

T.C.  
GENEL KURMAY BAŐKANLIĐI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMSİ  
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ  
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI BAŐKANLIĐI

**DENEYSSEL FOKAL SEREBRAL İSKEMİDE ORTA DERECELİ HİPOTERMİNİN  
ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

BÜLENT DÜZ  
Tbp. Yzb.

ANKARA-2002

## ÖNSÖZ

Strok, dünya genelinde en çok mortaliteye neden olan ikinci etmendir. Tüm dünyadaki ölümlerin % 9,5'unun strok kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir. Dünya çapında strok önleme programlarının olmayışı, strok risk faktörlerinin toplum tarafından bilinmeyişi ve strok koruyucularının yanlış kullanımı, tıp fakültelerinde strok önleme konusunun yeteri kadar vurgulanmaması sebebiyle strok önleme programlarında tüm dünyada ciddi bir boşluk bulunmaktadır.

Bu çalışmada iskemik serebral hasarı önlemede hipoterminin etkinliği incelenmiştir. Nöroşirürirji kliniğinde uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerilerimin gelişmesinde büyük katkıları olan, hocam, Prof. Dr. Erdener TİMURKAYNAK'a, asistanlığım süresince bilgi ve tecrübeleriyle bana her zaman yardımcı olan hocalarım Prof. Dr. Altay BEDÜK, Doç. Dr. Alper BAYSEFER, Doç. Dr. M. DANEYEMEZ'e ve tez konumu bana vererek her aşamasında yanımda bulunan Doç. Dr. Engin GÖNÜL'e, kendilerinden çok şeyler öğrendiğim, Yrd. Doç. Dr. Hakan KAYALI, Yrd. Doç. Dr. K. Melih AKAY, Yrd. Doç. Dr. Ersin ERDOĞAN, Yrd. Doç. Dr. Serdar KAHRAMAN ve Yrd Doç Dr. Sait ŞİRİN'e gönülden saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimde kullandığım malzemelerin alımını sağlayan GATA Komutanı Korgeneral Ömer KEÇECİGİL'e, tezimi yaparken metod konusunda ileri derecede faydasını gördüğüm Nöroloji kliniğinden Yrd. Doç Dr. Fatih Özdağ'a ve kaybetmekten büyük üzüntü duyduğum Mikrocerrahi Eğitim Merkezinde görevli Biyolog Ergin YÜCE'ye (Merhum), Patoloji uzmanı Dr. Önder ÖNGÜRÜ'ye, istatistik çalışmalarında bana yardımcı olan Halk Sağlığı uzmanı Dr. Recai OĞUR'a ve hipotermi ünitesinin elektronik teşkilatını kuran elektronik mühendisi Mustafa MİHMANLI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca yakın dostluk ve desteklerini gördüğüm tüm asistan arkadaşlarıma, klinik hemşire ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca eşim A. Gönül DÜZ'e tüm özveri ve desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

<b>I-</b>	<b>GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>II-</b>	<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
	Serebral iskemi.....	2
	Tanım.....	2
	Etiyoloji.....	3
	Serebral kan akımı ve enerji metabolizması.....	4
	Asidoz.....	8
	Nörotransmitter disfonksiyonu.....	8
	Biyojenik aminler.....	9
	Aminoasit nörotransmitterleri.....	9
	Kalsiyum.....	10
	Serbest radikaller.....	11
	Kan beyin bariyer değişiklikleri.....	13
	Hipotermi.....	13
	Hipotermi ile ilgili çalışmaların tarihçesi...	13
	Hipoterminin nöroprotektif mekanizması ile ilgili görüşler	14
<b>III-</b>	<b>MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>15</b>
	Operasyon.....	18
	Hipotermi.....	22
	Nörolojik muayene.....	23
	Dekapitasyon ve kesitlerin boyanması.....	24
<b>IV-</b>	<b>BULGULAR</b> .....	<b>27</b>
	İstatistiksel çalışmalar	29
<b>V-</b>	<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>33</b>
	Sonuç	40
<b>VI-</b>	<b>ÖZET</b> .....	<b>41</b>
<b>VII-</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>42</b>
<b>VIII</b>	<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>43</b>

-

## GİRİŞ

Strok, insanlarda genellikle tek bir intrakranial arterin tıkanarak tam veya kısmi fokal serebral iskemik oluşmasına bağlı olarak gelişen klinik durumdur (10) ve dünya genelinde ikinci mortalite sebebidir (16). Tüm dünyadaki ölümlerin % 9,5'undan ve 16,7 milyon adet olduğu tahmin edilen kardiyovasküler hastalık kaynaklı ölümlerin 5,1 milyonundan sorumlu tutulmaktadır. Çin ve Japonya'da ise strok mortalitenin en önde gelen sebebidir. Tahmin edildiği kadarıyla Çin'deki strok sayısı tüm gelişmiş dünyadakine eşittir. Bütüne bakıldığında strok nedeni ölümlerin üçte ikisi veya daha fazlası gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir (91).

Tüm dünyada risk faktörlerinin profilinde istenmeyen ancak artan bir eğilim söz konusudur. Bunun sebepleri ise şöyle sıralanabilir:

1. Strok önleme programlarının olmaması,
2. Strok risk faktörleri ve strok belirtileri hakkında halkı uyarıcı programların olmaması,
3. Strok koruyucu faktörlerin yanlış kullanımı,
4. Tıp fakültelerinde ve mezuniyet sonrası eğitim programlarında strok önleyici eğitimin üzerinde yeteri kadar durulmaması (35,42,44).

Strok bebeklikten ileri yaşlara kadar hayatın her döneminde görülebilir. Ancak yaş ilerledikçe stroke oranı artmaktadır (61).

Bu tez konusu, GATA Beyin ve Sinir Cerrahisi kliniğinde iskemik serebrovasküler hasarı azaltmak amacıyla hipotermi uygulamalarına başlanmasına zemin hazırlamak üzere belirlenmiştir. Çalışmanın projesi serebral iskemik ile ilgili deneysel çalışmaların sağlanması ve gelecekte yapılacak olan hipotermi-hipertermi araştırmalarına bir zemin oluşturulması amacıyla planlanmıştır. Bu nedenle bir hipotermi-hipertermi laboratuvarı kurulmuş, ratlar üzerinde orta serebral arter okluzyonu yapılarak bir hipotermi tedavi protokolü oluşturulmuş ve orta dereceli hipotermimin kalıcı, fokal, serebral iskemik infarkt üzerine olan volüm azaltıcı etkinliği incelenmiştir.

Bu tez çalışması GATA Mikrocerrahi Eğitim Merkezinde yapılmıştır.

## **GENEL BİLGİLER**

### **SEREBRAL İSKEMİ**

#### **Tanım**

Serebral iskemi, beyin kan akımında azalma ve normal beyin metabolik fonksiyonlarına yeterli gelmeyen kan dolaşımını ifade etmektedir (82,86).

Beyin iskemik toleransı sınırlı olan bir dokudur. İnsan beyninde bir damar tıkanıdığı zaman, sınırlı bir bölgede kan akımı kritik seviyenin altına düşer ve doku nekroza gider. Bu alan “iskemik çekirdek” olarak adlandırılır. İskemik çekirdeği çevreleyen bölgelerde, periferik doğru gittikçe artış gösteren ve kollateral damar sistemleri tarafından beslenen farklı kan akım kuşakları mevcuttur. İskemik stress altındaki bu alanlarda henüz infarkt meydana gelmemiştir. Ancak eğer iskemik durum düzeltilmez ise, bu bölgelerin zaman içerisinde nekroza gitme potansiyeli vardır. Kan akımının azaldığı ancak kalıcı hasarın henüz oluşmadığı beyin bölgesine “kurtarılabilir doku” adı verilir ve bu doku günümüz tedavi yaklaşımlarının temel hedefini oluşturur (8).

Beyin kan akımının azalması veya kesilmesi tüm serebral alanları etkilemişse “global iskemi”, sadece bir bölge etkilenmişse “fokal serebral” iskemi terimleri kullanılmaktadır. Serebral iskemi serebral kan akımının derecesine göre de isimlendirilebilmektedir. Bu anlamda inkomplet serebral iskemide serebral kan akımı tam olarak kesilmemiştir bu durum hipoksi ile seyretmektedir. Komplet iskemide ise beyin kan akımı tam olarak kesilmiştir ve anoksi gelişmiştir. Diğer önemli bir faktör ise iskeminin kalıcılığıdır. Kısa süreli global iskemi sadece hassas nöronları etkilemektedir. Eğer iskeminin süresi uzarsa daha fazla sayıda hücre ve hücre tipleri etkilenmektedir.

## ETİYOLOJİ

Aşağıdaki listede serebral iskemiye yol açan etyolojik faktörler sıralanmıştır (1).

1. Arteriosklerotik tromboz.
2. Geçici iskemik atak.
3. Emboli.
4. Rüptüre veya rüptüre olmamış sakküler anevrizma veya Arterio-venöz malformasyon (AVM).
5. Arteritisler:
  - a.Meningovasküler sifiliz, pyojenik veya tuberkuloz menenjitten sonra gelişen arteritis, postenfeksiyöz arteritler (Tifüs, schistosomiasis, sıtma, trichinosis v.s).
  - b.Konnektif doku hastalıkları (Poliarteritis Nodosa, Lupus Eritematozus), Nekrotizan Arterit, Takayasu Hastalığı.
6. Serebral tromboemboli:Yüz ve sinus enfeksiyonlarının komplikasyonu olarak, menenjit ve subdural ampiyem sonrası, postoperatif ve postpartum tromboemboli .
7. Hematolojik hastalıklar:Polisitemi, sickle-cell anemi, trombotik trombositopenik purpura, trombositoz.
8. Karotid arter travması.
9. Dissekan aort anevrizması.
- 10.Arteriel stenozla birlikte sistemik hipotansiyon: Akut kan kaybı, myokard infarktüsü, Stokes-Adams sendromu, travmatik veya cerrahi şok, sürekli postural hipotansiyon, sensitif karotid sinüs.
- 11.Arteriografi komplikasyonları.
- 12.Tentorial, foramen magnum ve subfalsiyal herniasyonlar.
- 13.Diğer hastalıklar grubu:

Fibromüsküler displazi, Radyoaktiviteye maruz kalma, İntraserebral hematomların lateral basıncı.

Kapalı kafa travmalarında orta serebral arter infarktüsü, Sakküler anevrizmanın lokal basısı.

Oral kontraseptiflerin komplikasyonu, Karotid arter veya orta serebral arterin disseksiyonu.
14. Çocukların ve genç erişkinlerin bazı hastalıkları:

Moyamoya hastalığı

Multipl progressif intrakranial arterial oklüzyon

## **Serebral kan akımı ve enerji metabolizması**

Beynin beslenmesindeki en önemli etken serebral kan akımıdır. Serebral kan akımı (SKA) serebral perfüzyon basıncının (SBP) serebral vasküler rezistansa (SVR) oranıyla belirlenir (28).

$$SKA=SBP/SVR$$

Nöronal doku ve hücrelerin beslenmesi için gerekli olan serebral perfüzyon basıncını, kanı serebral sirkülasyona yollayan arteryel basınç ile venöz dönüş basıncı arasındaki fark belirler. Ortalama serebral perfüzyon basıncı, yatar pozisyondaki bir kişinin beyin tabanındaki ortalama arter basıncına eşittir ki bu değer; diastolik kan basıncı ile (yaklaşık 80 mm/Hg) nabız basıncının üçte birinin toplamının ( $1/3 \times$  yaklaşık 40 mmHg), intrakranial venöz basınçtan (yaklaşık 10 mm Hg) çıkarılmasıyla elde edilen yaklaşık (80-85 mm Hg) değerdir. Bu basınç, dolaşımdaki metabolik moleküllerin serebral dokuya geçişini sağlar. Normal koşullarda serebral perfüzyon basıncı sabittir. Fakat iskemik arteryel kan basıncını veya serebral venöz dönüşü etkileyen durumlar perfüzyon basıncını değiştirebilir. Sistemik arteriel kan basıncı belirli bir değer altına düştüğünde veya intrakranial basınç arttığında, beyinde global olarak perfüzyon basıncı azalır. Serebral perfüzyon basıncının normal olduğu durumlarda, serebral kan akımındaki değişiklikler serebral vasküler rezistansdaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Serebral kan akımında değişikliğe neden olan ve serebral vasküler rezistansı belirleyen serebral arterlerin yarı çaplarının değişmesi, birçok faktörle meydana gelir. Bunlardan potasyum ve hidrojen iyonları damar lümenin etkileyip güçlü kimyasal vazodilatasyon yaparlar. Parsiyel arteryel karbondioksit basınç değişiklikleri serebral vazomotor etki gösterir ve artışı vazodilatasyona, düşmesi vazokonstriksiyona yol açar. Diğer bir güçlü serebral vasküler rezistans belirleyicisi de arteryel oksijen içeriğidir. Parsiyel arteryel oksijen basıncındaki değişiklikler veya hematokrit oynamaları, oksijen taşınımı sabit kalacak şekilde serebral vasküler rezistansda kompensatuar değişikliklere neden olurlar. Serebral kan akımındaki fonksiyona bağlı olan değişiklikler, bölgesel oksijen ve glikoz mekanizmaları ile ilişkilidir. Diğer taraftan beyin sensorimotor ve mental aktiviteleri serebral metabolizma ile yakından ilişkilidir. Öyle ki herhangi bir sebebe bağlı olarak görülen nörokimyasal bir bozukluk veya yetmezlik, hızlı bir şekilde nörolojik bozukluğa

yol açmaktadır. Nöronlar ve glial hücreler, özel fonksiyonları sırasında çeşitli kimyasal işlemlere tabi olurlar. Sinir hücreleri devamlı olarak, membran potansiyelerini korumak, transmitter sentezlemek ve depolamak, aksoplazma üretmek ve bozulan striktürel yapıları yenilemek zorunluluğundadırlar. Serebral dokudaki bütün bu karmaşık aktiviteler enerji gerektirmektedir. Bu nedenle serebral hücreler vücuttaki diğer organlara göre yüksek miktarda enerji ihtiyacı duymaktadır (28).

Strok insanlarda genellikle inkomplet fokal serebral iskemi ile sonuçlanan tek bir intrakranial arterin oklüzyonuna bağlı olarak gelişmektedir. Beyin hasarı bu durumda rezidüel serebral kan akımının şiddetine, kollateral sirkülasyonlara ve oksijen yeterliliğine bağlı olarak değişmektedir. Majör bir serebral arterin oklüzyonu serebral enerji metabolizması üzerine acil olarak düzeltilmesi gereken ve potansiyel zararlı bir durumdur ve bütün serebral hasarlanma prosesinden sorumludur (64).

İskemik beyinlerdeki metabolik çalışmalar yüksek enerji ara ürünlerinde hızlı bir düşme olduğunu, laktatın arttığını ve mitokondriyal solunum zinciri metabolitlerinin azaldığını göstermiştir (41).

İskemik bir foküsdeki düşük adenosin trifosfat (ATP), ve yüksek laktat seviyelerinin potansiyel histopatolojik hasarlanmanın markırları olduğu öne sürülmüştür (52), ancak bunun üzerinde tam bir fikir birliğine varılmamıştır (105).

Serebral iskemide gelişen bazı nörofizyolojik değişiklikler günümüze değin tanımlanmıştır (81). Normal serebral kan akımı  $45-60 \text{ ml} / 100 \text{ g} / 1 \text{ dk}$  dır. 100 gram'da  $20-25 \text{ ml/dk}$ 'lık bir seviyede normotermik hafif anestezi altındaki bir bireyde EEG aktivitesi değişmez. Bu seviyenin altında EEG aktivitesi dereceli olarak kaybolur.  $15 \text{ ml}$ 'nin altında ise uyarılmış elektriksel kortikal cevap kaybolur. Beyin kan akımı  $10-12 \text{ ml}/100\text{gr}/\text{dk}$  olduğunda iyon hemostazı kaybolur, ani ve komplet olarak nöronal depolarizasyon görülür. Nöronlardan hücre dışı aralığına massif potasyum ( $\text{K}^+$ ) iyonu geçişi olur, bununla beraber nöronların içine sodyum ve kalsiyum girişi olur. Bunu da osmotik olarak su tutulumu ve hücre şişmesi takip eder (81).

İskemik odakta farklı hemodinamik ve metabolik fonksiyon gösteren üç alan tanımlanmıştır (117).

1. Santral iskemik alan: Bu alan infarktın ilerlediği alandır.
2. Sınır alan: Kan akımı ve metabolizmanın doku yaşamına yeterli ve yetersiz oluşunun dalgalanmalar gösterdiği alan.
3. Kollateral alan: Canlılığını koruyan alan. Bu alanda genellikle hiperemi görülmektedir.

Santral alanda kan akımı minimal (genellikle 10 ml/100 g/dk'nın altında) ile sıfır seviyeleri arasında değişmektedir (53).

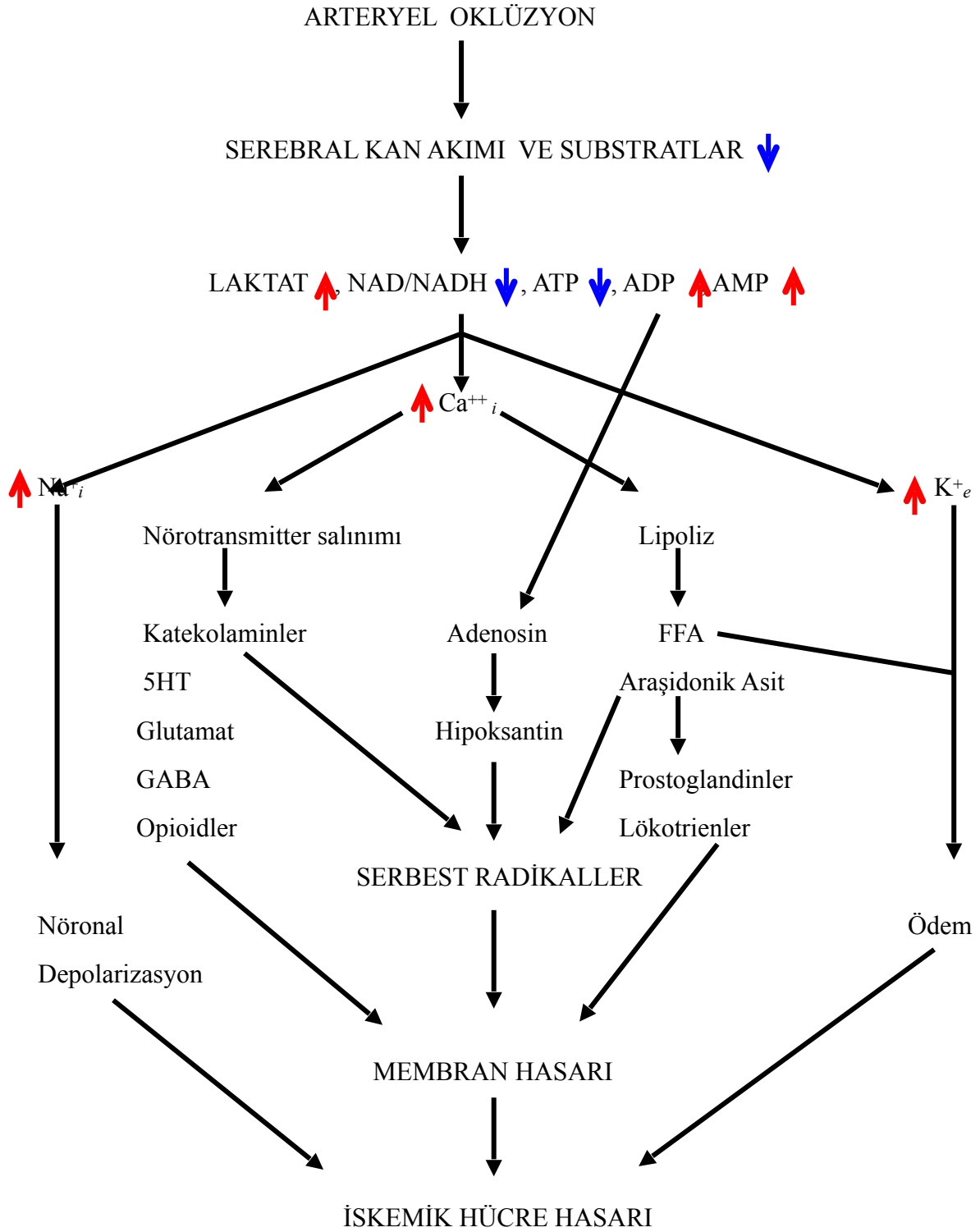
Bu alanda sodyum ve su hücre içine yoğun olarak girmektedir, oksijen ya hiç yoktur veya çok azalmıştır, ve laktik asit birikimine bağlı olarak pH ileri derecede düşmüştür. Sınır alan, başlangıçta Meyer ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır, ancak günümüzde "iskemik penumbra" olarak isimlendirilmektedir (6,69,70).

Bu alanda akım, elektriksel sessizlik yapabilecek 15 ml/100g/dk seviyesinde dalgalanmaktadır, ki bu da iskemik infarkt oluşturacak olan 10 ml/100g/dk seviyesi ile karşılaştırıldığında iskemik infarkt için son derece kritik bir akım miktarıdır. Bu alandaki rezidüel perfüzyon neredeyse normal doku konsantrasyonlarındakine yakın ATP miktarını sağlamaya yeterli oksijeni sağlamaktadır ancak bu oksijen miktarı normalde yüksek olan kreatin fosfat ve düşük olan laktat seviyelerini dengede tutmaya yeterli gelmemektedir. Adenosin difosfat ve adenosin monofosfat seviyelerinde bazı hafif artmalar meydana gelmektedir ki bu da iskemik penumbra enerji açığı olduğunu göstermektedir. Bu metabolik ve akım yetersizliği durumu her zaman doku infarktına neden olmamaktadır fakat nöronal disfonksiyon yapmaktadır, özellikle de selektif nöronal hasara neden olmaktadır (92,93).

İskemik penumbra hücre hasarlanmasını belirleyen kritik kan akımının ve metabolik değişikliklerin anlaşılması çok önemlidir, çünkü akut fokal iskemik stroklu hastalarda

tedavi gayretlerini bu alanın sınırları içerisinde odaklanmaktadır. Tahmin edileceği gibi santral alanda olduğu gibi iskemik penumbra da şiddetli iskemiyle ilk yüz yüze gelen alandır fakat bu alanlarda hala reperfüzyon ve kollateral dolaşım şansı mevcuttur. İskemik penumbranın metabolik ve hemodinamik statüsü iskeminin süresine, kollateral dolaşım veya resirkülasyonun gelişmesi sırasında oluşan olaylar zincirine bağlıdır. Özetle strok patofizyolojisi ve iskemik harabiyetten dokuların kurtulması birçok faktöre bağlıdır. Bu faktörler arasında tekrar akımın gelişmemesi, iskeminin komplet veya inkomplet olması (paradoksik olarak inkomplet iskemi komplet iskemiye oranla daha fazla zarar verici olmaktadır), hemodinamik faktörlere veya metabolik arzın yeterli olmamasına bağlı postiskemik hipoperfüzyon, kollateral sirkülasyon, ödem gelişmesi, doku pH seviyesi, preiskemik glukoz miktarı, kalsiyum proteaz, kinaz, endonükleaz, ve fosfolipaz gibi birçok katabolik enzimin aktivasyonu ile, ayrıca, serbest oksijen radikalleri nitrik oksit ve peroksinitrit'in de çeşitli yollarla apoptotik ve nekrotik hücre ölümüne katkıda bulunması sayılabilir (2,8,38,40,52,111).

Enerji metabolizmasının bozulmasını gösteren muhtemel biyokimyasal olayları yansıtan bir şema Tablo I'de verilmiştir (117).



**Tablo I.** Serebral iskemide gelişen biyokimyasal olaylar. NAD, nikotinamid adenin dinükleotid; NADH, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid; ATP, adenosin trifosfat; ADP, Adenosin difosfat; AMP, adenosin monofosfat; Ca<sup>++i</sup>, intrasellüler kalsiyum iyonu; Na<sup>+i</sup>, intrasellüler sodyum iyonu; K<sup>+e</sup>, ekstrasellüler potasyum iyonu; 5HT, 5 Hidroksitriptamin; FFA, serbest yağ asitleri; GABA, Gamma-aminobütirik asit.

## **Asidoz**

Hidrojen iyon regülasyonunun bozulması iskemik beynin kurtarılması için kritik olabilir. Fizyolojik olarak

1. Ekstrasellüler pH lokal beyin kan akımını dolayısıyla da dokulara oksijen arzını kontrol edebilir (60).
2. Membran transfer mekanizmaları (örn: glukoz transportu, nörotransmitter salınımı ve geri alınımı) pH bağımlıdır (65, 105)
3. İntrasellüler hidrojen iyon konsantrasyonları sitoplazmik enzim aktivitesini özellikle de glikolizisde görev alan enzimlerin aktivitelerini kontrol edebilir (105).
4. Mitokondri içinde ATP üretimi pH bağımlı olabilir (74).

Bunlarla beraber hücrede asit-baz dengesini kompanse edebilecek çok gelişmiş mekanizmalar vardır.

İskemide, beyin intrasellüler iyon konsantrasyonlarının regülasyonu ileri derecede stres altında kalmıştır. Oksijenin olmaması, doku laktik asit yıkımında ve CO<sub>2</sub> birikiminde ATP sentezini sağlamak için anaerobik glikolizisi stimüle eder. İnkomplet iske mi veya rekanalizasyon nedeniyle beyine glukoz arzı devam ederse, hücrelerin zaten düşmüş olan pH seviyesini kompanse etmek için stres altında olduğu kritik bir zamanda glikolitik aktivite stimüle olur ve daha fazla metabolik asit birikimi olur. Bu nedenle inkomplet iskemide komplet iskemiye oranla görülen daha fazla hasarlanma, doku laktik asidoz seviyesini arttırmaya devam eden substrat arzı nedeniyle olabilir. Myers ve Yamaguchi, rhesus maymunlarında beyin laktat seviyelerinin 25µM/g'ın üzerine çıktığında irreversibl nörolojik defisite yol açtığını göstermişlerdir (75). Hayvanların aç bırakılmaları iskemiye rezistanslarını arttırmıştır. Bu çalışmalarla uyumlu olarak, kedilerde iskemi öncesi glukoz yüklenmesinin postiskemik periyotta enerji metabolizmasını dramatik olarak bozduğu gösterilmiş ve bu da laktik asidozise bağlanmıştır (119). Hayvan deneylerinin ikna edici olmalarına karşın glukozun iskemik prosesin ilerlemesinde kritik bir faktör olduğuna yönelik yeterli klinik veri yoktur (117).

## **Nörotransmitter disfonksiyonu**

Akut serebral iskeminin ardından irreversibl iskemik hücre değişikliklerine sebep olan tetikleyici faktörün serebral enerji metabolitlerinde aşırı azalma olduğu konusunda yukarıda anlatıldığı üzere genel bir görüş birliği vardır (117). Ancak iskeminin ardından

serebral sirkülasyonun tekrar başlaması halinde enerji metabolit seviyesi eski seviyesine çıkmasına rağmen nörolojik defisit iyileşmez. Grossman ve Williams'ın nörofizyolojik çalışmaları nöronların sinaptik bölgelerinin anoksiye selektif olarak duyarlı olduklarını göstermiştir (46). Bu bulgu iskemide nörotransmitter disfonksiyonuna yönelik biyokimyasal ve farmakolojik çalışmaların başlamasına yol açmıştır. Bu nedenle biyojenik aminlerin iskemideki rolü üzerine deneysel çalışmalar yapılmıştır(117).

### **Biyojenik Aminler**

Biyojenik aminlerin serebral iskemi ile ilişkilerinin ilk gösterilmesinden bu yana çok sayıda çalışmalar yapılmıştır, bununla beraber halen iskemi patojenezindeki yerleri tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (118). Enerji açığı muhtemelen masif katekolamin ve 5 hidroksitriptamin (5HT) deşarjına yol açmaktadır. Bununla beraber reperfüzyon nörotransmitter seviyelerinde değişik derecede iyileşmeler sağlamaktadır. Örneğin resirkülasyonda katekolamin sentezi hızlanır ve 5HT hızla düşer. Sonuç olarak 5HT ve katekolaminlerin vazooaktivitesi nedeniyle ya serebral kan akımında disotoregülasyon veya vazospazm progressif iskemiye yol açmaktadır. Aynı aminler platelet agregasyonuna da neden olarak intravasküler staza yol açmakta ve iskemiye greve etmektedirler. Presinaptik katekolamin ve 5HT deşarjı teorik olarak sellüler metabolizmayı stimüle eden yoğun bir nöronal aktiviteyi tetiklemektedir ki bu da irreversibl hücre hasarına yol açmaktadır. Buna ek olarak aşırı serbest katekolaminlerin oto-oksidasyonundan oluşan superoksit radikaller membranların lipit peroksidasyonuna yol açarlar. Bu da irreversibl hücre hasarına katkıda bulunur (117).

Deneysel strok modellerinde katekolaminler ve 5 HT sistemlerinin iskemik hücre hasarına karşı koruyucu etkinlikler çalışılmıştır (117). Bazı çalışmalarda iskemi öncesi beyin katekolamin ve 5 HT seviyelerinin düşürülmesinin iskemik beyin hasarını azalttığı gösterilmiştir. Fenoksibenzamin ve propranolol ile santral alfa ve beta blokör tedavisi ayrı ayrı çalışılmıştır. Çok az sayıda hastada akut veya subakut strokta serebral infarkt, serebral kan akımı, metabolizma ve elektroensefaloografi (EEG) sonuçlarının iyileştiği gözlenmiştir ancak bu iki ilacın kombinasyonundan fayda sağlanmamıştır (71).

### **Aminoasit Nörotransmitterleri**

Bazı nöronlar hipoksik iskemiye daha fazla duyarlıdır. Bunların arasında purkinje hücreleri ile CA1,3 ve 4 alanlarındaki hipokampal piramidal nöronlar major

glutaminerjik sinaptik inputu alırlar. İskemik beyinde, salgılanan glutamat, presinaptik yapılarda daha fazla toplanmaktadır ve bu da daha sonra postsinaptik aşırı salınımına neden olmaktadır. Fizyolojik konsantrasyonlardan daha fazla birikim olduğunda glutamat, glutamat reseptörlerini harekete geçirerek nörotoksik olabilir. İskemik anoksida glukozun varlığı glutamat deşarjına neden olur bu da inkomplet iskeminin komplet iskemiye oranla daha fazla hasarlanmaya neden olmasına katkıda bulunan etmenlerdendir. Glutaminerjik reseptör aktivitesi ile yarışan ajanların anoksik nöronal hasarı üzerine protektif etkinliği olduğu gösterilmiştir.

Gamma aminobutirik asit (GABA) iskemiden etkilenen diğer bir aminoasit nörotransmitterdir.

Hayvanlarda serebral anoksida, yıkımı azaldığından beyin dokusunda GABA birikimi olduğu gösterilmiştir. Ancak bunun iskemik hücre hasarı ile olan ilişkisi kesin olarak ortaya konmamıştır (117).

### **Kalsiyum**

Kalsiyum ( $Ca^{2+}$ ) hücreden hücreye iletişimde önemli görevler yapmaktadır ve stimulus-cevap-metabolizma sürecinde sekonder haberci olarak rol oynamaktadır. Kalsiyumun fizyolojik olaylarda da önemli yeri vardır, örneğin hafıza formasyonu ve depolanmasında rol oynamaktadır ve ayrıca nörit ekstensiyonu ve gelişim süresince sinaps oluşumunu module etmektedir. İntarsellüler kalsiyumda aşırı artışın hücre ölümüne karşı mekanizmaları harekete geçirdiğine inanılmaktadır (100).

Kalsiyumun hipoksik iskemik beyin hasarında rol oynadığına yönelik önemli bulgular mevcuttur. Kalsiyum sellüler hemostazın regülasyonunda önemli bir rol oynamaktadır (117). Ekstrasellüler sıvıda kalsiyum iyonlarının konsantrasyonu yüksektir ( $10^{-3}$ ) intrasellüler sıvıda ise kalsiyum iyon konsantrasyonu ise yaklaşık olarak  $10^{-6}$ 'dır. Bu plazma membranının kalsiyuma rölatif impermeabl olmasını düzenleyen konsantrasyon gradientini oluşturmaktadır. Kalsiyumun sellüler aktivitesi kalsiyum bağlayan proteinlere bağlanarak farklı enzim sistemlerinde aktif kompleksler oluşturması ile düzenlenmektedir. Primer kalsiyum bağlayan protein ise Calmodulin'dir. Bu kompleks farklı enzim sistemlerinde görev almaktadır. 1- Presinaptik vesikülden nörotransmitter salınımı, 2-Membran fosfolipitlerinde araşidonik asit yoluyla prostoglandinlerin

oluşumu, 3- Değişik fosfokinazlar ve fosforilazlar yoluyla siklik adenozin monofosfatın (cAMP) oluşumu ve yıkımı, 4- Membran bağımlı  $Ca^{2+}$  ATPaz yardımıyla sistolik  $Ca^{2+}$  seviyesinin regülasyonu.  $Ca^{2+}$  ATPaz'ın hücre içi kalsiyum seviyesinin yükselmesi ile aktive olduğuna ve  $Ca^{2+}$  'un hücreden atılmasında sorumlu olan enzim olduğuna inanılmaktadır (117).

Kalsiyumun nonfizyolojik intrasellüler yükselmesi derinlemesine çalışılmıştır. Kalsiyumun intrasellüler yükselmesi lipazların, proteazların ve endonükleazların overaktivasyonuna yol açar, protein kinazların aktivasyonu ile reseptör fonksiyonlarını, membran kanallarının fonksiyonlarını değiştirir, ve fosforilasyonla iyon translokasyonlarına neden olur. Akut hücre hasarına neden olan anahtar faktörlerden birisi, proteazların aktivasyonu olabilir. Proteazların aktivasyonu ile hücre iskeletinin komponentleri yıkılır ve hücre iskeleti ile plazma membranı arasındaki ilişki bozulur. Muhtemelen aynı derecede önemli başka bir mekanizma da, fosfolipazlar tarafından tetiklenmektedir (107).

Teorik olarak kalsiyum bağımlı iskemik hücre değişikliklerine karşı farmakolojik tedavinin birçok mekanizması vardır: Hücre içine transmembran kalsiyum diffüzyonunun önlenmesi, kalsiyum kalmodulin kompleksinin oluşmasının inhibisyonu veya ayrılmasının sağlanması, yüksek intrasellüler kalsiyum tarafından indüklenen bazı enzimlerin inhibisyonu. Kalsiyum kanal blokörleri membran kanallarını değiştirerek kalsiyumun hücre içine girmesini engellerler. Kalsiyum antagonistlerinden nifedipin ve nimodipin ilk araştırılan etken maddelerdir. Baboonlarda orta serebral arter okluzyonundan sonra nimodipinin, iskemik fokusta kan akımını belirgin olarak arttırdığı bulunmuştur (49). Özetle kalsiyum kanal blokerlerinin serebral iskemide faydalı oldukları ve çoğunun bu etkiyi açıklayabilecek vazodilatatör etkinliğe sahip oldukları bilinmektedir (117).

### **Serbest radikaller**

Serbest radikaller aminoasitlerden prostoglandinlerin ve lökotrienlerin üretilmesi esnasında, lizozomların mitokondrilerindeki elektron transport zincirinde oksidatif fosforilasyon esnasında, ortaya çıkarlar. Lizozomlarda mikroorganizmaların öldürülmesi amacıyla kullanılırlar. Serbest radikaller biyolojik sistemler içinde son derece reaktiftirler

ve hücreler için hızla ölümcül olan uzun polimerizasyon reaksiyonlarını ve lipid peroksitleri indükleyebilmektedirler (21).

Son 30 yıldır serbest radikallerin birçok dokuda hücre ölümüne katkıda bulduklarına ilişkin yayınlar mevcuttur (117). Serbest radikal hipotezi, hipoksik stres, yaşlanma, kanser ve iskemiye bağlı olarak değişen çok genel bir faktör olan serbest radikallerin hücre ölümüne nasıl katkıda bulunabileceğini açıklamaya çalışan, incelikle işlenmiş bir hipotezdir. Yaklaşık 25 yıl önce Demopoulos ve ark. serbest radikallerin hücre ölümüne katkıda bulduklarını öne sürmüşlerdir (29). Ardından serbest radikal bağımlı beyin hasarını inceleyen birçok araştırma yapılmıştır (11,21,39,48,84,101,102,122).

İskemik serebral hasarı açıklamaya serbest radikal hipotezinin altında yatan prensipler şunlardır. Birincisi, tüm aerobik hücrelerde serbest radikaller oluşturulduğundan ve toksik olduklarından, hücrelerin uygun bir defans sistemi olması gerekmektedir. Bu defans sistemi hem enzimatik hem de nonenzimatiktir. Doğrusu bu durum neden hücrelerin içlerinde bazı vitaminleri veya analoglarını ( $\alpha$ -tokoferol , askorbik asit) barındırdıklarını açıklamaktadır. Çünkü bu vitaminler doğal serbest radikal koruyucularıdır. Bunun da ötesinde süperoksit dismutaz, katalaz, ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin asıl fonksiyonları serbest radikalleri veya serbest radikal prekürsörleri olan komponentlerini metabolize etmektir. İkinci olarak birçok durumda serbest radikallerin arttığı bilinmektedir. Bu durumlarda iskemi ve resirkülasyonda olduğu gibi hiperoksi olmaktadır, hiperoksi durumunda oksijen radikallerinin oluşumu ve aerobik-anaerobik geçiş artmaktadır. Bundan dolayı iskemi süresince birikmiş olan indirgenmiş komponent reoksidize edileceğinden oksijen radikalleri ve diğer radikaller oluşmaktadır. Serbest radikallerin oluşması oksijen basıncı ile orantılı olduğundan resirkülasyon esnasında hızla serbest radikal oluşumu reaktif hiperemiye eşlik eden  $pO_2$ 'nin artışı ile de ilişkili olabilir. Bundan dolayı iskemi ve resirkülasyonu bir çeşit oksidatif stres durumu olarak kabul edebiliriz. Bununla beraber, serbest radikal oluşumu nispeten düşük basınçlarda da mümkün olduğundan ve indirgenmiş komponentlerin birikmesi ile tetiklenebilidiğinden, resirkülasyon serbest radikal oluşumu için şart değildir. Bundan dolayı parsiyel iskeminin “indirgeyici stresi”nin serbest radikal hasarına yol açtığını söylemek akla yatkındır (102).

Serbest radikal hasarının oluşması için iki olaya ihtiyaç vardır. Bunlar süperoksit ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksidin ( $H_2O_2$ ) artması ve proteine bağlı demirin dekompartmantalize olmasıdır. Bu da sellüler demir metabolizması üzerine dikkatleri çekmektedir (122). Sellüler demir metabolizması halen incelenmektedir.

Toksik serbest radikallerin başka bir kaynağı da endotel hücreleridir (11). “Endothelium derived relaxing factor” ile aynı olduğu anlaşılan nitrik oksit (NO) bir aminoasit olan L-arginin’den NO sentaz enzimi aracılığı ile sentezlenir. Bu reaksiyonda NO sentaz enzimi Ca ile aktive edilir ve indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat bir kofaktör olarak görev alır (39). Nitrik oksit siklik guanozin monofosfat oluşumunu tetikleyerek vasküler gevşemeye neden olur. NO’in endotel hücrelerince üretilen  $O_2^-$  tarafından fizyolojik olarak inaktive edildiğine dair bulgular mevcuttur. Bununla beraber özellikle demir dekompartmantalize olduğunda, ortamda biriken aşırı  $O_2^-$ ’ler endotelial hasarı tetikleyebilir (48).

İncelikle işlenmiş teorik zeminine rağmen hangi şartlar altında serbest radikallerin oluştuğunu ve hangi serbest radikallerin hücreye zarar verdiğini belirlemek zordur. Patt ve arkadaşlarında, 3-6 saat, unilateral karotid arter okluzyonu ve reperfüzyonunun, artmış  $H_2O_2$  oluşumu, ödem ve (sadece serbest radikalleri veya oluşumlarını azaltarak etkinlik gösterdiği bilinen ilaçlarla azaltılabilen) nörolojik hasara neden olduğunu göstermişlerdir (84). Yukarıda anlatılan sonuçlar karşılaştırıldığında serbest radikallerin kalıcı iskemide de serebral iskemik hasara neden olduğu ortaya çıkmaktadır ancak iskemi resirkülasyon ile devam ederse bu hasar daha fazla olmaktadır (101,102).

Serbest radikallerin sadece kalıcı serebral iskemide değil aynı zamanda aşırı asidozda ve hipertermide de ortaya çıktığı gösterilmiştir (102).

### **Kan beyin bariyer değişiklikleri**

Hipoksi, beyin dokusunda mikrovasküler disfonksiyona neden olmaktadır. Beyin mikrovasküler yapısı esasen üç hücreden oluşmaktadır. Bunlar endotelial hücreler, perisitler ve astrosit foot proses’leridir (83). Perisitler, kan beyin bariyerinde basal membranı endotelial hücreler ile paylaşan hücrelerdir. Perisit popülasyonu organdan organa ve dokudan dokuya çok farklılık göstermektedir. Perisitler kan beyin bariyerinin regülasyonunda yer alan çok önemli hücrelerdir. Perisitler endotelial hücreler ile birlikte

mikrovasküler yatağın stabilizasyonunu ve devamlılığını sağlar mikrovasküler duvarda mekanik bir bariyer oluştururlar (62). Hipokside perisitlerde bir dizi reaksiyon meydana gelmektedir. Gönül ve ark.(GATA) 2002’de yayınladıkları bir çalışmada kedilerin internal karotid arterlerini oklude ederek kan beyin bariyeri değişikliklerini incelemişlerdir (43). Bu çalışmaya göre serebral hipoksinin erken döneminde (ilk 2 saatte) perisit yüzeyinde migrasyona yardımcı olmak üzere spike’lar oluşmaktadır. İkinci olarak basal lamina kalınlaşmakta ve bu esnada endotel hücrelerinde bir değişiklik olmamaktadır. Üçüncü olarak perisitler ve endotel hücreleri arasında vakuoller görülmektedir. Bu çalışma ile serebral iskemide perisit migrasyonu olduğu ve bunun da kan beyin bariyerini bozarak iskemik hasara katkıda bulunduğunu göstermişlerdir.

## **HİPOTERMİ**

### **Hipotermi ile ilgili çalışmaların tarihçesi**

Tüm vücut hipotermisinin serebral metabolizma üzerindeki etkisi uzun bir öyküdür. Rosomoff’un 1956’da başlattığı çalışmalar, mantıklı bir şekilde tüm vücut hipotermisi uygulandığında metabolik hızın düştüğünü, serebral ödemin ve hipoksideki nöropatolojik hasarın azaldığını göstermiştir (90). Shapiro ve arkadaşları 1974’de kafa travmalarında hipotermimin etkisini araştırmış ve yukarıda bahsedilenlere benzer sonuçlar elde etmişlerdir (98). Bering 1974’de ardından Wolin 1974’de serebral iskemi üzerinde hipotermimin etkilerini değişik global serebral iskemi modelleri oluşturarak araştırmışlardır (13,120). Stocker 1986’da resirkülasyon sağlamadan, Norwood 1979’da izole olarak perfüze edilen beyinde, Simeone 1979’da fokal serebral iskemi oluşturulan deneysel modellerde çalışmışlardır (79,109,110). 30°C’nin altında hipotermi ile gerçekleştirilen bu çalışmalar beyinde enerji metabolizmasının azalmasını sağlamış, normotermik iskemilere göre beyin dokusunun asidozisinin daha az olduğu gösterilmiştir. Popovic 1965’de, Brunberg 1974’de Michenfelder ve Milde 1977’de, hipotermimin klinik uygulamalarını yapmışlar ve hipotermimin klinik uygulamasının bazı yan etkiler nedeniyle sınırlı olduğunu belirtmişlerdir (17,72,85). Bu yan etkilerin özellikle hipotermi uygulamasının süresiyle ilgili olduğunu belirtmişlerdir (114).

Vücut ısısının 1-3 derece azaltılması, hipoksik stresin yaptığı hasarın azaltılmasında anlamlı bulunmuştur. Berntman 1981’de vücut ısısını 30C düşürerek yapılan hafif

hipoterminin serebral iskemi ve resirkülasyon üzerindeki yararlı etkilerin araştırmıştır (14). 1987'de Busto'nun yaptığı bir çalışmada, vücut ısısının 36°C'den 34°C'ye düşürülmesiyle iskemi sonrasında, resirkülasyonun ilk saatinde iskemik nöronal hasarın yaygınlaşmasının durdurulmasında belirgin koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (19).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar hipotermi uygulamasının optimal zamanlaması ve süresinin saptanması için birçok farklı deneysel koşullar ve deneysel modellerde yapılmıştır. Ancak halen hipotermi uygulamasının iskemi esnasında ne zaman başlaması gerektiği, ne zamana kadar uygulanması halinde en faydalı sonuçları vereceği ve ne kadar süre ile uygulanmasının doğru olacağı, hangi farmakolojik tedaviler ile beraber uygulanması gerektiği, hipoterminin en faydalı derinliğinin ne olduğu ve hipoterminin etki mekanizmaları üzerinde tam bir fikir birliğine ulaşılamamıştır (69).

#### **Hipotermi'nin nöroprotektif mekanizması ile ilgili görüşler:**

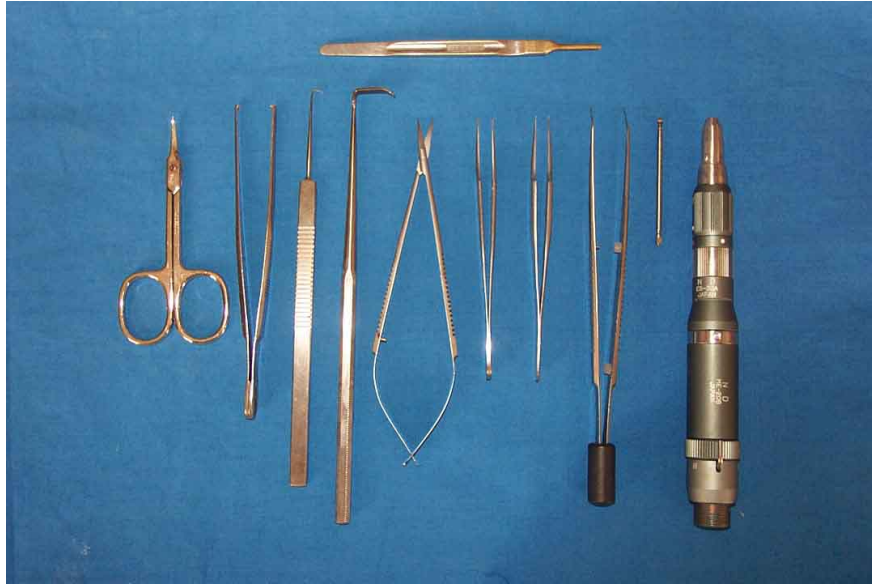
1. Hipotermi metabolik talebi azaltmaktadır (3,4,5,7,18,50,68,73,77,78,106,123). Ancak barbituratlar ve izofluran'ın da metabolik talebi azalttığı ve bunların hipotermi kadar iyi nöroprotektif etkinlik göstermedikleri de bilinmektedir. Bu da hipoterminin nöroprotektif etkinliğinde metabolik talebin azalmasının primer mekanizma olmadığını göstermektedir (5,94,113).
2. Hipotermi intrasellüler asidozu azaltır (26).
3. İskemik serebral ödem gelişimini azaltır (30,56,63).
4. Lökotrien B<sub>4</sub> birikimini azaltır (30).
5. Protein kinaz C'nin iskemi bağımlı fonksiyonunu ve inhibisyonunu önler (22,27).
6. Postiskemik sitotoksik olayları azaltır (24,25,37,51,57,87,103).
7. İskemi kaynaklı kan beyin bariyeri değişikliklerini önler (32,56).

## MATERYAL VE METOD

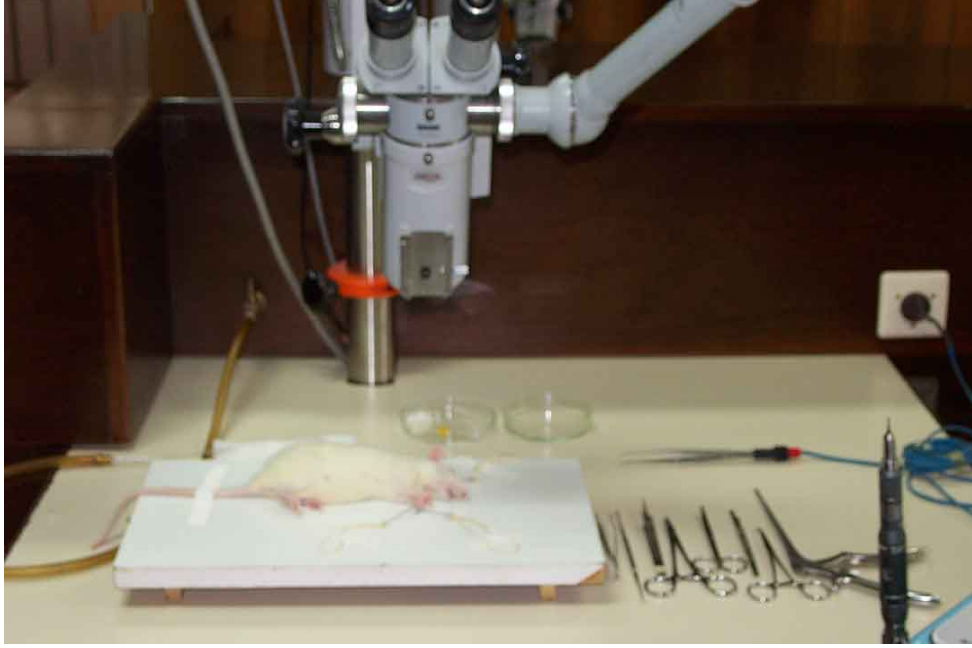
Bu çalışmada yetişkin, 250-350 gram ağırlığındaki 20 adet erkek, Sprague-Dawley rat kullanılmıştır. Ratlar, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan cihazlar ve maddeler:

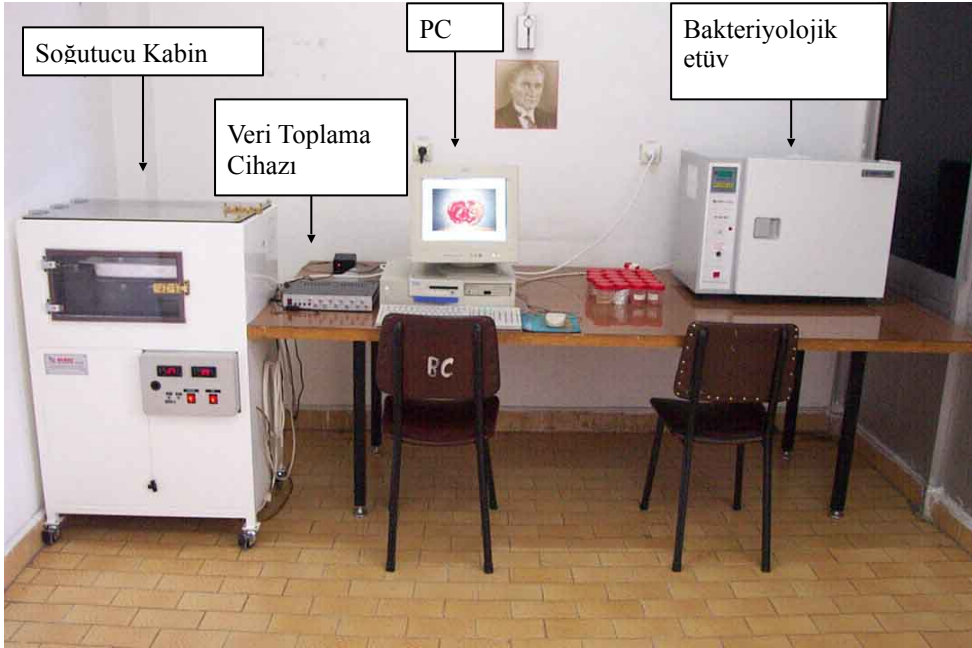
1. Mikroşirürjikal ve normal cerrahi aletler, (Şek.1)
2. Ameliyat mikroskobu (OPMI-I, Zeiss, Poland), (Şek.2)
3. Hipotermi Ünitesi: Dört birim ve bir yazılımın adaptasyonundan oluşmaktadır. (Şek.3)
  - a. Soğutucu kabin, (Yılmaz Soğutma)(Şek.3)
  - b. Dört kanallı veri toplama cihazı, (Şek.4)
  - c. Thermocouple sıcaklık probu, kabloları ve konnektörleri, (Şek.5)
  - d. Bilgisayar (PC: Pentium II 350 mHz), (Şek.3)
  - e. Yazılım.



Şekil 1. Operasyon esnasında kullanılan aletler.



Şekil 2. Operasyon mikroskobu ve operasyon masası.



Şekil 3. Hipotermi ünitesi ve uygulama odası.



Şekil 4. Dört kanallı veri toplama cihazı.



Şekil 5. Thermocouple sıcaklık probu.

Soğutucu kabin ve özel thermocouple sıcaklık problemleri tarafımızdan geliştirilerek, proje kapsamında Yılmaz Soğutma A.Ş.'ye yaptırılmıştır. Yine proje kapsamında bir adet 4 kanallı veri toplama cihazı (four channel data acquisition system, Texas instruments) ve bir adet bilgisayar (PC: Pentium II) alınarak üç cihaz birbirine adapte edilmiştir. Sistem

adaptasyonunu takiben bilgisayarın hipotermi cihazını ratın temporal kas sıcaklığına bağlı olarak ayarlayabilmesi için özel bir program yazdırılmıştır.

4. Dişçi drill'i (Şek 1, 2)
5. Digital fotoğraf makinası: Kodak DC 4800 Digital Camera
6. Bakteriyolojik etüv (inkübatör): Electro-Mag 420 BP (Şek. 3)
7. 2,3,5 triphenyltetrazolium cholorida (TTC): Toz halindedir. Işıktan ve sıcaklıktan zarar görmektedir. Buzdolabında saklanmalıdır. Herbir boyama çalışmasından önce %2'lik oranda tekrar hazırlanmalıdır. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra kesitler %10'luk formol içinde saklanabilir. Kesitler formole konduktan 10 dakika sonra fotoğraf çekilmeye hazır hale gelirler. Kesitler karanlıkta saklanmalıdır, buna rağmen yaklaşık 1 ay sonra pembe renk solmaya başlar 2 ay sonra da boya tamamen kaybolur. Bu nedenle en güzel görüntüleri elde edebilmek için kesitler formol içinde 10 dakika bekletildikten sonra en kısa sürede fotoğraflar çekilmelidir.

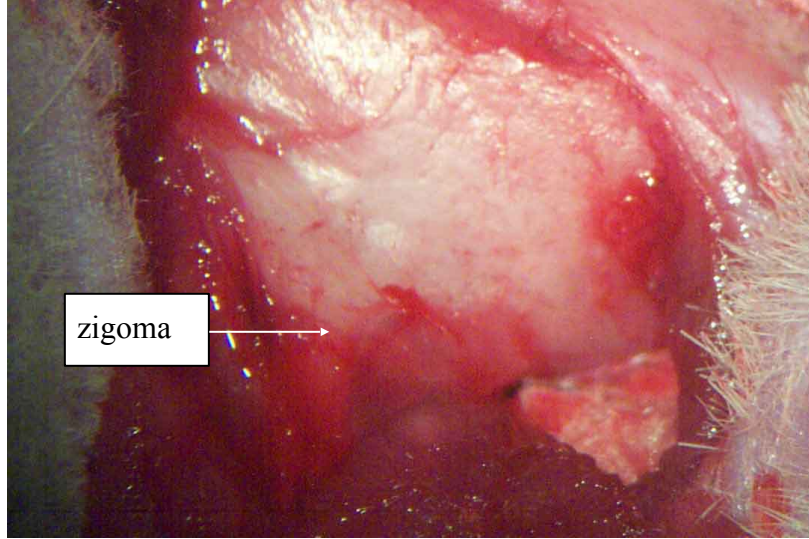
Çalışmada kullanılan 20 adet Sprague-Dawley (280-320 gram) rat kontrol ve hipotermi grubu olarak iki gruba ayrılmıştır. Çalışmanın başlangıcından önce su ve yiyecek kısıtlanması yapılmamıştır.

### **Operasyon**

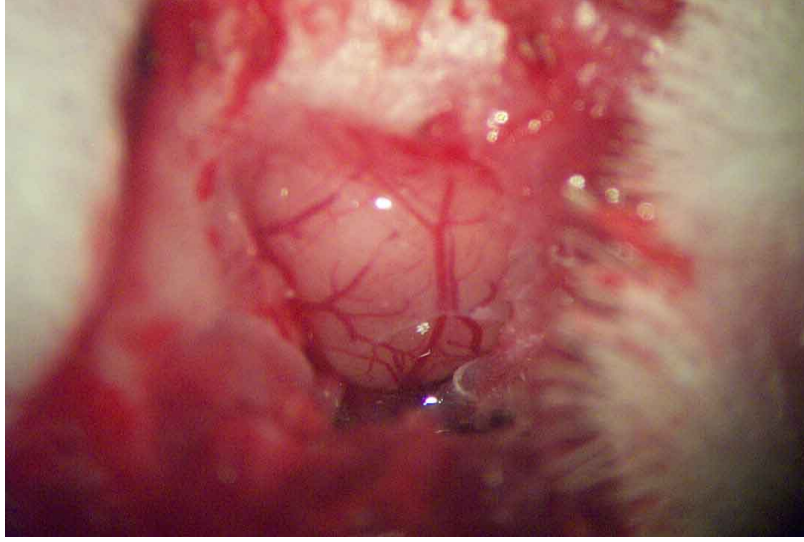
Anestezi, intramüsküler ketamin hidroklorid (Ketalar, Parke-Davis, England), (150 mg/kg) kullanılarak sağlandı.

Sağ orbit ve tragus arası traş edildikten sonra ratların sağ gözüne ışık injurisine bağlı keratit gelişmesinden korumak amacıyla gecici tarsorafi yapıldı. Ardından hayvan sol lateral dekübit pozisyonuna getirilerek sağ orbit ve tragus arasında 2 cm insizyon yapıldı, temporal kas kraniumdan diseke edilerek ayrıldı ve infratemporal fossa ortaya kondu. (Şek.6) Operasyon mikroskobu altında infratemporal fossa drillenerek kraniektomi yapıldı. Drilleme esnasında altta yatan korteksin zarar görmemesi amacıyla % 0.9'luk serum fizyolojik ile irrigasyon yapıldı. Ardından dura mater 30- gauge iğne ile insizyon yapılarak açıldı (Şek.7). Burada rhinal fissürde orta serebral arterin (MCA) inferior serebral veni çaprazladığı yer görüldü. Serebral korteks bir ekartör ile eleve edilince tabanda MCA'in olfaktör siniri çaprazladığı yer görüldü. (Şek.8). Burası MCA

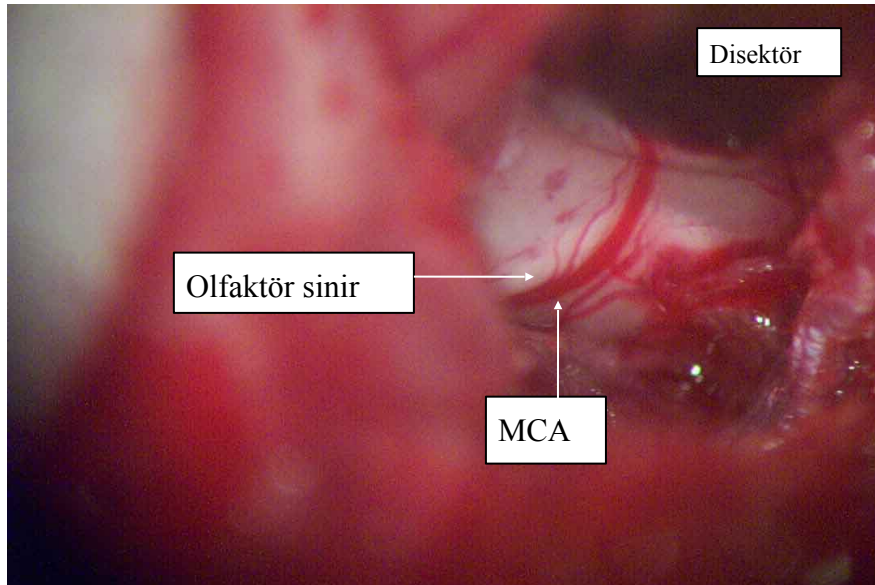
bifurkasyonunun proksimali olup lentikülostriat arterlerin orijinine göre distalde kalmaktadır. Burada MCA bipolar koter yardımıyla koterize edildi (Şek.9). Orta serebral arter, seyri boyunca 3 yerde koterize edildi. 1- Olfaktör siniri çaprazlamadan hemen önce, 2- Olfaktör siniri çaprazladıktan sonra ve 3-İnferior serebral veni çaprazlamadan önce. MCA anılan lokalizasyonlarda koterize edildikten sonra rekanalizasyonu önlemek amacıyla koterize edildiği yerden kesildi. Koterizasyon yapılan ve kesilen segmentin distalinde, MCA içi boşalmış olarak görüldü (Şek.10 ). Ardından temporal kas ve cilt usulüne uygun olarak kapatıldı (Şek.11 ).



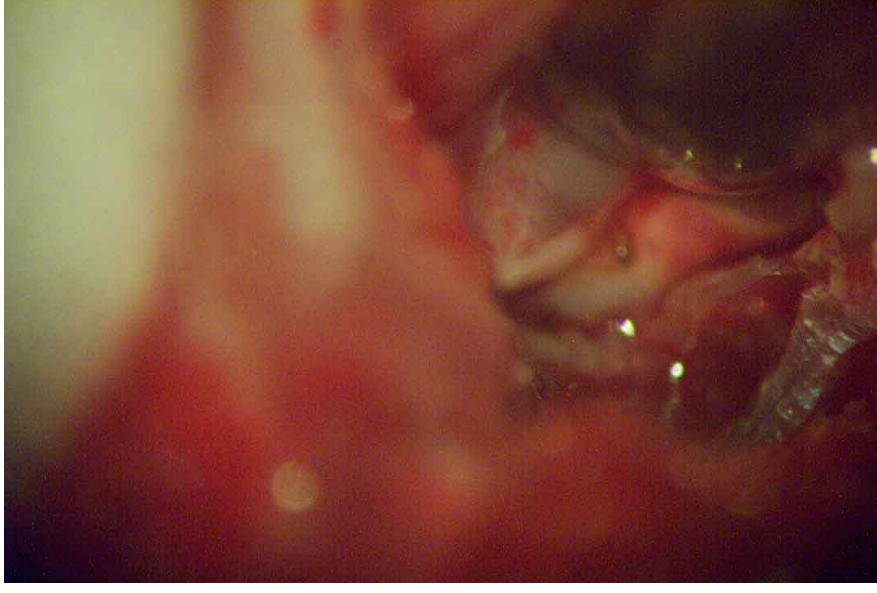
**Şekil 6.** Orbitozygomatik cilt insizyonunu takiben sağ temporal kas diseke edilerek inferiora devrilmiştir. Sağ prezigomatik subtemporal saha gösterilmiştir.



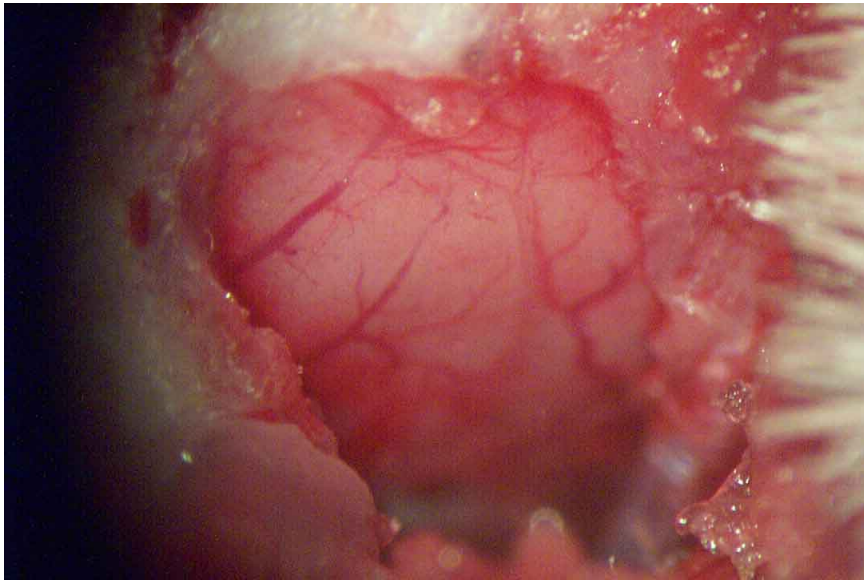
**Şekil 7.** Sağ subtemporal kraniektomi yapılmış, MCA bifurkasyonu gösterilmiştir. Arterin proksimalinde duranın açılmış olduğu görülmektedir.



**Şekil 8.** Beyin bir disektörle kibarca eleve edilerek sağ MCA'nın olfaktör siniri çaprazladığı gösterilmiştir.



**Şekil 9.** Sağ MCA bipolar koter ile yakılarak oklüde edilmiştir



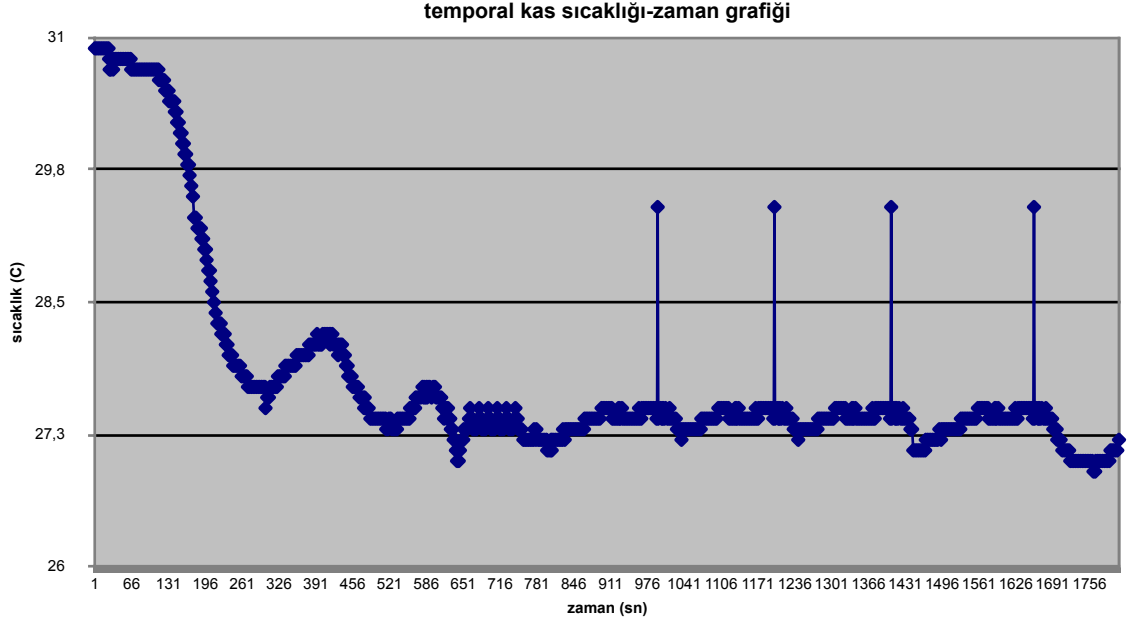
**Şekil 10.** Sağ MCA koterize edildikten sonra distalde bifurkasyoya kadar içi boşalmış olarak görülmektedir.



**Şekil 11.** Operasyon sonrasında insizyon hattı gösterilmiştir. Operasyon esnasında göz korunduğu için sağ gözde ışık injurisine bağlı keratopati gelişmemiştir.

## HİPOTERMİ

Hipotermi grubunda MCA okluzyondan ve cildin kapatılmasından hemen sonra ratlar hipotermi kabine alınarak temporal kas içine sıcaklık probu yerleştirildi ve vücut sıcaklıkları 1 saat süre ile 27-29°C arasında tutuldu (Tablo II). Hipotermi işlemini takiben ratlar ayrı ayrı kafeslerine alınarak uyanmaya bırakıldı. Su ve yiyecek kısıtlaması yapılmadan 24 saat süre ile takip edildiler.



**Tablo II .** Hipotermi uygulaması esnasında temporal kas sıcaklık takibini göstermektedir.

### **Nörolojik Muayene**

Sağlıklı ratlar kuyruklarından tutularak havaya kaldırıdıklarında her iki ön ekstremitelerini yere doğru uzatmaktadırlar (Şek.12). MCA oklüzyonu yapılan rat ise kontralateral üst ekstremitesini yere doğru uzatamamaktadır (Şek.13). Konralateral üst ekstremitede rezistans kaybı ratlar kuyruklarından havaya kaldırılarak kafesin tellerine tutunmalarının gözlemlenmesi ile değerlendirildi. Her iki grupta da parezik ekstremitede rezistans kaybı görülmüştür. Bizim çalışmamızda MCA infarktını takiben 24 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilmişlerdir. Her iki grubun dekapitasyon öncesinde yapılan nörolojik muayeneleri arasında anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Nörolojik muayene skorlaması Tablo III’de verilmiştir.

Skor	Nörolojik muayene
0	Belirgin defisit yoktur.
1	Kontralateral üst ekstremitede fleksiyon
2	Kuyruğundan çekildiğinde kontralateral üst ekstremitede rezistans kaybı
3	Bütün yönlere spontan hareket edebilir ancak kuyruğundan tutularak havaya kaldırıldığında sadece karşı tarafa doğru daireler çizerek dönebilir.
4	Spontan olarak daima ve sadece karşı tarafa doğru döner.
5	Ölüm

**Tablo III.** Nörolojik muayene ve değerlendirme sistemi



**Şekil 12.** Operasyon öncesi nörolojik muayene.



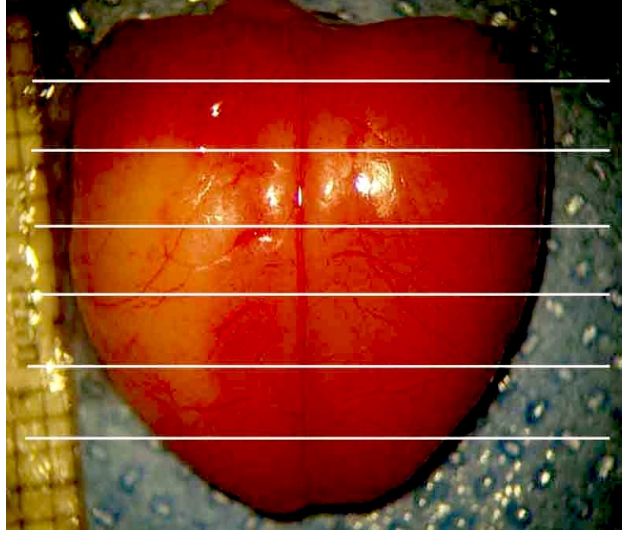
**Şekil 13.** Operasyon sonrasında nörolojik muayene

### **Dekapitasyon ve kesitlerin boyanması**

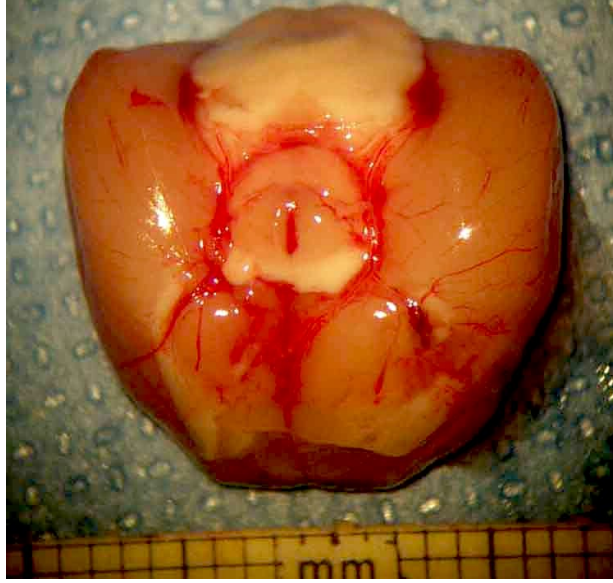
Ratlar arterial oklüzyondan 24 saat sonra dekapite edilerek beyinleri hızlıca çıkarıldı (Şek.14,15) ve doku kesicisi ile her bir beyin 7 koronal parçaya ayrıldı. Her bir parça % 0.9 luk serum fizyolojik içinde % 2'lik 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride (TTC) ile immerse edildikten sonra 30 dakika karanlık ortamda 37<sup>0</sup>C'de inkübe edildi.

İnkübasyondan sonra dokular %10 luk formalin içinde tamponlandı. Bu işlem sonucunda

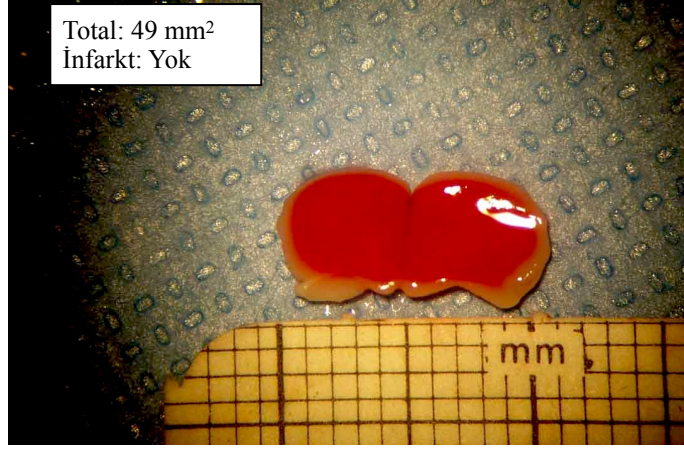
beyin infarkt alanları boyanmamış beyaz alanlar halinde kalırken infarkt olmayan beyin kısımları pembe veya kırmızıya boyandı (Şek.16a,b,c,d,e,f,g).



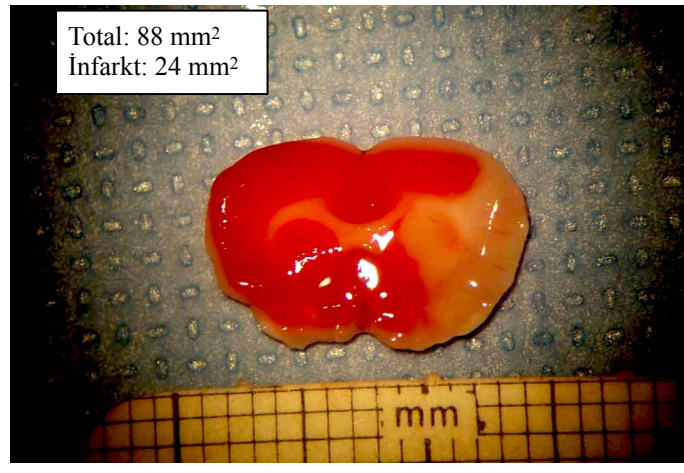
**Şekil 14.** Dekapitasyon sonrasında rat beyni yukarıdan bütüncü olarak görülmektedir. Çizgiler kesitlerin geçtiği yerleri göstermektedir. İnfarkt sahası sağda soluk olarak görülmektedir.



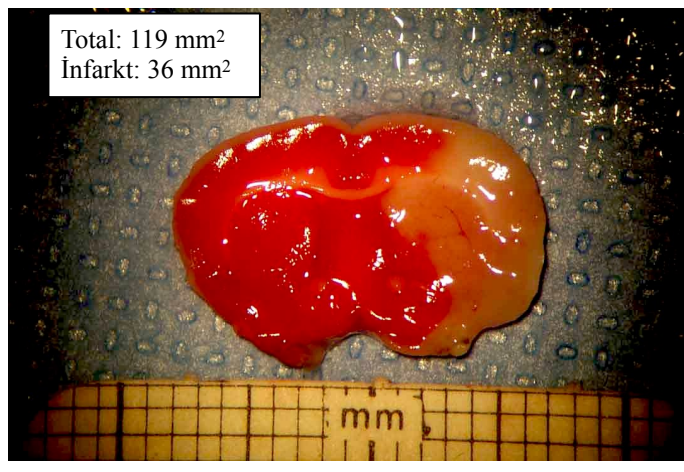
**Şekil 15.** Dekapitasyon sonrasında rat beyni aşağıdan bütüncü olarak görülmektedir. Şekilde sağ MCA'nın olfaktör siniri çaprazladığı yerden koterize edildiği görülmektedir.



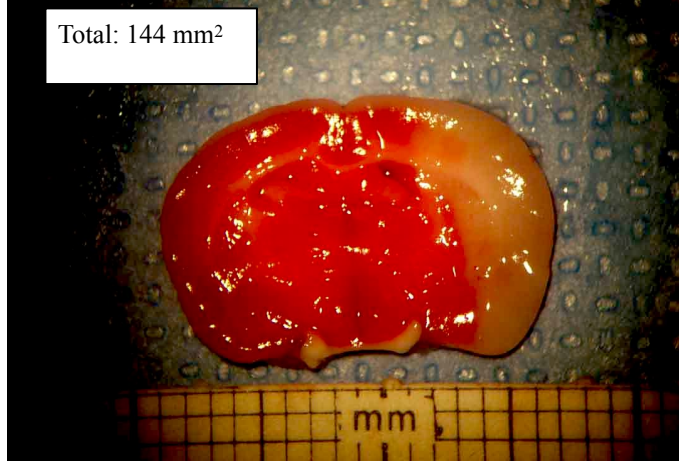
Şekil 16a. Birinci kesit.



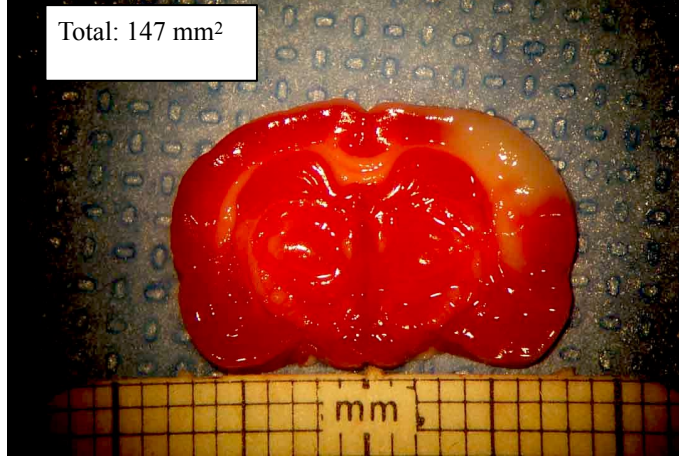
Şekil 16b. İkinci kesit.



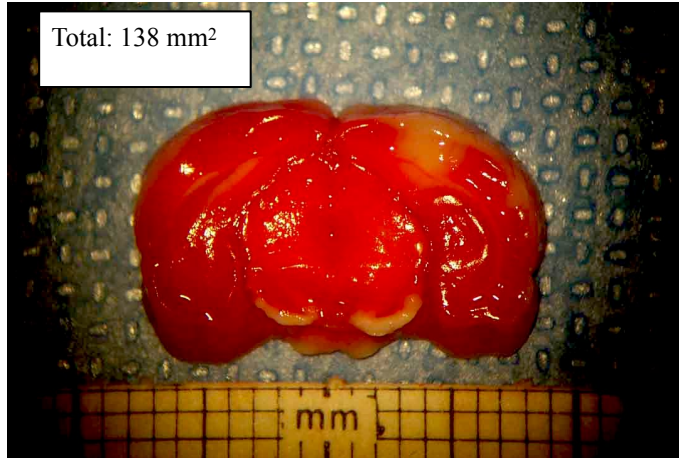
Şekil 16c. Üçüncü kesit.



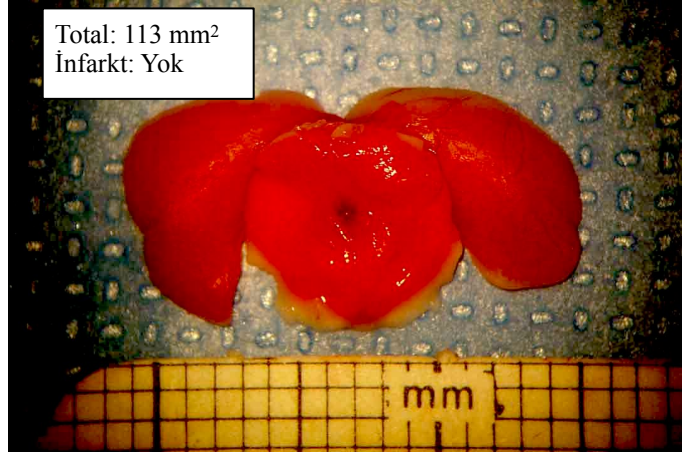
Şekil 16d. Dördüncü kesit.



Şekil 16e. Beşinci kesit.



Şekil 16f. Altıncı kesit.



**Şekil 16g.** Yedinci kesit.

## **BULGULAR**

Peroperatif dönemde hiçbir rat ölmedi. MCA okluzyonu yapılmasına rağmen infarkt olmayan rat görülmedi.

Her iki grupta infarkt alanları, image analizi sistemi Osiris medical imaging software Version 4.12 kullanılarak ayrı ayrı ölçüldü.

### **İnfarkt oranının hesaplanması:**

Çalışmada kullanılan ratların vücut ağırlıklarının farklı olması nedeniyle herbir ratın alınan kesitlerdeki total beyin alanları farklılık gösterdiği için rölatif infarkt alanları total beyin alanına göre yüzde olarak belirlenmiştir.

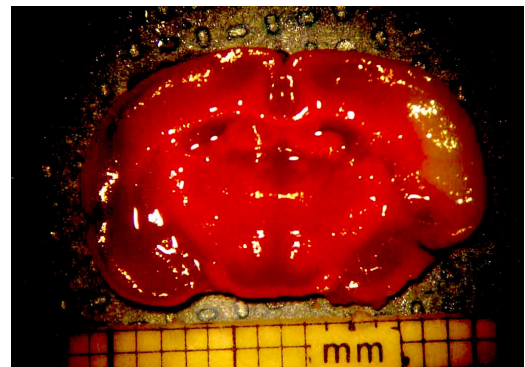
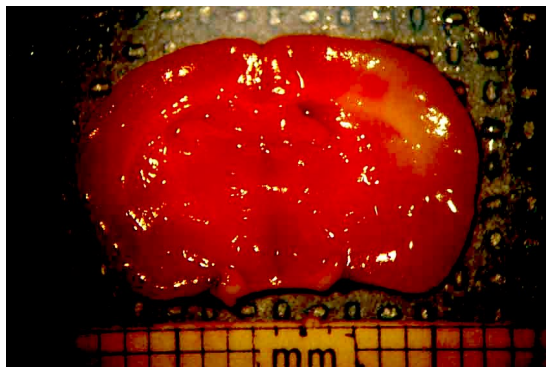
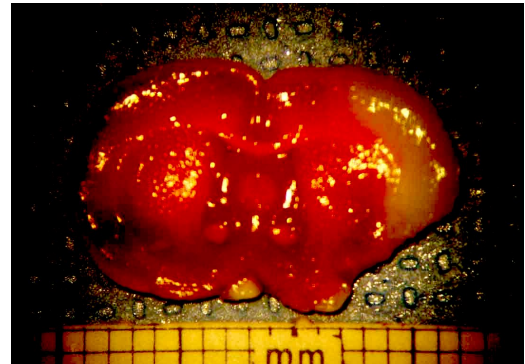
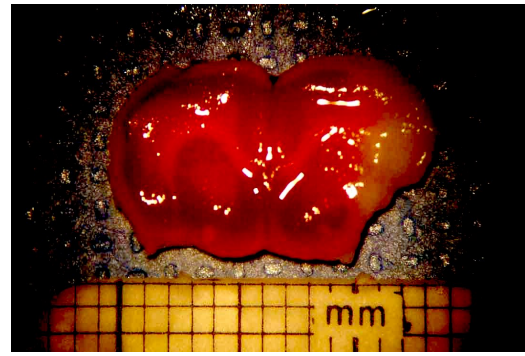
Herbir kesitte total beyin alanı ve varsa infarkt alanları image analiz sistemi ile hesaplandıktan sonra infarkt alanının tüm beyin alanına oranı yüzde (%) olarak bulunmuştur. Bulunan infarkt yüzdeleri herbir beyin için ayrı ayrı toplanarak o beyinden alınan kesit sayısına bölünmüştür. Böylece herbir beyne ait infarkt alanı yüzdesi bulunmuştur. Herbir beyne ait infarkt alanı yüzdeleri toplanarak çalışılan rat rayısına bölünmüş ve her gruba ait ortalama infarkt oranı bulunmuştur (Tablo IV).

Kontrol grubunda, infarkt oranı ortalama % 9.8 olarak bulundu. Örnek bir MCA infarkt çalışmasına ait veriler yukarıda sunulmuştur (Şek.16a,b,c,d,e,f,g). Örnekte gösterilen infarkt oranı %14,1 olarak bulunmuştur.

Hipotermi grubunda ise infarkt oranı ortalama olarak % 7.4 olarak bulunmuştur.

Kontrol grubuna ait örnek bir MCA oklüzyonu çalışması Şekil 16a,b,c,d,e,f,g'de sunulmuştur.

Bir adet kontrol ve hipotermi çalışmasının karşılaştırılması ise Şekil 17'de sunulmuştur.



Kontrol

Hipotermi

**Şekil 17.** Kontrol ve hipotermi gruplarının karşılaştırılmasına bir örnek.

### İstatistiksel çalışmalar

Grupların birbiri ile karşılaştırılması ve istatistik çalışmaları SPSS for Windows version 9.05 yardımıyla yapılmıştır (Şekil 18,19). Sonuç olarak hipotermi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda infarkt azalması görülmüştür ( $p<0.05$ ).

	Kontrol Grubu	Hipotermi grubu
1	10.20%	6%
2	14.10%	5.8%
3	6.90%	8.7%
4	7.85%	5.4%
5	9.80%	8.5%
6	11.20%	9.8%
7	7.70%	9.4%
8	12.30%	7.9%
9	8.33%	5.6%
10	9.65%	6.9%
Ortalama	<b>9.8%</b>	<b>7.4%</b>

**Tablo IV.** Herbir beyinde bulunan infarkt yüzdelerini göstermektedir. Herbir beyne ait olan infarkt yüzdesi herbir kesitte hesaplanan infarkt alan yüzdelere toplam kesit sayısına bölünmesi ile bulunmuştur.

### Nonparametrik Tests

#### Mann-Whitney U Test

##### Ranks

ALANLAR	GRUP	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol	10	13,40	134,00
	hipotermi	10	7,60	76,00
	Total	20		

### Test Statistics<sup>b</sup>

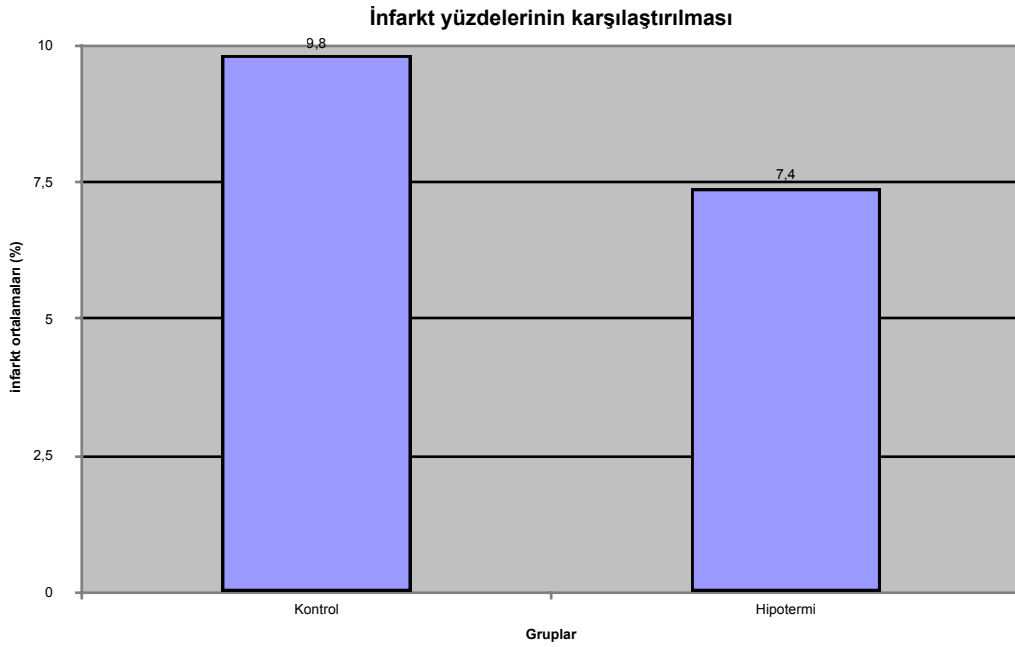
	ALANLAR
Mann-Whitney U	21,000
Wilcoxon W	76,000
Z	-2,194
Asymp. Sig. (2-tailed)	,028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

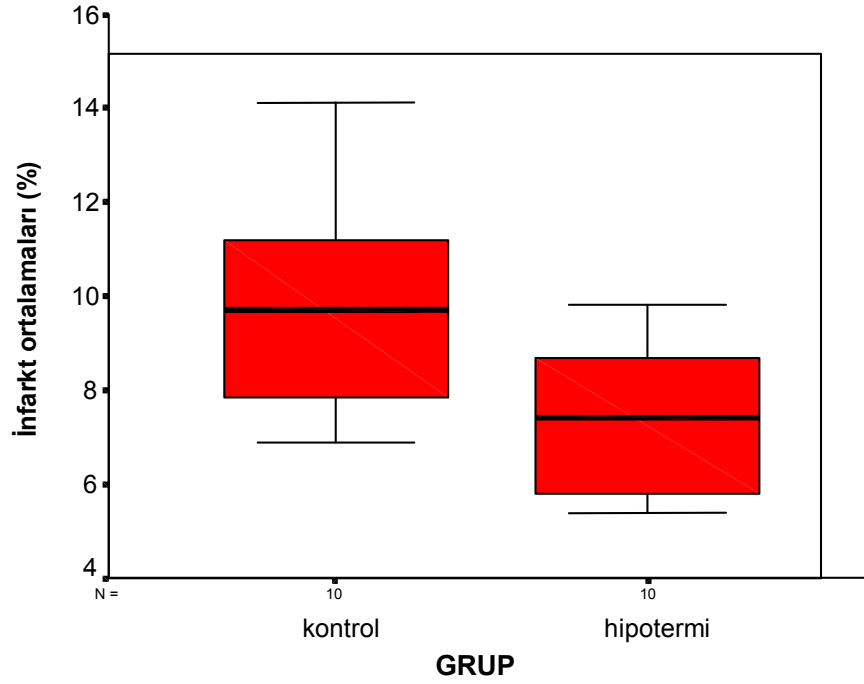
b. Grouping Variable: GRUP

**p değeri = 0.028**

**p<0.05 olduğu için kontrol ve hipotermi grupları arasında anlamlı bir fark vardır.**

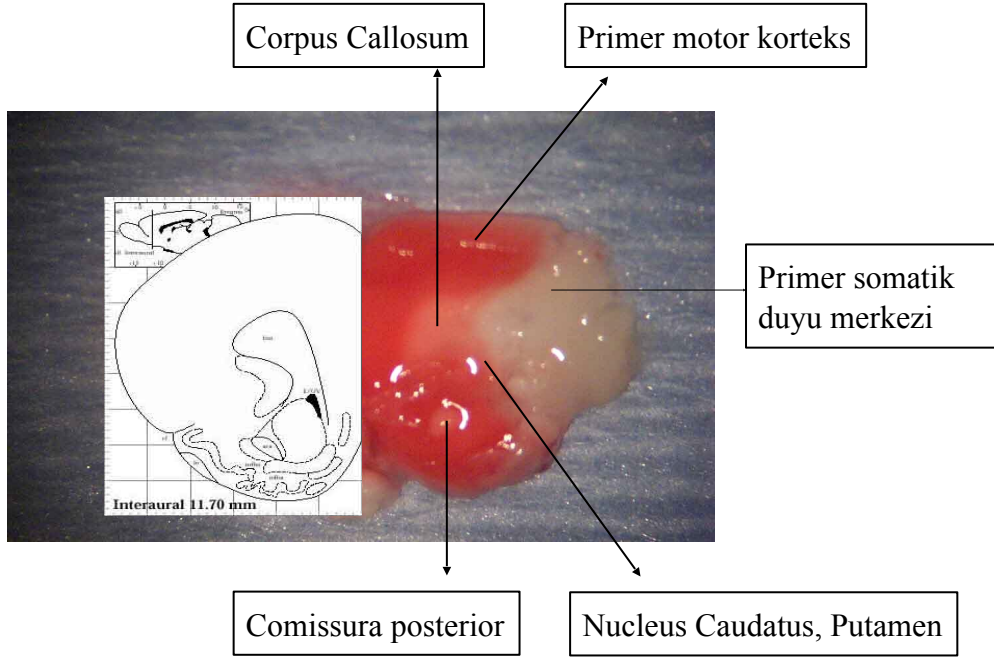


**Şekil 18.** Her iki gruba ait infarkt yüzdelerinin ortalamaları karşılaştırılmıştır.

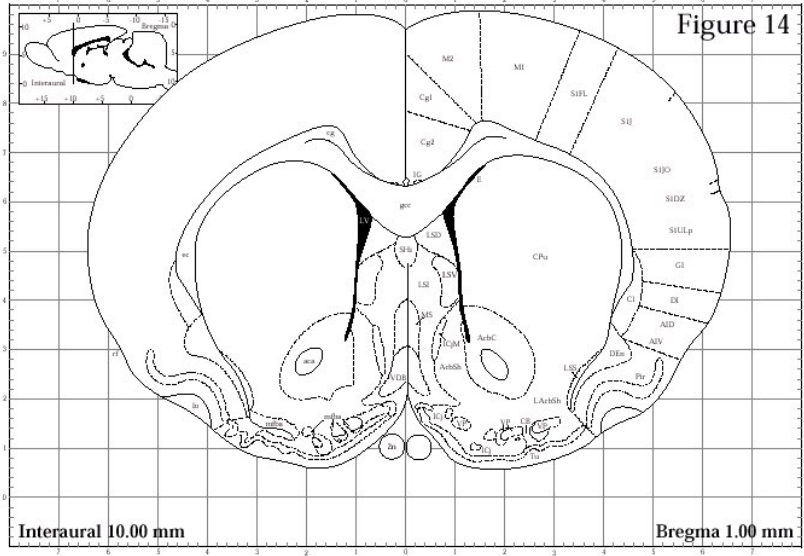
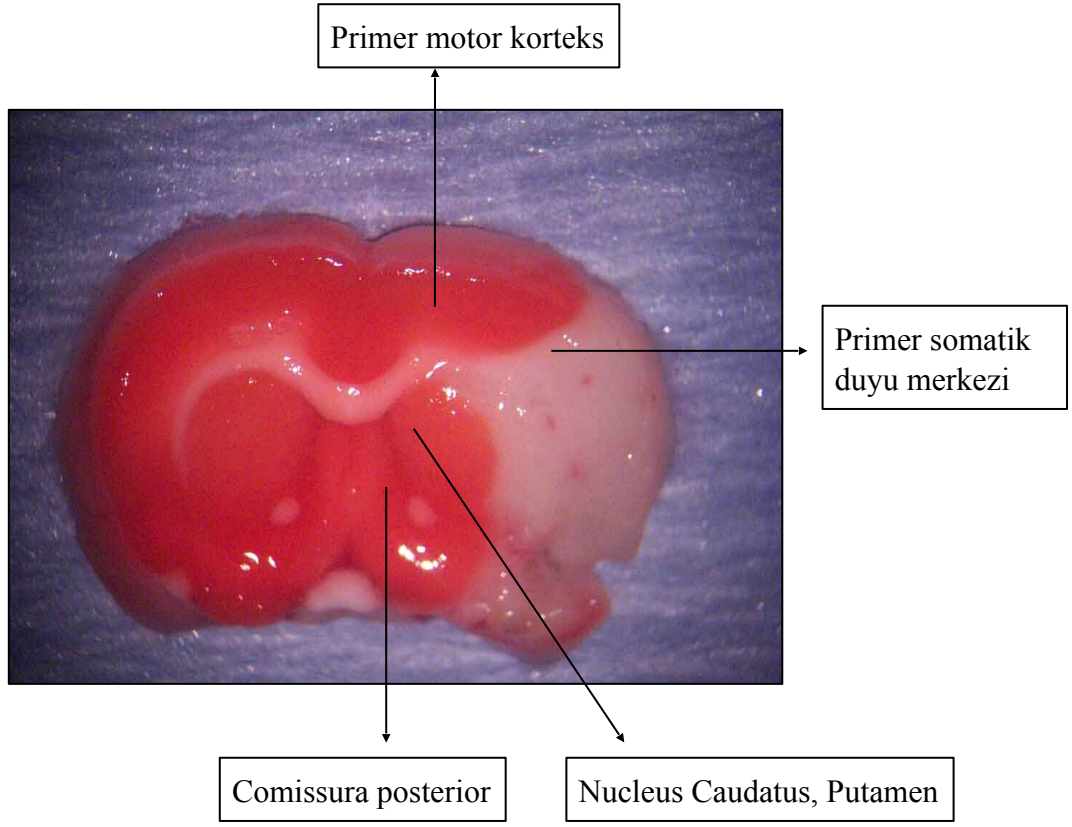


**Şekil 19.** Mann-Whitney U Test ile yapılan istatistiksel analiz sonuçlarını yansıtan grafik.

Ratlarda MCA okluzyonu ile gelişen infarkt alanları rat beyin atlası ile karşılaştırılmıştır (116). MCA okluzyonu sonrasında ratlarda bazal ganglionların korunduğu ve infarkt alanı içine girmediği görülmüştür. Bunun nedeni ratlarda bazal ganglionların lentikülostriat arterler tarafından beslenmeleridir. Ratlarda MCA, willis poligonundan ayrıldıktan hemen sonra lentikülostriat arteri yandal olarak vermektedir. Bizim metodumuzda MCA okluzyonu lentikülostriat arterin hemen distalinden başlayarak olfaktör sinir çaprazlanmadan önce, çaprazladıktan sonra ve MCA bifurkasyosunda önce yapılmaktadır. Lentikülostriat arterler korunduğu için çalışma gruplarımızda bazal ganglionlarda infarkt olmamıştır (Şek.20,21).



**Şekil 20.** Kontrol grubuna ait bir kesitin rat beyin atlası ile karşılaştırılması.



Şekil 21. Kontrol grubuna ait bir kesidin rat beyin atlası ile karşılaştırılması.

## TARTIŞMA

Travmatik veya iskemik beyin hasarlı olan hastalarda hiperterminin nörolojik hasarı arttırdığı bilinmektedir. Kilpatrick ve arkadaşları Pittsburg Üniversitesi Tıp Merkezinde retrospektif olarak, 6 aylık bir periyod içinde beyin cerrahi yoğun bakım ünitesinde yatan hastaları incelemişlerdir (58). 428 hastanın ateş takip kartları incelenmiş olup rektal ateşi 38,5 derecenin üzerine çıkmak suretiyle bu 428 hastada 946 adet febril atak geliştiği görülmüştür. Ateş bu hastaların %47'sinde görülmüş olup bu ise hasta başına 4,7 febril atak olarak hesaplanmıştır. Yoğun bakımda 24 saatten az kalan hastaların %15'inde ateş görülmüştür. Bu hastaların ise %93'ü yoğun bakımda 14 günden fazla kalmıştır. Bu febril epizodların %86 sında antipiretik tedavi uygulanmasına rağmen %57'si 4 saatten uzun %5'i 12 saatten uzun sürmüştür. Bu çalışma ile yüksek ateşin beyin cerrahi yoğun bakım ünitesinde uzun süre yatan hastalarda sık görülen ciddi bir problem olduğu gösterilmiştir. Buna göre eğer hipertemi nörolojik gelişimi kötü yönde etkiliyorsa primer iskemik veya travmatik iskemik hastalarda ateş, düşürülmesi gereken önemli bir problemdir. Ateşin düşürülmesi, hipoterminin nasıl ve ne suretle uygulanacağı klinik önemi haiz bir problemdir.

Günümüze kadar birçok merkezde yapılan çalışmalarla orta dereceli hipoterminin reversibl serebral iskeminin beyine verdiği zararları azalttığı gösterilmiştir. Günümüze kadar farklı deneysel koşullarda ve farklı deneysel modellerde, iskemi ve reperfüzyon çalışmaları yapılmıştır ancak hipoterminin maksimum koruyucu etkinliğinin sağlanması için ne kadar süre ile uygulanması ve ne zaman başlaması gerektiği halen tartışılmaktadır (67). İskemik infarkt volümünün azaltılmasında iskeminin başlama zamanı, süresi ve derinliği önemlidir (23).

Hipotermi uygulaması vücut sıcaklığına göre 3 aşamada incelenmektedir. Bunlar: 1) Hafif hipotermi: 33-33,5 °C; 2) Orta dereceli hipotermi 27,5-29,2 °C; 3) Derin hipotermi 24 °C (45). Günümüzde hipotermi ile ilgili olarak yapılan çalışmalar genellikle hafif hipoterminin fokal serebral infarkt üzerine yaptığı etkilerin incelenmesi şeklindedir (33,99). Çünkü hafif hipoterminin dahili nedenlere bağlı serebral infarkt oluşan

hastalarda ve nöroloji kliniklerinde uygulanması yan etki riskinin daha az olması nedeniyle daha kolaydır. Derin hipotermi, fatal kardiyak aritmilere neden olabildiğinden kardiopulmoner bypass ameliyatları dışında insanlarda kullanılmamaktadır (15). Orta dereceli hipotermi ise hastalar için daha az sistemik riskler taşımakla beraber özellikle genel anestezi altındaki hastalarda uygulanması kolay (55) ve beyin cerrahisi yoğun bakımlarında takibi mümkün bir tedavi modalitesidir. Bu nedenle klinik uygulamanının hayata geçirilebileceği göz önüne alınarak bizim çalışmamızda orta dereceli hipoterminin fokal serebral infarkt üzerine olan koruyucu etkileri incelenmiştir.

Günümüze kadar yayınlanan çalışmaların çoğunda hipotermi uygulaması MCA okluzyonundan hemen sonra başlatılmıştır (23,45) . Bazılarında ise hipotermi, arter okluzyonunu takip eden saatler içinde değişik zamanlarda başlatılarak karşılaştırmalar yapılmıştır (121). Biz çalışmamızda beyin cerrahisi operasyonlarında veya yoğun bakımda hastaların serebral infarkt geçirme riski yönünden sıkı takip altında olmaları ve riskli hastalarda gerekirse iskemi şüphesi anında hipotermi uygulanabileceğini göz önüne alarak hipotermi protokolünü iskemiden hemen sonra başlattık.

Farklı terapötik modalitelerle karşılaştırıldığında hipotermi birçok nedenle çok cazip bir opsiyondur. Hipoterminin uygulaması kolaydır ve ileri bir eğitim gerektirmemektedir. Hipotermi uygulaması pahalı değildir, aynı zamanda güvenli bir tedavidir (67).

Bizim çalışmamızda Tamura ve arkadaşlarının bildirdiği MCA okluzyonu metodu kullanılmıştır (112). Tamura metodu sık kullanılan bir serebral iskemi metodudur (47,80,89,115). Tanımlanmasından sonra Bederson ve arkadaşları Tamura metodunun incelemişler ve MCA okluzyonu yapılan ratların nörolojik değerlendirilmelerinin yapılabilmesi için bir model geliştirmişlerdir (12). Orta serebral arter okluzyonu metodu hem intraoperatif arteriyel yaralanmalar hem de tromboembolik arteriyel okluzyon araştırmaları için bir model oluşturmaktadır (55).

Tamura metodunun iki önemli özelliği vardır. Birincisi, Tamura metodu ile yapılan MCA okluzyonu irreversibldir. Yani Tamura metodu ile sadece kalıcı iskemi çalışmaları

yapılabilir. Ancak Tamura metodunun modifikasyonu ile MCA okluzyonu arterin bipolar ile koterize edilmesi yerine arteriovenöz malformasyon klipleri kullanılarak oklude edilmesi ile reversibl iskemi çalışmaları yapılabilmektedir (67). İkincisi, Tamura metodunda iskemi yapabilmek amacıyla kraniektomi yapmak gerekmektedir. Bu da serebral iskeminin aynı zamanda tedavisinde kullanılan dekompresif kraniektomi cerrahisine eşdeğerdir. Tamura metodu ile yapılan çalışmalarda kullanılan tedavinin etkinliği bu açıdan eleştirilebilir ancak kontrol grubu da aynı şartlarda kraniektomiye tabi tutulduğu için uygulanan tedavi modalitesinin etkin olup olmadığı gösterilebilmektedir. Akut strokta erken dekompresif kraniektominin faydası eksperimental olarak çalışılmış, dekompresif kraniektominin sadece hayat kurtarıcı değil aynı zamanda infarkt büyüklüğünü azalttığı ve zaman bağımlı olarak fonksiyonel sonucu iyileştirdiği gösterilmiştir (33,36).

46 yıl önce Rosomoff ve arkadaşları köpekler üzerinde MCA arter okluzyonu yaparak fokal serebral iskemi üzerinde hipotermimin etkilerini incelemişlerdir (90).

Rosomoff yaklaşık 23 derece hipotermimin iskemik serebral hasarı azalttığını bildirmiştir. Rosomoff hipotermi iskemiden 15 dakikadan daha uzun süre sonra başlarsa faydasının olmadığını bildirmiştir.

Doerfler ve ark. 2001 yılında Stroke dergisinde yayınladıkları bir makalede dekompresif tedavi ve ortadereceli hipotermimin kalıcı fokal serebral iskemi üzerine olan kombine etkilerini MCA'in endovasküler okluzyonu tekniği ile incelemişlerdir (33).

Günümüze kadar yapılan birçok fokal ve global serebral iskemi çalışmalarında temporal kastan ölçülen kranial sıcaklığın intraparenkimal beyin sıcaklığını çok yakın bir biçimde yansıttığı gösterilmiştir (9,20). Bu nedenle biz çalışmamızda hipotermi uygulamasını thermocouple sıcaklık problemleri kullanarak temporal kas ısısından takip ettik. Daha önceki birçok çalışmada hipotermi uygulaması buz kalıpları ve ısıtıcı lambalar kullanılarak yapılmıştır ve hipotermi için özel kabinler kullanılmamıştır. Bizim çalışmamızda kontrollü hipotermi uygulamasını en anlamlı bir şekilde yapabilmek amacıyla dört kanallı veri toplama cihazı aracılığıyla bir bilgisayara adapte edilmiş olan özel, bilgisayar kontrollü bir soğutucu kabin kullanılmıştır.

Hipotermimin reversibl serebral iskemi üzerine olan etkileri çok çalışılmış olmasına karşın kalıcı serebral iskemi modellerinde orta dereceli hipotermimin etkinliği pek az çalışılmıştır. Klinik olarak hipotermimin sadece reversibl iskemide kullanılabileceğini düşünmek çok umut kırıcı olmaktadır çünkü vasküler okluzyon bir kere yerleşince çoğu zaman saatler veya günler boyunca iskemi devam etmektedir. Literatürde kalıcı iskemi hakkında birbirine karşıt veriler sunulmuştur.

Doerfler ve Ridenour ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda hipotermimin kalıcı serebral iskemi üzerine etkisiz olduğunu bildirmişlerdir (33,88). Doerfler 5 saat uygulanan hafif hipotermimin infarkt oluşumunu ertelediğini ancak kesin infarkt hacmini belirgin olarak azaltmadığını bildirmiştir. Bunun da sebebinin global serebral iskemi modellerinde geniş olarak fokal serebral iskemi modelinde ise henüz incelenmiş olan gecikmiş nörodejenerasyon (34,59) olabileceğini bildirmiştir. Doerfler hipotermimin irreversibl olarak hasarlanan ancak henüz ölmemiş olan hücrelerin ölümünü geciktirebileceğini savunmuştur. Doerfler aynı zamanda postiskemik hipotermimin iskemik nöronal viabilite'yi kollateral kan akımı gelişinceye kadar koruyarak etki ediyor olabileceğini de öne sürmüştür (33). Hipotermi aynı zamanda intrakranial basıncı azaltmakta ve hücrelerin hayatta kalmaları için gerekli olan serebral kan akımı eşiğini de düşürmektedir bu da potansiyel canlı doku sayılabilecek olan iskemik penumbranın nöronal canlılığını devam ettirmesine katkıda bulunmaktadır (54). Ancak bunun tam aksine olarak Baker (9) , Kader (55) ve ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda iskemiden 1 saat sonra uygulanan hipotermimin infarkt alanını kalıcı olarak azalttığını bildirmişlerdir. Kader ve ark. ratlarda kalıcı MCA okluzyonu yaparak bir saat süre ile 30°C , 33°C ve 34,5 derecede hafif hipotermi uygulaması yapmışlar ve infarkt volümü hesaplamışlardır. Kader ve ark. bu çalışmalarında infarkt volümünü 30°C , 33°C ve 34,5 derecede sırasıyla %9,3±2,1, %8,2±2,2 ve %8,4±2,2 oranında bulmuşlardır, kontrol grubunda ise infarkt volümünü 36,5 derecede %19,6±1,6 olarak bildirmişlerdir. Buna göre hipotermi grupları arasında infarkt hacminde belirgin bir farklılık olmadığını ancak kontrol grubu ile hipotermi grupları arasında belirgin bir infarkt azalması olduğunu bildirmişlerdir (P<0.01). Bizim çalışmamızda hacim ölçümü yapılmamıştır. Herbir beyinden alınan kesitlerdeki infarkt

alanları mm<sup>2</sup> cinsinden hesaplanarak aynı beyindeki tüm kesitlerin toplam alanına oranlanmıştır. Kontrol grubunda infarkt alanlarının oranı ortalama olarak %9.8 hipotermi grubunda ise %7.4 olarak bulunmuştur (P<0.05). Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır ve Kader ve arkadaşlarının çalışması ile uyumludur.

Hemisferik serebral infarktlarda aşırı serebral ödem ve aşırı intrakranial basınç artışı komşu serebral dokularda da iskemiye neden olmakta ve infarktın progresyonuna neden olmaktadır. Baker ve Doerfler çalışmalarında kalıcı serebral infarkt üzerine hipotermimin etkilerinin farklı bulunmasının nedeni kullandıkları metodun farklılığında aranabilir (9,33). Baker çalışmasında kraniektomi yaparak Tamura metodu ile hipotermimin etkinliğini incelemiştir. Doerfler ise dekompressif kraniektomi yapılarak ve yapılmadan MCA okluzyonu oluşturmuş ve kraniektomi yapılmayan grupta hipotermimin etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu çalışmada Doerfler kraniektomi ile beraber infarkt oluşturduğunda hipotermimin kalıcı serebral iskemide infarkt hacmini azalttığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda Tamura metodu uygulandığı için hipotermi erken dekompresyon ile beraber uygulanmıştır. Ancak kontrol grubunda da dekompresyon uygulanması nedeniyle bizim görüşümüz Baker ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak hipotermimin dekompresyona bağlı olmadan kalıcı serebral iskemide protektif etkinliğinin olduğu yönündedir.

Doerfler ve ark. kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MCA okluzyonunu takiben 4 saat sonra yapılan erken kraniektominin infarkt büyüklüğünü belirgin derecede azalttığını ve nörolojik skoru belirgin derecede iyileştirdiğini bildirmişlerdir (33). Ancak böyle kısa bir periyod sonrasında nörolojik iyileşme görülüp görülmeyeceği tartışılabilir. Nörolojik değerlendirmenin daha uzun süreli bir takip sonucunda yapılması belki daha anlamlı olabilirdi. Bizim çalışmamızda MCA infarktını takiben 24 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilmişler ve dekapitasyon öncesinde yapılan nörolojik muayeneleri MCA okluzyonunun hemen ardından yapılan nörolojik muayeneleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır.

MCA okluzyonu gibi hemisferik MCA okluzyon yapılarak geliştirilen infarktlarda masif beyin ödemi ve herniasyon nedeniyle yüksek mortalite oranı gözlenmektedir. Takip süresi uzadıkça hipotermimin serebral infarkt üzerine olan etkileri halen tartışmalıdır. Bir

çalışmada global serebral iskemiden 3 saat sonra postiskemik hipotermi uygulamasının iskemiden 3 gün sonra nöronal hasarı azalttığı gösterilmiştir fakat nöroprotektif etki 7 günde azalmış ve 2 ayda ise etkisinin olmadığı bildirilmiştir (31). Diğer taraftan birçok deneysel çalışma ise hipotermik ve normotermik ratlarda, hayvanlar 24 veya 72 saatte dekapite edildiklerinde infarkt büyüklüğünün değişmediğini bildirmişlerdir, bu da hipoterminin sadece infarkt gelişimini yavaşlatmadığını daha ileri derecede iskemik serebral hasar gelişimini kalıcı olarak önlediğini göstermektedir (9,55). Bu nedenle biz deneysel protokolümüzü 24 saat esaslı ile planladık ve daha uzun süreli bir takip periyodu uygulamadık.

Hipoterminin tedavi mekanizması halen tam olarak açıklığa kavuşturulmuş değildir. Reversibl global ve irreversibl fokal serebral iskemiler farklı fenomenlerdir. Global iskemi esnasında derin bir doku hipoksisi vardır ve sellüler adenosin trifosfat depoları boşalmış ve tüm beyinde yaygın bir asidoz mevcuttur (66). Derin doku hipoksisi fokal serebral iskemide de görülmesine rağmen fokal serebral iskemide etrafta kısmen kollateral kan akımı ile beslenen penumbra mevcuttur. İskemik penumbra sellüler iyon gradientlerine yetecek kadar kan almaktadır ancak en azından kısa bir süre için elektriksel aktivite gösterememektedir (6). Bu alandaki enerji imbalansının gelişimi iskemik çekirdeğe göre daha yavaştır (97). İskemik penumbrada nörotransmitter salınımına bağlı hasarlanmanın iskemik çekirdeğe göre daha fazla olduğuna dair bulgular mevcuttur (102). İskemik penumbrada marjinal ihtiyaç olan adenosin trifosfat glutamatın kalsiyum bağımlı salınımı için de gerekli olabilir (76). Buna ek olarak iskemik çekirdekdeki yüksek asidite penumbradaki daha düşük asidite ile karşılaştırılınca glutamat eksitotoksitesini azaltmaktadır (104,108). Sonuç olarak penumbrada marjinal sınırlarda bulunan oksijen, iskemi esnasında sellüler hasardan sorumlu tutulan süperoksit ve hidroksil radikallerinin oluşumlarını arttırabilir (108).

Hipoterminin serebral protektif mekanizması kesin olarak bilinmemesine rağmen birçok mekanizmalar öne sürülmüştür. İyi bilinmektedir ki hipotermi sellüler metabolik hızı azaltmaktadır (3,4,5,7,18,50,68,73,77,78,106,123). Penumbradaki hücrelerde irreversibl hasarların gelişmesi iskeminin şiddetine ve süresine bağlıdır (54,97). Bu nedenle teorik olarak hipotermi uygulaması ile penumbradaki hücrelerin hayatta kalış süreleri yeterli kollateral dolaşım gelişinceye kadar uzamaktadır. Eğer bu doğru ise daha düşük

sıcaklıklardaki hipotermi tedavisi ile daha fazla doku kurtarmak mümkündür. Ancak Kader ve ark. yaptıkları bir çalışmada vücut sıcaklığını 34,5 dereceden 30 dereceye kadar düşürünce infarkt alanındaki azalmanın belirgin olarak değişmediğini göstermişlerdir (55). Yine Kader ve ark. daha önce yaptıkları bir çalışmada vücut ısısının 24 dereceye düşürülmesi ile yapılan hipoterminin serebral infarkt alanını %60-80 oranında azalttığını göstermişlerdir. Ancak 30 derece ile 24 derece arasında infarkt alanının küçülüp küçülmediği konusunda her iki çalışmanın kontrol gruplarının farklı infarkt alanları göstermeleri nedeniyle bir sonuç çıkarmak mümkün olmamıştır (9,55). Ayrıca barbituratlar ve izofluran'ın da metabolik talebi azalttığı bilinmektedir. Ancak bunlar hipotermi kadar iyi nöroprotektif etkinlik göstermemektedirler. Bu da hipoterminin nöroprotektif etkinliğinde metabolik talebin azalmasının primer mekanizma olmadığını göstermektedir (5,94,113). Hipoterminin günümüze kadar bildirilen diğer koruyucu mekanizmaları arasında intrasellüler asidozu azaltması (26), iskemik serebral ödem gelişimini azaltması (30,56,63), lökotrien B<sub>4</sub> birikimini azaltması(30) protein kinaz C'nin iskemi bağımlı fonksiyonunu ve inhibisyonunu önlemesi (22,27), postiskemik sitotoksik olayları azaltması (24,25,37,51,57,87,103), iskemi kaynaklı kan beyin bariyeri değişikliklerini önlemesi sayılabilir (32,56).

Geçici hipotermiden sonra tekrar ısıtma işlemi hipotermi tedavisinin “kritik faz'ı” olarak düşünülmelidir. Çünkü bu esnada intrakranial basınçta rebound bir artış olmaktadır(95). Bizim çalışmamız Tamura yöntemi ile yapıldığından zaten kraniektomi yapıldığı için hipotermiden sonra oluşan rebound intrakranial basınç artışı oluşan infarkt üzerine olumsuz etki yapmamaktadır.

Hipotermi çalışmaları günümüzde şiddetli kapalı kafa travmalarında ve MCA infarktlarında klinik olarak kullanılmaya başlanmıştır (96). Schwab ve ark. MCA infarktlı hastalarda direk beyin sıcaklığını takip ederek (33-34 °C) sistemik hipotermi uygulamışlardır. 25 hastanın vücut sıcaklığı 48-72 saat süre ile 33 °C'ye düşürülerek tedavi edilmiş ve soğutma süresi boyunca intrakranial basınç düşürülmüş, sonuç olarak mortalite oranının %44'e düştüğü gözlenmiştir. Bu hastalarda standart tedavi protokolleri uygulandığında beklenen mortalite oranı ise %80'dir (89).

## SONUÇ

Bu çalışmamız geçici hipotermi uygulamasının iskeminin hemen ardından 1 saat gibi kısa bir süreyle bile yapılmasının kalıcı fokal serebral iskemik infarktı belirgin olarak azalttığını göstermektedir. Bu bilgiler ışığında orta dereceli hipoterminin serebral protektif etkinliği görüldüğünden, beyin cerrahisi uygulamaları esnasında genel anestezi altındaki hastalarda, beyin cerrahisi yoğun bakımdaki yüksek ateşli hastalarda ve nöroloji kliniklerinde strok nedeniyle tedavi edilen hastalarda kullanılabileceği kanaatindeyiz.

## ÖZET

### FOKAL SEREBRAL İSKEMİDE İNTRAİSKEMİK ORTA DERECELİ HİPOTERMINİN ETKİSİ

Bu çalışmamızda kalıcı orta serebral arter okluzyonunda intraiskemik orta dereceli hipoterminin etkileri araştırılmıştır.

20 adet Sprague-Dawley rat kontrol grubu ve hipotermi grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Ratlarda hipotermi çalışmalarının yapılabilmesi için özel bir soğutucu kabin geliştirilmiştir. Bu soğutucu kabin dört kanallı bir veritoplama cihazı aracılığıyla bir bilgisayara bağlanmıştır ve bilgisayarın toplanan verilere uygun olarak soğutucu kabini kontrol edebilmesi amacıyla özel bir program yazdırılmıştır. Hipotermi grubunda ratların temporal kas ısısı orta serebral arter okluzyonundan sonra bir saat süre ile 27-29 °C'ye düşürülerek takip edilmiştir. Orta serebral arter okluzyonu, normotermik şartlarda subtemporal kraniektomi yapılarak orta serebral arterin koagülasyonu metodu ile yapılmıştır. İnfarkt alanlarının ölçülebilmesi için her bir beyin 2'şer mm kalınlıkta kesitlere ayrılmış ve kesitler 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride ile boyanmıştır. İnfarkt alanları Osiris Version 4.12 medical imaging software kullanılarak ölçülmüştür. İnfarkt oranları, tüm beyne kıyasla kontrol grubunda %9.8, hipotermi grubunda %7.4 olarak bulunmuştur.

Bulgular, infarkt oranlarının hipotermi grubunda orta dereceli hipoterminin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığını göstermiştir (P<0.005).

Sonuç olarak, bu çalışma akut iskemik strokta hipoterminin etkinliğinin araştırılması için ileri klinik araştırmaların dizayn edilmesine bir basamak olabilir.

## **SUMMARY**

### **EFFECTS OF INTRAISCHEMIC MODERATE HYPOTHERMIA ON FOCAL CEREBRAL ISCHEMIA**

**The purpose of the present study was to evaluate the effects of moderate hypothermia on focal cerebral ischemia in permanent middle cerebral artery occlusion.**

**Twenty Sprague-Dawley rats were divided into 2 groups as follows: a control group; hypothermia group. A special hypothermia chamber was developed for hypothermia studies in rats. The hypothermia chamber adopted under control of a personal computer by using a four-channel data acquisition system and special software was written to control the system. In the hypothermia group, temporal muscle temperature was maintained at 27-29°C after operation for 1 hour after middle cerebral artery occlusion. Permanent middle cerebral artery occlusion was performed by coagulation of middle cerebral artery after subtemporal craniectomy under operation microscope in normothermic conditions. For measuring the infarction size, the brains were divided into 2-mm slices and stained with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride. The infarct areas were measured by using medical imaging software Osiris Version 4.12. The infarct ratios were %9.8 and %7.4, in control and hypothermia groups, respectively.**

**The results showed that moderate hypothermia reduces infarction size statistically significantly after middle cerebral artery occlusion ( $P < 0.005$ ).**

**In conclusion, these results may be relevant to the design of future clinical trials of therapeutic hypothermia for acute ischemic stroke.**

## KAYNAKLAR

1. Adams, R.D., Victor, M.: Cerebrovascular Diseases. Principles of Neurology. Fourth Edition, Mc.Grow Hill Co. Singapore 1989, 624-643.
2. Ames, A. 3rd., Wright RL, Kowada, M.: Cerebral ischemia II: the no reflow phenomenon. Amer J Pathol., 52: 437, 1968.
3. Ames, A. 3rd., Zager, E.L.: Reducing cellular energy requirements as protection against CNS ischemia. Cerebral Ischemia and Hemorheology, (Eds) Hartmann, A., Kuschinsky, W., Berlin, Springer-Verlag 1987, 241–248.
4. Astrup, J., Sorensen, P.M., Sorensen, H.R.: Inhibition of cerebral oxygen and glucose consumption in the dog by hypothermia, pentobarbital and lidocaine. Anesthesiology, 55:263–268, 1981.
5. Astrup, J., Sorensen, P.M., Sorensen, H.R.: Oxygen and glucose consumption related to  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  transport in canine brain. Stroke, 12:726–730, 1981.
6. Astrup, J., Symon, L., Siesjo, B.K.: Thresholds in cerebral ischemia- the ischemic penumbra. Stroke, 12: 723, 1981.
7. Astrup, J.: Energy-requiring cell functions in the ischemic brain. J Neurosurg., 56:482–497, 1982.
8. Ay, H., Dalkara, T.: İskemik penumbra ve terapötik zaman aralığını etkileyen faktörler. Serebrovasküler Hastalıklar, (Ed) Prof. Dr. Sevin Balkan, Güneş Kitabevi 2002, 28-37.
9. Baker, C.J., Onesti, S.T., Solomon, R.A.: Reduction by delayed hypothermia of cerebral infarction following middle cerebral artery occlusion in the rat: a time-course study. J Neurosurg., 77; 438-444, 1992.
10. Barnett, H.J.M., Stein M.B., Mohr J.P., Yatsu F.M.: Stroke Vol. 1,; Churchill Livingstone Inc, New York, 1986, 75.
11. Beckman, J.S., Beckman, T.W., Chen J. et al: Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. Proc Natl Acad Sci USA 87: 1620-1624, 1990.
12. Bederson, J.B., Pitts, L.H., Tsuji, M., Nishimura, M.C., Davis, R.L., Bartkowski, H.: Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the model and development of a neurologic examination. Stroke, 17, 472-476, 1986.

13. Bering, E.A. Jr.: Effects of profound hypothermia and circulatory arrest on cerebral oxygen metabolism and cerebrospinal fluid electrolyte composition in dogs. *J Neurosurg.*, 40:199-205, 1974.
14. Berntman, L., Welsh, F.A., Harp, J.R.: Cerebral protective effect of low grade hypothermia. *Anesthesiology*, 55:495-498, 1981.
15. Blair, E.: *Clinical Hypothermia*. New York, McGraw-Hill, 1984.
16. Bonita, R.: Stroke prevention: a global perspective. *Stroke Prevention* (eds) Norris, J.W, Hachinski, V., New York, NY: Oxford University Press, 2001, 259-274.
17. Brunberg, J.A., Reilly, E.L., Doty, D.B.: Central nervous system consequences in infants of cardiac surgery using deep hypothermia and circulatory arrest. *Circulation*, 50(2 Suppl):II60-8,1974.
18. Busija, D., Leffler, C.W.: Hypothermia reduces cerebral metabolic rate and cerebral blood flow in newborn pigs. *Am J Physiol.*, 253:869–873, 1987.
19. Busto, R., Dietrich, W.D., Globus, M., et al: Small differences in intraschemic neuronal injury. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metab.*, 7:729-738, 1987.
20. Busto, R., Gingsberg, M.D.: The influence of altered brain temperature in cerebral ischemia. *Cerebrovascular Disease: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*, (Eds) Gingsberg, M.D., Bogousslavsky, J., Malden, MA: Blackwell Science, 1998, 287-307.
21. Butterfield, J.D., McGraw, C.P.: Free radical pathology. *Stroke* 9: 443, 1978.
22. Cardell, M., Boris-Moller, F., Wieloch, T.: Hypothermia prevents the ischemia-induced translocation and inhibition of protein kinase C in the rat striatum. *J Neurochem.*, 57:1814–1817, 1991.
23. Chen, H., Chopp, M., Zhang, Z.G., Garcia, J.H.: The effect of hypothermia on transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 12:621-628, 1992.
24. Choi, D.W., Koh, J.Y., Peters, S.: Pharmacology of glutamate neurotoxicity in cortical cell culture: Attenuation by NMDA antagonists. *J Neurosci.*, 8:185–196, 1988.
25. Choi, D.W.: Calcium-mediated neurotoxicity: Relationship to specific channel types and role in ischemic damage. *Trends Neurosci.*, 11:465–469, 1988.

26. Chopp, M., Knight, R., Tidwell, C.D., Helpern, J.A., Brown, E., Welch, K.M.A.: The metabolic effects of mild hypothermia on global cerebral ischemia and recirculation in the cat: Comparison to normothermia and hyperthermia. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 9:141–148, 1989.
27. Churn, S.B., Taft, W.C., Billingsley, M.S., DeLorenzo, R.J.: Temperature modulation of ischemic neuronal death and inhibition of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in gerbils. *Stroke*, 21:1715–1721, 1990.
28. Demirkaya, S., Vural, O.: Serebral kan akımı ve serebral metabolizma. *Serebrovasküler Hastalıklar*, (Ed) Prof. Dr. Sevin Balkan, Güneş Kitabevi 2002, 15-27.
29. Demopoulos, H., Flamm, E., Seligman, M., et al: Molecular pathology of lipids in CNS membranes. *Oxygen and Physiological Function*, (Ed) Jöbssis, F.F., Dallas: Professional Information Library, 1977, 491-508.
30. Dempsey, R.J., Combs, D.J., Maley, M.E., Cowen, D.E., Roy, M.W., Donaldson, P.C.: Moderate hypothermia reduces postischemic edema development and leukotriene production. *Neurosurgery*, 21:177–181, 1987.
31. Dietrich, W.D., Busto, R., Alonso, O., Globus, M.Y.T., Ginsberg, M.D.: Intraischemic but not postischemic brain hypothermia protects chronically following global forebrain ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 13: 541-549, 1993.
32. Dietrich, W.D., Busto, R., Halley, M., Valdes, I.: The importance of brain temperature in alterations of the blood-brain barrier following cerebral ischemia. *J Neuropathol Exp Neurol.*, 49:486–497, 1990.
33. Doerfler, A. Schwab, S., Hoffmann, T.T., Engelhorn, T., Forsting, M.: Combination of Decompressive Craniectomy and Mild Hypothermia Ameliorates Infarction Volume After Permanent Focal Ischemia in Rats. *Stroke* 32: 2675-2681, 2001.
34. Du, C., Hu, R., Csernansky, C.A., Hsu, C.Y., Choi, D.W.: Very delayed infarction after mild focal cerebral ischemia: a role for apoptosis? *J Cereb Blood Flow Metab.*, 16: 58; 195-201, 1996.
35. Ferguson, J.H.: Curative and population medicine: Bridging the great divide. *Neuroepidemiology*, 18: 111–119, 1999.

36. Forsting, M., Reith, W., Schaebitz, W.R., Heiland, S., von Kummer, R., Hacke, W., Sartor, K.: Decompressive craniectomy for cerebral infarction: an experimental study in rats. *Stroke*, 26:259-264, 1995.
37. Fox, A.P., Nowycky, M.C., Tsien, R.W.: Kinetic and pharmacological properties distinguishing three types of calcium currents in chick sensory neurones. *J Physiol (Lond)*, 394:149–172, 1987.
38. Friede, R.L., Van Houten WH: Relations between postmortem alterations and glycolytic metabolism in the brain. *Exp Neurol*, 4: 197, 1961.
39. Garthwaite, J.: Glutamate, Nitric oxide and cell-cell signaling in nervous system. *Trends Neurosci.*, 14: 60-67, 1991.
40. Ginsberg, M.D., Budd, W.W., Welsh, F.A.: Diffuse cerebral ischemia in the cat. I. Local blood flow during severe ischemia and recirculation. *Ann Neurol*, 3:482, 1978.
41. Goldberg, N.D., Passonneau, J.V., Lowry, O.H.: Effects of changes in brain metabolism on the levels of citric acid cycle intermediates. *J Biol Chem.*, 241: 3997, 1966.
42. Goldstein, L., Evidence-based medicine and stroke. *Neuroepidemiology*, 18: 120–124, 1999.
43. Gonul, E., Duz, B., Kahraman, S., Kayalı, H., Kubar, A., Timurkaynak, E.: Early pericyte response to brain hypoxia in cats: An ultrastructural study. *Microvasc Res.*, 64, 116-119, 2002.
44. Gorelick, P.B.: Prevention and screening programs *Stroke Prevention* (eds) Norris, J.W, Hachinski, V., New York, NY: Oxford University Press, 2001, 117–136.
45. Goto, Y., Kassell, N.F., Hiramatsu, K., et al: Effects of intraischemic hypothermia on cerebral damage in a model of reversible focal ischemia. *Neurosurgery*, 32: 980-985, 1993.
46. Grossman, R.G., Williams, V.F.: Electrical activity and ultrastructure of cortical neurons and synapses in ischemia. *Brain Hypoxia*, (Eds) Brierley JB, Meldrum BS. Lippincott, Philadelphia, 1971, 61.
47. Guo, J., Chao, Y.D.: Modification of a model for cerebral ischemia in the cat: a new method to occlude the middle cerebral artery. *Neurosurgery*, 25:49-53, 1989.

48. Halliwell, B.: Superoxide, iron, vascular endothelium and reperfusion injury. *Free Rad Res Commun.* 5: 315-318, 1989.
49. Harris, R.J., Branston, N.M., Symon, L.: The effects of calcium antagonists, nimodipine, on physiological responses of the cerebral vasculature and its possible influence upon focal cerebral ischemia. *Stroke* 13: 759, 1982.
50. Heros, R.C.: Stroke: Early pathophysiology and treatment. *Stroke*, 25:1877–1881, 1994.
51. Hille, B.: Calcium channels. *Ionic Channels of Excitable Membranes*, (Ed) Hille, B.: Saunderland, Sinaur Associated, 1984, 76–98.
52. Hossmann, K.A., Kleinhues, P.: Reversibility of ischemic brain damage. *Arch Neurol.*, 29: 375, 1973.
53. Jones, T.H., Morawetz, R.B., Crowell, R.M.: Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys. *J Neurosurg.*, 54:773, 1981.
54. Jones, T.H., Morawetz, R.B., Crowell, R.M., Marcoux, F.W., Fitzgibbon, S.J., DeGirolami, U., Ojemann, R.G.: Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys. *J Neurosurg.*, 54: 773-782, 1981.
55. Kader, A., Brisman, M.H., Maraire, N., Huh, J.T., Solomon, R.A.: The effect of mild hypothermia on permanent focal ischemia in rat. *Neurosurgery*, 31:1056-1061, 1992.
56. Karibe, H., Zarow, G.J., Graham, S.H., Weinstein, P.R.: Mild intraschemic hypothermia reduces postischemic hyperperfusion, delayed postischemic hypoperfusion, blood-brain barrier disruption, brain edema, and neuronal damage volume after temporary focal cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 14:620–627, 1994.
57. Kasai, H., Neher, E.: Dihydropyridine-sensitive and conotoxin-sensitive calcium channels in a mammalian neuroblastoma-glioma cell line. *J Physiol (Lond).*, 448:161–188, 1992.
58. Kilpatrick, M.M., Lowry, D.W., Firlik, A.D., Yonas, H., Marion, D.W.: Hyperthermia in the neurosurgical intensive care unit. *Neurosurgery*, 47, 850-856, 2000.
59. Kirino, T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res.*, 239: 57-69, 1982 .

60. Kuschinsky, W., Wahl, M.: Local chemical and neurogenic regulation of cerebral vascular resistance. *Physiol Rev.*, 58:656, 1978.
61. Kumral E, Balkır K.: İnme epidemiyolojisi. *Serebrovasküler Hastalıklar*, (Ed) Prof. Dr. Sevin Balkan, Güneş Kitabevi 2002, 15-27.
62. Lindahl, P., Johansson, B.R., Levéen, P., Betsholtz, C.: Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-Deficient mice. *Science*, 277:242-245, 1997.
63. Lo, E.H., Steinbert, G.K.: Effects of hypothermia on evoked potentials, magnetic resonance imaging, and blood flow in focal ischemia in rabbits. *Stroke*, 23:889–893, 1992.
64. Lowry, O.H., Passonneau, J.V.: The relationship between substrates and enzymes of glycolysis in brain. *J Biol chem.*, 239: 31, 1964.
65. Lund-Anderson, H.: Transport of glucose from blood to brain. *Physiol Rev.*, 59:305, 1979.
66. Lunggren, B., Schultz, H., Siesjo, B.K.: Changes in energy state and acid base parameters of the rat brain during complete ischemia. *Brain Res.*, 73:277-289, 1974.
67. Markarian, G.Z., Lee, J.H., Stein, D.J., Hong, S.C.: Mild Hypothermia: Therapeutic window after experimental cerebral ischemia. *Neurosurgery*, 38; 542-551, 1996.
68. Menon, D.K., Young, Y.: Pharmacologically induced hypothermia for cerebral protection in humans. *Stroke*, 25:522–523, 1994.
69. Meyer, J.S., Welch, K.M.A.: Relationship of cerebral blood flow and metabolism to neurological symptoms. *Progress in Brain Research*, (Ed) Schade E Elsevier, Amsterdam 1972, 285.
70. Meyer, J.S., Gotoh, F., Tazaki, Y.: Circulation and metabolism following experimental cerebral embolism. *J Neuropathol Exp Neurol.*, 21:4, 1962.
71. Meyer, J.S., Miyakawa, Y., Welch, K.M.A.: Influence of adrenergic receptor blockade on circulatory and metabolic effects of disordered neurotransmitter function in stroke patients. *Stroke*, 7: 158,1976.
72. Michenfelder, J.D., Milde, J.H.: Failure of prolonged hypocapnia, hypothermia, or hypertension to favorably alter acute stroke in primates. *Stroke*, 8:87-91, 1977.
73. Michenfelder, J.D., Theye, R.A.: Hypothermia: Effect on canine brain and whole body metabolism. *Anesthesiology*, 29:1107–1112, 1968.

74. Mitchell, P.: Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature*, 191: 144, 1961.
75. Myers, R.E., Yamaguchi, M.: Tissue lactate accumulation as cause of cerebral edema. *Neuroscience abstracts*. (Ed) Bethesda, M.A., Vol. 2. Society for Neuroscience 1976, 1043.
76. Nicholls, D.G.: Release of glutamate, aspartate and gamma-aminobutyric acid from isolated nerve terminals. *J Neurochem.*, 52:331-341, 1989.
77. Nilsson, L., Kogure, K., Busto, R.: Effects of hypothermia and hyperthermia on brain energy metabolism. *Acta Anaesth Scand*, 19:199–205, 1975.
78. Nordstrom, C.H., Rehncrona, S.: Reduction of cerebral blood flow and oxygen consumption with a combination of barbiturate anaesthesia and induced hypothermia in the rat. *Acta Anaesth Scand*, 22:7–12, 1978.
79. Norwood, W.I., Norwood, C.R., Castaneda, A.R.: Cerebral anoxia: effect of deep hypothermia and pH. *Surgery*, 86:203-9, 1979.
80. Onesti, S.T., Baker, C.J., Sun, P.P., Solomon, R.A.: Transient hypothermia reduces focal ischemic brain injury in the rat. *Neurosurgery*, 29., 369-373, 1991.
81. Osterholm, J.L., Frazier, G.D.: Pathophysiological consequences of brain ischemia. *Neurosurgery*, Vol 2 (eds) Wilkins, R.H., Rengachary, S.S., Mc Grow Hill Co, Newyork, St. Luis 1996, 2033-37.
82. Osterholm, J.L., Pathophysiological consequences of brain ischemia. *Neurosurgery*, Vol 2 (eds) Wilkins, R.H., Rengachary, S.S., Mc Grow Hill Co, Newyork, St. Luis 1985, 1185-1189.
83. Pardridge, W.M., Blood-brain barrier biology and methodology (Review) *Journal of NeuroVirology*, 5: 556-569, 1999.
84. Patt, A., Harken, A.H., Burton, L.K., et al: Xanthine oxidase-derived hydrogen peroxide contributes to ischemia reperfusion-induced edema in gerbil brains. *J Clin Invest.*, 81: 1556-1562, 1988.
85. Popovic, V.P., Kent, K.M.: Cardiovascular responses in prolonged hypothermia. *Am J Physiol.*, 209:1069-74, 1965.
86. Raichle, M. E.: The pathophysiology of brain ischemia, *Annals of Neurology*, 13: 2-10, 1983.

87. Rane, S.G., Holz, G.G. IV., Dunlap, K.: Dihydropyridine inhibition of neuronal calcium current and substance P release. *Pflugers Arch.*, 409:361–366, 1987.
88. Ridenour, T.R., Warner, D.S., Todd, M.M., McAllister, A.C.: Mild hypothermia reduces infarct size resulting from temporary but not permanent focal ischemia in rats. *Stroke*, 23, 733-738, 1992.
89. Roman, R., Bartowski, H., Simon, R.: The specific NMDA receptor antagonist AP-7 attenuates focal ischemic brain injury. *Neurosci Lett.*, 104:19-24, 1989.
90. Rosomoff, H.L.: Hypothermia and cerebral vascular lesions, I. Experimental interruption of the middle cerebral artery during hypothermia. *J Neurosurg.*, 13: 244-255, 1956.
91. Sacco, R.L., Wolf, P.A., Gorelick, P.B.: Risk factors and their management for stroke prevention: outlook for 1999 and beyond. *Neurology*. 1999; 53(suppl 4): S15–S24
92. Salford, L.G., Plum, F., Siesjo, B.K.: Graded hypoxia-oligemia in rat brain. I. Biochemical alterations and their implications. *Arch Neurol.*, 29: 227, 1973.
93. Salford, L.G., Plum, F., Brierley, J.B.: Graded hypoxia-oligemia in rat brain. II. Neuropathological alterations and their implications. *Arch Neurol.*, 29: 234, 1973.
94. Sano, T., Drummond, J.C., Patel, P.M., Grafe, M.R., Watson, J.C., Cole, D.J.: A comparison of the cerebral protective effects of isoflurane and mild hypothermia in a model of incomplete forebrain ischemia in the rat. *Anesthesiology*, 76:221–228, 1992.
95. Schwab, S., Schwarz, S., Spranger, M., Keller, E., Bertram, M., Hacke, W.: Moderate hypothermia in the treatment of patients with severe middle cerebral artery infarction. *Stroke*, 29; 2461-2466, 1998.
96. Schwab, S., Spranger, M., Aschoff, A., et al: Brain temperature monitoring and modulation in patients with severe MCA infarction. *Neurology.*, 48: 762-767, 1997.
97. Selman, W.R., Ricci, A.J., Crumrine, R.C., LaManna, J.C., Ratcheson, R.A., Lust, W.D.: The evolution of focal ischemic damage: A metabolic analysis. *Metab Brain Dis.*, 5: 33-44, 1990.
98. Shapiro, H.M., Wyte, S.R., Loeser, J.: Barbiturate-augmented hypothermia for reduction of persistent intracranial hypertension. *J Neurosurg.*, 40(1):90-100, 1974.

99. Sick T.J., Xu G., Perez Pinzon M.A.: Mild hypothermia improves recovery of cortical extracellular potassium ion activity and excitability after middle cerebral artery occlusion in the rat. *Stroke*, 30: 2416-2421, 1999.
100. Siesjo BK: Historical overview. Calcium, ischemia, and death of brain cells. *Ann NY Acad Sci.*, 522: 638-661, 1988.
101. Siesjo BK: Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II: Mechanisms of damage and treatment. Review article. *J Neurosurg.*, 77:337-354, 1992.
102. Siesjo, B.K., Agardh, C.D., Bengtsson, F.: Free radicals and brain damage. *Cerebrovasc Brain Metab Rev.*, 1:165-211, 1989.
103. Siesjo, B.K., Bengtsson, F.: Calcium fluxes, calcium antagonists, and calcium-related pathology in brain ischemia, hypoglycemia, and spreading depression: A unifying hypothesis. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 9:127-140, 1989.
104. Siesjo, B.K.: Acidosis and ischemic brain damage. *Neurochem Pathol.*, 9: 31-88, 1988.
105. Siesjo, B.K.: *Brain Energy Metabolism*, Wiley, New York 1978.
106. Siesjo, B.K.: Cerebral circulation and metabolism. *J Neurosurg.*, 60:883-908, 1984.
107. Siesjo, B.K.: Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II: Mechanisms of damage and treatment. *J Neurosurg.*, 77:337-354, 1992.
108. Siesjo, B.K.: Mechanisms of ischemic brain damage. *Crit Care Med.*, 16:954-963, 1988.
109. Simeone, F.A., Frazer, G., Lawner, P.: Ischemic brain edema: comparative effects of barbiturates and hypothermia. *Stroke*, 10:8-12, 1979
110. Stocker, F., Herschkowitz, N., Bossi, E., Stoller, M., Cross, T.A., Aue, W.P., Seelig, J.: Cerebral metabolic studies in situ by <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance after hypothermic circulatory arrest. *Pediatr Res.*, 20:867-71, 1986.
111. Symon, L., Branston, N.M., Chikovani, O.: Ischemic brain edema following middle cerebral artery occlusion in baboons: relationship between regional cerebral water content and blood flow at 1 to 2 hours. *Stroke* 10: 184, 1979.
112. Tamura, A., Graham, D.I., McCulloch, J., Teasdale, G.M.: Focal cerebral ischemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences

- following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 1:53-60, 1981.
113. Trauner, D.: Barbiturate therapy in acute brain injury. *J Pediatr.*, 109:742–746, 1986.
114. Tüzün, Y.: Uzmanlık Tezi. Deneysel serebral iskemide hafif dereceli hipoterminin etkisi (guinea pig modeli) 1992.
115. Tyson, G.W., Teasdale, G.M., Graham, D.I., McCulloch, J.: Focal cerebral ischemia in the rat: topography of hemodynamic and histopathological changes. *Ann Neurol.*, 15: 559-567, 1984.
116. Waxinos, G., Watson C.: The rat brain in stereotactic coordinates. Compact third edition. Academic Press, 1997.
117. Welch, K.M.A., Barkley, G.L.: Biochemistry and pharmacology of cerebral ischemia. *Stroke Pathophysiology, Diagnosis, and Management*, (eds) Barnett HJM, Stein BM, Mohr JP, Yatsu FM. Churchill Livingstone New York 1986, 75-90.
118. Welch, K.M.A., Meyer JS, Teraura T.: Ischaemic anoxia and cerebral serotonin levels. *J Neurol Sci.*, 16: 85, 1972.
119. Welsh, F.A., Gingsberg, M.D., Rieder, W.: Diffuse cerebral ischemia in the cat: II. Regional metabolites during severe ischemia and recirculation. *Ann Neurol.*, 3: 493, 1978.
120. Wolin, L.R., White, R.J., Massopust, L.C. Jr., Austin, J.C., Austin, P.E.: Absence of behavioral modifications with prolonged cerebral ischemia under deep hypothermia. *Surg Forum.*, 25:453-5, 1974.
121. Xue, D., Huang, Z.G., Smith, K.E., et al: Immediate or delayed mild hypothermia prevents focal cerebral infarction. *Brain Res.*, 587: 66-72, 1992.
122. Youdim, M.B.H.: *Brain Iron: Neurochemical and Behavioral Aspects* (Ed) M.B.H., London, Taylor & Francis, 1988
123. Zager, E.L., Ames, A. III.: Reduction of cellular energy requirements: Screening for agents that may protect against CNS ischemia. *J Neurosurg.*, 69:568–579, 1988.