

Yazışma Adresi

Correspondence Address

Ali ÜNAL

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi,
Nöroloji Anabilim Dalı,
Antalya, Türkiye
aunal@akdeniz.edu.tr

Geliş Tarihi : 19 Temmuz 2022
Received

Kabul Tarihi : 10 Nisan 2023
Accepted

E Yayın Tarihi : 01 Eylül 2023
Online published

Bu makalede yapılacak atf

Cite this article as

Ünal A, Ünal MZ.

Geçici Serebral İskemi Modelinde
Fokal Hipotermik Tedavi
Akd Tıp D 2023; 9(3): 317-324

Ali ÜNAL

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi,
Nöroloji Anabilim Dalı,
Antalya, Türkiye
aunal@akdeniz.edu.tr

ORCID ID:0000-0002-6530-9071

Mehmet Zülküf ÖNAL

Medicana Intertional
Ankara Hastanesi,
Nöroloji Kliniği,
Ankara, Türkiye
ORCID ID: 0000-0003-1125-4295

Geçici Serebral İskemi Modelinde Fokal Hipotermik Tedavi

Focal Hypothermic Treatment in Temporary Cerebral Ischemia Model

ÖZ

Amaç:

İskemik inme tedavisinde reperfüzyon yöntemleri ile iyi sonuçlar elde edilmektedir. Reperfüzyonun faydasının yanında inflamasyon ve beyin ödemi içerecek şekilde istenmeyen etkileri de vardır. Reperfüze olan bölgenin fokal olarak ısısının düşürülmesi istenmeyen etkileri azaltarak nöron hasarını azaltabilir. Bu çalışmada deneysel geçici serebral iskemi modelinde, iskemik dallara soğuk serum fizyolojik enjeksiyonu ile lokal olarak sağlanacak beyin ısısındaki düşüşün infarkt alanına ve klinik sonlanıma etkisini göstermeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntemler:

Çalışmada 28 adet rat kullanılarak intralüminal suture tekniği ile 90 dakikalık geçici orta serebral arter oklüzyonu yapıldı. Rekanalizasyon sonrası kontrol grubunda işlem sonlandırıldı, diğer gruplarda ise internal karotis arter yoluyla sırasıyla 15°C, 23°C ve 37°C ısıda serum fizyolojik infüzyonu yapıldı. Çalışma sırasında 15°C salin infüzyonu yapılan grupta erken dönem ölümler görülmesi üzerine çalışmanın bu ayağı sonlandırıldı. Diğer gruplar 24. saat sonunda infarkt hacmi ve nörolojik sonlanım açısından karşılaştırıldı.

Bulgular:

Salin infüzyonu yapılan iki grupta (23 ve 37 °C) da kontrol grubuna göre infarkt hacimlerinde küçülme saptandı (p=0,012). Salin infüzyonu yapılan gruplar arasında toplam (kortikal ve subkortikal) infarkt hacmi arasında fark yoktu. Kortikal infarkt hacmi açısından yapılan karşılaştırmada 23°C grupta kontrole kıyasla anlamlı küçülme gösterildi (p=0,011), 37 °C grup kontrolle kıyaslandığında anlamlı küçülme görülmedi ve sadece fark eğilimi vardı (p=0,063). Nörolojik skor açısından kıyaslama yapıldığında 23°C'lik infüzyon yapılan grubun skoru diğer gruplara göre daha iyi bulundu (p=0,010).

Sonuç:

Reperfüzyon sırasında salin infüzyonu ile infarkt hacminde azalma sağlanmıştır. Bu etki soğuk uygulama ile birlikte daha belirgindir. Ayrıca soğuk uygulama yapılan deneklerin nörolojik skorları daha iyidir.

Anahtar Kelimeler:

Serebral iskemi, İnfarkt, Hipodermi, Reperfüzyon hasarı

ABSTRACT**Objective:**

Positive results have been attained in ischemic stroke treatment by reperfusion. Despite the benefits of reperfusion there are also certain side effects consisting of inflammation and brain edema. Decreasing the temperature of the reperfused region locally may diminish the unwanted impact and mitigate the neuron damage. In this study, we aimed to show the effect of the decrease in cerebral temperature, which will be provided locally by the injection of cold saline into the ischemic branches, on the infarct area and clinical outcome in the experimental temporary cerebral ischemia model.

Material and Methods:

Using the 28 rats, 90-minute temporary middle cerebral artery occlusion has been done by using intraluminal suture technique. Following the recanalization the process was terminated for the control group. In the other groups, serum physiologic infusion via internal carotid artery was done in temperatures of 15°C, 23°C and 37°C consecutively. During the study early deaths were observed in the group which 15°C saline infusion was done therefore, this pillar of the study was terminated. Other groups were compared in terms of infarct volume and neurological outcome after 24 hours.

Results:

In both groups which saline infusion was administered (23 and 37 °C) shrinkage was identified in infarct volumes compared to the control group (p=0,012). There was no difference in total cortical and subcortical infarct volumes between the groups subject to saline infusion. In terms of cortical infarct volume 23°C group has shown a meaningful shrinkage compared to the control group (p=0,011) whereas 37-°C group did not have meaningful shrinkage compared to the control and had only a tendency of difference (p=0,063). In comparison of neurological score, the score of the group infused with 23°C saline was better compared to the other groups (p=0,010).

Conclusion:

During the reperfusion shrinkage in infarct volume was attained by the help of saline infusion and the impact is more evident paired with cold administration. Additionally, the neurological scores of cold administered subjects are better.

Key Words:

Cerebral ischemia, Infarct, Hypothermia, Reperfusion damage

GİRİŞ ve AMAÇ

İskemik inme ciddi ve önlenebilir bir toplumsal sağlık sorunudur. Koruyucu hekimlik uygulamaları, risk faktörlerinin tedavisi ile görülme sıklığı azaltılabilir (1). İskemik inme geçiren hastada intravenöz tromboliz ve/veya mekanik trombektomi ile iyi sonuçlar elde edilmektedir (2-7). Trombüse yönelik tedavilerde tedavinin tipine göre belirlenen, hasta ya da görüntüleme özelliklerine göre de değişebilen süre sınırlamaları vardır (2,3,7-9). Bu sınırlama günlerle değil, saat, hatta dakikalarla ölçülmektedir.

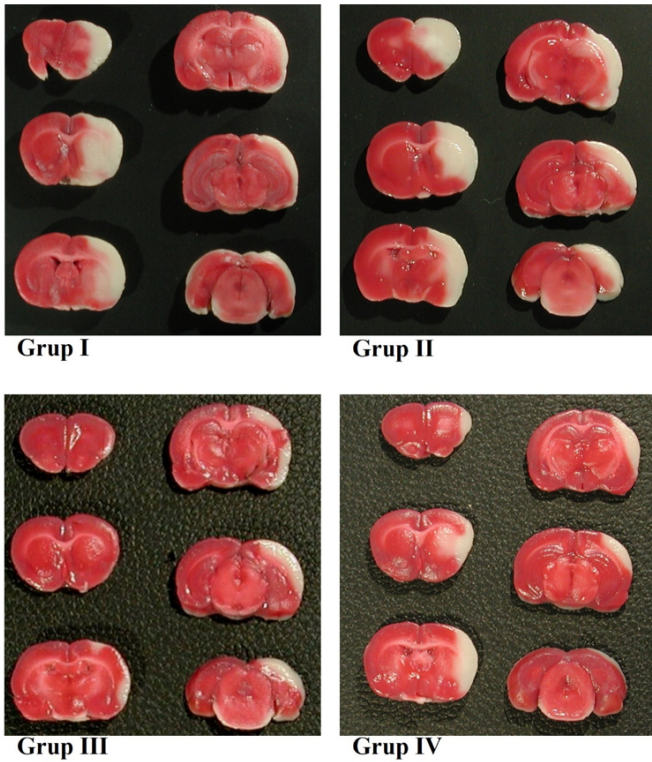
İskemik inmenin tedavisinde diğer bir alan da nöroproteksiyondur. Nöroproteksiyon iskemi direncini artırarak zaman kazanma ve ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri, adezyon molekülleri ve inflamasyonu azaltmayı ve apoptozu engellemeyi hedef almaktadır. Ayrıca tüm bu süreçleri tetikleyen reperfüzyon hasarından korunmak da önemlidir. Özellikle trombüse yönelik tedavideki gelişmeler, reperfüzyona bağlı olabilecek nöronal hasarın önlenmesini gerekli kılmaktadır. İskemik beyin reperfüzyonunun, yaygın hücre hasarı ve ölümüne yol açtığı bilinmektedir (10,11). İskemide sitokin üretimi ve moleküler adeziv olaylar erken dönemde oluşur ve arkasından gelişen reperfüzyon sırasında lökosit göçü inflamatuvar cevabı artırır (12-15). Nöroproteksiyonu hedefleyen farklı farmakolojik ajanlarla gerçekleştirilen prelinik çalışmalar, henüz klinik kullanılabilecek bir ilaçla sonuçlanmamıştır. Vücut ısısının düşürülerek inflamatuvar cevabın azaltılması ve nöron metabolizmasının yavaşlatılması doku hasarını azaltılabilir. Hayvan çalışmalarında beyin ısısının hafif ya da orta derecede düşürülmesiyle hem iskemik hem de travmatik hasarın azaldığı gösterilmiştir (14,16-19). Kardiyak arrest sonrası hipotermi uygulamasının nörolojik sonlanıma faydası gösterilmiş, fakat iskemik inmede tüm vücut soğutması şeklinde hipotermi uygulamasının faydası gösterilememiştir (20-24). Tedavi edici hipotermi için tüm vücut soğutması sık çalışılmıştır, bununla birlikte lokal uygulama açısından bilgiler sınırlıdır (17-19,25). Günümüzde akut inmenin intraarteriyel tedavisinde giderek artan gelişmeler lokal soğuk uygulamanın araştırılması için önem arz etmektedir (26-28).

Bu çalışmada deneysel, geçici serebral iskemik modelinde, iskemik dallara soğuk serum fizyolojik enjeksiyonu ile lokal olarak sağlanacak beyin ısısındaki düşüşün infarkt alanına ve klinik sonlanıma etkisini göstermeyi amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmamızda yetişkin, 260-330 gr ağırlığında, 28 adet rat kullanıldı. Hayvanlar Akdeniz Üniversitesi hayvan laboratuvarından temin edildi ve çalışma "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" ilkelerine, ilgili tüm ulusal düzenlemelere ve kurumsal politikalara uygun şekilde yürütülmüş olup, Akdeniz Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Karar No: E-74568308-020-479190). Ratlar rastgele dört gruba ayrıldı. Anestezi, kloral hidratin serum fizyolojik ile hazırlanan çözeltilisinin intraperitoneal olarak, 400 mg/kg dozunda uygulanması ile elde edildi. İdeal dozlarda ise 100 mg/kg dozdan intraperitoneal enjeksiyonlar yapıldı. Vücut ısısı, sirkulatuar ısı battanisiyesi (Harvard apparatus. Hemaothermic blanket control unit) ve masa lambası ile rektal ısı 36-37°C olacak şekilde ayarlandı. Rektal ısı takibine cerrahi işlem öncesinde başlandı ve prosedür bittikten sonraki 20. dakikaya kadar devam edildi (Electromedics inc. Dual display thermometer). Cerrahi öncesinde sağ femoral arterden kanülasyonla (Braun Introcane-W 24G) sürekli arteriyel basınç monitörizasyonu (Astro-med. Inc Grass Instrument division) yapıldı. Bu şekilde cerrahi ve tedavi uygulandığı sırada arteriyel basınçlar kaydedildi (polyVIEW Reviewer). Kanülasyon alanından elde edilen arteriyel kanla, iskemik gerçekleştirildiği anda ve iskemik birinci saatinde arteriyel kan gazları çalışıldı (Nova Biomedical. Stat profile M). Aynı örneklerden hema-

tokrit, kan glukoz ve elektrolit düzeyleri de bakılıp kaydedildi. Tüm gruplarda intralüminal sütür kullanılarak geçici orta serebral arter (OSA) oklüzyonu yapıldı. Fokal serebral iskemide (FSİ) ilk kez 1986'da Koizumi tarafından tanımlanan intralüminal sütür tekniği kullanılarak OSA'nın dolaşımının kesilmesi ile gerçekleştirildi (29-31). OSA akımı kesildikten 90 dakika sonra sütür geri çekilerek rekanalizasyon sağlandı ve internal karotis arterden (İKA) ters akım görülerek teyit edildi. Rekanalizasyon sonrası kontrol grubunda (I. Grup) İKA bağlanıp hemostaz sağlandı. Diğer gruplarda ise sütürün geri çıkarılmasını takiben, aynı insizyon yerinden branül yerleştirilip İKA'ya doğru ilerletildi ve FSİ'nin uygulandığı karotis sisteme, guruplara göre sırasıyla 15°C (II. Grup), 23°C (III. Grup) ve 37°C (IV. Grup) ısıdaki serum fizyolojik, 2 ml/dakika hızla, toplam 6 ml olmak üzere enjekte edildi. Enjeksiyon sonrası branül geri çıkarıldı ve İKA bağlanarak hemostaz sağlandı.



Ortalama hacim değerleri standart sapma ile verilmiştir. Veriler Kruskal-Wallis test ile değerlendirildi. Gruplar arası farklılıklar Post Hoc testle analiz edildi. $p < 0,050$ anlamlı fark olarak kabul edilip ' $<$ ' ile 0,050-0,750 fark eğilimi olarak kabul edilip ' \leq ' ile 0,750 den büyük değerlerde fark olmadığı kabul edilip ' $=$ ' işareti ile gösterilmiştir.

Şekil 1. Kesitlerden çekilen fotoğraflara, her grup için birer örnek. İnfarkt alanları beyaz renkte görülüyor.

Nörolojik değerlendirme Menzies SA. ve arkadaşlarının geliştirdiği muayene skalasına göre FSİ başlangıcından sonraki 24. saatte yapıldı (31,32). Nörolojik derecelendirme skalası Tablo I'de özetlenmiştir.

Tablo I. Nörolojik durum derecelendirme skalası.

Nörolojik muayene bulgusu	Nörolojik skor
Defisit yok	0
Ön bacağı uzatmada yetersizlik	1
Ön bacağın çekmeye direncinin azalması	2
Kuyruktan çekmeye yanıt olarak sola dönme	3
Spontan dönme	4
Ölüm	5

Operasyondan sonra 24. saatte ratlar yüksek dozda kloral hidrat çözeltisi ile uyutulup, dekapite edildi. Beyinler koronal düzlemde, önden arkaya doğru 2 mm kalınlığında olacak şekilde altı kesite ayrıldı. Alınan kesitler 30 dakika boyunca, 37°C'de, serum fizyolojikle hazırlanan %2'lik 2.3.5-trifeniltetrazolium klorid (TTC, Sigma) solüsyonunda bekletildi. İnfarkt alanının saptanmasında TTC hemotoksilen eozine benzer sonuç vermektedir (33). Boyama işlemi sonrasında kesitler %10'luk formalin solüsyonu (Merck) ile fikse edildi ve 24 saat bekletildikten sonra fotoğrafları çekildi. Fotoğraflardan bazı örnekler Şekil 1'de gösterilmiştir. Bu fotoğraflar kişisel bilgisayara yüklendikten sonra bir görüntü analiz programı kullanılarak (UTHSCSA Image Tool, Version 3.00) analiz edildi. Analiz sırasında her bir kesit için sağ, sol hemisfer alanları, infarkt alanı, kortikal ve subkortikal infarkt alan değerleri hesaplandı. Bu değerler kesit kalınlığı ile çarpılarak hacim değerleri elde edildi. İnfarkt hacmi koronal kesitlerde lezyon alanlarının toplam hacmi ile elde edildi. Düzeltilmiş infarkt hacmi ise, karşı hemisfer hacminden aynı taraf hemisferin etkilenmemiş hacminin çıkarılmasıyla hesaplandı. Bu iki metot arasındaki fark beyin ödemi dışlamak ve düzeltilmiş lezyon hacmini bulmaktır (34). Düzeltilmiş infarkt hacmi = sol hemisfer hacmi - (sağ hemisfer hacmi - infarkt hacmi)

İstatistiksel Analiz

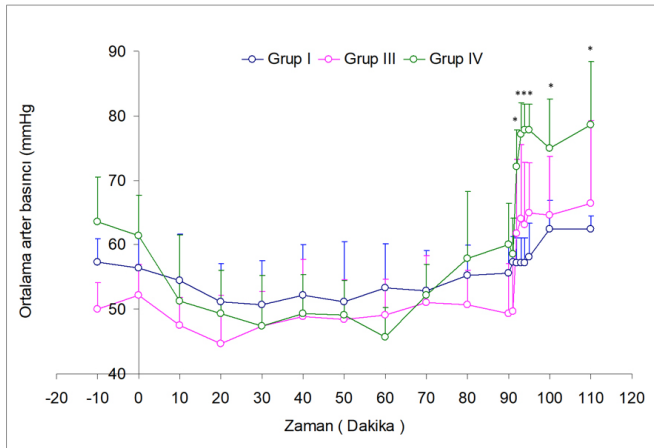
Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis test kullanıldı. Post-Hoc Man Witney U test kullanılarak farkın hangi gruplardan kaynaklandığı incelendi. Tüm testlerde $p < 0,05$ anlamlı değer olarak kabul edildi.

Grup II (15°C salin infüzyon grubu) sonuçlarda tartışılacağı üzere analizden çıkarıldı ve tüm analizler grup I, III, IV den elde edilen veriler üzerinden gerçekleştirildi.

BULGULAR

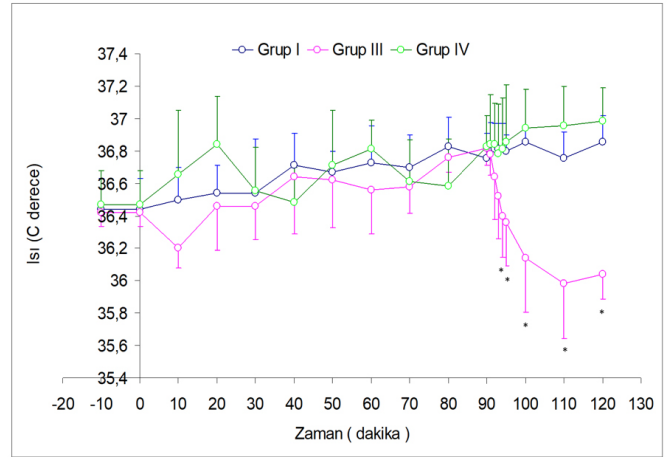
Grup II'de (15°C infüzyonu) çalışılan ilk dört ratta erken ölüm görüldü. İki işlem sonrası anestezi etkisi geçip bilinç açılmaya başlarken, epileptik nöbetler geçirmeye başladılar ve bilinçleri düzmeden nöbet geçirerek altıncı ve on ikinci saatte öldüler. Diğer ikisinde benzer tarzda nöbeti oldu, fakat şiddeti ve süresi daha az olup arada bilincin açık olduğu dönemler mevcuttu. Bu ratların ölüm saatleri net belirlenememekle birlikte 24. saatte ölü olarak bulundular. Hepsinin beyinleri çıkartılarak incelendi ve tümünde OSA arter sulama alanında infarkt dışında bulgu yoktu. Dört ratta da benzer şekilde nöbetler ve erken ölüm olması kötü sonuç olarak değerlendirildi.

Çalışma bu grup için sonlandırıldı ve denek sayısındaki azlık nedeniyle grup değerlendirilmeden çıkarıldı. İnfarkt başlangıcında ve birinci saatin sonunda alınan arteriyel kandan çalışılan, pH, pO₂, pCO₂, HCO₃ ve hematokrit (Htc) değerlerinin ortalamaları hesaplandı. Gruplar arasında hem başlangıç hem de birinci saat değerleri arasında fark yoktu. Ölçülen ortalama arter basınçları karşılaştırıldı. Oklüzyon öncesi ve süresinde ortalama arter basınçları arasında fark yoktu. Bununla birlikte salin infüzyonu ile başlayan sonrasında da devam eden arteriyel basınç farkı bulundu. Salin infüzyonunun arteriyel basınç yükselmesine yol açması beklenen bir bulgudur. Ortalama arter basıncı ortalamaları ve standart sapma değerlerinin zaman içindeki değişimi Şekil 2'deki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 2. İnfüzyon sonrası basınç artışları dikkati çekiyor, IV. gruptaki artış grup I ve III'e oranla daha fazla ve istatistiksel olarak anlamlı (*p<0,050).

Vücut ısıları karşılaştırıldı. Oklüzyon öncesi ve sonrasında gruplar arasında fark yoktu. Salin infüzyonu sonrasında üçüncü dakikada başlayan ve infüzyonun sonlanmasından sonraki 20. dakikaya kadar devam eden, gruplar arasında anlamlı ısı farkı saptandı (İnfüzyon sonrası üçüncü dakika p=0,016, 5-20. dakikalarda p=0,001). Post-Hoc değerlendirmede üçüncü dakikadaki fark, III. grubun I ve IV. gruplara göre farkından kaynaklanıyordu (III vs I p=0,008, III vs IV p=0,023). I ve IV. grup arasında ise anlamlı fark saptanmadı. Fokal hipotermi grubu diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde soğutulmuş oldu. Isı düşüşü infüzyon sonrası 20. dakika da tekrar yükselme eğilimine girmiştir. Bu durum, düşük ısıdaki infüzyonun bitiminden sonra vücut ısısının tekrar regüle edilmeye başladığını düşündürür. Ortalama vücut ısı değerlerinin zamansal değişimi Şekil 3'te grafik üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 3. İnfüzyon sonrası III. gruptaki ısı düşüşü dikkat çekmektedir ve infüzyonun 3. dakikasından itibaren izlem sonuna kadar düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır (*p<0,050).

Düzeltilmemiş ve düzeltilmiş infarkt hacimleri açısından gruplar karşılaştırıldığında toplam infarkt hacminde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Düzeltilmemiş p=0,007, düzeltilmiş p=0,012). Her iki toplam infarkt hacminin gruplar arasındaki farkı grup I'in toplam hacminin diğer iki gruba göre büyük olmasından kaynaklandı. Grup III ile IV arasında infarkt hacimleri arasında fark olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

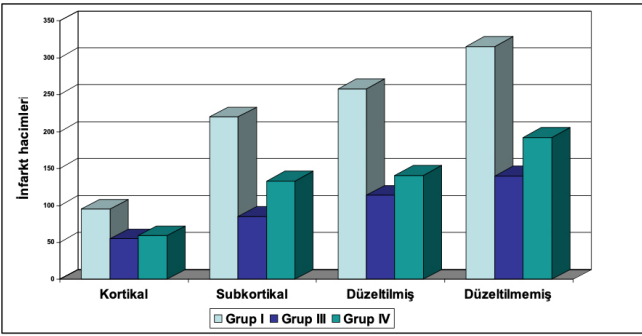
Gruplar kortikal ve subkortikal infarkt hacimleri açısından karşılaştırıldı. Kortikal infarkt hacmi için p=0,038, subkortikal infarkt hacmi için p=0,006 olarak bulundu. Post-Hoc değerlendirmede kortikal infarkt hacmi açısından, grup I'le III. gruplar birbirinden farklı bulundu ve I'le IV grup arasında fark eğilimi vardı fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,063). III ile IV. grup arasında ise istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Fark grup I'deki toplam kortikal infarkt hacminin III. gruptakinden büyük olmasından kaynaklanıyordu. Serum fizyolojinin 23°C olması, 37°C olana göre toplam kortikal infarkt hacmini daha etkili bir şekilde azaltmıştır. İnfarkt hacim ortalamaları ve istatistiksel değerlendirme Tablo II'de özetlenmiştir ve Şekil 4'deki grafikte şematize edilmiştir.

Yirmi dördüncü saatte yapılan nörolojik muayene skorunda gruplar arasında fark bulundu (p=0,010). Bu fark III. grubun muayene bulgularının diğer iki gruba göre daha iyi olmasından kaynaklanıyordu. Grup IV'le I. grup arasında muayene skoru açısından fark saptanmadı. Bu sonuç nörolojik sonlanım açısından 23°C salin verilmesinin, 37°C saline göre daha iyi sonuç verdiğini göstermiştir (Tablo II).

Tablo II. Toplam infarkt hacimlerinin ve nörolojik muayene skorlarının gruplara dağılımı ve istatistiksel değerlendirilmesi.

		GRUPLAR			P	Post-Hoc
		I (n=7)	III (n=7)	IV (n=7)		
TOPLAM İNFARKT HACİMLERİ	Kortikal mm ³	94,67± 21,94	55,72± 18,71	59,34± 34,78	0,038	I<III, I≤IV, III=IV
	Subkortikal mm ³	220,58± 48,98	85,20± 26,17	133,29± 81,14	0,006	I<III, I<IV, III=IV
	Düzeltilmiş mm ³	258,48± 74,68	114,15± 31,21	141,97± 88,92	0,012	I<III, I<IV, III=IV
	Düzeltilmemiş mm ³	315,26± 69,41	140,93± 39,80	192,63± 115,13	0,007	I<III, I<IV, III=IV
NÖROLOJİK SKOR		3,7± 0,4	2,2± 0,7	3± 0,8	0,010	I<III, I=IV, III=IV

Ortalama hacim değerleri standart sapma ile verilmiştir. Veriler Kruskal-Wallis test ile değerlendirildi. Gruplar arası farklılıklar Post Hoc testle analiz edildi. $p < 0,050$ anlamlı fark olarak kabul edilip ' $<$ ' ile $0,050-0,750$ fark eğilimi olarak kabul edilip ' \leq ' ile $0,750$ den büyük değerlerde fark olmadığı kabul edilip ' $=$ ' işareti ile gösterilmiştir.

**Şekil 4.** İnfarkt hacminin gruplara dağılımını gösteren grafik.

Sonuç olarak geçici FSİ'de iskemik dallara serum fizyolojik infüzyonu infarkt hacmini azaltmaktadır ve serum fizyolojik ısı 23°C olursa kortikal infarkt hacmi azalması daha belirgindir. Benzer şekilde düşük ısıda verilen serum fizyolojik nörolojik sonlanım içinde iyi sonuç vermiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada; deneysel olarak oluşturulan geçici FSİ sonrası, iskemik dallara uygulanan salin tedavisi ile infarkt hacminde küçülme ve daha iyi bir nörolojik sonlanım sağladık. Daha düşük derecede (23°C) salin verilen grupta kortikal infarkt hacmindeki küçülme ve nörolojik durum 37°C 'lik gruba göre daha iyiydi. Toplam düzeltilmiş infarkt hacminde, 37°C 'lik grupta %46'lık bir azalma varken, 23°C 'lik grupta %66'lık bir azalma sağlandı. Elde edilen bu bulgular literatürle benzerlik göstermektedir (22,23,35).

OSA oklüzyonu sonrası serebral infarkt alanında inflamasyonun olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir. Başlangıçta sitokinlerin salınımı iskemiye tetikler, inflamatuvar mediatörlerin artışı reperfüzyon sırasında kan kaynaklı inflamatuvar hücre adezyon ve infiltrasyonuna katkıda bulunur. Sonuç olarak lökositler; iskemi sonrasında, reperfüzyon sırasında fiziksel olarak kapillerin

tıkanması ve beyin parankimine geçtikten sonra sitotoksik ürünlerin salınımı ile nöron hasarını artırırlar (13,14,18,35). İnfarkt alanındaki azalma sıvı infüzyonunu ve hipotermi nedeniyle inflamatuvar hücre, sitokinlerdeki dilüsyon ve mikrosirkülasyondaki düzelme ile ilgili olabilir, fakat kesin bir şey söylenemez. Çalışmamız özgül olarak nedeni belirlemekten ziyade tüm patofizyolojik sürecin bir sonucunu yansıtmaktadır. Serebral iskemide iskemi sonrasında uygulanan hipotermi nöroprotektif etkisi genel olarak global serebral iskemi modellerinde çalışılmıştır. Ratlarda global iskemi sonrası 5. ve 30. dakikada başlayan hipotermi nöropatolojiye etkisi araştırılmıştır. Olay sonrası 5. dakikada başlayan soğutma ile hipokampal CA1 nöronlarında %50 korunma saptanmış, fakat 30. dakikada başlayan hipotermide koruyuculuk bulunmamıştır (36). Başka bir çalışma da ise hipotermi uygulanan hayvanlar üçüncü, yedinci günlerde ve iki ay sonra incelendi. Üç gün yaşatılan hayvanların CA1 bölgesindeki nöronlarda anlamlı korunma görülürken, yedi gün yaşatılanlarda korunma azalmış ve iki ayın sonunda ise kaybolmuştur (37). Global serebral iskeminin yaygın nedenlerinden olan kardiyak arrest ve canlandırma sırasında ve sonrasında gelişebilecek hasarın önlenmesi açısından uygulanan global hipotermi faydası gösterilmiş ve önerilen bir tedavidir (21). Beyin dolaşımının fokal kesildiği iskemik inme benzeri durumlarda ise global hipotermi uygulaması arrest sonrası uygulama gibi etkili bulunmamıştır (20,22,38).

FSİ modellerinde selektif beyin ısısını düşürmeye yönelik çalışmalar az sayıdadır. FSİ'de tüm vücuda uygulanan hipotermik tedavinin tedavi etkinliği iskeminin başlangıcında başlatılan ve birkaç saat devam eden geçici iskemi modellerinde gösterilmiştir (39-41). Kalıcı vasküler oklüzyon modelleri hipotermik nöroproteksiyona daha dirençlidir, fakat iskemi sonrası derin soğutmalı modellerde infarkt hacminde azalma bildirilmiştir (41). Bir çalışmada, proksimal OSA klips oklüzyonu ile iki saatlik geçici FSİ oluşturulan ratlarda, beyin ısı 30°C 'ye düşürüldü ve anlamlı nöroproteksiyon saptandı. İskemi sırasında soğutma ile kortikal infarkt hacminde %70, striatal infarkt hacminde ise %50 azalma bulundu (42). Başka bir çalışmada geçici iskemi 1,5, 2, 2,5 saatlerde iken yapılan lokal soğuk salin uygulaması infarkt alanında anlamlı azalmaya yol açarken daha geç saatlerde anlamlı bir kortikal infarkt alanı azalmasına yol açmamıştır (19). Bizim çalışmamızda da 1,5 saatlik geçici iskemi sonrası hipotermi uygulanan grupta kortikal infarkt hacminde benzer şekilde küçülme saptandı ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı.

SONUÇ

Bu modelle geçici FSİ oluşturulan alana reperfüzyon sırasında salin infüzyonu ile infarkt hacminde azalma sağlanmıştır ve bu etki soğuk uygulama ile birlikte daha belirgindir. Lokal soğuk uygulamanın günümüzde giderek artan ve standart tedavilerden biri olan trombüze yönelik intraarteriyel girişimlerle kombine edilmesi düşünülebilir ve buna yönelik cihaz geliştirme, klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Komite Onayı:

Bu araştırma, ilgili tüm ulusal düzenlemelere, kurumsal politikalarına ve “Deney ve Diğer Bilimsel Amaçlı Kullanılan Hayvanların Korunmasına İlişkin Konsey Direktiflerine” ve “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” ilkelerine uygundur ve Akdeniz Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Karar No: E-74568308-020-479190).

Yazar Katkıları:

Fikir - A.Ü., MZ.Ö.; Tasarım – A.Ü.; Denetleme – MZ.Ü.; Kaynaklar – A.Ü.; Modelin uygulanması – A.Ü.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - A.Ü.; Analiz ve/veya Yorum - A.Ü., MZ.Ö.; Literatür Taraması - Yazıyı Yazan - A.Ü.;

Çıkar Çatışması:

Yazarların beyan edecek çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek:

Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

1. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Anderson CS. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. *Lancet Neurol.* 2003;2(1):43-53.
2. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, Toni D, Lesaffre E, von Kummer R, Boysen G, Bluhmki E, Höxter G, Mahagne MH, et al. Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke. The European Cooperative Acute Stroke Study (ECASS). *JAMA.* 1995; 274(13):1017-25.
3. Clark WM, Wissman S, Albers GW, Jhamandas JH, Madden KP, Hamilton S. Recombinant tissue-type plasminogen activator (Alteplase) for ischemic stroke 3 to 5 hours after symptom onset. The ATLANTIS Study: a randomized controlled trial. Alteplase Thrombolysis for Acute Noninterventional Therapy in Ischemic Stroke. *JAMA.* 1999;282(21):2019-26.
4. Singh RK, Chafale VA, Lalla RS, Panchal KC, Karapurkar AP, Khadilkar SV, Ojha PK, Godge Y, Singh RK, Benny R. Acute Ischemic Stroke Treatment Using Mechanical Thrombectomy: A Study of 137 Patients. *Ann Indian Acad Neurol.* 2017;20(3):211-6.
5. Powers WJ, Derdeyn CP, Biller J, Coffey CS, Hoh BL, Jauch EC, Johnston KC, Johnston SC, Khalessi AA, Kidwell CS, Meschia JF, Ovbiagele B, Yavagal DR; American Heart Association Stroke Council. 2015 American Heart Association/American Stroke Association Focused Update of the 2013 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke Regarding Endovascular Treatment: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2015;46(10):3020-35.
6. Chen CJ, Ding D, Starke RM, Mehndiratta P, Crowley RW, Liu KC, Southerland AM, Worrall BB. Endovascular vs medical management of acute ischemic stroke. *Neurology.* 2015;85(22):1980-90.
7. Rangel-Castilla L, Rajah GB, Shakir HJ, Davies JM, Snyder KV, Siddiqui AH, Levy EI, Hopkins LN. Acute stroke endovascular treatment: tips and tricks. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2016;57(6):758-68.
8. Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: 2019 Update to the 2018 Guidelines for the Early Management of Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association | *Stroke.* 2019;50(12):e344-e418
9. Mulder MJHL, Jansen IGH, Goldhoorn RB, Venema E, Chalos V, Compagne KCJ, Roozenbeek B, Lingsma HF, Schonewille WJ, van den Wijngaard IR, Boiten J, Albert Vos J, Roos YBWE, van Oostenbrugge RJ, van Zwam WH, Majoie CBLM, van der Lugt A, Dippel DWJ; MR CLEAN Registry Investigators. Time to Endovascular Treatment and Outcome in Acute Ischemic Stroke: MR CLEAN Registry Results. *Circulation.* 2018;138(3):232-40.
10. Aronowski J, Strong R, Grotta JC. Reperfusion injury: demonstration of brain damage produced by reperfusion after transient focal ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 1997;17(10):1048-56.
11. Aronowski J, Labiche LA. Perspectives on reperfusion-induced damage in rodent models of experimental focal ischemia and role of gamma-protein kinase C. *ILAR J.* 2003;44(2):105-9.
12. DeGraba TJ. The role of inflammation after acute stroke: utility of pursuing anti-adhesion molecule therapy. *Neurology.* 1998;51(3 Suppl 3):S62-8.
13. Frijns CJM, Kappelle LJ. Inflammatory cell adhesion molecules in ischemic cerebrovascular disease. *Stroke.* 2002;33(8):2115-22.
14. Huang J, Upadhyay UM, Tamargo RJ. Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia. *Surg Neurol.* 2006;66(3):232-45.
15. Yilmaz G, Granger DN. Cell adhesion molecules and ischemic stroke. *Neurol Res.* 2008;30(8):783-93.
16. van der Worp HB, Sena ES, Donnan GA, Howells DW, Macleod MR. Hypothermia in animal models of acute ischaemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Brain.* 2007;130(12):3063-74.
17. Ding Y, Li J, Luan X, Lai Q, McAllister JP 2nd, Phillis JW, Clark JC, Guthikonda M, Diaz FG. Local saline infusion into ischemic territory induces regional brain cooling and neuroprotection in rats with transient middle cerebral artery occlusion. *Neurosurgery.* 2004;54(4):956-64; discussion 964-5.
18. Luan X, Li J, McAllister JP 2nd, Diaz FG, Clark JC, Fessler RD, Ding Y. Regional brain cooling induced by vascular saline infusion into ischemic territory reduces brain inflammation in stroke. *Acta Neuropathol.* 2004;107(3):227-34.
19. Zhao WH, Ji XM, Ling F, Ding YC, Xing CH, Wu H, Guo M, Xuan Y, Guan B, Jiang LL. Local mild hypothermia induced by intra-arterial cold saline infusion prolongs the time window of onset of reperfusion injury after transient focal ischemia in rats. *Neurol Res.* 2009;31(1):43-51.

20. Froehler MT, Ovbiagele B. Therapeutic hypothermia for acute ischemic stroke. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2010;8(4):593-603.
21. Arrich J, Holzer M, Havel C, Müllner M, Herkner H. Hypothermia for neuroprotection in adults after cardiopulmonary resuscitation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;2:CD004128.
22. Basto FM, Lyden P. Hypothermia in acute ischemic stroke therapy. *Handb Clin Neurol.* 2018;157:823-37.
23. Lakhan SE, Pamplona F. Application of mild therapeutic hypothermia on stroke: a systematic review and meta-analysis. *Stroke Res Treat.* 2012;2012:295906.
24. Wu T-C, Grotta JC. Hypothermia for acute ischaemic stroke. *Lancet Neurol.* 2013;12(3):275-84.
25. J Ji Y, Hu Y, Wu Y, Ji Z, Song W, Wang S, Pan S. Therapeutic time window of hypothermia is broader than cerebral artery flushing in carotid saline infusion after transient focal ischemic stroke in rats. *Neurol Res.* 2012;34(7):657-63.
26. Cattaneo G, Meckel S. Review of selective brain hypothermia in acute ischemic stroke therapy using an intracarotid, closed-loop cooling catheter. *Brain Circ.* 2019;5(4):211-7.
27. Lutz Y, Loewe A, Meckel S, Dössel O, Cattaneo G. Combined local hypothermia and recanalization therapy for acute ischemic stroke: Estimation of brain and systemic temperature using an energetic numerical model. *J Therm Biol.* 2019;84:316-22.
28. Cattaneo G, Schumacher M, Wolfertz J, Jost T, Meckel S. Combined Selective Cerebral Hypothermia and Mechanical Artery Recanalization in Acute Ischemic Stroke: In Vitro Study of Cooling Performance. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2015;36(11):2114-20.
29. Koizumi J. Experimental studies of ischemic brain edema. 1. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. *Jpn J Stroke.* 1986;8:1-8.
30. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke.* 1989;20(1):84-91.
31. Güzel A, Rölz R, Nikkhah G, Kahlert UD, Maciaczyk J. A microsurgical procedure for middle cerebral artery occlusion by intraluminal monofilament insertion technique in the rat: a special emphasis on the methodology. *Exp Transl Stroke Med.* 2014;6(1):6.
32. Menzies SA, Hoff JT, Betz AL. Middle cerebral artery occlusion in rats: a neurological and pathological evaluation of a reproducible model. *Neurosurgery.* 1992;31(1):100-106; discussion 106-7.
33. Bederson JB, Pitts LH, Germano SM, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski HM. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. *Stroke.* 1986;17(6):1304-8.
34. Swanson RA, Morton MT, Tsao-Wu G, Savalos RA, Davidson C, Sharp FR. A semiautomated method for measuring brain infarct volume. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 1990;10(2):290-3.
35. Ding Y, Li J, Rafols JA, Phillis JW, Diaz FG. Preperfusion saline infusion into ischemic territory reduces inflammatory injury after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke.* 2002;33(10):2492-8.
36. Busto R, Dietrich WD, Globus MY, Ginsberg MD. Postischemic moderate hypothermia inhibits CA1 hippocampal ischemic neuronal injury. *Neurosci Lett.* 1989;101(3):299-304.
37. Dietrich WD, Busto R, Alonso O, Globus MY-T, Ginsberg MD. Intraischemic but Not Postischemic Brain Hypothermia Protects Chronically following Global Forebrain Ischemia in Rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1993;13(4):541-9.
38. Kurisu K, Yenari MA. Therapeutic hypothermia for ischemic stroke; pathophysiology and future promise. *Neuropharmacology.* 2018;134:302-9.
39. Xue D, Huang ZG, Smith KE, Buchan AM. Immediate or delayed mild hypothermia prevents focal cerebral infarction. *Brain Res.* 1992;587(1):66-72.
40. Miyazawa T, Tamura A, Fukui S, Hossmann K-A. Effect of mild hypothermia on focal cerebral ischemia. Review of experimental studies. *Neurol Res.* 2003;25(5):457-64.
41. Baker CJ, Onesti ST, Solomon RA. Reduction by delayed hypothermia of cerebral infarction following middle cerebral artery occlusion in the rat: a time-course study. *J Neurosurg.* 1992;77(3):438-44.
42. Morikawa E, Ginsberg MD, Dietrich WD, Duncan RC, Kraydieh S, Globus MY, Busto R. The significance of brain temperature in focal cerebral ischemia: histopathological consequences of middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1992;12(3):380-9.