



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Anestesiologia
www.sba.com.br



ARTIGO CIENTÍFICO

Comparação histopatológica dos efeitos protetores cerebrais de dexmedetomidina e tiopental sobre isquemia cerebral focal em ratos



Ebru Çanakçı^{a,*}, Sevilay Akalp Özmen^b, Mustafa Ferhat Çolak^c e Hüsnü Kürşad^d

^a Ordu University, Training and Research Hospital, Clinic of Anesthesiology and Reanimation, Ordu, Turquia

^b Erzurum Training and Research Hospital, Department of Pathology, Erzurum, Turquia

^c Ordu State Hospital, Clinic of Anesthesiology and Reanimation, Ordu, Turkey

^d Atatürk University, Faculty of Medicine, Research Hospital, Clinic of Anesthesiology and Reanimation, Erzurum, Turquia

Recebido em 31 de dezembro de 2014; aceito em 10 de março de 2015

Disponível na Internet em 15 de setembro de 2016

PALAVRAS-CHAVE

Isquemia encefálica;
Dexmedetomidina;
Tiopental;
Neuroproteção

Resumo Este estudo foi desenhado para investigar se dexmedetomidina e tiopental têm efeitos protetores cerebrais após isquemia cerebral focal em ratos. Trinta ratos da linhagem *Sprague Dawley* foram randomicamente alocados em três grupos: controle (Grupo C, n=10), dexmedetomidina (Grupo D, n=10) e tiopental (Grupo T, n=10). Após a anestesia, foram intubados e ventilados mecanicamente. Um cateter foi inserido na artéria femoral direita para monitoração contínua da pressão arterial média (PAM) e dos parâmetros fisiológicos e para coleta de amostras de sangue na fase basal, 5 minutos após a oclusão e 20 minutos após a reperfusão. Um cateter foi inserido na veia femoral esquerda para administração intravenosa (iv) de medicamentos. A artéria carótida comum direita de cada rato foi isolada e pinçada durante 45 minutos. No fim dos 45 minutos, o pinçamento foi removido e a reperfusão do cérebro foi obtida por 90 minutos. Dexmedetomidina foi administrada por infusão iv no Grupo D e tiopental no Grupo T. De acordo com as pontuações histopatológicas, isquemia cerebral foi observada em todos os ratos do Grupo C, mas não foi encontrada em três ratos do Grupo T e em quatro ratos do Grupo D. O grau 3 de isquemia cerebral foi encontrada em três ratos do grupo C e em apenas um rato de ambos os grupos T e D. Para os graus histopatológicos, a diferença entre o Grupo T e o Grupo D não foi significativa ($p > 0,05$). Porém, as diferenças entre o Grupo C e o Grupo T ($p < 0,05$) e entre o Grupo C e o Grupo D ($p < 0,01$) foram estatisticamente significativas. Em conclusão, demonstramos que dexmedetomidina e tiopental têm efeitos histopatológicos protetores cerebrais sobre isquemia cerebral focal experimental em ratos.

© 2015 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondência.

E-mail: canackiebru@gmail.com (E. Çanakçı).

KEYWORDS

Brain ischemia;
Dexmedetomidine;
Thiopental;
Neuroprotection

Histopathologic comparison of dexmedetomidine's and thiopental's cerebral protective effects on focal cerebral ischemia in rats

Abstract This study was designed to investigate whether dexmedetomidine and thiopental have cerebral protective effects after focal cerebral ischemia in rats. Thirty male Sprague Dawley rats were randomly assigned to three groups: control group (Group C, $n=10$), dexmedetomidine group (Group D, $n=10$), thiopental group (Group T, $n=10$). After all rats were anesthetized, they were intubated, then mechanically ventilated. A catheter was inserted into the right femoral artery for continuous mean arterial pressure, physiological parameters and blood sampling at baseline, 5 min after occlusion and 20 min after reperfusion. A catheter was inserted into the left femoral vein for intravenous (iv) medication administration. Right common carotid artery of each rat was isolated and clamped for 45 min. At the end of the duration common carotid artery were unclamped and the brain reperfusion was achieved for 90 min. Dexmedetomidine was administered for Group D IV infusion, and Group T received thiopental iv. According to histopathologic scores cerebral ischemia was documented in all rats in Group C, but no ischemia was found in three rats in Group T and in four rats in Group D. Grade 3 cerebral ischemia was documented in three rats in Group C, and in only one rat in both groups T and D. For histopathologic grades the difference between Group T and Group D was not significant ($p > 0.05$). But the differences between Group C and Group T ($p < 0.05$) and Group C and Group D ($p < 0.01$) were statically significant. In conclusion, we demonstrated that dexmedetomidine and thiopental have experimental histopathologic cerebral protective effects on experimental focal cerebral ischemia in rats.

© 2015 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

Estudos epidemiológicos prospectivos conduzidos em países ocidentais desenvolvidos demonstraram que as doenças cerebrovasculares (DCV) são responsáveis por 10% de todas as mortes e foram classificadas em terceiro lugar, depois de doenças cardíacas e câncer, como causa de mortalidade.¹⁻³ Cerca de 75% das doenças cerebrovasculares resultam de infartos cerebrais embólicos ou trombóticos.^{2,4}

O modelo experimental de infarto induzido pela oclusão da artéria cerebral média (ACM), que representa o infarto cerebral focal que é o tipo mais comum de doença cardiovascular na prática clínica, foi amplamente aceito.^{2,4,5} Os ratos têm um mecanismo cerebral muito semelhante ao dos humanos em termos de anatomia e fisiologia vascular cerebral e, portanto, são amplamente usados em estudos de isquemia cerebral.³ A validade desse modelo de isquemia cerebral depende de um controle rigoroso dos parâmetros fisiológicos que podem causar flutuações e alterações nos resultados, como a temperatura corporal, a pressão arterial, a gasometria e os níveis glicêmicos.⁴

Em uso clínico, ainda não existe um medicamento ideal que tenha todas as características desejadas e seja suficientemente eficaz em isquemia cerebral.^{6,7} Com o objetivo de atender às necessidades clínicas, um grande número de agentes de diferentes grupos químicos, que se acredita terem efeitos benéficos na isquemia cerebral, ainda está sendo testado em modelos animais e seus efeitos sobre a isquemia cerebral são metodologicamente examinados.^{2,4} As novas informações em nível molecular sobre a fisiopatologia da isquemia cerebral levaram ao uso

de vários agentes terapêuticos potenciais, estimados ou alegados como eficazes em tais mecanismos patofisiológicos em estudos experimentais.^{8,9}

Os efeitos dos barbitúricos, bem como do tiopental — um agente dessa classe muito usado na prática da anestesia —, sobre o fluxo sanguíneo cerebral e o metabolismo cerebral foram pesquisados e descobriu-se que, a depender da dose, esses agentes causam uma diminuição do fluxo sanguíneo cerebral e da taxa metabólica cerebral. Observou-se que o metabolismo cerebral de oxigênio é reduzido em 55-60% em uma dose de barbitúrico que causa isoeletricidade no EEG; contudo, o metabolismo cerebral prosseguiu e o metabolismo basal cerebral, que é necessário para assegurar as funções fisiológicas e a integridade celular dos neurônios, não diminuiu durante um aumento adicional da dose de barbitúricos no sangue.^{10,11}

Existem opiniões diferentes sobre a neuroproteção dos barbitúricos. Em isquemia cerebral focal pós-traumática, descobriu-se que reduzem a hiperemia e causam uma depressão profunda da taxa metabólica cerebral, melhoram a harmonia de fluxo e metabolismo, aumentam a perfusão na região de baixo fluxo e apresentam efeito protetor do cérebro ao minimizar a área infartada.^{12,13} Tiopental e metoexital foram novamente avaliados com diferentes doses em modelos de isquemia cerebral focal em ratos e, histopatologicamente, mostraram reduzir o volume de infarto em doses que causavam um traçado de surto-supressão no EEG.¹⁴

Dexmedetomidina é um novo medicamento que adquiriu popularidade na prática da anestesia. Um agonista do receptor α -2, fornece analgesia sem sedação cooperativa, ansiólise e depressão respiratória. Os receptores α -2

adrenérgicos mostram uma ampla disseminação no leito vascular cerebral e a ativação desses receptores provoca uma resposta vasoconstritora específica. Embora muito comuns na vasculatura cerebral, seus efeitos sobre o controle do fluxo sanguíneo cerebral e da reatividade vascular cerebral ainda são incertos.

Observou-se que a administração de dexmedetomidina em isquemia cerebral focal reduz o volume de infarto no córtex em 40% e, além disso, causa mínima hiperglicemia e hipotensão.¹⁵ Observou-se também que, por meio da administração de dexmedetomidina em isquemia cerebral incompleta, os níveis plasmáticos de catecolaminas foram reduzidos e que a melhoria histopatológica foi melhor do que a dos controles, a depender da dose.¹⁶ Além disso, relatou-se que o volume de infarto após a oclusão temporária mostrou redução de 31% no córtex e de 20% no corpo estriado em ratos que receberam uma dose elevada de dexmedetomidina ($15 \text{ mcg} \cdot \text{kg}^{-1}$).¹⁷ Também há relato de que enquanto as catecolaminas circulantes diminuíram durante a isquemia cerebral, as concentrações de noradrenalina e de glutamato no cérebro não foram afetadas pela dexmedetomidina.¹⁸ Os subtipos de receptores α -2 adrenérgicos que causam efeitos neuroprotetores foram identificados como sendo os α -2A.¹⁹

Objetivo

O objetivo deste estudo foi analisar histopatologicamente se tiopental e dexmedetomidina estão ou não entre os anestésicos intravenosos que têm efeitos protetores cerebrais em isquemia cerebral focal em ratos.

Material e métodos

Este estudo foi conduzido no Centro de Aplicação e Pesquisa Médica Experimental (*Experimental Application and Research Center – Atadem*) da Universidade de Atatürk, com a aprovação do Comitê de Ética estabelecido pela Universidade de Atatürk, Gabinete do Decano da Faculdade de Medicina. Os 30 ratos machos de cinco meses da raça *Sprague Dawley*, que pesavam 250-300 g, foram obtidos do Atadem.

Para que pudéssemos assegurar condições seguras e saudáveis para os resultados da pesquisa, atenção especial foi dedicada para selecionar animais que não foram usados em estudo anterior, não foram expostos a qualquer medicação, bem como não tinham qualquer doença e permaneceram totalmente saudáveis durante nossas experiências.

Todos os animais incluídos no estudo não receberam alimentos por até 12-16 h antes do estudo, de modo a mantê-los com fome. Durante esse tempo, o peso de cada animal foi determinado e registrado. Em seguida, os ratos foram alocados aleatoriamente em três grupos: controle (Grupo C, $n=10$); dexmedetomidina (Grupo D, $n=10$) e tiopental (Grupo T, $n=10$).

Todos os animais foram anestesiados com 5% de isoflurano (Forane, Abbott, Istambul, Turquia) envasado em frasco de vidro, com o uso do aparelho de anestesia no laboratório do Atadem. A região do pescoço dos animais na posição supina foi raspada e o local da cirurgia foi esterilizado. A cabeça foi ligeiramente estendida e a incisão cirúrgica foi feita na linha média da fáscia pré-traqueal.

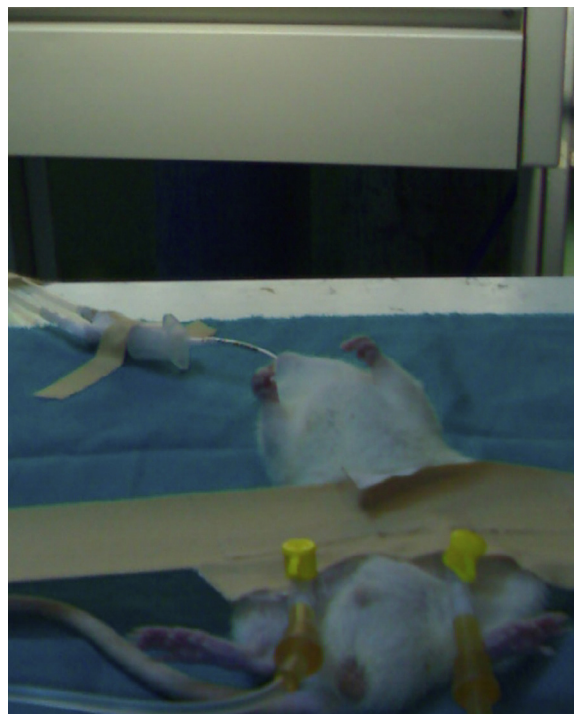


Figura 1 Um dos ratos usados e intubados no estudo.

Subsequentemente, a traqueia foi intubada (fig. 1) e deu-se início à ventilação mecânica dos pulmões. Juntamente com a ventilação, isoflurano a 2% e mistura de 30% de oxigênio e 70% de óxido nitroso foram administrados aos animais. A ventilação foi aplicada de modo a manter o número de 60 respirações por minuto e o volume corrente a $12 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$. A ventilação foi continuada até obter 35 mmHg de dióxido de carbono expirado. Dois cateteres foram instalados: um na artéria femoral direita para monitoração contínua da pressão arterial média (PAM) e coleta de amostras de sangue e outro na veia femoral esquerda para administração intravenosa (iv) de medicamentos. Imediatamente após a punção arterial (valores basais), todos os parâmetros fisiológicos (PAM, temperatura corporal) foram registrados em três momentos, incluindo o quinto minuto de oclusão arterial e aos 20 minutos de reperfusão, e as amostras de sangue obtidas das veias femorais esquerdas foram usadas para determinar os valores de pH, pO_2 , pCO_2 , glicemia e hematócritos na gasometria arterial e enviadas ao laboratório do Departamento de Bioquímica.^{5,20} Suas veias femorais esquerdas foram, no entanto, cateterizadas para infusão de medicamentos anestésicos e heparinização. Para monitorar a PAM, um dispositivo de sonda de radiotelemetria foi conectado às caudas dos ratos. Os ratos foram estudados sobre uma manta para mantê-los em nível normotérmico.¹⁵ Subsequentemente, as artérias carótidas internas dos animais foram obtidas por dissecação cervicolarteral (sob condições estéreis) (fig. 2) e a oclusão foi obtida por pinçamento vascular durante 45 min (figs. 3 e 4). Após 45 min, a pinça vascular foi aberta e a reperfusão cerebral foi obtida durante 90 min. Durante a oclusão e reperfusão, uma infusão de dexmedetomidina foi administrada ao Grupo D a uma taxa de $9 \text{ mcg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ e de tiopental ao Grupo T a uma taxa de $140 \text{ mcg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,²⁰ enquanto o grupo controle



Figura 2 Um dos ratos nos quais a dissecação da artéria carótida direita foi feita.

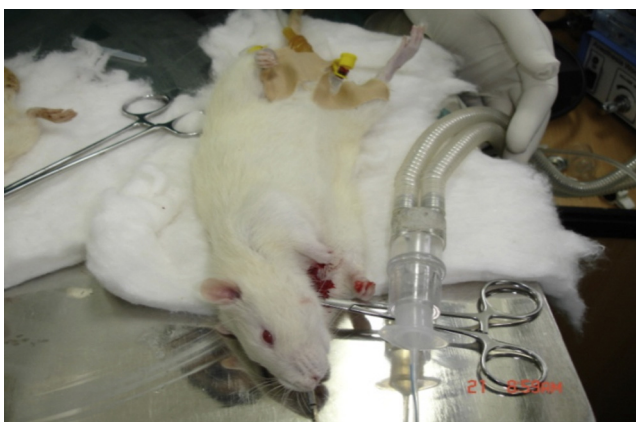


Figura 3 Rato submetido à oclusão da artéria carótida direita.

não recebeu medicamento anestésico por via intravenosa. No fim da reperusão, $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de brometo de vecurônio (Norcuron, Roche, Turquia) foi administrado aos ratos para obter o bloqueio neuromuscular ideal e seus cérebros foram devidamente removidos mediante craniotomia temporal.



Figura 4 Rato intubado no qual a oclusão da artéria carótida direita foi feita e o aparelho de anestesia usado.

Os cérebros foram colocados em solução de formalina a 10% para ser enviados ao Departamento de Patologia, onde foram adequadamente avaliados por análise histopatológica.

Imediatamente após a indução da isquemia, todos os animais foram sacrificados por decapitação sob anestesia. Para a análise histopatológica, todos os cérebros foram inteiramente removidos e tratados na seguinte ordem: os cérebros foram colocados em formalina tamponada com fosfato a 10% durante 48h; a região do hipocampo corno de Amon 1 (CA1) foi detectada (no plano coronal, posterior ao bregma $3300 \mu\text{m}$); as amostras teciduais coletadas foram desidratadas com etanol e embebidas em blocos de parafina, depois de tratadas com xilol; então, cortes coronais de 4mm de espessura foram coletados, corados com hematoxilina-eosina e cortes coronais de 5mm foram colhidos; a análise foi feita por meio de ampliação de $400\times$, por um especialista com experiência em patologia que desconhecia a designação dos grupos. Com base histopatológica na perda de substância de Nissl, no aumento de eosinofilia citoplasmática e na presença de núcleo homogêneo picnótico, os neurônios isquêmicos foram avaliados como: Grau 0 = sem neurônios isquêmicos; Grau 1 = presença de neurônios isquêmicos inferior a 10%; Grau 2 = presença de neurônios isquêmicos entre 10-50% e Grau 3 = presença de neurônios isquêmicos superior a 50%, de acordo com a frequência de neurônios isquêmicos em CA1.

Os cérebros dos ratos de todos os grupos foram codificados com números e colocados em frascos com 4% de formaldeído para assegurar a fixação. Em seguida, os tecidos foram lavados com água corrente e passados por respectivas gradações de álcool a 70%, 80%, 96% e 100% para desidratação. Na etapa seguinte, os tecidos foram passados por séries de xileno para transparência. Por fim, os tecidos foram mantidos em parafina em forno aquecido a 60°C e embebidos em blocos de parafina. Fatias de $5 \mu\text{m}$ de espessura foram cortadas dos blocos de parafina e mantidas em estufa a 60°C durante 45 min. Em seguida, foram passadas em xileno por duas vezes e gradações de álcool por quatro vezes (100%, 96%, 80%, 70%, respectivamente), lavadas em água corrente e embebidas em álcool ácido depois de coradas com hematoxilina por 30 segundos. Em seguida, as fatias foram coradas com eosina por 1 min, lavadas novamente e tratadas com xileno depois de passar pelas gradações de álcool. Na última etapa, Entellan (Merck) foi colocada sobre as fatias e essas foram colocados sob lamelas. Em seguida, a contagem por estereologia foi iniciada.

Com base nos dados obtidos a partir de projeções bidimensionais de objetos tridimensionais, a estereologia é uma disciplina que nos permite obter informações sobre as propriedades reais e os valores numéricos de estruturas biológicas (tamanho, número, área de superfície, volume etc.).²⁰ Vários métodos são usados em estereologia, dentre eles o de fracionamento, que usamos em nosso estudo. Por meio desse método, podemos aprender muitos detalhes sobre a estrutura na mão (área de superfície, densidade etc.). Neste estudo, calculamos a densidade numérica dos neurônios para todos os grupos.²⁰

As fatias prontas para a análise foram examinadas sob o microscópio de luz com uma câmera Olympus BH 40 acoplada e fotografias de todos os grupos relevantes foram obtidas.

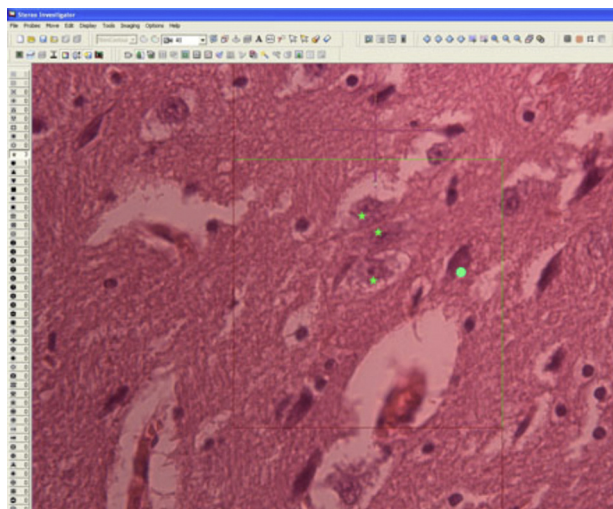


Figura 5 Neurônios contados vistos no quadro de contagem imparcial com uma ampliação de 40 no *Stereo-Investigator* (versão 6.0, Micro Bright Field, Colchester, VT). Estrelas indicam neurônios intactos e círculos indicam neurônios necróticos.

Neste estudo, usamos o método de fracionamento, um dos métodos estereológicos, bem como o quadro de contagem imparcial e o *Stereo Investigator* versão 6.0 (Micro Bright Field, Colchester, VT) com um programa especial. O referido aparelho consiste em uma câmera de microscópio, um sistema motorizado que desloca a platina do microscópio e um computador que contém um programa para controlar seu uso. No estudo, as fatias obtidas de cada animal foram colocadas na platina do microscópio e os contornos da área (córtex) sobre a qual fizemos as mensurações foram desenhados com a ajuda de um programa por meio de uma ampliação de 2,5 \times . Após determinar as áreas a serem medidas, o comando de amostragem aleatória sistemática foi dado ao aparelho a uma ampliação de 40. De acordo com esse comando, os intervalos de mensuração foram determinados em 150-150 μm no plano x-y e 75 μm \times 75 μm na área do quadro de contagem imparcial. Em seguida, o quadro de contagem imparcial foi colocado sobre a seção (o *software* no computador permite isso) e os neurônios intactos e danificados no córtex foram contados com diferentes marcadores e em conformidade com as regras estereológicas. A densidade numérica dos neurônios de cada animal foi calculada (fig. 5).

Análise estatística

Para a análise estatística dos dados entre os grupos, o programa SPSS (versão 10.0) compatível com Windows foi usado. Os graus de isquemia cerebral entre os grupos e os pesos dos animais foram avaliados estatisticamente com o teste do qui-quadrado em tabela de contingência 4 \times 2 e o teste *t* de amostras independentes, respectivamente. Anova (análise de variância de dois fatores) foi usada para avaliação estatística dos parâmetros fisiológicos. Ao comparar os grupos uns com os outros, o valor de *p* foi obtido e interpretado com o método LSD – *Least Square Difference* (Diferença dos Mínimos Quadrados). Um valor de *p* < 0,05 foi considerado significativo.

Os dados obtidos por vistas estereológicas foram enviados para o SPSS versão 15.0. Os dados do grupo intacto e os do grupo necrótico foram comparados. O teste *U* de Mann-Whitney foi usado para análise estatística. Na comparação entre os dados do grupo intacto e do grupo necrótico, verificou-se significância estatística entre os três grupos.

Resultados

Os dados físicos dos animais são apresentados na [tabela 1](#). Não houve diferença estatística entre os pesos de todos os animais (*p* > 0,05). Quando a tabela foi examinada em detalhe, não houve diferença estatística entre a pressão arterial média, frequência cardíaca, temperatura corporal, hematócrito, glicemia, PO₂, PCO₂ e pH na fase basal antes da isquemia, na oclusão e na reperfusão após a isquemia entre os três grupos (*p* > 0,05). Por exemplo, os valores iniciais encontrados de pressão arterial média, em mmHg, foram 104,9 \pm 6,7 no grupo controle (Grupo C), 105,1 \pm 4,1 no grupo dexmedetomidina (Grupo D) e 105,8 \pm 5,5 no grupo tiopental (Grupo T). Quando comparados estatisticamente, não foram observadas diferenças nesses valores. Os valores encontrados de oclusão da pressão arterial média foram 136,9 \pm 3,9 no Grupo C, 37,1 \pm 4,1 no Grupo D e 37,3 \pm 3,9 no Grupo T. Na reperfusão, entretanto, esses valores foram, respectivamente, 96,9 \pm 4,4; 95,5 \pm 5,2 e 96,1 \pm 4,7. Quando comparados estatisticamente, não foram observadas diferenças nesses valores.

A [tabela 1](#) também fornece comparação estatística dos valores fisiológicos dos animais entre os valores basais, de oclusão e de reperfusão em cada grupo.

Verificamos que enquanto o valor basal da pressão arterial média foi de 104,9 \pm 6,7 mmHg no Grupo C, esse valor diminuiu para 36,9 \pm 3,9 na oclusão e aumentou novamente para 96,9 \pm 4,4 durante a reperfusão. Quando os valores desse grupo foram comparados, uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre o valor da PAM basal e o de oclusão, bem como entre o valor de oclusão e o de reperfusão (*p* < 0,001). Uma diferença significativa também foi encontrada entre o valor basal e o valor de reperfusão (*p* < 0,05). No entanto, diferenças estatísticas semelhantes foram encontradas entre os valores basais, de oclusão e reperfusão da PAM nos grupos D e T.

Enquanto o valor basal da frequência cardíaca (bpm) foi 329,3 \pm 20,4 no Grupo C, esses valores diminuíram para 304,9 \pm 23,6 na oclusão e para 311,2 \pm 27,3 na reperfusão. Uma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os valores da frequência cardíaca na fase basal, de oclusão e de reperfusão (*p* < 0,05). Nos grupos D e T, diferenças estatísticas semelhantes também foram encontradas entre os valores basais, de oclusão e de reperfusão da frequência cardíaca.

Observamos no Grupo C que, enquanto o valor basal da temperatura corporal foi de 37,89 \pm 0,17, esse valor diminuiu para 36,92 \pm 0,14 na oclusão e atingiu 37,54 \pm 0,10 na reperfusão (em *Celsius*). Quando os valores desse grupo foram comparados estatisticamente, houve uma diferença estatisticamente significativa entre o valor basal da temperatura corporal e o valor de oclusão, bem como entre o valor de oclusão e o de reperfusão (*p* < 0,05). Nenhuma diferença

Tabela 1 Peso, valores de pressão arterial média 5 min antes da isquemia e durante a oclusão e reperfusão, frequência cardíaca, temperatura corporal, pH, PO₂, PCO₂, glicemia e hematócritos de todos os animais e sua comparação estatística

Variáveis	Grupo C (n = 10) (Controle)	Grupo D (n = 10) (Dexmedetomidina)	Grupo T (n = 10) (Tiopental)	Valor p
<i>Peso (g)</i>	308,3 ± 9,9	312,9 ± 13,8	311,3 ± 11,3	>0,05
<i>Pressão arterial média (mmHg)</i>				
Basal	104,9 ± 6,7 ^{c,g}	105,1 ± 4,1 ^{c,g}	105,8 ± 5,5 ^{c,g}	>0,05
Oclusão	36,9 ± 3,9 ^f	37,6 ± 4,1 ^f	37,3 ± 3,9 ^f	>0,05
Reperusão	96,9 ± 4,4	95,5 ± 5,2	96,1 ± 4,7	>0,05
<i>Frequência cardíaca (bpm)</i>				
Basal	329,3 ± 20,4 ^a	324,5 ± 19,2 ^a	332,2 ± 21,1 ^a	>0,05
Oclusão	304,6 ± 23,6	304,6 ± 24,9	304,6 ± 28,2	>0,05
Reperusão	311,2 ± 27,3	311,2 ± 22,8	311,2 ± 26,6	>0,05
<i>Temperatura corporal (C)</i>				
Basal	37,89 ± 0,17 ^a	37,91 ± 0,14 ^a	37,82 ± 0,11 ^a	>0,05
Oclusão	36,92 ± 0,14 ^d	36,09 ± 0,12 ^d	36,71 ± 0,15 ^d	>0,05
Reperusão	37,54 ± 0,10	37,62 ± 0,11	37,72 ± 0,09	>0,05
<i>pH</i>				
Basal	7,37 ± 0,03	7,37 ± 0,04	7,38 ± 0,04	>0,05
Oclusão	7,21 ± 0,07	7,23 ± 0,05	7,20 ± 0,06	>0,05
Reperusão	7,34 ± 0,04	7,35 ± 0,06	7,36 ± 0,07	>0,05
<i>PO₂ (mmHg)</i>				
Basal	92,1 ± 3,3 ^{c,g}	94,4 ± 3,9 ^{c,g}	91,9 ± 4,9 ^{c,g}	>0,05
Oclusão	54,2 ± 3,8 ^e	52,9 ± 4,6 ^e	53,7 ± 3,6 ^e	>0,05
Reperusão	77,2 ± 4,2	76,8 ± 5,1	77,4 ± 4,4	>0,05
<i>PCO₂ (mmHg)</i>				
Basal	35,7 ± 1,6 ^{b,g}	36,1 ± 0,9 ^{b,g}	35,6 ± 1,3 ^{b,g}	>0,05
Oclusão	40,2 ± 1,2 ^d	40,7 ± 1,1 ^d	40,6 ± 0,9 ^d	>0,05
Reperusão	37,5 ± 1,7	37,4 ± 1,6	37,1 ± 1,2	>0,05
<i>Glicemia (mg.dL⁻¹)</i>				
Basal	135,4 ± 2,7 ^{b,g}	137,4 ± 3,1 ^{b,g}	138,4 ± 2,4 ^{b,g}	>0,05
Oclusão	142,9 ± 1,6 ^d	143,8 ± 2,8 ^d	144,1 ± 2,2 ^d	>0,05
Reperusão	139,7 ± 1,9	139,4 ± 2,4	140,7 ± 1,5	>0,05
<i>HCT (%)</i>				
Basal	37,4 ± 2,1	37,6 ± 1,9	37,8 ± 2,1	>0,05
Oclusão	37,5 ± 2,4	37,5 ± 2,3	37,5 ± 1,8	>0,05
Reperusão	38,6 ± 1,9	38,8 ± 2,2	38,5 ± 2,4	>0,05

Diferenças significativas entre os valores da fase basal e durante a oclusão. ^ap < 0,05, ^bp < 0,01 e ^cp < 0,001.

Diferenças significativas entre os valores durante a oclusão e reperfusão. ^dp < 0,05 e ^ep < 0,01, ^fp < 0,001.

Diferenças significativas entre os valores no início e durante a reperfusão. ^gp < 0,05, ^hp < 0,01, ⁱp < 0,001.

significativa foi observada entre o valor basal e o de reperfusão. No entanto, diferenças estatísticas semelhantes foram observadas entre os valores da temperatura corporal na fase basal, de oclusão e de reperfusão nos grupos D e T.

Verificamos que, enquanto o valor basal da pO₂ foi de 92,1 ± 3,3 mmHg no Grupo C, esse valor diminuiu para 54,2 ± 3,8 na oclusão e atingiu 77,2 ± 4,2 durante a reperfusão. Quando os valores desse grupo foram comparados, uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre o valor basal da pO₂ e o valor de oclusão, bem como entre o valor de oclusão e o de reperfusão (p < 0,001). Uma diferença significativa também foi observada entre o valor basal e o valor de reperfusão (p < 0,001). Novamente, diferenças estatísticas semelhantes foram observadas entre

os valores da pO₂ na fase basal, de oclusão e de reperfusão nos grupos D e T.

Verificamos que enquanto o valor basal da pCO₂ foi de 35,7 ± 1,6 mmHg no Grupo C, esse valor atingiu 40,2 ± 1,2 na fase de oclusão e diminuiu novamente para 37,5 ± 1,7 durante a reperfusão. Quando os valores desse grupo foram comparados, uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os valores da pCO₂ na fase basal e na oclusão, bem como entre os valores na oclusão e na reperfusão (p < 0,01). Uma diferença significativa também foi observada entre o valor basal e o valor de reperfusão (p < 0,05). Novamente, diferenças estatísticas semelhantes foram observadas entre os valores da pCO₂ na fase basal, de oclusão e de reperfusão nos grupos D e T.

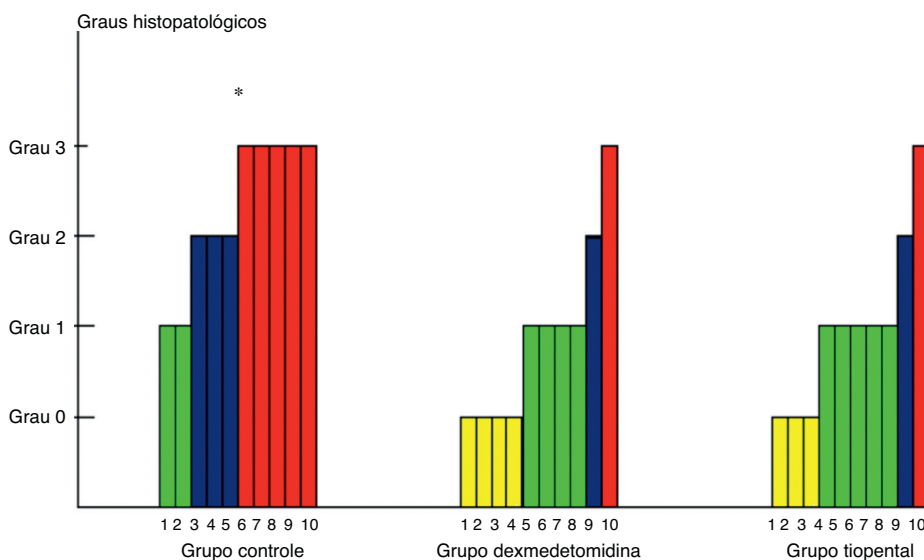


Figura 6 Resultados dos graus histopatológicos no hipocampo corno de Amon 1 (CA1) Área: Grau 0 (amarelo)=sem neurônios isquêmicos, Grau 1 (verde)=presença de neurônios isquêmicos inferior a 10%, Grau 2 (azul)=presença de neurônios isquêmicos entre 10-50% e Grau 3 (vermelho)=presença de neurônios isquêmicos superior a 50% (* $p < 0,01$ entre os grupos C e D e os grupos C e T).

Observamos que enquanto o valor basal da glicemia foi de $135,4 \pm 2,7 \text{ mg.dL}^{-1}$ no Grupo C, esse valor atingiu $142,9 \pm 1,6$ na fase de oclusão e diminuiu para $139,7 \pm 1,9$ durante a reperfusão. Quando os valores desse grupo foram comparados, uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os valores da glicemia na fase basal e na oclusão, bem como entre os valores de oclusão e de reperfusão ($p < 0,01$). Houve uma diferença significativa entre o valor basal e o valor de reperfusão ($p < 0,05$). Diferenças estatísticas semelhantes foram observadas entre os valores da glicemia na fase basal, de oclusão e de reperfusão nos grupos D e T.

No Grupo C, enquanto o valor percentual de hematócrito (HCT) na fase basal foi de $37,4 \pm 2,1$, esse valor foi de $37,5 \pm 2,4$ na fase de oclusão e de $38,6 \pm 1,9$ na fase de reperfusão. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de HCT na fase basal, de oclusão e de reperfusão ($p > 0,05$). Diferenças estatísticas semelhantes foram observadas entre os valores de HCT na fase basal, de oclusão e de reperfusão nos grupos D e T (tabela 1).

Graus histopatológicos

Os graus histopatológicos dos três grupos estão apresentados na figura 6. De acordo com o escore histopatológico, houve isquemia em todos os animais do Grupo C. Não houve isquemia cerebral em quatro animais do Grupo D e em três animais do Grupo T, enquanto isquemia cerebral de Grau 1 foi observada em dois animais do Grupo C, em quatro animais do Grupo D e em cinco animais do Grupo T. Isquemia cerebral de Grau 2 foi observada em três animais do Grupo C e em apenas um animal do Grupo D e do Grupo T. Isquemia cerebral de Grau 3 foi observada também em três animais do Grupo C e em apenas um animal do Grupo D e do Grupo T.

Não observamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos D e T em relação aos graus histopatológicos ($p > 0,05$). No entanto, uma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os grupos C e D ($p < 0,05$) e entre os grupos C e T ($p < 0,01$) em relação aos graus histopatológicos.

As imagens microscópicas dos graus obtidos por meio do exame histopatológico são apresentadas na figura 6 (Grau 0, Grau 1, Grau 2 e Grau 3).

Resultados estereológicos

A figura 7 mostra a densidade numérica dos neurônios necróticos no grupo controle e nos grupos tratados com dexmedetomidina e tiopental. Neste estudo, observamos que a

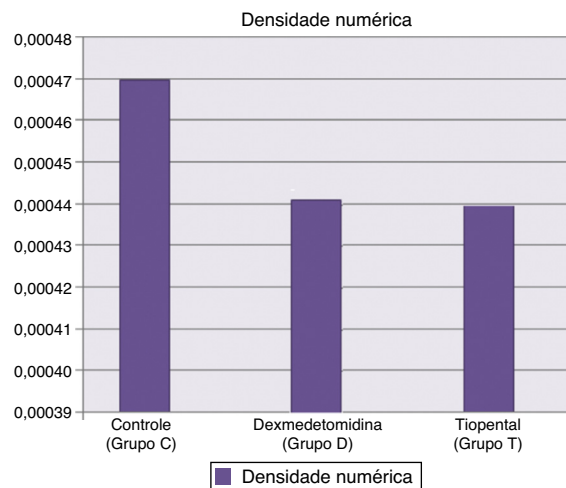


Figura 7 Densidade numérica dos neurônios necróticos do grupo controle e dos grupos tratados com dexmedetomidina e tiopental.

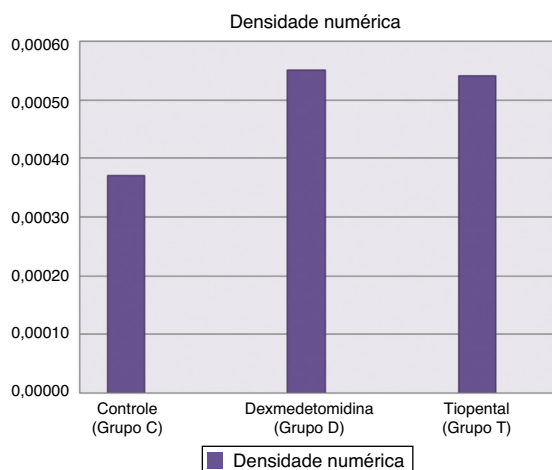


Figura 8 Densidade numérica dos neurônios intactos do grupo controle e dos grupos tratados com dexmedetomidina e tiopental.

média da densidade numérica dos neurônios necróticos foi muito alta no grupo controle ($0,00047 \text{ n.}\mu\text{m}^{-3}$) e menor nos grupos tratados com dexmedetomidina ($0,00044 \text{ n.}\mu\text{m}^{-3}$) e tiopental ($0,00044 \text{ n.}\mu\text{m}^{-3}$).

A figura 8 mostra a densidade numérica dos neurônios intactos no grupo controle e nos grupos tratados com dexmedetomidina e tiopental. O número de neurônios intactos foi $0,00055 \text{ n.}\mu\text{m}^{-3}$ no grupo tratado com dexmedetomidina, $0,00053 \text{ n.}\mu\text{m}^{-3}$ no grupo tratado com tiopental e $0,00038 \text{ n.}\mu\text{m}^{-3}$ no grupo controle.

Discussão

Para criar um modelo experimental de isquemia cerebral mais realista, várias técnicas^{22,25} foram elaboradas a partir de vários grupos de animais.²¹⁻²⁵ Em nosso estudo, preferimos usar ratos por razões óbvias: seu sistema circulatório cerebral é muito semelhante ao dos humanos e esses animais estão prontamente disponíveis e são financeiramente acessíveis.

Neste estudo, a região cervical dos ratos em posição supina foi raspada e o local cirúrgico foi esterilizado. Suas cabeças foram ligeiramente estendidas e a incisão cirúrgica foi feita na linha média pré-traqueal. Ao atingir a traqueia, a artéria carótida direita na região posterolateral da traqueia, o nervo vago e o plexo simpático cervical foram mantidos, explorados e fixados com sutura para serem pinçados posteriormente. Cinco minutos após a administração de 30 unidades de heparina para anticoagulação, 3-5 mL de sangue foram recolhidos da artéria femoral de modo controlado através de injetor para produzir hipotensão hemorrágica. A artéria carótida foi ocluída com pinça vascular por 45 min quando a PAM atingiu 35 mmHg. Durante esse período, a PAM foi mantida em 35-40 mmHg. As pinças foram removidas no fim do período e a reperfusão cerebral foi obtida por 90 min.

Na prática clínica, a importância da isquemia levou os pesquisadores a criar e desenvolver modelos experimentais de isquemia cerebral. Vários modelos experimentais de isquemia total ou regional, completa ou incompleta, permanente ou temporária foram produzidos.

Os modelos experimentais podem causar uma isquemia permanente ou transitória. Entre os métodos usados no modelo, a embolização endovascular ou ligadura extravascular pode ser usada e a oclusão da artéria cerebral média (ACM) pode ser induzida por meio de coagulação bipolar.²⁴⁻²⁹ Com a técnica de embolização endovascular, uma isquemia focal permanente pode ser obtida sem craniectomia; contudo, é impossível determinar a localização da embolia e, em geral, áreas de infarto multifocais são desenvolvidas em diferentes larguras e localizações.²⁷ Com as técnicas de ligação extravascular, obter uma isquemia focal e permanente é relativamente difícil e muitas vezes requer procedimentos invasivos.^{28,29}

A oclusão da ACM em ratos leva à formação de isquemia cerebral focal seguida de infarto da região. A oclusão da ACM vem sendo amplamente usada desde 1975.²⁷ Esse modelo foi usado muitas vezes em estudos de isquemia cerebral focal e já está comprovado.²⁴⁻²⁹

Para eliminar a confusão que pode ocorrer durante a interpretação dos resultados obtidos a partir de uma isquemia cerebral incompleta, os animais dos três grupos receberam os mesmos agentes anestésicos até o fim da oclusão unilateral da artéria carótida comum (fim da isquemia). Todos os animais em nosso estudo foram submetidos à anestesia com isoflurano até o fim da oclusão unilateral da artéria carótida comum devido a relatos em estudos que indicavam que isoflurano não tem efeito protetor após a isquemia cerebral incompleta.

Entre os três grupos deste estudo, não houve diferença estatística entre a pressão arterial média, a frequência cardíaca, a temperatura corporal, o hematócrito, a glicemia, o pO_2 , o pCO_2 e o pH nas fases basal antes da isquemia, de oclusão e de reperfusão depois da isquemia. O fato de a média dos valores fisiológicos dos animais ter sido semelhante na fase basal, de oclusão e de reperfusão pós-isquemia é um indicador da homogeneidade dos grupos. Em uma série de estudos, os valores basais dos grupos foram semelhantes.^{14,15,20} Por exemplo, em estudo que comparou lesão isquêmica cerebral focal precoce em ratos com tiopental e metoexital e os controles com pentobarbital, Cole et al.¹⁴ descobriram que os valores basais de pH, PaO_2 , PaCO_2 , PAM, níveis de hematócrito e glicemia foram semelhantes em todos os quatro grupos avaliados.

Por outro lado, Drummond et al.¹¹ não conseguiram detectar quaisquer diferenças nos parâmetros fisiológicos basais nos quatro grupos de seu estudo, no qual compararam as propriedades protetoras cerebrais de etomidato, isoflurano e tiopental. Os resultados acima parecem corroborar os resultados do presente estudo.

Neste estudo, observamos que os valores da PAM, temperatura corporal, ritmo cardíaco, pH e PO_2 estavam significativamente diminuídos na oclusão e voltaram a se elevar na reperfusão nos três grupos, em comparação com os valores basais. No entanto, os valores glicêmicos e da PCO_2 estavam elevados na oclusão e diminuíram novamente na reperfusão nos três grupos, em comparação com os valores basais.

Kuhmonen et al.³⁰ avaliaram o efeito de dexmedetomidina pós-occlusão temporária e permanente da artéria cerebral média em ratos. Os autores administraram NaCl a 0,9% por via intravenosa ao grupo de controle e relataram que os valores da PAM, PO_2 e PCO_2 diminuíram após a

isquemia em ambos os grupos submetidos à oclusão temporária e permanente; contudo, o pH e a temperatura corporal permaneceram iguais, mas a glicemia aumentou.

Engelhard et al.³¹ relataram que, nos dois grupos de estudo e um de controle, os valores da PAM e da glicemia diminuíram na isquemia em comparação com os valores basais, mas aumentaram novamente na reperfusão. O nível de pCO₂ aumentou em relação ao valor basal e, em seguida, diminuiu para o valor basal durante a reperfusão. Engelhard et al.,³² em outro estudo, avaliaram os efeitos de dexmedetomidina (α -2 agonista) sobre as concentrações de neurotransmissores cerebrais durante a isquemia cerebral em ratos. Os autores demonstraram que o valor da PAM diminuiu na isquemia em comparação com o valor basal e, em seguida, voltou a elevar-se na reperfusão.

Jolkkonen et al.¹⁵ avaliaram em estudos *in vitro* os efeitos de dexmedetomidina, NBQX e CGS-19755 após a oclusão e reperfusão da artéria cerebral média de acordo com o volume de infarto. Eles administraram por via intravenosa de NaCl a 0,9% ao grupo de controle. Os autores descobriram que os valores basais da PAM, PO₂, PaCO₂, pH e glicemia eram semelhantes em todos os quatro grupos e que a PO₂ e PaCO₂ também diminuíram durante a oclusão e reperfusão em todos os grupos, enquanto se elevaram no grupo dexmedetomidina. Os resultados deste estudo e os dos estudos mencionados acima estão parcialmente em conformidade.

A causa da isquemia cerebral é o aumento da concentração de catecolaminas na circulação e no espaço extracelular. As intervenções que reduzem o tônus simpático melhoram o resultado neurológico.^{33,34} Portanto, um tratamento administrado com agentes que reduzem a liberação de noradrenalina no cérebro (i. é, α 2-agonistas) pode fornecer proteção contra os efeitos nocivos da isquemia cerebral. Vários estudos demonstraram que dexmedetomidina aumenta a sobrevida neuronal em isquemia transiente focal ou global em ratos.^{16,30,35} O mecanismo do efeito neuroprotetor dos α 2-agonistas ainda não foi esclarecido. Engelhard et al. demonstraram que dexmedetomidina não suprime o aumento extracelular de catecolaminas no cérebro durante a isquemia e argumentaram que o efeito neuroprotetor de dexmedetomidina é resultante da modulação do equilíbrio entre proteínas pró-apoptóticas e antiapoptóticas.^{31,32} Muitos estudos mostraram que os agonistas dos receptores α 2-adrenérgicos diminuem a liberação de neurotransmissores excitatórios (i.e., glutamato).^{36,37} Como sabemos, níveis elevados de glutamato despolarizam a membrana neuronal e permitem que o cálcio entre na célula. Isso desencadeia uma série de acontecimentos que provocam danos celulares. Portanto, os agentes que reduzem a liberação de glutamato são considerados neuroprotetores. Observou-se que a administração de dexmedetomidina em isquemia cerebral focal reduz o volume do infarto em 40% no córtex e causa mínima hiperglicemia e hipotensão.¹⁵ Em isquemia cerebral parcial, observou-se que, por meio da administração de dexmedetomidina, houve um decréscimo do nível plasmático de catecolaminas e melhoria histopatológica mais acentuada em comparação com os controles, a depender da dose.¹⁶ Uma diminuição de 31% no córtex e de 20% no corpo estriado foi relatada no volume do infarto após oclusão transiente (15 μ g kg⁻¹) em ratos que receberam uma dose elevada de dexmedetomidina.¹⁷ Relatou-se que

durante a isquemia cerebral as catecolaminas circulantes diminuíram, enquanto as concentrações de noradrenalina e glutamato no cérebro permaneceram inalteradas com o uso de dexmedetomidina.¹⁸ Além disso, relatou-se que dexmedetomidina tem um efeito neuroprotetor no período neonatal e que previne lesões excitotóxicas no córtex e massa branca.¹⁹ Similarmente, há muitos estudos que indicam que os barbitúricos reduzem a propagação da lesão cerebral resultante de isquemia cerebral focal transitória. Enquanto alguns pesquisadores relataram que tiopental tem um efeito protetor,^{14,20} outros relataram que tiopental não tem efeitos protetores.^{21,38}

Este estudo foi desenhado para examinar se tiopental e dexmedetomidina, que estão entre os anestésicos intravenosos, têm efeitos protetores cerebrais em isquemia cerebral focal em ratos e qual dos medicamentos tem o efeito mais protetor.

De acordo com o escore histopatológico, houve isquemia em todos os animais do grupo controle. Não houve isquemia cerebral em quatro animais do grupo dexmedetomidina e em três animais do grupo tiopental. Enquanto isquemia cerebral de Grau 1 esteve presente em dois animais do grupo controle e em quatro animais do grupo dexmedetomidina, observamos que cinco animais do grupo tiopental apresentaram isquemia cerebral de Grau 1. Isquemia cerebral de Grau 2 foi observada em três animais do grupo controle e apenas em um nos grupos dexmedetomidina e tiopental. Ainda assim, Grau 3 isquemia cerebral foi encontrado em três animais do grupo controle e em apenas um animal tanto do grupo dexmedetomidina quanto do grupo tiopental. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos dexmedetomidina e tiopental em relação aos graus histopatológicos. No entanto, houve uma diferença entre o grupo controle e esses dois grupos (dexmedetomidina e tiopental).

Cole et al.¹⁴ usaram 80 ratos machos, 6-20 semanas, 375-425 g, em seu estudo, no qual compararam tiopental, metoexital e pentobarbital nos controles em lesão isquêmica cerebral focal precoce. Durante esse estudo, o EEG foi continuamente registrado por meio de agulhas de platina colocadas em configuração bitemporal. Um regime de medicação em duas fases foi administrado aos ratos. A primeira fase do estudo (traçado de surto-supressão no EEG) foi feita em 40 ratos. Cada grupo continha 10 ratos. NaCl a 0,9% foi administrada por via intravenosa aos controles. Como resultado dessa fase, o volume de lesão cerebral foi semelhante nos grupos controle (133 \pm 17 mm³), metoexital (126 \pm 19 mm³) e pentobarbital (130 \pm 17 mm³). Contudo, um volume inferior de lesão cerebral foi observado no grupo tiopental (88 \pm 14 mm³). Em outras palavras, observou-se que tiopental apresentou um efeito mais protetor que reduziu o volume da lesão cerebral. Em contraste, na segunda fase do estudo, feito com barbitúricos a uma dose de 40%, houve redução significativa do volume de infarto apenas no grupo tratado com metoexital, entre os grupos criados de modo semelhante. Como resultado dessa segunda fase do estudo, o volume de lesão cerebral foi semelhante nos grupos controle (124 \pm 22 mm³), tiopental (118 \pm 15 mm³) e pentobarbital (121 \pm 20 mm³). No entanto, um volume menor de lesão cerebral foi observado no grupo metoexital (70 \pm 20 mm³).

Drummond et al.²¹ compararam as propriedades protetoras cerebrais de etomidato, isoflurano e tiopental. Após a inserção de cateter vascular, os autores dividiram em quatro grupos os ratos machos, entre 350-400 g, com 16-20 semanas e espontaneamente hipertensos. Oito ratos receberam tiopental iv (25 mg.mL⁻¹), oito receberam etomidato (125 mg.mL⁻¹) e oito receberam isoflurano. O grupo de controle recebeu halotano a 0,92%. O volume de lesão cerebral foi de 99 ± 13 mm³ no grupo halotano (controle), 56 ± 10 mm³ no grupo tiopental, 139 ± 14 mm³ no grupo isoflurano e 145 ± 11 mm³ no grupo etomidato. O volume de lesão cerebral foi significativamente menor no grupo tiopental em comparação com todos os grupos. Em outras palavras, observou-se que tiopental apresentou o efeito mais protetor que reduziu o volume de lesão cerebral.

Elsaesser et al.³⁹ administraram halotano a 30 ratos *Sprague-Dawley*, induziram uma oclusão da artéria cerebral média. Eles também administraram por via intravenosa doses baixa e alta de tiopental aos outros dois grupos e avaliaram o volume de infarto após três horas de reperfusão. Quando comparadas com os controles, os autores descobriram que a dose baixa de tiopental reduziu o volume de infarto em 28% e a dose alta de tiopental reduziu o volume de infarto em 29%. Os autores indicaram que tiopental tem efeito protetor cerebral e que não há necessidade de doses extremamente elevadas para fornecer tal proteção.

Xue et al.⁴⁰ induziram isquemia cerebral por meio do modelo de privação de oxigênio-glicemia (POG) em fatias do córtex cerebral de ratos *Sprague-Dawley*, entre 90-120 g. Eles compararam os efeitos de cetamina, midazolam, tiopental e propofol nessa isquemia cerebral. A avaliação das fatias foi feita com o método de Elisa. Os pesquisadores descobriram que esses quatro anestésicos intravenosos diferentes têm efeitos diferentes: doses baixas e altas de cetamina inibem a lesão induzida por POG; doses altas de midazolam (10 µmol.L⁻¹) e tiopental (400 µmol.L⁻¹) sustentam parcialmente essa inibição e, novamente, doses altas de propofol (100 µmol.L⁻¹) também promovem essa inibição. Como conclusão, os autores relataram que cetamina, midazolam e tiopental em doses altas têm efeitos neuroprotetores em lesão induzida por POG em fatias corticais de ratos.

Lianhua et al.⁴¹ expuseram machos *Sprague-Dawley* a 24h de reperfusão e 3h de oclusão da artéria cerebral média. Em seguida, compararam o volume de infarto nos cérebros dos ratos ao administrar midazolam, tiopental e propofol. Os resultados neurológicos foram avaliados com o uso de um sistema de classificação de 0-5. Eles observaram que o grau de isquemia foi relativamente baixo nos ratos que receberam midazolam e propofol. Portanto, eles relataram que midazolam e propofol têm efeitos protetores contra a lesão de reperfusão, mas que tiopental não apresenta esse efeito protetor.

Em conclusão, avaliamos histopatologicamente se tiopental e dexmedetomidina estão entre os agentes anestésicos intravenosos que apresentam efeitos protetores cerebrais em isquemia cerebral focal em ratos. Observamos que tiopental e dexmedetomidina são mais neuroprotetores em comparação com os controles. Mostramos histopatologicamente em modelo experimental de isquemia cerebral focal em ratos que dexmedetomidina e tiopental têm efeitos protetores cerebrais. No entanto, a precisão clínica desses efeitos ainda não está esclarecida. Estudos adicionais

são necessários para definir o uso de dexmedetomidina e tiopental em populações de pacientes apropriadamente selecionados e procedimentos específicos.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- Graham DI. Focal cerebral infarction. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1988;8:769-73.
- McIlraith DM, Côte R. Epidemiology and etiology of stroke. *Curr Opin Neurol Neurosurg.* 1991;4:31-7.
- Analysis of neuronal damage resulting in the focal cerebral infarct model induced by middle cerebral artery occlusion in rats and Ginkgo Biloba extract's effects on this. Bursa: Uludag University; 1994. Faculty of Medicine, Department of Neurology, Expertise Thesis.
- Ginsberg MD, Busto R. Rodent models of cerebral ischemia. *Stroke.* 1989;20:1627-42.
- Garcia JH. Experimental ischemic stroke: a review. *Stroke.* 1984;15:5-14.
- Grotta JC. Current medical and surgical therapy for cerebrovascular disease. *N Engl J Med.* 1987;317:1505-16.
- Barsan WG, Brott TG, Olinger CP, Marler JR. Early treatment for acute ischemic stroke. *Ann Int Med.* 1989;111:449-51.
- Albers GW, Goldberg MP, Choi DW. NMDA antagonists: ready for clinical trial in brain ischemia? *Ann Neurol.* 1989;25:398-403.
- Wong MCW, Haley EC Jr. Calcium antagonists: stroke therapy coming of age. *Stroke.* 1990;21:494-501.
- William F. Brain metabolism. In: Cottrell JE, Smith DS, editors. *Anesthesia and neurosurgery.* 3rd ed. St Louis: Mosby-Year Book; 1994. p. 1-16.
- Drummond JC, Shipiro HM. Cerebral physiology. In: Miller RD, editor. *Anesthesia.* 4th ed. Churchill: Livingstone; 1994. p. 689-729.
- Hoffman WE, Charbel FT, Edelman G, Ausman JI. Thiopental and desflurane treatment for brain protection. *Neurosurgery.* 1998;43:1050-3.
- Sano T, Patel PM, Drummond JC, Cole DJ. A comparison of the cerebral protective effects of etomidate, thiopental and isoflurane in a model of forebrain ischemia in the rat. *Anesth Analg.* 1993;76:990-7.
- Cole DJ, Cross LM, Drummond JC, et al. Thiopentone and methohexital, but not pentobarbitone, reduce early focal cerebral ischemic injury in rats. *Can J Anaesth.* 2001;48:807-14.
- Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho J, et al. Neuroprotection by the alpha-2 adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol.* 1999;372:31-6.
- Hoffman WE, Kochs E, Werner C, et al. Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. Reversal by the alpha 2 adrenergic antagonist atipamezole. *Anesthesiology.* 1991;75:328-32.
- Kuhnomen J, Haapaliina A, Sivenius J. Effects of dexmedetomidine on CO₂ reactivity and cerebral autoregulation in healthy volunteers. In: *ASA meeting Abstract Number A-341.* 2001.
- Laudenbach V, Mantz J, Evrard P, et al. Dexmedetomidine protect against neonatal excitotoxic brain injury. In: *ASA meeting Abstract Number A732.* 2000.
- Ma D, Hossain M, Franks NP, et al. Role of the alpha-2a adrenoceptor subtype in the neuroprotective effect of dexmedetomidine. In: *ASA meeting Abstract Number A-832.* 2003.
- Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc.* 1984;134:127-36.

21. Drummond JC, Cole DJ, Patel PM, et al. Focal cerebral ischemia during anesthesia with etomidate, isoflurane, or thiopental: a comparison of the extent of cerebral injury. *Neurosurgery*. 1995;37:472-9.
22. Coyle P. Middle cerebral artery occlusion in the young rat. *Stroke*. 1982;13:855-8.
23. Zervas NT, Hori H, Negora M, et al. Reduction of brain dopamine following experimental cerebral ischemia. *Nature*. 1974;247:283-4.
24. Hillered L, Hallström A, Segersvard S, et al. Dynamics of extracellular metabolites in the striatum after middle cerebral artery occlusion in the rat monitored by intracerebral microdialysis. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1989;9:607-16.
25. Makarenko NV. Higher nervous activity in dogs reanimated after long periods of clinical death from drowning and loss of blood. *Zurnal Vyssiej Nervnoj Dejatel'nosti*. 1972;22:82-8.
26. Chen ST, Hsu CY, Hogan EL, et al. A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction. *Stroke*. 1986;17:738-43.
27. Bederson BJ, Pitts HL. Rat middle cerebral artery occlusion; evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*. 1986;17:472-6.
28. Kogure K. Molecular and biochemical events within the brain subjected to cerebral ischemia (targets for therapeutic intervention). *Clin Neurosci*. 1997;4:179-83.
29. Ishiyama T, Dohi S, Iida H, et al. Mechanisms of dexmedetomidine-induced cerebrovascular effects in canine in vivo experiments. *Anesth Analg*. 1995;81:1208-15.
30. Kuhmonen J, Haapalinn A, Sivenius J. Effects of dexmedetomidine after transient and permanent occlusion of the middle cerebral artery in the rat. *J Neural Transm*. 2001;108:261-71.
31. Engelhard K, Werner C, Kaspar S, et al. Effect of the α_2 agonist dexmedetomidine on cerebral neurotransmitter concentrations during cerebral ischemia in rats. *Anesthesiology*. 2002;96:450-7.
32. Engelhard K, Wernwer C, Kaspar S, et al. The effect of the α_2 agonist dexmedetomidine and the N-methyl-aspartate agonists S⁺-ketamine on the expression of apoptosis-regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg*. 2003;96:524-31.
33. Globus MJ, Busto R, Dietrich WD, et al. Direct evidence for acute and massive norepinephrine release in the hippocampus during transient ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1989;9:892-6.
34. Kuhmonen J, Pokorny J, Miettinen R, et al. Neuroprotective effects of dexmedetomidine in the gerbil hippocampus after transient global ischemia. *Anesthesiology*. 1997;87:371-7.
35. Maier C, Steinberg GK, Sun GH, et al. Neuroprotection by the α_2 -adrenoceptor agonist dexmedetomidine in a focal model of cerebral ischemia. *Anesthesiology*. 1993;79:306-12.
36. Chen Y, Zhao Z, Code WE, et al. A correlation between dexmedetomidine-induced biphasic increases in free cytosolic calcium concentration and energy metabolism astrocytes. *Anesth Analg*. 2000;91:353-7.
37. Talke P, Chen R, Thomas B, et al. The hemodynamic and adrenergic effects of perioperative dexmedetomidine infusion after vascular surgery. *Anesth Analg*. 2000;90:834-9.
38. Steen PA, Milde JH, Michenfelder JD. No barbiturate protection in a dog model of complete cerebral ischemia. *Ann Neurol*. 1979;5:343-9.
39. Elsaesser RS, Schröder M, Zausinger S, et al. EEG burst suppression is not necessary for maximum barbiturate protection in transient focal cerebral ischemia in a rat. *J Neurological Sci*. 1999;162:14-9.
40. Xue Q, Yu B, Wang Z, et al. Effects of ketamine, midazolam, thiopental, and propofol on brain ischemia injury in rat cerebral cortical slices. *Acta Pharmacol Sin*. 2004;25:115-20.
41. Lianhua C, Qinyan G, Changsi X. Effects of propofol, midazolam and thiopental sodium on outcome and amino acids accumulation in focal cerebral ischemia-reperfusion in rats. *Chin Med J*. 2003;116:292-6.