

ANDRZEJ KAPUŚCIŃSKI, MIROSŁAW J. MOSSAKOWSKI

PRÓBY FARMAKOLOGICZNEGO PRZECIWDZIAŁANIA
ROZWOJOWI ZMIAN NIEDOKRWIENNYCH W MÓZGU KRÓLIKÓW
PO JEGO CAŁKOWITYM NIEDOKRWIENIU

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN,
Warszawa

Wyniki badań doświadczalnych uzyskane w okresie ostatniego dziesięciolecia wykazały w sposób jednoznaczny, iż w warunkach normotermicznych możliwy jest powrót samoistnej i wzbudzonej czynności bioelektrycznej mózgu po jego całkowitym niedokrwieniu, trwającym do 60 min (Hossman, Zimmerman 1974; Kolata 1979; Pluta, Kapuściński 1980; Pluta 1982; Kapuściński, Mossakowski 1983). Stwierdzono ponadto, że nawet po tak długotrwałym niedokrwieniu możliwa jest normalizacja niektórych przynajmniej tkankowych procesów metabolicznych (Hossman i wsp. 1973; Kleihues i wsp. 1975; Nordström i wsp. 1978; Siesjö 1981; Pulsinelli i wsp. 1982). Spostrzeżenia te, w związku z ich zasadniczą niezgodnością z ugruntowanymi poglądami klinicznymi o wyjątkowej wrażliwości mózgu na niedotlenienie (Black 1978), skłoniły szereg autorów do poszukiwań wyjaśnienia mechanizmów zjawisk i procesów patologicznych towarzyszących niedokrwieniu mózgu, które mogłyby współuczestniczyć w rozwoju jego nieodwracalnych uszkodzeń (Klatzo 1975; Flam i wsp. 1978; Faber i wsp. 1981; Astrup i wsp. 1981; Raichle 1983). Otworzyły one również nadzieję stosowania skutecznej terapii przeciwdziałającej ich rozwojowi (Plum 1981; Hass 1981; Wolfe 1982; Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1983; Steen i wsp. 1983).

Cechą charakterystyczną większości stosowanych modeli doświadczalnych całkowitego niedokrwienia mózgu jest fakt, iż wymagają one wykonania rozległego zabiegu operacyjnego, związanego między innymi z otwarciem klatki piersiowej w celu dotarcia do tętnic doprowadzających krew do ośrodkowego układu nerwowego. Niezbędne jest również wykonanie tracheotomii dla prowadzenia kontrolowanej wentylacji płuc u farmakologicznie zwiotczonych zwierząt. Podczas doświadczeń rejestru-

je się w sposób ciągły lub okresowy szereg zmiennych fizjologicznych, takich jak czynność bioelektryczna kory mózgu i serca, ciśnienie tętnicze krwi, mózgowy przepływ krwi i inne. Większość z tych pomiarów wiąże się z dodatkowym urazem, obciążającym stan badanego zwierzęcia. Stwarza to warunki, w których prowadzenie przewlekłych badań jest technicznie wysoce skomplikowane, a niejednokrotnie wręcz niemożliwe. Z tego też powodu badania w tym zakresie mają w większości przypadków charakter doświadczeń ostrych, w których okres obserwacji zwierząt nie przekracza 6—9 godzin (Kolata 1979; Pluta, Kapuściński 1980; Pluta 1982; Kapuściński, Mossakowski 1983).

Zatrzymanie dopływu krwi do mózgu wywołuje głębokie układowe zaburzenia hemodynamiczne, prowadzące nierzadko do niewydolności serca, ciężkiej hipotensji, a w niektórych przypadkach do obrzęku płuc (Kapuściński i wsp. 1980; 1981; Pluta 1982). Zjawiska te uruchamiają mechanizm błędnego koła, gdyż przyczynowo związane z niedokrwieniem mózgu, wtórnie pogłębiają jego uszkodzenie, ograniczając przeżycie zwierząt, a tym samym uniemożliwiając długotrwałe śledzenie dynamiki zmian w niedokrwionym mózgu. Z tego też względu zagadnieniem o zasadniczym znaczeniu w badaniach nad skutkami całkowitego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego jest przeciwdziałanie rozwojowi zaburzeń ze strony układu krążenia. Równie istotnym czynnikiem ograniczającym restytucję czynności ośrodkowego układu nerwowego po niedokrwieniu jest rozwój obrzęku mózgu. Przeciwdziałanie jego wystąpieniu stwarza warunki dłuższej obserwacji zmian.

Dotychczasowe badania elektrofizjologiczne nad skutkami całkowitego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego, prowadzone w Zakładzie Neuropatologii CMDiK PAN, dotyczyły głównie zagadnienia powrotu czynności bioelektrycznej mózgu i stopnia jej normalizacji w funkcji czasu. Z przyczyn podanych powyżej w mniejszej mierze odnosiły się do zmian późnych. Wydawało się przeto celowe podjęcie badań nad skutkami całkowitego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego przy dłuższym okresie obserwacji. Wymagało to zastosowania wydajnej osłony farmakologicznej, zapobiegającej czynnościowym i strukturalnym uszkodzeniom układu krążenia i rozwojowi wczesnego obrzęku mózgu.

Celem przedstawionej pracy była ocena farmakologicznego przeciwdziałania rozwojowi zmian w ośrodkowym układzie nerwowym i zaburzeń układu krążenia podczas 30-minutowego całkowitego niedokrwienia i w okresie po przywróceniu krążenia w mózgu. Szczegółowe zadania obejmowały ocenę dynamiki zmian czynności bioelektrycznej kory mózgu i tkankowych uszkodzeń strukturalnych podczas 24-godzinnej obserwacji zwierząt przy ograniczeniu reakcji hipertensyjnej, zapobieganiu rozwojowi obrzęku mózgu i utrzymywanie prawidłowego pH krwi w okresie poischemicznym.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na 9 królikach rasy mieszanej, samcach o średniej masie ciała $2,85 \pm 0,09$ kg, w dożylnym uspieniu pentobarbitem, stosowanym w dawce 35 mg/kg masy ciała. W tchawicy umieszczano rurkę tracheotomijną, a obie tętnice udowe cewnikowano dla prowadzenia pomiaru ciśnienia krwi i pobierania próbek do pomiarów gazometrycznych. Cewnikowano również dwie żyły udowe w celu podawania leków. Dla ciągłego zapisu czynności bioelektrycznej kory mózgu, przez otwory wywiercone w okolicy ciemieniowej i czołowej czaszki, umocowywano w styczności z oponą twardą dwie srebrne elektrody kuliste. Elektrokardiogram rejestrowano przy użyciu elektrod igłowych, wkłutych do prawej przedniej i lewej tylnej kończyny („drugie odprowadzenie kończynowe”).

Elektrokortykogram (ECoG) i elektrokardiogram (EKG) rejestrowano za pomocą elektroencefalografu Reega VIII (Alvar). Pomiar ciśnienia tętniczego prowadzono przy zastosowaniu przetwornika ciśnienia Stadham P23 i elektromanometru EK4 (Farum). ECoG, EKG i wartości ciśnienia krwi zapisywano równocześnie w sposób ciągły na poligrafie Recorder 360 (Medipan), stosując dla stworzenia korzystniejszych warunków odczytu i analizy krzywych, dwie szybkości przesuwu papieru rejestracyjnego — 0,5 mm/s i 20 mm/s. Zapis ECoG w okresie recyrkulacji krwi w mózgu oceniano na podstawie amplitudy (szczyt do szczytu) oraz częstotliwości fal i wyrażano jako odsetek wartości kontrolnych. Analizowano również czas powrotu pierwszych objawów czynności bioelektrycznej kory mózgu i aktywności ciągłej po niedokrwieniu, czas utrzymywania się optymalnej, w warunkach doświadczenia, aktywności i okres jej pogorszenia.

Zwierzęta zwiózczano przez dożylną podanie Flaxedilu (4 mg/kg masy ciała) i stosowano kontrolowaną wentylację pompą oddechową firmy Medipan, współpracującą z aparatem do znieczulenia wziewnego Mini—Max (Farum).

Całkowite niedokrwienie mózgowia wywoływano przez zamknięcie tętnic doprowadzających krew do mózgu, w miejscu ich odejścia od łuku aorty, z cięcia nad mostkiem oraz równoczesne obniżenie ciśnienia tętniczego krwi do wartości 70 mm Hg przy użyciu środka ganglioplegicznego — Arfonadu (Roche). Na pień ramiennie-głowy oraz lewą tętnicę podobojczykową zakładano podwiązki, które zaciskano w dalszym etapie doświadczenia. Na obie tętnice kręgowie zakładano klipsy Yasargila, natomiast obie tętnice piersiowe wewnętrzne i pachowe podwiązywano na stałe. Po zakończeniu rejestracji wyjściowych ECoG i EKG podawano dożylnie heparynę w dawce 150 j.m./kg masy ciała. Ciśnienie krwi obniżano do poziomu 50—60 mm Hg przez ciągłą infuzję dożylną Arfonadu w stężeniu 12,5 mg/ml za pomocą pompy infuzyjnej o zmiennej pręd-

kości. Po uzyskaniu pożądanej wartości ciśnienia krwi zamykano dopływ krwi do mózgu, zwiększając równocześnie szybkość infuzji Arfonadu dla zapobieżenia reakcji hipertensyjnej, charakterystycznej dla wczesnego okresu niedokrwienia mózgu. Zakończenie infuzji Arfonadu następowało w początkowym okresie niedokrwienia z chwilą, gdy ciśnienie osiągało stabilnie wartość 70 mm Hg. Nie stosowano upustu krwi. Czas całkowitego niedokrwienia wynosił 30 min. Przywrócenie krążenia uzyskiwano przez udrożnienie tętnic doprowadzających krew do mózgu. Potwierdzeniem całkowitego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego było zatrzymanie przepływu krwi w tętnicach dna oka, obserwowanych przez mikroskop chirurgiczny. U 3 zwierząt, u których podczas niedokrwienia ciśnienie obniżało się poniżej 60 mm Hg, podawano infuzję dekstranu o ciężarze cząsteczkowym 40.000. U wszystkich zwierząt stosowano następujące leki:

1) Tris (Fresenius A. G., Bad Homburg), w postaci roztworu zawierającego w 1 l 36,34 g Trometamolu, 1,754 g NaCl i 0,373 g KCL, podawanego w dawce 10 ml/kg masy ciała. Dożylną infuzję preparatu rozpoczynano w 10 min przed zakończeniem niedokrwienia mózgu i prowadzono ją przez 20 min.

2) Mannitol (Polfa), w 20% roztworze w łącznej dawce 20 ml, którego dożylnie podawanie rozpoczynano na 5 min przed zakończeniem niedokrwienia i prowadzono przez 10 min.

3) Levonor (Polfa), w postaci roztworu zawierającego 5 mg noradrenaliny w 20 ml 0,9% chlorku sodu, podawanego w postaci ciągłej infuzji dożylną o zmiennej prędkości. Za jego pomocą, przed udrożnieniem tętnic doprowadzających krew do mózgu, podnoszono ciśnienie tętnicze do wartości 150 mm Hg i kontynuowano infuzję do czasu powrotu ciśnienia krwi utrzymywanego samoistnie na poziomie wartości kontrolnych.

Podczas pierwszej godziny po przywróceniu krążenia w mózgu zwierzęta wentylowano mieszaniną zawierającą 60% tlenu i 40% azotu, w późniejszym okresie stosowano wyłącznie powietrze pokojowe. Pomimo powrotu spontanicznej czynności oddechowej ze względu na otwartą klatkę piersiową zwierząt do końca doświadczeń prowadzono kontrolowaną wentylację płuc. Okresowo odsysano tchawicę i duże oskrzela oraz rozprężano płuca stosując dodatnie ciśnienie końcowo wydechowe celem niedopuszczenia do niedodmy, a w konsekwencji do zaburzeń wymiany gazowej.

W czasie 24 godz. po przywróceniu krążenia krwi w mózgu, kontrolowano pH krwi tętniczej, podając w razie potrzeby dodatkowe ilości Trisu lub dwuwęglanów. Przeprowadzono również oznaczenia pO_2 , pCO_2 , BE i HCO_2 , używając aparatu Astrupa BMS₃ (Radiometr). Określano również hematokryt tętniczy.

Po ustaniu działania środka zwiotczającego badano również zachowanie niektórych reakcji odruchowych, takich jak odruch rogówkowy,

reakcja źrenic na światło i reakcja na ból. Zwierzęta odżywiano i nawadniano parenteralnie, podając pod kontrolą diurezy, ocenianej na podstawie zbiórki moczu, 5% glukozę i fizjologiczny roztwór chlorku sodu. Utrzymywano stałą ciepłotę ciała przez podgrzewanie poduszką elektryczną. Temperaturę ciała mierzono w rectum.

Obserwacje zwierząt kończono w następujących przedziałach czasowych: 24 godz. (n=5), 27,5 godz. (n=1), 16 godz. (n=1), 7 godz. (n=1), 2,5 godz. (n=1).

Na zakończenie doświadczeń wykonywano przyżyciową perfuzję naczyń domózgowych fizjologicznym roztworem chlorku sodu przez okres 1 min, a następnie 10% formaliną w 0,9% roztworze NaCl, pod ciśnieniem nie przekraczającym 110 mm Hg.

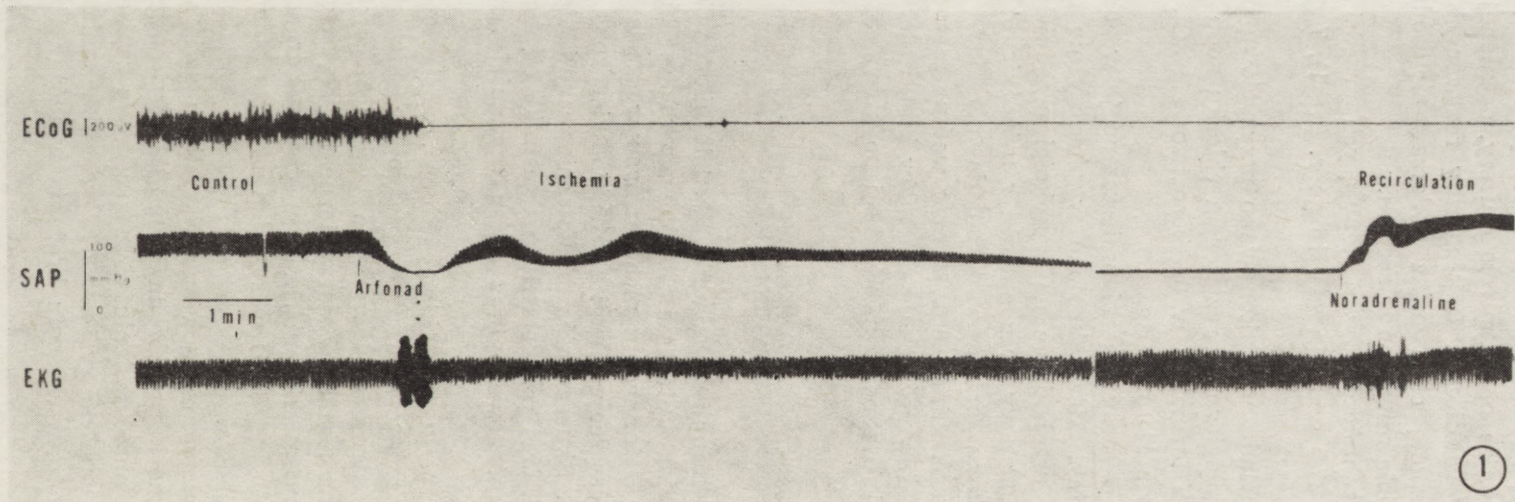
Po wyjęciu mózgu z jamy czaszki umieszczano je w zubożonym 10% roztworze formaliny. Mózgi krojono w płaszczyźnie czołowej na bloki grubości 0,5 cm, przechodzące na wysokości przednich i w pełni rozwiniętych zwojów podstawy oraz opuszki z mózdzkiem. Bloki tkanek w sposób rutynowy przeprowadzano do parafiny. Parafinowe skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną oraz według metody Klüvera-Barrery. Wykonywano również sekcję narządów klatki piersiowej. Płuca i serca oceniano makroskopowo na świeżo i po utrwaleniu w formalinie.

WYNIKI

Zastosowanie ciągłej infuzji Arfonadu w średniej dawce $67,5 \pm 34,8$ mg ($23,6 \pm 8$ mg/kg masy ciała) skutecznie zablokowało reakcję hipertensyjną u wszystkich zwierząt. U żadnego z nich zarówno w czasie niedokrwienia, jak i przez cały okres recyrkulacji krwi nie stwierdzono również zaburzeń czynności serca. Skuteczność zablokowania reakcji hipertensyjnej ilustruje rycina 1, na której przedstawiono dynamikę ciśnienia krwi po zatrzymaniu krążenia mózgowego oraz obraz czynności serca w zapisie EKG.

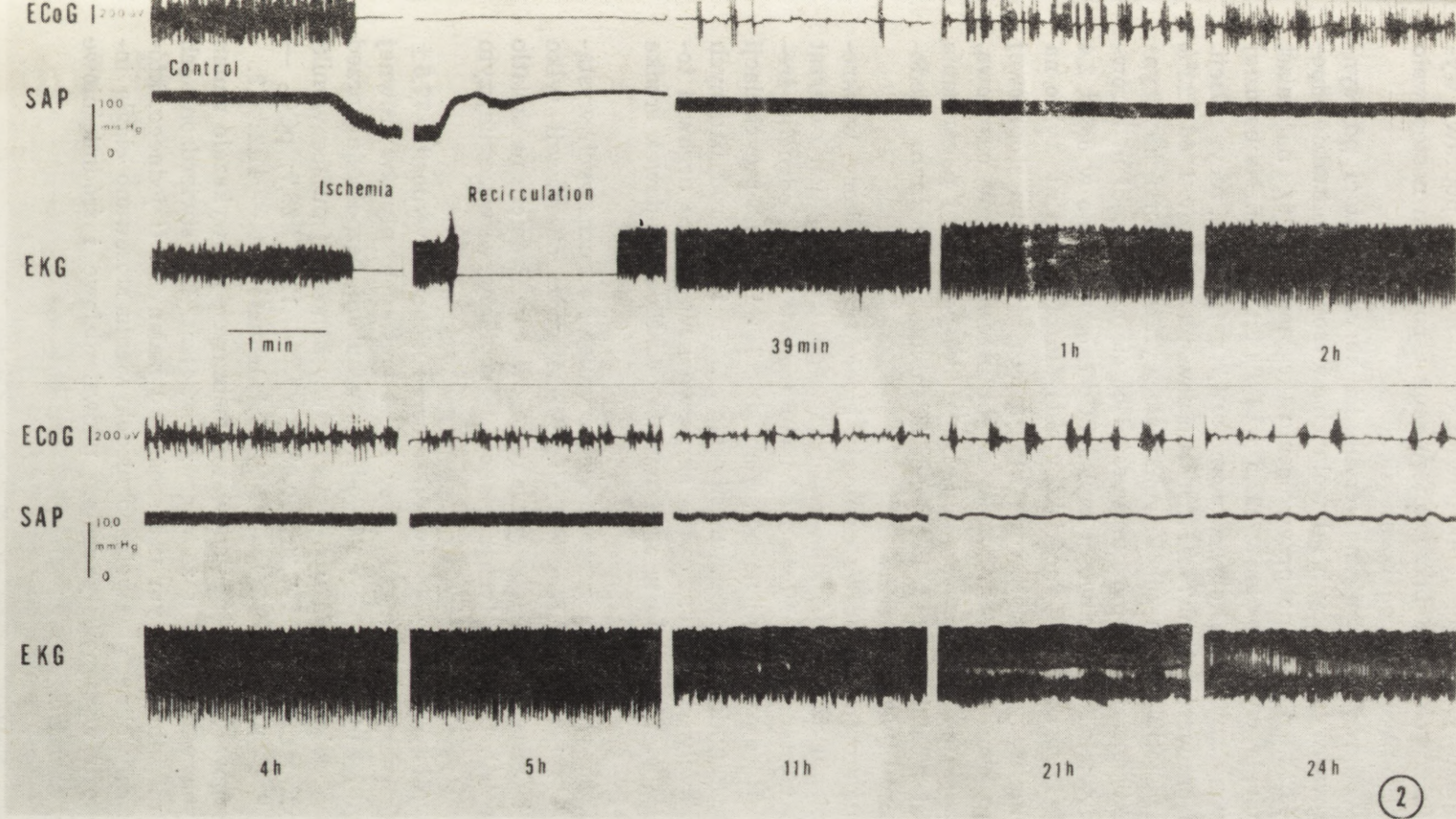
U wszystkich zwierząt, z wyjątkiem jednego, ciśnienie tętnicze po przywróceniu krążenia mózgowego utrzymywało się samoistnie na poziomie zbliżonym do kontrolnego i wynosiło średnio $103,6 \pm 8,9$ mm Hg (n=9). Powrót czynności ośrodków naczynioruchowych, wyrażający się samoistnym utrzymywaniem ciśnienia krwi, następował średnio w $27,7 \pm 5,8$ min po niedokrwieniu (n=8). U wszystkich zwierząt powracała spontaniczna czynność oddechowa.

W okresie niedokrwienia mózgowia u wszystkich zwierząt rejestrowano ciszę bioelektryczną kory mózgu. Czynność kory mózgu w okresie 24 godz. obserwacji po niedokrwieniu wraz z ciągłym zapisem ciśnienia krwi i EKG przedstawiono na rycinie 2. Dynamika zmian czynności bioelektrycznej kory po przywróceniu krążenia w mózgu charakteryzo-



Ryc. 1. Całkowite niedokrwienie mózgu u królika. Początek i koniec 30-minutowego niedokrwienia widoczny jest jako artefakt na krzywej EKG podczas zacisku i udrożnienia naczyń doprowadzających krew do mózgu. Brak zaburzeń czynności serca. ECoG — elektrokortykogram, SAP — układowe ciśnienie tętnicze, EKG — elektrokardiogram, Control — kontrola, Ischemia — niedokrwienie, Recirculation — recyrkulacja

Fig. 1. Complete cerebral ischemia in rabbit. Beginning and the end of 30-min ischemia seen as the artefact on the EKG curve during occlusion and release of the blood vessels supplying the brain. Lack of the heart function disorders



Ryc. 2. Zmiany czynności bioelektrycznej kory, ciśnienia krwi oraz czynności serca podczas 24-godzinnej obserwacji po 30 minutowym całkowitym niedokrwieniu mózgu. Izoelektryczna krzywa czynności serca w początkowym okresie recyrkulacji spowodowana jest chwilowym wyłączeniem kanału EKG ze względu na nałożenie się częstotliwości sieci elektrycznej podczas zdejmowania klipsów i podwiązek z tętnic doprowadzających krew do mózgu. ECoG — elektrokortykogram, SAP — układowe ciśnienie tętnicze, EKG — elektrokardiogram, Control — kontrola, Ischemia — niedokrwienie, Recirculation — recyrkulacja

Fig. 2. Changes of cortical bioelectric activity, blood pressure and heart function during 24-h observation following complete cerebral ischemia for 30-min. The isoelectric curve of describing the heart function in the initial period of recirculation resulted from a temporary interruption of the EKG channel; the operation of the release of the arteries supplying the brain was accompanied by frequency overlap of the electric current and on the record

wała się trójfazowym przebiegiem. Powrót czynności i jej poprawa wyprzedzała dłuższy okres ustabilizowanego zapisu, po którym następowało powolne, postępujące jego pogarszanie się.

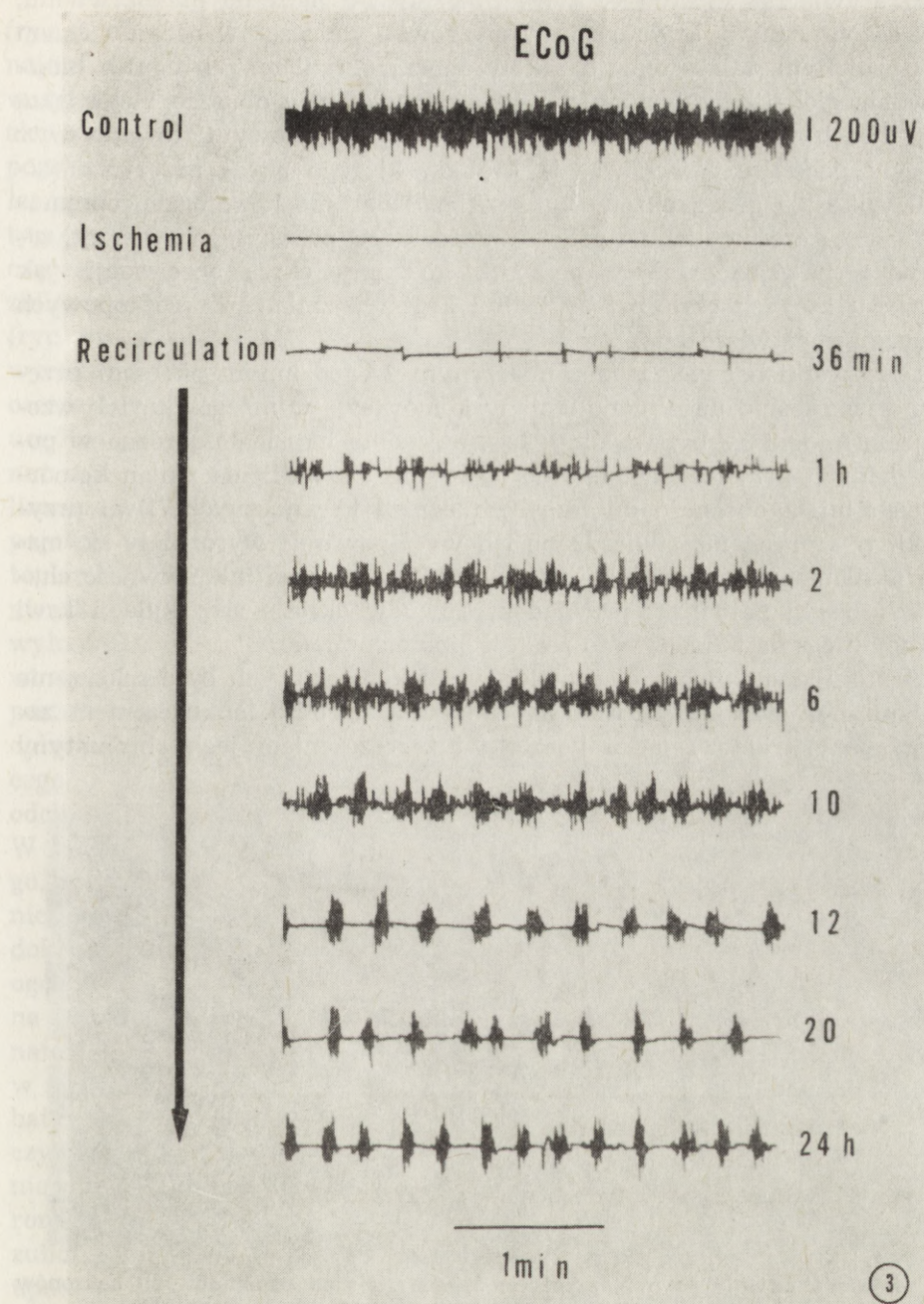
Pierwsze objawy spontanicznej czynności kory w postaci pojedynczych, okresowo występujących fal wolnych o wysokiej amplitudzie odnotowano w $43,2 \pm 6,6$ min po przywróceniu krążenia ($n=6$), natomiast aktywność ciągła występowała w $122,5 \pm 61,8$ mln ($n=6$). Najbardziej znormalizowany zapis ECoG obserwowano w $4,7 \pm 2,9$ godz., recyrkulacji. Odpowiadał on wartościom $73 \pm 14\%$ wyjściowej amplitudy i $66 \pm 22\%$ kontrolnej częstotliwości ($n=6$). Powolne, ale wyraźne pogorszenie czynności bioelektrycznej kory mózgu, wyrażające się zmniejszeniem zarówno amplitudy, jak i częstotliwości zapisu ECoG, odnotowano w $8,6 \pm 2,4$ godz. ($n=6$). Pogorszenie czynności kory polegało przy tym nie tylko na obniżeniu amplitudy i częstotliwości zapisu, lecz również na stopniowej zmianie jego charakteru. Aktywność ciągła przechodziła w okresową, utrzymującą się do końca obserwacji. Dynamikę powrotu i pogarszania się czynności bioelektrycznej kory po 30-minutowym pełnym niedokrwieniu mózgu ilustruje rycina 3.

Wraz z powrotem i poprawą czynności bioelektrycznej kory, w okresie po ustąpieniu działania środka zwiotczającego, u wszystkich zwierząt stwierdzono występowanie żywego odruchu rogówkowego, odruchu źrenicy na światło oraz reakcji na ból. Pomiędzy 3 a 10 godz. recyrkulacji zwierzęta ruszały kończynami, unosiły głowę. U 5 spośród badanych zwierząt pojawiły się w tym czasie okresowo nawracające drgawki toniczno-kloniczne. Wymagało to zastosowania dodatkowych dawek środka zwiotczającego.

Powolne, ale wyraźne pogarszanie się czynności odruchowych wystąpiło między 14 i 24 godz. recyrkulacji. W 24 godz. obserwacji tylko u 4 zwierząt występowały słabe odruchy rogówkowe, źreniczne na światło i reakcja na ból. U pozostałych 2 reakcje te zanikały we wcześniejszym okresie.

Podczas całego okresu obserwacji diureza dobowa wynosiła $77,5 \pm 18,8$ ml/kg masy ciała ($n=6$), przy ilości podanych płynów równej $67,7 \pm 13,4$ ml/kg masy ciała. W 24 godz. recyrkulacji, bezpośrednio przed zakończeniem doświadczenia u 6 zwierząt uzyskano następujące wyniki badania krwi tętniczej: pH $7,387 \pm 0,037$; pO_2 — $120,7 \pm 26,7$; pCO_2 — $34,5 \pm 6,0$; BE — $3,9 \pm 3,1$; HCO_3 — $20,8 \pm 4,4$; hematokryt — $41,2 \pm 4,2$.

Makroskopowe badania narządów wewnętrznych nie wykazało zmian patologicznych w płucach u żadnego ze zwierząt. Nie stwierdzono ich również w mięśniu sercowym u 5 spośród 6 badanych. U jednego, któremu przez cały okres przeżycia po niedokrwieniu stosowano ciągle infuzję Levonoru występowały drobne podwsięrdziowe i śródmięśniowe wybroczyny krwawe.



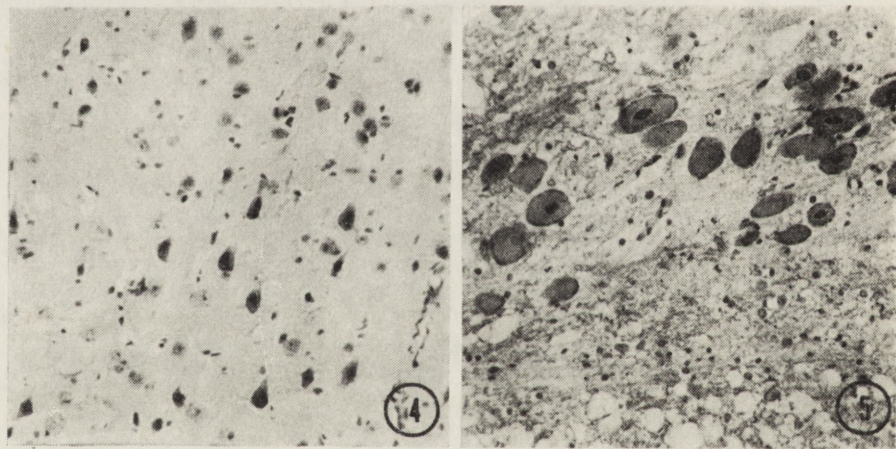
Ryc 3. Dynamika powrotu i pogarszania się czynności bioelektrycznej kory podczas 24-godzinnej obserwacji po 30-minutowym całkowitym niedokrwieniu mózgu. ECoG — elektrokortykogram, Control — kontrola, Ischemia — niedokrwienie, Recirculation — recyrkulacja

Fig. 3. Dynamics of recovery and suppression of the cortical bioelectric activity during 24-h of observation after 30 min complete cerebral ischemia

U 4 zwierząt spośród 6, które przeżyły 24 godz. po niedokrwieniu, stwierdzono zmiany krwotoczne w mózgowiu, widoczne w badaniu okiem nieuzbrojonym. Miały one charakter dobrze ograniczonych ognisk miąższowych, zlokalizowanych w dwóch przypadkach w opuszce i mózdzku, a w dwóch w półkulach mózgu. Ogniskom miąższowym towarzyszyły wylewy podpajęczynówkowe. U królika, którego okres przeżycia wynosił tylko 2,5 godz., obecne było rozległe ognisko krwotoczne obejmujące boczną część opuszki i półkulę mózdzku. U pozostałych zwierząt, zarówno tych które przeżyły pełny 24-godzinny okres obserwacji, jak i tych, u których czas przeżycia był krótszy, zmian makroskopowych w mózgu nie stwierdzono.

U wszystkich zwierząt z zamierzonym 24-godzinnym okresem przeżycia stwierdzono uogólnione zmiany komórkowe w mózgowiu. Ich wzorzec morfologiczny był wspólny, lecz natężenie i rozległość różne w poszczególnych przypadkach. Istotne znaczenie dla nasilenia zmian komórkowych miała obecność miąższowych ognisk krwotocznych. Dwa przypadki, w których nie stwierdzono ich występowania, wyróżniały się małym nasileniem uszkodzeń komórkowych. Ich znaczna intensywność charakteryzowała natomiast przypadek, który w okresie recyrkulacji krwi wykazywał stałą tendencję do reakcji hipotensyjnej.

Dominującym typem nieprawidłowości komórkowych było schorzenie ischemiczne, charakteryzujące się całkowitą tigrilizą, obkurczeniem zarysów perykarionu i jądra komórki i zagęszczeniem jego chromatyny



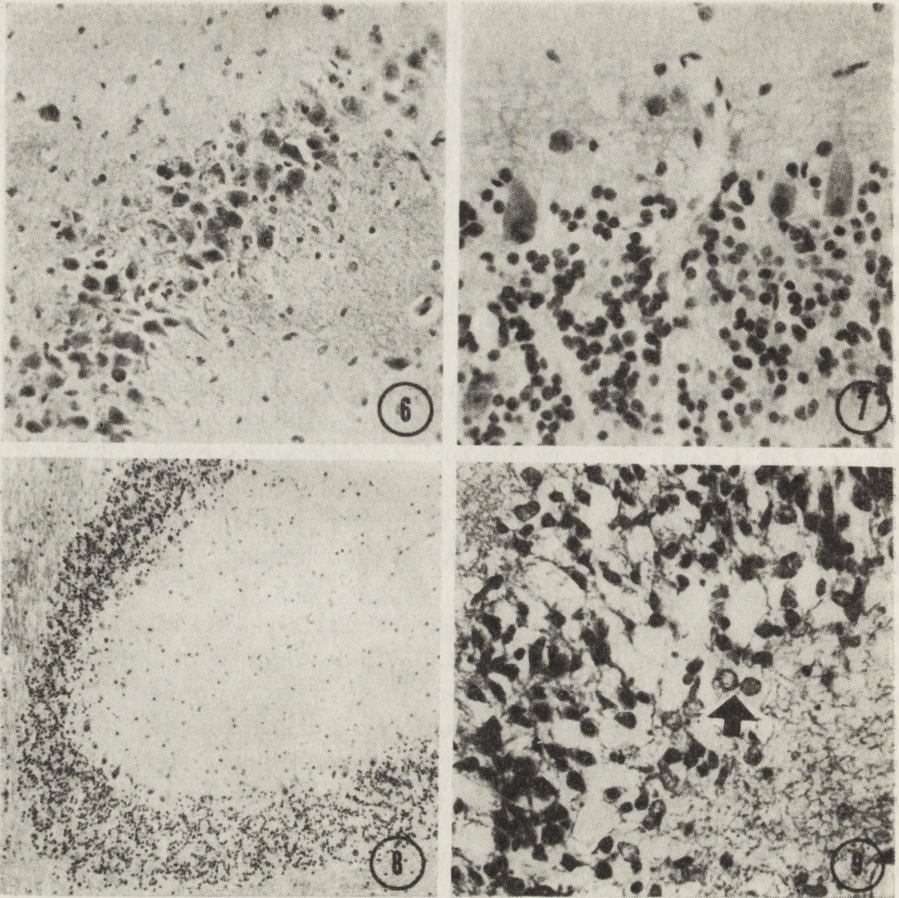
Ryc. 4. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Grupa piramidowych neuronów kory mózgu z cechami schorzenia ischemicznego. H—E. Pow. 200 ×

Fig. 4. Global ischemia, 30 min, 24 h survival. A group of pyramidal cortical neurons with features of ischemic changes. H—E. 200 ×

Ryc. 5. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Neurony brzuszego jądra ślimakowego z cechami zwyrodnienia ischemicznego. H—E. Pow. 200 ×

Fig. 5. Ischemia 30 min, 24 h survival. Neurons of ventral cochlear nucleus with features of ischemic degeneration. H—E. × 200

(ryc. 4). Były one obecne we wszystkich strukturach szarych mózgowia, najobficiej w korze nowej i w pniu mózgu. W korze najczęściej występowały w sposób rozsiany we wszystkich jej warstwach, z wyraźną jednak akcentacją w warstwie III i V. W okolicach odpowiadających strefom pogranicza unaczynienia przez duże pnie tętnicze dotyczyły na ogół całej populacji komórek nerwowych. W rogu Amona przyjmowały postać typowego kwasochłonnego zwyrodnienia komórek piramidowych, dotyczącego bądź pojedynczych rozsianych neuronów położonych wśród niezmiętej poza tym populacji komórek, bądź też ich całych ugrupowań (ryc. 6). W przypadku dużych neuronów pnia mózgu zmiany ischemiczne wyrażały się powiększeniem zarysów komórek, pełną tigrolizą i obkurczeniem jądra (ryc. 5). Cechą znaną wszystkim przypadków były uogólnione zmiany homogenizacyjne komórek Purkinjego (ryc. 7). Ostatnim wreszcie typem nieprawidłowości komórkowych była mikrowakuolizacja cytoplazmy neuronów. Drobne okrągłe lub owalne wodniczki, pojedyncze lub mnogie, zlokalizowane były najczęściej na obwodzie cytoplazmy. Występowały one zarówno w neuronach z cechami zwyrodnienia ischemicznego i homogenizacyjnego, jak i w komórkach nie wykazujących poza tym żadnych cech uszkodzenia. Ubytki komórek nerwowych były zjawiskiem rzadkim. W jednym przypadku miały one postać delikatnych rozsianych przerzedzeń w korze mózgu, w dwóch dalszych — niewielkich ubytków komórek Purkinjego, bez towarzyszącego odczynu gleju Bergmanna (ryc. 8). Znacznie częściej spostrzegano odcinkowe całkowite lub częściowe ubytki komórek opaski zębatej. W tych razach towarzyszyło im znaczne rozrzedzenie podłoża tkankowego, a zachowane neurony były obkurczone i nadbarwliwe (ryc. 9). Wodniczkowe zwyrodnienie neuropilu, stanowiące wczesne następstwo niedokrwienia mózgu nie było zjawiskiem częstym, a jego nasilenie było na ogół małe. Obserwowano je tylko w trzech przypadkach, z tego w dwóch na pograniczu unaczynienia, a w jednym w III warstwie kory. Częściej natomiast występowało zgębczenie tkanki. Dominowało ono wyraźnie w strukturach pnia mózgu i w mózdzku, przede wszystkim w jądrze zębatym (ryc. 10). Cechą znaną wszystkim przypadków był brak odczynu ze strony astrogleju. Zaledwie w jednym przypadku delikatne nieprawidłowości astrocytów towarzyszyły ciężkiemu uszkodzeniu neuronów w opasce zębatej. Powiększenie rozmiarów jąder astrocytarnych, zubożenie zawartości chromatyny i ostro zarysowane błony komórkowe upodobały je do tzw. nagich jąder (ryc. 9). W jednym przypadku stwierdzono ponadto cechy ostrego obrzmienia oligodendrogleju, towarzyszące znacznemu porozsuwaniu pasm włókien nerwowych w istocie białej (ryc. 11). W pozostałych przypadkach podkorowa istota biała była niezmięta. Zmiany krwotoczne, występujące w różnych strukturach mózgowia, obecne były u 4 zwierząt. Miały one postać bądź dobrze ograniczonych pojedynczych ognisk (ryc. 12), bądź skupień mnogich, zlewa-



Ryc. 6. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Zwyródnienie kwasochłonne neuronów piramidowych rogu Amona. H—E. Pow. 200 ×

Fig. 6. Ischemia 30 min, 24 h survival. Eosinophilic degeneration of pyramidal neurons in Ammon's horn. H—E. × 200

Ryc. 7. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Komórki Purkiniego z cechami zwyródnienia homogenizacyjnego. H—E. Pow. 400 ×

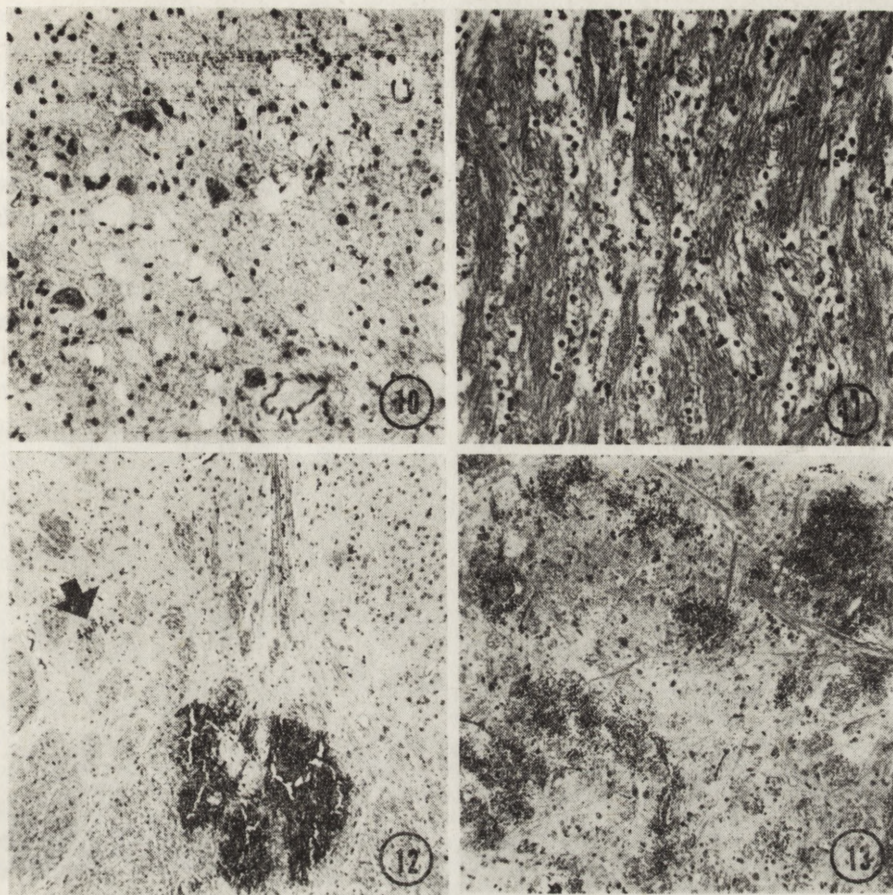
Fig. 7. Ischemia 30 min, 24 h survival. Homogeneous Purkinje cells in cerebellar cortex. H—E. × 400

Ryc. 8. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 27,5 godz. Ubytek komórek Purkiniego w korze mózdzku. H—E. Pow. 100 ×

Fig. 8. Ischemia 30 min, 27,5 survival. Neuronal loss in Purkinje cell layer. H—E. × 100

Ryc. 9. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Ubytek neuronów i znaczne rozrzedzenie podłoża w opasce zębatej. Zachowane komórki nerwowe ciemne, nadbarwliwe. Grupa obrzmiałych jąder astrocytów z ostro zarysowanymi błonami jądrowymi (strzałka). H—E. Pow. 400 ×

Fig. 9. Ischemia 30 min, 24 h survival. Neuronal loss and tissue rarefaction in fascia dentata. Shrunken and hyperchromatic preserved neurons. A group of swollen astrocytic nuclei with sharp outlines of nuclear membrane (arrow). H—E. × 400



Ryc. 10. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Zmiany gąbczaste w jądrze zębatym mózdzku. H—E. Pow. 200 ×

Fig. 10. Ischemia 30 min, 24 h survival. Spongiotic changes in the cerebellar dentate nucleus. H—E. × 200

Ryc. 11. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Porozsuwane pasma włókien nerwowych w podkorowej istocie białej. Oligodendrocyty z cechami ostrego obrzmienia. H—E. Pow. 200 ×

Fig. 11. Ischemia 30 min, 24 h survival. Widely separated bundles of nerve fibres in subcortical white matter, acute swelling of oligodendrocytes. H—E. × 200

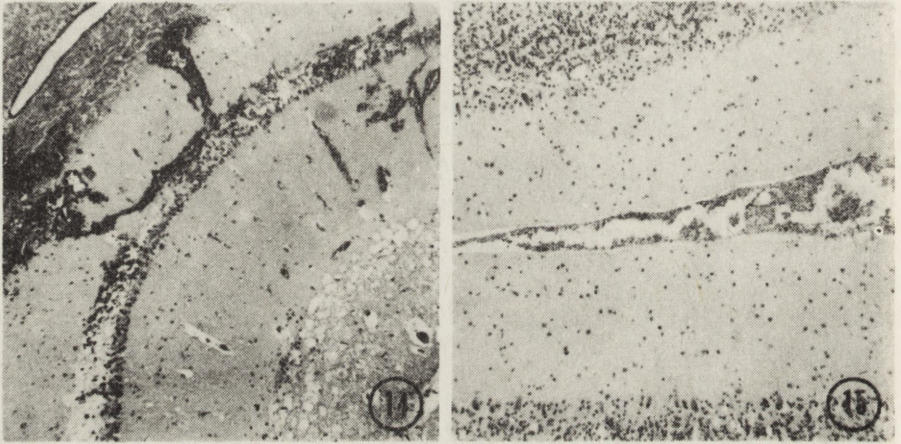
Ryc. 12. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Dobrze ograniczone świeże ognisko krwotoczne w jądrach podstawy. Drobne ugrupowania erytrocytów w otaczającej tkance (strzałka). H—E. Pow. 100 ×

Fig. 12. Ischemia 30 min, 24 h survival. Well defined fresh hemorrhagic focus in the region of basal ganglia. Small group of erythrocytes in the neighbouring tissue (arrow). H—E. × 100

Ryc. 13. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Liczne zlewające się okołonaczyniowe krwinkotoki w opuszce. H—E. Pow. 100 ×

Fig. 13. Ischemia 30 min, 24 h survival. Numerous confluent perivascular hemorrhagic foci in upper medulla. H—E. × 100

jących się okołonaczyniowych krwinkotoków, zajmujących rozległe obszary poszczególnych struktur mózgu (ryc. 13). Ten rodzaj zmian przeważał w pniu mózgu i mózdzku. Nierzadko występowały ponadto drobne krwinkotoki nie niszczące podłoża tkanki rozsiane w korze mózgu. Tkanika nerwowa w otoczeniu różnego rodzaju ognisk krwotocznych wykazywała znacznego stopnia uszkodzenia, wyrażające się zblednięciem osłonek mielinowych, porozsuwaniem pasm włókien nerwowych, rozrzedzeniem bądź zgębczeniem podłoża, zwyrodnieniem i ubytkami komórek nerwowych (ryc. 14). Obecne były również odcinkowe nagromadzenia krwi w przestrzeni podpajęczynówkowej, towarzyszące ogniskom miąższowym lub z nimi niezwiązane (ryc. 15).



Ryc. 14. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 24 godz. Liczne okołonaczyniowe, częściowo zlewające się ogniska krwotoczne w roku Amona. Zwracają uwagę ubytki komórkowe w opasce zębatej i zgębczenie podłoża tkankowego. H—E. Pow. 60 ×

Fig. 14. Ischemia 30 min, 24 h survival. Numerous perivascular, partially confluent hemorrhagic foci in Ammon's horn. Note neuronal loss in fascia dentata and tissue spongiosis. H—E. × 60

Ryc. 15. Niedokrwienie 30 min, przeżycie 27,5 godz. Podpajęczynówkowe skupienie erytrocytów w rowku mózdzku. H—E. Pow. 100 ×

Fig. 15. Ischemia 30 min, 27,5 h survival. Subarachnoid accumulation of erythrocytes in the cerebellar sulcus. H—E. × 100

W mózgach zwierząt o krótszych okresach przeżycia po niedokrwieniu nieprawidłowości tkankowe miały charakter uogólnionych zwyrodnień komórkowych o cechach schorzenia ischemicznego, homogenizacyjnego i mikrowakuolizacji cytoplazmy. Były one jednak mniej zaawansowane niż u zwierząt po 24-godzinnym przeżyciu. W przypadku królika uśpionego po 2,5 godz. recyrkulacji krwi obok niewielkiego zwyrodnienia komórkowego stwierdzono rozległe ognisko krwotoczne obejmujące część nakrywkową opuszki i półkulę mózdzku.

OMÓWIENIE

W poprzednich badaniach nad skutkami całkowitego niedokrwienia mózgu przeciwdziałano stale reakcji wazopresyjnej, znamiennej dla wczesnej fazy uniedroźnienia dopływu krwi do ośrodkowego układu nerwowego, poprzez stosowanie okresowego upustu krwi i dożylnie podawanie Arfonadu w dawce 5 mg/kg masy ciała (Pluta, Kapuściński 1980; Pluta i wsp. 1980; Pluta 1982). Postępowanie to okazało się nie w pełni skuteczne. W bardzo wielu przypadkach, mimo to, występowały zaburzenia czynności serca, jego niewydolność i wtórna obwodowa hipotensja (Kapuściński i wsp. 1980; 1981). Zaburzenia ze strony układu krążenia stwarzały konieczność długotrwałego stosowania środków hipertensyjnych, co z kolei pociągało za sobą rozwój zmian patologicznych w mięśniu serca o charakterze wybroczyn i wylewów krwawych oraz ognisk martwicy (Pluta 1982). Zastosowanie w obecnej serii doświadczeń infuzji Arfonadu w średniej dawce $23,6 \pm 11,8$ mg/kg masy ciała podczas zatrzymania dopływu krwi do mózgu pozwoliło skutecznie zablokować reakcję hipertensyjną i uniknąć zaburzeń czynności serca. Potwierdzał to prawidłowy zapis EKG podczas 24 godz. obserwacji u 5 zwierząt, u których nie dochodziło do objawów niewydolności krążenia i nie istniała konieczność farmakologicznego podtrzymywania ciśnienia krwi w okresie recyrkulacji, a stosunkowo niska dawka Levonoru podana w okresie udroźnienia tętnic domózgowych okazała się całkowicie wystarczająca. Nie stwierdzono również u nich zmian patologicznych w mięśniu sercowym, podczas gdy u jednego z królików, u którego wprawdzie również nie stwierdzono zaburzeń czynności serca, jednakże w okresie recyrkulacji okazało się niezbędne podtrzymywanie ciśnienia krwi przez długotrwałą infuzję Levoronu, występowały zarówno wybroczyny krwawe w mięśniu sercowym, jak i zmiany krwotoczne w mózgu.

Przy stosowaniu leczenia przeciwobrzękowego i utrzymywaniu prawidłowego ciśnienia oraz pH krwi w okresie recyrkulacji, czas powrotu spontanicznej czynności ośrodków naczynioruchowych, wyrażającej się zdolnością do samoistnego utrzymywania ciśnienia krwi, nie różnił się znamienne od wyników uzyskanych przez Plutę (1982) po 30-minutowym pełnym zatrzymaniu krążenia w mózgowiu. Czas powrotu najwcześniejszych wykładników spontanicznej czynności bioelektrycznej kory mózgu nie odbiegał również istotnie od wyników uzyskanych poprzednio zarówno w badaniach na królikach (Pluta 1982), jak i na chomikach mongolskich (Kapuściński, Mossakowski 1983), a aktywność ciągła w zapisie ECoG pojawiała się nawet w okresie późniejszym. Aktywność bioelektryczna kory w żadnym przypadku nie powróciła do wartości wyjściowych. Jej najkorzystniejsze wykładniki, stwierdzone w $4,7 \pm 2,9$ godz. recyrkulacji, odpowiadały 73% kontrolnej wartości amplitudy i 66% kontrolnej częstotliwości. W $8,6 \pm 2,4$ godz. recyrkulacji

u wszystkich królików stwierdzano wyraźne pogorszenie czynności bioelektrycznej kory mózgu, która jedynie w postaci czynności okresowej utrzymywała się do końca 24 godz. obserwacji. W okresie recyrkulacji krwi powracały także wybrane reakcje odruchowe. Poprawiał się również stan ogólny zwierząt, który był najlepszy między 3 a 10 godz. powrotu krążenia krwi w mózgu. W późniejszym okresie, poczynając od 14 godz. stan ogólny zwierząt ulegał stopniowemu pogorszeniu. Dochodziło do osłabienia reakcji odruchowych, które u 2 zwierząt zanikły całkowicie przed zakończeniem obserwacji.

Podstawowe zagadnienie, po jak długim czasie całkowitego niedokrwienia mózgu, w warunkach normotermicznych, możliwe jest trwale przywrócenie prawidłowej czynności mózgu bez ubytkowych zespołów neurologicznych, pozostaje nadal otwarte. W obszernej serii badań na królikach, przeprowadzonej przez Plutę (1982) u 14 z 47 zwierząt poddanych całkowitemu niedokrwieniu mózgu przez okres 30 min, nie stwierdzono w ogóle powrotu czynności bioelektrycznej kory. U 33, które przeżyły do 6 godz. obserwowano jej powrót do wartości 50—70% amplitudy wyjściowej. Częstotliwość fal szybkich była jednak zawsze wyraźnie zmniejszona. U znacznej części zwierząt pojawiał się wtórny zanik czynności mózgu. W serii badań na chomikach mongolskich, które poddano zabiegowi podwiązania obu tętnic szyjnych wspólnych na okres 30 min (Kapuściński, Mossakowski 1983), u 2 zwierząt czynność bioelektryczna kory mózgu wróciła do wartości wyjściowych, natomiast u 8 z 10 badanych zarówno amplituda, jak i częstotliwość zapisu ECoG osiągała jedynie 25—50% wartości kontrolnych w okresie 3 godz. recyrkulacji. Po tym czasie obserwowano albo brak dalszej poprawy, albo wtórne pogorszenie zapisu prowadzące do śmierci mózgu. W obydwu seriach doświadczeń, zarówno na królikach, jak i chomikach mongolskich nie stosowano leczenia przeciwozrękowego, ani nie korygowano farmakologicznie pH krwi, ani też nie przeciwdziałano dostatecznie reakcji wazopresyjnej, co pociągało za sobą uszkodzenie serca i wtórne zaburzenia hemodynamiczne. Porównanie z obecnymi badaniami pozwala stwierdzić, że zastosowana terapia przedłużyła okres przeżycia zwierząt, umożliwiając ich dłuższą obserwację. Korzystne było również uzyskanie powrotu czynności bioelektrycznej u wszystkich badanych zwierząt. Nie uchroniła ona jednak od wtórnego załamania czynności bioelektrycznej kory mózgu mimo istotnej poprawy czynnościowych parametrów krążeniowych. Nie wpływało również w sposób istotny na charakter uszkodzeń strukturalnych tkanki.

Badanie mikroskopowe ośrodkowego układu nerwowego wykazało uogólnione zmiany patologiczne komórek nerwowych o typie niedokrwinnym (Brown, Brierley 1968; McGee-Russell i wsp. 1970). W swoim podstawowym wzorcu patomorfologicznym nie różniły się one zasadniczo od nieprawidłowości tkankowych opisanych przez Plutę (1982)

u nieleczonych królików z 30-minutowym pełnym niedokrwieniem mózgowia oraz Kapuścińskiego i Mossakowskiego (1983) u chomików mongolskich z obustronnym podwiązaniem tętnic szyjnych wspólnych na okres 30 min. Przy znanych i oczywistych zastrzeżeniach co do jakości oceny patomorfologicznej stopnia uszkodzeń tkanki — wydawały się one jednak mniej nasilone. Było to o tyle istotne, iż przedstawiony w niniejszej pracy materiał pochodził w większości od zwierząt z 24-godzinnym przeżyciem po niedokrwieniu, podczas gdy poprzednio dotyczył zwierząt, które przeżyły jedynie 6 godz. po przebytych niedokrwieniu. Różnice te najwyraźniej występowały u 2 zwierząt bez zmian krwotocznych w mózgu. Komórkowe zmiany neuropatologiczne miały tu niewielkie nasilenie. Porównanie obrazu histopatologicznego mózgow zwierząt z 24-godzinnym i krótszym okresem przeżycia po niedokrwieniu pozwoliło na zaobserwowanie wyraźnych różnic zależnych od „dojrzwania” procesu patologicznego (Klatzo 1975). Zmiany patologiczne u zwierząt z dłuższym okresem przeżycia były bardziej nasilone i uogólnione. W zestawieniu z chomikami mongolskimi (Kapuściński, Mossakowski 1983) zwracała uwagę mała, choć obecna zależność nasilenia uszkodzeń tkankowych od ich położenia w obszarach pogranicza unaczynienia przez duże pnie tętnicze mózgu. Mogło to jednakże zależeć zarówno od uniknięcia reakcji hipotensyjnej w okresie recyrkulacji krwi dzięki stosowanej terapii, jak i od gatunkowych różnic w ukształtowaniu sieci naczyniowej mózgu u królików i chomików mongolskich (Tamura i wsp. 1981). W porównaniu do obu badanych poprzednio grup zwierząt (Pluta 1982; Kapuściński, Mossakowski 1983) uogólniona reakcja obrzękowa mózgu była nikła. Jej niewątpliwe wykładniki morfologiczne stwierdzono bowiem tylko w jednym przypadku. Skąpy materiał doświadczalny jak i ograniczość morfologicznej oceny obrzęku mózgu opartej na spostrzeżeniach w mikroskopie świetlnym nie pozwalają na jednoznaczne wiązanie tego zjawiska z działaniem zastosowanego preparatu przeciwobrzękowego.

Odrębnym zagadnieniem zasługującym na podkreślenie był bogaty udział komponentu krwotocznych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego, nieporównywalnie wyższy niż w poprzednich badaniach (Pluta 1982; Kapuściński, Mossakowski 1983). Zmiany krwotoczne, obecne u 5 z 9 badanych zwierząt, a u 4 spośród 6, które przeżyły do 24 godz. po niedokrwieniu, nie są typowe dla niepowikłanej patomorfologii niedokrwiennej mózgu. Ich związek ze stosowaną terapią, jakkolwiek możliwy, pozostaje sprawą otwartą, tym bardziej, że łączna dawka noradrenaliny zawarta w podanym Levonorze była niższa niż w przypadku poprzednich doświadczeń.

Pogląd, iż komórki nerwowe są bardziej odporne na niedokrwienie niż wynikałoby to ze spostrzeżeń klinicznych (Hossmann, Zimmermann 1974; Kolata 1979; Plum 1981; Pluta 1982) zainicjował liczne prace doświadczalne, których celem było wykrycie i wyjaśnienie mechanizmów pato-

genetycznych odpowiedzialnych za ich nieodwracalne uszkodzenie. Wyniki dotychczasowych badań wskazują na szczególne znaczenie kwasicy wewnątrzkomórkowej oraz łańcuchowo postępujących zaburzeń metabolicznych, rozpoczynających się od upośledzenia wewnątrzkomórkowej homeostazy jonów (Raichle 1983). Obserwacje Hansena (1981) wykazały, że w pierwszych minutach po wygaśnięciu czynności bioelektrycznej mózgu, występującym w okresie 20 s pełnego niedokrwienia (Hossmann, Zimmermann 1974; Astrup i wsp. 1981), znacznie wzrasta stężenie potasu w przestrzeni pozakomórkowej przy równoczesnym spadku stężenia sodu i wapnia. Na skutek depolaryzacji i uszkodzenia błon cytoplazmatycznych sód i wapń przechodzą do wnętrza komórki. Sód i wapń stymulują uwalnianie wapnia z mitochondriów. W następstwie metabolizmu beztlenowego dochodzi do obniżenia zasobów energetycznych komórki i zwiększonej produkcji kwasu mlekowego prowadzącego do zakwaszenia środowiska wewnątrzkomórkowego. Efektem zaburzeń metabolizmu fosfolipidów błonowych jest uwalnianie kwasów tłuszczowych, spośród których kwas arachidonowy uruchamia kaskadę procesów metabolicznych syntezy prostanoidów (Wolfe 1982) z ich niekorzystnych dla tkanki wpływem na układ naczyniowy i błony komórkowe. Obniżenie stężenia związków wysokoenergetycznych obok wzrostu wolnych rodników powoduje uwalnianie wapnia z siatki śródplazmatycznej (Flam i wsp. 1978). Zaburzenia wewnątrzkomórkowej homeostazy wapnia warunkują dalszy masywny jego napływ do komórek nerwowych podczas reperfuzji i wystąpienie ich nieodwracalnych uszkodzeń związanych z utratą czynności mitochondriów (Faber i wsp. 1981). Uszkodzenie przepuszczalności błon komórkowych i zaburzenia równowagi jonowej leżą u podłoża obrzęku cytotoksycznego mózgu stanowiącego wstępną fazę niedokrwiennego obrzęku mózgu. Uruchomione w czasie niedokrwienia mechanizmy patogenetyczne postępujące nadal w późniejszej fazie prowadzą do rozwoju obrzęku naczyniopochodnego pogłębiającego uszkodzenia komórkowe. Badania Ames i Nesbetta (1983 a, b, c), prowadzone na siatkówce królika *in vitro*, sugerują, że najwcześniejsze nieodwracalne uszkodzenia neuronów pojawiają się po okresie nie krótszym niż 20 min pełnego niedokrwienia. Nie są one jednak porównywalne ani z warunkami doświadczenia *in vivo*, ani tym bardziej z obserwacjami klinicznymi, wskazującymi na to, iż 5-minutowe pełne niedokrwienie mózgu prowadzi do nieodwracalnych uszkodzeń komórkowych. Istnieje natomiast coraz więcej dowodów doświadczalnych, do których należą i nasze własne spostrzeżenia, że całkowita restytucja krążenia i powrót czynności bioelektrycznej neuronów po niedokrwieniu nie zatrzymuje dalszego postępu procesów patologicznych prowadzących do ich nieodwracalnego uszkodzenia. Badania Suzuki i wsp. (1983 a, b), przeprowadzone na modelu obustronnego podwiązania tętnic szyjnych wspólnych u chomików mongolskich, wskazują, że czynnościowa restytucja i metaboliczna normali-

zacja nawet po krótkotrwałym niedokrwieniu mózgu mogą mieć charakter przejściowy, a dalszą fazą procesu jest czynnościowa, metaboliczna i strukturalna dezintegracja tkanki. Udowodnili oni, iż po 5-minutowym niedokrwieniu mózgu neurony sektora CA₁ hipokampa wykazujące pełną czynnościową odnowę, a nawet hiperaktywność występującą w pierwszej dobie recyrkulacji krwi, po 2 dniach mimo zachowania prawidłowej struktury ulegały czynnościowej śmierci, by po 3 dniach ulec morfologicznej dezintegracji. Zjawisko to zostało określone przez Klatzo (1975) jako dojrzewanie procesu patologicznego. O ile na podstawie poprzednich badań (Hossmann i wsp. 1973; Hossmann, Zimmermann 1974; Kleihues i wsp. 1975; Kolata 1979; Pluta, Kapuściński 1980; Kapuściński, Mossakowski 1983; Pluta 1982; Ames, Nesbett 1983 a) można było przypuszczać, że różne stopnie powrotu czynności i normalizacji metabolizmu są skorelowane z możliwością przeżycia mózgu, na tyle obecne spostrzeżenia poparte wynikami badań Suzuki i wsp. (1983 a, b) wskazują, że odnowa aktywności neuronów nie oznacza odwracalności ich uszkodzenia. Stanowi to poparcie poprzednio wyrażonego poglądu, iż po dłuższych okresach niedokrwienia mózgu nawet pełna normalizacja jego aktywności bioelektrycznej nie ma wartości prognostycznej co do dalszego przebiegu procesu patologicznego (Kapuściński, Mossakowski 1983).

ПОПЫТКИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРОТИВОДЕЙСТВИЯ ИШЕМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В МОЗГЕ КРОЛИКОВ ПОСЛЕ ГЛОБАЛЬНОЙ ЗАДЕРЖКИ КРОВΟΣНАБЖДЕНИЯ

Содержание

Общие гемодинамические изменения и связанные с ними функциональные и структурные повреждения сердца, изменения kwaso-щелочного равновесия, а также ранний отек мозга, сопровождающие полную ишемию мозга составляют собой факторы ограничивающие функциональную реституцию центральной нервной системы во время рециркуляции крови.

Сделано попытку фармакологического противдеиствия зтим факторам, при употреблении следующих медикаментов:

- Афронад (Рош) предупреждающий ранней гипертонической реакции,
- Левонор (Польфа) противодействующий гипотонической реакции во время реституции кровоснабжения,
- Трис (Фресенос) поддерживающий kwaso-щелочный баланс организма,
- Маннитол (Польфа) обеспечивающий против развитию мозгового отека.

Эксперименты проводились на взрослых кроликах, которым в барбитурном наркозе (35 мг/кг веса) производилось полную ишемию мозга на время 30 минут, подвязывая все артерии снабжающие мозг в местах их отхода от аортальной дуги. Принимаемая терапия предупредила выступлению гемодинамических изменений, повреждению функции сердца и изменениям kwaso-щелочного баланса у всех животных и предоставило возможность продолжать переживание до 24 часов у шести животных с девяти исследуемых. Время рестигуипии биоэлектрической активности мозга выступающей у всех животных, не отличалось значительно по сравнению с контрольными животными. Нормализация электрокортикографической записи в смысле ей амплитуды и частоты была высшая чем у контрольных живот-

ных. У всех исследуемых животных наблюдалось вторичное повреждение биоэлектрической активности мозга, которое начинаясь в 8 часов рециркуляции поступало в следующие периоды проживания.

Патоморфологические исследования доказали присутствие ишемических изменений нервных клеток во всех структурах мозга, наиболее намеченных в структурах мозгового ствола и мозжечка. Только у одного животного обнаружилось морфологическое экспоненте отека мозга. Однако, очень часто обнаружались кровоточные изменения мозга. Полученные результаты доказывают, что патологические процессы в мозге вызванные его ишемией поступающие во времени и ведущие к структурным повреждениям ткани, ведут к вторичному изменению функции мозга, мимо значительного улучшения общих физиологических параметров.

Реституция функции мозга после его ишемии, достигающая даже высокий уровень нормализации не имеет прогностического значения, относительно дальнейшего тока патологического процесса.

PHARMACOLOGICAL ATTEMPT TO PREVENT ISCHEMIC CHANGES IN THE BRAIN FOLLOWING COMPLETE CEREBRAL ISCHEMIA IN RABBITS

Summary

Systemic hemodynamic abnormalities, functional heart disturbances and its structural lesions, alteration in acid-base equilibrium and early development of brain edema, accompanying prolonged global cerebral ischemia are considered to be important factors limiting restoration of brain function during recirculation period. It was decided to counteract these factors pharmacologically, by applying the following drugs: 1. Afronad (Roche) — to prevent hypertonic reaction in the early period of ischemia, 2. Levonar (Polfa) — to keep arterial pressure during the recirculation period on the level close to control, 3. Tris (Fresenius, A.G) — to counteract disturbances of acid-base equilibrium, and 4. Mannitol (Polfa) — to protect against development of early brain edema. Experiments were carried out on 9 adult rabbits, in which, under pentobarbital anesthesia (35 mg/kg b.w.), total cerebral ischemia was produced by ligation of brain supplying arteries at their outcome point from the aortal arch. In all animals the pharmacological treatment prevented successfully systemic hemodynamic disturbances, functional heart abnormalities and alterations of acid-base equilibrium. It extended the survival time of 6 out of 9 examined animals to 24 h. The restoration time of the bioelectric activity of the brain in all animals did not differ essentially from that in untreated ones. Normalization of ECoG pattern with respect to both its frequency and amplitude was higher than in untreated animals. In all the animals secondary deterioration of the cerebral bioelectric activity appeared around 8th h of the recovery period, worsening further during the later period of survival. Brain pathomorphology revealed cellular ischemic changes spread over all cerebral structures, being most intensive in the brain stem and cerebellum. In only one animal, features of brain edema were found. However, hemorrhagic foci, resulting from pharmacological treatment were a common finding.

It was concluded that pathological processes, initiated by ischemia were continuously progressing, leading to secondary deterioration of the cerebral bioelectric activity and appearance of structural lesions, regardless the significant improvement of the systemic physiological parameters. Therefore, restoration of the bioelectric activity of the brain following global ischemia and its significant normalization do not possess prognostic value as to the further development of the pathological process.

PIŚMIENNICTWO

1. Ames A. III, Nesbett F. B.: Pathophysiology of ischemic cell death: I. Time of onset of irreversible damage, importance of the different components of the ischemic insult. *Stroke*, 1983 a, 14, 219—226.
2. Ames A. III, Nesbett F. B.: Pathophysiology of ischemic cell death: II. Changes in plasma membrane permeability and cell volume. *Stroke*, 1983 b, 14, 227—233.
3. Ames A. III, Nesbett F. B.: Pathophysiology of ischemic cell death: III. Role of extracellular factors. *Stroke*, 1983 c, 14, 233—240.
4. Astrup J., Siesjö B. K., Symon L.: Thresholds in cerebral ischemia. The ischemic menumbra. *Stroke*, 1981, 12, 723—725.
5. Black P. Mcl.: Brain death. *N. Engl. J. M.*, 1978, 299, 338—344.
6. Brown A. W., Brierley J. B.: The nature, distribution and earliest stages of anoxic ischemic nerve cell damage in the rat brain as defined by the optic microscope. *Brit. J. exp. Path.*, 1968, 49, 87—98.
7. Faber J. L., Chien K. R., Mittnacht S. Jr.: The pathogenesis of irreversible cell injury in ischemia. *Am. J. Pathol.*, 1981, 102, 271—281.
8. Flam E. S., Demopoulos H. B., Seligman M. L., Poser R. G., Ransohoff I.: Free radicals in cerebral ischemia. *Stroke*, 1978, 9, 445—447.
9. Hansen A. J.: Extracellular ion concentration in cerebral ischemia. [W:] *The Application of Ion—selective Microelectrodes*. Red. T. Zenter, Elsevier, New York, North-Holland 1981, 239—254.
10. Hass W. K.: Beyond cerebral blood flow, metabolism, and ischemic threshold: Examination of the role of calcium in the initiation of cerebral infraction. [W:] *Cerebral Vascular Disease*. Vol. 3. Red. J. S. Meyer, H. Lechner, M. Reivich, E. D. Ott, A. Aranibar. *Excerpta Medica*, Amsterdam 1981, 3—17.
11. Hossmann K-A., Kobayashi K., Hossmann V., Kleihues O.: Recovery of cerebral energy metabolism after complete ischemia of one hour's duration. *Naturwissenschaften*, 1973, 60, 53—54.
12. Hossmann K-A., Zimmermann V.: Resuscitation of the monkey brain after 1 h complete ischemia. I. Physiological and morphological observations. *Brain Res.*, 1974, 81, 59—74.
13. Kapuściński A., Tołowa S. V., Pluta R.: Some disturbances of cardiovascular system in experimental compression ischemia of the rabbit brain. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, 1980, 18, 407—415.
14. Kapuściński A., Pluta R., Mossakowski M. J.: Is acute failure of adrenals an important factor limiting recovery from cerebral ischemia? W: *Cerebral Microcirculation and Metabolism*. Red. J. Cervos-Navarro, E. Fritschka. *Raven Press*, New York 1981, 293—302.
15. Kapuściński A., Mossakowski M. J.: Pathophysiological and morphological observation after 30 min bilateral occlusion of the common carotid artery in gerbils. [W:] *Stroke — Animals Models*. *Advances in biosciences*. Vol. 43. Red.: K. Stefanovič, *Pergamon Press*, Oxford and New York 1983, 63—82.
16. Klatzo I.: Pathophysiological aspects of cerebral ischemia. [W:] *Nervous System*. Vol. I. *The basic neurosciences*. Red. D. B. Tower, *Raven Press*, New York 1975, 313—322.
17. Kleihues P., Hossmann K-A., Pegg A. E., Kobayashi K., Zimmermann V.: Resuscitation of the monkey brain after one hour complete ischemia. III. Indications of metabolic recovery. *Brain Res.*, 1975, 95, 61—73.
18. Kolata R. J.: Survival of rabbits after prolonged cerebral ischemia. *Stroke*, 1979, 10, 272—277.

19. McGee-Russell S. M., Brown A. W., Brierley J. B.: A combined light and electron microscope study of early anoxic-ischemic cell change in rat brain. *Brain Res.*, 1970, 20, 193—201.
20. Mossakowski M. J., Patzer-Kwiatkowska B.: Wpływ indometacyny na niedokrwienne uszkodzenia mózgu u chomika mongolskiego (*Meriones unguiculatus*). *Neuropat. Pol.*, 1983, 21, 287—301.
21. Nordström C. H., Rehnrona S., Siesjö B. K.: Restitution of cerebral energy state, as well as glycolytic metabolites, citric acid cycle intermediates and associated amino acids after 30 minutes of complete ischemia in rats anesthetized with nitrous oxide or phenobarbital. *J. Neurochem.*, 1978, 30, 479—486.
22. Plum F., Potential directions for therapy in cerebral vascular disease. W: *Cerebrovascular Disease*. Red. J. Mossy, O. M. Reinmuth, Raven Press, New York 1981, 195—204.
23. Pluta R., Kapuściński A.: Całkowite niedokrwienie mózgu a czynność bioelektryczna. *Neuropat. Pol.*, 1980, 18, 41—52.
24. Pluta R., Tołowa S. W., Kapuściński A.: Całkowite niedokrwienie mózgowia u królika w wyniku ostrego nadciśnienia wewnątrzczaszkowego. *Neuropat. Pol.*, 1980, 18, 365—384.
25. Pluta R.: Badania możliwości przeżycia mózgowia po całkowitym niedokrwieniu i zmian jemu towarzyszących. Praca doktorska. Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa 1982.
26. Pulsinelli W. A., Levy D. E., Duffy T. E.: Regional cerebral blood flow and glucose metabolism following transient forebrain ischemia. *Ann. Neurol.*, 1982, 11, 499—509.
27. Raichle M. E.: The pathophysiology of brain ischemia. *Ann. Neurol.*, 1983, 13, 2—10.
28. Siesjö B. K.: Cell damage in the brain: A speculative synthesis. *J. Cereb. Blood Flow Metabol.*, 1981, 1, 155—185.
29. Steen P. A., Newborg L. A., Milde J. H., Michenfelder J. D.: Nimodipine improves cerebral blood flow and neurologic recovery after complete cerebral ischemia in the dog. *J. Cereb. Blood Flow and Metabol.*, 1983, 3, 38—43.
30. Suzuki R., Yamaguchi T., Kirino T., Orzi F., Klatzo I.: The effect of 5-minute ischemia in mongolian gerbils: I. Blood-brain barrier, cerebral blood flow, and local cerebral glucose utilisation changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)*, 1983 a, 60, 207—216.
31. Suzuki R., Yamaguchi T., Choh-Luh Li, Klatzo I.: The effects of 5-minute ischemia in mongolian gerbils: II. Changes of spontaneous neuronal activity in cerebral cortex and CA1 sector of hippocampus. *Acta Neuropathol. (Berl.)*, 1983 b, 60, 217—222.
32. Tamura A., Horioze H., Fukuda T.: Relationship of cerebral vasculature to infarcted areas following unilateral common carotid artery ligation in the Mongolian gerbils. *J. Cereb. Blood Flow Metabol.*, 1981, 1, 194—195.
33. Wolfe L. S.: Eicosanoids: prostaglandins, thromboxanes, and other derivatives of carbon-20 unsaturated fatty acids. *J. Neurochem.*, 1982, 28, 1—14.

Adres autorów: Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa