan olarak nöroprotektif etkinliğinin olduğu ve sahip olduğu üstünlükleri ile akut serebral iskemide halen kullanımda olan diğer antiplatelet ajanlara alternatif olabileceği kanısına varıldı. Tedaviden maksimal faydanın sağlanabilmesi için tirofibanın uygulama zamanı oldukça önemli olup semptomların ortaya çıkışı ile tedaviye başlama zamanı arasındaki süre mümkün olduğunca çok kısa olmalıdır.

### KAYNAKLAR

1. Abumiya T, Fitrige R, Majur C, Copeland BR, Koziol JA, Tschopp JF, Pierschbacher MD, del Zoppo GJ: Integrin alpha(IIb)beta(3) inhibitor preserves microvascular potency in experimental acute focal cerebral ischemia. *Stroke* 31: 1402-1410, 2000
2. Acheson J, Danta G, Hutchinson EC: Controlled trial of dipyridamole in cerebral vascular disease. *Br Med J* 1: 614-620, 1969
3. Barnett HJM: Transient cerebral ischemia: pathogenesis, prognosis and management. *Ann R Coll Physicians Surgeons Can* 7: 153-160, 1974
4. Bednar MM, Gross CE: Antiplatelet therapy in acute cerebral ischemia. *Stroke* 30: 887-893, 1999
5. Chinese Acute Stroke Trial Collaborative Group (CAST): Randomized placebo-controlled trial of early aspirin use in 20,000 patients with acute ischemic stroke. *Lancet* 349: 1641-1649, 1997
6. Clarke WM, Madden KP, Lyden PD, Zivin JA: Cerebral hemorrhagic risk of aspirin or heparin therapy with thrombolytic treatment in rabbits. *Stroke* 22: 872-876, 1991
7. Collier BS: Antiplatelet agents in the prevention and therapy of thrombosis. *Ann Rev Med* 43: 171-180, 1992
8. Dangas G, Colombo A: Platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists in percutaneous coronary revascularization. *Am Heart J* 138: 16-23, 1999
9. De Clerck F, Janssen PA: 5-Hydroxytryptamine and thromboxane A2 in ischemic heart disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1: 201-209, 1990;
10. del Zoppo GJ, Copeland BR, Harker LA, Waltz TA, Zyroff J, Hanson SR, Battenberg E: Experimental acute thrombotic stroke in baboons. *Stroke* 17: 1254-1265, 1986
11. del Zoppo GJ, Schmid-Schönbein GW, Mori E, Copeland BR, Chang C-M: Polymorphonuclear leukocytes occlude capillaries following middle cerebral artery occlusion and reperfusion in baboons. *Stroke* 22: 1276-1283, 1991
12. Ferguson JJ, Lau TK: New antiplatelet agents for acute coronary syndromes. *Am Heart J* 135: 194-200, 1998
13. Fujishima M, Nakatomi Y, Tamaki K, Ogata J, Omae T: Cerebral ischaemia induced by bilateral carotid occlusion in spontaneously hypertensive rats. Supra and infra tentorial metabolism and arterial acid-base balance. *J Neurol Sci* 33: 1-11, 1977
14. Garcia JH, Liu KF, Yoshida Y, Lian J, Chen S, del Zoppo GJ: Influx of leukocytes and platelets in an evolving brain infarct (wistar rat). *Am J Pathol* 144: 188-199, 1994
15. Gold HK, Gimple LW, Yasuda T, Leinbach RC, Werner W, Holt R, Jordan R, Berger H, Collen D, Collier BS: Pharmacodynamic study of F(ab)<sub>2</sub> fragments of murine monoclonal antibody 7E3 directed against human platelet glycoprotein GPIIb/IIIa in patient with unstable angina pectoris. *J Clin Invest* 86: 651-659, 1990
16. Hansen SR, Pareti FI, Ruggery ZM, Narcec UM, Kunicki TJ, Montgomery RR, Zimmerman TS, Harker LA: Effect of monoclonal antibodies against the glycoprotein IIb/IIIa complex on thrombosis and hemostasis in the baboon. *J Clin Invest* 81: 149-158, 1988
17. International Stroke Trial Collaborative Group. The International Stroke Trial (IST): A randomised trial of aspirin, subcutaneous heparin, both, or neither among 19,435 patients with acute ischaemic stroke. *Lancet* 349: 1569-1581, 1997
18. Kaku S, Umemura K, Mizuno A, Kawasaki T, Nakashima M: Evaluation of the disintegrin, triflavin, in a rat middle cerebral artery thrombosis model. *Eur J Pharmacol* 321: 301-305, 1997
19. Karaoğlu A, Uçankale M, Barut Ş, Uzun H, Belce A, Çolak A: Tirofiban'ın geçici beyin iskemisi yapılmış ratlardaki nöroprotektif etkisinin incelenmesi: Ön çalışma sonuçları. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 12: 40-47, 2002
20. Kawamoto T, Ikeda Y, Teramoto A: Protective effect of L-histidine (single oxygen scavenger) on transient forebrain ischemia in the rat. *No To Shinkei* 49: 612-618, 1997
21. King SB: Effects of platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade with tirofiban on adverse cardiac events in patients with unstable angina or acute myocardial infarction undergoing coronary angioplasty. *Circulation* 96: 1445-1453, 1997
22. Lee JY, Kim YH, Koh JY: Protection by Pyruvate against transient forebrain ischemia in rats. *J Neurosci* 21: RC171, 2001
23. Lefkowitz J, Plow EF, Topol EJ: Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. *N Engl J Med* 332: 1553-1559, 1995
24. Meyer JS, Gilroy J, Barnhart ML, Johnson JF: Anticoagulants plus streptokinase therapy in progressive stroke. *JAMA* 189: 373, 1963
25. McClellan KJ, Goa KL: Tirofiban: a review of its use in acute coronary syndromes. *Drugs* 56: 1067-1080, 1998
26. Multicentre Acute Stroke Trial-Italy Group (MAST-I): Randomized controlled trial of streptokinase, aspirin, and combination of both in treatment of acute ischaemic stroke [see comment]. *Lancet* 346: 1509-1514, 1995
27. Ohman EM, Kleiman NS, Gacioch G, Worley SJ, Navetta FI, Talley JD, Anderson HV, Ellis SG, Cohen MD, Spriggs D, Miller M, Kereiakes D, Yakubov S, Kitt MM, Sigmon KN, Califf RM, Krucoff MW, Topol EJ: Combined accelerated tissue-plasminogen activator and platelet glycoprotein IIb/IIIa integrin receptor blockade with integrilin in acute myocardial infarction: Results of a randomized, placebo-controlled, dose ranging trial: IMPACT-AMI Investigators. *Circulation* 95: 846-854, 1997
28. Okoda Y, Copeland BR, Mori E, Tung M-M, Thomas WS, del Zoppo GJ: P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 expression after focal brain ischemia and reperfusion. *Stroke* 25: 202-211, 1994
29. Peerlinck K, Lepeleire D, Goldberg M, Farrell D: MK-383 (L-700,462), a selective nonpeptide platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonist, is active in man. *Circulation* 88: 1512-1517, 1993

30. Plow EF, Pierschbacher MD, Ruasiahti E, Marguerie GA, Ginsberg MH: The effect of Arg-Gly-Asp-containing peptides on fibrinogen and von Willebrand factor binding to platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 8057-8061, 1985
31. PRISM: A comparison of aspirin plus tirofiban with aspirin plus heparin for unstable angina. *N Engl J Med* 21: 1498-1505, 1998
32. PRISM-PLUS: Inhibition of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor with tirofiban in unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. *N Eng J Med* 338: 1488-1497, 1998
33. Rote WE, Werns SW, Davis JH, Feigen LP, Kilgore KS, Lucchesi BR: Platelet GPIIb/IIIa receptor inhibition by SC-49992 prevents thrombosis and rethrombosis in the canine carotid artery. *Cardiovasc Res* 27: 500-507, 1993
34. Schror K: Antiplatelet drugs: a comparative review. *Drugs* 50: 7-28, 1995
35. Schubert P, Keutzberg GW: Cerebral protection by adenosine. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 57: 80-88, 1993
36. Vorchheimer DA, Badimon JJ, Fuster V: Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists in cardiovascular disease. *JAMA* 281: 1407-1414, 1999
37. Yasuda T, Gold HK, Fallon JT, Leinbach RC, Guerrero JL, Scudder LE, Kanke M, Shealy D, Ross MJ, Collen D, Collier BS: Monoclonal antibody against the platelet glycoprotein (GP) IIb/IIIa receptor prevents coronary artery reocclusion after reperfusion with recombinant tissue-type plasminogen activator in dogs. *J Clin Invest* 81: 1284-1291, 1988
38. Zhao X, Theroux P, Snapinn SM, Sax FL: Intracoronary thrombus and platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade with tirofiban in unstable angina or non-Q-wave myocardial infarction. *Circulation* 100: 1609-1615, 1999