

## ارتباط هموسیستئین، ویتامین B<sub>12</sub> و اسید فولیک سرم با بیماری حوادث عروق مغزی ایسکیمیک

علیرضا منشی کریمی<sup>1</sup>، جواد مهتدی نیا<sup>2</sup>، مهدی فرهودی<sup>3</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

2- دانشیار، گروه تغذیه، دانشکده بهداشت تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

3- استادیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

یافته / دوره نهم / شماره 3 / پاییز 86 / مسلسل 33

### چکیده

دریافت مقاله: 86/5/8. پذیرش مقاله: 86/7/29

مقدمه: سکنه مغزی یکی از عوامل مهم مرگ و میر و معلولیت در جهان می باشد، عوامل خطر متعدد تغذیه ای و محیطی مانند دریافت ناکافی ویتامین B<sub>12</sub> و اسید فولیک و بدنبال آن افزایش هموسیستئین تام سرم احتمال خطر بیماری عروقی مغز را افزایش می دهد.

مواد و روشها: در این مطالعه مقطعی مورد - شاهدی تعداد 45 نفر از بیماران مبتلا به بیماری حوادث عروق مغزی ایسکیمیک و 75-45 ساله بستری در بخش و 45 نفر از افراد سالم نفر بودند که از نظر سن و جنس با یکدیگر جفت شده بودند، انتخاب و از هر کدام از نمونه ها مقدار 5 میلی لیتر خون وریدی جهت اندازه گیری سطح هموسیستئین، ویتامین B<sub>12</sub> و اسید فولیک گرفته شد. میزان هموسیستئین سرم به روش الایزا و مقدار ویتامین B<sub>12</sub> و اسید فولیک به روش رادیوایمونواسی اندازه گیری گردید. در این مطالعه برای مقایسه اختلاف بین میانگین ها در دو گروه مستقل از آزمون استیودنت و همچنین برای تعیین ارتباط هموسیستئین با ویتامین B<sub>12</sub> و اسید فولیک از مدل رگرسیون خطی استفاده شده است.

یافته ها: براساس نتایج حاصل، میانگین سنی، قد و وزن در افراد شاهد به ترتیب  $60/95 \pm 1/40$ ،  $163/41 \pm 1/32$  و  $69/06 \pm 2/02$  و در افراد بیمار به ترتیب  $61/39 \pm 1/53$ ،  $163/86 \pm 1/07$  و  $70/16 \pm 1/62$  بود. از نظر BMI میانگین آن در افراد بیمار  $26/30 \text{ m}^2/\text{kg} \pm 0/51$  و در افراد سالم  $25/68 \pm 0/5$  بود. در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد، سطح سرمی هموسیستئین بطور معنی داری بالاتر بود و سطح سرمی ویتامین B<sub>12</sub> و نیز سطوح فولات سرم در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد به طور معنی دار کمتر بود. بین هموسیستئین و فولات سرم و نیز هموسیستئین و ویتامین B<sub>12</sub> یک ارتباط معنی دار منفی و معکوس وجود داشت بطوریکه با توجه به میزان  $R^2 8\%$ ، تغییرات هموسیستئین با تغییرات اسید فولیک، همچنین با توجه به میزان  $R^2 10\%$ ، تغییرات ویتامین B<sub>12</sub> قابل توجیه است.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه کمبود و دریافت ناکافی منابع غذایی ویتامین B<sub>12</sub> و اسید فولیک موجب افزایش سطح سرمی هموسیستئین و عوارض ناشی از آن شده و نهایتاً بیماریهای عروقی و شانس ابتلا به حوادث عروقی مغزی ایسکیمیک را افزایش می دهد. لذا پیشنهاد می شود به منظور پیشگیری از افزایش هموسیستئین تام سرم از رژیم غذایی مناسب حاوی منابع اسید فولیک و ویتامین B<sub>12</sub> استفاده شود.

کلیدواژه ها: حوادث عروق مغزی، ایسکمی، ویتامین B<sub>12</sub>، اسید فولیک، هموسیستئین

آدرس مکاتبه: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده بهداشت و تغذیه

پست الکترونیک: [monshikarimi48@yahoo.com](mailto:monshikarimi48@yahoo.com)

## مقدمه

سکته مغزی یکی از علل مهم مرگ و میر و معلولیت در جهان می باشد. اگر این بیماری بیشتر در جمعیت سالمندان دیده می شود اما گروه قابل توجهی از بیماران میان سال با سکته های مغزی ایسکیمیک وجود دارد که در آنها عوامل خطر عروق معمول نقش کمتری دارد (1). سکته مغزی زمانی روی می دهد که تأمین خون برای قسمتی از مغز به طور ناگهانی بر اثر وجود یک لخته قطع شده باشد<sup>1</sup> و یا موقعی که یکی از رگهای خونی تغذیه کننده مغزی پاره شده و خون به داخل فضای مغزی منتشر شده و موجب احاطه سلولهای مغزی می شود.<sup>2</sup> موقعی که اکسیژن و مواد مغذی به مدت طولانی از طریق خون در اختیار سلولهای مغزی گذاشته نشود آنها عملکرد خود را از دست داده و می میرند (2).

در سالهای اخیر، شواهد اپیدمیولوژیکی و نورولوژیکی ارتباط بین حوادث عروق مغزی از جمله آلزایمر و اندیکاتورهای آترواسکلروزیس یا انفارکتوس مغزی را نشان داده است. آسیب های مغزی ایسکیمیک که به عنوان سکته های مغزی ایسکیمیک شناخته شده اند در حدود 80-85 درصد کل موارد سکته های مغزی را تشکیل می دهند. برآوردهای حاصل نشان می دهد که همه ساله 550000 نفر در ایالات متحده امریکا از یکی از انواع این بیماری ها رنج می برند (1، 3).

شناسایی عوامل خطر بیماری سکته های مغزی ممکن است برای پیشگیری از آن بیماری موثر باشد. افزایش هموسیستئین تام سرمی با افزایش ریسک بیماریهای عروقی همراه است (4، 5). اولین بار ارتباط بین غلظت بالای هموسیستئین تام با پاتوژنوزیس آترواسکلروزیس در سال 1969 توسط موکولی<sup>3</sup> با مطالعه بر روی دو کودک دارای هموسیستئین بالا که دچار آسیب های شدید عروقی شده بودند مشخص گردید. بعد از دو دهه اکثر مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان دادند که ارتباط مثبت بین هموسیستئین بالا و خطر عروق قلبی و آسیب های مغزی و هم چنین بیماری عروق محیط مغزی وجود

دارد (3). متا آنالیزی از 27 مطالعه توسط بوشی<sup>4</sup> و همکارانش نشان داد که به ازای افزایش  $5 \text{ mmol/L}$  غلظت هموسیستئین سرم،  $1/5$  برابر نسبت شانس ابتلا به بیماریهای عروقی مغزی افزایش می یابد (8). دو مطالعه متا آنالیز دیگر نیز ارتباط معنی دار بین غلظت هموسیستئین بالا و بیماری ایسکیمیک قلبی و عروق و مغزی را نشان دادند (11). اگرچه تحقیقات اساسی چندین مکانیسم که باعث افزایش هموسیستئین می شوند را موجب پیشرفت آسیب عروق می دانند ولی این موضوع و ارتباط آن با بیماریها هنوز مورد بحث می باشد. در این ارتباط، اینکه آیا هموسیستئین بالا و غلظت پایین ویتامین های گروه B نقش علیتی در پاتوژنوزیس این بیماری دارند یا اینکه دریافت ناکافی غذایی آنها به طور ثانویه موجب به وجود آمدن بیماری می شود، یک موضوع مورد بحث می باشد (1، 9). تغییرات سطوح ویتامین های B سرمی به طوری که مشخص شده با تغییرات شناختی مغز در افراد مسن ارتباط دارد (5، 10، 16). مهم بودن متابولیسم فولات در بیماریهای عروق قلبی توسط متا آنالیزها که درباره ارتباط مثبت مابین غلظت هموسیستئین و ریسک بیماری عروقی بودند به وضوح مشخص گردیده است (11، 13).

پاره ای از شواهد، تأثیر پیشگیری از بیماریهای عروقی توسط فولات را تأیید می کنند و پیشنهاد می کنند که این مکانیسم شامل تأثیرات آنتی اکسیدانی آن و هم چنین تأثیر آن بر روی فشار خون از طریق مداخله با آنزیم اکسید نیتریک سنتز بوجود می آید، هنوز اینکه آیا ارتباط بر عکس مابین فولات و پیامدهای عروق مغزی در مطالعات گذشته نگر گزارش شود، وجود نداشته است (6، 7، 14).

## مواد و روش ها

این مطالعه به صورت مورد-شاهدی انجام گرفت، تعداد 45 نفر از بیماران مبتلا به بیماری حوادث عروق مغزی ایسکیمیک 45-75 ساله بستری در بخش (30 نفر مرد، 16

- |                        |            |
|------------------------|------------|
| 1. Ischemic Stroke     | 3. Mucully |
| 2. Stroke Heamorrhagic | 4. Boushey |

نفر زن) و 45 نفر از افراد سالم (29 نفر مرد، 17 نفر زن) که از نظر سن و جنس با یکدیگر جفت شده بودند انتخاب شدند و از هر کدام از افراد مورد مطالعه مقدار 5 CC خون وریدی ناشتا از ورید جلوی آرنج گرفته شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با دور 3000g در دقیقه به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ و سرم آنها جدا گردید و پس از آن در دمای  $-70^{\circ}\text{C}$  به منظور انجام آزمایشات نگهداری گردید. پس از آماده سازی و استخراج سرم ها با استفاده از کیت هموسیستئین و دستگاه الیزا ریدر مقدار هموسیستئین و هم چنین با استفاده از دستگاه گاما کانتر و کیت گاما و با روش رادیو ایمنواسی میزان فولات سرم و ویتامین B12 اندازه گیری گردید.

در این مطالعه برای مقایسه اختلاف بین میانگین ها در دو گروه مستقل از آزمون استیودنت و همچنین برای تعیین ارتباط هموسیستئین با ویتامین B12 و اسید فولیک از مدل رگرسیون خطی استفاده شده است.

### یافته ها

در جدول یک، سطح سرمی هموسیستئین، ویتامین B12 و اسید فولیک گروه شاهد و مورد (بیماران مبتلا به حوادث عروق مغزی ایسکیمیک) مقایسه شده است. نتایج نشان می دهد که در گروه مورد سطح سرمی هموسیستئین بطور معنی داری  $(18/68 \mu\text{mol/L} \pm 1/53)$  بالاتر از میانگین هموسیستئین گروه شاهد  $(9/96 \pm 0/9)$  می باشد همچنین میانگین سطح سرمی ویتامین B12 در گروه مورد  $(394/28 \pm 1939)$  بطور معنی داری کمتر از میانگین ویتامین B12  $(631/603 \pm 33/2)$  در گروه شاهد می باشد  $(P < 0/001)$ . همچنین میانگین سطح سرمی اسید فولیک در گروه مورد  $(0/97 \pm 0/06)$  به طور معنی داری کمتر از میانگین سطح سرمی آن در گروه شاهد  $(1/53 \pm 0/08)$  می باشد.  $(P < 0/0001)$ .

در جدول 2 گروههای مورد و شاهد با پیش بینی اتفاق با یکدیگر مقایسه شدند بطوریکه حساسیت مدل در تعیین افراد بیمار 0/87 و ویژگی آن در تعیین افراد سالم 84/8% می باشد.

بطور کلی نیز مدل 85/9% کل افراد را به درستی تفکیک نموده است. علامت مثبت ضریب متغییر کمبود ویتامین B12 را نسبت به میزان قابل قبول ویتامین B12  $\text{SE (B)} = 0/50 (2/06)$  نشان می دهد. احتمال بیماری با کمبود ویتامین B12، 7/91 برابر زمانی است که میزان ویتامین B12 قابل قبول یا نرمال باشد و علامت مثبت ضریب متغییر کمبود اسید فولیک را نسبت به میزان قابل قبول فولات سرم  $\text{SE (B)} = 0/506 (1/63)$  نشان میدهد. احتمال بیماری با کمبود فولات سرم افزایش یافته و با عاملی از 5/107 همراه است. یعنی کمبود فولات سرم شانس ابتلا به بیماری را 5/107 برابر افزایش می دهد. همانطوریکه جدول 3 نشان می دهد، بین هموسیستئین با اسید فولیک و ویتامین B12 و بین هموسیستئین با فولات سرم یک ارتباط معنی داری منفی وجود دارد  $\text{SE (B)} = -1/49 (-4/27)$ . با کاهش اسید فولیک میزان هموسیستئین سرم افزایش یافته و برعکس با توجه به میزان R2 برابر 0/08 تغییرات هموسیستئین با تغییرات فولات سرم قابل توجیه است.

$\alpha + \beta(Y = \text{اسید فولیک})$

(اسید فولیک)  $(-4/27) + 19/68 = \text{هموسیستئین}$

همچنین بین هموسیستئین با ویتامین B12 یک ارتباط

معنی دار منفی وجود دارد  $\text{SE(B)} = 0/004 (0/012)$  یعنی با کاهش میزان ویتامین B12 سرم میزان هموسیستئین افزایش می یابد و بر عکس با توجه به مقدار R2 برابر 10% تغییرات هموسیستئین با تغییرات ویتامین B12 قابل توجیه است.

$\alpha + \beta(Y = \text{ویتامین B12})$

(ویتامین B12)  $(-0/012) + 20/66 = \text{هموسیستئین}$

جدول شماره 1- مقایسه سطوح سرمی هموسیستئین، ویتامین B12 و اسید فولیک در گروه مورد و شاهد

P	متغیرهای آماری	
	شاهد (n=46) x±S.E	مورد (n=46) x±S.E
< 0/001	9/96± 0/19	18/68 ±1/53
< 0/001	631/603±33/2	394/28 ±19/39
< 0/001	1/53± 0/08	0/97± 0/06

جدول شماره 2- نقاط برآورد شده نسبت شانس ابتلا و فواصل اطمینان 95% بیماری عروق مغزی ایسکیمیک برای هر یک از فاکتورهای خطر

فاکتورهای خطر	شانس ابتلا	فواصل اطمینان	B	S.E	P
کمبود ویتامین B <sub>12</sub>	7/917	2/92-21/43	2/06	0/503	<0/001
کمبود اسید فولیک	5/107	1/89-13/75	1/63	0/506	<0/001
افزایش هموسیستئین	0/022	0/006- 0/085	-3/820	0/690	<0/001

جدول شماره 3- ارتباط بین سطح سرمی هموسیستئین با اسید فولیک و ویتامین B<sub>12</sub> با استفاده از مدل رگرسیون خطی ساده

متغیرهای آماری	β	S.E	R	R <sup>2</sup>	F	D.W	P
α	19/68	2/06	0/289	0/083	8/18	1/597	<0/001
اسید فولیک	-4/27	1/49					<0/01 0/005
α	20/66	2/18	0/316	0/100	9/98	1/531	<0/001
B <sub>12</sub>	-0/012	0/004					0/01 0/002

## بحث

نتایج حاصل نشان می‌دهد که یک ارتباط وابسته بین هموسیستئین سرم بالا و سکتة مغزی ایسکیمیک وجود دارد. همچنین در این مطالعه مشخص گردید که تفاوت‌های معنی داری ما بین سطح هموسیستئین سرم در افراد مبتلا به حوادث عروق مغزی ایسکیمیک ( $18/68 \pm 1/53$ ) با افراد شاهد عروق مغزی ( $9/96 \pm 0/9$ ) وجود دارد. همچنین این موضوع در مورد ویتامین B<sub>12</sub> ( $P < 0/001$ ) و اسید فولیک نیز ( $P < 0/001$ ) صحت داشت.

در مطالعه‌ای که توسط چن و همکاران انجام گرفت نشان داده شد که در افراد مورد مطالعه که دچار سکتة مغزی ایسکیمیک شده بودند میزان میانگین هموسیستئین سرم  $13/7 \mu\text{mol/L}$  در مقایسه با افراد سالم که  $10/8 \mu\text{mol/L}$  بوده و هم چنین میزان میانگین ویتامین B<sub>12</sub> در افراد مبتلا به سکتة مغزی ایسکیمیک به طور معنی داری کمتر از ( $299/5 \text{ Pmol/L}$ ) میزان آن در مقایسه با افراد سالم ( $394/5 \text{ Pmol/L}$ ) بوده است که نتایج حاصله از یافته‌های حاضر را تأیید می‌کرد اما در آن مطالعه میزان میانگین اسید فولیک در بیماران و افراد سالم تفاوت معنی

داری با هم نداشت که این بخش مطالعه آنها با داده‌های مطالعه حاضر مغایرت داشت (1).

در مطالعه‌ای که توسط واینه و همکاران انجام گرفت نشان داده شده که غلظت فولات سرم  $9/2 \text{ nmol/L} \leq$  موجب افزایش سطوح سرمی هموسیستئین در سیاه‌پوستان نسبت به سفیدپوستان شده که به نوبه خود موجب افزایش جزئی خطر بیماری سکتة مغزی ایسکیمیک می‌شود. این مطالعه نیز به دلیل تاثیر مثبت اسید فولیک در کنترل بیماری سکتة مغزی ایسکیمیک با نتایج حاصل از یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد (4). نتایج حاصل از مطالعه فرامینگ هام نشان می‌دهد که تقریباً دو سوم علل افزایش هموسیستئین با کاهش سطوح سرمی ویتامین B<sub>6</sub> و فولات و ویتامین B<sub>12</sub> همراه است (15).

هم چنین در مطالعه‌ای دیگر که توسط واینه و همکاران در زنان سفید پوست و سیاه‌پوست امریکایی مکزیکی الاصل که دچار بیماری حوادث عروقی مغزی ایسکیمیک شده بودند انجام گرفت، نشان داده شد که یک ارتباط معکوس بین غلظت سرم فولات و هموسیستئین ( $P < 0/001$ ) و هم چنین یک ارتباط معکوس ما بین ویتامین B<sub>12</sub> و هموسیستئین وجود دارد به طوری که افرادی که دارای هموسیستئین پایین تر هستند دارای میانگین فولات سرم  $10/7 \text{ ngml}$  و افرادی که دارای

ترانس سولفوراسیون، هموسیستئین با اسید آمینه سرین ترکیب و به وسیله آنزیم سیستاتیونین سنتتاز به شکل سیستوتیونین تبدیل می شود. در این واکنش ویتامین B<sub>6</sub> مورد نیاز است و بعد از هیدرولیز به اسید آمینه سیستئین تبدیل می شود. بنابراین کمبود و پایین بودن دریافت ویتامین B<sub>12</sub> و اسید فولیک موجب افزایش هموسیستئین می شود (11، 16).

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه سطح سرمی فولات و ویتامین B<sub>12</sub> در افراد مبتلا به بیماریهای حوادث عروق مغزی ایسکیمیک پایین و هموسیستئین بالا می باشد که این موضوع می تواند ناشی از دریافت غذایی نامناسب این ویتامین ها باشد. لذا پیشنهاد می شود مکمل های این ویتامین ها و همچنین منابع غذایی آنها برای پیشگیری از بیماریهای حوادث عروق مغزی به طور مناسب مورد استفاده قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

انجام دهندگان این تحقیق مراتب تقدیر و سپاس خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که حمایت مالی طرح را بر عهده داشتند ابراز می دارند، همچنین از زحمات بی دریغ خانم دکتر مهرانگیز ابراهیمی مقانی که در امر تحقیق و تدوین این مقاله از تجارب علمی خود، پژوهشگران را بهره مند نمودند صمیمانه سپاسگذاری می نمایند.

میانگین سرمی هموسیستئین بالا هستند دارای غلظت سرمی 5/5 ng/ml می باشند که این مطالعه نیز یافته های ما را تأیید می کند (5).

در یک مطالعه که توسط بتانی و همکارانش انجام گرفت مشخص گردید که افزایش غلظت پلاسمایی و دریافت غذایی فولات با کاهش خطر سکته مغزی هموراژیک ارتباط دارد ولی با سکته های مغزی ایسکیمیک بستگی ندارد. البته این یافته ها با عوامل خطر دیگر از جمله فشار خون همراه بود. بطوریکه سطوح سرمی فولات در دامنه و حد نرمال آن در بیماری سکته مغزی ایسکیمیک موثر دیده نشد. همچنین تاثیرات مفید فولات بر روی خطر در سطوح پایین تر سکته های مغزی هموراژیک در مقایسه با ایسکیمیک مشخص گردید که تاثیر کمبود ویتامین B<sub>12</sub> دریافتی با سکته مغزی هموراژیک (و احتمال ارتباط آن با خطر سکته مغزی ایسکیمیک) ارتباط ضعیفی با غلظت پلاسمایی آنها دارد که این مطالعه با یافته های مطالعه حاضر همخوانی نداشت (14).

هموسیستئین یک اسید آمینه گوگرد دار است که از طریق دمتیلاسیون اسید آمینه ضروری متیونین تولید می شود. هموسیستئین تام به وسیله یکی از دو مسیر متابولیکی، متیلاسیون مجدد و یا ترانس سولفوراسیون متابولیزه می شود. در متیلاسیون مجدد هموسیستئین به یک گروه متیل از N-5 متیل تتراهیدرو فولات نیاز دارد که این واکنش به ویتامین B<sub>12</sub> و یا بتائین به منظور تبدیل مجدد به متیونین وابسته است. در

## References

1. Tan NC, Venketasubramanian N, Saw S-M and Tjia HT. Hyperhomocysteinemia and Risk of ischemic Among Young Asian Adult. *Stroke*. 2002; 33:1956-1962.
2. Health and Age. *Stroke*. November 12. 2004
3. Quadri P, Fragiaco C. Homocysteine, folate And Vitamin B<sub>12</sub> in mild cognitive impairment. Alzheimer disease and vascular dementia. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:114-22.
4. Giles W H, Janet B. Total Homocyst(e)ine concentration and the likelihood of Nonfatal Stroke. *Stroke*. 1998; 29:2473-2477.
5. Giles WH, Kittner SJ. Serum Folate and Risk for Ischemic Stroke. *Stroke*. 1995; 26:1166-1170.
6. Mennen L, Courcy P D, Guillard J, C Homocysteine. Cardiovascular disease risk factors and habitual diet in the French supplements action with antioxidant vitamins and Minerals Study. *Amy din Nutr* 2002; 76: 127- 189
7. Weir DG, Molloy AM.. Microvascular disease and dementia in the elderly: Are they related to hyperhomocysteinemia? *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 859-60.
8. Boysen G, Brander T. Homocysteine and risk of recurrent stroke. *Stroke*. 2003; 34: 1258-61.
9. Johnson M. A, Hawthorne N. A, Brackett W R, Fischr J G. Hyperhomocysteinemia and vitamin B-12 deficiency in elderly using Title IIIc nutrition service. *Am J Clin Nutr* 2003;77: 211-20.
10. Snowdon D. A, Tully C. L. Serum folate and the severity of atrophy of the neocortex in Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 980-993
11. Carmel R, Green R, Rosenblatt D S. Update on Cobalamin, folate, and homocysteine. *Am J Clin Nutr* 2003; 79: 1450-7.
12. Stubbs P. J. K. Obadi M. Effect of Plasma Homocysteine concentration on early and late event; in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2000; 12: 605-10.
13. Gordon N. F, Gulanick M, Costa F, Physical activity and exercise recommendations for stroke survivors: *Circulation* 2004; 109: 2031-2041.
14. Cuelpen B. V, Johanson I. Folate, vitamin B<sub>12</sub> and risk of ischemic and hemorrhagic stroke. *Stroke*. 2005; 36: 1426-32.
15. Boysen C, Christensen H. Homocysteine and risk of recurrent stroke. *Stroke* 2003; 34: 1258-66.
16. Endres M, Ahmadi M, Kruman I, Biniszkievicz D. Folate deficiency increase post ischemic brain injury. *Stroke* 2000; 31:1234-41.