백서에서 일시적인 전뇌허혈시 정맥마취제의 뇌보호작용에 관한 연구

부산대학교 의과대학 마취과학교실

권재영 · 전재휴 · 정규섭 · 김인세 · 백승완 · 김해규

= Abstract =

Neuroprotective Effects of Propofol, Ketamine and Propofol-ketamine after Transient Forebrain Ischemia in the Rat

Jae Young Kwon, M.D., Jae Hyu Jeon, M.D., Kyoo Sub Chung, M.D.
Inn Se Kim, M.D., Seong Wan Baik, M.D., and Hae Kyu Kim, M.D.

Department of Anesthesiology, College of Medicine, Pusan National University, Pusan, Korea

Background: Intravenous anesthetics such as propofol and ketamine have been known to have neuroprotective effects. However, the combination of these drug is not known. This study was conducted to determine the neuroprotective effects of propofol, ketamine or both after transient forebrain ischemia.

Methods: Twenty Sprague-Dawley rats (250-300 gm) were used. Anesthesia was induced with 4% isoflurane in oxygen and then maintained with 1-2% isoflurane in oxygen. Ischemic injury was induced by 10 minutes of both common carotid artery ligation and hypotension (MAP < 50 mmHg). All rats were randomly divided into four groups: group I; control group; group II; ketamine 10 mg/kg was administered 10 minutes before injury; group III; propofol (1 mg/kg/min) was administered until EEG isoelectricity; and group IV; ketamine 10 mg/kg and propofol 1 mg/kg/min was administered. The Rectal temperature was maintained at 38°C. After forebrain ischemia, neurologic scores were estimated at 1 hr, 2 hrs, 1 day and 2 days after recovery. The brain was removed 3 days after and stained with H-E stain.

Results: Neurologic and histologic scores of group II, III, IV were significantly lower than that of group I. However, there were no significant difference between group II, III and IV.

Conclusions: Ketamine and propofol have neuroprotective effects in transient forebrain ischemia in rats. However, the combination of propofol and ketamine did not show any synergistic or additive effects. (Korean J Anesthesiol 2001; 40: 238 ~ 243)

Key Words: Animal: rats. Anesthetics, intravenous: ketamine; propofol. Brain: ischemic injury.

논문접수일 : 2000년 12월 8일

책임저자 : 권재영, 부산광역시 서구 아미동 1-10, 부산대학병원 마취과, 우편번호: 602-739

Tel: 051-240-7391/7399, Fax: 051-242-7466

석사학위 논문임.

서 론

뇌허혈은 뇌동맥류 및 외상 등의 수술시 일시적 혈류차단으로 인해 야기될 수 있다.¹⁾ 뇌허혈에 의해 뇌세포의 산소공급이 차단되고 세포내 에너지공급이 차단되어 세포막의 에너지 의존성 이온펌프의 기능이 정지되어²⁾ 세포내 칼슘농도가 증가되는데 이러한 칼슘에 의해 단백질 분해 효소, 지방분해 효소들이 활성화되어 신경세포의 비가역적 손상을 일으키게 된다.³⁾ 이외에도 흥분성 신경전달 물질이나 free radical 등이 작용하여 이차적인 재관류 손상을 야기하게 된다.^{4,6)} 이러한 뇌신경 손상을 방지하기 위해 저체온법, 정맥마취제, 흥분성 신경전달 물질 억제제인 glutamate 차단제 등 여러 방법이 사용되어져 왔다.⁷⁻¹⁰⁾

정맥마취제인 ketamine은 glutamate 수용체인 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체 차단작용이 있는 약물로서 뇌허혈시 glutamate에 의한 신경손상 방지에 어느 정도 효과가 있다고 보고되었다.¹¹⁾ Propofol은 barbiturate와 비슷한 정도로 뇌대사를 감소시키고 활성기 산소를 방출시키는 효과가 있다고 하였다.¹²⁾ 그러나 이 두 약물을 함께 투여했을 때 상승 효과가 있는지에 대한 연구는 없다.

이에 저자는 백서에서 일시적 전뇌허혈(forebrain ischemia)을 야기하고 허혈 후 신경손상의 방지법을 알아볼 목적으로 ketamine, propofol 그리고 두 약제의 혼합정주를 통한 허혈 후 신경학적 검사, 조직학적 검사 등을 실시하였다.

대상 및 방법

암수 구별 없이 체중 250-300 gm의 Sprague-Dawley계 백서 20마리를 사용하였다. 모든 백서는 실험당일까지 자유로이 물과 먹이를 섭취하게 하였다.

특별히 고안된 플라스틱 박스에 백서를 넣어 산소 4 L/min과 4 vol% isoflurane으로 마취유도하고 특별히 고안된 기관 삽관용 튜브(16G Polyethylene 카테터)와 후두경으로 기관삽관을 시행한 후 설치류용 인공 호흡기(Harvard Rodent ventilator)에 연결하여 조절 호흡을 실시하였다(1회 호흡량 2.5 ml, 호흡수 60회/분). 마취유지를 위해 산소 1 L/min와 1-2

vol% isoflurane을 지속적으로 투여하였다.

백서를 양와위로 하여 사지를 고정시키고 우측 서혜부를 절개하여 대퇴동맥과 대퇴정맥을 노출시킨 후 각각 polyethylene (PE)-50 카테터를 거치하여 지속적으로 동맥압을 측정하고 수액투여와 약물투여의 경로로 사용하였다. 전자체온계를 직장 내로 거치시키고 체온이 섭씨 38도가 되도록 온열기를 이용하여 유지하였다. 뇌파측정을 위해 양극성백금전극을 두 피에 거치하였다.

흉쇄유돌근 부위에 방정중의 절개를 하고 주위의 갑상선, 신경, 근막을 조심스럽게 박리하여 우측 및 좌측 총경동맥을 노출시켰다. 양측 총경동맥에 4-0 견 봉합사를 걸어두고 허혈시는 봉합사를 당겨 경동맥의 혈류를 차단하였다. 이때 trimethaphan을 함께 투여하여 평균동맥압을 40-50 mmHg로 유지하였다. 양측 총경동맥 차단 10분 후 견 봉합사를 제거하고 마취제 투여를 중지한 뒤 2 L/min의 산소를 흡입시키면서 백서를 마취에서 회복시키고 완전히 회복되면 발관을 하였다. 자발적으로 움직이는 백서는 발관후 조심스럽게 신경학적 양상을 1시간, 2시간, 1일, 2일 후에 관찰하고 미리 고안된 검사항목에 따라 점수화하여 기록하였다(Table 1).

각 약제에 따른 뇌신경 손상 방지 효과를 알아보기 위해 백서 20마리를 무작위로 5마리씩 4군으로 나누어 제1군(대조군)은 약제를 투여하지 않고 제2군(ketamine군)은 ketamine 10 mg/kg을 뇌허혈 10분전에 주입하였고 제3군(propofol군)은 뇌파가 등전위가 될 때까지 propofol 1 mg/kg/min을 뇌허혈 전에 투여하였다. 제4군(ketamine + propofol군)은 뇌허혈 10분전 ketamine 10 mg/kg주입 후 propofol을 뇌파가 등전위가 될 때까지 1 mg/kg/min의 속도로 주입하였다.

모든 군에서 허혈후 2일째의 신경학적 검사를 실시한 후 3일째에 4 L/min 산소 및 4 vol% isoflurane으로 백서를 마취후 가슴에 정중선의 절개를 한 후 관류고정을 실시하였다. 관류고정은 백서의 우심방이나 상대정맥을 절개하고 좌심실에 50 cc 주사기를 이용하여 생리식염수 50 cc를 투여하여 혈액을 씻어낸 후 50 cc의 10% formalin용액을 관류시켰다. 이후 백서의 뇌를 적출한 후 포르말린 용액에 고정 후 H-E 염색을 실시하였다. 조직을 해마가 잘 보이게 자른 후 해마의 CA3부위 및 뇌 피질 부위를 현미경으로 400배의 시야상에서 세포수를 세어 괴사된 세

Table 1. Neurologic Deficit Grading Scale

Assesment	Score	Maximum score
Level of consciousness		
Normal	0	
Clouded	5	
Stuporous	10	
Comatous	25	25
Respiration		
Normal	0	
Abnormal	5	5
Cranial nerves		
Normal	0	
Vision	1	
Light reflex	1	
Oculocephalic	1	
Corneal	1	
Facial sensation	1	
Auditory	1	
Gag reflex	1	7
Motor and sensory		
Normal	0	
Flexor resp. to pain front	2	
Flexor resp. to pain rear	2	
Righting reflex	10	14
Gate		
Normal	0	
Minimal ataxia	5	
Moderate ataxia	10	
Able to stand	15	
Unable to stand	20	
No purposeful movement	25	25
Behavior		
Normal	0	
No grooming	4	
No eating/drinking	10	
No exploratory movement	10	24
Total		100

포수를 백분율로 환산하여 25% 이하는 1점, 25-50%는 2점, 50-75%는 3점, 75% 이상은 4점으로 하였다.

모든 수치는 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였으며, 통계는 IBM호환용 개인용 컴퓨터를 이용하여 Stat-view program을 이용하여 처리하였다. 백서의 체온,

Fig. 1. This figure shows neurologic score of 1 hr, 2 hrs, 1 day and 2 days after reperfusion. Neurologic scores of ketamine, propofol and ketamine + propofol group shows significantly lower than those of control group. *: $P < 0.05$ compared to control. Data are expressed as mean $\pm$ SD. K: ketamine, P: propofol.

허혈 전, 후의 혈압, 체중 등의 비교는 analysis of variance와 Fisher's PLSD법을 이용하였다. 신경학적 검사나 조직학적 검사의 점수의 비교는 Kruskal-Wallis 법과 post hoc으로 Dunnet's test를 이용하였다. 군내의 비교는 Wilcoxon-Signed rank법을 이용하였다.

결 과

각군간의 백서의 체중, 체온, 평균동맥압간에 유의한 차이는 없었다(Table 2).

각각의 군에서 허혈 1시간, 2시간, 1일 및 2일 후에 실시한 신경학적 검사에서 백서의 신경학적 점수는 Group I에서 72.0 ± 17.5 , 64.4 ± 8.9 , 29.4 ± 5.2 및 29.0 ± 5.2 점이었으며 Group II에서 48.4 ± 11.1 , 46.4 ± 13.1 , 18.4 ± 4.1 및 21.8 ± 5.2 점으로 유의하게 감소된 소견을 나타내었다. Group III에서는 51.4 ± 2.3 , 51.4 ± 2.3 , 18.4 ± 4.1 및 15.0 ± 0.0 점, Group IV에서는 43.0 ± 0.0 , 43.0 ± 0.0 , 17.0 ± 1.8 및 18.0 ± 2.2 점으로 Group I에 비해 유의한 차이를 나타내었으나(Table 3, Fig. 1), Group II, III, IV간의 유의한 차이는 없었다.

3일 후에 실시한 조직학적 검사에서 Group I은 3.4 ± 0.5 로 Group II의 1.6 ± 0.5 , Group III의 1.4 ± 0.5 , Group IV의 1.4 ± 0.5 에 비해 유의한 증가를 보였다($P < 0.05$; Table 3, Fig. 2). Group II, III, IV간의 유의한 차이는 없었다(Table 3, Fig. 2).

Table 2. Physiologic Data of Rats before and after Forebrain Ischemia

	Weight (gm)	Pre-MAP (mmHg)	Post-MAP (mmHg)	Pre-temp (°C)	Post-temp (°C)
Group I	302.8 ± 12.2	76.4 ± 6.2	77.4 ± 8.5	37.9 ± 0.1	37.7 ± 0.2
Group II	305.0 ± 23.9	74.0 ± 4.9	80.4 ± 4.9	38.0 ± 0.3	37.1 ± 0.2
Group III	290.8 ± 12.4	74.8 ± 6.7	83.0 ± 6.0	37.9 ± 0.1	37.8 ± 0.3
Group IV	302.7 ± 12.9	72.6 ± 7.2	80.1 ± 6.8	37.9 ± 0.1	37.8 ± 0.3

All data are expressed as mean ± SD. Pre-MAP: Preischemic mean arterial pressure, Post-MAP: Postischemic mean arterial pressure, Pre-temp: Preischemic rectal temperature, Post-temp: Postischemic rectal temperature. Group I: Control, Group II: Preischemic ketamine intravenous injection, Group III: Preischemic propofol intravenous injection, Group IV: Preischemic ketamine and propofol injection.

Table 3. Neurologic Scores and Ischemic Score 1 hr, 2 hrs, 1 Day and 2 Days after Reperfusion

	Neurologic scores				Ischemic score
	1 hr	2 hrs	1 day	2 days	
Group I	72.0 ± 17.5	64.4 ± 8.9	29.4 ± 5.2	29 ± 5.2	3.4 ± 0.5
Group II	48.4 ± 11.1*	46.4 ± 13.1*	20.6 ± 5.0*	21.8 ± 5.2*	1.6 ± 0.5*
Group III	51.4 ± 2.3*	51.4 ± 2.3*	18.4 ± 4.1*	15 ± 0*	1.4 ± 0.5*
Group IV	43 ± 0*	43 ± 0*	17.0 ± 1.8*	18 ± 2.2*	1.4 ± 0.5*

All data are expressed as mean ± SD. N: Neurologic score, I: Ischemic degree. Group I: Control, Group II: Preischemic ketamine intravenous injection, Group III: Preischemic propofol intravenous injection, Group IV: Preischemic ketamine and propofol injection. *: P < 0.05 compared to group I.

Fig. 2. This figure shows ischemic degree of 3 day after reperfusion. The histologic score of ketamine, propofol and ketamine + propofol group shows significantly lower than those of control group. *: P < 0.05 compared to control. Data are expressed as mean ± SD. K: ketamine, P: propofol.

고 찰

백서에서 일시적 전뇌허혈을 유도하여 신경학적 손상과 조직학적 손상을 관찰할 수 있었다. 신경손상 방지의 목적으로 투여한 ketamine, propofol의 신경손상 방지효과는 확인할 수 있었으나 두 약물의 혼합 사용은 더 이상의 신경 손상 방지효과가 없었다.

뇌허혈 시에 뇌신경 손상은 에너지 의존성 이온 펌프가 파괴됨으로서 세포내에 나트륨과 칼슘이온이 축적되어 신경전달물질의 재흡수가 차단되어 신경전도가 일어나지 않게 되고 glutamate와 같은 흥분성 신경전달물질의 분비가 증가하게 되어 NMDA-수용체를 자극함으로써 세포내에 나트륨과 칼슘이온이 더욱 증가하고 신경세포의 괴사를 촉진시키게 되어 나타난다.¹³⁻¹⁵⁾ 뇌허혈을 유도하는 실험모델은 Blomqvist,¹⁶⁾ Pulsinelli와 Brierly,¹⁷⁾ Ito 등에¹⁸⁾ 의해 개발되

었으며, Blomqvist와 Pulsinelli의 4-vessel occlusion을 이용한 방법은 쥐의 경우에 있어서 술 후 호흡정지의 위험이 높아 본 연구에서는 Smith 등이¹⁹⁾ 행한 2-vessel occlusion을 이용하여 뇌허혈이 발생되도록 하였다.

뇌허혈시 뇌손상 방지의 목적으로 ketamine, propofol 그리고 두약제의 혼합정주를 사용하였다. Ketamine의 경우 10 mg/kg을 사용하였고 propofol은 1 mg/kg/min의 속도로 뇌파상 등전위가 나타날 때까지 정주 하였다. Ketamine을 사용한 군에서 대조군에 비해 신경손상의 정도와 조직학적 변화의 정도는 유의하게 감소하였다($P < 0.05$). Ketamine은 다른 NMDA 수용체 길항제와 유사성을 지니고 있으나 신경학적 손상이 있는 환자에서는 논쟁의 여지가 있는 것으로 되어있다.⁸⁾ 그러나 동물 실험에서 ketamine은 놀라운 뇌보호 효과가 있는 것으로 알려지고 있다.²⁰⁾ 이러한 ketamine의 기전은 이상 칼슘의 흡수를 NMDA-수용체에 비경쟁적인 작용으로써 나타나는데²¹⁾ glutamate의 NMDA-수용체 자극 효과를 억제함으로써 뇌허혈에서 뇌보호에 효과가 나타나는 것으로 알려져 있다.^{10,22)} 그러나 두개강 내압 상승, 뇌혈류 증가, 뇌대사율 증가 등의 작용 때문에 뇌신경마취시 문제점이 있어²³⁾ 뇌보호 효과에 어느 정도 효과적일지는 확실하지 않다.

Propofol의 경우에도 대조군과 비교할 때 신경학적 점수 및 조직학적 변화에 통계적 유의성이 있었다. Propofol은 지질 과산화를 억제할 뿐 아니라 세포 항산화 방어계를 촉진하여 산소 독성으로부터 조직을 보존할 수 있다.²⁴⁾ 특히 국소적 허혈에서 뇌파상 등전위를 일으키는 용량에서는 상당한 보호 작용이 나타나는 것으로 되어있다.¹⁾ Propofol은 1 mg/kg/min이 등전위를 유발할 수 있다고 하며¹¹⁾ 본 연구에서도 10분내에 뇌파의 등전위소견을 보였다. 이러한 뇌파상 신경활동의 감소와 뇌대사 및 뇌혈류를 감소시키는 기전으로 산소 소모량을 감소시켜 뇌조직을 보호한다.²⁵⁾ 이런 면에서 propofol은 thiopental과 유사한 기능을 가지는 것으로 여겨지고 있다.^{26,27)} 또한 NMDA-수용체를 통한 glutamate의 뇌손상기전도 차단하는 효과가 있어 조직을 보호한다고 알려져 있다.⁹⁾

Ketamine + propofol군에서도 대조군과 비교할 때 신경학적 점수 및 조직학적 변화에 통계적 유의성이 있었다. 그러나 두 약제의 혼합정주시 유의한 상승

작용은 나타나지 않았다. 두 약제의 기전 중 NMDA-수용체에 작용하는 것이 있어 상승작용을 나타내리라 예상되었으나 뇌혈류 및 뇌대사율에 있어서 반대 작용이 있어 상승효과가 나타나지 않았던 것으로 추정된다. 그리고 이번 실험결과 신경학적 점수와 조직학적 변화간에도 관련성이 있는 것으로 나타났는데 신경학적 점수가 클수록 조직학적 변화 또한 증가한 것으로 나왔다. 이러한 결과는 이미 실험에서 증명된 바 있었으며²⁸⁾ 신경학적 결손 점수는 조직 허혈과 관련이 있고 허혈이 클수록 운동능력이 감소되고 있음을 보여주고 있다.

백서의 체온을 섭씨 38도로 유지시키면서 실험을 진행한 것은 전신적인 혹은 국소적으로 유도된 저체온증이 뇌허혈시 뇌보호 효과가 증명된 바 있어^{29,30)} 본 실험에서는 백서의 직장내 체온계를 거치하고 섭씨 38도로 유지하여 그러한 효과를 배제하였다.

결론적으로 본 연구를 통하여 NMDA수용체 길항제인 ketamine은 뇌허혈시 신경학적 점수 및 조직학적 변화에 영향을 미치며 propofol 또한 유의한 효과를 나타내고 있으나 두 약의 혼합정주시 상승작용은 나타나지 않았다. 따라서 뇌허혈의 위험이 있는 수술시 ketamine이나 propofol의 사용은 효과적이라 생각되며 두 약제의 혼합사용시 상승작용은 없었으나 용량이나 투여시기 등에 대해 다른 방법을 연구해 본다면 효과적인 뇌보호 방법이 나타날 수 있으리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Lavine SD, Masri LS, Levy ML, Gianotta SL: Temporary occlusion of the middle cerebral artery in intracranial aneurysm surgery: time limitation and advantage of brain protection. *J Neurosurg* 1997; 87: 817-24.
2. Collins RC, Dobkin BH, Choi DW: Selective vulnerability of the brain: new insights into the pathophysiology of stroke. *Ann Intern Med* 1989; 110: 992-1000.
3. Pohorecki R, Becker GL, Reilly PJ, Landers DF: Ischemic brain injury in vitro: protective effects of NMDA receptor antagonists and calmidazolium. *Brain Res* 1990; 528: 133-7.
4. Farooqui AA, Horrocks LA: Involvement of glutamate receptors, lipase and phospholipase in long-term po-

- tentiation and neurodegradation. *J Neurosci Res* 1994; 38: 6-11.
5. Yang YL, Pan WH, Chiu TH, Lin MT: Striatal glutamate release is important for development of ischemic damage to striatal neurons during rat heat-stroke. *Brain Res* 1998; 795: 121-7.
 6. Lobner D, Lipton P: Sigma-ligands and non-competitive NMDA antagonists inhibit glutamate release during cerebral ischemia. *Neurosci Lett* 1990; 117: 169-74.
 7. Krivosic Horber R: Mild hypothermia and cerebral protection. *Ann Fr Anesth Reanim* 1995; 14: 122-8.
 8. Cheng MA, Theard MA, Tempelhoff R: Intravenous agents and intraoperative neuroprotection. Beyond barbiturates. *Crit Care Clin* 1997; 13: 185-99.
 9. Hans P, Bonhomme V, Collette J, Albeit A, Moonen G: Propofol protects cultured rat hippocampal neurons against NMDA receptor mediated glutamate toxicity. *J Neurosurg Anesthesiol* 1994; 6: 249-53.
 10. Fitzal S: Ketamine and neuroprotection. Clinical outlook. *Anesthetist* 1997; 46: 65-70.
 11. Andine P, Jacobson I, Hagberg H: Calcium uptake evoked by electrical stimulation is enhanced postischemically and precedes delayed neuronal death in CA1 of rat hippocampus: involvement of NMDA receptor. *J Cereb Blood Flow Metab* 1988; 8: 799-807.
 12. Young Y, Menon DK, Tisavipat N, Matta BF, Jones JG: Propofol neuroprotection in a rat model of ischemia reperfusion injury. *Eur J Anaesthesiol* 1997; 14: 320-6.
 13. Benveniste H, Drejer J: Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem* 1984; 43: 1369-74.
 14. Choi DW: Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system. *Neuron* 1988; 1: 623-3.
 15. Curtis DR, Watkins JC: Analogues of glutamic and gamma aminobutyric acids having potent actions on mammalian neurons. *Nature* 1991; 191: 1010-1.
 16. Blomqvist P, Mabe H, Siesjo BK: Model for studying longterm recovery following ischemia in the rat. 1. Circulatory and functional effects of 4-vessel occlusion. *Acta Neurol Scand* 1984; 69.
 17. Pulsinelli WA, Brierly JB: A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke* 1979; 10: 267.
 18. Ito U, Spatz M, Walker JT jr, Klatzo I: Experimental cerebral ischemia in mongolian gebrils. light microscopic observations. *Acta Neuropathol* 1975; 32: 209.
 19. Smith ML, Bendek G, Dahlgren N: Model for studying longterm recovery following forebrain ischemia in the rat. 2. A 2-vessel occlusion model. *Acta Neurol Scand* 1984; 69: 385.
 20. Frost EA: Perioperative management of the head trauma patient. *Ann Acad Med Singapore* 1994; 23: 497-502.
 21. Hall R, Murdoch J: Brain protection: physiological and pharmacological considerations. Part II: The pharmacology of brain protection. *Can J Anaesth* 1990; 37: 762-77.
 22. Lin SZ, Chiou AL, Wang Y: Ketamine antagonizes nitric oxide release from cerebral cortex after middle cerebral artery ligation in rats. *Stroke* 1996; 27: 747-52.
 23. Janten JP: Cerebral neuroprotection and ketamine. *Anesthetist* 1994; 43: 41-7.
 24. De La Cruz JP, Sedeno G, Carmona JA, Sanchez de la Cuesta F: The in vitro effects of propofol on tissue oxidative stress in the rat. *Anesth Analg* 1998; 87: 1141-6.
 25. Illievich UM, Zornow MH, Choi KT, Strnat MA, Scheller MS: Effects of hypothermia or anesthetics on hippocampal glutamate and glycine concentrations after repeated transient global cerebral ischemia. *Anesthesiology* 1994; 80: 177-86.
 26. Chong KY, Gelb AW: Cerebrovascular and cerebral metabolic effects of commonly used anaesthetics. *Ann Acad Med Singapore* 1994; 23: 145-9.
 27. Ridenour TR, Warner DS, Todd MM, Gionet TX: Comparative effects of propofol and halothane on outcome from temporary middle cerebral artery occlusion in the rat. *Anesthesiology* 1992; 76: 807-12.
 28. de Courten Myers GM, Kleinholz M, Wagner KR: Stroke assessment: morphometric infarct size versus neurologic deficit. *J Neurosci Methods* 1998; 83: 151-7.
 29. Baker CJ, Onesti ST, Barth KNM, Prestigiacomo CJ, Solomon RA: Hypothermic protection following middle cerebral artery occlusion in the rat. *Surg Neurol* 1991; 36: 175-80.
 30. Baker CJ, Onesti ST, Solomon RA: Delayed hypothermia reduces cerebral infarction following middle cerebral artery occlusion in the rat: A time course study. *J Neurosurg* 1992; 77: 438-44.