

METABOLİK DURUMUN GLOBAL İSKEMİ VE REPERFÜZYONDA BEYİN HASARINA ETKİSİ

THE EFFECT OF METABOLIC CONDITION ON THE BRAIN DAMAGE RELATED TO GLOBAL ISCHEMIA AND REPERFUSION

¹İbrahim TUĞLU

²Kamil VURAL

³Eniz CEZAYIRLI

³Tuncay VAROL

¹Kemal ÖZBİLGİN

¹Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Manisa, TÜRKİYE

²Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Manisa, TÜRKİYE

³Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Manisa, TÜRKİYE

Anahtar Sözcükler: serklaj, servikal yetmezlik, infertilite

Key Words: cerclage, cervical incompetency, infertility

ÖZET

Amaç : Kısa süreli iskemik ön tanıtımın, global iskemik hasardan beyini koruyucu etki gösterdiğine inanılmaktadır. Ancak, metabolik etkinin hasardaki rolü bilinmemektedir. Bu çalışmada, global iskemi sonrası nörolojik, metabolik ve histolojik parametrelerde görülen değişiklikler incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem : Üç aylık erişkin sıçanlarda iki taraflı karotis arter oklüzyonu ve hipovolemi oluşturma yöntemi (40) ile 5 dakikalık iskemik tanıtımı takiben 48 saat sonra 10 dakikalık iskemi oluşturuldu. Deney hayvanlarının davranışları nörolojik yönden incelendi; alınan beyinler 2,3,5-trifeniltetrazolium klorid (TTC) ile boyandı; kan gazı analizleri yapıldı; histolojik kesitler ışık mikroskobu ile incelendi.

Bulgular : Ataksi ve koma benzeri nörolojik bulgular ile beyin koronal kesitlerinde TTC boyamasında iskeminin şiddetinden bağımsız, heterojen dağılmış, soluk beyaz görünen infarkt alanları saptandı. Mikroskopik kesitlerde; hücre nekrozu, ödem gibi ciddi patolojik bulgular saptandı.

Sonuç : Çalışmamızda öntanıtım grubu ile global iskemi grubu arasında görülen benzerlik, standardize edilemeyen metabolik durum nedeni ile ön tanıtımın nöron hasarı üzerindeki koruyucu etkisinin tartışmalı olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, hücre düzeyinde oluşan iskeminin metabolik durumla ilgisini daha iyi daha iyi açıklayabilmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

SUMMARY

It is thought that ischemic preconditioning prevent the brain tissue from global ischemic damage. Hower the role of metabolic effect in the ischemic process has not yet clear. In this study, we produced global ischemia in the brain of the rats, than examined the neurological, metabolic and histological changes. In 3 months old rats, by the methods of bilateral carotid artery occlusion and hypovolemia, 48 hours after 5 minutes ischemic preconditioning following 10 min ischemia was produced. Neurological changes and arterial blood gas analysis were examined. Brain tissues of animals were stained with 2, 3, 5-triphenyletetrazolium chloride (TTC) and examined under light microscope. Rats showed ataxia and coma like symptoms. We observed the heterogeneously disseminated infarct areas, cell necrosis and edema which were independent from severity of ischemia. In our study we speculated that preventive effect of ischemic preconditioning in the damage of neuronal tissue is debate due to environmental factors. Similarity between preconditioning and ischemia groups and non-standardizations of metabolic conditions may effect these results. Future studies are required to explain metabolic effects on ischemic brain damage.

Yazışma adresi: İbrahim TUĞLU, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi

Histoloji Embriyoloji ABD, Manisa, TÜRKİYE

Makalenin geliş tarihi :24.12.2003 ; kabul tarihi :12.02.2004

GİRİŞ

İskemik beyin hastalıkları ölümle sonuçlanabilen önemli sorunlardır. Nöronal yapılar bu tür iskemiyeye değişik tepkiler vermektedir. Özellikle beynin kısa süreli ve orta şiddette bir iske mi ile tanışmasından sonra gelen uzun süreli iskemiyeye nöronların direnç kazandıkları ve tolerans geliştirdikleri düşünülmektedir. Kan akımının azalması ile başlayan ve iske mi sonrası ortaya çıkan bir çok faktör bu mekanizmada yer almakta ve bunlar sadece beyinde değil birçok organda oluşmaktadır (1, 6). Hipoksi, hipertermik stres ve toksik ajanlar ile karşılaşma da, sublethal düzeyde bu tür faktörleri tetikleyebilmekte ve iskemik hasarı arttırmaktadır. Deney hayvanlarında saptanan bu etkilerin geçici iskemik atak geçiren hastalarda da görülmesi bu mekanizmanın önemini vurgulamaktadır (2, 24, 32).

Hippokampusun CA1 bölgesindeki piramidal nöronlar ve serebellumun Purkinje hücrelerinin geçici global serebral iskemik atağa özellikle duyarlı olduğu gösterilmiştir. Hipovolemiye bağlı değişen metabolik şartların ve etkiyi tespit etmek için kullanılan histolojik ve morfolojik yöntemlerin, bu mekanizmayı etkilediği bilinmektedir. Hücreler iske mi karşısında ya nekroz ya da geciken hücre ölümünde olduğu gibi apoptosis yolu ile ölebilirler (5, 36). İskemik alanda mononükleer hücre infiltrasyonu, reaktif astrositler, yaygın şekilde saptanmış makrofaj topluluğu, infiltrasyon alanlarında ödem, hücre membranında bozulma, gliosis, nükleusta degradasyon ya da kondansasyon gibi hücre ölümüne işaret edebilecek bulgulara rastlanır. Piknozis ya da karyoreksis gibi apoptotik hücre ölümünü gösterir işaretlere, hematoksilen-eozin boyamalarında nöronlardaki stoplazmik kırmızılığa rastlanır. Nekroz belirtisi olan hücre sitoplazmasının dokudan ayrıldığı küçük boşluklar hücre kenarında görülür (35). İske mi oluşmasını izleyen nöron ölümü ilk 4-5 saatte başlamasına karşın bu süreç bölge beslenmesine bağlı olarak 4-5 güne kadar uzayan bir dönem kapsar. Bu nedenle iske mi-reperfüzyon ilişkisinin değerlendirilmesinde bu faktörlerin göz önüne alınması gerekir. Akut dönemde nöronlarda görülen ultrastrüktürel bulgular, heterokromatin yoğunlaşması, endoplazmik retikulum sisternalarında dilatasyon, mitokondriyal iç matrikste şişme olup, genellikle reperfüzyon sonrası geri dönen bulgulardır (36, 37).

Yapılan çalışmalarda, iske minin şiddetinden bağımsız sonuçlar alınmasının bir nedeni de, metabolizmanın oluşturduğu değişikliklerden kaynaklanmaktadır (7, 33, 34). Ortalama arteriyel basıncın yarıya düşürülmesi ile, kan gazı sonuçlarında pH düşmekte ve nöral densite azalmaktadır (18, 35). Mekanik ventilasyonun sağlandığı, % 30-40 oksijen desteğinin verildiği ve halotan anestezisi altında yapılan torakotomi uygulamalarında bile metabolik durumun değiştiği ve sonuçları etkilediği saptanmıştır (33, 39). Femoral kateter yöntemi ile oluşturulan hipovolemide 15 dakikalık bekleme sonunda reperfüzyon sonrası pH, pO₂ ve pCO₂ lerin normal düzeylerine döndükleri belirtilmiştir (17, 38, 40, 41). Bu faktörlerin dışında, hemodilüsyon da

kan viskozitesinin azalması, reperfüzyonda etkinliğinin artması ve oksijenasyonun daha iyi sağlanması nedeniyle önemlidir. Özellikle hipotermi ile birleştirildiğinde beyin hasarının azalmasında oldukça etkin koruma sağlamaktadır (7, 12, 21). pCO₂ artımına bağlı olarak ortaya çıkan damar düz kaslarında ve beyin arterlerinde oluşan değişiklikler; nitrik oksit ve serbest oksijen radikalleri üzerinden birçok mekanizmayı tetiklemesine bağlı olarak beyin iske mi ve hasarını aynı zamanda ön tanı tım ve reperfüzyonla gelen korumayı etkileyebilmekte ve metabolik duruma bağlı lokal etkilerin önemini göstermektedir (3, 8, 32).

Burada kullanılan mekanizmaların aydınlatılması, bu konu ile ilgili alınan sonuçların yorumlanmasında ve özellikle ön tanı tım ile tedavinin yönlendirilmesinde önemli rol oynayacaktır. Bu çalışmada amaçlanan, oldukça kompleks, birçok mekanizmanın birlikte çalıştığı, beyinde oluşturulan global iske mi sürecine, metabolik değişikliklerin etkisini araştırmaktır.

YÖNTEM

Bu çalışmada erişkin erkek Wistar sıçanlar (270-300 g) kullanıldı. Kontrol (n=5) ve deney grubu (n=10) olarak hayvanlar iki gruba ayrıldı. Hayvanlar standart yem ve su ile beslendi. Deney hayvanlarına ketamin (90 mg/kg, Ketalar®, Parke Davis) + ksilazin (8 mg/kg, Alfazin®, Alfasan International B. V.) uygulanarak anestezi sağlandı. Hayvanın boyun bölgesi açıldı ve karotis arterleri diseke edilip askıya alındı. Anestezi altındaki hayvanlardan hem hipovolemi oluşturmak, hem de kan gazı analizi yapmak üzere 10 ml/kg olacak şekilde intrakardiyak kan alındı. Bunu takiben, ön tanı tım grubu için her iki karotis arteri anevrizma klempleri ile 5 dakika süreyle kapatıldı ve sürenin sonunda açıldı. İske mi grubu için ise ön tanı tımdan 48 saat sonra anestezi altında ve hipovolemi oluşturularak karotis arterler 10 dakika süreyle kapatılıp açılarak iske mi oluşturuldu. Kontrol grubuna sadece cerrahi işlem uygulandı ve intrakardiyak girilip, çıkıldı (19, 21, 27, 40, 43).

İntrakardiyak yoldan heparinize tüplere alınan kanların kan gazı analizi (Arterial Blood Gas Laboratory Radiometer Copenhagen 615) yapıldı. Tüm deney gruplarındaki hayvanların vücut ısısı 37 °C de tutulmaya çalışıldı (20). Ön tanı tım ve iske mi gruplarındaki hayvanların, 48 saat sonra nörolojik bakıları yapıldıktan sonra, anestezi altında intrakardiyak perfüzyonla, önce +4 °C deki fosfat tamponlu tuz (PBS, pH 7.4) verildi ve sonra % 10 formaldehid ile fikse edildi. Kontrol grubu hayvanlara da aynı süreç uygulandı. Beyin dokusu dikkatlice çıkarılarak, en az 24 saat % 10 formaldehidde tutuldu, parafine gömülerek kraniyelden kaudale doğru 10 µm kesitleri alındı. Dokular ışık mikroskopu ile incelenerek, görüntüler dijital video kamera aracılığı ile bilgisayar ortamına alındı (21).

İnfarkt alanlarını belirlemek için, her grup için iki hayvanın beyni kardiyak perfüzyon yapılmadan alınıp, hızlı bir şekilde 2 mm lik kesitlere bölünerek 20 dakika süre ile 37 C de 1 % lik 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride (TTC) solüsyonuna alındı. Normal beyin dokusu kırmızı boyanırken iskemik dokular soluk pembe ya da kirli beyaz renkte görülüp boyama göstermedi. Bu kesitler disseksiyon mikroskopu ve dijital kamera aracılığı ile bilgisayar ortamına alındı ve fotoğraflandı. İnfarkt, iki boyutlu ortamda kesitler üzerinde boyanmayan alanların tüm alana oranı şeklinde saptandı (4, 30).

BULGULAR

Ön tanıtm amacıyla yapılan 5 dk lık iskemi sonrası, 48 saat sonra uygulanan 10 dk lık iskemi sonrası ile karşılaştırıldığında daha az olmasına karşın, her iki aşamada ciddi şekilde metabolik ve nörolojik bozukluklar gösterdiler. Çok az deney hayvanı hem ön tanıtm, hem de iskemi sonrası 48 saat yaşayabildi (n=4). İskemi oluşturulması sonrasında ön tanıtm ve iskemi yapılan hayvanlarda ciddi nörolojik

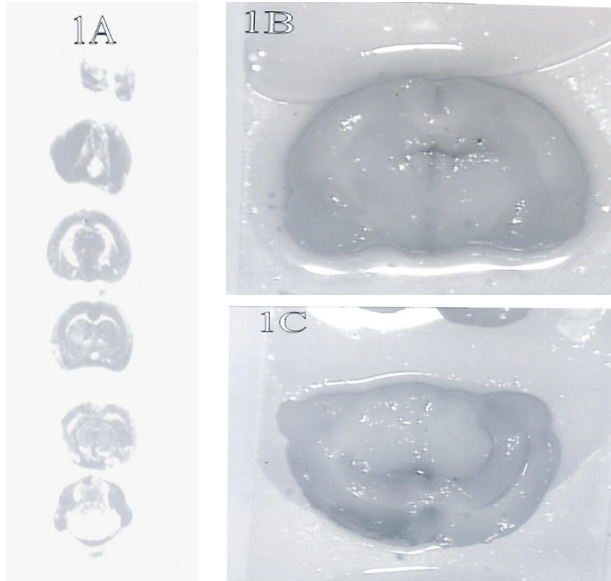
Tablo 1. İskemik tanıtm, iskemi ve ölüm öncesi alınan arteriyel kan gazı analizi.

	pH	pCO ₂	pO ₂	HCO ₃ act	HCO ₃ std	BE (ecf)	BE (B)	ct CO ₂	% O ₂ SAT
Tanıtm öncesi	7.43 ±0.04	37.5 ±4.8	58.3 ±11.7	24.4 ±1.9	24.7 ±3.1	2.50 ±0.14	2.60 ±0.6	25.6 ±1.9	90.8 ±2.7
İskemi öncesi	7.34 ±0.05	58.6 ±6.0	34.7 ±6.5	45.9 ±31.3	26.3 ±3.4	5.48 ±4.05	4.08 ±2.8	31.5 ±3.9	63.4 ±8.9
İskemi sonrası	7.32 ±0.06	45.2 ±8.9	26.4 ±4.6	27.7 ±5.1	23.4 ±4.7	3.47 ±1.32	2.07 ±0.9	29.1 ±5.5	51.1 ±2.9

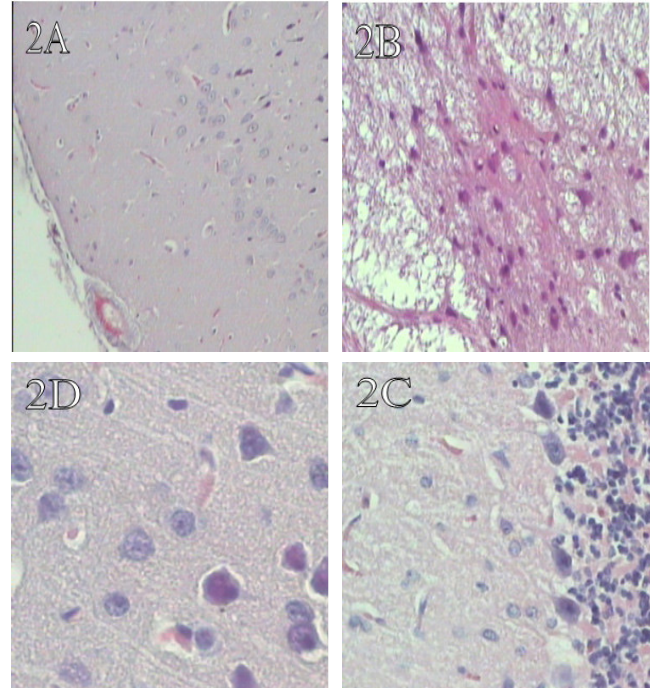
ve solunum problemleri oluşup, koma ile sonuçlanabilen genel durum bozukluğu saptandı. Çoğu hayvanın ölmesi nedeniyle (6 hayvan), nörolojik skorlama, reperfüzyonun değerlendirilmesi ve iskemik ön tanıtm ile ilişkilendirilmesi mümkün olmadı. Ancak bu şartlar altında 5dk lık iskeminin beyinde hasar oluşturulması açısından yeterli olduğu saptandı.

Hayvanların vücut ısılarında anlamlı bir farklılık görülmezken (37.1 oC ± 1.2 oC), kan gazlarında önemli değişiklikler saptandı (Tablo 1). İskemik tanıtm öncesi ve sonrası alınan kan gazı sonuçlarında, pO₂, pCO₂ ve pH değerlerinde, iskemi yapılmadan önce, metabolizmanın intrakardiyak girişime bağlı olarak bozulduğu ve iskemi sonrasında bu bozukluğun daha da ilerlediği saptandı. Nörolojik bozuklukla uyumlu olan bu gözlem ve tanıtm sonrası ölen hayvan sayısı intrakardiyak kan alımının ciddi metabolik bozukluk oluşturduğunu ve yapılan iskemiye oldukça etkilendiğini gösterdi.

TTC boyaması yapılan kesitlerde genellikle orta hatta yerleşmiş, boya almayan, soluk renkte görülen infarkt alanları gözlemlendi (Resim 1 A).



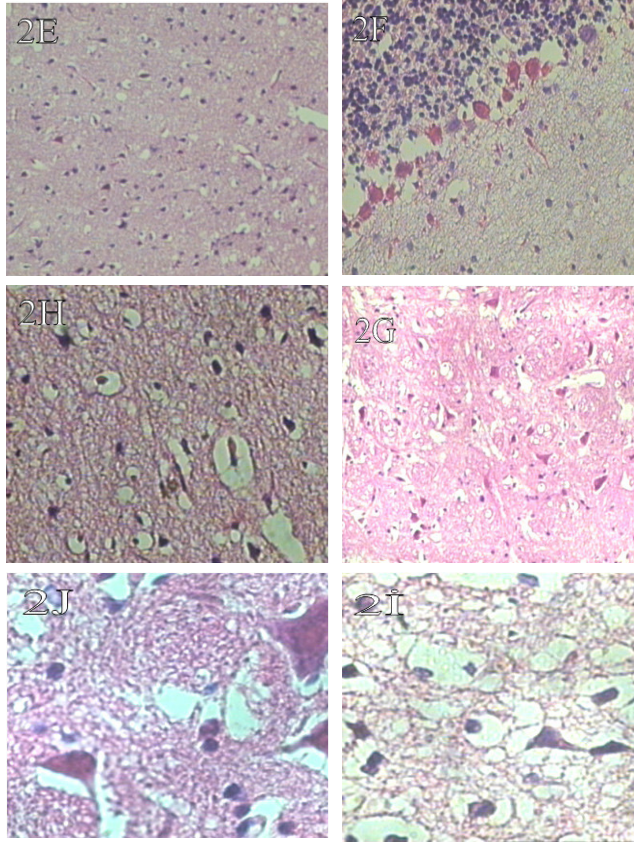
Resim 1A. Beyin kalın kesitlerinde 2,3,5-triphenyltetrazolium chlorid TTC boyaması ile heterojen dağılımlı, soluk gözükten ve boya almayan infarkt alanları (A, B, C)



Resim 2A. H-E boyaması ile beynin değişik bölgelerinde alınmış kesitlerde kontrol (A, B, C, D), iskemi öncesi (E, F, G) ve sonrasında (H, I, J), piknotik nükleus, eosinofili, hücre şişmesi, kavitasyon ve nekroz.

Alanlar asimetrik yerleşmiş, lateralize, değişik büyüklüklerde yerleşim gösterdiler (Resim 1 B, C). İskemi yapılan ve intrakardiyak kan alımı sonrasında nörolojik gözlemlerde takip edilen deneklerden, ölenlerin alınan beyinlerinde, boyama gösteren kesitlerde, infarkt alanlarının tüm alana oranının % 55 ± 17 olduğu saptandı. Ancak denek sayısının azlığı ve ölüm oranının yüksekliği nedeniyle tanıtım ile ilişkilendirilmesi yapılamadı.

Histolojik kesitlerde beyin değişik bölgelerinde, TTC boyamasından bağımsız bir şekilde hasarlanmış, ödemli, sitoplazmik büzülme ve eosinofili gösteren, piknotik, apoptotik ya da tamamen nekroze olmuş, kavite göstermiş, sayıca azalmış, nöron kaybının belirgin olduğu görüntüler saptandı (Resim 2).



Resim 2B. H-E boyaması ile beyin değişik bölgelerinde alınmış kesitlerde kontrol (A, B, C, D), iskemik öncesi (E, F, G) ve sonrasında (H, I, J), piknotik nükleus, eosinofili, hücre şişmesi, kavitasyon ve nekroz.

Hiçbir uygulama yapılmamış normal hayvanların değişik beyin bölgeleri ile karşılaştırıldığında (Resim 2 A, B, C, D), hem iskemik öncesinde (Resim 2 E, F, G) hem de iskemik sonrasında (Resim 2 H, I, J) beklenen histolojik kriterlerin tümü görüldü. Histopatolojik bulguların TTC boyamasında görülen infarkt alanlarından bağımsız olması ve alanların heterojen şekilde asimetrik dağılması dikkat çeken bulgular oldu.

TARTIŞMA

Çalışmamızda iskemik ön tanıtım yapılmış sıçanlarda 48 saat sonra global iskemik oluşturulmuş ve iskemiye takiben 48 saat içinde görülen değişiklikler hem morfolojik hem de histolojik yönden incelenmiş ve alınan sonuçların metabolik ve nörolojik durumla ilişkisi değerlendirilmeye çalışılmıştır.

İskemik reperfüzyon çalışmalarında 3, 5 ve 10 dk lık süreler kullanılmakta olup, 3 dk iskemik tanıtım, 5 ve 10 dk ların ise iskemik için yeterli olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (13, 14, 18). Alınan sonuçlar süre dışındaki etkenlere fazlaca bağlı bulunduğundan dolayı biz çalışmamızda güvenli ve etkin olması nedeni ile 5 ve 10 dk lık süreleri seçtik.

Literatürdeki çalışmalara uyumlu olarak, hipovolemiye ve yapılan girişime bağlı olarak hayvanların çoğunluğu (%60), ya metabolik bozukluktan ya da nörolojik problemlere bağlı olarak öldü. Benzer çalışmalarda da belirtildiği gibi, iskemik tanıtım ve reperfüzyonu değerli kılan, yaşayan hayvan miktarı olup çalışmaların yorumunu oldukça etkilemektedir. Hemorajik şok, kardiyak resüsitasyon ve kardiyopulmoner bypass gibi durumlara benzemesi ve kliniği daha çok taklit etmesi nedeni ile tercih ettiğimiz global iskemide (20), damarlarda oluşan hasar, hipovoleminin etkinliği, moleküler düzeyde gerçekleşip birbirini etkileyen mekanizmalar ve benzeri birçok durum deneylerin optimizasyonunu zorlaştırmakta ve bunun üzerine eklenen metabolik bozukluk standardizasyonu daha da güçleştirmektedir (27, 28, 29, 30, 42).

TTC boyaması ile bizim uyguladığımız teknikte, heterojen dağılım gösteren, iskeminin şiddetinden bağımsız soluk boyanan infarkt alanları, asimetrik yerleşim gösterdiler. Bu boyama yöntemi diğer çalışmalarda da sorun olarak karşılaşılmaması ve tekniğin etkinliğinin tartışılır olmasına karşın iskemik hakkında fikir vermesi açısından anlamlıdır (4). Az sayıdaki araştırmalarda TTC boyaması ile H-E boyaması arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (4). Ancak, özellikle histolojik kesitlerde görülen boyanmış alanlardaki iskemik hasar, bu tekniğin iyi uygulandığında bile, çok doyurucu sonuçlar veremeyeceğini de göstermektedir (10). Morfometrik çalışmalarda TTC boyama tekniğinin sorunları dikkate alınmalı ve iskemik olduğu düşünülen alanların histolojik kesitlerinde normal hücre morfolojisinin olduğu akıldan tutulmalıdır. Özellikle pozitif olarak boyanan dokular da sağlıklı olmayabilirler, birkaç saat ya da gün sonra canlılıklarını yitirebilirler. Ayrıca bu tekniğin iskemiden 24 saat sonraki aşamada infarkt alanları için daha etkin olduğu belirtilmiştir (10). Alınan kesitlerin öncesi ve sonrasında durumun bilinmemesi nedeni ile stereolojik yöntem kullanılmalı ancak bunu da hata oranının yüksek olduğu bilinmelidir. Çalışmamızda TTC boyama tekniği ile yapılan morfometrik değerlendirmede, TTC boyamasının iskemik ile anlamlı ancak şiddeti ile bağımsız sonuçlar verdiği görülmektedir. Hem TTC boyaması, hem de histolojik değer-

lendirmelerin nörolojik tablo ile ilişkisi için de, cerrahi sonrası video kamera izlemesi daha etkin yorumların yapılmasına yardımcı olacaktır (26).

İskemik hasar sonucu nöronların şişme reaksiyonu göstermeleri, sitoplazmik büzülme ve eosinofili, apoptotik hal almaları, veya tamamen nekroze olmaları, sadece nekroze olmayıp ortadan kalkarak sayıca azalmaları, görülen histolojik bulgulardandır. İskemik alanlarda bu belirtiler ortadan başlayıp çevreye yayılan ve azdan çoğa doğru ilerleyen bir süreç izlerler (26). Ultrastrüktürel olarak heterokromatin yoğunlaşması, endoplazmik retikulum sisternalarında dilatasyon ve mitokondrial iç matrikste belirgin şişme saptanan bulgular olup, genellikle geri dönebilir. Geri dönmeyen geciken iskemik hasarın belirtileri ise plazma ve çekirdek zarında bozulma, piknosis ve eosinofildir. Bu belirtiler bizim çalışmamızda da saptanmış ve femoral arterden kan alma yöntemi ile hipovolemi oluşturulan çalışmalarla karşılaştırıldığında iskemik hasarın oldukça etkinleştiği bulunmuştur (9, 20).

Global iske mi sonrasında özellikle hippokampus ve serebellar kortekste grup halinde nöronların selektif bir biçimde zarar gördüğü saptanmıştır. Burada kırmızı nöronlar, yani eosinofili şeklinde ortaya çıkan zarar görmüş nöronların saatler süren bir gecikme ile öldükleri saptanmıştır (8, 31). Global iskemide karotis arterlerinin suladığı alanlarda birbirlerinden değişik şiddetlerde etki görülmüş ve kaviteyonlu tam nekroz olmuş alanlarla, onların yanında seçilmiş nekrotik hücreler bulunmuştur (6). Bulgularımız içinde yer aldığı üzere, serebellumda purkinje hücrelerinin büyük çoğunluğu kırmızı nöron tanımlamasına uyan değişiklik gösterirken, aralarda bazı purkinje hücrelerinin normal yapıda oldukları gözlenerek, bu saptamanın seçilmiş nekrotik hücre olgusu ile ilgili olduğu düşünüldü. Bu geçiş bölgelerinde, lokal doku atrofisinin olduğu alanlarda yaşayan astrosit ve nöronların varlığı, beyin dokusu iskeletini koruması nedeni ile kaviteyona izin vermez (22, 23, 38). Histolojik kesitlerde infarkt alanlarının heterojen dağılımı ve histopatolojik bulguların bundan bağımsızlığı bu şekilde açıklanabilir. Ayrıca, iskemik hasarda moleküler düzeyde ortaya çıkan matriks-adhezyon molekülleri, büyüme faktörleri ve interlökinler gibi lokal faktörlerin değişikliği de göz önüne alınmalıdır (15, 16).

Bu lokal faktörler inflamasyon sürecinde önemli rol oynarlar. Bu süreçte lökositlerin mikrodamarlara 30 dk içinde göç ettiği ve belki de iskemiyi önlemek amaçlı oldukları düşünülmüştür. Son zamanlarda bu etkinin geciken bir

yönünün olduğu ve dokuda oluşan atıkları temizlemeye çalıştığı da saptanmıştır. Lökositlerin damar duvarında endotel hücreleriyle etkileşimleri adezyon molekülleri, vazokonstriktif mediyatörler, sitotoksik enzimler ve serbest oksijen radikalleri aracılığı ile etkileşimler, bazal membran ve kan beyin bariyerinin bozulmasına ve post iskemik ödem oluşmasına neden olmaktadır (9). Burada oldukça önemli bir etken de reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan ve iske mi sonrası kanlanmada bahsedilen faktörlerin devreye girdiği ve zarar verdiği mekanizmadır. Bu mekanizmada hasarı belirleyen ana etkenler, ödem oluşumunun artması ve kanamanın şiddetlenmesidir. Hücreler arasındaki adezyon proteinleri ve sinyal mekanizmalarının etkilendiği durumlarda standardizasyon daha da güçleşmekte ve sonuçların yorumlanması zorlaşmaktadır (11, 34).

İskeminin şiddetinden bağımsız olarak sadece anestezi etkisi ile bile arteriyel pH'nın düştüğü bilinmektedir (25, 42). Genellikle iske mi uygulamasına bağlı olarak değişen 7.12 ile 7.31 arasında pH değerleri, bizim çalışmamızda 7.30 civarında saptanmıştır. Beynin fonksiyonları kan akımına, kan volümüne, kapiller densiteye, iyon transportuna, oksijenlenmeye, enerji metabolizmasına ve intrasellüler pH ya bağlıdır. Sadece kan akımının azalması ile bozulan bu faktörlerin getirdiği iske mi, hayvan modellerinde çalışılarak mekanizmalarının anlaşılması amaçlanmaktadır. Burada metabolik durumdaki bozukluğun bu mekanizmalara ve iske mi üzerine etkileri tam olarak açıklanamamıştır. Ancak yapılan çalışmalarda iskemiden etkilenen alanların farklılığı ve şiddetinin sınırlarının değişikliği birçok değişik faktörün bu mekanizmada yer aldığını göstermektedir (1, 8).

Bu çalışmada, metabolik durumun beyin hasarına olan etkisini göstermek için intrakardiyak yol ile kan alınmış ve elde edilen biyokimyasal ve histolojik sonuçlar ile oluşan değişikliklerin metabolik durumdan doğrudan etkilendiği düşünülmüştür. Bu nedenle ön tanıtımın varlığı ve etkinliğinin, deney hayvanı modellerinde histolojik ve morfolometrik yöntemlerle gösterilebilmesinde sonuçları değiştirecek her tür olasılık değerlendirilmek zorundadır. Ön tanıtım iskeminin getirdiği ciddi problemleri önlemeye yönelik oldukça umut verici ve tedavi etkililiğini artıracak bir mekanizmalar zinciri olması nedeni ile, bu kompleks yapıyı etkileyecek faktörler dikkatlice incelenmeli, sonuçların yorumunda göz önüne alınmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Agardh CD, Kalimo H, Olsson Y, Siesjo BK. Hypoglycemic brain injury. I. Metabolic and light microscopic findings in rat cerebral cortex during profound insulin-induced hypoglycemia and in the recovery period following glucose administration. *Acta Neuropathol* 50(1): 31-41, 1980.
2. Barone FC, White RF, Spera PA, Ellison J, Currie RW, Wang X, Feuerstein GZ. Ischemic preconditioning and brain tolerance: temporal histological and functional outcomes, protein synthesis requirement, and inter-leukin-1 receptor antagonist and early gene expression. *Stroke* 29(2): 1937-1950, 1998.

3. Barzaghi F, Dragonetti M, Formento ML, Boissier JR. Cerebral energy metabolism and computerized EEG. Analysis following transient ischemia in the rat. *J Pharmacol* 13(4): 553-63, 1982.
4. 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* 17(6): 1304-8, 1986.
5. Chan PH, Kawase M, Murakami K, Chen SF, Li Y, Calagui B, Reola L, Carlson E, Epstein CJ. Overexpression of SOD1 in transgenic rats protects vulnerable neurons against ischemic damage after global cerebral ischemia and reperfusion. *J Neurosci* 18(20): 8292-8299, 1998.
6. Chen J, Simon R. Ischemic tolerance in the brain. *Neurology* 48: 306-311, 1997.
7. Corbett D, Nurse S. The problem of assessing effective neuroprotection in experimental cerebral ischemia. *Prog Neurobiol* 54(5): 531-548, 1998.
8. DeBow S, Colbourne F. Brain temperature measurement and regulation in awake and freely moving rodents. *Methods* 30(2):167-71, 2003.
9. Del Zoppo GJ, Mabuchi T. Cerebral microvessel responses to focal ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 23(8): 879-94, 2003.
10. Downey JM. Measuring infarct size by the tetrazolium method. www.southalabama.edu/is/hr/help/ttc/
11. Garcia JH, Liu K-F, Ho K-L. Neuronal necrosis after middle cerebral artery occlusion in Wistar rats progresses at different time intervals in the caudoputamen and the cortex. *Stroke* 26(4): 636-643, 1995.
12. Garcia JH. The evolution of brain infarcts: a review. *J Neuropathol Exp Neurol* 51(4): 387-393, 1992.
13. Gursoy-Ozdemir Y, Bolay H, Saribas O, Dalkara T. Role of endothelial nitric oxide generation and peroxynitrite formation in reperfusion injury after focal cerebral ischemia. *Stroke* 31(8): 1974-1980, 2000.
14. Hall E, Oostveen J, Dunn E, Carter D. Increased amyloid protein precursor and apolipoprotein E immunoreactivity in the selectively vulnerable hippocampus following transient forebrain ischemia in gerbils. *Exp Neurol* 135(1): 17-27, 1995.
15. Hamann GF, Okada Y, Fritridge R, del Zoppo GJ. Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 26(11): 2120-2126, 1995.
16. Hara A, Yoshimi N, Hirose Y, Ino N, Tanaka H, Mori H. DNA fragmentation in granular cells of human cerebellum following global ischaemia. *Brain Res* 697(1): 247-250, 1995.
17. Helsh JP, Yuen G, Placantonakis DG, Vu TQ, Haiss F, O'Hearn E, Molliver ME, Aicher SA. Why do Purkinje cells die so easily after global brain ischemia? Aldolase C, EAAT4, and the cerebellar contribution to posthypoxic myoclonus. *Adv Neurol* 89: 331-59, 2002.
18. Horstick G, Berg O, Heimann A, Darius H, Lehr HA, Bhakdi S, Kempfski O, Meyer J. Surgical procedure affects physiological parameters in rat myocardial ischemia: need for mechanical ventilation. *Am J Physiol* 276 (2 Pt 2): 472-479, 1999.
19. Hossmann KA. Experimental principles of tolerance of the brain to ischemia, *Z Kardiol* 76: 47-66, 1987.
20. Johansson BB. Environmental influence on recovery after brain lesions-experimental and clinical data. *J Rehabil Med* (41 Suppl):11-16, 2003.
21. Karibe H, Zarow GJ, Graham SH, Weinstein PR. Mild intransischemic hypothermia reduces postischemic hyperperfusion, delayed postischemic hypoperfusion, blood-brain barrier disruption, brain edema, and neuronal damage volume after temporary focal cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 14(4): 620-627, 1994.
22. Kato H, Wood PL. Biochemical and molecular characteristics of the brain with developing cerebral infarction. *Cell Mol Neurobiol* 19(1): 93-108, 1999.
23. Kato H, Liu Y, Araki T, Kogure K. Temporal profile of the effects of pretreatment with brief cerebral ischemia on the neuronal damage following secondary ischemic insult in the gerbil: cumulative damage and protective effects. *Brain Res* 553(2): 238-242, 1991.
24. Kawai N, Okauchi M, Morisaki K, Nagao S. Effects of delayed intransischemic and postischemic hypothermia on a focal model of transient cerebral ischemia in rats. *Stroke* 31(8): 1982-1989, 2000.
25. Kida E, Pluta R, Lossinsky A, Golabek A, Choi-Miura N-H, Wisniewski H, Mossakowski M. Complete cerebral ischemia with short-term survival in rat induced by cardiac arrest, II: extracellular and intracellular accumulation of apolipoproteins E and J in the brain. *Brain Res* 674(2): 341-346, 1995.
26. Lin TN, He YY, Wu G, Khan M, Hsu CY. Effect of brain edema on infarct volume in a focal cerebral ischemia model in rats. *Stroke* 24(1):117-121, 1993
27. Liu Y, Song XD, Liu W, Zhang TY, Zuo J. Glucose deprivation induces mitochondrial dysfunction and oxidative stress in PC12 cell line. *J Cell Mol Med* 7(1): 49-56, 2003.

28. Mabe H, Nagai H, Takagi T, Umemura S, Ohno M. Effect of nimodipine on cerebral functional and metabolic recovery following ischemia in the rat brain. *Stroke* 17(3):501-505, 1986.
29. Macko RF, Ameriso SF, Barndt R, Clough W, Weiner JM, Fisher M. Precipitants of brain infarction: roles of preceding infection/inflammation and recent psychological stress. *Stroke* 27(4): 1999–2004, 1996.
30. Maier CM, Ahern KV, Cheng ML, Lee JE, Yenari MA, Steinberg GK. Optimal depth and duration of mild hypothermia in a focal model of transient cerebral ischemia: effects on neurologic outcome, infarct size, apoptosis, and inflammation. *Stroke* 29(10): 2171-2180, 1998.
31. Memezawa H, Smith ML, Siesjö BK: Penumbra tissues salvaged by reperfusion following middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke* 23(4):552-559, 1992
32. Moncayo J, de Freitas GR, Bogousslavsky J, Altieri M, van Melle G. Do transient ischemic attacks have a neuroprotective effect? *Neurology* 54(11): 2089-94, 2000.
33. Muller M, Ballanyi K. Dynamic recording of cell death in the in vitro dorsal vagal nucleus of rats in response to metabolic arrest. *J Neurophysiol* 89(1):551-61, 2003.
34. Murakami K, Kondo T, Kawase M, Chan PH. The development of a new mouse model of global ischemia: focus on the relationships between ischemia duration, anesthesia, cerebral vasculature, and neuronal injury following global ischemia in mice. *Brain Res* 780(2): 304–310, 1998.
35. Nakase H, Heimann A, Uranishi R, Riepe MW, Kempinski O. Early-onset tolerance in rat global cerebral ischemia induced by a mitochondrial inhibitor. *Neurosci Lett* 290(2): 105-108, 2000.
36. Nitatori T, Sato N, Waguri S, Karasawa Y, Araki H, Shibana K, Kominami E, Uchiyama Y. Delayed neuronal death in the CA1 pyramidal cell layer of the gerbil hippocampus following transient ischemia is apoptosis. *J Neurosci* 15(2): 1001-101, 1995.
37. Pejic L, Isaac L, de la Torre JC, Pappas BA. Apoptotic cells in the CA1 subfield of the hippocampus after permanent bilateral common carotid artery ligation in the rat (BCO). *Soc Neurosci* 23(2): 2176, 1997.
38. Perez-Pinzon MA, Xu GP, Dietrich WD, Rosenthal M, Sick TJ. Rapid preconditioning protects rats against ischemic neuronal damage after 3 but not 7 days of reperfusion following global cerebral ischemia. *J Cereb BloodFlow Metab* 17(1):175-182, 1997.
39. Sheng H, Laskowitz DT, Pearlstein RD, Warner DS: Characterization of a recovery global cerebral ischemia model in the mouse. *J Neurosci Methods* 88(1): 103-9, 1999.
40. Smith ML, Auer RN, Siesjo BK. The density and distribution of ischemic brain injury in the rat following 2-10min of forebrain ischemia. *Acta Neuropathol* 64(4): 319-332, 1984.
41. Smith ML, Bendek G, Dahlgren N, Rosen I, Wieloch T, Siesjo BK. Models for studying long-term recovery following forebrain ischemia in the rat, II: a 2-vessel occlusion model. *Acta Neurol Scand* 69(6): 385-401, 1984.
42. Sugawara T, Kawase M, Lewen A, Noshita N, Gasche Y, Fujimura M, Chan PH. Effect of hypotension severity on hippocampal CA1 neurons in a rat global ischemia model. *Brain Res* 877 (2): 281-287, 2000.
43. Takizawa S, Hakim A. Animal models of cerebral ischaemia, II: rat models. *Cerebrovasc Dis* 1(suppl 1):16-21, 1991.