

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

Mohammad Reza Zarisfi¹,
Mohammad Amin Hoseeini Kahnouei¹,
Hossein Rezazadeh¹,
Mohammad Hossein Mahmoudi¹,
Ahmad Purrashidy Bashrabadi¹,
Mohammad Alahtavakoli²

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 stroke, combination therapy of them is more neuroprotective than given alone.

Keywords: Decompressive craniectomy, local hypothermia

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

محمد رضا زریسی^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 هیپوترمی 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 سگته مغزی روی موش صحرائی طراحی شده است.

مواد و روش ها: انسداد شریان مغزی میانی روی ۳۶ موش صحرائی 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 اندازه گیری شد. اختلالات نورولوژیک در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از سگته مغزی اندازه گیری 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 ($p < 0/01$) اما در گروه ترکیبی اثر محافظت نورونی نسبت به گروه کرانیکتومی بیش تر بود ($p < 0/01$). در مقایسه با گروه کنترل، شکست سد خونی مغزی به طور قابل توجهی در گروه کرانیکتومی ($p < 0/05$) و گروه ترکیبی ($p < 0/01$). کاهش یافت. در مقایسه با گروه کنترل، تنها در گروه ترکیبی عملکرد رفتاری در آزمون های جدا کردن برچسب کاغذی ($p < 0/05$) در ۲۴ ساعت، ($p < 0/01$) در ۴۸ ساعت، سیم آویزان ($p < 0/05$) و آزمون بدرسون ($p < 0/05$) در ۲۴ ساعت و ($p < 0/01$) در ۴۸ ساعت بهبود داشت. عوارض نورولوژیک نیز در گروه ترکیبی (در ۲۴ ساعت $p < 0/05$) و در ۴۸ ساعت ($p < 0/01$) نسبت به گروه کرانیکتومی در همان زمان ها کاهش یافت.

استنتاج: اگر چه کرانیکتومی اثر محافظتی پس از سگته مغزی دارد، اما ترکیب آن با هیپوترمی موضعی تأثیر محافظت نورونی بیش تری دارد.

واژه های کلیدی: کرانیکتومی، سگته مغزی، هیپوترمی موضعی

مقدمه

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

E-mail: m_alahavakoli@rums.ac.ir

مؤلف مسئول: محمد الله توکلی - رفسنجان: دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دانشکده پزشکی

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

اکسیژن و آپوپتوز موجب تخریب بافتی می‌شود (۱). از اصطلاح انفارکتوس بدخیم شریان مغز میانی، در انفارکتوس گسترده یک طرفه نیم کره مغز که در ۱۰ تا ۱۵ درصد بیماران سکنه مغزی رخ می‌دهد، 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 سکنه 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 (۳،۴).

برخی از تحقیقات تجربی و بالینی، اثر محافظ نوروئی هیپوترمی خفیف و متوسط را گزارش کرده‌اند. برخی از مکانیسم‌ها اثر محافظ نوروئی هیپوترمی خفیف را ثابت کرده‌اند (۵،۶). مکانیسم‌های محافظ نوروئی هیپوترمی شامل تثبیت سد خونی مغز، پایین آوردن متابولیسم مغزی، کاهش آزادسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۵،۶). در تعدادی از مقالات، اثرات محافظتی هیپوترمی به عنوان تابعی از زمان شروع، طول مدت و عمق هیپوترمی و هم‌چنین 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 (DC) Decompressive Craniectomy به طور قابل توجهی باعث کاهش مرگ و میر و بهبود وضعیت بالینی بیماران می‌شود (۹،۱۰). 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 (DC) Hypothermia and Craniectomy 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 ایسکمیک کانونی مغزی در موش صحرایی داشته است (۱۵). داده‌هایی که حاکی از اثر درمانی هیپوترمی موضعی مستقیم مغز در سکنه مغزی ایسکمیک حاد باشد وجود ندارد. در مطالعه حاضر امکان بیش‌تر بودن اثر محافظت نوروئی در درمان ترکیبی کرانیکتومی با هیپوترمی موضعی که اثرات جانبی کم‌تری نسبت به هیپوترمی عمومی بدن دارد، در مدل انسداد دایم شریان مغزی میانی سکنه مغزی در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده سازی حیوانات، جراحی و گروه‌ها

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 21 ± 1 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، سکنه مغزی القاء شد. گروه کرانیکتومی (DC): در این گروه ابتدا سکنه مغزی القاء شد و شش ساعت بعد از القاء سکنه مغزی، کرانیکتومی انجام شد.

گروه ترکیب کرانیکتومی و هیپوترمی (HC): در این گروه ابتدا سکنه مغزی القا گردید و شش ساعت بعد از القا سکنه 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 سکنه 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 می‌شد 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 (AD instrument Australia) اندازه‌گیری شد و با تهیه خون شریانی از همین شریان، گازهای خون شریانی (Pao₂، Paco₂) و pH و گلوکز خون پنج دقیقه قبل و بعد از القای سکنه مغزی با دستگاه رادیومتر (Radiometer medical A/S Copenhagen/Denmark) اندازه‌گیری شد (۱۶).

نحوه ایجاد سکنه 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 و کاروتید خارجی راست از بافت‌های اطراف جدا شد. شاخه‌های جانبی و بخش 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 می‌شد 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 می‌رفت. 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 در گروه ترکیب هیپوترمی و کرانیکتومی، بعد از کرانیکتومی و شش ساعت پس از القای سکنه مغزی انجام می‌گردید. کرانیکتومی در حیوانات با استفاده از دریل دندان پزشکی و با ایجاد یک فلپ استخوانی (۵ × ۱۰ میلی‌متر) در استخوان گیجگاهی و آهیانه انجام شد (۱۰، ۱۴). استخوان‌های اضافی در زیر میکروسکوپ و با استفاده از میکرواسکیسر 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.

اندازه‌گیری حجم انفارکتوس مغزی

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

طول ۵۰ سانتی متر کشیده شده است، اندازه گیری می شد. هر موش در روز قبل از انجام تست آموزش داده می شد. هر موش پنج بار مورد آزمایش قرار می گرفت و میانگین نتایج ثبت می شد (۲۱).

تعیین مقدار نفوذپذیری سد خونی مغزی

نفوذپذیری سد خونی مغزی با استفاده از روش نشت رنگ آبی ایوانز که به گونه ایی که در مطالعات قبلی شرح داده شده، انجام شد (۲۲، ۲۳). به طور خلاصه، یک کاتر به داخل ورید ژوگولار فرستاده می شد، که از طریق آن ۴ میلی لیتر محلول ۲ درصد آبی ایوانز EB در نرمال سالین، (سیگما، آلمان) در طول مدت ۵ دقیقه به حیوانات تزریق می شد. پس از آن، حیوانات به مدت حداقل ۳۰ دقیقه ریکاوری می شدند. 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 کاتر داخل بطن چپ قرار داده شد و ۳۰۰ میلی لیتر نرمال سالین (۳۷ درجه سانتی گراد) به مدت ۱۵ دقیقه تزریق می شد. پس از جدا کردن سر، مغز به آرامی برداشته می شد، مخچه و لوب بویایی از آن جدا می شدند و به دو نیم کره راست و چپ تقسیم می شد. هر نیمکره با دقت وزن می شد و میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV ۷۵۰۰، Spectro Lab، انگلستان) در ۶۲۰ نانومتر اندازه گیری می شد.

تجزیه و تحلیل آماری

حجم انفارکتوس و اختلالات نورولوژیک به صورت $Mean \pm SEM$ نشان داده شده اند. حجم انفارکتوس و نفوذ پذیری سد خونی مغزی با آزمون آماری t-test و اختلالات نورولوژیک در ساعات مختلف و در گروه های مختلف با آزمون آماری Two-Way ANOVA تجزیه و تحلیل شدند مقدار p کم تر ۰/۰۵ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

برش کروئال) برش داده می شدند. برش ها توسط محلول ۲ درصد ۲،۳،۵-تری فنیل تترازولیم کلراید (TTC) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد رنگ آمیزی شده و در نهایت با فرمالین ۱۰ درصد ثابت می شدند. نواحی آسیب دیده (انفارکتوس) فاقد رنگ و نواحی سالم به رنگ قرمز در می آمد. در پایان برش ها اسکن شده و با یک نرم افزار پردازشگر تصویر آنالیز می شدند (۱۸). حجم کل هر نیم کره و انفارکتوس هر نیم کره به وسیله مجموع شش برش پس از ضرب کردن در ضخامت مقاطع به دست می آمد. 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 برجسب کاغذی، موش ها از سه روز قبل از ایجاد سکنه و هر روز دو نوبت آموزش داده می شدند. موش ها قبل از انجام جراحی و هم چنین ۲۴ و ۴۸ ساعت پس سکنه مغزی مورد ارزیابی قرار می گرفتند (۱۹). مدت زمان بین تماس تا جدا کردن برجسب از اندام ها طی سه تکرار ثبت و سپس میانگین آن ها گرفته می شد. آزمون های رفتاری توسط فرد کور شده در گروه انجام شد. عوارض نورولوژیک در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از سکنه 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 میلی متر) که به صورت افقی در بالای صفحه اسفنجی به

یافته ها

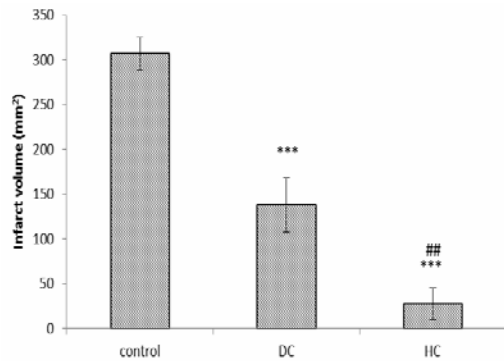
حجم انفارکتوس مغزی

تفاوت آماری معنی داری بین شاخص های فیزیولوژیکی دو گروه حین و بعد از عمل وجود نداشت (جدول شماره ۱).

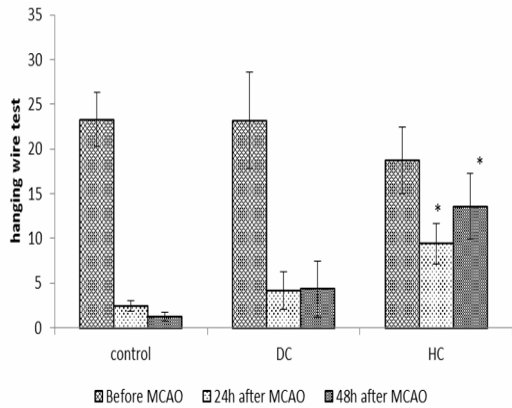
جدول شماره ۱: شاخص های فیزیولوژیکی در گروه های مختلف. داده ها به صورت Mean \pm S.E.M بیان شده است. تفاوت بین دو گروه معنی دار نبود N=8.

HC	DC	Control	
21 \pm 219	26 \pm 208	13 \pm 233	Glucose (mg/dl)
7.008 \pm 7.378	7.005 \pm 7.377	7.016 \pm 7.389	pH
9 \pm 169	7 \pm 174	9 \pm 176	Po2 (mmHg)
1.6 \pm 34.0	1.7 \pm 33.5	1.5 \pm 35.53	Pco2 (mmHg)
4 \pm 92	3 \pm 93	4 \pm 92	*MAP (mmHg)
28 \pm 359	29 \pm 379	36 \pm 369	Heart rate (beats/min.)

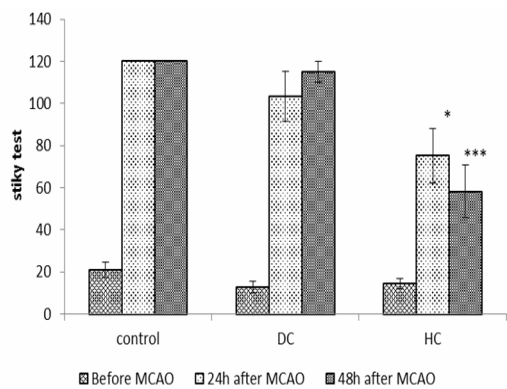
* MAP : متوسط فشار شریانی



نمودار شماره ۱: اثر DC به تنهایی یا در ترکیب با هیپوترمی HC بر روی حجم انفارکتوس. حجم انفارکتوس در ۴۸ ساعت پس از سکنه مغزی مشخص شد و به صورت Mean \pm SEM ارائه شده. $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کرانیکتومی N=8.



نمودار شماره ۲: اثر کرانیکتومی به تنهایی یا در ترکیب با هیپوترمی در آزمون سیم آویزان. داده ها به صورت Mean \pm SEM بیان شده است. $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل N=8.



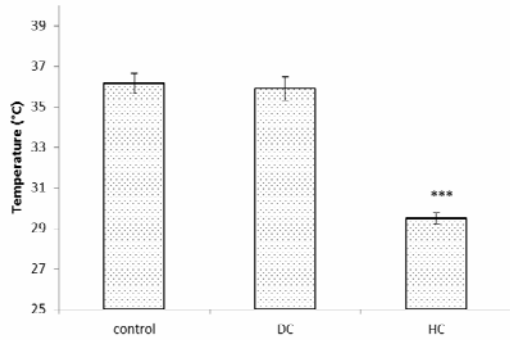
نمودار شماره ۳: اثر DC و HC در آزمون برجسب کاغذی. داده ها به صورت Mean \pm SEM بیان شده است. $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل N=8.

اثر کرانیکتومی و هیپوترمی بر حجم انفارکتوس

در هر دو گروه DC, HC حجم انفارکتوس نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.001$) (نمودار شماره ۱). هم چنین گروه HC در مقایسه با گروه DC حجم انفارکتوس به طور معنی داری کم تر بود ($p < 0.001$) (نمودار شماره ۱).

آزمون های رفتاری

داده های حاصل از آزمون سیم آویزان نشان داد که فقط در گروه HC زمان آویزان ماندن به طور قابل توجهی در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از ایسکمی افزایش داشته است (نمودار شماره ۲). در مقایسه با گروه کنترل، عملکرد بهتر رفتاری در آزمون برجسب کاغذی فقط در گروه HC $p < 0.001$ در ۴۸ ساعت، $p < 0.05$ در ۲۴ ساعت) دیده شد (نمودار شماره ۳). در آزمون بدرسون نیز تنها در گروه HC ($p < 0.001$) عملکرد رفتاری بهتر ثبت شد. اختلالات عصبی در گروه HC $p < 0.05$ در ۲۴ ساعت، $p < 0.01$ در ۴۸ ساعت) در مقایسه با گروه DC در زمان های مشابه کاهش پیدا کرده است (نمودار شماره ۴).



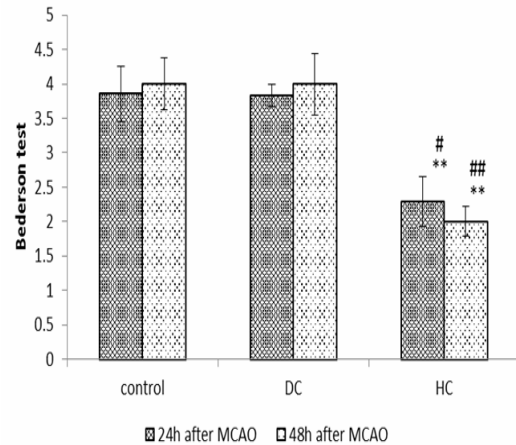
تصویر شماره ۶: اثر DC و HC روی دمای مغز. داده ها به صورت \pm Mean SEM بیان شده است. $p < 0.001$ نسبت به گروه کنترل و $N = 8$ DC.

بحث

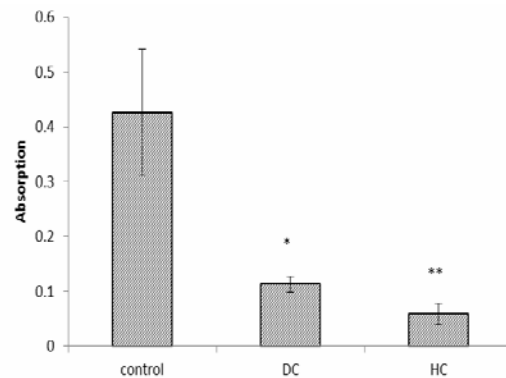
بر اساس آخرین اطلاعات، تاکنون مقاله ای که به بررسی اثر مستقیم هیپوترمی موضعی از طریق برداشتن جمجمه در جوندگان پیردازد، وجود ندارد. بنابراین، بدیع و جدید بودن مطالعه حاضر از این نظر است که در این مطالعه اثر تأخیری هیپوترمی مستقیم مغز را با باز کردن سر، روی موش صحرائی که دارای ایسکمی دائمی کانونی مغزی 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 نوروینی بیش تری است. نتایج برخی مطالعات حاکی از تأثیر قابل توجه کرانیکتومی زود هنگام در کاهش حجم انفارکتوس و میزان مرگ و میر است که با نتایج ما همخوانی دارد (۲۵، ۲۴). تعداد زیادی از محققان تأثیر هیپوترمی عمومی بدن در کاهش حجم انفارکتوس در مدل های مختلف سکنه مغزی در موش صحرائی را گزارش کرده‌اند (۸، ۵). از سوی دیگر، هیپوترمی کانونی مغز از طریق پوست سر دارای اثر محافظ نوروینی 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 ارزیابی های سیستم عصبی اهمیت بالینی

اندازه گیری میزان شکست سد خونی مغزی

میزان جذب در هر دو گروه DC ($p < 0.05$) و HC ($p < 0.01$) به طور معنی داری 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 سکنه مغزی در موش صحرائی. داده ها به صورت \pm Mean SEM بیان شده است. $p < 0.05$ و $p < 0.01$ نسبت به گروه کنترل، $p < 0.05$ و $p < 0.01$ نسبت به گروه DC $N = 8$.



نمودار شماره ۵: اثر DC و HC بر روی شکست سد خونی مغزی. داده‌ها به صورت \pm Mean SEM بیان شده است. $p < 0.01$ * در مقایسه با گروه کنترل $p < 0.01$ ** در مقایسه با گروه کنترل $N = 8$.

درجه حرارت عضله تمپورال مقابل

در گروه HC درجه حرارت مغز در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است ($p < 0.001$). کاهش دما در گروه HC در مقایسه با گروه DC به طور معنی داری بیش تر بود ($p < 0.01$) (نمودار شماره ۶).

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 میوکاردا، 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 $MgSO_4$ دو و چهار ساعت بعد از انسداد دایم شریان مغزی میانی است، اما هیچ اثر درمانی قابل توجهی شش ساعت بعد و یا در گروه‌هایی که هیپوترمی و $MgSO_4$ به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفته‌اند، مشاهده نشد (۳۵). مطالعه دیگری نشان داد که ترکیبی از سائینکولین با هیپوترمی در سرکوب فرآیندهای های آپوپتوتیک مؤثرتر از استفاده از هر یک از آن‌ها 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 در ترکیب 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

بیش تری 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 آزمون‌های نوار چسب و یا سیم آویزان نشان داد که فقط ترکیبی از کرانیکتومی و هیپوترمی موضعی می‌تواند 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 این که، 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 معنی دار 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 پروتئولیتیک برخی دیگر از مکانیسم‌های محافظ نورونی هیپوترمی

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 می‌یابد اما هیپوترمی مستقیم تأخیری مغز از طریق باز کردن پوست سر اثر محافظ نوروئی بیشتری در درمان سکنه 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 نوروئی هیپوترمی مورد نیاز است.

از کرانیکتومی و سالیین سرد به شش ساعت افزایش یافتن. 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 سانتی‌گراد کاهش یافت در حالی که دمای بدن با استفاده از پد گرم‌کننده در محدوده نرمال (۳۷-۳۶/۵ درجه سانتی‌گراد) 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

References

- 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.
- 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.
- 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.
- Hatamabadi HMH, Asarzagdegan F, Shojae M. Barriers to On Time Delivery of Thrombolytic Therapy. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 23(102): 19-22.
- 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.
- 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.
- Colbourne F, Sutherland G, Corbett D. Posts ischemic hypothermia. A critical appraisal with implications for clinical treatment. *Mol Neurobiol* 1997; 14(3): 171-201.
- 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.
- 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.
- Karibe H, Zarow GJ, Graham SH, Weinstein

- PR. 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* 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.

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.