

POST TRAUMATIC PROTECTION OF BRAIN IN RATS USING RAT TERMOHYPOTHERM DEVICE

Raşit AHISKA, Hüseyin DEMİREL*, Bilgehan ERKAL
Gazi University Technical Education Faculty, 06500, Besevler, Ankara, TURKEY
e-mail:hdemirel@gazi.edu.tr

ABSTRACT

In this study, the protective effects of hypothermia after trauma in the brain of rats have been investigated. An apparatus called "Rat Thermohypotherm Device" has been designed and implemented to induce hypothermia. To experiment with the device, rats have been separated in two groups. Experimental traumatic brain injury has been induced to the both groups. Hypothermia is applied only one of these two groups. As a result, it has been observed that the hypothermia therapy had reduced the mortality rate by 80%.

Key Words: Hypothermia, thermoelectric, brain trauma, mortality rate

RATLARDA TRAVMA SONRASINDA BEYNİN RAT TERMOHİPOTERM CİHAZI KULLANILARAK KORUNMASI

ÖZET

Bu çalışmada ratlarda travma sonrasında beynin hipotermiya işlemi gerçekleştirilerek korunup korunamayacağı hususu araştırılmıştır. Hipotermiyayı gerçekleştirmek için "Rat Termohipoterm cihazı" tasarlanıp uygulanmıştır. Cihazı denemek amacıyla, ratlar 4 gruba ayrılmış ve iki gruba deneysel beyin travması uygulanmıştır. İki gruptan sadece bir gruba hipotermiya uygulanmıştır. Sonuçta görülmüştür ki hipotermiya, ratlarda ölüm oranını %80 azaltmıştır.

Anahtar Sözcükler: Hipotermiya, termoelectric, beyin travması, ölüm oranı

1. GİRİŞ

Dünyada trafik kazaları ve kaza sonucunda insanların ölmesi ve sakatlanması büyük bir sorun oluşturmaktadır. Trafik kazalarında en çok beyin travmaları ve bu travmalar sonrası sakatlıklar yer almaktadır. Bunun içindir ki, Dünya Nörolojisinde travma sonrası beyin tedavi ve korunma yöntemleri üzerinde geniş çapta araştırmalar gerçekleştirilmektedir (1-6). Son yıllarda tüm dünyada ve çok kısıtlı olarak ülkemizde travma sonrası tedavide serebral hipotermiya kullanılmaktadır. Hipotermiya ve özellikle lokal serebral hipotermiya ile beynin korunabilmesinin nedeni beynin sıcaklığı 20°C ve 30°C dereceye kadar düşürüldüğünde hiç bir komplikasyon oluşmaması ve beynin bir alt fonksiyonel rejime geçerek travma sonrası ikinci darbe denilen ölümcül etkilerden korunmasıdır.

1950 yılından günümüze kadar geçen süre boyunca Dünya tıbbında, özellikle Nörolojide hipotermiyanın önemli bir tedavi yöntemi olduğu ortaya çıkmıştır. Hipotermiyanın müsbet etkileri dünya bilimi tarafından kanıtlanmış ve kabul edilmiş bulunmaktadır. Bu konudaki yayınlara baktığımızda araştırmalar iki yönde yoğunlaşmaktadır. Birincisi, hipotermiya teknikleri, bu

1. INTRODUCTION

Death and injury of humans, as a consequence of traffic accidents, is a big problem in the world. Traumatic brain injury is seen very frequently after the accidents. For this reason, comprehensive research activities are carried out on the treatment of traumatic brain injuries (1-6). For the last years, cerebral hypothermia has being used widely as a post-traumatic treatment method. Hypothermia, especially local cerebral hypothermia, can be used for the post-traumatic treatment of brain injury, because under a temperature level between 20°C and 30°C the brain is changed to a lower functional mode and so there will not be any complications in the brain tissues and any mortal effects known as secondary impact may be avoided.

The research made on hypothermia from the 1950s to date, has proved that it is an important treatment method especially in the field of Neurology. The positive effects of hypothermia have been proven and now it is a widely accepted medical treatment method all around the world. Publications on this technique essentially focus on two points. The first point is the development of new hypothermia techniques and their applications. This study contributes towards these efforts by presenting an original

tekniklerin geliştirilmesi ve yeni tekniklerin uygulamaya konulması üzerinde yapılan çalışmalardır. Bu bakımdan çalışmada kullanılan elektronik soğutma ve ölçüm sistemi orjinal olup çok pratiktir. Termoelektrik mikromodüle kafayı dışarıdan soğutarak (deneyde kulak soğuma hızı yaklaşık $0,2^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ olarak gerçekleşmiştir) istenilen beyin sıcaklığına kolayca ulaşılabildiği tespit edilmiştir. Bunun için mikromodüle uygulanan DC akımın artırılması yeterlidir. Ayrıca mikromodüle uygulanan DC akımın yönü değiştirildiğinde mikromodül ısıtıcı gibi davrandığı için hayvanın beyni kolayca istenilen sıcaklığa kadar ısıtılabilir. Bu teknolojiyi kullandığımızda elde edilen en önemli sonuç ise hayvanların ister kafa derisinde, isterse hipotermiya sonrası durumlarda kesinlikle hiçbir komplikasyonun meydana gelmemesidir (11).

İkinci olarak, ister genel isterse lokal tip olsun hipotermiyanın çeşitli hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılması ve bu konuyla ilgili hayvansal ve klinik uygulamalar ve araştırmalar üzerinde yoğunlaşmaktadır (9-10). Yayınlarla bu açıdan baktığımızda yapılan bilimsel çalışmalardan beyni korumak ve yaşamı kurtarmak için daha çok genel hipotermiya uygulandığını görmekteyiz. Fakat bu yöntemin sınırlı ve tehlikeli olduğu da açıkça söylenilmektedir. Genel hipotermiya yüklemesi nedeniyle kalp krizlerine neden olabilmektedir. Lokal serebral hipotermiyanın daha pratik ve güvenilir olduğu dünyada bilim adamları tarafından kabul edilmesine rağmen bu yöntem yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bunun nedeni lokal serebral hipotermiyada kullanılan eski soğutma yöntemlerinin (buz, soğuk su, ıslak battaniye gibi) beyni kısa süre içerisinde gereken dereceye kadar soğutmakta yetersiz kalmasıdır.

Organizmayı dışardan soğutarak hipotermiyayı gerçekleştiren tekniklere baktığımızda, vücudu soğuk suyun içine daldırma veya kafaya buz koyma gibi çok ilkel ve pratik olmayan yöntemler kullanıldığını görmekteyiz. Günümüzde beyin hipotermiya işlemi, tüm vücudu soğuk suyun içine daldırarak gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemle beyin sıcaklığının çabucak istenilen sıcaklığa kadar düşürülmesi mümkün değildir. Çünkü beyni gereken sıcaklığa kadar düşürmek için vücudun uzun süre soğuk suyun içinde tutulması gerekmektedir. Bu durumda kalp yüklenmektedir ve tehlikeli komplikasyonlar meydana gelmektedir. Bu nedenle lokal serebral hipotermiya yöntemi ile beyni soğutmak çok önemlidir. Diğer taraftan kafaya buz koyarak yapılan lokal hipotermiyada ise istenen soğutma hızı ve sıcaklık düşüşü sağlanamamaktadır (7-8). Bu sebeple, dünyada hiçbir komplikasyon meydana getirmeyen ve çok pratik olan lokal serebral hipotermiya teknik ve yöntemleri üzerinde araştırmalar yapılmaktadır (9-10).

Termoelektrik soğutma oldukça düşük sıcaklıklara kadar gayet hızlı bir şekilde bunu yapabileceğine sahiptir. Aynı zamanda sıcaklıkların ve soğutma işlemlerinin kolay ve hassas bir şekilde kontrol edilmesi avantajına sahiptir. Dolayısıyla bu yeni tekniğin avantajları onu, lokal serebral hipotermiya teknikleri için uygun bir aday yapmaktadır.

Bu nedenlerden dolayı yarıiletken teknolojiye dayanan esnek veya esnek olmayan termoelektrik mikromodüllü

elektronik soğutma ve sıcaklık kontrol sistemi sağlamak için kolay ve güvenilir bir hipotermiya indüksiyon yöntemi. İstenilen beyin sıcaklıkları, termoelektrik modüller kullanılarak baş sağlanmaktadır. Bu çalışmada, kulak (beyin) soğutma hızı yaklaşık $0,2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ olarak hesaplanmıştır. Daha yüksek veya düşük soğutma hızları, basitçe termoelektrik mikromodülün DC akımını kontrol ederek elde edilebilir. Bu teknikte, başın kolayca istenilen sıcaklığa kadar ısıtılması için DC akımının yönünü değiştirerek mümkündür. Bu yöntemin sınırlı ve tehlikeli olduğu da açıkça söylenilmektedir. Genel hipotermiya yüklemesi nedeniyle kalp krizlerine neden olabilmektedir. Lokal serebral hipotermiyanın daha pratik ve güvenilir olduğu dünyada bilim adamları tarafından kabul edilmesine rağmen bu yöntem yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bunun nedeni lokal serebral hipotermiyada kullanılan eski soğutma yöntemlerinin (buz, soğuk su, ıslak battaniye gibi) beyni kısa süre içerisinde gereken dereceye kadar soğutmakta yetersiz kalmasıdır.

İkinci olarak, ister genel isterse lokal tip olsun hipotermiyanın çeşitli hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılması ve bu konuyla ilgili hayvansal ve klinik uygulamalar ve araştırmalar üzerinde yoğunlaşmaktadır (9-10). Yayınlarla bu açıdan baktığımızda yapılan bilimsel çalışmalardan beyni korumak ve yaşamı kurtarmak için daha çok genel hipotermiya uygulandığını görmekteyiz. Fakat bu yöntemin sınırlı ve tehlikeli olduğu da açıkça söylenilmektedir. Genel hipotermiya yüklemesi nedeniyle kalp krizlerine neden olabilmektedir. Lokal serebral hipotermiyanın daha pratik ve güvenilir olduğu dünyada bilim adamları tarafından kabul edilmesine rağmen bu yöntem yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bunun nedeni lokal serebral hipotermiyada kullanılan eski soğutma yöntemlerinin (buz, soğuk su, ıslak battaniye gibi) beyni kısa süre içerisinde gereken dereceye kadar soğutmakta yetersiz kalmasıdır.

Organizmayı dışardan soğutarak hipotermiyayı gerçekleştiren tekniklere baktığımızda, vücudu soğuk suyun içine daldırma veya kafaya buz koyma gibi çok ilkel ve pratik olmayan yöntemler kullanıldığını görmekteyiz. Günümüzde beyin hipotermiya işlemi, tüm vücudu soğuk suyun içine daldırarak gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemle beyin sıcaklığının çabucak istenilen sıcaklığa kadar düşürülmesi mümkün değildir. Çünkü beyni gereken sıcaklığa kadar düşürmek için vücudun uzun süre soğuk suyun içinde tutulması gerekmektedir. Bu durumda kalp yüklenmektedir ve tehlikeli komplikasyonlar meydana gelmektedir. Bu nedenle lokal serebral hipotermiya yöntemi ile beyni soğutmak çok önemlidir. Diğer taraftan kafaya buz koyarak yapılan lokal hipotermiyada ise istenen soğutma hızı ve sıcaklık düşüşü sağlanamamaktadır (7-8). Bu sebeple, dünyada hiçbir komplikasyon meydana getirmeyen ve çok pratik olan lokal serebral hipotermiya teknik ve yöntemleri üzerinde araştırmalar yapılmaktadır (9-10).

Termoelektrik soğutma oldukça düşük sıcaklıklara kadar gayet hızlı bir şekilde bunu yapabileceğine sahiptir. Aynı zamanda sıcaklıkların ve soğutma işlemlerinin kolay ve hassas bir şekilde kontrol edilmesi avantajına sahiptir. Dolayısıyla bu yeni tekniğin avantajları onu, lokal serebral hipotermiya teknikleri için uygun bir aday yapmaktadır.

Bu nedenlerden dolayı yarıiletken teknolojiye dayanan esnek veya esnek olmayan termoelektrik mikromodüllü elektronik soğutma ve sıcaklık kontrol sistemi sağlamak için kolay ve güvenilir bir hipotermiya indüksiyon yöntemi. İstenilen beyin sıcaklıkları, termoelektrik modüller kullanılarak baş sağlanmaktadır. Bu çalışmada, kulak (beyin) soğutma hızı yaklaşık $0,2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ olarak hesaplanmıştır. Daha yüksek veya düşük soğutma hızları, basitçe termoelektrik mikromodülün DC akımını kontrol ederek elde edilebilir. Bu teknikte, başın kolayca istenilen sıcaklığa kadar ısıtılması için DC akımının yönünü değiştirerek mümkündür. Bu yöntemin sınırlı ve tehlikeli olduğu da açıkça söylenilmektedir. Genel hipotermiya yüklemesi nedeniyle kalp krizlerine neden olabilmektedir. Lokal serebral hipotermiyanın daha pratik ve güvenilir olduğu dünyada bilim adamları tarafından kabul edilmesine rağmen bu yöntem yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bunun nedeni lokal serebral hipotermiyada kullanılan eski soğutma yöntemlerinin (buz, soğuk su, ıslak battaniye gibi) beyni kısa süre içerisinde gereken dereceye kadar soğutmakta yetersiz kalmasıdır.

Rat Termohipotermiya soğutma ve ölçüm sistemi geliştirilmiştir (11). Bu çalışmada, Rat Termohipotermiya cihazını kullanarak Wistar-Albino tipi ratlarda deneysel beyin travması sonrası beynin lokal serebral hipotermiya ile korunmasının incelenmesi yapılmıştır. Bir sonraki bölüm bu çalışmada kullanılan sistemin detaylarını verirken 3. bölüm sonuçları, 4. bölüm ise sonuçların yorumunu vermektedir.

2. YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu çalışmada, Wistar albino soyu genç erişkin erkek ratlar kullanılmıştır. Hayvanlar uygulamalara göre 4 gruba ayrılmıştır. Bunlarla ilgili detaylar Çizelge 1'de verilmiştir.

Table 1. Animal Groups and Treatment

Çizelge 1. Hayvan grupları ve yapılan uygulamalar

GROUPS/ GRUPLAR	NUMBER/ SAYI	APPLICATIONS / YAPILAN UYGULAMALAR
GROUP 1/ GRUP 1	10	Application of ether narcosis, measurement of ear and rectum temperatures and weight and beam-balance scores./ Eter narkozu verildi, kulak ve rektum sıcaklıkları, ağırlık ve denge skoru ölçüldü.
GROUP 2/ GRUP 2	10	Application of ether narcosis and local cerebral hypothermia, measurement of ear and rectum temperatures and weight and beam-balance scores/ Eter narkozu verildi, lokal serebral hipotermiya uygulandı, kulak ve rektum sıcaklıkları, ağırlık ve denge skoru ölçüldü.
GROUP 3/ GRUP 3	10	Application of ether narcosis and experimental traumatic brain injury, measurement of ear and rectum temperatures, weight, beam-balance scores and mortality rate./ Eter narkozu verildi ve deneysel kapalı kafa travması uygulandı, kulak ve rektum sıcaklıkları, ağırlık, denge skoru ve ölüm oranı ölçüldü.
GROUP 4/ GRUP 4	10	Application of ether narcosis, experimental traumatic brain injury and local cerebral hypothermia, measurement of ear and rectum temperatures, weight, beam-balance scores and mortality rate./ Application of ether narcosis, experimental traumatic brain injury and local cerebral hypothermia, measurement of ear and rectum temperatures, weight, beam-balance scores and mortality rate.

Hayvanları uyutmak için 5 L'lik bir kavanoz içine 5 ml. eter konuldu ve içine rat bırakıldı. Narkoz süresi 15 dakika olarak gerçekleştirildi. Kulak, rektum ve mikromodül üzerindeki sıcaklıkları ölçmek için özel hazırlanmış bakır konstantan termokupl seti kullanıldı (11). Ölçümler diferansiyel termokupl yöntemi ile yapılmıştır. Termokupullar ölçümlerden önce kalibre edilerek her defasında kontrol edilmiştir. Beyin sıcaklıklarını tespit etmek için termokupl, ratın kulak içine yerleştirildi. Termokupulların çıkışındaki gerilim hassasiyeti $\pm 0,5\%$ olan Gold Star marka multimetre ile kayıt edilmiştir. Daha sonra termokupl geriliminde ki her bir $40 \mu V$ 'luk gerilim farkının $1^{\circ}C$ 'lik bir sıcaklık farkına karşılık geldiği kabul edilerek santigrad cinsine çevrilmiştir. Bu yöntemle yapılan sıcaklık ölçümünün doğruluğu $\pm 0,1^{\circ}C$ dir.

section 4 provide the conclusion of this pages.

2. METHOD AND MATERIALS

In this work, Wistar-Albino type male adult rats have been used. Animals have been divided into four groups according to the applications, which are given in Table 1 in detail.

Animals have been put in a 5 l jar containing 5 ml of ether used for anesthesia. The duration of narcosis was 15 minutes. For the measurement of brain, rectum and micro module temperatures, a specially designed copper-constantan thermocouple sensor set have been used (11). Measurements have been made using differential thermocouple method. The thermocouples have been calibrated before each measurement. Brain temperatures have been measured from the ear of the rats. The output voltages from the thermocouples have been recorded by Goldstar brand digital multi-meter which have had an accuracy of $\pm 0.5\%$. The recorded voltages have been converted to temperature values knowing that every $40 \mu V$ change in the thermocouple voltage level represented $1^{\circ}C$ change in the temperature. The accuracy of temperature

Deneyler sırasında kulak ve rektum sıcaklıkları sürekli ölçülmüştür. Ratların ağırlıklarını tartmak için hassasiyeti 0,01 gram olan Sartorius marka dijital terazi kullanıldı.

Şekil 1'de beyin ve rektum sıcaklıklarının nasıl ölçüldüğü görülmektedir. Termoelektrik soğutucu olarak esnek mikromodül kullanılmıştır. Ayrıca sistemin blok diyagramı Şekil 2'de görülmektedir.

measurement with this technique is $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$.

The brain and rectum temperatures have been measured continuously from the outset till to the end of the experiment. The weight of rats has been taken using Sartorius brand digital laboratory scale, which has an accuracy of ± 0.01 g.

Figure 1 represents the way of brain and rectum temperature measurements. Flexible thermoelectric micromodule has been used as the cooling device. The block diagram of the system is presented in Figure 2.

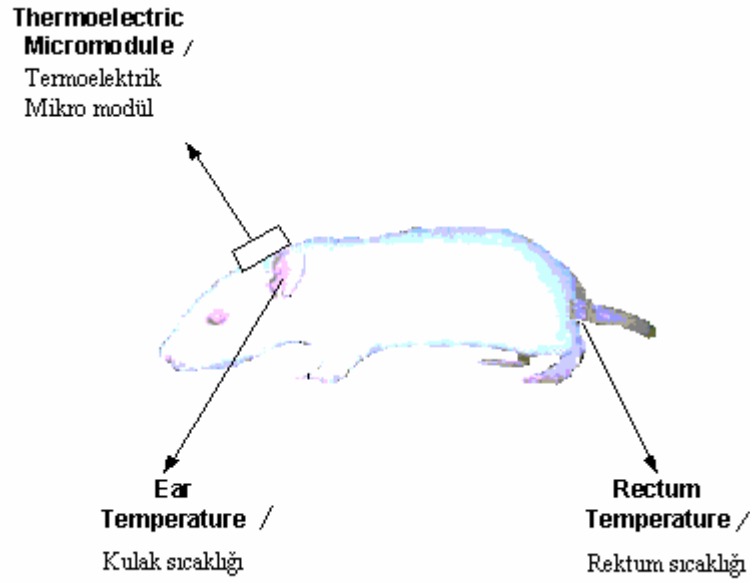


Figure 1. The diagram shows how the thermoelectric module has been located over the rat and how the ear and rectum temperatures have been measured

Şekil 1. Termoelektrik modülün nasıl yerleştirildiğini, kulak ve rektum sıcaklıklarının nasıl ölçüldüğünü gösteren diyagram

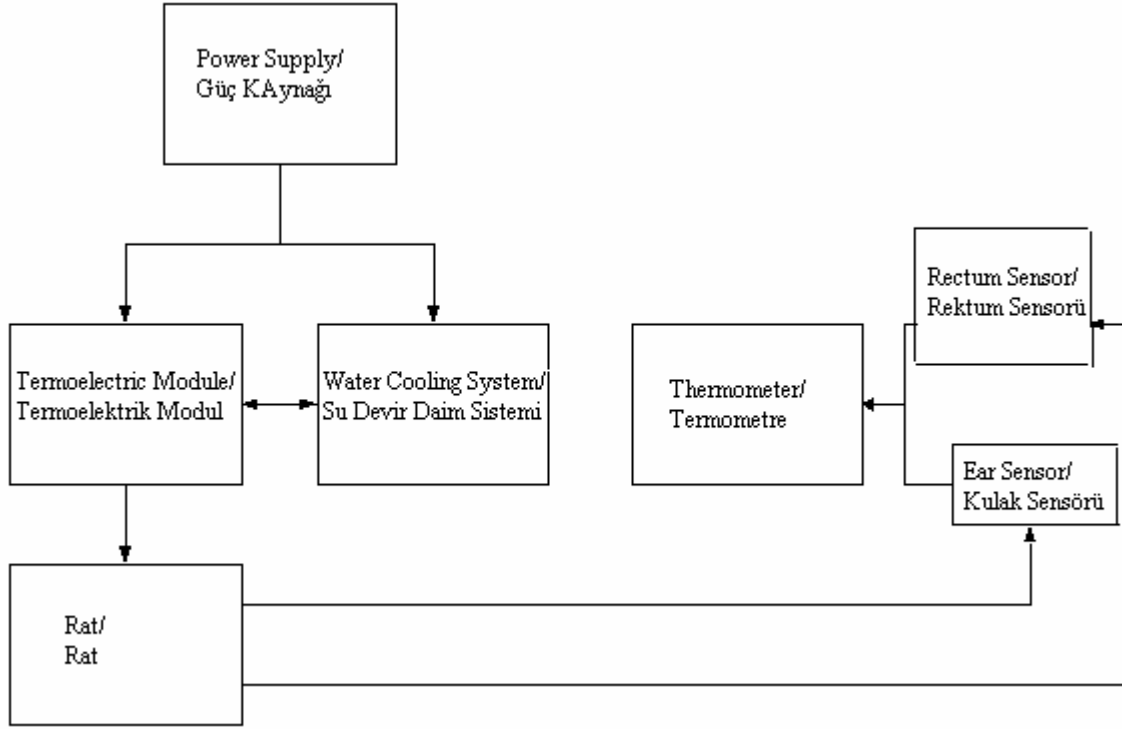


Figure 2. The schematic diagram of experimental system
Şekil 2. Deneysel sistemin blok diyagramı

Deneklerin beyin fonksiyonlarının ölçülmesi için Guy L.Clifton ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiş, (Beam-balance) denge skor ölçüm yöntemi ve teknikleri kullanılmıştır (7). Skor ölçümü için kullanılan skor-davranış çizelgesi Çizelge 2.'de verilmiştir. Bütün testler bir video kamera ile kaydedilmiş ve daha sonra üzerinde incelemeler yapılmıştır (7,12).

The brain functionality of rats has been measured using the beam-balance score measurement methods, which were developed by Guy L. Clifton et al (7). Score-behavior table used for beam-balance and it is presented in Table 2. All the tests for beam-balance score measurement have been recorded with a video camera and evaluation has been made on them (7, 12).

Table 2. Score-Behavior Table
Çizelge 2. Skor ve davranış çizelgesi

Score/ Skor	Behavior/ Davranış
1	If the rat can stand over the beam steadily and makes balanced motions freely/ Ayaklar çita üzerideyken sabit denge durumunda bulunması ve çita üzerinde dengeli serbest hareket yapabilmesi
2	If the rat can stand over the beam but trembles and can make motions only by suspending to the beam/ Çita üzerinde sarsılması ve çitanın kenarlarına tutunarak hareket yapabilmesi.
3	If the rat can not make any motion and slip-off from the beam on one or more of its paw/ Bir ve daha fazla ayağının çitadan kayması ve çita üzerinde hareket yapamaması
4	If the rat can not stay balanced over the beam and its attempts to catch from the sides of beam are ended without success/ Çita üzerinde dengeyi sağlayamaması ve çitanın kenarlarından tutunma teşebbüsü fakat başaramaması
5	If the rat attempts to suspend over the beam but fails/ Çitaya asılma teşebbüsü fakat başaramaması
6	If the rat can not show any attempt to suspend and can not stay balanced over the beam and falls down/ Hiçbir asılma ve denge sağlama hareketini yapmadan çitadan düşmesi
7	If the rat represents no motion except respiration./ Solunum dışında hiçbir harekette bulunmaması

Beyin hipotermiyasını gerçekleştirmek için yarıiletken termoelektrik esnek mikromodül kullanılmıştır. Mikromodüle uygulanan akım DC 21A, gerilim ise DC 0,4V'tur. Mikromodülün boyutları 3x1,5= 4,5 cm²'dir. Oda sıcaklığı 21°C olan bir ortamda mikromodül

Brain hypothermia has been induced by a flexible semiconductor thermoelectric cooler. A current of 21 A under 0.4V has been applied to the thermoelectric micromodule. The dimensions of the micromodule were 3cmx1.5cm (contact surface of 4.5 cm²), with an ambient

çalıştırıldığında 1 dakika sonra üzerindeki sıcaklık -12,5°C ye kadar düşmektedir. Hayvanın kafasıyla temasta iken mikromodülün üzerindeki sıcaklık 2,5°C ile 0°C arasında seyir etmektedir.

Lokal serebral hipotermiya, travmadan 5 dakika sonra başlatılıp 1 saat sürmüştür. Hayvanlarda deneysel kapalı kafa travmasını oluşturmak için uyutulmuş ratın kafasına 60 cm'lik yükseklikten tam kafa platosu üzerine 310 gramlık bir ağırlık düşürülmüştür. Ağırlık bir cam boru içinden hareket ettirilmiştir. Ayrıca travma olup olmadığını tespit etmek için ölen ratların otopsileri yapılmıştır (7,12).

Tüm gruplarda uygulamalardan sonra 5 gün boyunca ölçümler takip edilmiştir. 3. ve 4. gruptaki deneklerin uygulamalar sonrası ölüm oranları elde edilmiştir. Elde edilen tüm veriler bilgisayarda istatistiksel analize tabi tutulmuştur.

3. BULGULAR

Araştırmamızda ratların ağırlıklarının 275 gram ile 220 gram, rektum sıcaklıklarının 32°C ile 36°C ve kulak sıcaklıklarının ise 32°C ile 36°C derece arasında değiştiğini önceden tespit ederek göstergeleri yaklaşık aynı olan hayvanlar bir gruba ayrılmıştır. Tüm gruplarda 5 günlük takip sonuçlarına göre 1. gruptaki (bu gruba kontrol grubu da denilebilir) tüm hayvanlarda eter narkozu sonucu kulak ve rektum sıcaklıklarında, skor ve ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Narkozdan sonra ilk 30 dakika sonunda skor 7'den 1'e (normale) geldiği tespit edilmiştir (P < 0.001). Bu durum Şekil 3'de gösterilmektedir. Elde edilen aşağıdaki grafiklerdeki her bir nokta 10 adet rat üzerinde yapılan deneyin ortalama değerini simgelemektedir.

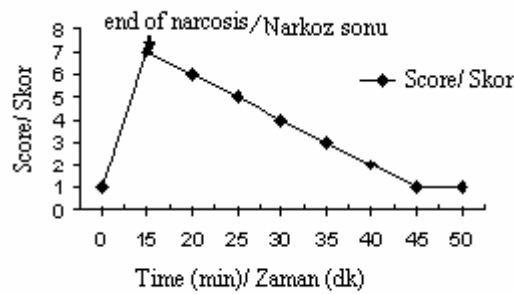


Figure 3. The graph shows the effect of narcosis on score.
Şekil 3. Narkozun skor üzerindeki etkisini gösteren grafik

Grafiklerdeki veri noktaları deney esnasında en az 10 farenin gösterdiği ortalama değeri temsil etmektedir. Ether narkozu 15 dakikalık bir süre için uygulanmıştır. Narkozun etkisi 30 dk sürmüş ve bundan sonra skor normale dönmüştür (Beam-balance skoru = 1).

Şekil 4.'de görüldüğü üzere 2. gruptaki tüm

temperature of 21°C, micromodule can decrease its cold side temperature down to -12.5°C in a minute. The temperature of the micromodule changes between 2.5°C and 0°C, when it is in direct contact with the head of the rat.

Local cerebral hypothermia has been initiated 5 minutes after the traumatic brain injury and has been lasted for 1 hour. In order to induce a traumatic brain injury to the rats, a mass of 310 g has been put to free fall from a height of 60 cm to the head of the anesthetized rat. The mass has been put to fall within a glass tube. The post-mortem examinations of the dead rats have been made in order to determine whether they had traumatic brain injury or not (7, 12).

In all groups, the subjects have been monitored for a period of five days. The mortality rates of the subjects of the third and the fourth group have been calculated. All the collected data has been analyzed statistically.

3. PRIMARY RESULTS

In this study, the weight of the rats has been found to be within the range of 220 g and 275 g and the rectum temperatures has been found to be between 32°C and 36°C, the ear temperatures has been found to be varying between 32°C and 36°C. Rats, which have had similar weight and temperature variations have been put in the same group. According to the results of the first group obtained during 5-day monitoring period, (this group can be called as control group), all animals have showed no significant change in ear and rectum temperatures, beam-balance scores and weights statistically, which have been recorded after narcosis. At the end of the first 30 minute period after the narcosis started, the beam-balance scores have decreased from 7 to 1 (normal) (p<0.001) as shown in Figure 3. Every point in the graphs, represent the average of ten experiments that have been made.

Data points represent the mean value of at least 10 rats observed in the experiment. Ether narcosis has been applied for 15 minutes. The duration of narcosis has been 30 minutes and score has returned to normal (beam-balance score=1) after this period.

For every animal in the second group, ear temperatures

hayvanlarda 1 saatlik hipotermiya sonucunda kulak sıcaklığı 22°C'ye, rektum sıcaklığı ise 30°C'ye kadar düşmüştür ($P < 0.001$). Şekil 4'den de anlaşılacağı üzere, bir saatlik hipotermiya sonrası kulak sıcaklığı 35 °C den 22 °C ye, rektum sıcaklığı 35 °C den 30 °C ye düşerken mikromodülün sıcaklığı -10 °C den 0 °C ye yükselmiştir. Bu grafikten anlaşıldığı üzere rat termohipotermiya cihazı tarafından meydana getirilen hipotermiya ratın vücut ve beyin sıcaklıkları arasında bir fark meydana gelmesine neden olmuştur.

have been decreased to 22°C and the rectum temperatures have been decreased to 30°C after one hour duration of hypothermia ($p<0.001$) as shown in Figure 4. As it may be observed from Figure 4, by the application of hypothermia for 1 hour, ear (brain) temperature has dropped from 35°C to 22°C and rectum temperature has dropped from 35°C to 30°C, while the temperature of the micro-module has increased from -10°C to 0°C. It is clear from this graph that the hypothermia, which has been induced using Rat Thermohypotherm device, develops a temperature difference between the body and brain temperatures of the rats.

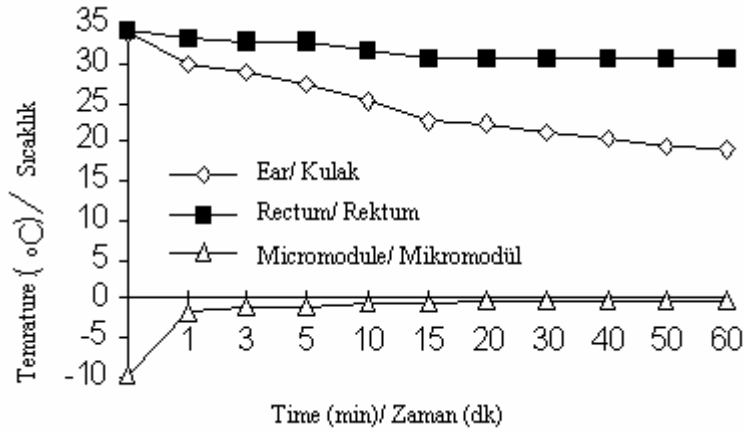


Figure 4. The graph shows the thermoelectric module, ear (brain) and rectum temperatures vs. time.

Şekil 4. Termoelektrik modül, kulak ve rektum sıcaklıklarının zamana göre değişimini gösteren grafik

Şekil 5'de görüldüğü üzere hipotermiya sonrasındaki 25 dakika süresince skorda 6'dan 1'e kadar artış oluşmuştur ($P < 0.001$). Grafikde görüldüğü üzere hayvanlar hipotermiya bittikten sonra 25 dakika içinde normale dönmüşlerdir (Denge skoru = 1) hipotermiya sonrası deride veya denge skorlarında anormal bir komplikasyon gözlenmemiştir.

During the 25 minutes of post-hypothermia period, a decrease from 6 to 1 has been observed in beam-balance scores ($p<0.001$) as shown in Figure 5. As Figure 5 reveals, animals have returned to their normal scores (beam-balance score=1) in 25 minutes after the hypothermia has ended. No post-hypotherm complications have been observed in either skin or beam-balance scores of rats.

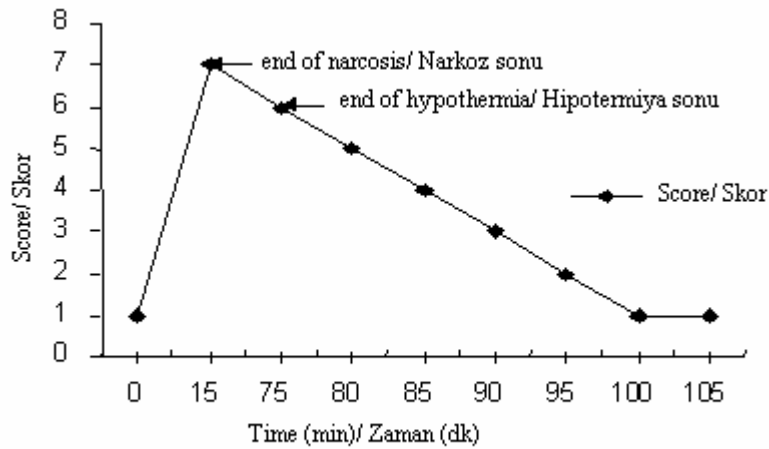


Figure 5. The graph shows the post-narcosis and post-hypotherm beam-balance score vs. time

Şekil 5. Narkoz ve hipotermiya sonrası beam-balance skorunun zamana göre değişimini gösteren grafik

Deneklerin tümünde 5 günlük ölçümler sonucu lokal serebral hipotermiya sonrası kulak ve rektum sıcaklıklarında, skor ve ağırlıklarında istatistiksel olarak bir değişim gözlenilmemiştir (Şekil 6 ve Şekil 7).

Şekil 6'da görüldüğü gibi beyin travmasından sonra herhangi bir tedavi uygulanmamış ratlarda denge skoru 6 olurken hipotermiya tedavisi uygulanmış ratlarda ilk günün sonunda denge skoru 5 olmuştur. 4. günün sonunda tedavi edilmemiş ratlarda denge skoru 3 de sabit kalmışken hipotermiya tedavisi uygulanmış ratlarda denge skoru 2 de kalmıştır.

Şekil 7'deki grafikten açıkça anlaşıldığı üzere beyin travması sonrasında tedavi edilmemiş ratlarda ağırlık kaybı hipotermiya tedavisine tabi tutulmuş ratlara göre daha hızlı ve daha derin olmuştur. Tedavi edilmemiş ratlarda ağırlık artışı 3. günde başlamış ve ortalama ağırlıkları 5. gün sonunda 210 grama ulaşmıştır. Tedavi edilmiş ratlarda ağırlık artışı 2. günde başlamış ve ortalama ağırlıkları 5. gün sonunda 230 grama ulaşmıştır.

In the all subjects of this experiment, no change in the ear and rectum temperatures, beam-balance scores and weights have been observed statistically for the 5-days monitoring period following the application of local cerebral hypothermia as shown in Figure 6 and Figure 7.

As seen in the graph, given in Figure 6, the rats without any treatment after traumatic brain injury have showed a beam-balance score of six, while the rats with hypothermia treatment has showed a score of five at the end of the first day. At the end of the fourth day, rats without any treatment have fixed their scores at three, while the rats with hypothermia treatment have fixed their scores at two.

As it can clearly be seen from Figure 7, after traumatic brain injury, the weight loss in the rats without any treatment has been faster and deeper than the weight loss in the rats treated with hypothermia. An increase in the weight of rats without any treatment has begun after the third day and they have reached an average weight of 210 g at the end of the fifth day. An increase in the weight of rats that had been treated with hypothermia has begun after the second day and they have reached an average weight of 230 g at the end of the fifth day.

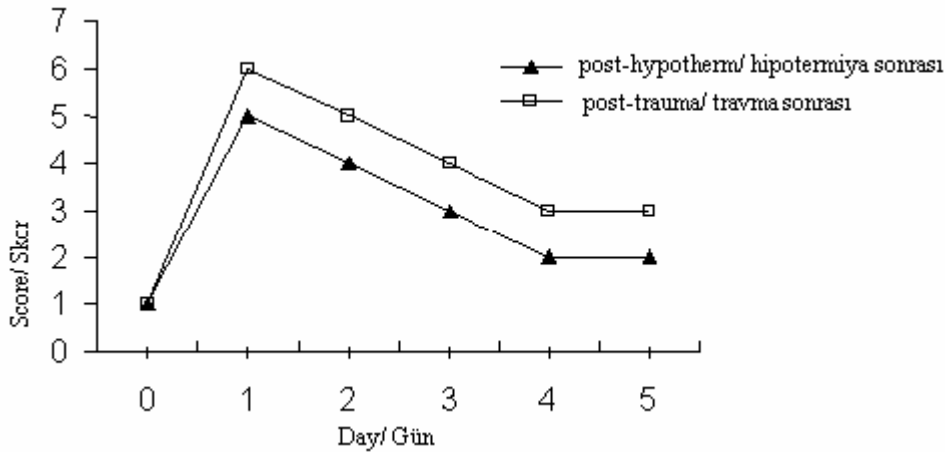


Figure 6. The graph shows the post-traumatic and post-hypotherm change in beam- balance scores in 5-days monitoring period
Şekil 6. Travma ve hipotermiya sonrası 5 günlük izleme periyodu içerisindeki beam-balance skorlarındaki değişim

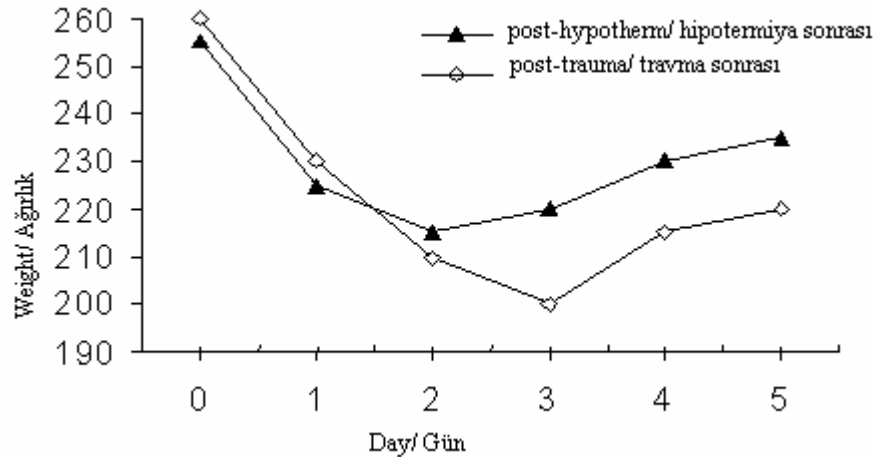


Figure 7. The graph shows the post-traumatic and post-hypotherm change in weight in 5-days monitoring period
Şekil 7. Travma ve hipotermiya sonrası 5 günlük izleme periyodu içerisindeki ağırlıklardaki değişim

3. gruptaki deneklerde, deneysel kapalı kafa travması sonrası kulak ve rektum sıcaklıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmezken denge skorlarında ve ağırlıklarında anlamlı bir düşüş oluşmuştur ($P < 0.001$). Travmadan sonra 5 gün süresince ölen hayvanların ölüm oranı % 50 olarak tespit edilmiştir ($P < 0.01$).

4. gruptaki deneklerde, deneysel beyin travmasından 5 dakika sonra 1 saat boyunca lokal serebral hipotermiya uygulanarak ratların kulak sıcaklıkları 22°C 'ye, rektum sıcaklıkları ise 30°C 'ye kadar düşürüldü ($P < 0.001$). Daha sonraki 5 günlük ölçüm sonuçlarına göre kulak ve rektum sıcaklıklarında istatistiksel olarak bir fark gözlenmezken denge skorlarında ve ağırlıklarında ise anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($P < 0.01$). Ancak 4. gruptaki hayvanlarda 3.günden itibaren skor ve vücut ağırlıklarındaki azalma, 3. gruptaki hayvanlara göre, istatistiksel olarak daha az olmuştur ($P < 0.01$). Bu grupta 5 gün sonra ölen ratların oranı % 10 olmuştur ($P < 0.01$).

4. SONUÇLAR

Çalışmada elde edilen sonuçlara göre eter narkozu ratların kulak ve rektum sıcaklıklarında hiçbir değişiklik meydana getirmemiştir. İlk 30 dakika hariç narkoz sonrası süresince hayvanlarda beyin performanslarında ve vücut ağırlıklarında da değişiklik meydana gelmemiştir. Sadece lokal serebral hipotermiyayı uyguladığımız 2. gruptaki ratların da 1. gruptaki ratlarda olduğu gibi ilk 25 dakika hariç hipotermiya sonrasında skor ve vücut ağırlıklarında değişiklik meydana gelmemiştir. Başka bir deyişle 20°C - 22°C 'ye kadar beyinleri soğutulan hayvanlarda hiçbir komplikasyon gözlenmemiştir. Kulak ve rektum sıcaklıkları normale dönmüştür. Ayrıca mikromodülün kafayla temasından sonra ratların kafa derisi üzerinde hiçbir bozulma tespit edilmemiştir.

3. gruptaki ratlarda deneysel beyin travması sonrasında kulak ve rektum sıcaklıklarında değişim olmazken skor ve vücut ağırlıklarında önemli bir azalma gözlenmiştir. Bu gruptaki ölüm oranı %50 (5 ölü) olmuştur. Aynı beyin travmasını geçiren 4. gruptaki ratlarda travmadan 5 dakika sonra 1 saatlik lokal serebral hipotermiya uygulaması sonrasında kulak sıcaklıkları 20°C ile 22°C 'ye, rektum sıcaklıkları ise 30°C ile 31°C 'ye kadar düşürülmüştür. Daha sonra kulak ve rektum sıcaklıklarının normale döndüğü gözlenmiştir. Bu gruptaki ratlarda skor ve vücut ağırlıklarında önce bir düşüş ve daha sonra ise normale dönüş tespit edilirken ölüm oranı sadece %10 (1 ölü) olmuştur. Bu sonuçlara göre beyin hipotermiyasının koruyucu rolünün önemli olduğunu söyleyebiliriz.

Herhangi bir tedavi almamış olan 3. gruptaki ratlarda ölüm oranı %50 olurken, travma sonrası hipotermiya tedavisi almış olan 4. grup ratlarda ölüm oranı %10'a kadar düşmüştür (önemli bir azalma sağlanmıştır). Tüm bu bulgular ışığında, elektronik Rat Termohipotermiya sistemini kullanarak beyin hipotermiyasının mümkün olduğu ve bu yöntemle elde edilen lokal beyin

In the subjects of the third group, no significant change in ear and rectum temperatures have been observed statistically following the application of experimental traumatic brain injury, but a significant increase in beam-balance scores and decrease in the weight of rats has been observed ($p < 0.001$). After traumatic brain injury, mortality rate in 5 days has been observed as 50% ($p < 0.01$).

In the subjects of the fourth group, following the application of experimental traumatic brain injury, the brain temperatures of the rats have been decreased to 22°C and rectum temperatures have been decreased to 30°C by the application of local cerebral hypothermia for a duration of an hour ($p < 0.001$). According to the measured results of 5-days monitoring period, no change in ear and rectum temperatures have been observed, but a significant decrease in beam-balance scores and weight of rats has been observed ($p < 0.01$). However, the animals in the fourth group has showed a relatively lower decrease in beam-balance scores and weight compared to the animals in the third group, at the end of the third day ($p < 0.01$). The mortality rate in this group has been observed as 10% after the 5-days monitoring period.

4. CONCLUSIONS

According to the results of this study, ether narcosis does not affect the ear (brain) and rectum temperatures of rats. Also animals have showed no change in their brain performance and body weight during post-narcosis period except the first 30 minutes. The rats in the second group, where only local cerebral hypothermia has been applied, showed no change in balance scores and body weights like the rats in the first group. In other words, no complications have been observed in the animals whose ear (brain) temperatures has been decreased to 22°C - 20°C . Ear (brain) and rectum temperatures have restored to normal values, after hypothermia. No abnormality have been observed at the scalp skin of the rats, where the micromodule had contacted.

The rats in the third group have showed no change in the ear (brain) and rectum temperatures, but a remarkable decrease have been observed in their beam-balance scores and body weights, after experimental traumatic brain injury has been applied. The mortality rate in this group has been observed as 50% (5 dead in 10 rats). The rats in the fourth group, which have had the same experimental traumatic brain injury as the rats in the third group, which have also been exposed to a one hour lasting hypothermia treatment, which has been initiated 5 minutes after the injury whose ear (brain) temperatures have been decreased to 20°C - 22°C and the rectum temperatures have been decreased to 30°C - 31°C . After hypothermia, a restoration in ear (brain) and rectum temperatures of rats has been observed. The rats in this group have showed a decrease in their beam-balance scores and body weights at first but then these parameters have returned to their normal values. The mortality rate in this group has been observed as 10% (1 dead in 10 rats). According to these results, it can be said that brain hypothermia is an important treatment method for traumatic brain injury.

While the mortality rate of the third group which has not

hipotermiyasının, beyin travması sonrasında bir tedavi ve koruma unsuru olarak tıp dünyasında gereken yeri mutlaka alacağı sonucu çıkarılabilir.

been given any treatment after injury has been 50%, it has been reduced to 10% (a significant reduction) in the fourth group which has been given hypothermia treatment after injury. So, the results of this project has proved the electronic Rat Thermohypotherm system as an important tool for the practical application of local cerebral hypothermia, which has been accepted as a reliable and practical treatment method for traumatic brain injury all around the world.

KAYNAKLAR/ REFERENCES

1. Mellergard, P., Nordstrom, C.H., Christensson, M., "A method for monitoring intracerebral temperature in neurosurgical patients", *Neurosurgery*, 4:654-657 (1990).
2. Mellergard, P., "Changes in human intracerebral temperature in response to different methods of brain cooling", *Neurosurgery* 6:671-677 (1992).
3. Croughwell, N., Smith, L.R., Quill, T., Newman, M., Greeley, W., Kern, F., Lu, J., Reves, J.G., "The effect of temperature on cerebral metabolism and blood flow in adults during cardiopulmonary bypass", *J Thorac Cardiovasc Surg*, 3:549-554 (1992).
4. Ohta, T., Sakaguchi, I., Dong, L.W., Nagasawa, S., Yasuda, "A Selective cooling of brain profound hemadilution in dogs", *Neurosurgery*, 6:1049-1054 (1992).
5. Clifton, G., "Hypothermia and severe brain injury", *J Neurosurg*, 4:718-719 (2000).
6. Plesnila, N, Muller, E, Guretzki, S, Ringel, F, Staub, F, Beathmann, A., "Effect of hypothermia on the volume of rats glial cells", *J Physiol*, 1:155-162 (2000).
7. Clifton, G.L., Jiang, J.Y., Lyeth, B.G., Jenkins, L.W., Hamm, R.J., Hayes, R.L., "Marked protection by moderate hypothermia after experimental traumatic brain injury", *J Cereb Blood Flow Metab*, 1:114 -121(1991).
8. Clifton, G.L., Allen, S., Berry, J., Koch, S.M., "Systemic hypothermia in treatment of brain injury", *J Neurotrauma Suppl*, 2:487-495 (1992).
9. Ovul, I., Nadirzade, R.S., Oner, K., Nadirzade, S.M., "A method for monitoring intracerebral temperature in neurosurgical patients", *Technology-Surgical Approaches*, 3:354 (1997).
10. Ovul, I., Nadirzade, R.S., Oner, K., Nadirzade, S.M., "A new technique for brain hypothermia", *Technology-Surgical Approaches*, 3:353 (1997).
11. Demirel, H., Ahiska, R., "Microcontrolled Based Rat Termohypotherm System", *3. International Advanced Technologies Symposium*, Ankara, 165-173 (2003).
12. Adamchik, Y., Frantseva, M.V., Weisspapir, M., Carlen, P.L., Perez Velazquez, J.L., *Methods to induce primary and secondary traumatic damage in organotypic hippocampal slice cultures*, *Brain Research Protocols*, 153-158 (2000).
13. Kapıdere, M., Ahiska, R., Güler, İ., *Mikrodenetleyici Kontrollü Termohipoterm Tıp Cihazı*, *Biyomut*, 209-214 (2002).