



## Hipotermia como alternativa terapéutica

Gabriel Guillén-García del Barco<sup>1</sup>, Héctor Pérez-Saad<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Estudiante de 4<sup>o</sup> año de Medicina. Alumno ayudante de Anestesiología y Reanimación. Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad de Ciencias Médicas "Victoria de Girón", La Habana-Cuba.

<sup>2</sup>Doctor en Ciencias. Especialista de II grado en Farmacología. Investigador Titular. Proyecto de Neuroprotección. Dirección de Investigaciones Biomédicas. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana-Cuba.

Recibido: 06/01/16 | Revisado: 23/05/16 | Aceptado: 11/03/17 | Online: 02/10/17

\*Correspondencia: (H. Pérez-Saad). Correo electrónico: [hperez.saad@cigb.edu.cu](mailto:hperez.saad@cigb.edu.cu)

Cómo citar este artículo: García GG, Pérez-Saad H. Hipotermia como alternativa terapéutica. 16 de Abril. 2017;56(264):64-72.

### Resumen

La hipotermia terapéutica consiste en mantener una temperatura corporal específica por un período determinado y está dirigida a reducir las secuelas de la isquemia en el sistema nervioso. En este trabajo se exponen los mecanismos del daño celular inducido por la isquemia y se describen los procesos bioquímicos en los que incide el efecto de la hipotermia. Se revisaron 43 artículos indexados en PubMed. Los objetivos de este trabajo se dirigen a describir los efectos beneficiosos de la hipotermia terapéutica en el contexto de la respiración celular afectada por el evento isquémico, y a describir, desde un punto de vista molecular, el efecto neuroprotector de la hipotermia. La comprensión de los elementos asociados al beneficio de la hipotermia terapéutica permite integrar conocimientos de las ciencias básicas con situaciones clínicas y contribuye a incentivar el aprendizaje significativo en estudiantes de medicina.

**Palabras clave:** hipotermia, isquemia cerebral, glutamato/toxicidad, apoptosis, inflamación

### Hypothermia as therapeutic alternative

#### Abstract

Therapeutic hypothermia is defined as a reduction of core body temperature for a certain period of time and it is aimed at reducing the injuries associated with arterial blood deficit in the nervous system. This work contains the mechanisms of cellular damage induced by ischemia and also the biochemical pathways targeted by hypothermia effects. 43 articles indexed in PubMed were reviewed. The objectives of this work are directed to describe the beneficial effects of therapeutic hypothermia in the context of cellular respiration affected by the ischemic event, and also describe, from a molecular point of view, the neuroprotective effect of hypothermia. Understanding the elements associated with the benefit of therapeutic hypothermia can integrate knowledge of basic sciences with clinical situations and therefore contributes to encourage meaningful learning in medical students.

**Keywords:** hypothermia, cerebral ischemia, glutamate/toxicity, apoptosis, inflammation

## Introducción

La hipotermia terapéutica es una modalidad de tratamiento médico dirigido a reducir la temperatura corporal central<sup>1</sup>. Según el rango de reducción de la temperatura corporal, esta puede ser leve entre 32 a 36 °C, moderada desde 28 a 33 °C, profunda desde 10 -28 °C y ultraprofunda inferior a 5 °C<sup>2</sup>.

La hipotermia con fines terapéuticos se ha usado desde la antigüedad<sup>3</sup> aunque es en las últimas seis décadas que se comienza a documentar los beneficios terapéuticos que produce la reducción de la temperatura corporal central en una amplia gama de condiciones clínico-patológicas<sup>4,5</sup>.

El empleo de la hipotermia moderada en pacientes recuperados de un paro cardíaco<sup>6</sup> o en pacientes con infarto cerebral agudo<sup>7,8</sup> demuestra objetivamente lo acertado de este procedimiento en la protección del sistema nervioso.

Pero estos no son los únicos escenarios en los que se ha confirmado el beneficio de la hipotermia terapéutica en la protección contra el daño que induce complicaciones neurológicas.

En otras emergencias médicas, como la hemorragia subaracnoidea<sup>9</sup>, el traumatismo craneoencefálico<sup>5</sup>, el fallo hepático fulminante<sup>10</sup> y la encefalopatía hipóxica neonatal<sup>11,12</sup> también han empleado la hipotermia terapéutica con el propósito de proteger el sistema nervioso del daño inducido por las alteraciones de base en cada caso. Es por eso que la hipotermia es considerada hasta el momento como el neuroprotector más potente<sup>4,7,13,14</sup>.

Los efectos neuroprotectores y pleitrópicos inducidos por la hipotermia terapéutica constituyen un excelente contexto para explicar cada uno de los pilares en los que se sustenta ese efecto beneficioso, a la luz de los conocimientos moleculares y bioquímicos. La comprensión de estos fenómenos permitirá valorar objetivamente el impacto y la racionalidad del uso de la hipotermia como herramienta terapéutica.

## Objetivos

- Describir los efectos beneficiosos de la hipotermia terapéutica en el contexto de la respiración celular afectada por la isquemia.
- Describir el efecto neuroprotector de la hipotermia desde un punto de vista molecular.

## Desarrollo

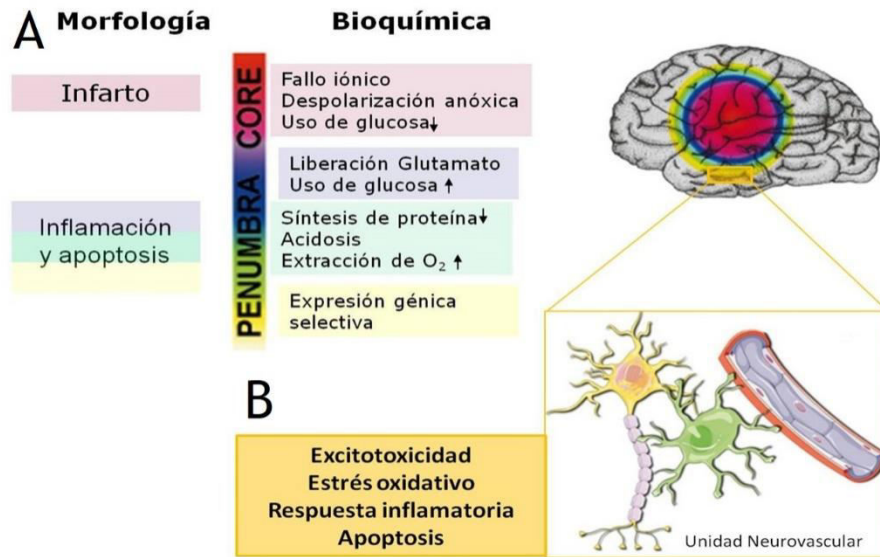
### *Fisiopatología del daño neuronal inducido por isquemia*

Varios elementos de la fisiopatología de la isquemia en el sistema nervioso son compartidos por otras causas de daño cerebral, como es el traumatismo<sup>5</sup> y la isquemia cerebral que resulta del paro cardíaco<sup>6</sup>.

Pocos segundos después de un paro cardíaco hay pérdida total de la conciencia y aplanamiento del patrón electroencefalográfico. El predominio de la glicólisis anaeróbica condiciona la depleción de las reservas energéticas. La despolarización anóxica, la pérdida del balance normal del calcio entre los compartimentos intra y extracelulares, y la acumulación intraneuronal de calcio produce la muerte prematura de las neuronas<sup>15</sup>.

La causa más común de la enfermedad cerebrovascular isquémica es la oclusión brusca de una de las arterias del cuello o del interior del cráneo, lo cual resulta en una pérdida inmediata de la disponibilidad de oxígeno y glucosa para el tejido nervioso. La isquemia cerebral desencadena reacciones fisiopatológicas que constituyen la cascada isquémica y que culmina con la muerte celular en la zona más afectada por la isquemia en los primeros minutos del episodio isquémico<sup>16</sup>.

Los eventos moleculares y bioquímicos que ocurren en el núcleo isquémico producen un daño celular irreversible. El área que rodea el núcleo isquémico se conoce como zona de penumbra isquémica<sup>17</sup> (Figura 1). Los eventos que ocurren en el núcleo isquémico repercutirán en esta zona produciendo muerte celular de neuronas y glías<sup>18</sup>.



**Figura 1.** Alteraciones morfológicas y bioquímicas que ocurren en las zonas de infarto y de penumbra isquémica (A). Eventos fisiopatológicos que se producen en la zona de penumbra isquémica y que afectan a la unidad neurovascular (B).

**Notas:** A: Esquema tomado, modificado y traducido de Woodruff TM. Molecular Neurodegeneration. 2011; 6:11. B: esquema tomado del sitio: <http://www.neurowikia.es/content/bases-moleculares-de-la-isquemia-cerebral>

La muerte celular que se produce durante el daño cerebral isquémico es consecuencia de varios mecanismos como son la toxicidad mediada por el glutamato, el estrés oxidativo, la respuesta inflamatoria y la activación del proceso de apoptosis<sup>19</sup>.

Estos mecanismos tienen elementos patogénicos comunes que se superponen, potencian y producen daño en las neuronas, en las glías, y en los elementos vasculares (Figura 1), es decir en la unidad neurovascular<sup>20,21</sup>.

La privación absoluta de oxígeno y glucosa al tejido nervioso activa varias cascadas patológicas (Figura 2) que conducen a la muerte neuronal, particularmente en la zona de penumbra donde el fallo energético desencadena un desbalance iónico, liberación de neurotransmisores e inhibición de su recaptura.

Entre estas vías están la sobreactivación de receptores de glutamato, la acumulación intracelular de iones calcio, el reclutamiento de células inflamatorias, el aumento de la producción de radicales libres y la apoptosis<sup>22</sup>. Al nivel subcelular estos mecanismos afectan la función de varios organelos como son las

mitocondrias, el núcleo, las membranas celulares, el retículo endoplásmico y los lisosomas<sup>23,24</sup>.

### Relación entre isquemia, toxicidad mediada por el glutamato y desbalance iónico

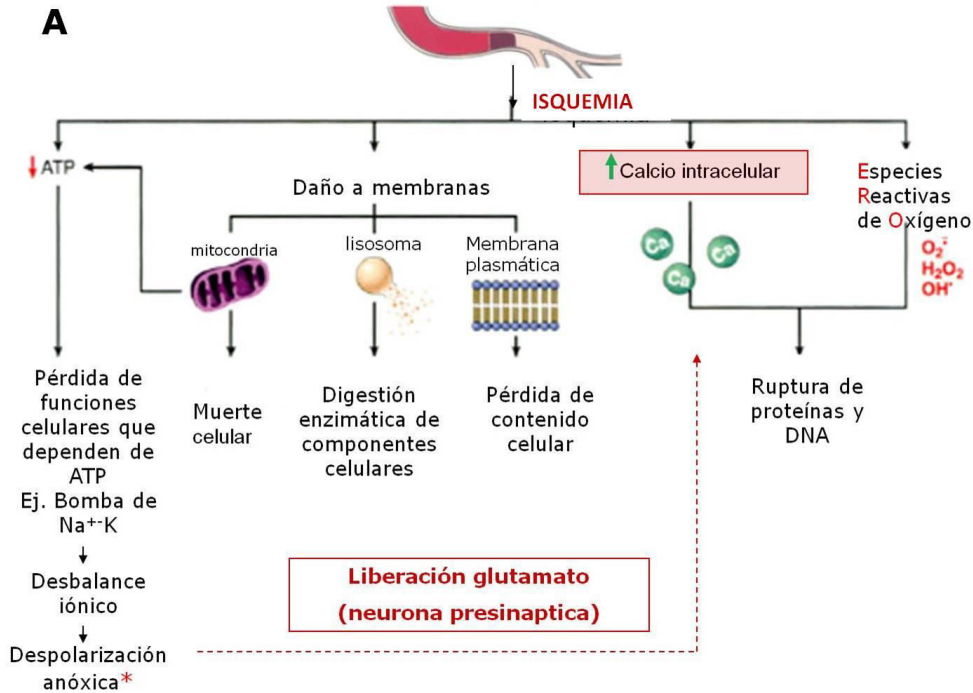
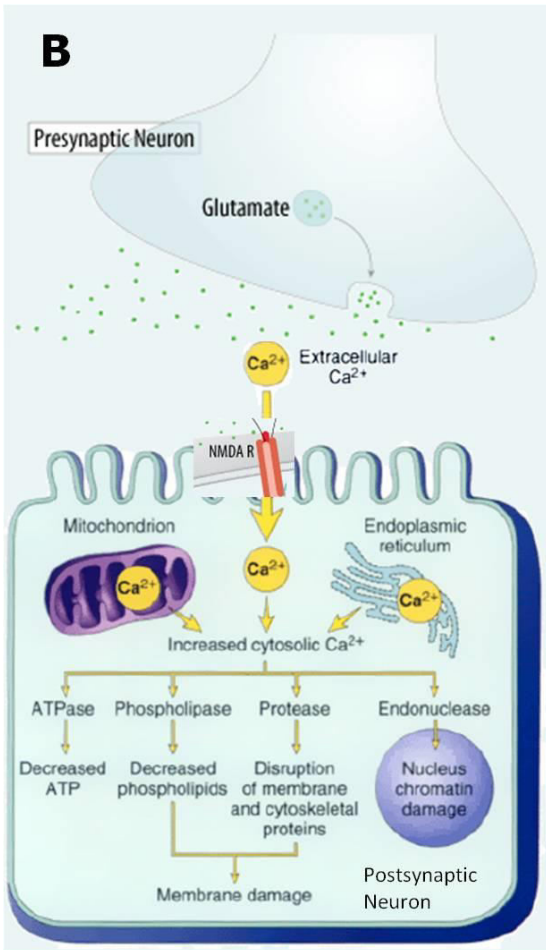
Después que se establece el infarto cerebral, la pérdida de las reservas energéticas produce un desbalance iónico. El glutamato, principal neurotransmisor excitatorio en el cerebro, se libera incontroladamente y se acumula en el espacio interneuronal.

La unión del glutamato a sus receptores ionotrópicos NMDA (ácido N-metil-D-aspartico) y AMPA (ácido α-amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propiónico) promueve un influjo excesivo de calcio, lo cual activa un conjunto de enzimas fosfolipasas y proteasas que degradan a las membranas y a las proteínas elementales para mantener la integridad celular<sup>25</sup> (Figura 2). Los receptores ionotrópicos del glutamato también promueven un influjo excesivo de sodio trayendo como resultado el edema celular.

**Relación entre isquemia y apoptosis**

La pérdida de la integridad de membranas y el fallo de organelos son los mecanismos principales de muerte celular en la isquemia. Sin embargo, en este escenario también están implicadas cascadas y vías similares a la apoptosis, particularmente en la zona de penumbra isquémica. La contribución de la apoptosis como mecanismo de muerte celular en la isquemia cerebral

focal<sup>26</sup> se demuestra por hallazgos como son: la condensación uniforme de la cromatina, la presencia de cuerpos apoptóticos, la contracción del citoplasma, la activación de miembros proapoptóticos de la familia Bcl (Bax, Bad), y la activación de caspasas<sup>27</sup> las cuales son moléculas efectoras del proceso de muerte celular programada.



**Figura 2.** Blancos celulares y bioquímicos del daño isquémico. La isquemia produce depleción de las reservas energéticas (ATP), que afectan primariamente las bombas dependientes de energía metabólicamente útil, la claudicación de las bombas de sodio y potasio producen un desbalance iónico que es la causa de la despolarización anóxica.

Notas: Esquema modificado y traducido de Robbins y Cotran “Pathologic bases of diseases” 7<sup>ma</sup> edición 2005 (A). Origen y consecuencias del incremento del calcio en el interior de las células. Tomado y modificado de Robbin y Cotran “Pathologic bases of diseases” 7<sup>ma</sup> edición; 2005 (B).

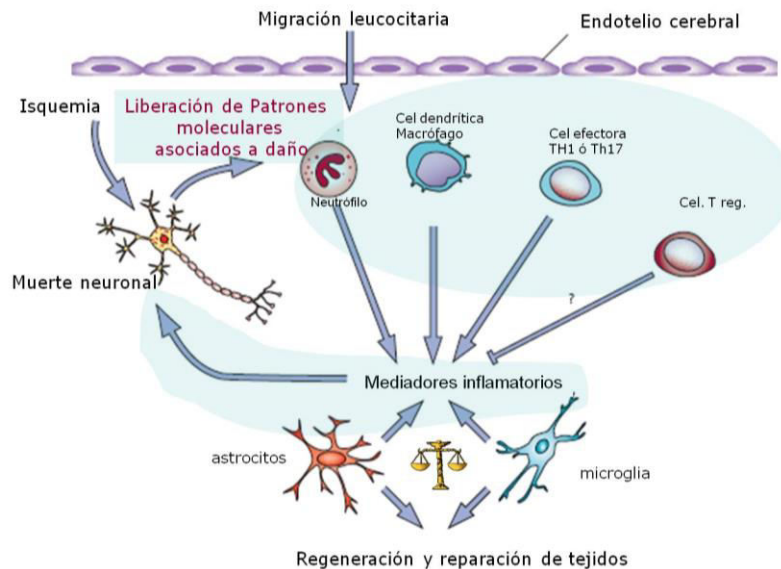
**Relación entre la isquemia y la respuesta inflamatoria**

En un ambiente isquémico los astrocitos producen citocinas inflamatorias, mediadores tóxicos que liberan glutamato<sup>28</sup> y ocurre una expresión rápida de enzimas metaloproteinasas que facilitan la penetración de los leucocitos a través de la barrera hematoencefálica<sup>29</sup>. La microglia también contribuye al daño tisular isquémico

por mecanismos como la producción de citocinas, óxido nítrico y otros radicales libres<sup>30</sup>.

La necrosis producida luego del daño isquémico provoca una fuerte y rápida activación de citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα) y la Interleucina-8<sup>31</sup>. Estas citocinas inducen una reacción inflamatoria con liberación de las moléculas de adhesión responsables de la agregación leucocitaria y su

posterior migración a través de la pared vascular<sup>32</sup> (Figura3).



**Figura 3.** Respuesta inflamatoria posterior a la isquemia cerebral. Las células pertenecientes al núcleo del infarto, que experimentan la muerte por necrosis, liberan su contenido al espacio extracelular, y los restos de las células muertas constituyen las señales de activación (patrones moleculares asociados a daño) para las células inmunocompetentes que se encuentran en dicho espacio luego de haber traspasado la barrera hematoencefálica, debilitada también por el fenómeno hipóxico-isquémico. Una vez activadas estas células liberan citocinas y otros mediadores de la respuesta inflamatoria que a su vez activan a los astrocitos y microglia residentes.

**Notas:** Tomado y modificado de Macrez R. Lancet Neurol. 2011;10(5):471-80.

Lo descrito hasta aquí evidencia la complejidad de la cascada fisiopatológica de eventos moleculares y bioquímicos que se desencadena por la isquemia cerebral y explica por qué que la intervención farmacológica sobre uno solo de estos mecanismos resulta insuficiente para evitar la muerte celular y con ello la disminución del volumen final del infarto<sup>33</sup>.

### **Efecto neuroprotector de la hipotermia terapéutica**

La hipotermia es considerada como el mejor neuroprotector existente hasta el momento<sup>13,14</sup> porque esta aproximación terapéutica tiene efectos pleiotrópicos que pueden incidir simultáneamente en varios de los eventos de la fisiopatología compleja de la isquemia cerebral<sup>33</sup>.

El pleiotropismo de los efectos inducidos por la hipotermia, tiene sus dianas en varios de los pilares de la

cascada de reacciones que constituyen la fisiopatología de la isquemia cerebral (Figura4).

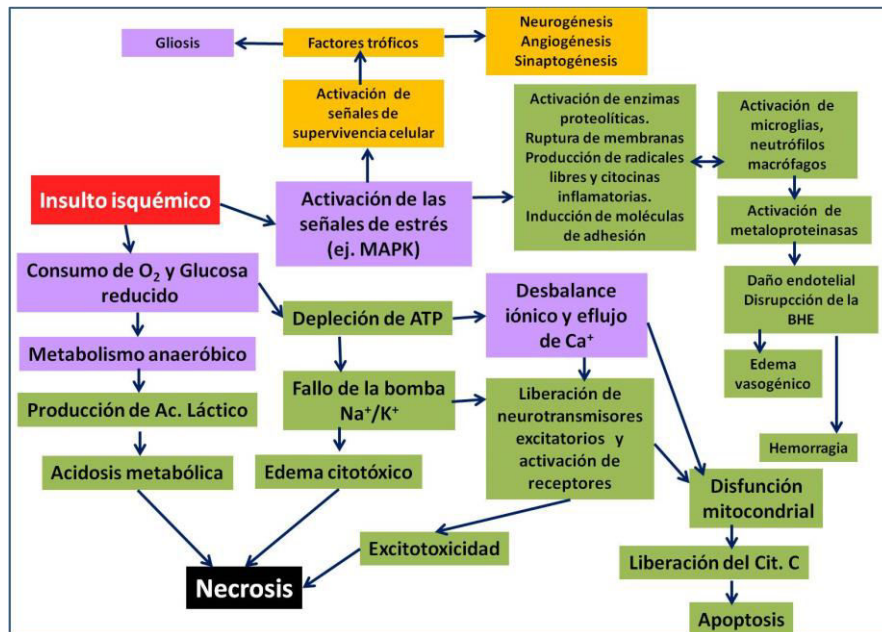
### **Mecanismos neuroprotectores inducidos por la hipotermia terapéutica**

a) *Reducción del metabolismo y de las demandas energéticas en las células del sistema nervioso.* Aunque el cerebro comprende sólo el 2% de la masa corporal, necesita el 25% de toda la glucosa que consume el organismo y el 20% del consumo de oxígeno.

El cerebro es un órgano metabólicamente muy activo que genera mucho calor y en el cual todos los procesos biológicos son sensibles a las fluctuaciones de la temperatura; por ejemplo, la variación en un grado centígrado produce alteraciones importantes en diferentes áreas del sistema nervioso<sup>34</sup>. La reducción de la temperatura reduce el consumo de oxígeno y el metabolismo de la glucosa cerca del 6% por cada grado

Celsius<sup>35,36</sup>. En cuanto a las demandas energéticas, la hipotermia preserva las reservas del ATP y mantiene el pH tisular. La preservación de las reservas de ATP

previene la producción de lactato dependiente del metabolismo anaeróbico y esto evita el estado de acidosis<sup>35</sup> (Figura4).



**Figura 4.** El efecto de la hipotermia en todos los elementos de la cascada isquémica. Los procesos representados por los recuadros verdes son inhibidos o suprimidos por la hipotermia. Los recuadros amarillos señalan los eventos que son incrementados por la hipotermia y los violetas indican los procesos que no son influenciados por la hipotermia. BHE: barrera hematoencefálica; Cit. C: citocromo c; MAPK: proteína quinasa activador de mitosis.

**Nota:** Tomado, modificado y traducido de Yenari MA. Nat Rev Neurosci. 2012;13(4):267-78.

El metabolismo cerebral, caracterizado por el alto consumo de oxígeno, la utilización de la glucosa y la concentración de lactato, es favorecido por la hipotermia, porque esta reduce todos estos procesos<sup>36</sup>. (Figura4)

b) *Efecto contra la toxicidad mediada por glutamato.* La hipotermia previene la acumulación y liberación de aminoácidos excitotóxicos como el glutamato porque preserva las reservas de ATP. Al mantener disponible la energía metabólicamente útil, facilita el funcionamiento de las bombas, la preservación del gradiente iónico y reduce el influjo de calcio hacia el interior de las células, con lo cual se evita la liberación de glutamato por la neurona presináptica. (Figura 4)

c) *Efecto de la hipotermia terapéutica en las células.* La hipotermia protege las membranas celulares porque mantiene la integridad de las estructuras lipoprotéicas de las mismas<sup>36</sup> y porque reduce las reacciones enzimáticas que contribuyen a la muerte celular<sup>37</sup>, específicamente las reacciones mediadas por las enzimas caspasas que producen apoptosis<sup>38</sup>.

Otro efecto beneficioso de la hipotermia es asociado a la estabilidad de las membranas mitocondriales, lo cual impide la liberación del citocromo C mitocondrial y con ello el desencadenamiento del proceso de apoptosis<sup>39,40</sup>(Figura 4). Adicionalmente, la hipotermia induce la expresión de la familia de genes anti-apoptóticos, Bcl-2, lo cual contrarresta la expresión de genes pro-apoptóticos como aquellos de la familia Bax,

que son favorecidos por la isquemia celular. El balance favorable Bcl-2/Bax impide también la salida del citocromo C y por tanto reprime el inicio de la vía intrínseca de apoptosis<sup>35</sup> (Figura 5).

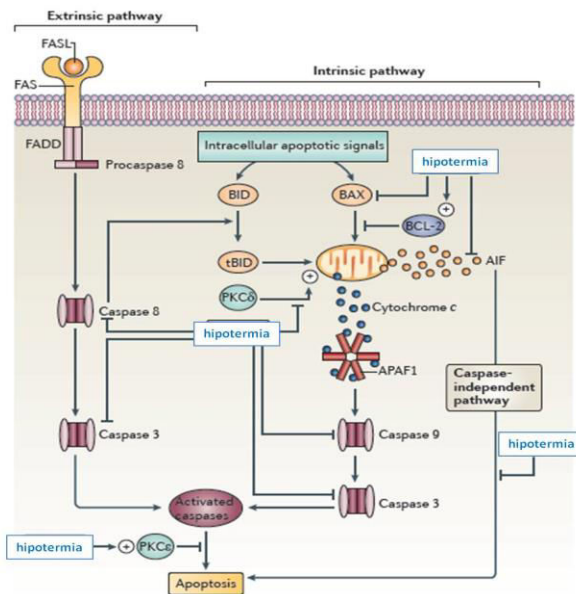
d) *Efectos globales de la hipotermia en el cerebro.* La hipotermia terapéutica reduce la respuesta inflamatoria secundaria al daño cerebral<sup>41,42</sup> y promueve la liberación de factores neurotróficos como el factor de crecimiento nervioso o el derivado de las glías (BDNGF y GDNF por sus siglas en inglés, respectivamente) y la neurotrofina.

También la inducción de la expresión de factores de supervivencia como el gen AKT y la estimulación de los procesos de neurogénesis, sinaptogénesis y angiogénesis son eventos atribuidos a la hipotermia<sup>35</sup> (Figura 4). La hipotermia también mejora el suministro de oxígeno en las áreas isquémicas porque influye en el flujo cerebral y reduce la presión intracraneal al inducir

vasoconstricción que a su vez reduce el líquido cefalorraquídeo<sup>36</sup>.

El efecto de la hipotermia en las áreas del hipocampo, estructura relacionada con la memoria y el aprendizaje, activa vías de señalización molecular relacionada con estos procesos<sup>43</sup>, lo cual estimula la función de estas áreas posterior al daño cerebral y pudiera tener un impacto muy favorable en la recuperación cognitiva de estos enfermos.

El efecto neuroprotector de la hipotermia, específicamente sobre la barrera hematoencefálica, estructura que es afectada durante la isquemia y también durante la reperfusión, se debe a la inactivación de las enzimas proteasas como la metaloproteinasas 9<sup>35</sup>. La integridad de la barrera hematoencefálica evita el edema, el incremento de la presión intracraneal y también la hemorragia. (Figura 4)



**Figura 5.** Vías que conducen al proceso de apoptosis: Vía extrínseca, se activa desde el exterior de la célula, con el estímulo de receptores específicos de muerte celular como el receptor FAS. Vía intrínseca, se inicia desde el interior de la célula, depende del balance entre las familia de proteínas Bax (pro-apoptótico) y Bcl-2 (anti-apoptótico).

El predominio de los primeros favorece la salida del citocromo c, el cual activa al factor activador de proteasas apoptóticas (APAF1), y se produce la activación secuencial de las caspasa 9, y 3.

**Nota:** Esquema tomado y modificado de Yenari MA. Nat Rev Neurosci. 2012;13(4):267-78.

**Conclusiones**

La fisiopatología compleja del daño cerebral isquémico demanda intervenciones terapéuticas que incidan simultáneamente en varios de sus eventos fisiopatológicos de manera que los efectos pleiotrópicos de estas intervenciones se potencien entre sí en función

de evitar la muerte celular. Por sus efectos pleiotrópicos, la hipotermia terapéutica es el único tipo de intervención que hasta el momento ha demostrado reducir el volumen de infarto cerebral. El estudio de los efectos pleiotrópicos que induce la hipotermia permite la comprensión de los mecanismos de muerte celular y

en paralelo la identificación de nuevas dianas terapéuticas que permitirán el diseño de fármacos neuroprotectores.

### Recomendaciones

Por la vigencia del tema y por el impacto favorable de la hipotermia terapéutica en la recuperación neurológica de muchos enfermos, recomendamos dar seguimiento a este tema y mantener la actualización sistemática del mismo.

No obstante, aunque la hipotermia constituye una herramienta terapéutica promisoriosa y ha demostrado sus beneficios en la prevención del daño cerebral en numerosas afecciones, su uso extendido se ha visto limitado por los efectos adversos sistémicos que esta induce como son: las arritmias cardíacas y la sepsis generalizada.

Uno de los grandes retos que asume la comunidad científica que trabaja el campo de la neuroprotección es el de reducir los efectos adversos para poder disponer de la hipotermia terapéutica de manera expedita en la práctica clínica.

### Autoría

Los autores participaron en igual medida en la realización del estudio.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Agradecimientos

Al Dr. Héctor Vera Acosta por su actitud profesional paradigmática, el mejor legado que deja en sus estudiantes. Gracias por ser un incansable estudioso de la medicina y estimularnos a seguir su ejemplo.

### Referencias

1. Alzaga AG, Cerdan M, Varon J. Therapeutic hypothermia. *Resuscitation*. 2006;70(3):369-80.
2. Zeiner A, Holzer M, Sterz F, Behringer W, Schorkhuber W, Mullner M, et al. Mild resuscitative hypothermia to improve neurological outcome after cardiac arrest. A clinical feasibility

- trial. Hypothermia After Cardiac Arrest (HACA) Study Group. *Stroke*. 2000;31(1):86-94.
3. Henderson AR. Cold-man's assiduous remedy. *Med Ann Dist Columbia*. 1971;40(9):583-8.
4. Patel JK, Parikh PB. Association between therapeutic hypothermia and long-term quality of life in survivors of cardiac arrest: A systematic review. *Resuscitation*. 2016;103:54-9.
5. Dunkley S, McLeod A. Therapeutic hypothermia in patients following traumatic brain injury: a systematic review. *Nurs Crit Care*. 2017;22(3):150-60.
6. Sidhu SS, Schulman SP, McEvoy JW. Therapeutic Hypothermia After Cardiac Arrest. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2016;18(5):30.
7. Han Z, Liu X, Luo Y, Ji X. Therapeutic hypothermia for stroke: Where to go? *Exp Neurol*. 2015;272:67-77.
8. Ji Z, Liu K, Cai L, Peng C, Xin R, Gao Z, et al. Therapeutic effect of tPA in ischemic stroke is enhanced by its combination with normobaric oxygen and hypothermia or ethanol. *Brain Res*. 2015;1627:31-40.
9. Kuramatsu JB, Kollmar R, Gerner ST, Madzar D, Pisarcikova A, Staykov D, et al. Is Hypothermia Helpful in Severe Subarachnoid Hemorrhage? An Exploratory Study on Macro Vascular Spasm, Delayed Cerebral Infarction and Functional Outcome after Prolonged Hypothermia. *Cerebrovasc Dis*. 2015;40(5-6):228-35.
10. Castillo L, Buggedo G, Rovegno M. Therapeutic hypothermia as a bridge to transplantation in patients with fulminant hepatic failure. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2015;27(1):72-6.
11. Galvao TF, Silva MT, Marques MC, de Oliveira ND, Pereira MG. Hypothermia for perinatal brain hypoxia-ischemia in different resource settings: a systematic review. *J Trop Pediatr*. 2013;59(6):453-9.
12. Kali GT, Martinez-Biarge M, Van ZJ, Smith J, Rutherford M. Therapeutic hypothermia for neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy had favourable outcomes at a referral hospital in a middle-income country. *Acta Paediatr*. 2016;105(7):806-15.
13. Zgavc T, Ceulemans AG, Sarre S, Michotte Y, Hachimi-Idrissi S. Experimental and clinical use of therapeutic hypothermia for ischemic stroke: opportunities and limitations. *Stroke Res Treat*. 2011;2011:689290.
14. Hemmen TM, Lyden PD. Induced Hypothermia for Acute Stroke. *Stroke*. 2007;38(2):794-9.
15. Zandt BJ, Stigen T, Ten HB, Netoff T, van Putten MJ. Single neuron dynamics during experimentally induced anoxic depolarization. *J Neurophysiol*. 2013;110(7):1469-75.
16. Shuaib A, Hussain MS. The past and future of neuroprotection in cerebral ischaemic stroke. *Eur Neurol*. 2008;59(1-2):4-14.



17. Fisher M. The ischemic penumbra: identification, evolution and treatment concepts. *Cerebrovasc Dis.* 2004;17 Suppl 1:1-6.
18. Demyanenko SV, Panchenko SN, Uzdensky AB. Expression of neuronal and signaling proteins in penumbra around a photothrombotic infarction core in rat cerebral cortex. *Biochemistry (Mosc.)*. 2015;80(6):790-9.
19. Woodruff TM, Thundyil J, Tang SC, Sobey CG, Taylor SM, Arumugam TV. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *Mol Neurodegener.* 2011;6(1):11-29.
20. Dirnagl U. Pathobiology of injury after stroke: the neurovascular unit and beyond. *Ann N Y Acad Sci.* 2012;1268:21-5.
21. Posada-Duque RA, Barreto GE, Cardona-Gomez GP. Protection after stroke: cellular effectors of neurovascular unit integrity. *Front Cell Neurosci.* 2014;8:231.
22. Godinez-Rubi M, Rojas-Mayorquin AE, Ortuno-Sahagun D. Nitric oxide donors as neuroprotective agents after an ischemic stroke-related inflammatory reaction. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:297357.
23. Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms, Challenges and Opportunities in Stroke. *Nature Reviews Neuroscience.* 2003;4:399-415.
24. Sims NR, Muyderman H. Mitochondria, oxidative metabolism and cell death in stroke. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1802(1):80-91.
25. Green AR, Shuaib A. Therapeutic strategies for the treatment of stroke. *Drug Discov Today.* 2006;11(15-16):681-93.
26. Cavallucci V, D'Amelio M. Matter of life and death: the pharmacological approaches targeting apoptosis in brain diseases. *Curr Pharm Des.* 2011;17(3):215-29.
27. Cho S, Liu D, Gonzales C, Zaleska MM, Wood A. Temporal assessment of caspase activation in experimental models of focal and global ischemia. *Brain Research.* 2003;982:146-55.
28. Zhao H, Shimohata T, Wang JQ, Sun G, Schaal DW, Sapolsky RM, et al. Akt contributes to neuroprotection by hypothermia against cerebral ischemia in rats. *J Neurosci.* 2005;25(42):9794-806.
29. Macrez R, Ali C, Toutirais O, Le MB, Defer G, Dirnagl U, et al. Stroke and the immune system: from pathophysiology to new therapeutic strategies. *Lancet Neurol.* 2011;10(5):471-80.
30. Xiong XY, Liu L, Yang QW. Functions and Mechanisms of Microglia/Macrophages in Neuroinflammation and Neurogenesis during Stroke. *Prog Neurobiol.* 2016 May 7.
31. Al-Bahrani A, Taha S, Shaath H, Bakhiet M. TNF-alpha and IL-8 in acute stroke and the modulation of these cytokines by antiplatelet agents. *Curr Neurovasc Res.* 2007;4(1):31-7.
32. Castillo J, Rodríguez I. Biochemical Changes and Inflammatory Response as Markers for Brain Ischaemia: Molecular Markers of Diagnostic Utility and Prognosis in Human Clinical Practice. *Cerebrovascular Diseases.* 2004;17(suppl 1):7-18.
33. van der Worp HB, Macleod MR, Bath PM, Demotes J, Durand-Zaleski I, Gebhardt B, et al. EuroHYP-1: European multicenter, randomized, phase III clinical trial of therapeutic hypothermia plus best medical treatment vs. best medical treatment alone for acute ischemic stroke. *Int J Stroke.* 2014;9(5):642-5.
34. Wang H, Wang B, Normoyle KP, Jackson K, Spittler K, Sharrock MF, et al. Brain temperature and its fundamental properties: a review for clinical neuroscientists. *Front Neurosci.* 2014;8:307.
35. Yenari MA, Han HS. Neuroprotective mechanisms of hypothermia in brain ischaemia. *Nat Rev Neurosci.* 2012;13(4):267-78.
36. Varon J, Marik PE, Einav S. Therapeutic hypothermia: a state-of-the-art emergency medicine perspective. *Am J Emerg Med.* 2012;30(5):800-10.
37. Soto-Ruiz KM, Varon J. Resuscitation great. George W. Crile: a visionary mind in resuscitation. *Resuscitation.* 2009;80(1):6-8.
38. Zgavc T, De GD, Ceulemans AG, Stoop W, Hachimi-Idrissi S, Michotte Y, et al. Mild hypothermia reduces activated caspase-3 up to 1 week after a focal cerebral ischemia induced by endothelin-1 in rats. *Brain Res.* 2013;1501:81-8.
39. Zhao H, Yenari MA, Cheng D, Sapolsky RM, Steinberg GK. Biphasic cytochrome c release after transient global ischemia and its inhibition by hypothermia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2005;25(9):1119-29.
40. Jia G, Wang Q, Wang R, Deng D, Xue L, Shao N, et al. Tubeimoside-1 induces glioma apoptosis through regulation of Bax/Bcl-2 and the ROS/Cytochrome C/Caspase-3 pathway. *Onco Targets Ther.* 2015;8:303-11.
41. Bi Y, Huan Y, Cai W, Wang X, Liang Z, Liu Z, et al. Mild hypothermia in combination with minimally invasive evacuation of hematoma reduces inflammatory damage in patients via the nuclear factor-kappaB pathway. *Exp Ther Med.* 2014;8(6):1717-22.
42. Bisschops L, van der Hoeven JG, Mollnes TE, Hoedemaekers C. Seventy-two hours of mild hypothermia after cardiac arrest is associated with a lowered inflammatory response during rewarming in a prospective observational study. *Crit Care.* 2014;18(5):546.
43. Dietrich WD, Bramlett HM. The evidence for hypothermia as a neuroprotectant in traumatic brain injury. *Neurotherapeutics.* 2010;7(1):43-50.