

# DeneySEL Serebral İskemi Modelleri

## Experimental Cerebral Ischemia Models

<sup>1</sup>Gökhan Kalaycı, <sup>2</sup>Gönül Gürol, <sup>3</sup>Fatih Ekici

<sup>1</sup>Narlısaray Aile Sağlığı Merkezi-Vezirköprü, Samsun

<sup>2</sup>Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D., Sakarya

<sup>3</sup>Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D., Ankara

### Özet

Serebral iskemide beyindeki serebral kan akımındaki azalma olarak tanımlanmaktadır. İnsandaki serebral iskemiyi taklit etmek adına çeşitli deneysel modeller geliştirilmiştir. Bu modeller iskemik beyin hasarının patofizyolojisini anlamamıza katkıda bulunmakta ve yeni tedavilerin ve nöroprotektif stratejilerin geliştirilmesine de olanak sağlayabilmektedirler. Sonuç olarak, deneysel çalışmalarda seçilen modelin insandaki serebral iskeminin klinik ve laboratuvar bulgularını en iyi yansıtan ve en uygun model olması gerekmektedir.

### Abstract

Cerebral ischemia is defined as a reduction of cerebral blood flow in brain. Various experimental models of cerebral ischemia in humans has been developed to mimic closely the human ischemia. These experimental models have contributed the understanding of the pathophysiology of ischemic brain injury and may also allow the development of new neuroprotective strategies and new treatments. As a conclusion, the selected model in the experimental studies must be the most appropriate model that best reflect the clinical and laboratory findings in human cerebral ischemia.

**Anahtar kelimeler:** Serebral iskemide, modeller, hayvan

**Key words:** Cerebral ischemia, models, animal

### GİRİŞ

Beyin iskemisi dünyadaki yetişkin dönemde meydana gelen sakatlıkların ve ölümlerin en yaygın nedenlerinden biridir (1). Bununla birlikte, beyin enfarktüsü nedeniyle oluşan nörolojik fonksiyon bozuklukları, anlamlı bir derecede yaşam kalitesini bozmakta, sosyoekonomik ve tıbbi maliyette artışlara sebep olmaktadır (2). Kronik beyin iskemili hastalarda, sosyal adaptasyonlarının ve günlük yaşamlarının kötüleşmesi ile oluşan yaşam kalitelerindeki önemli bozukluklar, nörolojik ve amnestik-entellektüel bozukluklar ile birlikte astenik-nörotik sendrom ile sonuçlanmaktadır (3). İskemi seçilmiş bir beyin bölgesinde veya tüm beyinde yayılabilen kritik bir eşikteki serebral kan akımında meydana gelen azalma olarak tanımlanmaktadır (4). Serebral iskemide (SI) beyin dokusunun oksijeninin ve beslenmesinin azalmasına neden olmakta ve kalıcı olursa da hücre fonksiyonunda ve hücrenin canlılığında geriye dönüşümsüz hasarla sonuçlanmaktadır (5). SI patofizyolojisi ile ilgili olarak, kan akımındaki azalmaya göre üç kategoride değerlendirilebilmektedir; geçici global iskemide, geçici veya kalıcı fokal iskemide ve mikroembolizm (4). SI'nin deneysel modellerinde karşılaşılan en büyük sorun, sonuçlardaki değişkenlik düzeyinin kontrol edilmesindeki zorluklardır. Farklı parametrelerin çok olması, eğer sıkı kontrol edilmemişse, değişkenliğin artmasıyla modelin geçerliliğini yitirebilmektedir (6,7). Değişkenler arasındaki yaş, cinsiyet, ırk, plazma glukoz konsantrasyonu, sıcaklık, kan basıncı ve kan gazları gibi fizyolojik değişiklikler, cerrahinin tekrarlanabilmesi, anestezi, hayvanların boyutları ve maliyetleri gibi diğer çeşitli değişkenler deneysel modeli etkilemektedir (7,8). Hipergliseminin iskemik beyin hasarını kötüleştirilmesinin bulunması hayvanların plazma glukoz düzeylerinin takip edilebileceği bir deney düzeneğinin tasarlanmasını gerektirmektedir. Keza hipotermi'nin nöronal iskemik hasarı azalttığı bildirilmesi de sıcaklığın yakın takibinin önemini ortaya koymaktadır (7). Transgen veya knockout teknolojileri iskemik beyin hasarının moleküler mekanizmalarını

araştırmamıza yardımcı olmaktadır. Transgenik hayvanlar, spesifik gen delesyonlarının iskemik beyin hasarındaki etkilerini görmemize olanak sağlamaktadır. Genetik mutasyon çalışmalarında yaygınlıkla fareler kullanılmaktadır. (4,9). Ancak farelerin Willis poligonunun intrakraniyel vasküleritesindeki değişkenlik, iskemide derecesini etkileyebilmektedir. Farede ön beyin iskemide modelinde ırksal farklılıklar açık bir şekilde gözlenmiştir. En yaygın kullanılan fare ırkları arasında C57BL/6, ICR, BALB/c, C3H, CBA, ddY, DBA/2 yer almaktadır. C57BL/6, SI'ye en yakın olan ırktır (10). Hayvan çalışmalarında bazı moleküler ajanların iskemide patolojik mekanizmasına karşı etkili olduğu gösterilmesine rağmen, klinikte SI'nin tedavisinde hiçbirinin etkisi kanıtlanmamıştır (2,11).

SI'nin yarattığı hasarın moleküler yollarını araştıran birçok in vitro çalışma da bulunmaktadır. Roller Drum metodu veya interfaz metodunun kullanıldığı organotipik kesit kültürü çalışmaları, oksijen-glukoz deprivasyonu, kimyasal iskemide gibi kesitlerde iskemide benzeri koşulları indükleyen metodlar ile oluşturulmuş araştırmalar in vitro modeller arasında yer almaktadır. Kimyasal iskemide modelinde oksidatif metabolizma inhibitörleri olan sodyum azit veya sodyum siyanür, genellikle bir glikolizis inhibitörü olan 2-deoksiglukoz ile birlikte kültürde hipoglisemi ve hipoksiyi indüklemek adına kullanılmaktadır (12). SI'nin in vivo hayvan modelleri gerek iskemide tedavisinin gerek patofizyolojisinin sistematik çalışılmasına olanak vermesi, fizyolojik olarak da kontrol edilebilmesi ve tekrarlanabilir sonuçlar vermesi açısından kullanılmaktadır (13). Ayrıca yeni terapötik ilaçların test edilmesine de olanak sağlamaktadır (8). Sıçan, fare, gerbil gibi birçok laboratuvar kemirgen türleri deneysel iskemide oluşturmak amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (14). Küçük kemirgenler özellikle de sıçanlar, serebral fizyolojilerinin ve vaskülarizasyonlarının insana yakın olmasından dolayı SI modelinin oluşturulmasında tercih edilmektedir (15). Ayrıca kemirgenlerin beyin kitlelerinin küçük olması, parafin gömme veya donmuş kesit alma gibi işlemlerde iyi fiksasyonun olmasını sağlamaktadır (13).

## BULGULAR

Kemirgenlerdeki Sİ modelleri; global serebral iskemide, fokal serebral iskemide ve ön beyin iskemisi olmak üzere üç grupta incelenmektedir. Fokal iskemide insanlardaki inmenin en sık rastlanan tipidir. Sİ'nin birçok nedeni arasında özellikle internal karotis veya orta serebral arter olmak üzere tek ana arterin oklüzyonu en sık rastlanılanıdır (16). Sağlıklı hayvanlarda global veya fokal Sİ, bir veya birkaç arterin mekanik olarak ligasyonu ile veya emboli oluşturmak amacıyla arter lümeninin içine yabancı bir maddenin sokulması ile oluşturulmaktadır. Damarların mekanik ligasyonu ile oluşturulan modelde hasarın patofizyolojisinde trombotik süreçler etkilenebilir. Geçici global iskemide modelleri şiddetli sistemik hipotansiyon sonucunda hemodinamik arrest veya kardiyak arrestin patofizyolojisini taklit eden seçici nöronal hasar ile sonuçlanmaktadır (8,17). Fokal iskemide modelde tıkanmış arterin perfüzyon alanında ortaya çıkan enfarktüs veya pannekrozis ile lokalize iskemik, kısa süreli global iskemide (kardiyak arrest, koroner arter oklüzyonu veya insanlardaki kalp bypass ameliyatlarında olduğu gibi) yaygın beyin alanlarını etkiler ancak tipik olarak (hipokampusun CA1 bölgesi gibi) hassas beyin bölgelerinde seçici nöronal değişikliklere yol açmaktadır (8,14,17).

### Fokal Serebral İskemi Modelleri

Fokal iskemide modelleri kalıcı veya geçici olmak üzere iki kısma ayrılmaktadır. Kalıcı iskemide modelinde iskemik hasar bölgesi (kor) oluşmaktadır ve dejeneratif değişiklikler bu bölgeden daha geniş alanlara yayılmaktadır (16).

a- Kalıcı veya geçici olabilen modeller: Orta serebral arter (OSA) oklüzyonu, Spontan olarak hipertansif olan sıçanların (SHR) kullanımı  
b- Kalıcı emboli ve tromboz modelleri: Rose Bengal ile fotokimyasal tromboz, internal karotid arter içine karbon mikrosfer enjeksiyonu, A. Karotis kommunis (AKK) içine trombosit enjeksiyonu, AKK içine küçük kan pıhtılarının enjeksiyonu

*OSA'nın değişik lokalizasyonlarda oklüzyonu;* Cerrahi işlemle kraniumdan pencere açılarak oklüzyon yapılır. Bu modelde işlem sırasında parankim hasarı ve kafa içi basınç artışı oluşabilmektedir (18;19).

*Serebral emboli ve tromboz oluşturma;* Kan pıhtı embolizasyonu, mikrosfer embolizasyonu, fotokimyasal fokal serebral tromboz oluşturma gibi tekniklerle yapılabilmektedir (20).

*Intraluminal stür modeli (koizumi modeli);* Daha az invaziv olan bu modelde, boyun diseksiyonu ile A. Karotis Eksterna (AKE) bağlandıktan sonra, A.Karotis Komünis'e sokulan propilen ipliğin A. Karotis İnterna (AKİ) içinden ilerletilerek Orta Serebral Arter (OSA) girişinin tıkanması sağlanır. OSA girişinin tıkanması ile A. Serebri Anterior ve A. Vertebralis'den gelen kanın OSA'ye geçişi engellenmiş olur. İpin geri çekilmesi ile reperfüzyon sağlanabilmektedir. Kemik dokusu ve beyin parankim dokusu hasarı olmadığı için iskemide en iyi taklit edildiği modeldir. Bu nedenle deneysel çalışmalarda en çok tercih edilen model budur (21).

### Global Serebral İskemi Modelleri

*Resüsitasyonsuz kardiyak arrest modeli;* Bu modelde iskemide sonrası dolaşımın sağlanamaması en büyük dezavantajdır. Mg-klorit verilerek kardiyak arrest oluşumu sağlanabilir (22).

*Kardiyak arrest ve resüsitasyon modeli;* Resüsitasyon sonrası oluşabilen serebral patolojilerin anlaşılmasında kullanılan en iyi modeldir. Elektrik şoku, çıkan aortun mekanik obstrüksiyonu ve potasyum klorit ile kardiyak arrest oluşturulabilir. Bu modelde, dolaşım tekrar sağlanmakta ve geçici iskemide oluşturulmaktadır (23).

*Derin sistemik hipotansiyon modeli;* Farmakolojik ajanlar kullanılarak, sistolik tansiyon 30-35 mmHg'nin altına, oksijen basıncı %4'ün altına düşürülerek oluşturulur (20).

*Kafa içi basınç yükseltilmesi;* BOS'a sistemadan sıvı enjekte edilir ve kafa içi basınç yükseltilir, böylece serebral kan akımı durur ve iskemide oluşturulabilir. Ancak burada oluşan esas olay kafa içi basınç artışıdır, ortaya çıkan patoloji sadece serebral iskemiden kaynaklanmadığından kullanımı sınırlı kalmıştır (24).

*Afiksi ve servikal kompresyon;* Maymun ve kedilerde boyuna takılan bir manşonla beyne giden kan akımı azaltılır ve farmakolojik ajanlar ile hipotansiyon oluşturulur. Bu modelde spinal ve vertebral arter akımı devam etmektedir.

*Büyük damarların cerrahi tıkanması;* Brakiosefalik ve sol subklavian artere, toraks içinde klemp takılır ve AKK ile anastomozu olduğu için internal mammarian arter de bağlanır. Ayrıca baziler arter ve iki AKK bağlanarak da global iskemide oluşturulabilir (20).

### Ön Beyin İskemisi Modelleri

1980'li yılların başlarında ilk kez bildirilen bir model olan ön beyin iskemisi modeli, tam olarak global değildir fakat ön beyinle sınırlıdır. Bu model, nadiren görülen bilateral ön beyin iskemisinin klinik durumunu tam olarak yansıtmamaktadır (16).

*İki taraflı AKK tıkanması;* Bu model sıçan ve farelerde uygulanmamaktadır. Vertebral arter ve AKİ anastomozu gerbillerde olmadığı için kullanılabilir. Her iki AKK'nin 10-15 dk tıkanması ile hipokampusun CA1, striatum ve neokorteksin 3-4-5-6. tabakalarında seçici nöronal hasar gelişmektedir (25).

*Dört damar oklüzyon modeli;* Her iki vertebral arter elektrokoagülasyonla tıkanır sonra her iki AKK klips ile kapatılır. İskemiden sonra klipsler kaldırılarak reperfüzyon oluşumunun da sağlanabilmesi bu modelin üstün kıldığıdır (26).

*İki taraflı AKK oklüzyonu ile birlikte hipotansiyon oluşturulması;* AKK'lerin klemplenmesinden sonra hayvandan kan alınarak tansiyonun 30-35 mmHg'ye düşürülmesiyle oluşturulan bir modeldir, bunda da AKK'lerdeki klipsler kaldırılarak reperfüzyon oluşturulabilmektedir.

*Yüksek tansiyonlu sıçanlarda iki taraflı AKK tıkanması;* Normal sıçanlarda iskemide oluşturmayan bu yöntem, hipertansif hale getirilmiş sıçanlarda iskemide oluşumunu sağlayabilmektedir (20).

Sonuç olarak İskemide nörolojik disfonksiyona neden olmasının yanı sıra karmaşık sinyal kaskadlarını aktive etmesi ve hücrel homeostazisin bozulmasına yol açması, hastaların yaşam kalitesini bozması, toplumdaki medikal ve sosyoekonomik etkileri Sİ'nin tedavisinde uygun ve etkili nöroprotektif stratejilerin geliştirilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Dolayısıyla seçilen iskemide modelinin, iskemide klinik durumunun patofizyolojik, biyokimyasal, histopatolojik ve davranışsal özelliklerini en iyi yansıtan bir model olması gerekmektedir.

### KAYNAKLAR

1. Liu XQ, Sheng R, Qin ZH. The neuroprotective mechanism of brain ischemic preconditioning. Acta Pharmacol Sin 2009;30(8):1071-80.
2. Yang YC, Liu BS, Shen CC, Lin CH, Chiao MT, Cheng HC. Transplantation of adipose tissue-derived stem cells for treatment of focal cerebral ischemia. Curr Neurovasc Res 2011;8(1):1-13.
3. Suslina ZA, Rumiantseva SA, Tanashian MM, et al. The complex energy correction of chronic brain ischemia. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova 2011;111(3):25-30.
4. Harukuni I, Bhardwaj A. Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia. Neurol Clin 2006;24(1):1-21.

5. Ujita S, Mizunuma M, Matsuki N, Ikegaya Y. Asynchronously enhanced spiking activity of ischemic neuronal networks. *Biol Pharm Bull* 2011;34(5):764-7.
6. Ginsberg MD. Adventures in the pathophysiology of brain ischemia: penumbra, gene expression, neuroprotection: the 2002 Thomas Willis Lecture. *Stroke* 2003;34(1):214-23.
7. Mhairi Macrae I. New models of focal cerebral ischaemia. *Br J Clin Pharmacol* 1992 ;34(4):302-8.
8. Ronald J.Barley, R. Adron Harris. Peter Jenner. International review of neurobiology. Volume 42.Academic Press, USA 1998.
9. Kuniyasu Niizuma, Hidenori Endo, Chikako Nito, D. Jeannie Myer, Gab Seok Kim, Teiji Tominaga and Pak H. Chan. Transient Global Cerebral Ischemia Model in Mice. *Animal Models of Acute Neurological Injuries . II, Part 1*, 115-125, Edited by; J Chen (eds.) New York Totowa 2009.
10. Ito U, Fieschi C, Orzi F, Kuroiwa T, Klatzo I. Maturation phenomenon in cerebral ischemia III: defense mechanisms versus apoptosis neuronal recovery and protection in cerebral infarction. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1999.
11. Mehta SL, Manhas N, Raghuraj R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics. *Brain Res Rev* 2007;54(1):34-66.
12. Cimarosti H, Henley JM. Investigating the mechanisms underlying neuronal death in ischemia using in vitro oxygen-glucose deprivation: potential involvement of protein SUMOylation. *Neuroscientist* 2008;14(6):626-36.
13. Ginsberg MD, Busto R. Rodent models of cerebral ischemia. *Stroke* 1989;20(12):1627-42.
14. Wolfgang Walz. Cerebral ischemia, molecular and cellular pathophysiology. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey 1999.
15. Prieto-Arribas R, Moreno-Gutiérrez A, Simal-Hernández P, et al. Experimental models of cerebral ischemia. *Rev Neurol* 2008;47(8):414-26.
16. Gupta YK, Briyal S. Animal models of cerebral ischemia for evaluation of drugs. *Indian J Physiol Pharmacol* 2004;48(4):379-94.
17. Small DL, Buchan AM. Animal models. *Br Med Bull* 2000;56(2):307-17.
18. Chen S.T, Hsu C, Hogan E. A model of focal ischemic stroke in the rat: Reproducible external cortical infarction. *Stroke* 1986;17: 738-43.
19. Brint S, Jacewicz M, Kiessling M. Focal brain ischemia in the rat: methods for reproducible neocortical infarction using tandem occlusion of the distal MCA and ipsilateral CCA. *J Cereb Blood Flow Metab* 1988;8: 474-85.
20. Horst G.J. Clinical pharmacology of cerebral ischemia. Totowa New Jersey 1-31.1997
21. Longa Z., Weinstein P.R., Carlson S. and Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1989;20: 84-91.
22. Xie Y, Zacharias E, Hoff P. Ion channel involvement in anoxic depolarization induced by cardiac arrest in rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995 15: 587-94.
23. Kwai K, Nitecka ., Ruetzler C, Global cerebral ischemia associated with cardiac arrest in the rats. *J Cereb. Blood Flow Metab* 1992; 12: 238-49.
24. Ross D, Duhaime AC. Degeneration of neurons in the thalamic reticular nucleus following transient ischemia due to raised intracranial pressure: excitotoxic degeneration mediated via non NMDA receptors. *Brain Res* 1989; 15: 129-43.
25. Kuraiwa T, Bonnekoh P, Hossman K. Prevention of postischemic hyperthermia prevents ischemic injury of CA1 neurons in gerbils. *J Cereb Blood flow Metab* 1990;10: 550-6.
26. Pulsinelli W, Buchan AM. The four-vessel occlusion rat model. Method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation. *Stroke* 1988;19: 913-4.