

Geçici Hipotermi ve Nimodipinin İskemik Hacim Üzerine Etkisi

Muammer Doygun*, Ender Korfalı**, Kaya Aksoy***, Zeki İpekoğlu****

ÖZET. Bu çalışmada standart iskemi modeli oluşturulan sıçanlarda nimodipin ve hipoterminin iskemi üzerine etkisi incelendi. Birinci grupta (n: 10) Orta Serebral Arter (OSA) oklüzyonundan sonra nimodipin verilirken, ikinci grupta (n: 10) OSA oklüzyonu yapılmadan önce sıçanların rektal ısıları 22°C'ye düşürüldü ve daha sonra oklüzyon yapılarak hipotermi uygulandı. Operasyondan 24 saat sonra dekapite edilen sıçanların beyinleri hızla çıkarılarak koronal kesitler alındı ve 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chlyoride (TTC) ile boyanarak tesbit edildi. İskemik alanların bilgisayar görüntüleme metodu ile hacimleri hesaplandı.

Grupların infarkt hacimleri istatistiki olarak birbirleri ile kıyaslandığında nimodipin ve hipotermi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede ($p < 0.01$) bir azalma olduğu gözlemlendi. Sonuç olarak nimodipin ve hipoterminin iskemi sonrası oluşan infarkt volümü üzerine azaltıcı etkisi olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler .kalsiyum kanal blokerleri .hipotermi .iskemi.

Effect of Nimodipine and Transient Hypothermia on Ischemic Brain Injury

SUMMARY. In this experiment the effect of hypothermia and nimodipine was evaluated using a rat model of standard brain ischemia. In the first group (n: 10) nimodipine was administered after middle cerebral artery (MCA) occlusion while in the second group (n: 10) MCA occlusion was performed at a rectal temperature 22°C and kept in this temperature for one hour. Animals in both group were decapitated 24 hours after operation and cerebral infarcts were visualized by staining of coronal brain sections with 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chlyoride (TTC). The volume of ischemic areas were calculated by a method of computerized imaging.

The infarct volume was to be decreased in nimodipine and hypothermic group when compared with the control group and it was statistically significant ($p < 0.01$). These results suggest that nimodipine and hypothermia reduces subsequent infarct volume in MCA occlusion.

Key Words .calcium channel blockers .hypothermia .ischemia.

Santral sinir sisteminde iskemik olaylardan sonra irreversible değişiklikler oluşmakta ve bu irreversible değişiklikler iskeminin çevresinde bulunan iskemik "penumbura" bölgesi dışında kalıcı olmaktadır. İskemi sonrası oluşan hasarı minimuma indirebilmek

için yapılan tedavilerde iskemik penumbra bölgesindeki nöronların kurtarılması hedef olarak seçilmekte ve bu amaçla serebral vazodilatasyon yapan, serebral metabolizmayı düşüren ajanlar, hipotermi ve antiödem droglar kullanılmaktadır¹⁻⁶.

Deneyisel çalışmalarda akut kalıcı fokal serebral iskemide kuvvetli bir kalsiyum-kanal antagonisti olan Nimodipinini oklüzyondan önce veya hemen sonra verilmesinin nörolojik düzelmeye neden olduğu bildirilmektedir^{1,5,7,8}. Diğer taraftan son birkaç yıldan beri dev intrakranial anevrizma operasyonlarında geçici hipotermi ile nöral dokunun korunması tek-

* Yard. Doç. Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Nöroşirürji ABD.

** Prof. Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Nöroşirürji ABD.

*** Doç. Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Nöroşirürji ABD.

**** Araş. Gör.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Nöroşirürji ABD.

Geliş Tarihi: 13.8.1992

Kabul Tarihi: 3.9.1992

rar gündeme gelmiş ve başarı ile kullanılmaktadır^{9,10,11}.

Bu çalışmadaki amaç, sıçanlarda fokal serebral iskemi sonrası ortaya çıkan infarkt hacmi üzerine hipotermi ve kalsiyum kanal blokeri olan nimodipinin etkisini araştırmaktır.

Materyal ve Metod

Bu çalışmada 225-250 g ağırlığında Wistar cinsi 30 adet sıçan kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar deney başlangıcında üç gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki (n: 10) sıçanlara sağ Orta Serebral Arter oklüzyonu yapıldı. Nimodipin grubundaki sıçanlara (n: 10) OSA oklüzyonundan hemen sonra 10 dakika süre ile 2 mikrogram/kg/dak Nimodipin verildi. Hipotermi grubundaki sıçanlara (n: 10) OSA eksplore edildikten sonra hipotermi uygulandı. Rektal ısıları 22°C ye düşürüldükten sonra OSA oklüzyonu yapıldı ve bir saat süre ile hipotermiye devam edilip vücut ısıları 36°C ye yükseltildi. Bütün gruplardaki sıçanlar 24 saat sonra dekapite edilerek beyinleri "2, 3, 5-triphenyltetrazolium chlyoride" ile boyanarak incelendi¹².

Kloral hidrat (40 mg/100 mg) ile uyutulan sıçanlar entübe edilerek Harvard ventilatörü ile ventile edildi. OSA oklüzyonu yapılmadan önce deney grubundaki tüm sıçanların femoral arter ve ven kateterizasyonu yapıldı. Kan basıncı ve kalp atımları, hematokrit değerleri ve kan gazları deney boyunca monitörize edildi. Bütün gruplardaki sıçanların rektal ısıları monitörize edilerek kaydedildi.

Cerrahi girişim için sol lateral dekubitus pozisyonunda yatırılan sıçanların sağ tragus ile orbita arasına oblik bir ensizyon yapılarak temporal adele kranyumdan disseke edilerek infratemporal fossaya ulaşıldı. Mandibulanın koronoid çıkıntısı rezeke edildikten sonra foramen ovalenin ön ve üst tarafına elektrikli diril ile 3-4 mm çapında kraniektomi yapıldı. Dura açılarak OSA görüldü. Beyin hafifçe mediyale retrakte edilerek serum fizyolojik irrigasyonu altında mikrobipolar ile koterize edildi^{13,14}. Revaskularizasyonu önlemek amacı ile mikromakasla kesildi ve operasyon sahası kapatıldı.

Hipotermi uygulanan grupta OSA eksplorasyonundan sonra sıçanların rektal ısıları buz torbaları ile 22°C'ye düşürüldükten sonra koterize edildi. Hipotermik sıçanlar 22°C'de 1 saat tutulduktan sonra termostatlı elektrik lambası ile ısıtılan kutu içinde iki saat tutularak vücut ısıları 36°C'ye yükseltildi.

Nimodipin verilen grupta ie OSA oklüzyonundan hemen sonra Nimodipin (Nimotop) 2 mikrogram/kg/dak gidecek şekilde 10 dakika süre ile sağ femoral venden infüzyon pompası ile verildi⁵.

OSA oklüzyonundan 24 saat sonra kloral hidratla uyutulan sıçanlar dekapite edilerek beyinleri hızla çıkarılıp serebellumları atıldı. Frontal polden başlayan 1 mm kalınlığında koronel kesitler alınarak % 2'lik TTC içinde 37°C'da inkübe edildi. Buradan alınan beyin kesitleri fiksasyon için % 20'lik formalin içine alındı¹. Daha sonra kesitler milimetrik kağıt üzerine alınarak resimleri çekilerek boyanmayan bölümlerin hacmi bilgisayar görüntüleme sistemi ile hesaplandı¹. İstatistik hesaplarında "t" testi kullanıldı.

Sonuçlar

Deney süresince sıçanların kan gazı değerlerinde önemli bir farklılık görülmemiş, ancak hipotermi grubunda kalp atımlarında hipotermi süresince anlamlı bir düşme gözlenmiştir. Kontrol ve nimodipin grubunda sıçanların rektal ısıları 36.1±0.02°C de tutulurken, hipotermi grubunda 21.1±3.8°C düzeyinde tutulmuştur. Deney süresince grupların kan gazı değerleri ve fizyolojik parametreleri Tablo I ve II'de verilmiştir.

Tablo I - Sıçanların fizyolojik parametreleri

| | Kalp Atımları | Arteriye Basınç | Hematokrit |
|---------------|---------------|-----------------|------------|
| Kontrol Gr. | | | |
| Preoperatif | 425±14 | 125.3±3.1 | 43.3±0.4 |
| 0 saat | 358±11 | 92.9±1.8 | 42.9±0.7 |
| 2 saat | 360±10 | 92.8±1.6 | 42.7±0.6 |
| Nimodipin Gr. | | | |
| Preoperatif | 425±18 | 123.3±3.2 | 43.2±0.7 |
| 0 saat | 379±12 | 91.4±1.6 | 42.7±0.9 |
| 2 saat | 365±9 | 93.1±1.6 | 42.7±0.6 |
| Hipotermi Gr. | | | |
| Preoperatif | 430±11 | 121.3±1.2 | 42.9±0.7 |
| 0 saat | 176±12 | 91.8±1.8 | 42.6±0.9 |
| 2 saat | 360±11 | 91.2±1.5 | 42.4±0.5 |

Tablo II - Sıçanların kan gazı değerleri

| | pH | pO ₂ (mmHg) | pCO ₂ (mmHg) |
|---------------|-----------|------------------------|-------------------------|
| Kontrol Gr. | | | |
| Preoperatif | 7.30±1.15 | 97.7±2 | 38.6±0.5 |
| 0 saat | 7.30±1.17 | 96.2±2.9 | 38.5±0.8 |
| 2 saat | 7.30±1.15 | 97.3±2.3 | 38.5±0.6 |
| Nimodipin Gr. | | | |
| Preoperatif | 7.29±0.04 | 102.7±4.9 | 41.0±2.2 |
| 0 saat | 7.31±0.03 | 100.9±4.8 | 40.9±1.3 |
| 2 saat | 7.35±0.04 | 102.4±2.6 | 35.5±0.7 |
| Hipotermi Gr. | | | |
| Preoperatif | 7.29±0.03 | 103.4±4.6 | 41.3±1.1 |
| 0 saat | 7.30±0.02 | 102.9±4.2 | 41.1±1.4 |
| 2 saat | 7.33±0.04 | 101.9±1.6 | 36.1±1.4 |

24 saat sonra yapılan nörolojik muayenede sıçanların hepsinde ön bacakta hakim plejiye yakın hemiparezi saptandı. Dekapitasyon ve boyamadan sonra hemisfer hacimleri arasında anlamlı bir farklılık

saptanmadı. Kontrol grubunda OSA oklüzyonu sonrası oluşturulan infarkt hacmi 207 ± 4.6 (% 19.8 ± 1.4), Nimodipin grubunda 187 ± 3.2 (% 17.6 ± 1.3), Hipotermi grubunda 177 ± 3.6 mm³ (% 17.3 ± 1.1) olarak hesaplandı (Tablo: III). İstatistiki olarak her iki grupta da kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptandı ($p < 0.01$).

Tablo: III - İnfarkt hacimleri (mm³)

| | Volüm Hesapları (mm ³) | | |
|-----------------|------------------------------------|---------------|---------------|
| | Kontrol gr. | Nimodipin Gr. | Hipotermi Gr. |
| Sağ hemisfer | 1026±8.9 | 1037±7.6 | 1020±11.6 |
| Sol Hemisfer | 1037±13 | 1011±8 | 1018±5 |
| İnfarkt | 207±4.6 | 187±3.2* | 177±3.6* |
| İnfarkt yüzdesi | 19.8±1.4 | 17.6±1.3* | 17.3±1.1* |

* Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azalma ($p < 0.01$) saptandı.

Nimodipin ve hipotermi grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi.

Tartışma

Serebral iskemide gecikmiş hipoperfüzyon ve membran yetersizliği irreversibl hücre ölümüne neden olan en önemli faktörlerdir^{15,16}. Kalıcı iskemik modellerinde, gecikmiş hipoperfüzyon ve membran yetersizliği sonucu hasar gören iskemik "penumbra" bölgesindeki nöronlar tedavi ile kurtarılabilir¹. Rejional kan akımı 15 ml/100 g/dk'ya düştüğünde nöronal fonksiyon durur ancak nöronlar yaşamına devam ederler. Kan akımı 10 ml/100 g/dk'nın altına düştüğünde irreversibl iyon pompa yetersizliği sonucu hücre ölümü görülür^{17,18}. İskemik "penumbra" bölgesinde rejional kan akımını artırmakla veya metabolizma hızını azaltmakla hücre ölümünü engellemek mümkündür.

Hipoterminin cerrahi uygulamalarına ek olarak serebral iskemik yaralanmalardaki ısının rolü de giderek artan bir ilgi alanı oluşturmuştur. Hipoterminin glutamat reseptör antagonistlerinin ve barbitüratların koruyucu etkisini artırdığı gösterilmiştir^{19,20,21}. Ancak bu etkiler hipotermi varlığında daha belirgin olmaktadır.

Bu çalışmada sıçanlarda orta serebral arter oklüzyonu ile standart iskemik modeli oluşturulduktan sonra bir grupta oklüzyondan hemen sonra nimodipin, diğer grupta ise sıçanların rektal ısıları 22°C'ye düşürüldükten sonra oklüzyon uygulandı ve hipotermiye 1 saat devam edildikten sonra tekrar 36°C'ye yükseltildi. 24 saat sonra yapılan dekapitasyon sonucu elde edilen beyin kesitleri TTC ile boyanarak, boyanmayan kısımların bilgisayar gö-

rüntüleme yöntemi ile hacimleri hesaplandı. Nimodipin ve hipotermi uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir hacim azalması saptanarak, hipotermi ve nimodipinin iskemik penumbra bölgesinde etki göstererek infarkt volümünü azalttığı gösterildi.

Onesti'ye göre 1956'da Rossomoff köpeklerde OSA oklüzyonu yaparak hipoterminin etkisini araştırmış ve hipoterminin dokunun oksijen ve glikoz gereksinimini azaltması nedeni ile iskemik hasarı azalttığını yayınlamıştır¹. Son yıllarda hipoterminin etkileri küçük hayvan modellerinde yapılan geçici serebral iskemik modellerinde incelenmiş ve hipoterminin serebral ödemi azaltması, intrasellüler asidozu önlemesi nedeni ile nörolojik düzelmeye neden olduğu bildirilmiştir^{4,22-25}.

Son zamanlarda kalsiyum iskemik beyin yaralanmasındaki patofizyolojik rolü üzerine artan bir ilgi mevcuttur. Kalsiyumun sadece vasküler düz kaslardaki kasılmada değil, aynı zamanda membran yıkımı sonucu oluşan hücre ölümündeki patofizyolojik olaylardan da sorumludur²⁶⁻²⁹. Bu nedenle kalsiyum kanal blokerlerinin iskemik beyin yaralanmasındaki tedavi edici etkisi araştırılmaktadır^{5,7,8,26,27,30,31}. Çeşitli kalsiyum antagonistleri arasında nimodipin serebral kan damarları üzerine tercihi bir etkiye sahiptir³⁰. Kazda ve arkadaşları kedilerdeki global serebral iskemiden 7 dakika sonraki reperfüzyonun postiskemik bozulmayı önlediğini göstermiştir³⁰. Diğer bir araştırmada ise aynı modellerde sirkülatuar etkinin fonksiyonel gecikme ile paralel olduğunu göstermiştir³¹. Fujisawa ve arkadaşları ise serebral iskemide kalsiyum kanal blokerlerinin etkisinin yalnız dozla değil ilacın başlangıç zamanı ile de etkili olduğunu göstermişler ve kalsiyum kanal blokerlerinin tedavide erken başlanması ile daha iyi sonuçlar alındığını bildirmişlerdir⁸.

Nimodipinin gerçek etki mekanizmasını açıklamak güç olmasına rağmen, etkisinin iskemik beyinde postiskemik reperfüzyonu sağlaması sonucu olduğu bildirilmektedir^{30,31}.

Nimodipinin postiskemik dönemde infarkt hacmini azalttığını gösteren bu çalışmaların aksine bazı çalışmalarda infarkt hacmini azaltıcı bir etkisi olmadığı bildirilmektedir^{32,33,34}.

Bu çalışmada OSA oklüzyonu sonrası oluşturulan standart infarkt sahası üzerine nimodipinin ve hipoterminin etkili olduğu ancak iki grup arasında istatistiki olarak bir üstünlük olmadığı gösterilmiştir. Hipotermi pratikte kullanımının kısıtlı olması nedeniyle serebral iskemik saptanan olgularda en kısa zamanda nimodipin başlanması iskemik "penumbra" bölgesindeki nöronların korunması açısından uygundur.

Yard. Doç. Dr. Muammer DOYGUN
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroşirürji ABD
Tel. No: (224) 4428081 Fax: (224) 4428034
16059 Görükle / BURSA

Kaynaklar

1. Onesti ST, Baker CJ, Sun PP, et al: Transient hypothermia reduces focal ischemic brain injury in the rat. *Neurosurg* 29: 369-373, 1991.
2. Vacanti FX, Ames A: Mild hypothermia and Mg^{++} protect against irreversible damage during CNS ischemia. *Stroke* 15: 695-6989, 1984.
3. Berntman L, Welsh FA, Harp JR: Cerebral protective effect of low-grade hypothermia. *Anesthesiol* 55: 495-498, 1981.
4. Dempsey RJ, Combs DJ, Maley ME, et al: Moderate hypothermia Reduces postischemic edema development and leukotriene production. *Neurosurg* 21: 177-181, 1987.
5. Germano IM, Bartowski HM, Cassel ME, et al: The therapeutic value of nimodipine in experimental focal cerebral ischemia. *J Neurosurg* 67: 81-87, 1987.
6. Bremer AM, Yamada K, West CR: Ischemic cerebral edema in primates: Effects of Acetazolamide, phenitoin, sorbitol, dexametazone and methylprednisolone on brain water and electrolyte. *Neurosurg*. 6: 149-154, 1980.
7. Gelmers HJ, Gorter K, Weerd CJ, et al: A controlled trial of nimodipine in acute ischemic stroke. *N Eng J Med* 318: 203-207, 1988.
8. Fujisawa A, Matsumoto M, Matsuyama T, et al: The effect of the calcium antagonist nimodipine on the gerbil model of experimental cerebral ischemia. *Stroke* 17: 748-752, 1986.
9. Uihlein A, MacCarty CS, Michenfelder JD, et al: Deep hypothermia and surgical treatment of intracranial aneurysms. *JAMA* 195: 639-641, 1966.
10. Spetzler RF, Hadley MN, Rigamonti D, et al: Aneurysms of basilar artery treated with circulatory arrest, hypothermia and barbiturate cerebral protection. *J Neurosurg*. 68: 868-879, 1988.
11. Chyatte D, Elefteriades J, Kim B: Profound hypothermia and circulatory arrest for aneurysm surgery. *J Neurosurg*. 70: 489-491, 1989.
12. Bederson JB, Pitt LH, Germano SB, et al: Evaluation of 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chlyoride as a stain for detection and Quantification of experimental cerebral infarction in rats. *Stroke* 17: 1304-1308, 1986.
13. Tamura A, Graham DI, McCulloch J, et al: Focal cerebral ischemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 20: 1089-1091, 1989.
14. Aksoy K, Korfaı E, Safi İ, Doygun M, Gökırmak T: Focal cerebral ischaemia following middle cerebral artery occlusion. Technique and neuropathological consequences. *Turkish Neurosurg. Supp.* 1: 103-107, 1989.
15. Raichle ME: The pathophysiology of brain ischemia. *Ann Neurol* 13: 2-10, 1983.
16. Symon L: The relationship between CBF, evoked potential and the clinical features in cerebral ischemia. *Acta Neurol Scand* 62 (Suppl 78): 175-190, 1980.
17. Jones TH, Morawetz RB, Crowell RM, et al: Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys. *J Neurosurg* 54: 773-782, 1981.
18. Astrup J, Siesjo DK, Symon L: Treshold in cerebral ischemia: The ischemic penumbra. *Stroke* 12: 723-725, 1981.
19. Hagerdal M, Welsh FA, Keykiah M, et al: Protective effects of combinations of hypothermia annd barbiturates in cerebral hypoxia in the rat. *Anesthesiology* 49: 165-169, 1978.
20. Ikonomidou C, Mosinger JL, Olney JW: Hypothermia enhances protective effect of MK-801 against hypoxic/ischemic brain damage in infant rats. *Brain Res* 487: 184-187, 1989.
21. Lafferty JJ, Keykiah MM, Shapiro HM, et al: Cerebral hypometabolism obtained with deep pentobarbital anesthesia and hypothermia (30°C). *Anesthesiology* 49: 159-164, 1978.
22. Buchan A, Pulsinelli WA: Hypothermia but not the n-methyl d-aspartate antagonist, MK-801, attenuates neuronal damage in gerbils subjected to transient global ischemia. *J Neurosci* 10: 311-316, 1990.
23. Busto R, Dietrich WD, Globus MYT, et al: The importance of brain temperature in cerebral ischemic injury. *Stroke* 20: 1113-1114, 1989.
24. Busto R, Globus MYT, Dietrich WD, et al: Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in the rat brain. *Stroke* 20: 904-910, 1989.
25. Natale JE, D'Alecy LG: Protection from cerebral ischemia by brain cooling without reduced lactate accumulation in dogs. *Stroke* 20: 770-777, 1989.
26. Harris RJ, Symon L, Branston NM, et al: Changes in extracellular calcium activity in cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1: 203-209, 1981.
27. Schanne FAX, Kane AB, Young EE, et al: Calcium dependence of toxic cell death: a final common pathway. *Science* 206: 700-702, 1979.
28. Van Nueten JM, Vanhoutte PM: Improvement of tissue perfusion with inhibitors of calcium ion influx. *Biochem Pharmacol* 29: 479-481, 1980.
29. Wei EP, Lamb RG, Kontos HA: Increased phospholipase C activity after experimental brain injury. *J Neurosurg* 56: 695-698, 1982.
30. Kazda S, Towart R: Nimodipine: a new calcium antagonistic drug with a preferential cerebrovascular action. *Acta Neurochir* 63: 259-265, 1982.
31. Hoffmeister F, Kazda S, Krause HP: Influence of nimodipine (BAY e9736) on the postischaemic changes of brain function. *Acta Neurol Scand* 60: 358-359, 1979.
32. Barnett GH, Bose B, Little JR, et al: Effects of nimodipine on acute focal cerebral ischemia. *Stroke* 17: 884-890, 1986.
33. Vibulsresth S, Dietrich WD, Busto R, et al: Failure of nimodipine to prevent ischemic neuronal Damage in rats. *Stroke* 18: 210-216, 1987.
34. Mabe H, Nagai HN, Takagi T, et al: Effect of nimodipine on cerebral functional and metabolic recovery following ischemia in the rat brain. *Stroke* 17: 501-505, 1986.