پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۳ خرداد سال ۱۳۹۳ (۹۰-۸۱)

# اثر محافظتی درمان ترکیبی با هیپوترمی موضعی مغز و کرانیکتومی بر مدل سکته مغزی

محمد رضا زریسفی[۱]
محمد امین حسینی کهنویی[۱]
حسین رضازاده[۱]
محمد حسین محمودی[۱]
احمد پوررشیدی بشرآبای[۱]
محمد الله توکلی[۲]

## چکیده

**سابقه و هدف:** تأثیر هایپوترمی و کرانیکتومی در کاهش آسیب های ناشی از ایسکمی در مدل تجربی انسداد دایم شریان مغزی میانی نشان داده شده است. مطالعه پیش رو به منظور بررسی اثر ترکیبی هیپوترمی موضعی تاخیری و کرانیکتومی روی حجم انفارکتوس، اختلالات عصبی و شکست سد خونی مغزی در مدل سکته مغزی روی موش صحرایی طراحی شده است.

**مواد و روش ها:** انسداد شریان مغزی میانی روی ۳۶ موش صحرایی نر در سه گروه کنترل، کرانیکتومی و ترکیبی از هیپوترمی و کرانیکتومی القا شد. حجم انفارکتوس و شکست سد خونی مغزی ۴۸ ساعت پس از ایجاد ایسکمی اندازه‌گیری شد. اختلالات نورولوژیک در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از سکته مغزی اندازه‌گیری شده شکست سد خونی مغزی از طریق نشت رنگ ایوانس بلو اندازه گیری شد.

**یافته ها:** اگرچه در مقایسه با گروه کنترل، حجم انفارکتوس در گروه کرانیکتومی و ترکیبی کاهش یافت ($p<۰/۰۰۱$) اما در گروه ترکیبی اثر محافظت نورونی نسبت به گروه کرانیکتومی بیش‌تر بود ($p<۰/۰۱$). در مقایسه با گروه کنترل، شکست سد خونی مغزی به طور قابل توجهی در گروه کرانیکتومی ($p<۰/۰۵$) و گروه ترکیبی ($p<۰/۰۱$). کاهش یافت. در مقایسه با گروه کنترل، تنها در گروه ترکیبی عملکرد رفتاری در آزمون‌های جدا کردن برچسب کاغذی ($p<۰/۰۵$) در ۲۴ ساعت، ($p<۰/۰۰۱$) در ۴۸ ساعت)، سیم آویزان ($p<۰/۰۵$) و آزمون بدرسون ($p<۰/۰۵$) در ۲۴ ساعت و ($p<۰/۰۱$) در ۴۸ ساعت) بهبود داشت. عوارض نورولوژیک نیز در گروه ترکیبی (در ۲۴ ساعت ($p<۰/۰۵$) و در ۴۸ ساعت ($p<۰/۰۱$)) نسبت به گروه کرانیکتومی در همان زمان‌ها کاهش یافت.

**استنتاج:** اگر چه کرانیکتومی اثر محافظتی پس از سکته مغزی دارد، اما ترکیب آن با هیپوترمی موضعی تأثیر محافظت نورونی بیش‌تری دارد.

**واژه های کلیدی:** کرانیکتومی، سکته مغزی، هایپوترمی موضعی

## مقدمه

سکته مغزی سومین علت عمده مرگ و میر و اولین علت اصلی ناتوانی افراد سراسر جهان است. سکته مغزی با مکانیسم‌هایی مثل پاسخ التهابی شدید، مسمومیت سلولی، گلوتامات، آزاد سازی رادیکال های آزاد

**مولف مسئول: محمد الله توکلی**– رفسنجان: دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دانشکده پزشکی E-mail: m_alahtavakoli@rums.ac.ir
۱. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان ، رفسنجان، ایران
۲. دانشیار، گروه آموزشی فیزیولوژی فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فیزیو فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان، رفسنجان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۷/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۲/۸/۴ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۳/۳۱

Archive of SID
www.SID.ir

اکسیژن و آپوپتوز موجب تخریب بافتی می‌شود(۱). از اصطلاح انفارکتوس بدخیم شریان مغز میانی، در انفارکتوس گسترده یک طرفه نیم‌کره مغز که در ۱۰ تا ۱۵ درصد بیماران سکته مغزی رخ می دهد، استفاده می‌شود(۲). انفارکتوس بدخیم شریان مغز میانی می‌تواند سبب ادم مغزی، افزایش فشار داخل جمجمه، زوال بالینی و در نهایت منجر به مرگ شود. پنجره درمانی سکته مغزی حاد ایسکمیک برای استفاده از داروهای ترومبولیتیک کوتاه است و این داروها هم‌چنین دارای عوارض جانبی از جمله خطر بالای خونریزی داخل جمجمهای می‌باشند(۴،۳).

برخی از تحقیقات تجربی و بالینی، اثر محافظ نورونی هیپوترمی خفیف و متوسط را گزارش کرده‌اند. برخی از مکانیسم‌ها اثر محافظ نورونی هیپوترمی خفیف را ثابت کرده‌اند(۶،۵). مکانیسم‌های محافظ نورونی هیپوترمی شامل تثبیت سد خونی مغز، پایین آوردن متابولیسم مغزی، کاهش آزادسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد(۶،۵). در تعدادی از مقالات، اثرات محافظتی هیپوترمی به عنوان تابعی از زمان شروع، طول مدت و عمق هیپوترمی و هم چنین مکانیسم‌های زمینه‌ای محافظتی آن، مورد بررسی قرار گرفته است(۷). با این حال هیپوترمی طولانی مدت دارای برخی عوارض جانبی از جمله آریتمی قلبی و افزایش انعقاد پذیری خون می‌باشد(۸). برخی از مطالعات تجربی و بالینی نشان می‌دهند که کرانیکتومی Decompresive Craniectomy (DC) به طور قابل توجهی باعث کاهش مرگ و میر و بهبود وضعیت بالینی بیماران می‌شود(۱۰،۹). هرچند که تکنیک‌های جراحی رفع فشار به عنوان یک درمان جایگزین برای از بین بردن فشار بالا داخل جمجمه در نظر گرفته شده است، اما در نبود کارآزمایی تصادفی بالینی و ترس از معلولیت شدید، این استراتژی بحث برانگیز باقی مانده است(۱۱-۱۳). از سوی دیگر، درمان‌های ترکیبی هیپوترمی با برخی از استراتژی‌ها و داروها مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده از ترکیب هیپوترمی عمومی بدن و کرانیکتومی Hypotheria and Cranictomy (DC) نتایج مثبت قابل توجهی دیگری از جمله کاهش حجم انفارکتوس و بهبود نمره تست‌های نورولوژیک در مقایسه با اثر هر یک از این دو روش به تنهایی در پی دارد(۱۴). ترکیبی از هیپوترمی خفیف و مینوسیکلین، اثر درمانی مثبت اما نه قابل توجه در مقایسه با درمان تک دارویی پس از ایسکمی کانونی مغزی در موش صحرایی داشته است(۱۵). داده‌هایی که حاکی از اثر درمانی هیپوترمی موضعی مستقیم مغز در سکته مغزی ایسکمیک حاد باشد وجود ندارد. در مطالعه حاضر امکان بیش‌تر بودن اثر محافظت نورونی در درمان ترکیبی کرانیکتومی با هیپوترمی موضعی که اثرات جانبی کم‌تری نسبت به هیپوترمی عمومی بدن دارد، در مدل انسداد دایم شریان مغزی میانی سکته مغزی در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

*آماده سازی حیوانات، جراحی و گروه ها*

در این مطالعه از ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (با وزن ۲۲۰ تا ۳۰۰ گرم) استفاده شد. موش‌ها در گروه‌های ده تایی در قفس‌های جدا و در اتاقی تحت شرایطی آرام و با حداقل استرس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۱±۲۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. دسترسی به آب و غذا آزاد بود. کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام مطالعه مذکور را تأیید نمود. حیوانات به طور تصادفی در سه گروه قرار گرفتند که در هر گروه ۱۲ سر موش وجود داشت.

گروه کنترل: در این گروه ، سکته مغزی القاءشد.

گروه کرانیکتومی (DC): در این گروه ابتدا سکته مغزی القا شد و شش ساعت بعد از القا سکته مغزی، کرانیکتومی انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

گروه ترکیب کرانیکتومی و هیپوترمی (HC): در این گروه ابتدا سکته مغزی القا گردید و شش ساعت بعد از القا سکته مغزی، کرانیکتومی و هیپوترمی انجام شد. در هر گروه هشت موش برای بررسی حجم اینفارکت و تست‌های رفتاری و چهار موش برای بررسی شد خونی مغزی مورد استفاده قرار گرفت. مدت زمان عمل جراحی از ۳۰ دقیقه تجاوز نکرد. همه حیوانات ۴۸ ساعت بعد از القای سکته مغزی کشته شدند.

برای القای بیهوشی در موش‌های صحرایی ابتدا هالوتان با دوز ۴ درصد استفاده شد و سپس جهت نگهداری بیهوشی از دوز ۱ تا ۱/۲ درصد هالوتان مخلوط با اکسیژن استفاده شد. دمای بدن آن‌ها به وسیله پد گرم‌کننده که در زیر بدن حیوان قرار داده می شد در محدوده دمای طبیعی بین ۳۷ تا ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از کانول‌گذاری شریان دمی، فشار شریانی در سراسر دوره جراحی با دستگاه power lab (AD instrument Australia) اندازه‌گیری شد و با تهیه خون شریانی از همین شریان، گازهای خون شریانی (Pao2، Paco2) pH و گلوکز خون پنج دقیقه قبل و بعد از القای سکته مغزی با دستگاه رادیومتر (Radiometer medical A/S Copenhagen/Denmark) اندازه‌گیری شد(۱۶).

*نحوه ایجاد سکته مغزی مدل آمبولیک*

ایسکمی کانونی مغز در حیوانات به روش انسداد اندوواسکولار شریان مغزی میانی که قبلاً توسط کاظمی و همکاران(۱۷) توضیح داده شده است، انجام گرفت. به طور خلاصه، برای این منظور ابتدا یک برش طولی به اندازه ۱/۵ سانتی‌متر روی پوست ناحیه جلویی گردن حیوان داده شد و طی آن شریان کاروتید مشترک راست، کاروتید داخلی راست وکاروتید خارجی راست از بافت‌های اطراف جدا شد. شاخه‌های جانبی وبخش انتهایی شریان کاروتید خارجی راست با کوتر سوزانده شده و انتهای آن توسط نخ صفر- چهار ابریشمی گره زده و جدا می‌شد. گره شلی در اطراف منشاء کاروتید خارجی راست بسته می شد و شریان‌های کاروتید مشترک و کاروتید داخلی موقتاً با استفاده از کلمپ‌های مخصوص شریان‌های کوچک بسته می‌شدند. نخ بخیه نایلون تک رشته صفر تا چهار که نوک آن با سیلیکون پوشیده شده بود، از طریق سوراخ کوچکی که روی شریان کاروتید خارجی ایجاد شده بود، وارد آن می‌گردید و به آرامی وارد شریان کاروتید داخلی می‌شد و تا یک نقطه در حدود ۱۸ میلی‌متر دیستال به محل دو شاخه شدن کاروتید، جلو می رفت. مقاومت خفیف در برابر جلو رفتن نخ بخیه علامت ورود به شریان قدامی مغز و بنابراین انسداد شریان میانی مغز و شاخه‌های خلفی آن بود. شریان کاروتید خارجی بسته شده و کلمپ از روی شریان کاروتید مشترک بر داشته می‌شد و برش ناحیه گردن موش بخیه زده می‌شد.

*روش القای هیپوترمی و کرانیکتومی*

هیپوترمی درگروه ترکیب هیپوترمی و کرانیکتومی، بعد از کرانیکتومی و شش ساعت پس از القای سکته مغزی انجام می گردید. کرانیکتومی در حیوانات با استفاده از دریل دندان‌پزشکی و با ایجاد یک فلپ استخوانی (۵ × ۱۰ میلی‌متر) در استخوان گیجگاهی و آهیانه انجام شد(۱۴،۱۰). استخوان‌های اضافی در زیر میکروسکوپ و با استفاده ازمیکرواسکیسر حذف شدند. پس از آن سخت شامه با یک برش متقاطع باز می‌شد. قشر مغز کاملاً دست نخورده باقی می‌ماند. در انتها، عضله تمپورال و فلپ پوست در محل اصلی خود بخیه می‌شدند.

*اندازه گیری حجم انفارکتوس مغزی*

حیوانات ۴۸ ساعت بعد ازانسداد شریان مغزی میانی کشته می شدند، مغز آن‌ها از جمجمه خارج می شد و در دمای منهای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه نگهداری و سپس به قطعاتی با ضخامت دو میلی‌متر (۶

Archive of SID
www.SID.ir

برش کرونال) برش داده می‌شدند. برش‌ها توسط محلول ۲ درصد ۲،۳،۵- تری فنیل تترازولیم کلراید (TTC) در دمای۳۷ درجه سانتیگراد رنگ آمیزی شده و در نهایت با فرمالین ۱۰ درصد ثابت می‌شدند. نواحی آسیب دیده (انفارکتوس) فاقد رنگ و نواحی سالم به رنگ قرمز در می‌آمد. در پایان برش‌ها اسکن شده وبا یک نرم افزار پردازشگر تصویر آنالیز می‌شدند(۱۸). حجم کل هر نیم‌کره و انفارکتوس هر نیم‌کره به‌وسیله مجموع شش برش پس از ضرب کردن در ضخامت مقاطع به‌دست می‌آمد. حجم انفارکتوس مغز با فرمول زیر محاسبه شد که با ضرب کردن مقدار بدست آمده در عدد ۱۰۰ به صورت درصد بیان می شد:

حجم نیمکره چپ (حجم انفارکتوس- حجم نیمکره راست)- حجم نیمکره چپ] = حجم انفارکتوس مغز

*آزمون های رفتاری*

جهت ارزیابی عملکرد حسی-حرکتی موش ها در آزمون جدا کردن برچسب کاغذی، موش‌ها از سه روز قبل از ایجاد سکته و هر روز دو نوبت آموزش داده می‌شدند. موش‌ها قبل از انجام جراحی و هم‌چنین ۲۴ و ۴۸ ساعت پس سکته مغزی مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند(۱۹). مدت زمان بین تماس تا جدا کردن برچسب از اندام‌ها طی سه تکرار ثبت و سپس میانگین آن‌ها گرفته می شد. آزمون‌های رفتاری توسط فرد کور شده در گروه انجام شد. عوارض نورولوژیک در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از سکته ثبت شد و با سیستم اصلاح شده ۶ نمره یی بدرسون و همکاران(۲۰) مشخص شد، که به شرح زیر است:صفر: نقصی قابل مشاهده نیست، یک: خم شدن اندام جلویی، دو: خم شدن اندام جلویی به علاوه کاهش مقاومت به هل دادن جانبی، سه: چرخش یک طرفه، چهار: چرخش یک طرفه به علاوه کاهش سطح هوشیاری و پنج: مرگ. در آزمون سیم آویزان مدت زمان آویزان ماندن هر موش از یک سیم (۱ میلی‌متر) که به صورت افقی در بالای صفحه اسفنجی به طول ۵۰ سانتی‌متر کشیده شده است، اندازه‌گیری می‌شد. هر موش در روز قبل از انجام تست آموزش داده می‌شد. هر موش پنج بار مورد آزمایش قرار می‌گرفت و میانگین نتایج ثبت می‌شد(۲۱).

*تعیین مقدار نفوذپذیری سد خونی مغزی*

نفوذپذیری سد خونی مغزی با استفاده از روش نشت رنگ آبی ایوانز که به گونه‌ایی که در مطالعات قبلی شرح داده شده، انجام شد(۲۳،۲۲). به طور خلاصه، یک کاتتر به داخل ورید ژوگولار فرستاده می‌شد، که از طریق آن ۴ میلی‌لیتر محلول ۲ درصد آبی ایوانز EB در نرمال سالین، (سیگما، آلمان) در طول مدت ۵ دقیقه به حیوانات تزریق می‌شد. پس از آن، حیوانات به مدت حداقل ۳۰ دقیقه ریکاوری می‌شدند. پس از کشتن حیوانات با دوز بالای سدیم تیوپنتال و باز کردن قفسه سینه، به منظور شست و شو باقی مانده رنگ آبی ایوانز از گردش عمومی یک کاتتر داخل بطن چپ قرار داده شد و۳۰۰ میلی لیتر نرمال سالین (۳۷ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۵ دقیقه تزریق می‌شد. پس از جدا کردن سر، مغز به آرامی برداشته می‌شد، مخچه و لوب بویایی از آن جدا می‌شدند و به دو نیم‌کره راست و چپ تقسیم می‌شد. هر نیمکره با دقت وزن می شد و میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV ۷۵۰۰ ، Spectro Lab، انگلستان) در ۶۲۰ نانومتر اندازه گیری می‌شد.

*تجزیه و تحلیل آماری*

حجم انفارکتوس و اختلالات نورولویک به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند. حجم انفارکتوس و نفوذ پذیری سد خونی مغزی با آزمون آماری t-test و اختلالات نورولوژیک در ساعات مختلف و در گروه‌های مختلف با آزمون آماری Two-Way ANOVA تجزیه و تحلیل شدند مقدار p کم تر ۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

Archive of SID

www.SID.ir

## یافته ها

*حجم انفارکتوس مغزی*

تفاوت آماری معنی داری بین شاخص‌های فیزیولوژیکی دو گروه حین وبعد از عمل وجود نداشت (جدول شماره ۱).

**جدول شماره ۱:** شاخص های فیزیولوژیکی در گروه های مختلف. داده ها به صورت Mean ± S.E.M بیان شده است . تفاوت بین دو گروه معنی دار نبود N= ۸.

| | Control | DC | HC |
|---|---|---|---|
| Glucose (mg/dl) | ۱۳±۲۲۳ | ۲۶±۲۰۸ | ۲۱±۲۱۹ |
| pH | ۰/۰۱۶±۷/۳۸۹ | ۰/۰۰۵±۷/۳۷۷ | ۰/۰۰۸±۷/۳۷۸ |
| Po2 (mmHg) | ۹±۱۷۶ | ۷±۱۷۴ | ۹±۱۶۹ |
| Pco2 (mmHg) | ۱/۵±۳۵/۵۳ | ۱/۷±۳۳/۵ | ۱/۶±۳۴/۰ |
| *MAP (mmHg) | ۴± ۹۲ | ۳±۹۳ | ۴±۹۲ |
| Heart rate (beats/min.) | ۳۶±۳۶۹ | ۲۹±۳۷۹ | ۲۸±۳۵۹ |

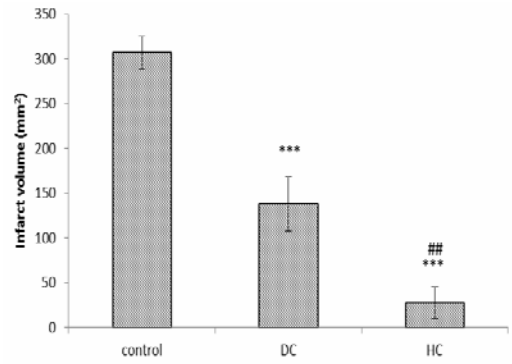
* MAP : متوسط فشار شریانی

*اثر کرانیکتومی و هایپوترمی بر حجم انفارکتوس*

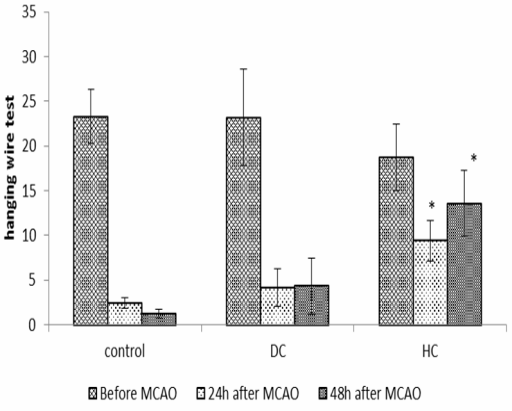
در هر دو گروه HC, DC حجم انفارکتوس نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < ۰/۰۰۱$) (نمودار شماره ۱). هم‌چنین گروه HC در مقایسه با گروه DC حجم انفارکتوس به طور معنی‌داری کم تر بود ($p < ۰/۰۱$) (نمودار شماره ۱).

*آزمون های رفتاری*

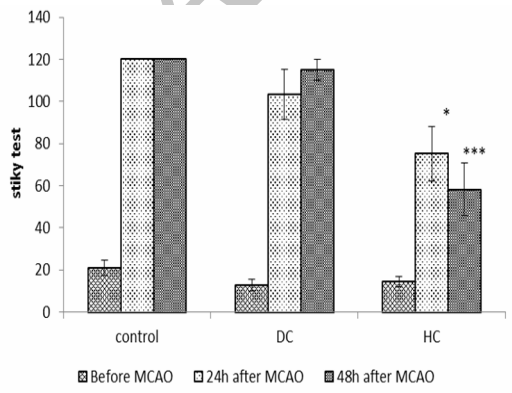
داده‌های حاصل از آزمون سیم آویزان نشان داد که فقط در گروه HC زمان آویزان ماندن به طور قابل توجهی در۲۴ و ۴۸ ساعت پس از ایسکمی افزایش داشته است (نمودار شماره ۲). در مقایسه با گروه کنترل، عملکرد بهتر رفتاری در آزمون برچسب کاغذی فقط در گروه HC $p < ۰/۰۰۱$ در ۴۸ ساعت، $p < ۰/۰۵$ در ۲۴ ساعت) دیده شد (نمودار شماره ۳). درآزمون بدرسون نیز تنها در گروه HC ($p < ۰/۰۱$) عملکر رفتاری بهتر ثبت شد. اختلالات عصبی در گروه HC $p < ۰/۰۵$ در ۲۴ ساعت، $p < ۰/۰۱$ در ۴۸ ساعت) در مقایسه با گروه DC در زمان‌های مشابه کاهش پیدا کرده است (نمودار شماره ۴).




**نمودار شماره ۱:** اثر DC به تنهایی یا در ترکیب با هیپوترمی HC بر روی حجم انفارکتوس. حجم انفارکتوس در ۴۸ ساعت پس از سکته مغزی مشخص شد و به صورت Mean ± SEM ارایه شده. $p<۰/۰۰۱$*** در مقایسه با گروه شاهد ($p <۰/۰۱$) در مقایسه با گروه کرانیکتومی N=۸.




**نمودار شماره ۲:** اثر کرانیکتومی به تنهایی یا در ترکیب با هیپوترمی در آزمون سیم آویزان. داده ها به صورت Mean ± SEM بیان شده است. $P<۰/۰۵$ *در مقایسه با گروه کنترل N = ۸.

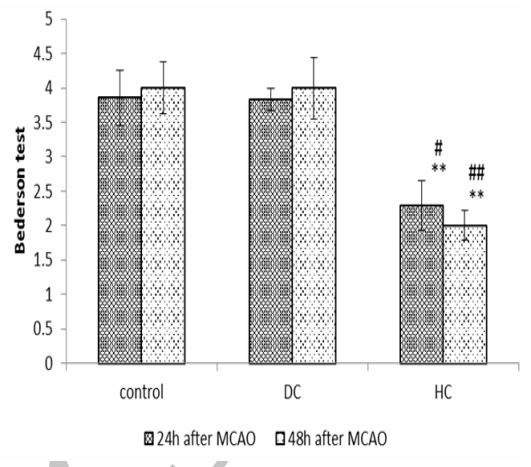



**نمودار شماره ۳:** اثر DC و HC درآزمون برچسب کاغذی. داده ها به صورت Mean ± SEM بیان شده است. $P<۰/۰۰۱$*** و $P<۰/۰۵$* نسبت به گروه شاهد است N = ۸.

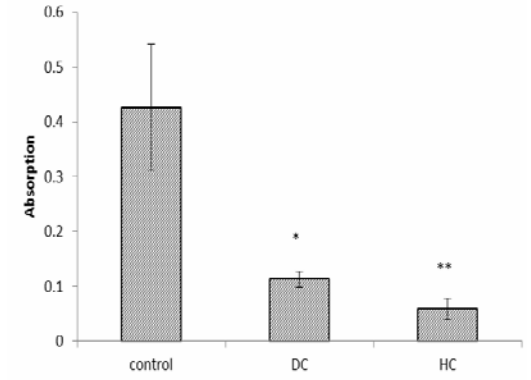
Archive of SID
www.SID.ir

*اندازه گیری میزان شکست سد خونی مغزی*

میزان جذب در هر دو گروه DC (p <۰/۰۵) و HC (p <۰/۰۱) به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (نمودار شماره ۵).



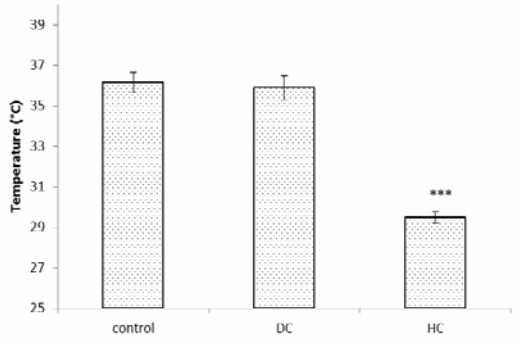

**نمودار شماره ۴:** اثر DC و HC روی اختلالات عصبی در آزمون بدرسون در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از سکته مغزی در موش صحرایی. داده ها به صورت Mean ± SEM بیان شده است. p< ۰/۰۵ و p< ۰/۰۱ **نسبت به گروه کنترل ، p< ۰/۰۵ و p< ۰/۰۱ ## نسبت به گروه DC N =۸ .




**نمودار شماره ۵:** اثر DC و HC بر روی شکست سد خونی مغزی. داده‌ها به صورت Mean ± SEM بیان شده است. p< ۰/۰۱ * در مقایسه با گروه کنترل p< ۰۱/۰۱ ** در مقایسه با گروه کنترل N = ۸.

*درجه حرارت عضله تمپورال مقابل*

در گروه HC درجه حرارت مغز در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است (p <۰/۰۰۱). کاهش دما در گروه HC در مقایسه با گروه DC به طور معنی داری بیش تر بود (p <۰/۰۱) (نمودار شماره ۶).




**تصویر شماره ۶:** اثر DC و HC روی دمای مغز. داده ها به صورت ± Mean SEM بیان شده است. p<۰,۰۰۱*** نسبت به گروه کنترل و DC ۸ = N.

## بحث

بر اساس آخرین اطلاعات، تاکنون مقاله ای که به بررسی اثر مستقیم هایپوترمی موضعی از طریق برداشتن جمجمه در جوندگان بپردازد، وجود ندارد. بنابراین، بدیع و جدید بودن مطالعه حاضر از این نظر است که در این مطالعه اثر تأخیری هیپوترمی مستقیم مغز را با باز کردن سر، روی موش صحرایی که دارای ایسکمی دایمی کانونی مغزی است مورد بررسی قرار گرفت داده‌های ما نشان داد که این روش در درمان ایسکمی مغزی مؤثرتر است. نتایج مطالعه حاضر بیانگر آن است که هرچند حجم انفارکتوس به وسیله کرانیکتومی دیررس کاهش پیدا کرده، اما ترکیب آن با هیپوترمی موضعی دارای اثرات محافظ نورونی بیش‌تری است. نتایج برخی مطالعات حاکی از تأثیر قابل توجه کرانیکتومی زودهنگام در کاهش حجم انفارکتوس و میزان مرگ و میر است که با نتایج ما همخوانی دارد(۲۵،۲۴). تعداد زیادی از محققان تاثیر هیپوترمی عمومی بدن در کاهش حجم انفارکتوس در مدل های مختلف سکته مغزی در موش صحرایی را گزارش کرده‌اند(۸،۵). از سوی دیگر، هیپوترمی کانونی مغز از طریق پوست سر دارای اثر محافظ نورونی است که از آن به عنوان روشی موثر، ساده، مطمئن و مقرون به صرفه برای هیپوترمی در موش نام برده شده است(۲۶). از آن‌جا که ارزیابی‌های سیستم عصبی اهمیت بالینی

Archive of SID

www.SID.ir

بیش‌تری در بیماران مبتلا به سکته مغزی دارد، آزمون‌های متفاوتی برای ارزیابی وضعیت سیستم عصبی در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفته است. ارزیابی کمی سیستم عصبی به وسیله آزمون های نوار چسب و یا سیم آویزان نشان داد که فقط ترکیبی از کرانیکتومی و هیپوترمی موضعی می تواند باعث بهبود عملکرد رفتاری شود. هم‌چنین در آزمون بدرسون نیز ترکیب هیپوترمی موضعی با کرانیکتومی اثر محافظ نورونی نشان داد. تنها تعداد کمی از مطالعات تاثیر هیپوترمی بر برقراری مجدد جریان خون تاخیری پس از آسیب ناشی از ایسکمی را مورد بررسی قرار داده‌اند. مشابه با یافته‌های پژوهش حاضر، پیشنهاد شده است که هیپوترمی عمومی عملکرد سیستم عصبی را در انسداد موقت شریان مغز میانی بهبود می‌بخشد(۲۷) مهم‌تر این‌که، هیپوترمی شش ساعت پس از ایجاد ایسکمی مغزی نیز عوارض نورولوژیک سکته مغزی را کاهش داده است(۲۸). علاوه بر این مشاهده شده که اگر چه ترکیبی از کرانیکتومی و هیپوترمی موضعی در جلوگیری از شکست سد خونی مغزی مؤثرتر از کرانیکتومی بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود. به تازگی گزارش شده که ترکیبی از هیپوترمی و مینوسیکلین نیز ممکن است از طریق مهار MMP باعث جلوگیری از شکست سد خونی مغزی در ایسکمی کانونی مغزی شود(۱۵). مکانیسم‌های متفاوت محافظ نورونی برای هیپوترمی فرض شده است که می‌توان به تثبیت سد خونی مغز، تنظیم پایین سوخت و ساز مغز، جلوگیری از آزادسازی واسطه‌های تحریکی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اشاره کرد(۲۹،۶،۵). از بین بردن آسیب اکسیداتیو DNA و جلوگیری از فرستاده شدن پیام آپوپتوز در سلول مکانیسم مهمی است که برای نحوه اثر محافظ نورونی هیپوترمی خفیف در ایسکمی مغزی مطرح شده است(۳۰). حفاظت از لایه بازال، کاهش حجم انفارکتوس، خونریزی و کاهش آنزیم‌های پروتیولیتیک برخی دیگر از مکانیسم های محافظ نورونی هیپوترمی است(۳۱). کاهش التهاب نورونی نیز به عنوان یکی از عوامل اصلی در مکانیسم اثر محافظ نورونی هیپوترمی خفیف بعد از ایسکمی ذکر شده است(۳۲). با وجود مزایای بسیار استفاده از هیپوترمی عمومی، وجود برخی عوارض جانبی مانند آریتمی میوکارد، افت فشار خون، افزایش انعقاد پذیری خون و بی ثباتی همودینامیک موجب محدود شدن استفاده از آن شده است(۳۳،۱۵).

مقایسه بین روش‌های مختلف هیپوترمی نشان از مؤثرتر بودن تزریق داخل کاروتید سالین سرد نسبت به روش‌های دیگر از جمله خنک کردن سیستمیک بدن و کلاه یخ می‌باشد(۳۴). از این رو، این یافته‌ها نشان می‌دهند که روش‌هایی مانند تزریق داخل کاروتید سالین سرد و روش کنونی ما که خنک کردن مستقیم مغز می‌باشد، نه تنها اثرات محافظ نورونی بیشتر دارند، بلکه از عوارض جانبی هیپوترمی عمومی نیز جلوگیری می‌کنند. در برخی از مطالعات، ترکیب هیپوترمی با روش‌های دیگر مورد ارزیابی قرار گرفته است نتایج یک مطالعه حاکی از کاهش حجم انفارکتوس در درمان ترکیبی هیپوترمی با MgSO4 دو و چهار ساعت بعد از انسداد دایم شریان مغزی میانی است، اما هیچ اثر درمانی قابل توجهی شش ساعت بعد و یا در گروهایی که هیپوترمی و MgSO4 به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفته‌اند، مشاهده نشد(۳۵). مطالعه دیگری نشان داد که ترکیبی از سایتیکولین با هیپوترمی در سرکوب فرآیندهای های آپوپتوتیک مؤثرتر از استفاده از هر یک از آن ها به صورت جداگانه می‌باشد(۳۶). Jieyong و همکاران نشان دادند که ترکیب بین کرانیکتومی و هیپوترمی خفیف باعث کاهش حجم انفارکتوس می‌شود(۳۷،۱۴). نتایج Doerfler و همکاران (۲۰۰۱) کاهش حجم انفارکتوس و بهبود نتایج عصبی را درترکیب کرانیکتومی با هیپوترمی خفیف در چهار ساعت بعد از انسداد دشریان مغزی میانی نشان داد(۱۴). در مطالعه حاضر پنجره درمانی ایسکمی مغزی به وسیله هیپوترمی مستقیم موضعی مغز از طریق استفاده ترکیبی

Archive of SID
www.SID.ir

از کرانیکتومی و سالین سرد به شش ساعت افزایش یتفن. برخلاف موارد فوق، در این آزمایش از هیپوترمی مستقیم موضعی مغز به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. دمای مغز در گروه درمان ترکیبی به ۲۸/۵ درجه سانتی گراد کاهش یافت در حالی که دمای بدن با استفاده از پد گرم کننده در محدوده نرمال (۳۷- ۳۶/۵ درجه سانتی گراد) نگهداری شد. این دما کم‌تر از هیپوترمی خفیف (۳۳ °C) است که در بسیاری از مطالعات استفاده می‌شود(۳۸). بنابراین عوارض ناشی از هیپوترمی عمومی کاهش یافت در حالی که عمق هیپوترمی را افزایش یافت. مطالعه حاضر با برخی از محدودیت‌ها مواجهه بوده است. نقطه پایان در مطالعه ما ۴۸ ساعت بود، چرا که حیوانات طی این مدت دچار بیماری و کاهش وزن می‌شدند. این زمان پایانی برای ارزیابی بیش‌تر عوارض تأخیری کافی نبود.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اگر چه در کرانیکتومی تأخیری حجم انفارکتوس کاهش می یابد اما هیپوترمی مستقیم تأخیری مغز از طریق بازکردن پوست سر اثر محافظ نورونی بیشتری در درمان سکته مغزی دارد. در مقابل، تنها ترکیبی از کرانیکتومی و هیپوترمی موضعی می‌تواند عملکرد رفتاری را بهبود بخشد. مطالعات بیش‌تری برای بررسی بهترین زمان شروع هیپوترمی، مدت زمان آن و نیز تعیین دقیق مکانیسم محافظ نورونی هیپوترمی مورد نیاز است.

## References


1. Giuliani D, Leone S, Mioni C, Bazzani C, Zaffe D, Botticelli AR, et al. Broad therapeutic treatment window of [Nle(4), D-Phe(7)] alpha-melanocyte-stimulating hormone for long-lasting protection against ischemic stroke, in Mongolian gerbils. Eur J Pharmacol 2006; 538(1-3): 48-56.
2. Hacke W, Schwab S, Horn M, Spranger M, De Georgia M, von Kummer R. 'Malignant' middle cerebral artery territory infarction: clinical course and prognostic signs. Arch Neurol 1996; 53(4): 309-315.
3. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. N Engl J Med 1995; 333(24): 1581-1587.
4. Hatamabadi HMH, Asarzadegan F, Shojaee M. Barriers to On Time Delivery of Thrombolytic Therapy. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 23(102): 19-22.
5. Hamann GF, Burggraf D, Martens HK, Liebetrau M, Jäger G, Wunderlich N, et al. Mild to moderate hypothermia prevents microvascular basal lamina antigen loss in experimental focal cerebral ischemia. Stroke 2004; 35(3): 764-769.
6. Kollmar R, Blank T, Han JL, Georgiadis D , Schwab S. Different degrees of hypothermia after experimental stroke: short- and long-term outcome. Stroke 2007; 38(5): 1585-1589.
7. Colbourne F, Sutherland G, Corbett D. Postischemic hypothermia. A critical appraisal with implications for clinical treatment. Mol Neurobiol 1997; 14(3): 171-201.
8. 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 1998; 29(12): 2461-2566.
9. van der Worp HB, Macleod MR, Kollmar R. Therapeutic hypothermia for acute ischemic stroke: ready to start large randomized trials? J Cereb Blood Flow Metab 2010; 30(6): 1079-1093.
10. Karibe H, Zarow GJ, Graham SH, Weinstein


Archive of SID

www.SID.ir

PR. Mild intraischemic 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 1994; 14(4): 620-627.

11. Doerfler A, Forsting M, Reith W Staff C, Heiland S, Schäbitz WR, et al. Decompressive craniectomy in a rat model of "malignant" cerebral hemispheric stroke: experimental support for an aggressive therapeutic approach. J Neurosurg 1996; 85(5): 853-859.
12. Forsting M, Reith W, Schabitz WR, Heiland S, von Kummer R, Hacke W, et al. Decompressive craniectomy for cerebral infarction. An experimental study in rats. Stroke 1995; 26(2): 259-264.
13. Delashaw JB, Broaddus WC, Kassell NF, Haley EC, Pendleton GA, Vollmer DG, et al. Treatment of right hemispheric cerebral infarction by hemicraniectomy. Stroke 1990; 21(6): 874-881.
14. Foerch C, Lang JM, Krause J, Raabe A, Sitzer M, Seifert V, et al. Functional impairment, disability, and quality of life outcome after decompressive hemicraniectomy in malignant middle cerebral artery infarction. J Neurosurg 2004; 101(2): 248-254.
15. Vahedi K, Vicaut E, Mateo J, Kurtz A, Orabi M, Guichard JP, et al. Sequential-design, multicenter, randomized, controlled trial of early decompressive craniectomy in malignant middle cerebral artery infarction (DECIMAL Trial). Stroke 2007; 38(9): 2506-2517.
16. Doerfler A, Schwab S, Hoffmann TT, Engelhorn T, Forsting M. Combination of decompressive craniectomy and mild hypothermia ameliorates infarction volume after permanent focal ischemia in rats. Stroke 2001; 32(11): 2675-2681.
17. Nagel S, Su Y, Horstmann S, Heiland S, Gardner H, Koziol J, et al. Minocycline and hypothermia for reperfusion injury after focal cerebral ischemia in the rat: effects on BBB breakdown and MMP expression in the acute and subacute phase. Brain Res 2008; 1188: 198-206.
18. Dinapoli VA, Rosen CL, Nagamine T, Crocco T. Selective MCA occlusion: a precise embolic stroke model. Journal of Neuroscience Methods 2006; 154(1-2): 233-238.
19. Koizumi JYY, Ooneda NT. Experimental studies of ischemic brain edema, I: a new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. J Stroke 1986; 8: 1-8.
20. Allahtavakoli M, Moloudi R, Arababadi MK, Shamsizadeh A, Javanmardi K. Delayed post ischemic treatment with Rosiglitazone attenuates infarct volume, neurological deficits and neutrophilia after embolic stroke in rat. Brain Res 2009; 1271: 121-127.
21. Schallert TMTW. The Behavior of the Laboratory Rat. (Eds.) IQWBK, editor. New York: Oxford University Press Inc; 2005.
22. Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. Stroke 1986; 17(3): 472-476.
23. Prinz V, Laufs U, Gertz K, et al. Intravenous rosuvastatin for acute stroke treatment: an animal study. Stroke 2008; 39(2): 433-438.
24. Awad AS. Role of AT1 receptors in permeability of the blood-brain barrier in diabetic hypertensive rats. Vascul Pharmacol 2006; 45(3): 141-147.

Archive of SID
www.SID.ir

25. Mohammadi MT, Shid-Moosavi SM, Dehghani GA. Contribution of nitric oxide synthase (NOS) in blood-brain barrier disruption during acute focal cerebral ischemia in normal rat. Pathophysiology 2012; 19(1): 13-20.
26. Onesti ST, Baker CJ, Sun PP, Solomon RA. Transient hypothermia reduces focal ischemic brain injury in the rat. Neurosurgery 1991; 29(3): 369-373.
27. Cho DY, Chen TC, Lee HC. Ultra-early decompressive craniectomy for malignant middle cerebral artery infarction. Surg Neurol 2003; 60(3): 227-32; discussion 32-3.
28. Clark DL, Colbourne F. A simple method to induce focal brain hypothermia in rats. J Cereb Blood Flow Metab 2007; 27(1): 115-122.
29. Kollmar R, Schabitz WR, Heiland S, et al. Neuroprotective effect of delayed moderate hypothermia after focal cerebral ischemia: an MRI study. Stroke 2002; 33(7): 1899-1904.
30. Baker CJ, Fiore AJ, Frazzini VI, Choudhri TF, Zubay GP, Solomon RA. Intraischemic hypothermia decreases the release of glutamate in the cores of permanent focal cerebral infarcts. Neurosurgery. 1995; 36(5): 994-1001; discussion-2.
31. Ji X, Luo Y, Ling F, Stetler RA, Lan J, Cao G, et al. Mild hypothermia diminishes oxidative DNA damage and pro-death signaling events after cerebral ischemia: a mechanism for neuroprotection. Front Biosci 2007; 12: 1737-1747.
32. Burk J, Burggraf D, Vosko M, Dichgans M, Hamann GF. Protection of cerebral microvasculature after moderate hypothermia following experimental focal cerebral ischemia in mice. Brain Res 2008; 1226: 248-255.
33. Ohta H, Terao Y, Shintani Y, Kiyota Y. Therapeutic time window of post-ischemic mild hypothermia and the gene expression associated with the neuroprotection in rat focal cerebral ischemia. Neurosci Res 2007; 57(3): 424-433.
34. Goto Y, Kassell NF, Hiramatsu K, Soleau SW, Lee KS. Effects of intraischemic hypothermia on cerebral damage in a model of reversible focal ischemia. Neurosurgery 1993; 32(6): 980-984; discussion 4-5.
35. Ji Y, Wu Y, Ji Z, et al. Comparison of neuroprotective effects of hypothermia induced by different methods in rats with early cerebral ischemia. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao 2012; 32(1): 89-92.
36. Campbell K, Meloni BP, Knuckey NW. Combined magnesium and mild hypothermia (35 degrees C) treatment reduces infarct volumes after permanent middle cerebral artery occlusion in the rat at 2 and 4, but not 6 h. Brain Res 2008; 1230: 258-264.
37. Sahin S, Alkan T, Temel SG, Tureyen K, Tolunay S, Korfali E. Effects of citicoline used alone and in combination with mild hypothermia on apoptosis induced by focal cerebral ischemia in rats. J Clin Neurosci 2010; 17(2): 227-231.
38. Jieyong B, Zhong W, Shiming Z, et al. Decompressive craniectomy and mild hypothermia reduces infarction size and counterregulates Bax and Bcl-2 expression after permanent focal ischemia in rats. Neurosurg Rev 2006; 29(2): 168-172.

Archive of SID

www.SID.ir

ORIGINAL ARTICLE

# *Protective Effect of Combination Therapy of Local Brain Hypothermia and Decompressive Craniectomy on Stroke Model in Rat*

Mohammad Reza Zarisfi[1],
Mohammad Amin Hoseeini Kahnouei[1],
Hossein Rezazadeh[1],
Mohammad Hossein Mahmoudi[1],
Ahmad Purrashidy Bashrabadi[1],
Mohammad Alahtavakoli[2]

[1] Student in Medicine, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
[2] Associate Professor, Department of Physiology and Pharmacology, Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

(Received October 13, 2013 ; Accepted January 21, 2014)

## *Abstract*

**Background and purpose:** Both hypothermia and Decompressive craniectomy (DC) have been shown to reduce ischemic injury in experimental middle cerebral artery occlusion (MCAO). This study was designed to evaluate the effect of delayed combination of DC and Local Hypothermia (LH) on infarct size, neurological outcome and blood brain barrier (BBB) disruption in a rat model of stroke.

**Material and Methods:** MCAO was induced in 36 Wistar rats assigned to three groups of control, Decompressive Craniectomy (DC) and combination of Hypothermia and Craniectomy (HC). Infarct size and BBB disruption were measured 48 hour after ischemia insult. Neurological deficits were assessed at 24 and 48 hours after stroke using sticky tape test, hanging-wire test and Bederson's scoring system. BBB disruption was measured by Evans blue dye leakage.

**Results:** Compared to the control group, infarct size reduced significantly in DC and HC groups ($P<0.001$), however, combination therapy was more neuroprotective compared to craniectomy alone ($P<0.01$). Compared to the control group, BBB disruption was significantly reduced in DC ($P<0.05$) and HC ($P<0.01$).While compared to the control group sticky tape test ($P<0.05$ at 24 h; $P<0.001$ at 48 h) and hanging-wire test ($P<0.05$) showed better behavioral performance only in HC, and Bederson test showed improved behavioral functions of HC animals ($P<0.01$). At the same time neurological deficits also decreased in HC group ($P<0.05$ at 24 h; $P<0.01$ at 48 h) compared to the DC group.

**Conclusion:** According to this study although both delayed local hypothermia and craniectomy are protective after stoke, combination therapy of them is more neuroprotective than given alone.

***Keywords:*** Decompressive craniectomy, local hypothermia

**J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(113): 81-90 (Persian).**

Archive of SID

www.SID.ir