

SEREBROVASKÜLER OLAY GEÇİREN HASTALARDA SERUM NİTRİT VE NİTRAT DÜZEYLERİ⁺

Yüksel ERSOY*
Elif ÖZEROL**
Zühal ALTAY*
Handan ÖZİŞİK***
Bayram FIRAT*

Amaç: Serebrovasküler olay (SVO) geçiren hastaların serumlarında nitrik oksit (NO) son ürünleri olan nitrit ve nitrat düzeylerinin belirlenerek bazı klinik ve laboratuvar parametreleri ile ilişkisinin araştırılması.

Materyal ve Metot: Hastanemiz Acil Servisine ve Nöroloji Polikliniklerine başvuru, SVO tanısı konmuş 34'ü iskemik, 37'si hemorajik toplam 71 olgu ile yaş ve cinsiyetleri uyumlu çalışma hakkında bilgilendirilen 30 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. Serebral CT incelemeleri yanısıra uygulanan medikal tedaviden önce ve sonra (taburcu olurken) alınan kan örneklerinde serum nitrit ve nitrat düzeyleri tespit edildi. Olguların demografik özellikleri (yaş ve cins), SVO'nun tipi (iskemik veya hemorajik), etkilenen vücut tarafı (sağ veya sol), klinik tablonun şiddeti (hemiparezi veya hemipleji) ve kranial CT'de lezyonun bulunduğu bölge kaydedildi. Takip eden günlerde eks ile sonuçlanan 6 hemorajik SVO'lu olgu çalışmadan çıkarıldı. lezyonun bulunduğu bölge kaydedildi. Takip eden günlerde eks ile sonuçlanan 6 hemorajik SVO'lu olgu çalışmadan çıkarıldı.

Bulgular: İstatistiksel olarak elde edilen veriler ortalama değer±standart hata olarak hesaplandı. Tedaviden önce ve sonra serum seviyeleri karşılaştırıldığında, hem iskemik hem de hemorajik olgularda nitrit (10.9 ± 0.4 $\mu\text{mol/L}$ ve 12.0 ± 0.4 $\mu\text{mol/L}$, 10.3 ± 0.3 $\mu\text{mol/L}$ ve 11.2 ± 0.5 $\mu\text{mol/L}$) ve nitrat (24.4 ± 3.3 $\mu\text{mol/L}$ ve 23.1 ± 2.1 $\mu\text{mol/L}$, 36.1 ± 6.1 $\mu\text{mol/L}$ ve 29.1 ± 3.4 $\mu\text{mol/L}$) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bununla birlikte, kontrol grubunu oluşturan bireylerin serum nitrit (1.7 ± 0.1 $\mu\text{mol/L}$) ve nitrat (18.4 ± 0.9 $\mu\text{mol/L}$) düzeyleri hasta gruplarındaki olgulara göre daha düşük seviyelerde tespit edildi. İskemik ve hemorajik olgularda serum nitrit ve nitrat değerleri ile; SVO'nun tipi, etkilenen vücut tarafı ve CT'deki lezyonun yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir ilişki saptanmazken ($p>0.05$), iskemik olgularda klinik tablonun şiddeti ile hem tedavi öncesi ($r=0.384$) ve hem de tedavi sonrası ($r=0.514$) serum nitrit seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p<0.05$). Buna ilâve olarak, hem iskemik hem de hemorajik SVO'lu olgularda tedavi öncesi ve sonrasındaki serum nitrit ve nitrat düzeylerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oldukları tespit edildi ($p<0.001$).

Sonuç: SVO'lu iskemik olgularda klinik tablonun şiddeti ile serum nitrit seviyeleri arasında pozitif korelasyonun olması ve sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında SVO'lu olgularda serum nitrit ve nitrat düzeylerinin yüksek bulunması, NO'nun SVO'nun patogenezinde rolü olabileceğini desteklemektedir. Sınırlı sayıda olgularda elde edilen bu verilerin doğrulanması için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: SVO, Serum, Nitrit, Nitrat.

* İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD, MALATYA
** İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, MALATYA
*** İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, MALATYA

⁺ 13-16 Mayıs 2001 tarihleri arasında Kiriş-Antalya'da düzenlenen XVIII. Ulusal Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kongresinde poster olarak sunulmuştur.

Serum Nitrite And Nitrate Levels In Patients With Cerebrovascular Accident

Objectives: This study was conducted to determine serum levels of nitrite and nitrate in patients with cerebrovascular accident (CVA) and to assess whether there are correlations between serum NO end-product levels with some clinical and laboratory parameters.

Material and Methods: Thirty-four patients with ischaemic CVA, thirty seven patients with hemorrhagic CVA admitted to the Emergency Department and Outpatient Clinic of Neurology of Turgut Ozal Medical Center together with thirty healthy age and sex matched volunteers were included into this study. Routine blood analyses and cerebral CT scans were taken on admission and after medical treatment. In addition, demographic parameters (age and gender) type of CVA (ischaemic or hemorrhagic), affected side of the body (right or left), severity of CVA (hemiparesis or hemiplegia), and the localization of the pathologic lesion in the CT scan were recorded. Six patients with hemorrhagic CVA who died during the study period were excluded from the analysis.

Results: Statistical values were calculated as mean±standard error. There were no statistical significant differences in serum nitrite concentrations (10.9 ± 0.4 $\mu\text{mol/L}$ vs. 12.0 ± 0.4 $\mu\text{mol/L}$, 10.3 ± 0.3 $\mu\text{mol/L}$ vs. 11.2 ± 0.5 $\mu\text{mol/L}$, $p>0.05$) between the admission level and that after medical treatment in ischaemic and hemorrhagic patients. Similarly there were no statistically significant differences in serum nitrate concentration (24.4 ± 3.3 $\mu\text{mol/L}$ vs. 23.1 ± 2.1 $\mu\text{mol/L}$, 36.1 ± 6.1 $\mu\text{mol/L}$ vs. 29.1 ± 3.4 $\mu\text{mol/L}$, $p>0.05$) between ischaemic and hemorrhagic CVA patients. But, serum nitrite (1.7 ± 0.1 $\mu\text{mol/L}$) and nitrate (18.4 ± 0.9 $\mu\text{mol/L}$) levels in healthy volunteers were significantly lower than both of the patient groups ($p<0.001$). Although, there was no correlation between the clinical and laboratory findings with serum nitrite and nitrate levels in hemorrhagic patients ($p>0.05$), there was a positive correlation between the CVA severity and serum nitrite levels at the admission ($r=0.384$) and that after medical treatment ($r=0.514$) in patients with ischaemic type of CVA ($p<0.05$).

Conclusion: We found that, there was a positive correlation between the severity of CVA and serum nitrite levels at admission and that after treatment in patients with ischaemic CVA. In addition, serum nitrite and nitrate levels were statistically higher in patient groups than healthy volunteers. Our findings suggest that, NO may contribute in pathogenesis of CVA. How this is achieved is not certain and needs further research.

Key words: CVA, Serum, Nitrite, Nitrate, Levels.

Serebral infarkt alanını daraltacak her yararlı müdahale veya tedavide kullanılan ilaç, bu hastaların tedavi sonrasındaki fonksiyonel seviyelerini yükseltecek, gelişebilecek olan komplikasyonları, hastanede kalış süresini ve bu nedenle yapılan sağlık harcamalarını azaltacaktır. Bu nedenle son zamanlarda araştırmacılar, iskekiye bağlı serebral hasarın tedavisinde kullanılan ajanların tekrar gözden geçirilmesi konusunda çaba sarfetme eğilimindedirler.

L-arginin ve oksijenin reaksiyonu sonucu sitrüllin ile birlikte açığa çıkan ve inorganik bir gaz olan NO; beyin kan akımı, trombogenezis ve sinir hücrelerinin aktivasyonunun düzenlenmesinde önemli görevler üstlenmiştir¹. NO, Üç farklı NO sentaz aracılığı ile endotel (eNOS, endotelyal), sinir ve glial (nNOS, nöronal) ve makrofaj (iNOS, indüklenebilir) hücreleri tarafından sentezlenir. Serebral iskekiye esnasında yapısal özellikteki nNOS ve indüklenebilir form olan iNOS aracılığı ile ortamdaki kalsiyum miktarına bağımlı olarak üretilen NO, inflamasyon ile sitotoksik etkiler oluşturarak sinir hücrelerinin ölümüne neden olur. Buna karşın yapısal özellikteki eNOS tarafından sentezlenen NO ise; trombosit agregasyonunu önleyici, lökositlerin endotele adezyonunu inhibe edici ve vasküler dilatasyon ile serebral kan akımını arttırıcı etkileri ile koruyucu özelliklere sahiptir¹⁻⁵. NO'ın serebral iskekiye koruyucu ve hasarlayıcı zıt etkilerin her ikisine de sahip olması, bilimsel olarak bir karışıklığa neden olmakta ve deneysel çalışma verilerinde ise çelişkili sonuçlar elde edilmesinden sorumlu tutulmaktadır¹.

Birçok deneysel çalışma sonuçlarına göre SVO olgularında önemi olduğu bildirilmiş olan NO'ın yeni geçirilmiş olan SVO vakalarında serum seviyelerini saptamak, tedavi öncesi ve sonrasındaki düzeylerini kıyaslamak ve iskekiye ile hemorajik tipteki olgular arasında serum düzeyleri arasında fark olup olmadığını tespit etmek, serum NO düzeyleri ile bazı klinik ve laboratuvar parametreler arasında herhangi bir ilişkinin olup olmadığını saptamak ve normal kontrollerle karşılaştırmak amacı ile bu çalışma planlandı.

MATERYAL ve METOT

Olgu Seçimi: Eylül 2000-Şubat 2001 tarihleri arasında hastanemiz nöroloji ve acil polikliniklerine semptomların ortaya çıkışından itibaren ilk 24 saatte başvurup, SVO tanısı konmuş 34'ü iskekiye, 37'si hemorajik toplam 71 olgu ile yaş ve cinsiyetleri uyumlu çalışma hakkında bilgilendirilen 30 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. Takip eden günlerde eks ile sonuçlanan 6 hemorajik SVO'lu olgu çalışmadan çıkarıldı.

Parametreler: Olguların demografik özellikleri yanısıra SVO'nun tipi, tutulan taraf, hemiparezi/hemipleji oluşu ve CT'de lezyonun bulunduğu bölge kaydedildi. Tedaviden önce ve sonra (taburcu olurken) olmak üzere elde edilen venöz kan örneklerinden ESR incelemeleri için antikoagülanlı tüplere, diğer parametreler için ise kuru tüplere gerekli miktarda kan örnekleri dağıtıldı. Serum direkt nitrit düzeyleri, serumların Griess reaktifi muamele edilmesi sonucu tespit edildi. Serum total nitrit düzeyleri ise, serum nitratının kadmiyumla nitrite indirgenmesi sonrası Griess reaksiyonu⁶ ile ölçüldü. Nitrat seviyeleri, total total nitritten direkt nitrit değerlerinin çıkarılması ile elde edildi.

Rutin kan analizlerinden birkaç gün önceden başlamak üzere sağlıklı bireyler tarafından yüksek oranda nitrat içeren et mamülleri ve sebze yiyeceklerin tüketilmemesi sağlandı. Yaklaşık 10 saatlik açlığı takiben sabah 8-10 saatleri arasında venöz kan örnekleri alındı. Diyet önerilerimize uymadığı tespit edilen kontrol bireyleri çalışmadan çıkarıldı.

İstatistiksel analiz: Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 10.0 paket programı kullanılarak, veriler ortalama±standart hata olarak belirlendi. Analizlerde, bağımsız örneklerde ve eşleştirilmiş örneklerde t testleri ile Pearson korelasyon testleri kullanıldı. Anlamlılık derecesi olarak p<0.05 kabul edildi.

BULGULAR

Tespit edilen klinik bulgulara göre; iskekiye (%50'si kadın, 60.7±2.6 yaş) ve hemorajik

Serebrovasküler Olay Geçiren Hastalarda Serum Nitrit ve Nitrat Düzeyleri

(%51.6'sı kadın, 63.3±1.5 yaş) olgularda sırası ile, 16 (%47.1) ve 18 (%58.1) olguda sağ lateralizasyon ile 16 (%47.1) ve 13 (%41.9) olguda da sol lateralizasyon tespit edilirken, iskemik olgulardan 2'sinde (%5.9) ise belirgin bir lateralizasyon tespit edilmedi.

SVO şiddetinin göstergesi olan kuvvet kaybı gelişimi bakımından iskemik ve hemorajik olgularda sırası ile; 22 (%64.7) ve 20 (%64.5) olguda hemiparezi saptanırken, 9 (%26.5) ve 11 (%35.5) olguda ise hemipleji saptandı. İskemik olguların 3'ünde (%8.8) ise belirgin bir lateralizasyon tespit edilmedi.

Lezyon yerleşimi bakımından olgular değerlendirildiğinde; iskemik ve hemorajik olgularda sırası ile 20 (%58.8) ve 7 (%22.6) olguda periferik, 14 (%41.2) ve 24 (%77.4) olguda ise santral lezyon lokalizasyonu tespit edildi.

İskemik olgularda ortalama hastanede yatış süresinin 15.91±1.73 gün (5-32), hemorajik olguların ise 18.64±1.54 gün (6-35) olduğu tespit edildi (Tablo). İskemik olgulara başlıca antiagregan içerikli, hemorajik olgulara ise antiödem içerikli medikal tedaviler uygulandı. Ek olarak mevcut sistemik rahatsızlıklara yönelik semptomatik ilaçlar tedavi protokolüne eklendi.

Tedaviden önce ve sonra serum nitrit ve nitrat seviyeleri karşılaştırıldığında, hem iskemik hem de hemorajik olgularda nitrit (10.9±0.4 µmol/L ve 12.0±0.4 µmol/L, 10.3±0.3 µmol/L ve 11.2±0.5 µmol/L) ve nitrat (24.4±3.3 µmol/L ve 23.1±2.1 µmol/L, 36.1±6.1 µmol/L ve 29.1±3.4 µmol/L) değerleri arasında istatis-

tiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Bununla birlikte, kontrol grubunu oluşturan bireylerin serum nitrit (1.7±0.1 µmol/L) ve nitrat (18.4±0.9 µmol/L) düzeyleri hasta gruplarındaki olgulara göre daha düşük seviyelerde tespit edildi.

İskemik ve hemorajik olgularda serum nitrit ve nitrat değerleri ile; SVO'nun tipi, etkilenen vücut tarafı ve CT'deki lezyonun yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir ilişki saptanmazken (p>0.05), iskemik olgularda klinik tablonun şiddeti ile hem tedavi öncesi (r=0.384) ve hem de tedavi sonrası (r=0.514) serum nitrit seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p<0.05).

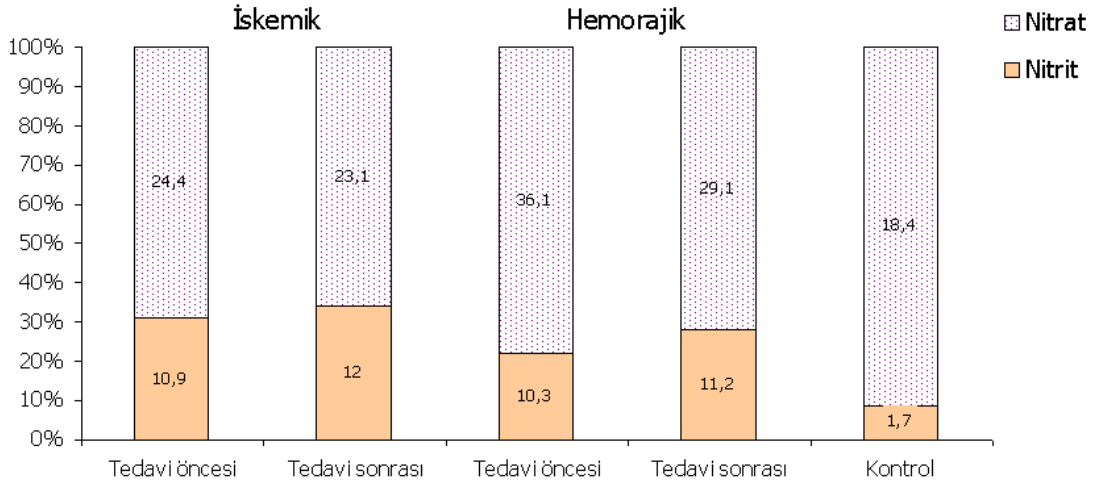
Buna ilave olarak, hem iskemik hem de hemorajik SVO'lu olgularda tedavi öncesi ve sonrasındaki serum nitrit ve nitrat düzeylerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oldukları tespit edildi (p<0.001) (Grafik).

TARTIŞMA

İskemiye bağlı beyin dokusu hasarında bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO)'ün de rol oynadığı yönünde veriler elde edilmiş olup^{2,5,7}, son zamanlarda serebral iskeminin tedavisindeki başlıca hedef haline gelmiştir⁸. NO'nin SSS'deki etkileri oldukça kompleks ve tam anlaşılammış görünmektedir^{3,4,8,9}. NO'nin hem koruyucu hem de hasarlayıcı fonksiyonlarının olduğu yönünde bulgular bildirilmiş olup^{3,5,9,10}, özellikle endotelial kökenli NO'nin iskemik bölgede kan akımını arttırması sonucu SVO'nun prognozunu olumlu yönde

Tablo 1.

Değişken	İSKEMİK	Hemorajik
Yaş (yıl)	60.7±2.6	63.3±1.5
Cinsiyet		
Erkek	17 (%50.0)	15 (%48.4)
Kadın	17 (%50.0)	16 (%51.6)
Lateralizasyon		
Sağ	16 (%47.1)	18 (%58.1)
Sol	16 (%47.1)	13 (%41.9)
Yok	2 (%5.9)	0
Kuvvet kaybı		
Hemiparezi	22 (%64.7)	20 (%64.5)
Hemipleji	9 (%26.5)	11 (%35.5)
Belirgin değil	3 (%8.8)	0
Lezyon yerleşimi		
Periferik	20 (%58.8)	7 (%22.6)
Santral	14 (%41.2)	24 (%77.4)
Yatış süresi (gün)	15.9±1.7	18.6±1.5



Grafik. Tedavi öncesi ve sonrası SVO'lu olguların serum total nitrit ve nitrat düzeyi seviyeleri ($\mu\text{mol/L}$) ve yüzde dağılımlarının kontrol grubu ile karşılaştırılması. Sütun içi rakamlar ortalama değerleri, y eksenine ise total nitrit / nitrat değişimleri yüzde oran olarak verilmiştir.

etkilemesinin yanısıra beyin parenkiminde fazla miktarda üretilmiş olan NO'nin ise doku hasarına neden olduğu bildirilmiştir^{2,3}. eNOS kaynaklı NO'nin serebral iskemi esnasında koruyucu rolünün olduğu^{2,4,11}, nNOS ile iNOS kaynaklı NO'nin ise sitotoksik etkilerinin olduğu^{3,4,11} tespit edilmiştir. Bununla beraber, NO'nin SSS'de nöronal bir haberci olduğuna dair sonuçlar bildirilmiştir^{5,12}. Serebral vazodilatasyon, uzun dönemde potent özellikler gösterme, iskemi sonrası kan-beyin bariyerinin geçirgenliğinde artışa neden olma ve eksitotoksik etkileri bunlar arasında sayılabilir^{7,13}. NO'nin hücre hasarlanmasına sebep olması ile ilgili olarak öne sürülen mekanizmalar; demir içeren enzimlerin inhibisyonuna sebep olması, peroksinitrit veya hidroksil radikallerini üretmesi, tiol inaktivasyonu, proteinlerin ribozilasyonuna yardımcı olması ve DNA sentezini bozması şeklinde sıralanabilir^{2,7,14}. Mevcut veriler, iskeminin başlangıç döneminde ortaya çıkan NO'nin hem nNOS hem de eNOS kaynaklı olduğunu ve nNOS'un inaktive edilmesine kadar ilgili dokularda bulunabileceğini göstermektedir².

İskemik alandaki hücre hasarından sorumlu tutulan mekanizmalar arasında; serbest radikallerin oksidatif etkileri, hücredeki enerjinin depleasyonu ve gen ekspresyonundaki değişiklikler sonucu apoptotik hücre ölümü sayılabilir¹⁴. Normal koşullarda hücre metaboliz-

ma son ürünlerinden olan serbest radikaller; superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, α -tokoferol ve askorbik asitten oluşan sistem tarafından uzaklaştırılır. Glikoz ve oksijen yetersizliğinin söz konusu olduğu iskemik olaylarda, mitokondriyal fonksiyonlardaki yetersizlik sonucu bu serbest radikaller ortamdan uzaklaştırılmaz ve hücre hasarı oluşur¹⁴.

Deneyisel çalışmalarda iNOS kaynaklı NO'nin serebral iskemiye takiben ilk 12 saat içinde ortaya çıktığı, ikinci günde pik yapıp yedinci günde ise normal seviyelere döndüğü⁵, endotelial kökenli NO'nin iskeminin ilk bir saatlik döneminde arttığı, 24. saatte pik oluşturduğu ve ortalama 7 günde normal seviyelere gerilediği ve nöronal kökenli NO'nin ise ilk üç günlük periyotta seviyesinin arttığı daha sonra normale döndüğü bildirilmektedir³. İskemik olayın başlangıç döneminde (<2 saat) NO'nin koruyucu rol oynadığı, ilerleyen dönemde ise (>6 saat) hasarlayıcı etkilerinin olduğu bildirilmektedir^{3,9}.

NO metabolitlerinin tespiti, artmış veya azalmış beyin dokusu hasarının tayini bakımından bilgi vermesi yönü ile önem taşır. Castillo ve arkadaşlarının yaptıkları klinik bir çalışmada¹; iskemik SVO'lu hastalarda omurilik sıvısında NO metabolitlerinin düzeyinin kontrol grubuna göre ilk 24 saatlik dönemde anlamlı

olarak yüksek düzeyde olduğu ve yüksek NO tespit edilenlerde; üçüncü aydaki fonksiyonel düzeylerin daha alt seviyelerde olduğu, iskemik infarktların daha çok kortikal yerleşimli olduğu, klinik olarak daha ağır bir tablo ile başvurmuş oldukları, nörolojik bulguların daha erken ortaya çıktığı ve infarkt alanlarının daha geniş olduğu bildirilmiştir. Elde edilen bu verilerle, deneysel çalışmalarda NO'nin koruyucu etkilerinin de olabileceği yönündeki bulgularını desteklemediğini ve yüksek düzeydeki NO'nin sitotoksik etkilerinin ön plana çıktığına işaret edilmiştir. Bu veriler ışığında, nNOS ve iNOS'un spesifik olarak inhibe edilebilmesini sağlayacak olan ilaçların önümüzdeki yıllarda SVO'nun tedavisinde ön sıralarda yer alabileceği düşüncesini oluşturmaktadır^{3,5}.

Bu araştırmada, iskemik ve hemorajik olgularda serum nitrit ve nitrat değerleri ile; SVO'nun tipi, etkilenen vücut tarafı ve CT'deki lezyonun yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir ilişki saptanmazken ($p>0.05$), iskemik olgularda klinik tablonun şiddeti ile hem tedavi öncesi ($r=0.384$) ve hem de tedavi sonrası ($r=0.514$) serum nitrit seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p<0.05$). Buna ilave olarak, hem iskemik hem de hemorajik SVO'lu olgularda tedavi öncesi ve sonrasındaki serum nitrit ve nitrat düzeylerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oldukları tespit edildi ($p<0.001$).

SVO'nun patogenezinde önemli rolü olabileceği yönünde görüşler bildiren birçok deneysel çalışma bulunmasına rağmen yeterli sayıda klinik çalışma yoktur. Literatür taramalarında rastlayabildiğimiz bir çalışmada, SVO'lu olgularda beyin omurilik sıvısında NO düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiş olup¹, bizim

çalışmamızda ise hastalarımızdan BOS elde edemediğimizden nitrit ve nitratın serum düzeyleri çalışılmıştır.

Bu bulgular, hem iskemik hem de hemorajik SVO'lu olgularda serum NO düzeylerinin yükseldiğini, klinik tablonun şiddeti ile orantılı olarak iskemik olgularda serum nitrit seviyelerinin arttığını ve muhtemelen patolojik sürecin devam etmesine bağlı olarak bu seviyelerin medikal tedaviden sonra hala yüksek kalmaya devam edebildiği ve elde edilen verilerin önceki çalışma sonuçları ile uyumluluk gösterdiği görüşlerini desteklemektedir. SVO'lu olgularda serum nitrit ve nitrat seviyeleri tespit edilerek hastalığın şiddeti hakkında bilgiler edinilebileceği görüşüne varıldı.

KAYNAKLAR

1. Castillo J, Rama R, Davalos A. Nitric oxide-related brain damage in acute ischemic stroke. *Stroke* 2000; 31: 852-7.
2. Gursoy-Ozdemir Y, Bolay H, Saribas O, Dalkara T. Role of endothelial nitric oxide generation and peroxynitrite formation in reperfusion injury after focal cerebral ischemia. *Stroke* 2000; 31: 1974-80.
3. Nemoto EM. A complex role for nitric oxide in ischemic stroke. *Crit Care Med* 2000; 28: 280-1.
4. Faraci FM, Brian JE. Nitric oxide and the cerebral circulation. *Stroke* 1994; 25: 692-703.
5. Samdani AF, Dawson TM, Dawson VL. Nitric oxide synthase in models of focal ischemia. *Stroke* 1997; 28: 1283-8.
6. Stichtenoth DO, Frolich JC. Nitric oxide and inflammatory joint diseases. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 246-57.
7. Zhang J, Benveniste H, Klitzman B, Piantadosi CA. Nitric oxide synthase inhibition and extracellular glutamate concentration after cerebral ischemia/reperfusion. *Stroke* 1995; 26: 298-304.
8. Fassbender K, Fatar M, Ragoschke A, Picard M, Bertsch T, Kuehl S, Hennerici M. Subacute but not acute generation of nitric oxide in focal cerebral ischemia. *Stroke* 2000; 31: 2208-11.
9. Iadecola C, Zhang F, Casey R, Clark HB, Ross ME. Inducible nitric oxide synthase gene expression in vascular cells after transient focal cerebral ischemia. *Stroke* 1996; 27: 1373-80.
10. Wei HM, Chi OZ, Liu X, Sinha AK, Weiss HR. Nitric oxide synthase inhibition alters cerebral blood flow and oxygen balance in focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 1994; 25: 445-9.
11. Huang Z, Huang PL, Panahian N, Dalkara T, Fishman MC, Moskowitz MA. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science* 1994; 265: 1883-5.
12. Snyder SH, Brett DS. Nitric oxide as a neuronal messenger. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12: 125-8.
13. Chi OZ, Wei HM, Sinha AK, Weiss HR. Effects of inhibition of nitric oxide synthase on blood-brain barrier transport in focal cerebral ischemia. *Pharmacology* 1994; 48: 367-73.
14. O'Mahony D, Kendall MJ. Nitric oxide in acute ischaemic stroke: a target for neuroprotection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67: 1-3.