

Ratlarda Oluşturulan Serebral İskemi Tedavisinde Hipoterminin Rolü

Role Of Hypothermic Treatment In Cerebral Ischemia Of Rats

H. ERDEM AK, S. SERAP İNALÖZ, ADEM ASLAN

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji (HEA), Histoloji ve Embriyoloji (SSİ) ve Patoloji (AA) Anabilim Dalları, Diyarbakır

Özet : Ratlarda, deneysel olarak oluşturulan geçici serebral iskemi tedavisinde hipoterminin etkisini araştırdık. Ekstrakranial olarak bilateral a.karotis interna oklüzyonu ile serebral iskemi ve infarkt oluşturuldu. Denekler üç gruba ayrıldılar. Birinci grup postiskemik dönemde normatermik olarak, ikinci grup postiskemik dönemde bir saat süreyle, üçüncü grup iki saat süre hipotermi ile tedavi edildikten sonra normal ortamda takibe alındılar. Bir hafta sonra denekler öldürüldüler. Çıkanlan serebral doku kesitlerinde histopatolojik olarak iskemik alanları değerlendirirdik.

Normotermik tedavi uygulanan deneklerde yaygın iskemi ve infarkt alanı saptanmasına karşın, bir saat süre ile hipotermik tedavi uygulanan deneklerde iskeminin az ve iki saat süre ile hipotermik tedavi uygulanan deneklerde ise serebral iskeminin histopatolojik olarak daha az olduğunu saptadık.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre beyinde deneysel olarak meydana getirilen iskeminin tedavisinde, hipoterminin rolünün önemli olduğu kanaatine vardık.

Anahtar kelimeler: Hipotermi, serebral iskemi, karotis arter, sıçan

Summary : We investigated the effect of hypothermia after transient cerebral ischemia in experimental rat model, Bilateral external carotid arteries were occluded for cerebral ischemia and infarction. Three groups of rats investigated. First group was subjected to normothermic ischemia, second group was subjected to one hour hypothermia and third group was subjected to two hours hypothermia followed by transient cerebral ischemia. All rats were killed one week after the experiment. Brain sections were examined for evaluation of ischemic areas.

Histopathologic examination revealed that infarcted areas in normothermic rats were rather large, whereas hypothermic rats had small infarct areas and two hours hypothermic rats exhibited a significantly smaller ischemic and infarcted areas.

Our data suggest that postischemic treatment with hypothermia significantly reduced ischemic cell damage.

Key words: Carotid artery, cerebral ischemia, hypothermia, rat.

GİRİŞ

Serebral metabolizma sırasında, her 10 gram serebral doku dakikada 3.2-3.8 mL oksijen ve 60 gram glikoz harcar. Her glikoz molekülü aerob koşullarda 38, anaerob koşullarda 2 adozin trifosfat oluşturur. Bu da nörotransmitter sentezinde, transport mekanizmalarında ve hücre membranındaki pompaların çalıştırılmalarında kullanılır. Serebral kan akımı yetersiz olduğunda bu oksijen ve glikoz gereksinimi karşılanamayacaktır. Oluşacak iskemik hasarın büyü-

lüğü, iskeminin şiddetine ve süresine bağlıdır. Bu sırada hipotermik tedavi uygulanmasıyla serebral dokunun oksijen ve glikoz gereksinimi en az düzeye indirilerek nöronların daha uzun süre canlı kalması sağlanmış olacaktır (12,21).

Deneysel olarak oluşturulan serebral iskemi üzerine hipoterminin olumlu etkisi birçok yazar tarafından bildirilmiştir (2,5,6). Elde edilen veriler serebral iskemide, nöronal iskeminin en az düzeye indirilmesinde hipoterminin rolü ve önemini desteklemek-

tedir. Ratlarda geçici olarak oluşturulan serebral iskemiden sonraki ilk saatlerde perfüzyonun başlatılması ile, hipotermimin serebral iskemiye büyük ölçüde azalttığı, makroskobik ve mikroskobik olarak en az düzeye indirdiği rapor edilmiştir. (6,22). Uygulanan hipotermi süresinin kısa ya da uzun olması arasındaki tedavi etkinliğinin farkı hala kesin olarak bilinmemektedir. Hipotermimin uzamasıyla diğer organ ve canlı dokular üzerine olumlu ya da olumsuz etki olmaktadır (8,12). Ekternal olarak, vücudun dışarıdan soğutulmasıyla serebral ısının kontrol edilmesi oldukça güçtür. İntravenöz verilecek ilaçlarla tüm vücut ısısının istenilen düzeye düşürülüp, sabit tutulması daha güvenilir bir yöntemdir (12). Biz çalışmamızda, geçici serebral iskemi oluşumunu takiben hipotermik tedaviye başladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Sağlık Araştırma Merkezi (DÜSAM), Nöroşirürji Anabilim Dalı Mikrosirürji Laboratuvarı, Histoloji ve Patoloji Anabilim Dallarında 1993-1994 yılları arasında gerçekleştirildi. Ağırlıkları 200-250 gram olan Wistar albino ratlardan 60 tanesi denek olarak kullanıldı. Bir gün önce akşamdan itibaren aç bırakılan ratlara, ketalar 40-50 mg/kg ve Xylazine (Rompun) 10 mgr/kg karıştırılıp intraperitoneal verilerek genel anestezi sağlandı. Ratlar ameliyat masası üzerinde sırtüstü yatırıldı; ağız dişlerine bağlanan iple kontrol edildi. Operasyon mikroskobu altında omuzdan omuza cilt insizyonu yapıldı. Timus kesilerek ekarte edildi. Olası bir kanama durumunda bipolar koagülatör kullanıldı. Bilateral a.karotis kommunisler açığa çıkarıldı. Global iskemik modellerde 10 dakika sonra iskeminin başlayacağı bildirilmektedir (8). Her iki arter Yaşargil anevrizma klipi ile aynı zamanda tam oklüde edildi. Deneklerin solunum fonksiyonu düzensizleşinceye kadar, takriben 15 dakika süre ile klipler bekletildikten sonra çıkarıldı. Cilt sütüre edildi. Denekler resusitasyon bölümüne alındılar. Oklüzyondan hemen sonra vücut ısısını düşürülmeye başlandı. Başlangıçtaki 37.0°C olan rektal ısısı 31±0.5°C ye kadar düşürüldü. Bu işlem için özel soğuk oda kullanıldı. Gerektiğinde denek vücuduna alkol serpmeye işlemi tatbik edildi. Deneklerin vücut ısısı sadece rektal olarak ölçülebildi.

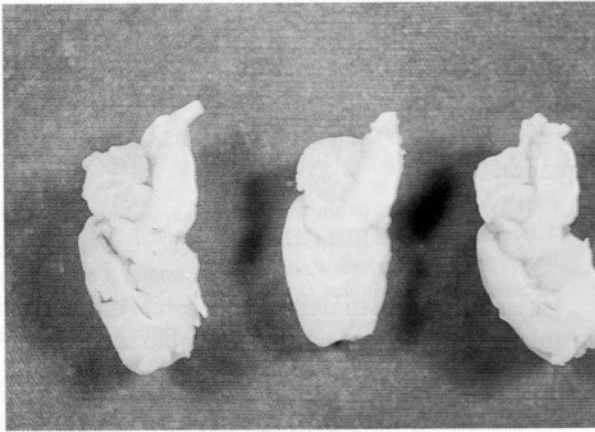
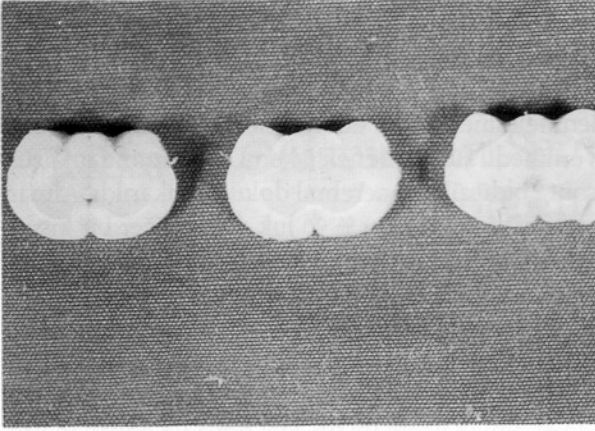
Birinci grup (n=20) normotermik tedavi grubu olarak alındı. Normal oda ısısı ve vücut ısısında yaşamalarını sürdürmeleri sağlandı. İkinci grup (n=20) bir

saat, Üçüncü grup (n=20) iki saat süre ile oluşturulan iskemi sonrası hipotermik ortamda tutuldular. Sürelerini tamamlayan denekler kendi gruplarına ait kafeslere alındı. Normal oda ısısında ve normal beslenmelerine devam edildi. Hiçbir gruba özel bir ilaç verilmedi. Herbir denek iskemi oluşumundan 7 gün sonra öldürülerek serebral dokuları çıkarıldı. Alınan materyalin bir kısmı % 96'luk alkol, diğer bir kısmında % 10'luk formol içine konuldu ve histopatolojik tetkike gönderildi. Gerekli işlemlerden sonra parafin blokları oluşturuldu. 4 mikron'luk kesitler elde edilerek hematoksilin eozin (HE) rutin boyası ile aynı zamanda periodik esit-schiff (PAS) ve cresyl fast violet olmak üzere iki tip özel boya ile boyanan preparatlar değişik büyütme ile değerlendirildi. Anlamlı değerlendirme yapılabilmesi için aynı anatomik bölgelerden alınan serebral doku kesitlerinin karşılaştırılmalarına özen gösterildi. Alınan kesitler birbiri ile karşılaştırılarak iskemi alanları saptandı.

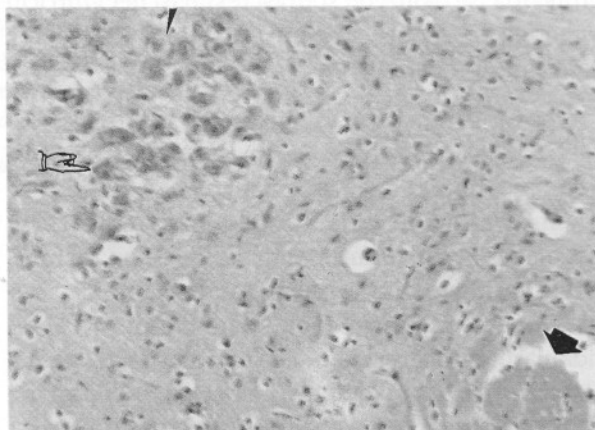
BULGULAR

İskemi oluşturulan denekler anestezi etkisinden kurtulduklarında, benzer nörolojik tablo sergilediler. Deneklerin kan gazları ve arterial kan basıncı ölçülemedi. İki saat süre ile hipotermi uygulanan deneklerin 7 tanesi iki gün içinde kaybedildi. Ölenlere otopsi yapılmadı ve çalışmaya dahil edilmediler. Rektal ısı normotermik olarak takip edilen kontrol grupda iskemi öncesi ve sonrası 37.0°C olarak, hipotermik gruplarda ise oklüzyon sonrası rektal ısı her grup için yukarıda bahsedilen süre boyunca 31±0.5 °C olarak sabit tutulmaya çalışıldı.

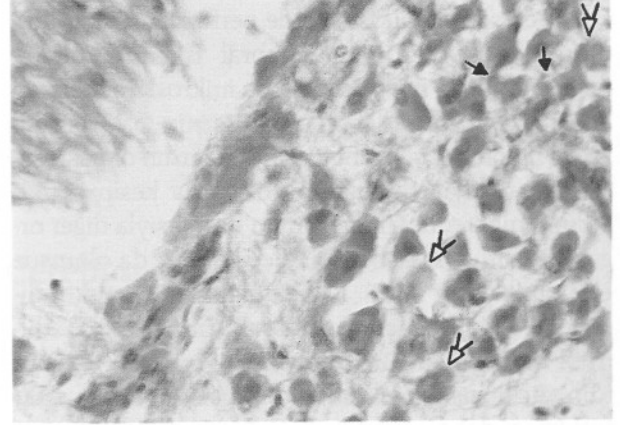
Normotermik tedavi uygulanan deneklerin serebral doku kesitlerinde, makroskobik olarak geniş iskemi ve infarkt alanları görüldü. Az infarkt ve iskemiye sahip, oklüzyon sonrası bir saat hipotermi uygulanan deneklerin serebral dokularının makroskobik kesiti ve daha az iskemi saptadığımız, iki saatlik hipotermi uygulanan deneklerin serebral dokularının makroskobik kesitleri Resim 1,2'de görülmektedir. Histopatolojik gözlem olarak hipotermi ile tedavi edilen gruplarda nekroz odaklarının çok seyrekleştiği ve küçüldüğü görülmektedir (Resim 3). Kanama odaklarının izlenmediği, ödemin azaldığı, damarlanma ve konjesyonun daha az olduğu dikkat çekiciydi. Ayrıca az sayıda nöronda çekirdek kaybı ve sitoplazma sınırlarında düzensizlik izlendi (Resim 4).



Resim 1.2 : Serebral iskemi oluşturulan grupların beyin kesitlerinin normotermik, bir saatlik ve iki saatlik hipotermik tedavi sırasıyla makroskobik olarak görülmektedir.

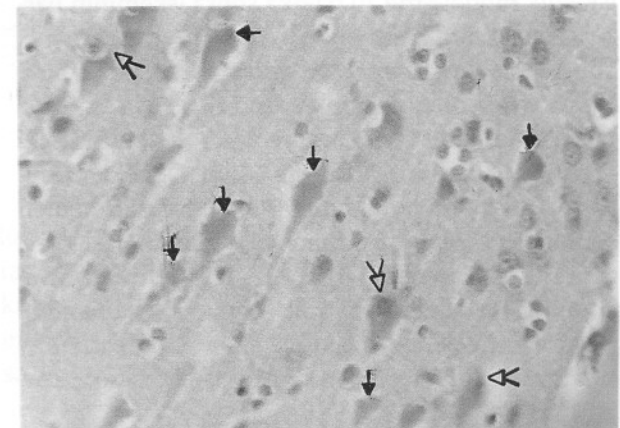


Resim 3 : Nöronlar arasında sol üst köşede makrofaj (ince ok), daha aşağıda nöronlar (el şeklinde), sağ alt köşede nekroz odağı (büyük ok) görülmektedir. Hipotermi. HE, x 82

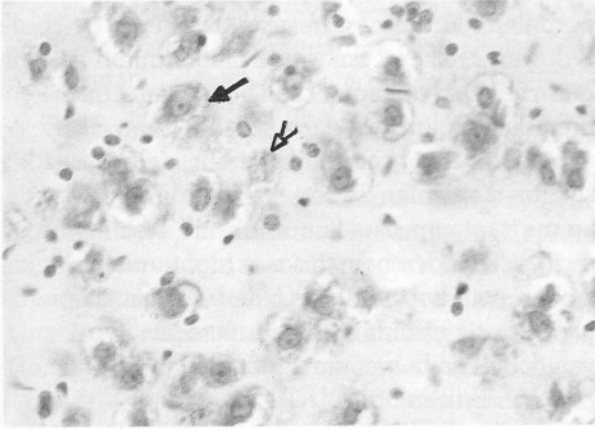


Resim 4 : Az sayıda nöronlarda çekirdek kaybı (açık ok) ve sitoplazma sınırlarında düzensizlik (kapalı ok). Hipotermi. HE x 165.

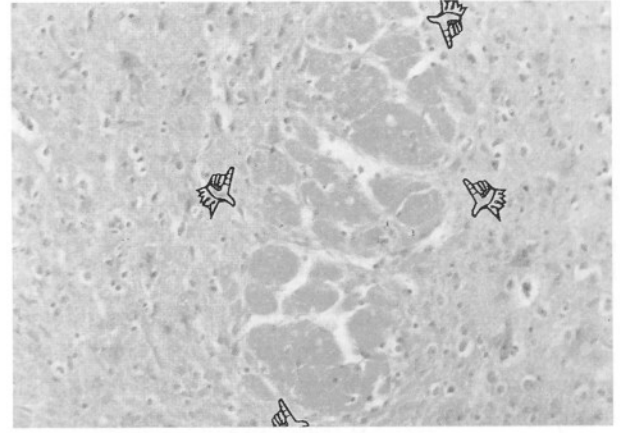
Normotermik olarak tedavi edilen grupta ise, nöronlardaki dejenerasyon daha belirgindir (Resim 5). Özellikle cresyl fast violet ile boyanmış preparatlarda sitoplazma sınırları ve çekirdeği seçilemeyen nöronlar görülmektedir (Resim 6). Nöronların büyük çoğunluğunda çekirdeklerinin kaybolduğu ve değişik seviyelerde çekirdek hasarı ile birlikte sitoplazma sınırlarında düzensizliği seçilmektedir (Resim 7). Değişik büyüklükte kavitasyonlar izlenmektedir. Özellikle PAS boyası ile boyanan kesitlerde kavitasyonlar daha belirgindir (Resim 8). Ayrıca bir kısmı silüet halinde ve bir kısmı da nisbeten seçilebilen glial hücreler içeren nekroz odağı izlenmektedir (Resim 9). Bunun yanı sıra değişik büyüklükte, çok sayıda perivasküler "ball hemorrhage" odakları (Resim 10) ve aynı zamanda belirgin artış gösteren telanjiektatik kapillerler izlenmektedir (Resim 11).



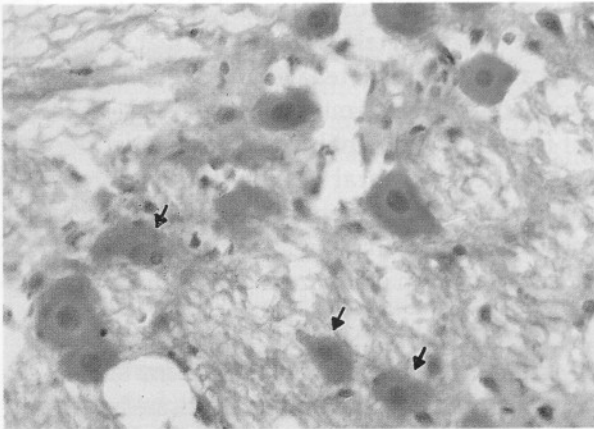
Resim 5 : Çekirdek kaybı olan (kapalı ok), bir kısmında da sitoplazma sınırları seçilememektedir (açık ok). Normotermi. HE x 165.



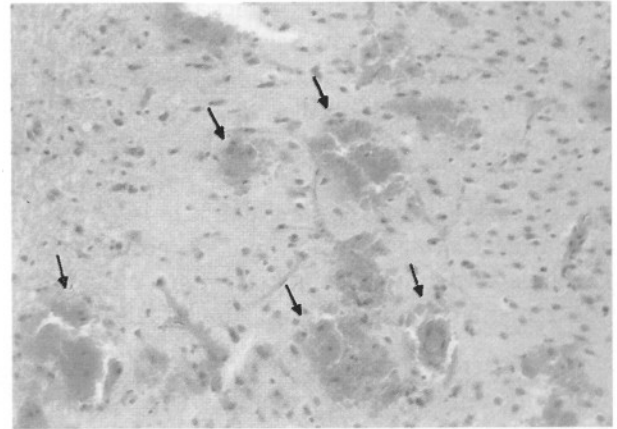
Resim 6 : Bir kısmında sitoplazma sınırları düzenli seçilemeyen (kapalı ok) ve bir kısmından çekirdeği seçilemeyen nöronlar (açık ok) izlenmektedir. Normotermi. Cresyl fast violet, x 165.



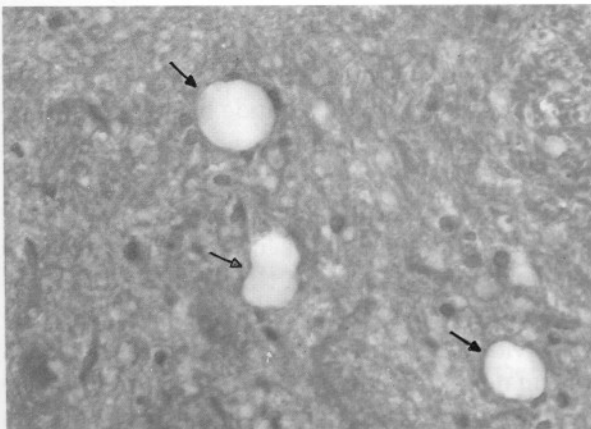
Resim 9 : bir kısmı suliet ve bir kısmı da nisbeten seçilebilen glial hücreler içeren nekroz odağı (oklar arasında) izlenmektedir. Normotermi. HE, x 82.



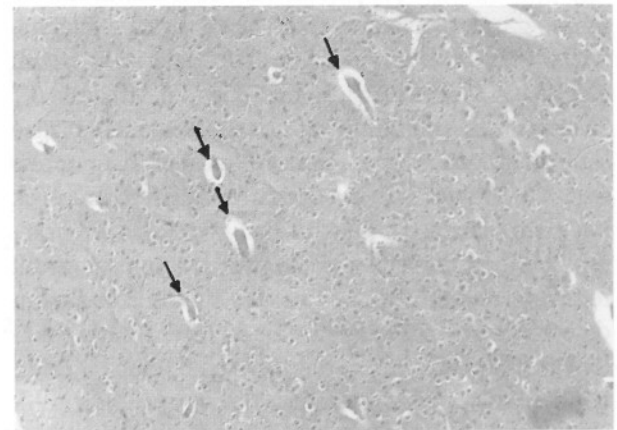
Resim 7 : Nöronlardan normal görünüm yanısıra, değişik seviyelerde çekirdek hasarı ve çekirdek kaybı ile sitoplazmik sınırlarda düzensizlik (ok ile işaretli). Normotermi. HE x 82.



Resim 10 : Değişik büyüklükte perivasküler "ball hemorrhage" odakları görülmektedir (ok ile işaretli). Normotermi. HE, x 82.



Resim 8 : Değişik büyüklükte kavitasyonlar izlenmektedir (ok ile işaretli). Normotermi. PAS, x 165.



Resim 11 : Telanjiektatik kapillerler (ok ile işaretli). Normotermi. HE, x 41.

TARTIŞMA

Geçici global serebral iskemiden sonra nörolojik ve histopatolojik iyileşmede hipotermimin rolü ve önemi bilinmesine rağmen, bu hipotermimin koruyucu etkisinin mekanizması tam olarak açık değildir. (3,18,22). İskemik hücre hasarına karşı hipotermimin koruyucu etkisi beyin enerji gereksiniminin azalmasına atfedilmektedir (13,21,22).

Serebral iske mi tedavisinde birçok yöntem uygulanmaktadır. Hipotermi, intrakranial basıncı düşürmek, beyin şişmesini önlemek ve serebral metabolik oksijen tüketiminde geniş kapsamlı azalmalara yol açarak (1,9,12,16) fenitoin gibi antikonvülsanlar, ATP ve glikoz kullanımını azaltıp potasyumun hücre dışına çıkmasını geciktirerek (7); barbitüratlar serebral perfüzyon basıncını hem lokal hem de global olarak düzeltmek ve intrakranial basıncı azaltmak suretiyle (17,19); nimodipine gibi kalsiyum kanal blokerleri lokal iskemide tıkanma sonrasında beyine gelen kan akımını iki kat arttırıp oksijen tüketimini düzenleyerek serebral iskemide etkili olmaktadır. Ayrıca çok sayıdaki ilacın da çeşitli deneylerde kullanılarak oluşan serebral iske mi tedavisinde, iske mi ve infarkt alanlarını azaltmada etkili oldukları gösterilmiştir. Özellikle kalsiyum kanal blokerlerinden nimodipine son zamanlarda popüler olmuştur(11).

Geçici serebral damar oklüzyonunda, bir saat süre ile hipotermik tedavi uygulanması sonucu iskemik hücre hasarının önemli ölçüde azaldığı birçok otör tarafınca rapor edilmektedir (6,12,21,22). Hipotermik tedavi, tüm vücut ısısı birkaç derece düşürülerek yapılır. Serebral ı s ıyı epidural mesafeden ölçmek daha sağlıklı olacaktır. Çalışmamızda vücut ısısını, sadece rektal olarak ölçebildik. Daha önce yapılan çalışmalarda, yazarlar hem rektal ısı hemde korteks ısısını ölçmüşler. Korteks ısısının rektal ısıdan ortalama 0.7 °C daha fazla olduğunu saptamışlardır (5,22). Biz ise bu hususu göz önüne alarak rektal olarak aldığımız ı s ıyı, vücut ısısından ortalama fazlalığını düşürerek kayıtlarımıza geçtik. Oluşturulan geçici serebral iske miyi takiben, bir saat süre ile uygulanan hipotermik tedaviden olumlu sonuçlar aldık. Verilerimiz arasında en iyi sonucu 2 saat süre ile hipotermi tatbik edilen grupta gibi görünse bile, bu deneklerin 1/3 ünün kaybedildiği anımsanırsa en iyi sonucun bir saatlik hipotermik tedaviden alındığı görülecektir.

Deneklerde serebral iskemik lezyonlar karşılaştırıldığında, iskemiden sonra hipotermik tedavi uygu-

lanan ile uygulanmayan denekler arasında, nöronların korunması hususunda önemli derecede fark vardır. İske mi esnasında hipotermimin başlatılması, serebral dokunun canlılığını devam ettirme yönünde olumlu etkisi daha fazladır. Chen ve ark. (5) yaptıkları benzer çalışmada bazal ganglionlarda küçük infarkt alanları ile korteksd minör nöronal zedelenme saptanmışlar. Bunun aksine bizim çalışmamızda iskemiden hemen sonra hipotermi başlatıldığından hem kortekste hem de bazal ganglionlarda pannekrosis görüldü. Hipotermik tedavi uygulanmayan denek grubuna oranla infarkt alanı belirgin olarak azalmıştı.

Ratlarda, geçici orta serebral arter (OSA) oklüzyonundan bir saat sonra tatbik edilen hipotermik tedavi ile iskemik serebral hasar önemli ölçüde azalmaktadır (8). Zhang ve ark (21,22) çalışmalarında ratlarda, geçici OSA oklüzyonunda bir saat sonra başlayan perfüzyonu takibeden, ilk bir saat sonra uygulanacak hipotermik tedavinin en etkili olduğunu rapor ettiler. Hipotermik tedavi sadece geçici serebral iskemilerde optimal tedavi etkinliği göstermekte, kalıcı serebral iskemilerde bir yarar sağlamamaktadır. Hipotermik tedavinin etkili olabilmesi için perfüzyonun yeniden başlaması gereklidir ve ancak yaşayan doku üzerinde yararlı etkiye sahiptir. (8,21,22).

İskemik hücre hasarları, akut iske mi sonrası serbest kalan glutamatın nörotoksik etkisine bağlanmaktadır. Hızlı bir eksitator transmitter olarak glutamade kuvvetli bir nörotoksindir. İskemik beyin hasarında anahtar rol oynayan maddedir. (4,10,15).

Hipotermi, özellikle glutamat da dahil, eksitator nörotransmitter salınımını azaltır (3,15).

Biz, ratlarda bilateral karotis arterlerin geçici olarak tam kapatılmasıyla, beyinde belirli alanlarda infarkt ve iskemik sahaların oluşabileceğini gösterdik. Bunun ötesi geçici arter klipajından hemen sonra başlatılan perfüzyon ile birlikte rektal ı s ıyı $31 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ye düşürdüğümüzde, beyin iskemik alanlarında anlamlı olarak bir azalma saptadık. Normotermik tedavi uygulanan grupta, belirgin derecede hemorajik odaklar, kavitasyon ve glial hücre sitoplazmalarında şişme, yaygın nekroz odakları, ayrıca nöronların büyük çoğunluğunun çekirdeklerinin kaybolduğunu ve sitoplazma sınırlarının seçilemediğini saptadık. Hipotermik tedavi uygulanan deneklerin serebral doku kesitlerinde, az sayıda sinir hücrelerinde çekirdek

kaybı ve sitoplazma sınırlarında düzensizlik görüldü. Ayrıca nekroz odaklarının çok seyrekleştiği ve küçüldüğü izlendi. Kanama alanlarının izlenmediği ve damarlanmanın daha az olduğu dikkat çekiciydi.

Sonuç olarak; ratlarda, geçici serebral iskemi tedavisinde, reperfüzyonla birlikte hipoterminin uygulanması, serebral iskemi alanını belirgin olarak azaltmaktadır. Bu veriler ve diğer araştırmalar gösteriyor ki, iskemiye maruz kalan beyin dokusunun korunabilmesi için, özellikle hipotermik tedaviye erken dönemde başlanmasıyla, serebral iskemi sahasının önemli ölçüde belirgin olarak azalabileceği kanısındayız. Vücut ısısının 3-4°C düşürülmesi serebral metabolik oksijen gereksinimini belirgin olarak azaltmaktadır. Serebral enerji gereksinimini azaltmanın basit bir yöntemi, hipotermidir. Ayrıca bu yöntemle diğer ilaçların etkileri de artmaktadır (14). Hipotermik tedaviye ne zaman başlanması, ne kadar süre ile devam edilmesi, kısa aralıklarla tatbik edilebilmesi ve insanlarda uygulanabilir bir protokolü henüz kesinlik kazanmamıştır (12,20). Bundan dolayı, hipotermik tedavi kullanımının etkinleşmesi ve uygulanabilir olabilmesi için daha ileri araştırmalara gereksinim vardır.

TEŞEKKÜR

Çalışmamıza yardım ve katkılarından dolayı, A.Ü.Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hamit Z. Gökalp ve DÜSAM Müdürü Prof. Dr. İsmet Aydın'a teşekkür ederiz.

Yazışma Adresi : Y. Doç. Dr. Erdem Ak
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroşirürji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi
21280, Diyarbakır

KAYNAKLAR

1. Astrup J, Sorensen PM, Sorensen HR: Inhibition of cerebral oxygen and glucose consumption in the dog by hypothermia, pentobarbital and lidocaine. *Anesthesiology* 55:263-268, 1981
2. Busto R, Dietrich WD, Globus MYT, Valdes I, Scheinberg P, Ginsberg MD: Small differences in intraschemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 7:729-738, 1987
3. Busto R, Globus MYT, Dietrich WD, Martinez E, Valdes I, Ginsberg MD: Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in the brain. *Stroke* 20:904-910, 1989
4. Butcher SP, Bullock R, Graham DI, McCulloch J: Correlation between amino acid release and neuropathologic outcome in rat brain following middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 21:1727-1733, 1990
5. Chen H, Chopp M, Zhang ZG, Garcia JH: The effect of hypothermia on transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 12:621-628, 1992
6. Chopp M, Chen H, Dereski MO, Garcia JH: Mild hypothermic intervention after graded ischemic stress in rats. *Stroke* 22:37-43, 1991
7. Cullen JP, Aldrete JA, Jankovsky L, Roma-Salen F: Protective action of yhenytoin in cerebral ischemia. *Anesth Analg* 58:165-166, 1979
8. De Graba TJ, Ostrow PT, Strong RA, Earls RM, Zong ZJ, Grotta JC: Temporal relation of Calcium - Calmodulin binding and neuronal damage after global ischemia in rats. *Stroke* 23:876-882, 1992
9. Frewen TC, Swedlow DB, Watcha M, Raphael RC, Godinez RI, Heiser MS, Kettrick RG and Bruce DA: Outcome in severe Reye Syndrome with early pentobarbital coma and hypothermia. *J Pediatr* 100:663-665, 1982
10. Hall ED, Andrus PK, Pazara KF: Protective efficacy of a hypothermic pharmacological agent in gerbil forebrain ischemia. *Stroke* 24:711-715, 1993
11. Harris RJ, Branston NM, Symon L, Bayhan M, Watson A: The effects of a calcium antagonist, nimodipine upon physiological responses of the cerebral vasculature and its possible influence upon focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1:203-205, 1982
12. Marion DW, Obrist WD, Carlier DM, Penrod LE, Darby JM: The use of moderate therapeutic hypothermia for patients with severe head injuries: a preliminary report. *J Neurosurg* 79:354-362, 1993
13. Michenfelder JD, Theye RA.: Hypothermia: Effect on canine brain and whole-body metabolism. *Anesthesiology* 29:1107-1112, 1968
14. Minamisawa H, Mellergard P, Smith ML, Bengtsson F, Theander S, Boris Siesjö BK: Preservation of the brain temperature during ischemia in rats. *Stroke* 21:758-764, 1990
15. Rothman SM, Olney JW: Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol* 19:105-115, 1986
16. Shiozaki T, Sugimoto T, Taneda M, Yoshida H, Iwai A, Yoshioka and Sugimoto T: Effect of mild hypothermia on uncontrollable intracranial hypertension after severe head injury. *J Neurosurg* 79:363-368, 1993
17. Ward JD, Becker DP, Millet JD, Choi SC, Marmarou A, Wood C, Newlon PG and Keenon R: Failure of prophylactic barbiturate coma in the treatment of severe head injury. *J Neurosurg* 62:383-386, 1985
18. Welsh Fa Sims RE, Harris VA: Mild hypothermia prevents ischemic injury in gerbil hippocampus. *J Cereb Blood Flow Metab* 10:557-563, 1990
19. Woodcock J, Ropper A, Kennedy SK: High dose barbiturates in nontraumatic brain swelling. ICP reduction and effect on outcome. *Stroke* 1: 785-790, 1982
20. Yatsu FM: Pharmacological protection against ischemic brain damage: Need for prospective human studies. *Stroke* 13:745-748, 1982
21. Zhang ZG, Chopp M, Chen H: Duration dependent post-ischemic hypothermia alleviates cortical damage after transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Neurol Sci* 117:240-244, 1993
22. Zhang RL, Chopp Michael, Chen Hua, Garcia JH, Zhang Z: Postischemic (1 hour) hypothermia significantly reduces ischemic cell damage in rats subjected to 2 hours of middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 24:1235-1240, 1993