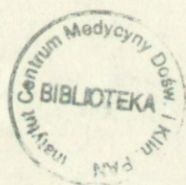


Andrzej Kapuściński

BADANIA NAD ISCHEMICZNO-HIPOKSYJNYM OBRZĘKIEM MOZGU

PRZY UŻYCIU METOD IZOTOPOWYCH



LS 234

Zespół Neuropatologii
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Polskiej Akademii Nauk

Kierownik Zespołu: Prof.dr med.hab.M.J. Mossakowski

Warszawa 1975

1. W S T Ę P	1
2. C E L P R A C Y	9
3. M A T E R I A Ł I M E T O D Y	11
3.1. Materiał	11
3.2. Metody	11
3.2.1. Metody wywoływania niedokrwienia i niedotlenienia mózgu	11
3.2.2. Metody badań izotopowych	12
3.2.2.1. Pomiary przepływu krwi w mózgu	12
3.2.2.2. Ocena ukrwienia mózgu, czynnego transportu, objętości krwi w mózgu oraz stanu bariery krew-mózg	14
3.2.3. Ocena zawartości wody w mózgu	15
3.2.4. Metody badań morfologicznych	16
3.2.4.1. Badania histologiczne	16
3.2.4.2. Badania mikroskopowo-elektronowe	16
4. W Y N I K I	18
4.1. Obserwacje kliniczne	18
4.2. Wpływ obustronnego zamknięcia tętnic szyjnych wspólnych na mózgowy przepływ krwi	19
4.3. Stężenie ⁷⁵ Se-selenometioniny w mózgu w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem	20
4.4. Objętość krwi w mózgu w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem	24
4.5. Kinetyka zawartości wody w mózgu w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem	26

4.6. Stan bariery krew-mózg w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem	29
4.7. Obraz morfologiczny mózgu w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem	32
4.7.1. Obraz histologiczny	32
4.7.2. Obraz mikroskopowo-elektronowy	35
5. O M Ó W I E N I E W Y N I K Ó W	39
6. W N I O S K I	49
7. S T R E S Z C Z E N I E	51
8. P I Ś M I E N N I C T W O	53

1. W S T Ę P

Szczególna wrażliwość mózgu na niedotlenienie jest faktem dobrze znanym i bogato udokumentowanym w badaniach doświadczalnych i obserwacjach klinicznych. Zjawisko to wiąże się ze stałym, wysokim zapotrzebowaniem energetycznym tkanki nerwowej, dominującą rolą glikolizy tlenowej w jej metabolizmie energetycznym i niskimi w porównaniu z innymi narządami zasobami rezerw energetycznych. Brak zdolności regeneracyjnych tkanki nerwowej ośrodkowego układu nerwowego z kolei sprawia, że uszkodzenia wywołane przez krótkotrwałe nawet epizody niedotlenieniowe, przy jego dostatecznej głębokości, mają charakter zmian nieodwracalnych.

Czas przeżycia mózgu definiowany jest jako maksymalny okres jego pełnego niedokrwienia, który może być tolerowany przez mózg bez wystąpienia zmian jego stanu czynnościowego (Sugar, Gerard, 1938). Z wcześniejszych prac poświęconych temu zagadnieniu wiadomo, że zatrzymanie akcji serca przez okres nie przekraczający 2 - 4 min. powoduje ciężkie uszkodzenia mózgu (Neuburger, 1954; Mandel, Berry, 1959; LaPresle, Milhaud, 1962; Steegman, 1969) lub śmierć (Dale, 1952; Crowell i wsp., 1955). Obserwacje poczynione podczas reanimacji ludzi i zwierząt doświadczalnych, wskazują na znaczne trudności ponownego odtworzenia odpowiedniego krążenia mózgowego w przypadkach nawet krótkotrwałego zatrzymania pracy serca (Dale, 1952; Crowell i wsp., 1955). Doświadczenia przeprowadzone na małpach w ostatnich latach wykazały daleko większą tolerancję ośrodkowego układu nerwowego na niedotlenienie niż wynikało to z poprzednich obserwacji (Miller, Myers, 1972; Myers, 1972; Hossmann, Zimmermann, 1974). U normotermicznych ssaków za okres bezpieczny dla całkowitego czynnościowego powrotu ośrodkowego układu nerwowego do warunków prawidłowych przyjmuje się 4 - 5 min. po zatrzymaniu pracy serca i 8 - 10 min. po wybiórczym zatrzy-

maniu mózgowego przepływu krwi (Hirsch, Schneider, 1968). Obniżenie temperatury ciała (Bacalzo, Wolfson, 1971) lub utrzymanie mózgowego przepływu krwi na poziomie wyższym niż 12 % poziomu prawidłowego (Hirsch i wsp., 1955) przedłuża okres przeżycia mózgu. W badaniach Hossmanna i Kleihuesa (1973), przeprowadzonych na małpach i kotach, wykazano nawet, że spontaniczna czynność bioelektryczna kory mózgu, której zanik uważany jest za wykładnik śmierci mózgowej oraz odpowiedź piramidowa na drażnienie elektryczne kory ruchowej, powracały po 1 godzinie całkowitego niedokrwienia mózgu. Jednakże szanse powrotu czynności bioelektrycznej kory po tak długim niedokrwieniu są niewielkie i w sposób oczywisty nie wyłączają występowania głębokich zaburzeń metabolicznych i nieodwracalnych uszkodzeń strukturalnych tkanki nerwowej. Szereg istotnych zagadnień, związanych z tymi procesami, a dotyczących umiejscowienia pierwotnych uszkodzeń i ich charakteru, wybiórczej wrażliwości pewnych struktur i formacji ośrodkowego układu nerwowego na niedotlenienie, mechanizmów zaburzeń czynnościowych mózgu oraz czynników warunkujących odwracalność lub nieodwracalność uszkodzeń tkanki pozostaje nadal przedmiotem kontrowersyjnych opinii (Duffy i wsp., 1972; Brierly i wsp., 1973; Hossmann, Kleihues, 1973).

Śmierć organizmu z przyczyn mózgowych w warunkach niedotlenienia, nie zawsze spowodowana jest ustaniem czynności bioelektrycznej mózgu, związanej z samym niedostatkiem tlenu. Przyczyną jej mogą być również powikłania towarzyszące niedotlenieniu, a wyrażające się obniżeniem układowego ciśnienia tętniczego (Cantu i wsp., 1969) lub wzrostem ciśnienia śródczaszkowego na skutek obrzęku mózgu z wybiórczym porażeniem ośrodków nerwowych istotnych dla życia (Zaren i wsp., 1970).

Występowanie obrzęku mózgu w następstwie niedotlenienia jest powszechnie uznawanym "faktem podręcznikowym", opartym przede

wszystkim o badania morfologiczne zarówno makro- jak i mikroskopowe. Znajduje on również swoje poparcie w szeregu spostrzeżeń biochemicznych. Wśród zmian biochemicznych towarzyszących obrzękowi mózgu podkreśla się między innymi rolę wzrostu stężenia jonów potasu w przestrzeni pozakomórkowej mózgu z powodu zaburzenia pompy jonowej (Baldy-Moulinier, Humeau, 1974). Uwalnianie wewnątrzkomórkowego potasu jest pierwszym objawem poprzedzającym zmniejszenie metabolizmu energetycznego (ATP i fosfokreatyny) (Duffy i wsp., 1972) i wzrost mleczanów (Baldy-Moulinier, 1973), występującym w następstwie niedotlenienia.

Na bliski związek obrzęku mózgu z jego niedotlenieniem wskazują liczne prace doświadczalne, między innymi badania Baldy-Moulinier (1973), Klatzo (1974), Waltza i wsp. (1974) i innych. Obrzęk mózgu obserwowano w większości badań morfologicznych we wczesnym okresie po reanimacji zwierząt doświadczalnych (Myers, 1974). Z drugiej jednak strony istnieją liczne prace, z których wynika, że obrzęk mózgu nie stanowi następstwa niedotlenienia lub też rozwija się jedynie w specjalnych jego warunkach (Bakay, Bendixen, 1963; Bakay, 1967; Bakay, Lee, 1968; Kapuściński i wsp., 1972 a). U podstaw tych rozbieżności leży co najmniej kilka czynników, z których podstawowym wydaje się jednoznaczne stosowanie ogólnego określenia niedotlenienie w odniesieniu do różnych stanów patofizjologicznych, których wspólną cechą jest ograniczenie dopływu tlenu do ośrodkowego układu nerwowego, takich jak niedotlenienie anoksyjne lub hipoksyjne, niedotlenienie ischemiczne, anemiczne i cytotoksyczne (Gurvich, 1971; Myers, 1972; Brierly i wsp. 1973 i inni), pomimo niewątpliwego faktu, że stany te w większości przypadków nie mogą być ze sobą bezpośrednio porównywalne (Bakay, Lee, 1968). Ponieważ krew jest jedynym transporterem tlenu do mózgu, szczególnie często stany niedokrwienia mózgu definiowa-

ne są jako stany jego niedotlenienia (Gurvich, 1971; Mchedlishvili, 1973; Mossakowski, 1973). Dla jasnego zrozumienia roli niedostatku tlenowego w patogenezie obrzęku mózgu wydaje się niezbędne rozgraniczenie stanów niedokrwienia mózgu od stanów jego niedotlenienia, rozumianego jako obniżenie ciśnienia parcjalnego tlenu we krwi. Przemawia za tym ustanie wszystkich czynności krwi w przypadku niedokrwienia, przy obniżeniu tylko niektórych z nich przy niedotlenieniu (Schneider, 1969). Przemawia za tym również fakt stosunkowo dobrego przystosowania organizmu do znacznego nawet przewlekłego niedotlenienia np. we wrodzonych wadach serca z odwróconym przeciekiem z prawa na lewo oraz odwracalność nawet głębokich zaburzeń biochemicznych, stanowiących następstwo niedotlenienia hipoksyjnego (Śmiałek i wsp., 1971; Albrecht i wsp., 1972; Albrecht, 1974; Sikorska i Śmiałek, 1974 i inni).

Za drugie źródło rozbieżności ocen roli niedostatku tlenowego w patogenezie obrzęku mózgu należy uznać różnorodność metod oceny obrzęku i ich częste ograniczenie wyłącznie do badań histologicznych. Nieswoiste w większości histologiczne wykładniki obrzęku mózgu zbliżone są w swoim charakterze do zmian związanych z nieprawidłowościami techniki utrwalania i przeprowadzania materiału do badań mikroskopowych (Mossakowski, 1973). Dalszą przyczyną różnicowania ocen może być różnoczasowość przeprowadzania badań. Jest faktem znącym, że w zależności od charakteru czynnika uszkadzającego i jego intensywności, pomijając już gatunkowe i osobnicze różnicowanie materiału doświadczalnego, obrzęk mózgu może rozwijać się w różnym czasie po jego zadziałaniu (Klatzo, 1975, Mrsulja i wsp., 1975). Istotne znaczenie ma również charakter rozwijającego się obrzęku. Zgodnie z zaproponowaną przez Klatzo w roku 1967 klasyfikacją, wyróżniamy dwa podstawowe typy obrzęku mózgu. Obrzęk naczyniopochodny uwarunkowany jest zmianami w przepuszczal-

ności ścian naczyń, a jego wykładnikiem jest pozanacyniowe przechodzenie związków wysokocząsteczkowych z krwi do tkanki (Klatzo, 1967; Olsson i wsp., 1971; Hossmann, Olsson, 1971; Crowell, Olsson, 1973; Waltz i wsp., 1974). Jego cechą charakterystyczną jest przeważające umiejscowienie w strukturach istoty białej, gromadzenie się płynu obrzękowego w przestrzeniach międzykomórkowych oraz późne występowanie w przypadkach niedokrwienia mózgu (Klatz 1967; Klatzo, 1975). Obrzęk cytotoksyczny charakteryzujący się brakiem zmian w przepuszczalności naczyń dla związków o wysokim ciężarze cząsteczkowym, związany jest z wybiórczym uszkodzeniem poszczególnych elementów strukturalnych ośrodkowego układu nerwowego, takich jak np. osłonki mielinowe, astroglej, neurony i wyłącznym gromadzeniem się w nich płynu obrzękowego. Lokalizacja zmian w tym typie obrzęku uwarunkowana jest rodzajem uszkodzonych komórek i struktur. Pomimo, że dotychczasowy podział obrzęku mózgu na nacyniopochodny i cytotoksyczny wydaje się nie pełny, ze względu na występowanie mieszanych form obrzęku (Mossakowski, 1973) - jego stosowanie jest uzasadnione względami praktycznymi.

W badaniach nad niedotlenieniem i niedokrwieniem mózgu różni autorzy stosują szereg modeli doświadczalnych (Hirsch i wsp., 1957; Levine, 1960; Meyer i wsp., 1965; Symon, 1967; Wexler, Saroff, 1970; Kapuściński, Mossakowski, 1971; Myers, 1972; Kapuściński i wsp., 1972a; Mchedlishvili, 1973; Klatzo, 1975 i inni). Zwraca przy tym uwagę fakt bardzo znacznego zróżnicowania obserwacji w odniesieniu do występowania obrzęku mózgu.

W niedotlenieniu hipoksyjnym, związanym z obniżeniem zawartości tlenu w mieszaninie gazowej podawanej do oddychania, obrzęk mózgu nie rozwija się lub jest zjawiskiem sporadycznym i niedominującym (Bakay, Lee, 1968; Kapuściński i wsp., 1972a). Natomiast towarzyszące mu zaburzenia hemodynamiczne podczas których dochodzi

do znacznego niedokrwienia mózgu mogą być przyczyną powstawania w tych warunkach obrzęku mózgu (Hoff, Jellinger, 1967; Kapuściński i wsp., 1972b). Należy zwrócić uwagę, że nowsze prace nad obrzękiem mózgu koncentrują się właśnie na zmianach krążenia mózgowego podczas niedotlenienia i niedokrwienia i towarzyszącym im obwodowym zaburzeniach hemodynamicznych, które mają wpływ na rozwijanie się obrzęku nawet po ustaniu działania podstawowego czynnika patogenetycznego (Matakas, Cuypers, 1974; Mchedlishvili i wsp., 1975; Kapuściński i wsp., 1975). Coraz większą uwagę zwraca się na centralne i miejscowe zaburzenia odpływu żylnego jako jeden z ważnych czynników patogenetycznych leżących u podłoża poischemicznego obrzęku mózgu (Matakas, Cuypers, 1974; Kapuściński i wsp., 1975).

Znaczna liczba modeli doświadczalnych, w których stosuje się próby ograniczenia ukrwienia mózgu przez zamknięcie tętnic doprowadzających, jest mało skuteczna dla wywołania powtarzalnych zmian patologicznych. Przyczyną tego zjawiska jest dobra możliwość kompensacji nawet znacznego niedokrwienia mózgu drogą licznych połączeń tętniczych wewnątrz- i zewnątrzmożgowych oraz istnienie mechanizmów regulacyjnych krążenia układowego i mózgowego. Próby zmniejszenia ukrwienia mózgu przez jednostronne lub nawet obustronne zamknięcie tętnic szyjnych wspólnych u szczurów i królików, nie zmniejszają ukrwienia mózgu do poziomu krytycznego, ponieważ tętnice kręgosłowe, liczne połączenia tętnicze z dominującą rolą koła Willisa oraz rozszerzone tętnice mózgowie, równoległe ze wzrostem układowego ciśnienia tętniczego zabezpieczają wystarczające wyrównanie krążenia mózgowego (Kapuściński, 1974a, Kapuściński, 1974b, Himwich Clark, 1974).

Rzadkie przypadki obustronnej niedrożności tętnic szyjnych występują również u ludzi, którzy przeżywają takie zaburzenia ukrwienia mózgu, pod warunkiem, że nie wystąpi u nich nagłe obniżenie

układowego ciśnienia tętniczego krwi (McDonald, Kapuściński, 1972; Kapuściński, McDonald, 1973).

Badania nad miejscowym ograniczeniem krążenia mózgowego w postaci zakładania zacisku na tętnicę środkową mózgu u małą z zastosowaniem izotopowej metody pomiarowej (Sundt, Waltz, 1971), wykazały wprowadzić znaczny spadek korowego przepływu krwi (dochodzący 25 % wartości prawidłowych), jednakże nie obserwowano zatrzymania krążenia. Pojawiający się obrzęk był nieznaczny a zmiany w mózgu były całkowicie odwracalne po 1 godzinie niedokrwienia.

W stanach niedokrwienia mózgu wraz z jego następstwami zagadnieniem wymagającym szczególnej uwagi jest stan bariery krew-mózg. Wyniki scyntygrafii mózgu wykonywanych w przypadkach niedrożności różnych tętnic mózgowych wskazują, że musi upłynąć znaczny okres czasu - w granicach od kilku dni do kilku tygodni, ażeby zaobserwować objawy uszkodzenia bariery w postaci wzmożonego gromadzenia znakowanego związku w obszarze niedokrwienia (Wagner, 1972). W przypadkach tych znacznie wcześniej można zaobserwować cechy obrzęku mózgu w arteriografii mózgowej (McDonald, Kapuściński, 1972)

Z drugiej strony, przeprowadzone badania doświadczalne wykazały, że nawet ciężkie niedotlenienie proste prowadzące do strukturalnych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego nie powoduje zmian w przepuszczalności bariery krew-mózg (Crone, 1963), natomiast w przypadku asfiksji zmiany te są krótkotrwałe i występują w małej liczbie przypadków (Mossakowski i wsp., 1968). Bakay i Bendixen (1963) oraz Bakay (1967) stwierdzili, że samo niedotlenienie nie wywołuje zaburzeń przepuszczalności bariery krew-mózg. Bakay i Lee (1968) badając wpływ niedotlenienia hipoksyjnego na mózgi kotów po zastosowaniu oddechowej mieszaniny gazów o obniżonej zawartości tlenu do 10 % przez okres 5 godzin, nie obserwowali rozwoju obrzęku mózgu. Kapuściński i wsp., (1972a) stosując mie-

szaninę gazów o obniżonej do 4 % a nawet do 1 % zawartości tlenu u szczurów, także nie stwierdzali zmian przepuszczalności bariery krew-mózg. W przypadkach tych nie występował również obrzęk mózgu.

Powyższe wyniki badań wskazują, że samo niedotlenienie proste bez dodatkowych czynników, nie prowadzi do zaburzeń w barierowych mechanizmach naczyniowo-mózgowych ani do rozwoju obrzęku. Zaburzenia te jak również obrzęk mózgu pojawiają się dopiero po skojarzeniu niedotlenienia z hiperkapnią i to przy określonym obniżeniu ciśnienia cząstkowego tlenu w krwi tętniczej i spadku pH tkanki nerwowej poniżej 6,75 (Bakay, Bendixen, 1963; Bakay, 1967; Bakay, Lee, 1968).

Zmiany w przepuszczalności bariery krew-mózg z równoczesnym rozwojem obrzęku mózgu obserwowano natomiast w przypadku skojarzonego działania niedokrwienia z niedotlenieniem (Kałuściński, Mosakowski, 1971; Kałuściński i wsp., 1972a) stosując w doświadczeniach tzw. model Levinea (Levine, 1960). W modelu tym podwiązuje się jednostronnie tętnicę szyjną wspólną u szczurów i umieszcza zwierzęta w atmosferze o obniżonej do 4 % zawartości tlenu. Wynik badań przeprowadzonych na tym modelu wykazały, że zmiany nieodwracalne w tkance mózgowej po stronie podwiązania występują tylko u części zwierząt i mają różne nasilenie. Wyrażały się one obrzękiem półkuli po stronie podwiązania, wzmożonym gromadzeniem nadtechnetu jako wyraz uszkodzenia bariery krew-mózg i rozwijającą się marwicą w okolicy rozgałęzień tętnicy środkowej mózgu. Zmiany przepuszczalności bariery krew-mózg występowały w stosunkowo wczesnym okresie - po 3 godzinach od zastosowania czynników skojarzonych. Jednakże obserwowane zmiany w niektórych przypadkach występowały również w półkuli mózgowej po stronie przeciwnej w stosunku do podwiązanej tętnicy szyjnej, a w 40 % przypadków nie spostrzegano ich po stronie niedokrwienia.

Powyższe wyniki badań wskazują, że stosowanie modelu Levinea

stwarza duże trudności w uzyskiwaniu ogólnego a nawet miejscowego niedokrwienia mózgu prowadzącego do zmian nieodwracalnych z cechami obrzęku i uszkodzenia bariery krew-mózg. Zmiany takie pojawiają się w okresie znacznego niedokrwienia tkanki mózgowej trwającego odpowiednio długo, co odpowiada stanowi bliskiemu śmierci zwierzęcia.

Ze względu na niejednoznaczność uzyskiwanych wyników wydawało się celowe zastosowanie modelu doświadczalnego stanowiącego modyfikację modelu Levinea. Polegała ona na obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych u szczurów i przetrzymywaniu zwierząt w warunkach niskotlenowych przez okres 20 minut. Zawartość tlenu w oddechowej mieszance gazów podwyższono do 5 %.

2. C E L P R A C Y

Celem pracy była ocena występowania obrzęku mózgu u szczurów z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych poddanych niedotlenieniu oraz próba wyjaśnienia patomechanizmu powstawania obrzęku mózgu u tych zwierząt w powyższych warunkach doświadczalnych.

Szczegółowe zadania pracy były następujące:

1. Ocena zmian zawartości wody w mózgu.
2. Ocena zmian bariery krew-mózg dla związków wielkocząsteczkowych i drobnocząsteczkowych.
3. Ocena zmian ukrwienia mózgu i czynnego transportu związków do tkanki mózgowej.
4. Ocena zmian objętości krwi w mózgu.

Badania morfologiczne w mikroskopie świetlnym i elektronowym u zwierząt poddanych niedotlenieniu były uzupełnieniem badań izotopowych celem zobrazowania zachodzących zmian na poziomie komórkowym i ultrastrukturalnym.

Zwierzęta z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych służyły jako kontrola dla grupy poddanej niedotlenieniu. Istotne znaczenie miało określenie u tych zwierząt mózgowego przepływu krwi po zaniku wpływu zabiegu chirurgicznego, przy rozwiniętym krążeniu obocznym i uruchomieniu mechanizmów regulacyjnych krążenia układowego i mózgowego.

Szczegółowe zadanie pracy dla tej grupy zwierząt było następujące:

Ilościowa ocena stopnia zmniejszenia mózgowego przepływu krwi u szczurów podczas obustronnego zamknięcia tętnic szyjnych wspólnych i ocena zmian tego przepływu jako funkcji czasu po wykonaniu zabiegu chirurgicznego.

Wystarczające ukrwienie mózgu pomimo obustronnego zamknięcia tętnic szyjnych wspólnych ocenione dynamiczną metodą izotopową (klirens ^{133}Xe), potwierdzałyby opisane poprzednio niewystępowanie krytycznego niedokrwienia mózgu w badaniach na tym modelu doświadczalnym z użyciem statycznych metod izotopowych oraz badań morfologicznych i histochemicznych.

3. M A T E R I A Ł I M E T O D Y

3.1. Materiał

Badania wykonano na 162 szczurach (88 rasy Sprague Dagley i 74 rasy Wistar) obu płci, ciężaru od 190 do 240 g, odżywianych dietą typową, w następujących grupach:

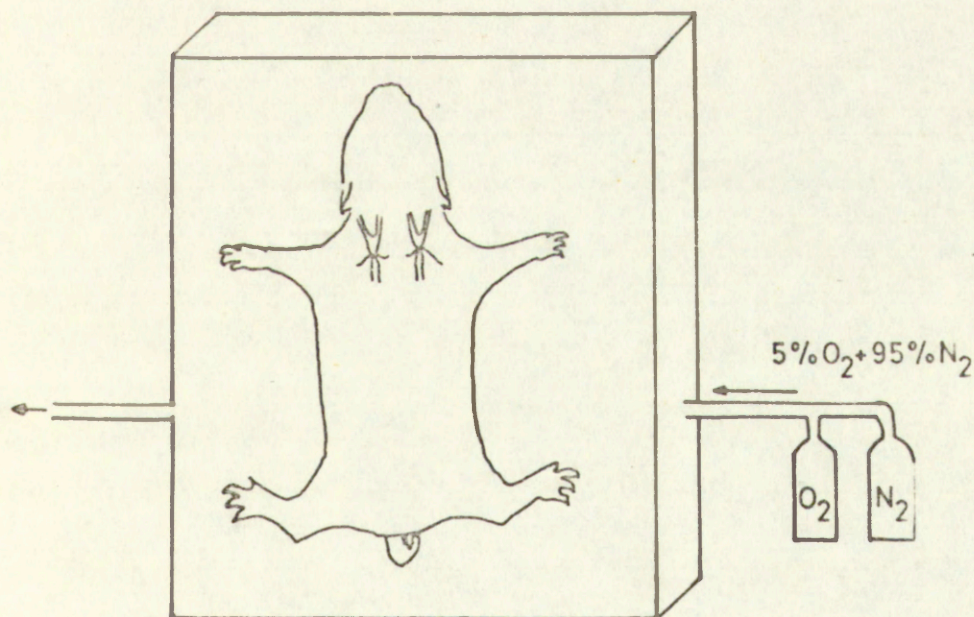
1. Grupa doświadczalna - zwierzęta z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych, przetrzymywane w komorze w atmosferze niskotlenowej - 86 zwierząt użyto do badań izotopowych, 18 stanowiło kontrolny materiał morfologiczny.
2. Grupa kontrolna - zwierzęta z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych - 44. Dodatkową grupę stanowiło 5 zwierząt, u których wykonano pomiary mózgowego przepływu krwi w warunkach obustronnego uniedroźnienia tętnic szyjnych wspólnych. Grupa ta różniła się od zwierząt grupy drugiej tym, że w jednej tętnicy szyjnej wewnętrznej umieszczano cewnik przez który podawano izotop promieniotwórczy, a druga tętnica szyjna wspólna była zamknięta w okresie badania przepływu.
3. Grupa zwierząt prawidłowych, niepoddawanych żadnym zabiegom doświadczalnym.

3.2. Metody

3.2.1. Metody wywoływania niedokrwienia i niedotlenienia mózgu.

Zwierzęta usypiano w narkozie eterowej i po przecięciu skóry szyi podwiązywano obustronnie tętnice szyjne wspólne według techniki opisanej w pracy Pronaszko i wsp. (1971). Po podwiązaniu tętnic szczury pozostawiano przez okres 3 - 4 godzin w klatkach, celem zmniejszenia wpływu narkozy oraz samego zabiegu chirurgicznego. Postępowanie takie miało na celu zachowanie czasu dla rozwinięcia krążenia obocznego i ustabilizowania krążenia mózgowego

(Kapuściński, Mossakowski, 1971, Kapuściński i wsp., 1972 a).
Tak przygotowane zwierzęta badano w grupie kontrolnej. Szczury badane w grupie doświadczalnej umieszczano pojedynczo na okres 20 minut w komorze ze stałym przepływem mieszanki gazowej złożonej z 5 % O_2 i 95 % N_2 . Skład mieszanki ustalany był objętościowo z prowadzoną kontrolą składu gazów przy pomocy elektrody Clarka. Po 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej, szczury wyjmowano z komory i uśmiercano w następujących przedziałach czasowych: 20 minut tj. bezpośrednio po wyjęciu zwierząt z komory i 40, 80, 140, 200 minut oraz 6 godzin od początku doświadczeń.



Ryc. 1.

Ischemiczno-hipoksyjny model obrzęku mózgu.
Obustronne zamknięcie tętnic szyjnych wspólnych
u szczurów i przetrzymywanie zwierząt w warunkach
niskotlenowych przez okres 20 minut.

3.2.2. Metody badań izotopowych

3.2.2.1. Pomiary przepływu krwi w mózgu

Badania przepływu krwi w mózgu szczura przeprowadzano w nar-

kozie pentobarbiturowej wstrzykując dożylnie Nembutal w dawce 3 mg/100 g ciężaru ciała. Cewnik o zewnętrznej średnicy 0,75 mm wprowadzano w kierunku domózgowym do lewej tętnicy szyjnej wspólnej podwiązując tętnicę szyjną zewnętrzną po tej stronie. Równocześnie odsłaniano prawą tętnicę szyjną wspólną zakładając luźną podwiązkę przygotowaną do zaciśnięcia. Mózgowy przepływ krwi badano metodą Lassena i Ingvara (1961) wstrzykując do tętnicy szyjnej wewnętrznej przez cewnik od 0,1 do 0,3 ml ^{133}Xe w roztworze fizjologicznym soli. Klirens ^{133}Xe w mózgu szczura rejestrowano graficznie przy użyciu zestawu aparatów składającego się z sondy scyntylicyjnej umieszczonej w obudowie ze stożkowym ołowio- wym kolimatorem, integratora liczby impulsów, zasilacza wysokiego napięcia oraz kompensatora elektromagnetycznego. Zastosowano kolimator o następujących wymiarach: średnica wewnętrzna wyjścia 10 mm, średnica wewnętrzna przy kryształce scyntylicyjnym 30 mm, odległość płaszczyzny wyjścia od kryształu 55 mm. Rozdzielczość kolimatora według przeprowadzonej charakterystyki geometrycznej pomiaru dla ^{133}Xe wynosiła 8 mm, w odległości pracy 5 mm. Przepływ krwi w mózgu obliczano metodą analizy nachylenia krzywych, przenosząc wyniki analogowe na skalę logarytmiczno-liniową. Obliczenia przeprowadzano dla komponenty prędkiej i wolnej przyjmując współczynnik rozdziału odpowiednio 0,87 i 1,50 (Waltz i wsp. 1972, Kapuściński i Karczewski, 1973). Obliczano również średni przepływ krwi w mózgu. W końcowej analizie wyników brano pod uwagę tylko korowy mózgowy przepływ krwi wyrażając go jako odsetek przepływu prawidłowego przyjętego za 100 %, który określano u każdego zwierzęcia na początku serii badań .

3.2.2.2. Ocena ukrwienia mózgu, czynnego transportu, objętości krwi w mózgu oraz stanu bariery krew-mózg

W celu oceny ukrwienia mózgu i czynnego transportu związków do mózgu, objętości krwi w mózgu oraz stanu bariery krew-mózg, zastosowano następujące związki znakowane: ^{75}Se -selenometioninę, ^{51}Cr -albuminę, $^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ i ^{131}I -albuminę. Po przygotowaniu roztworów o odpowiedniej radioaktywności właściwej dostosowanej do warunków pomiaru z zastosowaniem analizatora energii promieniowania związek w objętości 0,5 ml wstrzykiwano pojedynczo do żyły ogonowej szczurów. Każdemu szczurowi wstrzykiwano 2 związki: ^{75}Se -selenometioninę i ^{51}Cr -albuminę lub $^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ i ^{131}I -albuminę. Zastosowanie albuminy znakowanej różnymi izotopami spowodowane było charakterystyką widm energetycznych poszczególnych radionuklidów i możliwością ich detekcji w jednej próbce podczas pomiarów radioaktywności. Ze względu na różne fizjologiczne zachowanie się poszczególnych związków w organizmie oraz czas potrzebny na zgromadzenie związku w tkance mózgowej, zastosowano różne czasy ich krążenia. Związki nie przechodzące do mózgu w warunkach prawidłowych (albuminę i nadtechnetan) wstrzykiwano 20 minut przed uśmierceniem zwierząt, z wyjątkiem grupy zwierząt o długim czasie przeżycia, gdzie czas krążenia związków wynosił 2 godziny. ^{75}Se -selenometioninę wstrzykiwano 10 minut przed uśmierceniem zwierząt ze względu na prędkie transport tego aminokwasu do mózgu (Kapuściński i wsp., 1972 a).

Zwierzęta poddawano krótkotrwałej narkozie eterowej i pobierano 0,1 ml krwi z zatoki oka (sinus retroorbitalis), a następnie uśmiercano je przez zmiżdżenie kręgosłupa szyjnego. Po otwarciu czaszki i zdjęciu opon mózgowych odcinano in situ mózdzek pobierając mózg. Mózg natychmiast ważono i po opłukaniu wodą celem

usunięcia radioaktywnej krwi z jego powierzchni, umieszczano w próbkach do pomiaru radioaktywności. Do próbek zawierających 0,1 ml krwi oraz do próbek z mózgiami dodawano 0,9 % NaCl, celem zachowania jednakowych warunków geometrycznych pomiaru radioaktywności.

Posługując się zestawem aparatów firmy Nuclear-Chicago, radioaktywność tkanek mierzono w automatycznym liczniku scyntylicyjnym dla promieni gamma, z kryształkiem NaI(Tl) współpracującym z analizatorem energii promieniowania. Udział każdego izotopu określano drogą dyskryminacji wysokości impulsów przy zastosowaniu 50 % szerokości okna na głównym szczycie energetycznym poszczególnych radionuklidów. Radioaktywność tkanek mierzono przez czas zapewniający dokładność statystyczną 1 %.

Uzyskane wyniki wyrażano w następujących postaciach:

1. Stężenie radionuklidów w mokrej masie mózgu - imp/min/g
2. Stężenie radionuklidów w suchej masie mózgu - imp/min/g
3.
$$\frac{\text{Odsetek podanej dawki na 1 g mokrej masy mózgu} \times \text{ciężar ciała}}{100}$$
4.
$$\frac{\text{Odsetek podanej dawki na 1 g suchej masy mózgu} \times \text{ciężar ciała}}{100}$$
5. Stosunek radioaktywności właściwych mózgu do krwi, dla mózgow mokrych i suchych.

Wyniki opracowano statystycznie z użyciem testu Studenta t.

3.2.3. Ocena zawartości wody w mózgu

Celem oceny zawartości wody w mózгах, mózgi ważono natychmiast po pobraniu a następnie umieszczano je w płaskich naczyniach porcelanowych i suszono w eksykatorze i suszarce w temp. 100°C przez okres 5 dni do uzyskania stałego ciężaru masy suchej. Zawartość wody w mózгах obliczano z różnicy ciężarów mokrych i suchych.

3.2.4. Metody badań morfologicznych

3.2.4.1. Badania histologiczne

Do badań histologicznych pobierano mózgi zwierząt uspionych bezpośrednio po wyjęciu z komory hipoksyjnej (20 minut) oraz po 60 minutach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej.

Mózgi po wyjęciu z jamy czaszki utrwalano w 4 % zubożonym roztworze formaliny. Bloki tkanek pobierane z obu półkul mózgowych na poziomie skrzyżowania wzrokowego i dołu międzykorowego zatapiano w parafinie i skrawano na mikrotomie na skrawki o grubości 15 μ . Parafinowe skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną, fioletem krezyłu, wg metody Heidenhaina oraz Pickwortha.

Ocenę obrazu histologicznego mózgu zwierząt w następstwie obustronnego podwiązania tętnic szyjnych wspólnych oparto na spostrzeżeniach opublikowanych w pracy Kapuścińskiego i wsp. (1972a).

3.2.4.2. Badania mikroskopowo - elektronowe

Badania mikroskopowo-elektronowe wykonano u 6 zwierząt usypianych po 60 minutach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej.

Po wyjęciu mózgu z jamy czaszki, pobierano drobne wycinki tkankowe (1 x 1 mm) z kory i istoty podkorowej powierzchni wypukłej półkuli mózgu, które utrwalano w 5 % aldehydzie glutarowym w buforze fosforanowym o pH 7,4 przez okres 1,5 godziny. Po wypłukaniu skrawków tkankowych w buforze fosforanowym o pH 7,4 przez okres 1 godziny, utrwalano je dodatkowo przez 1 godzinę w 2 % czterotlenku osmu w buforze Milloniga o pH 7,4. Materiał odwadniano w alkoholu etylowym o wzrastającym stężeniu i zatapiano w Eponie 812. Ultracienkie skrawki skrawano na ultramikrotomie, montowano na siatki i podbarwiano octanem uranylu

i winianem ołowiu. Ultrafotogramy wykonywano przy użyciu mikroskopu elektronowego JEM 7-A na płytach ORWO E 42.

4. W Y N I K I

4.1. Obserwacje kliniczne

Obustronne zamknięcie tętnic szyjnych wspólnych nie powodowało istotnych odchyłeń od normy u badanych zwierząt. Jedynie u części z nich występował jednostronnie lub obustronnie zespół Hornera. Zwierzęta pozostawione na dłuższe okresy przeżycia (24, 48 i 72 godziny od zabiegu podwiązania) nie wykazywały żadnych objawów neurologicznych.

Zwierzęta z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych po umieszczeniu w komorze o niskim stężeniu tlenu wykazywały objawy znacznego pobudzenia ruchowego trwającego od 4 do 7 minuty. Po tym okresie zwierzęta popadały w śpiączkę. Towarzyszyła temu narastająca sinica obwodowych części ciała z rozszerzeniem naczyń żylnych. Jednocześnie przyspieszała się znacznie częstość oddechów. Czynność oddechowa miała na ogół charakter regularny. W kilku przypadkach, w końcowym okresie przetrzymywania zwierząt w komorze hipoksyjnej obserwowano nieregularność czynności oddechowej w postaci okresowo pojawiających się głębokich wdechów.

Po wyjęciu zwierząt z komory, okres śpiączki utrzymywał się do 45 - 90 minut. Wszystkie zwierzęta budziły się i reagowały na bodźce zewnętrzne przed upływem 2 godzin od początku niedotlenienia. Zarówno w okresie śpiączki jak i bezpośrednio po niej zwierzęta wykazywały szereg objawów neurologicznych, których największe nasilenie obserwowano pomiędzy 45 i 90 minutą od początku niedotlenienia. Wśród objawów neurologicznych obserwowano spastyczne niedowłady kończyn, zaburzenia statyczne a w pewnych przypadkach

znaczne pobudzenia motoryczne. Większość objawów neurologicznych zanikała przed upływem 3 godzin od początku niedotlenienia. W okresie późniejszym 3 - 6 godzin od początku niedotlenienia, zwierzęta nie różniły się od zwierząt prawidłowych.

4.2. Wpływ obustronnego zamknięcia tętnic szyjnych wspólnych na mózgowy przepływ krwi

Zmiany mózgowego przepływu krwi u szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych przedstawia tabela I.

Tabela I.

N	0	30	60	90	120 min
100	15	30	62	56	51
100	22	32	60	49	58
100	17	49	59	47	54
100	25	40	51	53	50
100	18	56	54	51	61
\bar{x} 100	19,4 ± 4,03	41,4 ± 11,08	57,2 ± 4,56	51,2 ± 3,50	54,8 ± 4,66
p	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001

\bar{x} = wartości średnie + odchylenia standardowe

p = prawdopodobieństwo

0 = obustronne zamknięcie tętnic szyjnych wspólnych

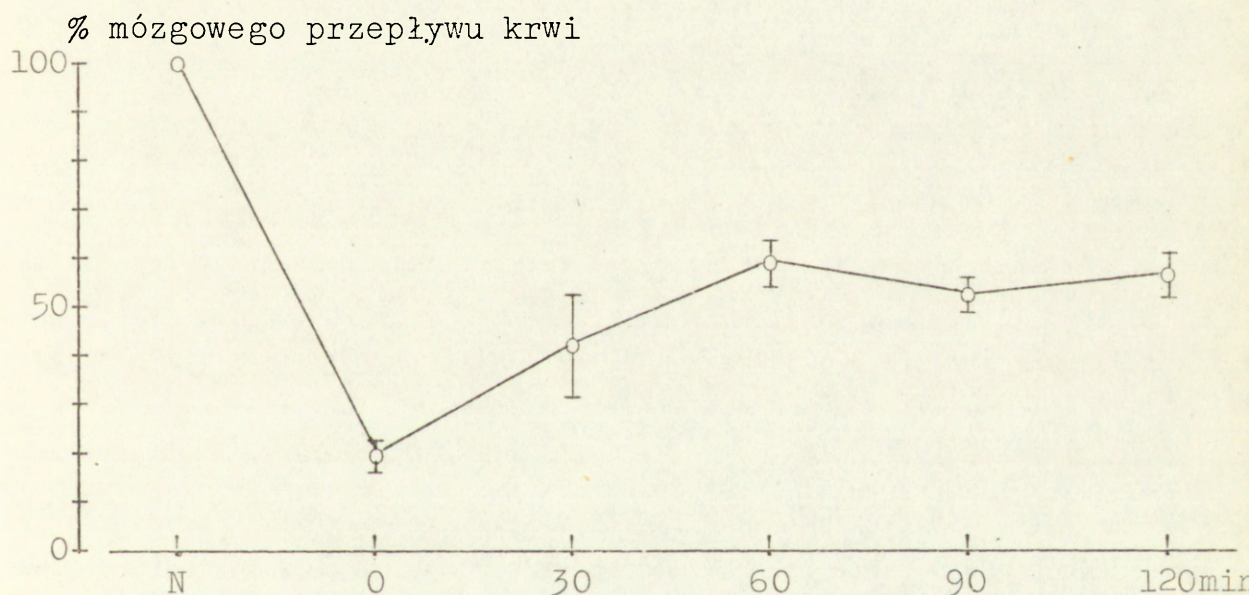
N = norma - zwierzęta prawidłowe

Przepływ krwi w korze mózgu szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych. Wartości pomiarów u 5 szczurów wyrażone jako odsetek przepływu spoczynkowego przyjętego za 100 %. Przepływ spoczynkowy wynosił $0,58 \pm 0,12$ ml/g/min.

W chwili zamknięcia tętnic szyjnych wspólnych, korowy przepływ krwi w mózgu szczurów zmniejsza się średnio do wartości 19,4 % poziomu przepływu prawidłowego. Przepływ ten ulega jednak prędkiej poprawie osiągając już w 30 minucie po zabiegu średnio

wartość 41,4 %. Po okresie 60 minut od wykonania zabiegu, korowy mózgowy przepływ krwi ulega dalszemu wzrostowi osiągając średnio wartość 57,2 % i u zwierząt poddanych narkozie pentobarbiturowej utrzymuje się w przybliżeniu na tym poziomie w dalszych czasach.

Dynamikę ukrwienia mózgu po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych u szczurów poddanych narkozie pentobarbiturowej przedstawia ryc. 2.



N = norma - zwierzęta prawidłowe
O = obustronne zamknięcie tętnic szyjnych wspólnych
o = wartości średnie i odchylenia standardowe

Ryc. 2.

Dynamika ukrwienia mózgu po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych u szczurów. Krzywa przedstawia odsetek prawidłowego korowego przepływu krwi w mózgu 5 szczurów.

4.3. Stężenie ⁷⁵Se-selenometioniny w mózgu w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem

Zmiany stężenia ⁷⁵Se-selenometioniny w mózgu szczurów z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych poddanych 20 minutowemu niedotlenieniu przedstawiają tabele II i III oraz ryc. 3 i 4.

Tabela II

Radioaktywność mózgu szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej. 10 minut po dożylnym wstrzyknięciu ^{75}Se -selenometioniny. Stężenie związku obliczane dla mokrego ciężaru mózgu

% D/G mokrego mózgu x ciężar ciała x 10^{-2}

Kontrola	Hipoksja	Prawidłowe stężenie O_2 w atmosferze		
Czas minuty	20	40	80	140
0,79	0,56	0,72	0,74	0,68
0,77	0,54	0,70	0,73	0,69
0,66	0,55	0,73	0,65	0,59
0,66	0,61	0,69	0,71	0,67
0,70	0,65	0,75	0,68	0,64
0,65				
\bar{x} 0,70 \pm 0,06	0,58 \pm 0,05	0,72 \pm 0,02	0,70 \pm 0,04	0,65 \pm 0,04
n 6	5	5	5	5
p	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

% D/G = odsetek dawki na gram

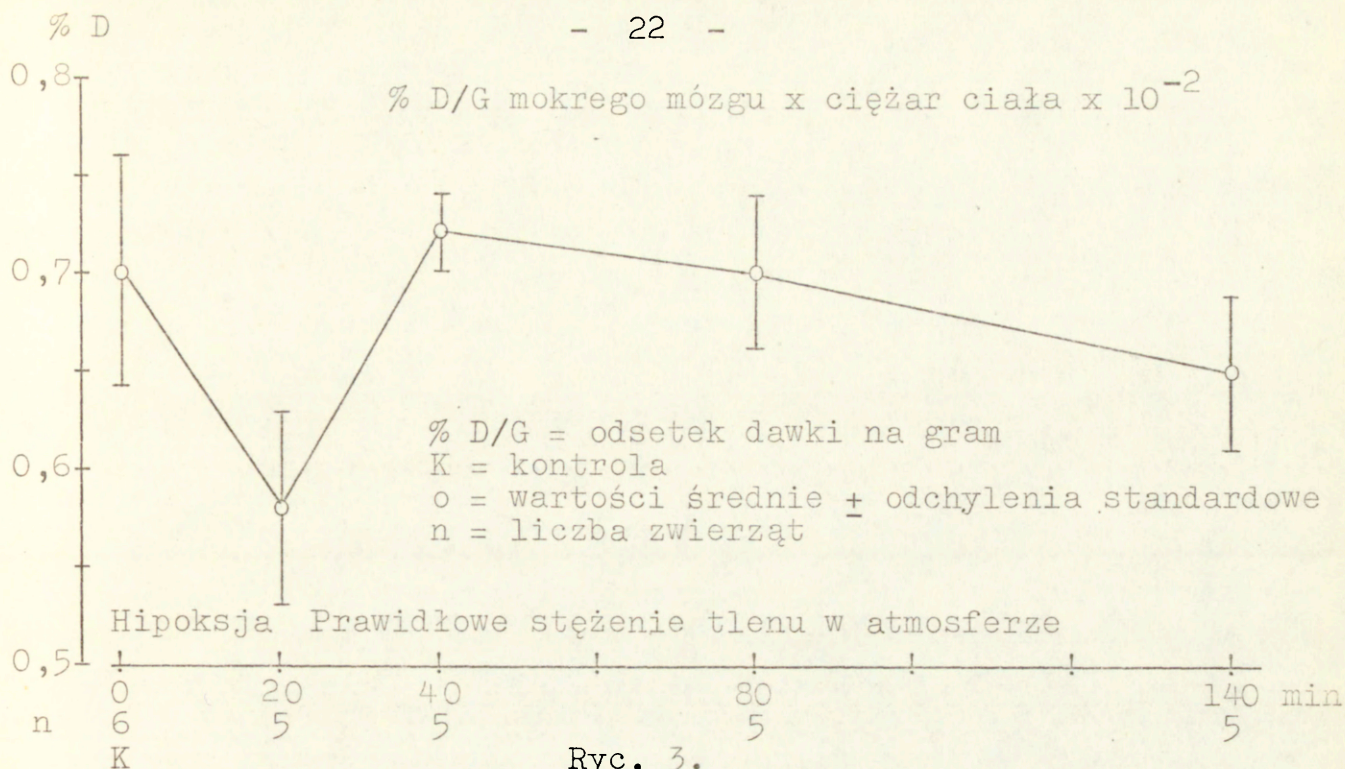
\bar{x} = wartości średnie \pm odchylenia standardowe

n = liczba zwierząt

p = prawdopodobieństwo

Bezpośrednio po wyjęciu szczurów z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych z komory hipoksyjnej, występuje niższe stężenie ^{75}Se -selenometioniny. Widoczne jest to w tabeli II i III oraz na ryc. 3 i 4 w przedziale czasu 20 minut, gdzie stężenie ^{75}Se -selenometioniny przeliczane zarówno na mokry jak i suchy ciężar mózgow jest niższe w porównaniu ze stężeniem tego związku w mózгах zwierząt kontrolnych.

Po 20 minutach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej, stężenie ^{75}Se -selenometioniny w mózгах szczurów ulega zwiększeniu osiągając w 40 minucie od początku doświadczeń wartości wyższe niż u zwierząt kontrolnych (tabela III i ryc. 4). Nie jest to



Ryc. 3.

Radioaktywność mózgu szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej. 10 minut po dożylnym wstrzyknięciu 75-Se-selenometioniny. Stężenie związku obliczane dla mokrego ciężaru mózgu.

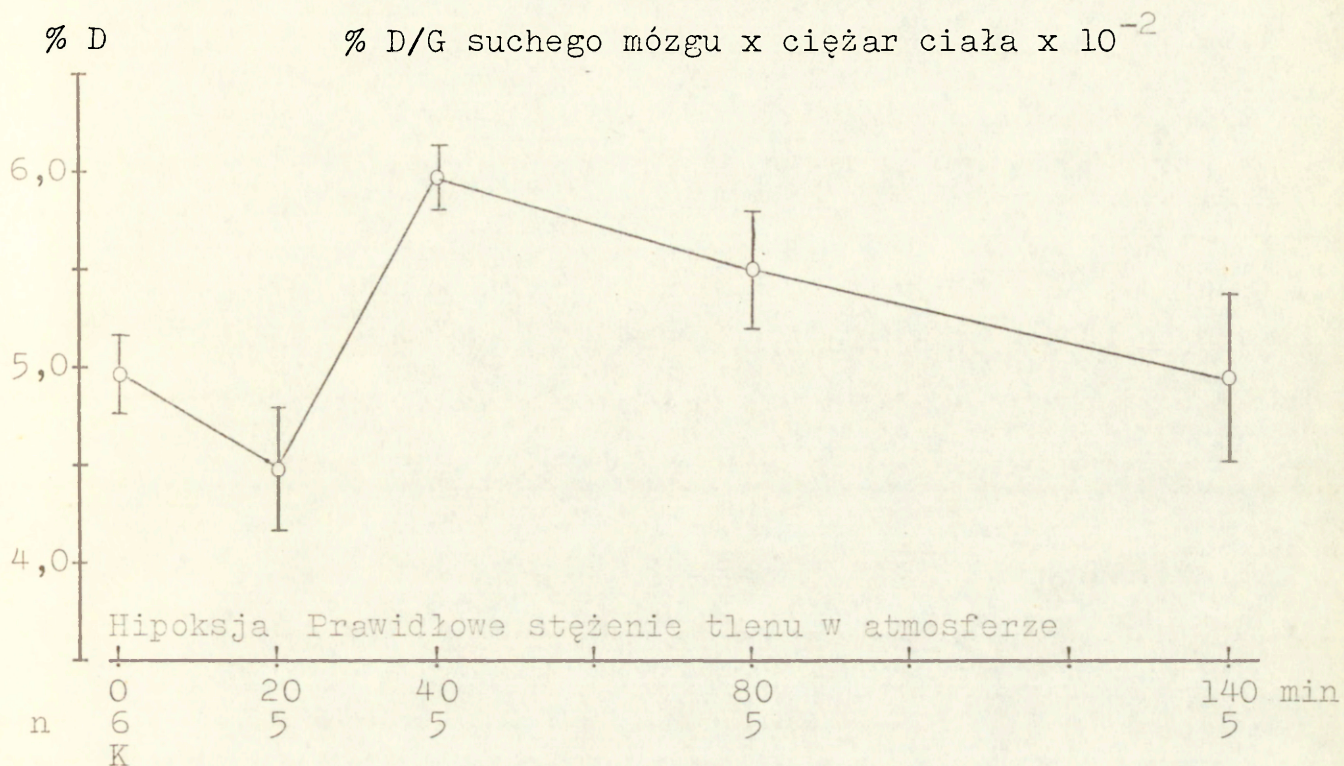
Tabela III

Radioaktywność mózgu szczura po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej. 10 minut po dożylnym wstrzyknięciu 75-Se-selenometioniny. Stężenie związku obliczane dla suchego ciężaru mózgu.

% D/G suchego mózgu x ciężar ciała x 10⁻²

Kontrola	Hipoksja	Prawidłowe stężenie O ₂ w atmosferze		
Czas minuty	20	40	80	140
5,65	4,36	6,17	5,65	5,44
5,27	4,14	5,87	5,73	5,08
4,81	4,34	6,16	5,11	4,31
4,62	4,76	6,24	5,27	4,73
4,75	4,89	5,89	5,74	5,14
4,60				
\bar{x} 4,95±0,20	4,49±0,31	6,07±0,17	5,50±0,29	4,94±0,43
n 6	5	5	5	5
p	p<0,05	p<0,001	p<0,05	p>0,05

objaśnienia jak w tabeli II



% D/G = odsetek dawki na gram
K = kontrola
o = wartości średnie + odchylenia standardowe
n = liczba zwierząt

Ryc. 4.

Radioaktywność mózgu szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej. 10 minut po dożylnym wstrzyknięciu ^{75}Se -selenometioniny. Stężenie związku obliczane dla suchego ciężaru mózgu.

tak wyraźnie zaznaczone w tabeli II i na ryc. 3, ze względu na pojawiający się już w tym okresie wzrost zawartości wody w mózgu (patrz dyskusja). W późniejszych czasach przebywania zwierząt w warunkach z prawidłowym stężeniem tlenu w atmosferze, stężenie ^{75}Se -selenometioniny w mózgach szczurów poddanych niedotlenieniu utrzymuje się jeszcze na wyższym poziomie w czasie 80 minut i powraca do poziomu zbliżonego do kontrolnego w czasie 140 minut od początku doświadczeń.

4.4. Objętość krwi w mózgu w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem

Dwudziestominutowe przetrzymywanie zwierząt z obustronnie zamkniętą tętnicą szyjną wspólną w komorze hipoksyjnej prowadzi do zmian w stężeniu ⁵¹Cr-albuminy, stanowiącym wykładnik objętości krwi w mózgu, obserwowanych bezpośrednio po niedotlenieniu i w okresie 2 godzin po jego zakończeniu. Wyniki przeprowadzonych badań przedstawione są w tabelach IV i V oraz na ryc. 5 i 6

Tabela IV

Radioaktywność mózgu szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej. 10 minut po dożylnym wstrzyknięciu ⁵¹Cr-albuminy. Stężenie związku obliczone dla mokrego ciężaru mózgu.

% D/G mokrego mózgu x ciężar ciała x 10⁻²

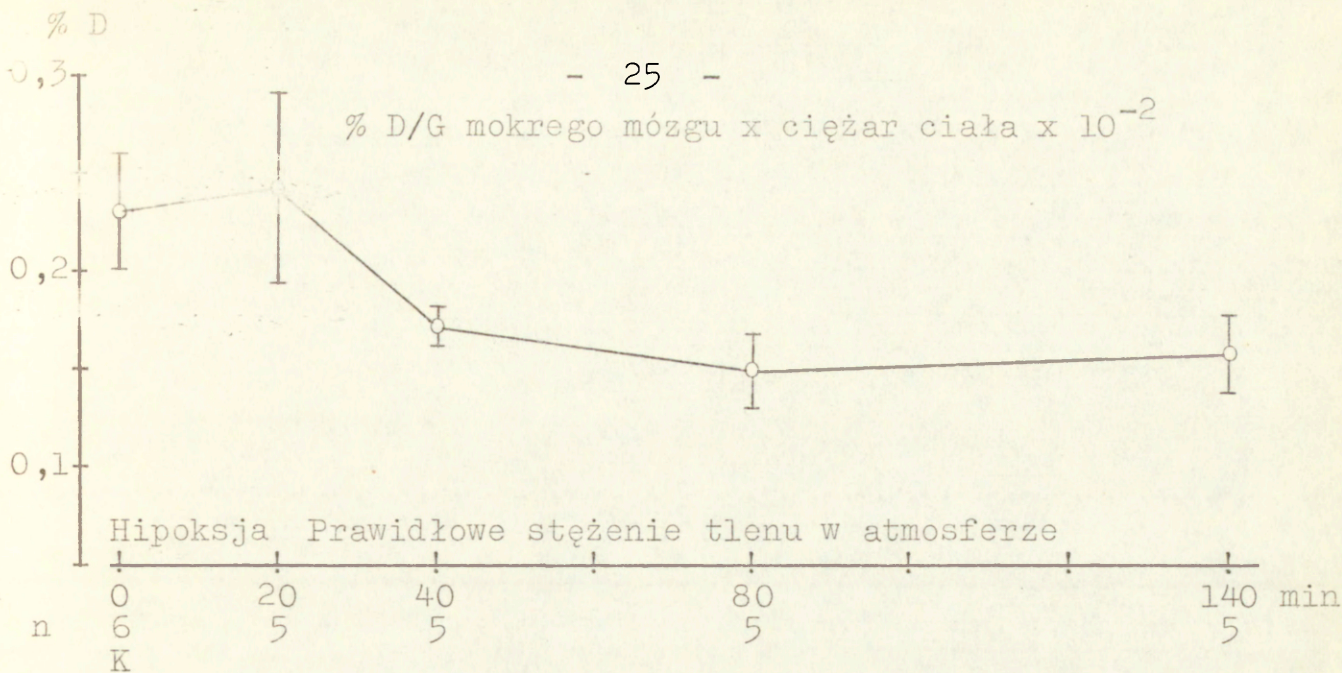
Kontrola	Hipoksja	Prawidłowe stężenie O ₂ w atmosferze		
Czas minuty	20	40	80	140
0,23	0,25	0,16	0,14	0,14
0,23	0,22	0,17	0,14	0,16
0,27	0,30	0,19	0,16	0,19
0,21	0,17	0,15	0,13	0,15
0,26	0,28	0,17	0,17	0,16
0,18				
\bar{x} 0,23±0,03	0,24±0,05	0,17±0,01	0,15±0,02	0,16±0,02
n 6	5	5	5	5
p	p>0,05	p<0,05	p<0,01	p<0,01

% D/G - odsetek dawki na gram

\bar{x} = wartości średnie ± odchylenia standardowe

n = liczba zwierząt

p = prawdopodobieństwo



% D/G = odsetek dawki na gram

K = kontrola

o = wartości średnie + odchylenia standardowe

n = liczba zwierząt

Ryc. 5.

Radioaktywność mózgu szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej. 10 minut po dożylnym wstrzyknięciu 51-Cr-albuminy. Stężenie związku obliczane dla mokrego ciężaru mózgu.

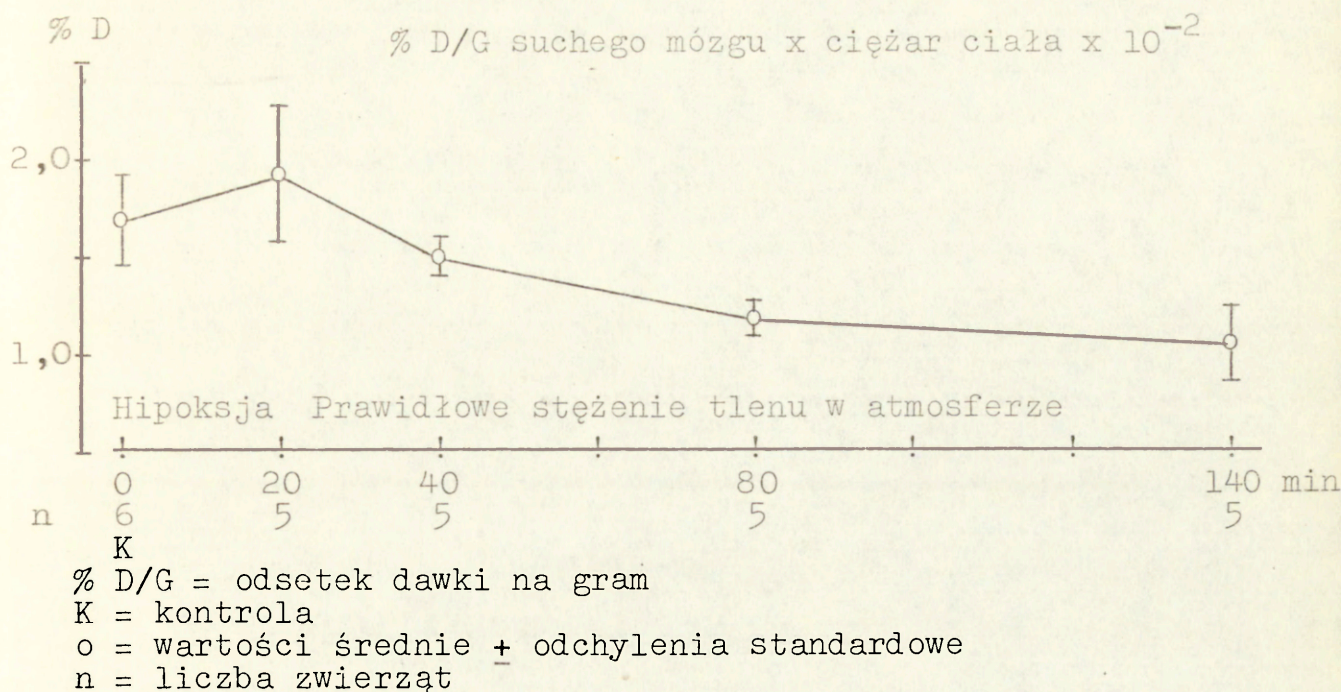
Tabela V.

Radioaktywność mózgu szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej. 10 minut po dożylnym wstrzyknięciu 51-Cr-albuminy. Stężenie związku obliczane dla suchego ciężaru mózgu.

% D/G suchego mózgu x ciężar ciała x 10⁻²

Kontrola	Hipoksja	Prawidłowe stężenie O ₂ w atmosferze		
Czas minuty	20	40	80	140
1,61	1,90	1,47	1,10	1,13
1,68	1,75	1,39	1,09	0,82
1,98	2,30	1,66	1,30	1,34
1,53	1,36	1,49	1,13	0,95
1,79	2,15	1,54	1,18	1,11
1,27				
\bar{x} 1,64±0,24	1,89±0,37	1,51±0,10	1,16±0,09	1,07±0,20
n 6	5	5	5	5
p	p>0,05	p>0,05	p<0,01	p<0,01

objaśnienia jak w tabeli IV



Ryc. 6.

Radioaktywność mózgu szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej. 10 minut po dożylnym wstrzyknięciu ^{51}Cr -albuminy. Stężenie związku obliczane dla suchego ciężaru mózgu.

Bezpośrednio po wyjęciu zwierząt z komory hipoksyjnej występuje nieduże zwiększenie stężenia ^{51}Cr -albuminy w mózgu wyraźnie zaznaczone w przeliczeniu na jego suchy ciężar (patrz dyskusja). W późniejszych czasach przebywania zwierząt w warunkach z prawidłową zawartością tlenu w atmosferze, stężenie ^{51}Cr -albuminy w mózgach szczurów poddanych działaniu niedotlenienia ulega zmniejszeniu osiągając najniższe wartości w 80 i 140 minucie od początku doświadczeń.

4.5. Kinetyka zawartości wody w mózgu w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem.

Zawartość wody w mózgach szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych nie różni się od zawartości wody w mózgach szczurów prawidłowych i wynosi ona średnio 1007 ± 21 mg.

Zmiany zawartości wody w mózgach szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych poddanych niedotlenieniu przedstawia tabela VI i ryc.7.

Tabela VI.

Zawartość wody w mózgach szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej. Wartości podane w miligramach

Norma	Kontrola	Hipoksja	Prawidłowe stężenie tlenu w atmosferze					
			20	40	80	140	200	6 godz
	Czas minuty							
969	995	1066	1026	1137	1174	1068	1053	
946	1013	1039	1095	1191	1163	1024	1069	
1049	1014	1109	1087	1169	1072	1067	1057	
1050	1011	1122	1102	1086	1113	1049	1047	
1015	996	1051	1113	1220	1143	1033	1073	
987	958	1144	1081	1180	1115	1071	1061	
1010	1019	1238						
928	1036	1202						
	986							
	1026							
	1023							
	1014							
\bar{x} 994	1007	1121	1084	1164	1130	1052	1060	
\pm 45	\pm 21	\pm 71	\pm 31	\pm 47	\pm 38	\pm 20	\pm 10	
n 8	12	8	6	6	6	6	6	
$p > 0,05$		$p < 0,01$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,01$	$p < 0,01$	

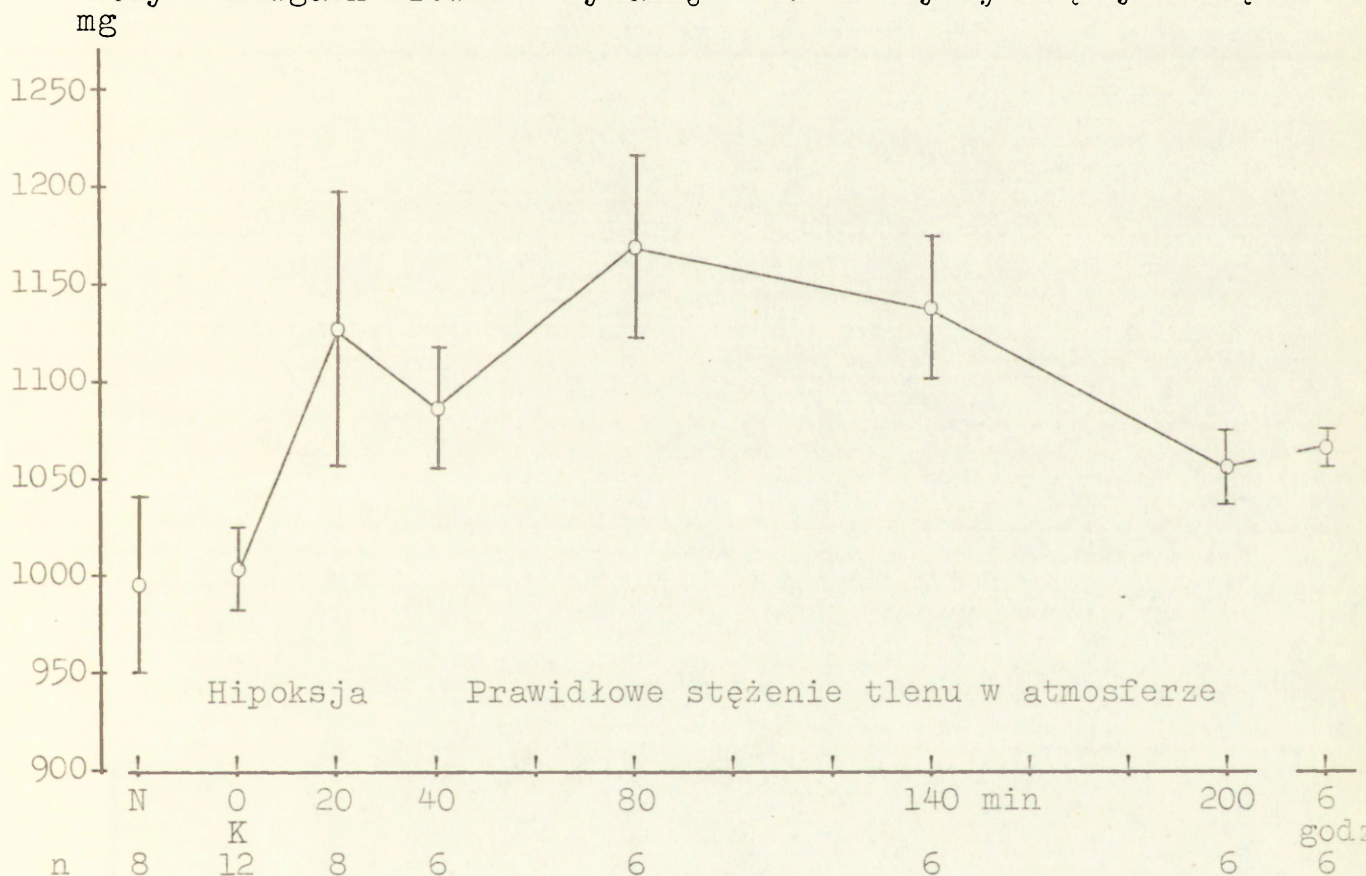
\bar{x} = wartości średnie \pm odchylenia standardowe

n = liczba zwierząt

p = prawdopodobieństwo

Bezpośrednio po wyjęciu zwierząt z komory hipoksyjnej, zawartość wody w mózgach szczurów jest wyższa w porównaniu z poziomem kontrolnym i wynosi średnio 1121 ± 71 mg. Po wyjęciu zwierząt z

komory hipoksyjnej i 20 minutowym okresie ich przebywania w warunkach z prawidłowym stężeniem tlenu w atmosferze, zawartość wody w mózгах szczurów jest niższa niż w końcowym okresie niedotlenienia i wynosi średnio 1084 ± 31 mg, jednakże nadal utrzymuje się na wyższym poziomie w porównaniu z poziomem u zwierząt kontrolnych. W późniejszym okresie po niedotlenieniu zawartość wody w mózгах szczurów wykazuje charakterystyczną dynamikę.



o = wartości średnie \pm odchylenia standardowe

N = norma - zwierzęta prawidłowe

K = kontrola - zwierzęta z obustronnym zamknięciem tętnic

n = liczba zwierząt

Ryc. 7.

Zawartość wody w mózгах szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej.

Wzrasta ona w przedziale 40 - 80 minut od początku doświadczeń osiągając średnią wartość 1164 ± 47 mg w 80 minucie, utrzymując się na wysokim poziomie również w czasie 140 minut (średnio

1130 \pm 38 mg) a następnie zmniejsza się osiągając w czasie 200 minut poziom nieco wyższy w porównaniu z poziomem u zwierząt kontrolnych wynoszący średnio 1052 \pm 20 mg. Po 6 godzinach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej, zawartość wody w mózgach szczurów utrzymuje się nadal na nieco wyższym poziomie w porównaniu z poziomem u zwierząt kontrolnych i wynosi średnio 1060 \pm 10 mg.

4.6. Stan bariery krew-mózg w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem

Celem oceny stanu bariery krew-mózg w powyższym modelu doświadczalnym zastosowano związki znakowane, które w warunkach prawidłowych nie przechodzą poza łożysko naczyniowe mózgu - $^{99m}\text{TcO}_4$ oraz ^{131}I -albuminę.

Tabela VII.

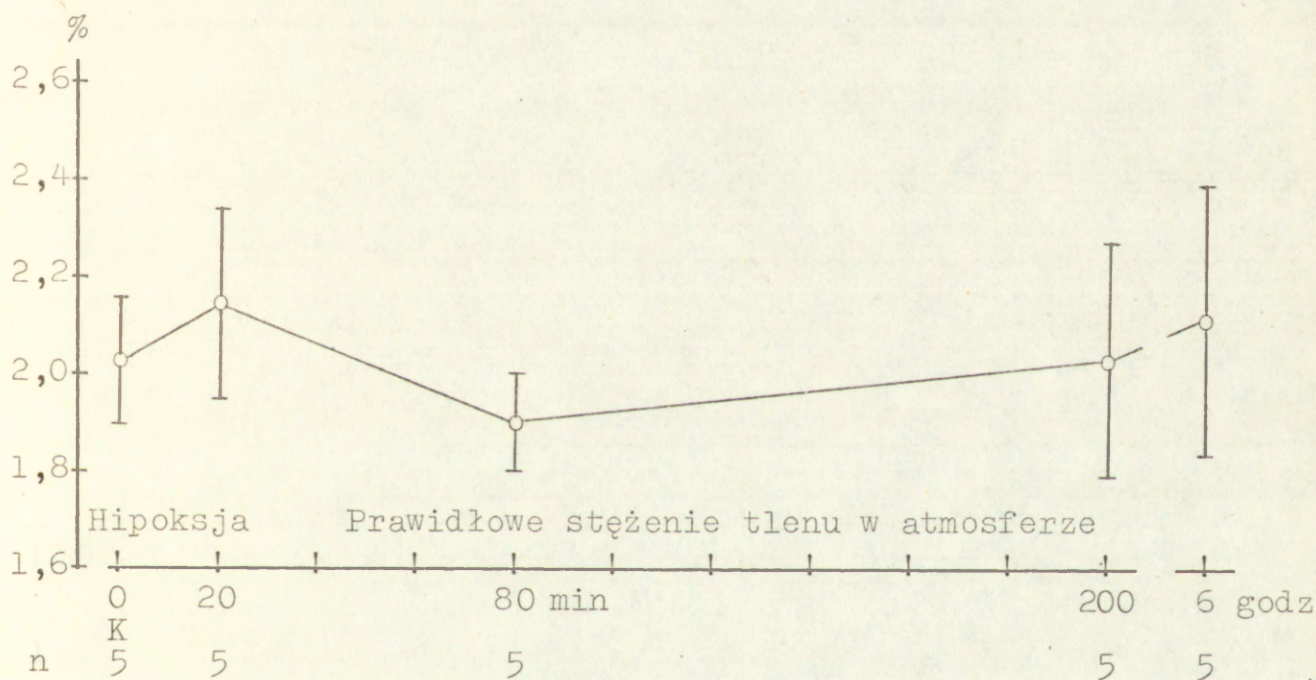
Stosunek radioaktywności właściwych mózg/krew u szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej po dożylnym wstrzyknięciu nadtechnetanu. Do 80 minuty doświadczeń czas krążenia związku wynosił 20 minut, w późniejszym okresie czas krążenia związku wynosił 2 godziny.

Kontrola	Hipoksja	Prawidłowe stężenie O ₂ w atmosferze		
Czas minuty	20	80	200	6 godz
1,92	1,91	1,79	1,80	1,95
1,96	2,43	1,84	2,38	1,94
2,25	2,18	1,94	2,01	2,61
2,02	2,04	1,75	1,79	2,01
2,00	2,29	1,98	2,17	2,09
\bar{x} 2,03 \pm 0,13	2,17 \pm 0,20	1,86 \pm 0,10	2,03 \pm 0,25	2,12 \pm 0,28
n 5	5	5	5	5
p	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

\bar{x} = wartości średnie \pm odchylenia standardowe
n = liczba zwierząt
p = prawdopodobieństwo

Użycie izotopu jodu zamiast chromu w cząsteczce albuminy spowodowane było różnicą energii izotopów stwarzającą korzystne warunki pomiaru radioaktywności z zastosowaniem spektrometru energetycznego zapewniające dobrą rozdzielczość dla obu radionuklidów (^{99m}Tc i ^{131}I).

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiają tabele VII i VIII oraz ryc. 8 i 9.



o = wartości średnie + odchylenia standardowe
K = kontrola
n = liczba zwierząt

Ryc. 8.

Stosunek radioaktywności właściwych mózg/krew u szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej po dożylnym wstrzyknięciu nadtechnetanu. Do 80 minuty doświadczeń czas krążenia związku wynosił 20 minut, w późniejszym okresie czas krążenia związku wynosił 2 godziny.

Stosunek radioaktywności właściwych mózg/krew po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych (grupa kontrolna) nie wykazuje statystycznie znamiennych różnic w porównaniu z wynikami u zwierząt prawidłowych, co stwierdzono w poprzedniej pracy (Kapuściński i wsp., 1972 a).

Tabela VIII.

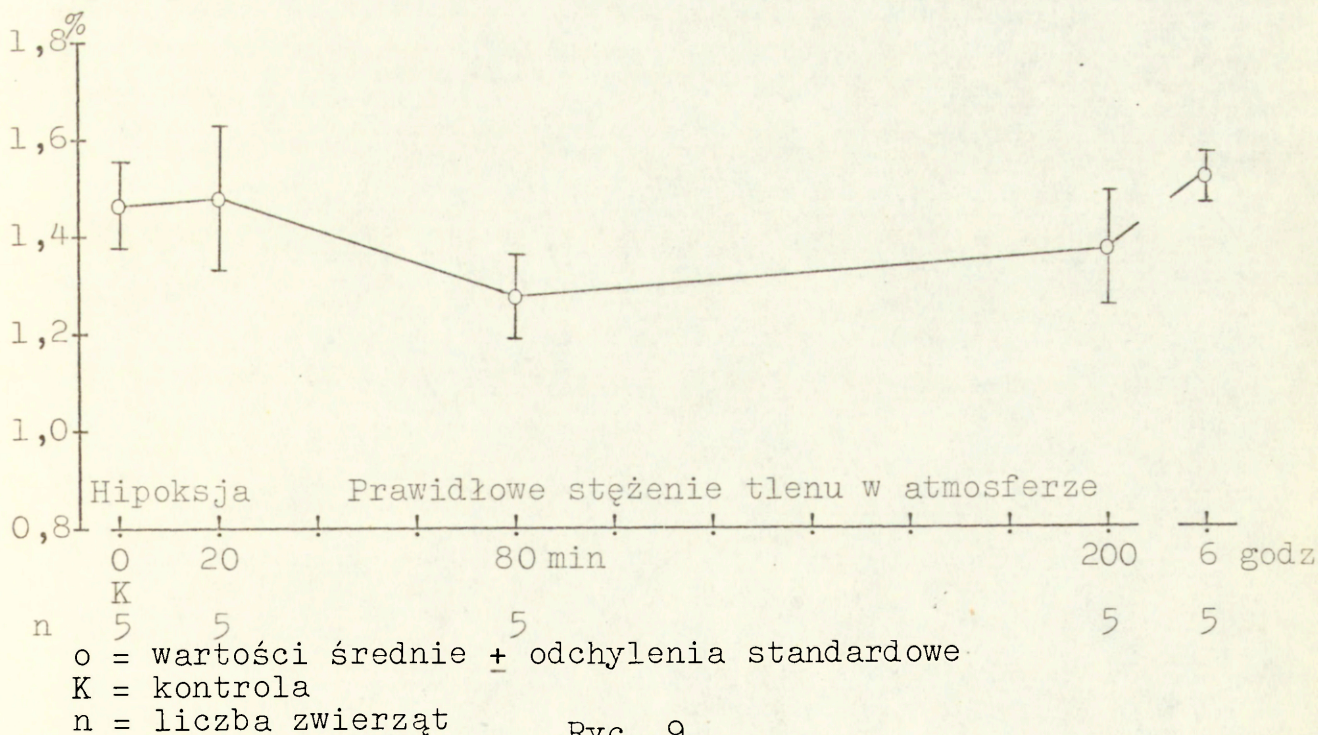
Stosunek radioaktywności właściwych mózg/krew u szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej po dożylnym wstrzyknięciu ^{131}I -albuminy. Do 80 minuty doświadczzeń czas krążenia związku wynosił 20 minut, w późniejszym okresie czas krążenia związku wynosił 2 godziny.

Kontrola	Hipoksja	Prawidłowe stężenie O_2 w atmosferze		
Czas minuty	20	80	200	6 godz
1,43	1,31	1,40	1,47	1,59
1,34	1,42	1,18	1,44	1,46
1,59	1,66	1,24	1,46	1,53
1,45	1,58	1,31	1,18	1,47
1,44	1,33	1,22	1,35	1,50
\bar{x} 1,45 \pm 0,09	1,46 \pm 0,15	1,27 \pm 0,09	1,38 \pm 0,12	1,51 \pm 0,05
n 5	5	5	5	5
p	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05

\bar{x} = wartości średnie \pm odchylenia standardowe

n = liczba zwierząt

p = prawdopodobieństwo



Ryc. 9.

Stosunek radioaktywności właściwych mózg/krew u szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych i 20 minutowym przetrzymywaniu zwierząt w komorze hipoksyjnej po dożylnym wstrzyknięciu ^{131}I -albuminy. Do 80 minuty doświadczzeń czas krążenia związku wynosił 20 minut, w późniejszym okresie czas krążenia związku wynosił 2 godziny.

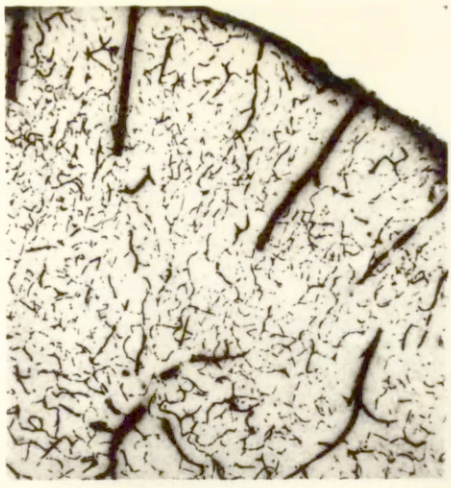
Jak wynika z tabeli VII i VIII oraz ryc. 8 i 9, stosunki radioaktywności właściwych mózg/krew u szczurów po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych poddanych niedotlenieniu nie wykazują statystycznie znamiennego wzrostu w porównaniu z wynikami w grupie zwierząt kontrolnych do 6 godzin włącznie po wyjęciu zwierząt z komory hipoksyjnej.

4.7. Obraz morfologiczny mózgu w warunkach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem

4.7.1. Obraz histologiczny

Obraz morfologiczny zwierząt z obustronnym podwiązaniem tętnic szyjnych wspólnych w okresie do 120 godziny po zabiegu nie wykazywał odchyień od stanu stwierdzanego u zwierząt nie poddanych żadnym zabiegom doświadczalnym (Kapuściński i wsp., 1972 a).

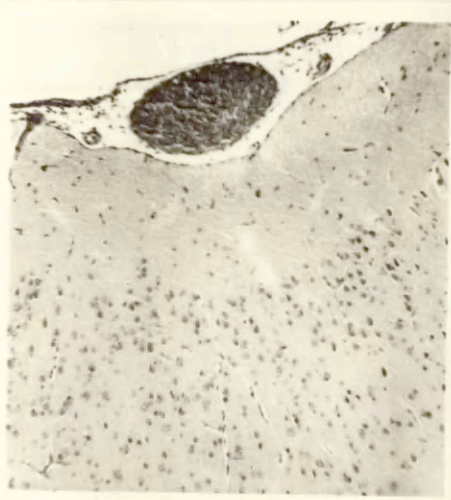
W grupie zwierząt poddanych niedotlenieniu po podwiązaniu tętnic szyjnych wspólnych, badanych bezpośrednio po ich wyjęciu z komory hipoksyjnej stwierdzono znaczne poszerzenie naczyń żylnych mózgu i opon (Ryc. 8 i 10) oraz rozpulchnienie śródbłonek licznych tętnic śródmózgowych. W preparatach barwionych hematoksyliną i eozyną obserwowano poszerzenie przestrzeni okołonaczyniowych a wokół większości naczyń korowych i istoty białej widoczne było przejaśnienie struktury tkanki nerwowej. W barwieniu techniką benzydynamą Pickwortha w licznych naczyniach tętnicznych stwierdzono zmniejszenie zawartości wybarwiających si erytrocytów oraz rozsiane ogniska ze zubożałą siecią naczyniową wyznaczaną zawartymi w naczyniach krwinkami, położone w korze mózgu (Ryc. 9). W strukturach przykomorowych stwierdzono rozluźnienie ich utkania (Ryc. 11). W barwieniu metodą Heiden-



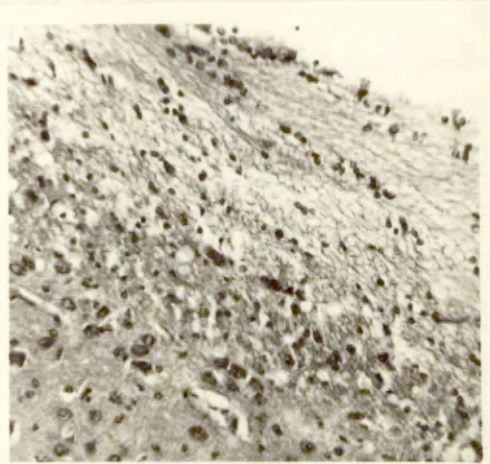
Ryc. 8.



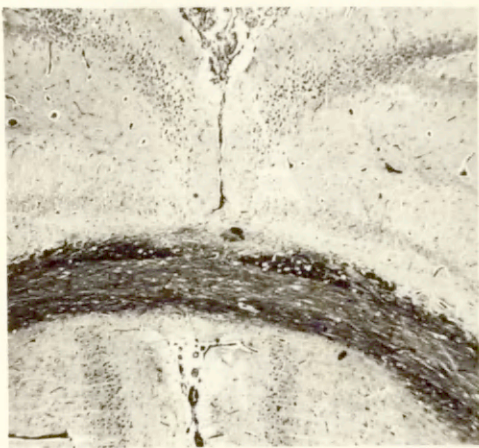
Ryc. 9.



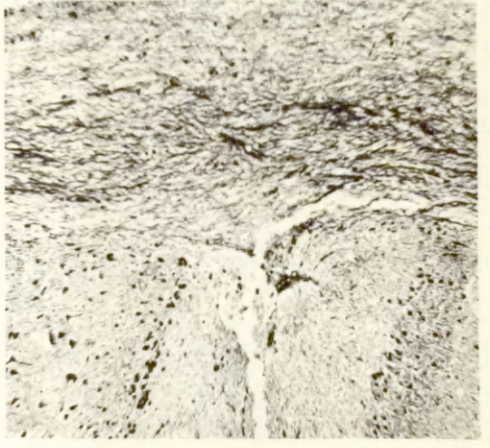
Ryc. 10.



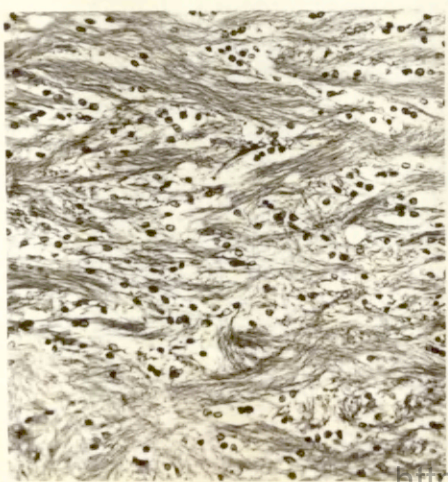
Ryc. 11.



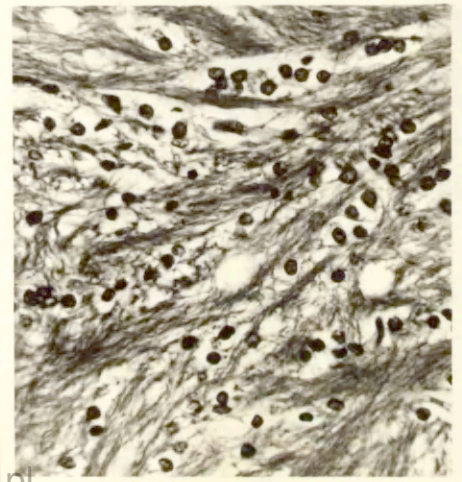
Ryc. 12.



Ryc. 13.



Ryc. 14.



Ryc. 15.

Podpisy pod rycinami

- Ryc.8. Zastój żylny w naczyniach kory mózgu szczura po 20 minutach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem. Benzydyna. Powiększenie 60 x.
- Ryc.9. Fragmentacja mas krwinkowych w naczyniach kory mózgu szczura z polami upośledzonego ukrwienia po 20 minutach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem. Benzydyna. Powiększenie 100 x.
- Ryc.10. Zastój krwi w żyłach opony naczyniowej mózgu po 20 minutach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem. H + E. Powiększenie 60 x.
- Ryc.11. Rozrzedzenie struktur tkanki nerwowej w okolicy ściany komory bocznej mózgu szczura po 20 minutach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem. H + E. Powiększenie 100 x.
- Ryc.12. Zblednięcie i rozrzedzenie włókien mielinowych w spoidle wielkim mózgu szczura po 20 minutach niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem. Heidenhein. Powiększenie 60 x.
- Ryc.13. Identyczne zmiany jak na ryc. 12. Powiększenie 200 x.
- Ryc.14. Rozluźnienie struktur istoty białej w półkuli mózgu szczura po 60 minutach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej. H + E. Powiększenie 200 x.
- Ryc.15. Cechy obrzęku oligodendrogleju w istocie białej półkuli mózgu szczura po 60 minutach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej. H + E. Powiększenie 400 x.

haina stwierdzono zblednięcie osłonek mielinowych oraz porozsuwanie pasm włókien nerwowych (Ryc. 12, 13). Zmiany powyższe były bardziej nasilone w obszarach unaczynienia tętnicy środkowej i przedniej mózgu niż w pozostałych okolicach półkul mózgu i mózdzku.

W grupie zwierząt usypianych po 60 minutach od zakończenia niedotlenienia opisane zmiany były bardziej nasilone. W istocie białej wyrażały się one większym zblednięciem osłonek mielinowych i porozsuwaniem pasm włókien nerwowych oraz cechami ostrego obrzęku oligodendrogleju (Ryc. 14, 15). Odcinkowo stwierdzono obraz stanu gąbczastego. W żadnym przypadku nie stwierdzono cech uszkodzenia komórek nerwowych.

4.7.2. Obraz mikroskopowo-elektronowy

Badania mikroskopowo-elektronowe wykonano u zwierząt usypianych po 60 minutach od zakończenia niedotlenienia.

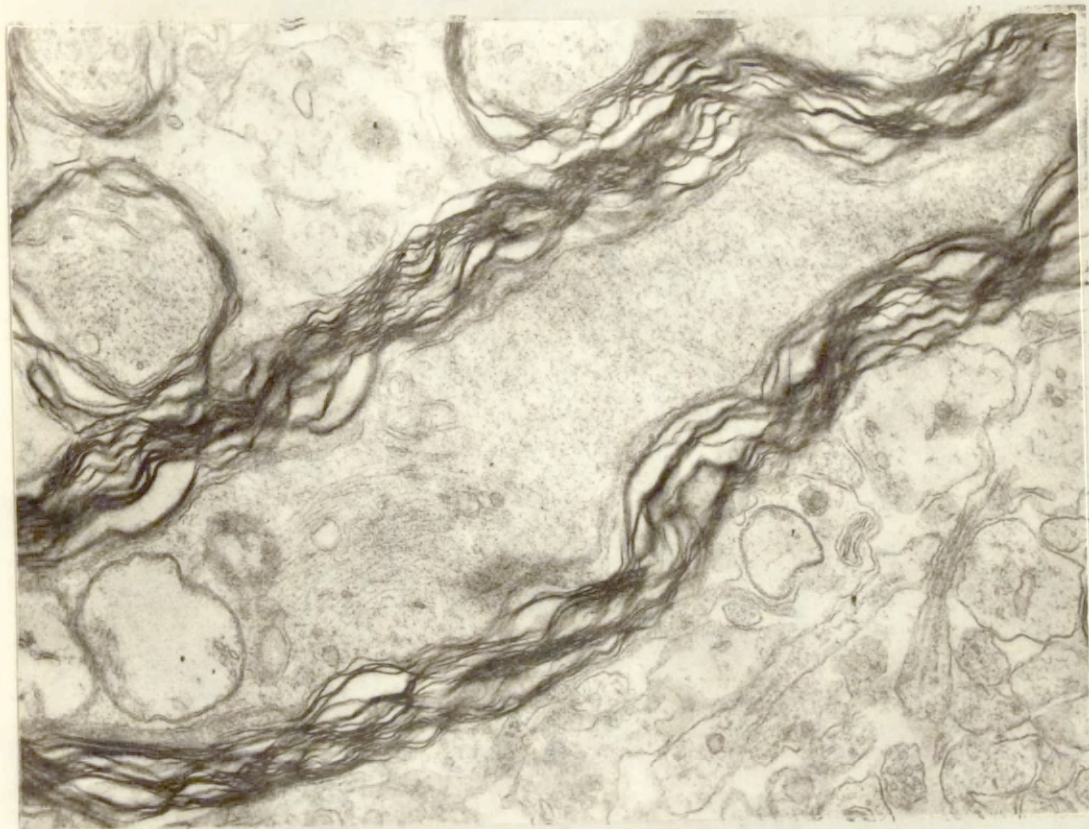
W preparatach z istoty białej stwierdzono uszkodzenie osłonek mielinowych polegające na rozwarstwieniu blaszek mielinowych (Ryc. 16). Oligodendrocyty wykazywały znaczne obrzęknięcie cytoplazmy oraz zmniejszenie liczby organeli komórkowych (Ryc. 17) co odpowiadało obrzękowi oligodendrogleju obserwowanemu w obrazie z mikroskopu świetlnego. Wypustki astrocytów przylegające do naczyń włosowatych wykazywały cechy nasilonego obrzęknięcia (Ryc.18). Zachowane w ich cytoplazmie mitochondria charakteryzowały się jasną macierzą z poszerzonymi i porozrywanyimi grzebieniami. W niektórych okolicach przynaczyniowych stwierdzono przerwanie ciągłości błon komórkowych wypustek astrogleju.

W preparatach z kory mózgu stwierdzono cechy obrzęku o znacznie mniejszym nasileniu niż w istocie białej. Cytoplazma astrocytów

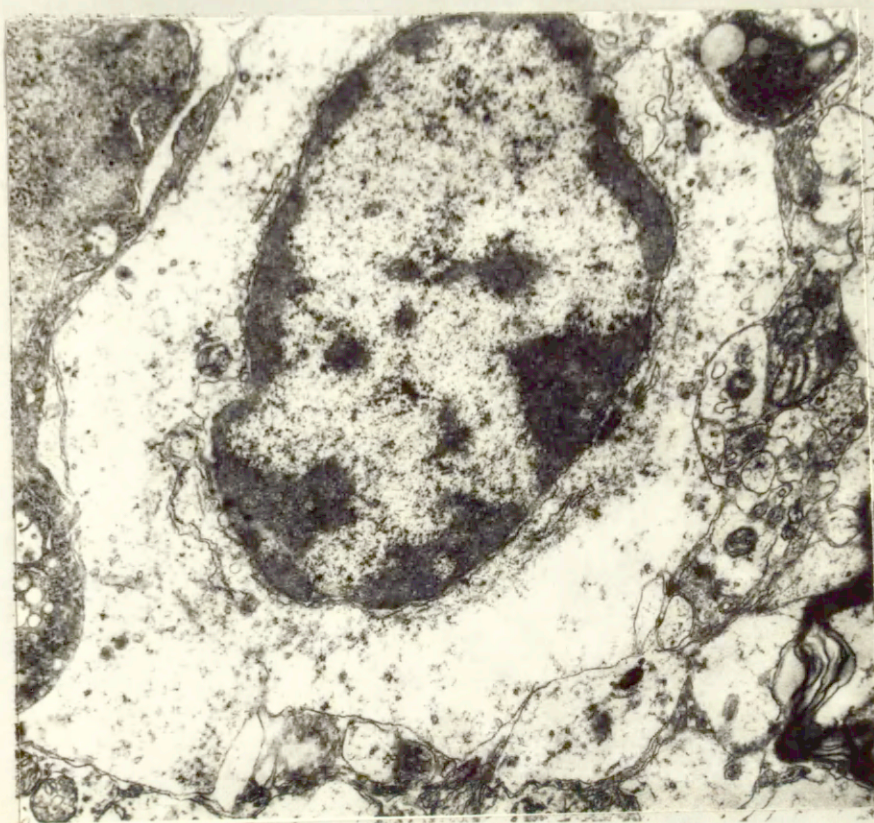
tów i ich wypustek wykazywała mniejszy stopień obrzmienia a zawarte w nich mitochondria nie wykazywały większych zmian. Nie stwierdzono porozsuwania struktur błoniastych w okolicach przynaczyniowych. Neurocyty wykazywały przeważnie zagęszczenie cytoplazmy (dark neurons) z dużą ilością organelli komórkowych. W niektórych obrazach obserwowano poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej (Ryc. 19) .

Podpisy pod rycinami
na stronach 37 i 38

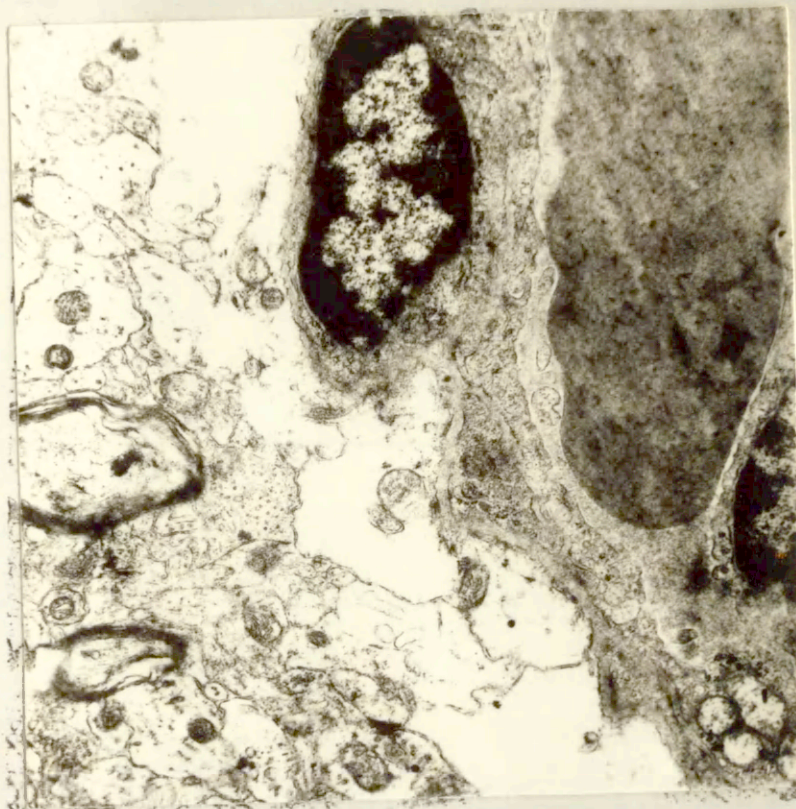
- Ryc. 16. Rozwarstwienie osłonek mielinowych włókien nerwowych. Cechy obrzęku mózgu. Istota biała mózgu szczura po 60 minutach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej. Powiększenie 21,900 x.
- Ryc. 17. Obrzęk cytoplazmy oligodendrocytu. Istota biała mózgu szczura po 60 minutach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej. Powiększenie 12,300 x.
- Ryc. 18. Obrzęk wypustek astrocytarnych wokół naczynia krwionośnego. Istota biała mózgu szczura po 60 minutach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej. Powiększenie 14,100 x.
- Ryc. 19. Neurocyt z zagęszczoną cytoplazmą i poszerzonymi kanałami siateczki endoplazmatycznej szorstkiej. Kora mózgu szczura po 60 minutach od wyjęcia zwierząt z komory hipoksyjnej. Powiększenie 12,300 x.



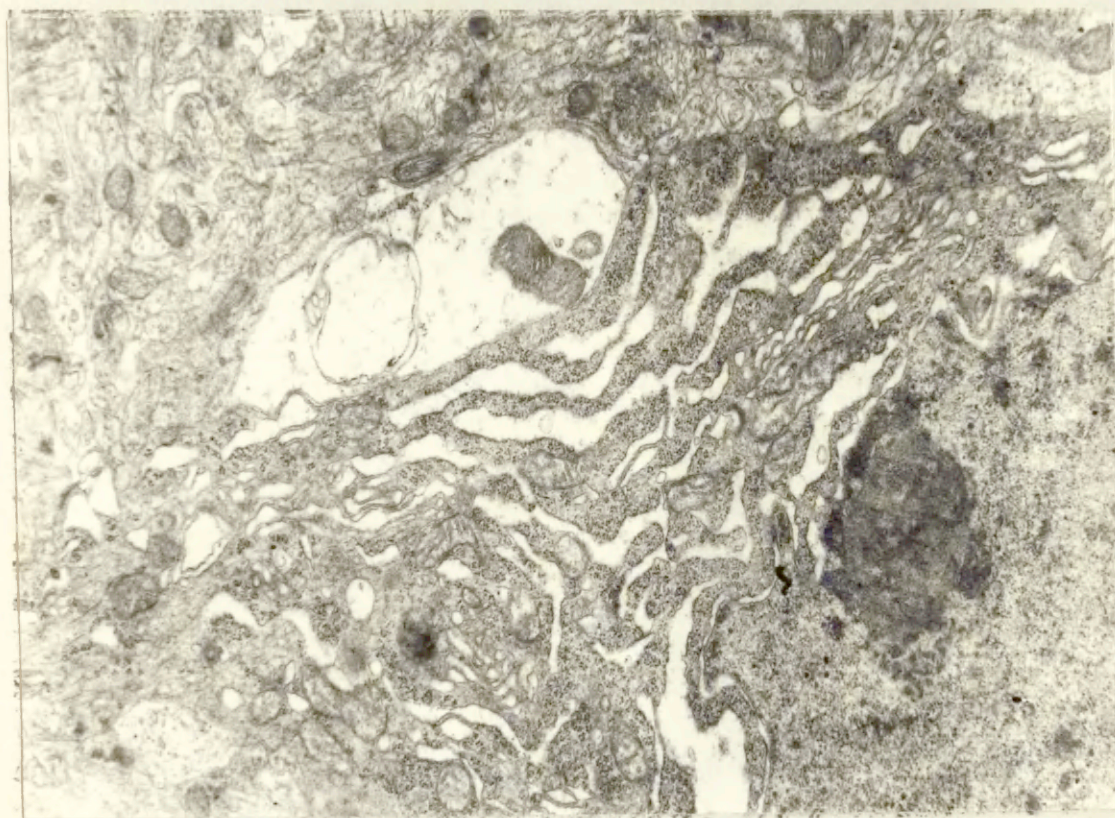
Ryc. 16.



Ryc. 17.



Ryc. 18.



Ryc. 19.

5. O M Ó W I E N I E W Y N I K Ó W

Podczas obustronnego zamknięcia tętnic szyjnych wspólnych u szczurów występuje chwilowe znaczne zmniejszenie korowego mózgowego przepływu krwi dochodzące średnio do poziomu 19,4 % przepływu prawidłowego. Podobne wyniki otrzymuje się w badaniach na królikach jednakże mózgowy przepływ krwi w chwili podwiązania obu tętnic szyjnych wspólnych u tych zwierząt zmniejsza się do średniej wartości 42 % przepływu prawidłowego (Kapuściński, 1974a). W chwili zamknięcia obu tętnic szyjnych wspólnych następuje początek odwracania kierunku przepływu krwi na poziomie koła Willisa, przy niewykorzystanych jeszcze możliwościach kompensacyjnych w postaci mechanizmów autoregulacyjnych krążenia mózgowego związanych sprzężeniem zwrotnym z krążeniem układowym. Stan taki trwa od kilku do kilkunastu sekund. W okresie tym następuje włączenie mechanizmów kompensacyjnych w postaci podwyższenia tętniczego ciśnienia układowego krwi średnio o 15,8 % - zjawisko obserwowane we wszystkich badanych przypadkach (Kapuściński, 1974b). Następstwem tego jest prędką poprawa mózgowego przepływu krwi, który zwiększa się średnio do 57,2 % poziomu przepływu prawidłowego u szczurów a nawet do 80 % u królików po 1 godzinie od obustronnego zamknięcia tętnic szyjnych wspólnych. Być może mózgowy przepływ krwi po tym zabiegu jest nawet wyższy, ponieważ należy uwzględnić wpływ narkozy, która dodatkowo obniża układowe ciśnienie tętnicze i przepływ mózgowy (nieopublikowane badania autora). Wartości te są znacznie wyższe od poziomu mózgowego przepływu krwi wywołującego nieodwracalne zmiany niedokrwienne i w pełni tłumaczą brak zmian w przepuszczalności naczyń mózgowych stwierdzany u tej grupy zwierząt podczas badań z użyciem związków znakowanych nie przechodzących do mózgu (Kapuściński, Mossakowski, 1971).

Doświadczenia w których badano stężenie ⁷⁵Se-selenometioniny

w mózgu u zwierząt poddanych skojarzonemu działaniu niedokrwienia z niedotlenieniem wskazują zarówno na zmiany jego ukrwienia jak i czynnego transportu tego związku do mózgu i mogą rzucać światło na patomechanizm obrzęku mózgu w zastosowanym modelu doświadczalnym. Szczury z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych, po kilku godzinach od wykonania zabiegu mają zachowany stosunkowo dobry poziom ukrwienia mózgu (zanik wpływu narkozy, wykształcenie krążenia obocznego), jednakże są one znacznie bardziej wrażliwe na zmiany układowego ciśnienia tętniczego. Pomimo zachowanych mechanizmów autoregulacyjnych krążenia mózgowego u tych zwierząt, obniżenie układowego ciśnienia tętniczego prowadzi do znacznego ogólnego niedokrwienia mózgu ze wszystkimi następstwami tego stanu. Podczas przetrzymywania takich zwierząt w warunkach niskotlenowych w komorze, występuje znaczne ogólne niedokrwienie mózgu za czym przemawia zmniejszenie stężenia ⁷⁵Se-selenometioniny w mózgach szczurów w czasie 20 minut. Odpowiada to znacznemu zmniejszeniu mózgowego przepływu krwi, co stwierdzono w innej serii badań. Nie należy jednakże używać tego terminu do uzyskanych wyników, ze względu na rodzaj zastosowanego związku znakowanego (⁷⁵Se-selenometionina) i sposób wykonania doświadczeń (wstrzyknięcie dożylnie). Pojawiająca się w tym czasie zwiększona radioaktywność mózgu w badaniach z ⁵¹Cr-albuminą przemawia za zwiększeniem objętości krwi w mózgu i rozszerzeniem naczyń mózgowych. Potwierdzają to również wyniki badań w mikroskopie świetlnym. Towarzyszy temu sinica obwodowych części ciała.

Wyniki przeprowadzonych badań - podczas przebywania zwierząt w komorze hipoksyjnej przemawiają za tym, że pomiędzy 7 i 20 minutą przetrzymywania zwierząt w warunkach niskotlenowych, naczynia mózgowe ulegają rozszerzeniu i zawierają większą ilość krwi,

której przepływ jest bardzo zwolniony. Można także sądzić, że w niektórych obszarach mózgu dochodzi do zatrzymania krążenia mózgowego. Dotyczy to zwłaszcza przednich części mózgu oraz obszarów zaopatrywanych przez tzw. tętnice anatomicznie końcowe. Potwierdzają to również wyniki badań metodą benzydynową w mikroskopie świetlnym. W tym okresie występuje już znaczny wzrost zawartości wody w tkance mózgowej i rozwija się obrzęk mózgu, którego cechy widoczne są także w badaniach morfologicznych.

W pracy analizowano wyniki badań obliczane zarówno dla ciężaru mokrego jak i suchego mózgu. Wzrost zawartości wody w mózgu powoduje wzrost jego ciężaru, co z kolei obniża wyniki stężenia związków obliczane dla ciężaru mokrego. Różnice w stężeniu ⁷⁵Se-selenometioniny obliczane dla ciężaru tkanki mokrej i suchej przemawiają dodatkowo za rozwojem obrzęku mózgu.

Powyższe wyniki badań są zgodne z badaniami Mchedlishvili (1973) na modelu kontrolowanej hipoksji krążeniowej (ischemii mózgu. W okresie znacznego niedokrwienia mózgu - podczas oligemii - obserwował on poszerzenie światła małych tętnic na powierzchni mózgu o wartość 1/3 ich początkowej średnicy.

W warunkach doświadczenia w komorze hipoksyjnej dochodzi do znacznego ogólnego niedokrwienia mózgu. Jednakże 13 minutowy czas tego niedokrwienia jest stosunkowo krótki, co powoduje, że mechanizmy autoregulacyjne krążenia mózgowego pozostają zachowane a pojawiające się zmiany mają charakter odwracalny.

Po wyjęciu zwierząt z komory hipoksyjnej i przeniesieniu ich do warunków o prawidłowym stężeniu tlenu w atmosferze, występuje kompensacyjne zwiększenie ukrwienia mózgu. Świadczy o tym wzrost stężenia ⁷⁵Se-selenometioniny w mózgu w 40 minucie od początku doświadczeń. Odpowiada to poischemicznej tętnicznej hiperemii

(wzrost mózgowego przepływu krwi) i przemawia za zachowaniem mechanizmów autoregulacyjnych krążenia mózgowego oraz brakiem istotnych zaburzeń czynnego transportu tego aminokwasu do tkanki mózgowej.

W czasie 40 minut od początku doświadczeń zawartość wody jest niższa w porównaniu z zawartością wody w mózgu w końcowym okresie przebywania zwierząt w komorze hipoksyjnej, jednakże wyższa w porównaniu z zawartością wody u zwierząt kontrolnych. Można to tłumaczyć zmianą prędkości rozwijania się obrzęku w związku z dużymi zmianami hemodynamicznymi w całym organizmie.

Po wyjęciu zwierząt z komory hipoksyjnej występuje podwyższenie układowego ciśnienia tętniczego krwi. Powoduje to uruchomienie mechanizmów autoregulacyjnych krążenia mózgowego i prowadzi do okresowego stanu skurczowego drobnych tętnic mózgowych przy zwiększonym mózgowym przepływie krwi. Zjawiska te z kolei uruchamiają część objętości krwi zalegającej w mózgu. Jest to więc przejście od stanu przekrwienia biernego mózgu (w okresie przebywania zwierząt w komorze hipoksyjnej) do stanu przekrwienia czynnego czyli wzrostu mózgowego przepływu krwi (po wyjęciu zwierząt z komory hipoksyjnej). Prowadzi to do zmniejszenia objętości krwi w mózgu, a więc ubytku części wody zawartej we krwi. Potwierdzają to badania z użyciem ⁵¹Cr-albuminy, w których obserwowano zmniejszanie się radioaktywności mózgu w czasie 40 minut od początku doświadczeń.

W późniejszym okresie w warunkach prowadzonych doświadczeń obrzęk mózgu wykazuje charakterystyczną dynamikę. Narasta on osiągając najwyższe wartości w przedziale czasu 80 - 140 minut, a następnie zmniejsza się do wartości zbliżonych do prawidłowych w czasie powyżej 200 minut. Wyższa zawartość wody w mózgu utrzy-

muje się jednakże jeszcze w czasie 6 godzin od początku doświadczeń.

Zmiany objętości krwi w mózgu wykazują charakterystyczny przebieg w odniesieniu do dynamiki obrzęku mózgu w tych warunkach. Objętość krwi w mózgu zmniejsza się proporcjonalnie do stopnia narastania obrzęku, na co wskazują zmiany w stężeniu ⁵¹Cr-albuminy w mózgu w czasach 80 i 140 minut od początku doświadczeń.

Wyniki doświadczeń przeprowadzonych z użyciem ^{99m}TcO₄ i ¹³¹I-albuminy nie wskazują na uszkodzenie bariery krew mózg. Ma to istotne znaczenie ponieważ rzuca światło na mechanizm powstawania obrzęku mózgu w powyższym modelu.

Celem głębszej analizy zjawisk zachodzących w tym modelu jak również obserwacji poczynionych w poprzednich pracach, należy brać pod uwagę między innymi dwa podstawowe mechanizmy: istnienie koła Willisa, które czynnościowo reprezentuje układ krążenia obocznego oraz autoregulacyjne własności krążenia mózgowego ściśle związane mechanizmem sprzężenia zwrotnego z krążeniem układowym.

W prawidłowych warunkach układ tętnic szyjnych prowadzi krew do przedniej części koła Willisa a układ tętnic kręgowych i rdzeniowych prowadzi krew do jego tylnej części. Powoduje to, że na skutek równowagi ciśnień perfuzyjnych przepływ krwi w tętnicach łączących tylnych jest niewielki lub nawet nie istnieje. Istotną rolę mogą spełniać także tętnice potyliczne, które w warunkach zamknięcia innych naczyń mogą mieć ważne znaczenie jako anastomozy łączące układ szyjny z układem kręgowo-rdzeniowym (Himwich i Clark, 1974).

Powyższe dane tłumaczą brak cech niedokrwienia mózgu po

jednostronnym podwiązaniu tętnicy szyjnej wspólnej u szczura. Po takim zabiegu następuje wzrost przepływu krwi w pozostałych tętnicach a przede wszystkim znaczny wzrost przepływu krwi w tętnicy łączącej tylnej po stronie podwiązania. Powoduje to wypenianie skrzyżowane ze strony niepodwiązanej, w wyniku czego, w chwili podwiązania - przy prawidłowym układowym ciśnieniu tętniczym - następuje zmniejszenie przepływu krwi tylko o 20 - 25 % w tętnicach odprowadzających krew z koła Willisa po stronie podwiązanej. Wartości te są znacznie wyższe od poziomu mózgowego przepływu krwi powodującego niedokrwienie mózgu i w warunkach izotopowych badań statycznych (stężenie znaczników w mózgu w różnych przedziałach czasu) nie stwierdza się istotnych różnic w ukrwieniu pólkul mózgowych.

Na tle powyższych danych wydają się być zrozumiałe znaczne trudności w uzyskiwaniu zmian niedokrwiennych w półkuli po stronie podwiązania w modelu Lewina, jak i pojawianie się takich zmian również po stronie przeciwnej w kilku badanych przypadkach.

Obustronne zamknięcie tętnic szyjnych wspólnych również nie powoduje znacznego niedokrwienia mózgu. Powodem tego jest odruch z zatoki szyjnej polegający na reakcji pressoreceptorów na obniżenie ciśnienia perfuzyjnego w samej zatoce. Odruch ten przejawia się wydzielaniem katecholamin do krążenia układowego i podwyższeniem ciśnienia tętniczego krwi do poziomu zabezpieczającego wystarczające ukrwienie mózgu przez tętnice kręgowie. Potwierdzeniem mechanizmu tego odruchu jest brak wzrostu układowego ciśnienia tętniczego po obustronnym zamknięciu tętnic szyjnych wewnętrznych (czyli powyżej zatok szyjnych) u królików (nieopublikowane badania autora).

W warunkach badań na modelu, który uwzględniał elastyczność

naczyń i opór naczyniowy, po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych wspólnych, przepływ przez tętnice kręgowe i rdzeniowe zwiększał się 3 razy, przy zachowanym prawidłowym ciśnieniu układowym. Zwiększenie ciśnienia układowego o 30 mm Hg powyżej normy, powodowało zwiększenie przepływu przez te tętnice 4 razy (Himwich i Clark, 1974).

Dożylne wstrzyknięcie adrenaliny królikom z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych może zwiększyć mózgowy przepływ krwi nawet do wartości wyższych niż w warunkach prawidłowych (Kapuściński, 1974 b).

Przyjmuje się, że dla wywołania nieodwracalnych zmian niedokrwiennych mózgu, mózgowy przepływ krwi powinien być niższy od 20 % wartości prawidłowych, co stanowi poniżej 10 ml/100g/min. (Brodersen, 1971, Kapuściński, 1974 b). Naturalnie równie ważny jest czynnik czasu i stopień wysycenia krwi tlenem.

Badania wykonane na królikach na modelu kontrolowanej ischemii mózgu wykazały, że 15 minutowy okres jego niedokrwienia podczas którego układowe ciśnienie tętnicze krwi utrzymuje się na poziomie 25 - 30 mm Hg, powoduje zmiany odwracalne między innymi w postaci okresowego poischemicznego zwiększenia mózgowego przepływu krwi (Mchedlishvili, 1973, Kapuściński, 1974 c). Mózgowy przepływ krwi podczas ischemii mózgu w tej serii badań utrzymywał się średnio na poziomie 26,7 % poziomu prawidłowego. Poischemiczne zwiększenie mózgowego przepływu krwi jest znanym objawem i obserwowanym także przez innych autorów (Sundt i Waltz, 1971, Baldy-Moulinier i Humeau, 1974 i inni). Obrzęk mózgu w powyższej serii badań nie występował lub nie był objawem dominującym. Badania wykonane na tym samym modelu, podczas których układowe ciśnienie tętnicze utrzymywane było w czasie ischemii na poziomie niższym niż 25 mm Hg wykazały rozwijanie się poischemicznego

obrzęku mózgu (Mchedlishvili i wsp., 1975, Kapuściński i wsp., 1975).

Stosunkowo mało prac w piśmiennictwie dotyczy związku obrzęku mózgu z ogólnoustrojowymi zaburzeniami krążenia i oddychania. Badania wykonane przez Mchedlishvili i wsp. (1975) i Kapuścińskiego i wsp. (1975) wskazują na istotną rolę ogólnoustrojowych zaburzeń hemodynamicznych w rozwoju poischemicznego obrzęku mózgu. Z prac tych wynika, że wzrost układowego i mózgowego ciśnienia żylnego na skutek niewydolności serca jest jedną z ważnych przyczyn rozwoju poischemicznego obrzęku. W badanych warunkach doświadczalnych zmiany niedokrwienne w mózgu można określić jako fazę wstępną dla rozwoju obrzęku mózgu. Natomiast zaburzenia pomiędzy przyływem i odpływem krwi w mózgu są istotnym czynnikiem patogenetycznym dla rozwoju obrzęku mózgu.

Istotnym zagadnieniem jest także różnicowanie pomiędzy faktycznym obrzękiem mózgu a zwiększeniem jego objętości zależnym od nadmiernego wypełnienia krwią naczyń mózgowych (Kunicki, 1974). Stan taki może towarzyszyć zarówno przekrwieniu czynnemu (zwiększenie mózgowego przepływu krwi) jak i przekrwieniu biernemu (zwiększenie objętości krwi w mózgu, głównie żylniej, przy zmniejszonym przepływie mózgowym).

Ważną rolę w rozwoju poischemicznego obrzęku mózgu odgrywają również zaburzenia oddechowe w końcowym okresie ischemii i w okresie poischemicznym. Wzrost ciśnienia wewnątrz klatki piersiowej podczas tych zaburzeń (mechanizm Valsalvy) powoduje dodatkowe utrudnienie mózgowego odpływu żylnego nasilając obrzęk mózgu (Kapuściński, Nikolaishvili, 1975).

Podstawowe mechanizmy patofizjologiczne powstawania obrzęku mózgu nie są dokładnie wyjaśnione. W dotychczasowych badaniach

doświadczalnych zgromadzono jednakże dostatecznie dużo danych wskazujących na patogenetyczne zróżnicowanie obrzęku mózgu. U podstaw wyodrębniania poszczególnych typów obrzęku leżą nie tylko różnice czynników etiologicznych i odmienność obrazu morfologicznego zmian tkankowych w ośrodkowym układzie nerwowym lecz przede wszystkim różnice w wymianie makro- i mikrocząsteczek pomiędzy osoczem krwi a płynem obrzękowym. Zmiany biochemiczne, a zwłaszcza przesunięcia jonowe w różnych typach obrzęku są zróżnicowane i mają związek nie tylko ze wzrostem zawartości wody w tkance, lecz również z pierwotnymi zaburzeniami transportu i rozkładu jonów, zwłaszcza sodu i potasu w przestrzeniach wewnątrz- i pozakomórkowych. Skład płynu obrzękowego wskazuje często na charakter procesu patologicznego, któremu towarzyszy obrzęk mózgu. W obrzęku pourazowym, jak również towarzyszącym procesom nowotworowym i zapalnym oraz w doświadczalnym obrzęku wywołanym termicznym uszkodzeniem mózgu (cold lesion - Klatzo i wsp., 1958) - płyn obrzękowy ma charakter bogatobiałkowego wysięku, "wyciekającego" przez zmienione naczynia włosowate w ognisku uszkodzenia i rozprzestrzeniającego się w otaczającej tkance nerwowej z wyraźną predylekcją lokalizacyjną do istoty białej. Jest to typowy obrzęk naczyniopochodny wg podziału patogenetycznego Klatzo (1967). Towarzyszy mu wzrost stężenia wewnątrzkomórkowego sodu i chlorków przy spadku zawartości potasu. Wspólną i podstawową cechą obrzęku naczyniopochodnego, wywołanego przez różne czynniki etiologiczne jest zmieniona przepuszczalność naczyń mózgowych, prowadząca do przechodzenia poza łożysko naczyniowe do tkanki płynu o charakterze "przesącza surowicy krwi" (Klatzo, 1967). U podstaw cytotoksycznego obrzęku mózgu leży pierwotne obrzmienie elementów upostaciowanych ośrodkowego układu nerwowego, jako następstwo zadzia-

łania różnych, najczęściej chemicznych czynników uszkodzających, przy czym rodzaj pierwotnie zmienionych elementów strukturalnych zależy od charakteru czynnika szkodliwego. W obrzęku cytotoksycznym, wywołanym trójetylkiem cyny, płyn obrzękowy gromadzi się w "wodniczkach" wewnątrzmielinowych, powstających pomiędzy blaszkami osłonki mielinowej (Wender i wsp., 1973). W obrzęku ouabainowym obserwuje się bardzo znaczne wybiórcze obrzmienie astroglegiu (Renkawek i wsp., 1970). W obu przypadkach naczynia mózgowe nie wykazują zmian w przepuszczalności, bariera naczyniowo-mózgowa dla związków wielkocząsteczkowych jest nieuszkodzona, a płyn obrzękowy, przynajmniej w początkowym okresie ma cechy ultraprzesącza surowicy krwi (Klatzo, 1967). W większości przypadków obrzęku cytotoksycznego, gromadzeniu wody w komórkach towarzyszy wzrost stężenia sodu.

W niektórych przypadkach obrzęku cytotoksycznego w obrazach morfologicznych obserwować można obrzmienie cytoplazmy komórkowej, przy równoczesnym obkurczeniu innych elementów strukturalnych komórki np. jądra. Może również dochodzić do przesunięcia płynu z jednych struktur do drugich, bez bezwzględnego zwiększenia zawartości wody w mózgu lub zawartość ta może być tylko nieznacznie zwiększona.

Dotychczasowe badania nie pozwalają na jednoznaczne określenie charakteru obrzęku towarzyszącego niedotlenieniu bądź niedokrwieniu mózgu. Naczyniopochodny obrzęk mózgu w warunkach niedotlenienia hipoksyjnego uzyskiwano jedynie przy skojarzeniu niedostatku tlenowego z określonym poziomem hiperkapnii (Bakay, Lee, 1968). W przypadku asfiksji obrzęk naczyniopochodny stanowił zjawisko występujące sporadycznie (Mossakowski i wsp., 1968). W różnych modelach niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego, zmian obrzękowych nie spostrzegano wogóle lub tylko w nielicznych przypad-

kach (Sundt i Waltz, 1971) a przede wszystkim u zwierząt znajdujących się w bardzo ciężkim stanie klinicznym w okresie doświadczenia (Kapuściński, Mossakowski, 1971; Gadamski, Szumańska, 1974, Kapuściński i wsp., 1975). Występował on przy tym w znacznej liczbie przypadków u zwierząt z nieodwracalnymi martwiczymi uszkodzeniami ośrodkowego układu nerwowego, stanowiąc raczej zjawisko wtórne towarzyszące martwicy tkanki (Kapuściński, Mossakowski, 1971). Równocześnie stwierdzane zmiany w stanie przepuszczalności błon komórek nerwowych, wskazywały w tych przypadkach na wyraźny udział komponenty cytotoksycznej (Mossakowski i wsp., 1968; Gadamski, Szumańska, 1974).

W oparciu o podstawowe kryterium różnicowe obrzęku, dotyczące stanu przepuszczalności naczyń dla związków nieprzechodzących w warunkach prawidłowych poza łożysko naczyniowe, stwierdzony w przedstawionej serii doświadczeń obrzęk uznać należy za obrzęk cytotoksyczny. Z nowych badań Klatzo (1976) wynika, że ten typ obrzęku może stanowić wczesną fazę zmian poischemicznych przechodzącą w późniejszym okresie w typowy obrzęk naczyniopochodny lub też pozostaje jako jedyna faza uszkodzenia w postaci odwracalnego obrzęku cytotoksycznego. Jakże czynniki decydują o tym zjawisku musi pozostać przedmiotem dalszych badań.

6. W N I O S K I

1. Obustronne zamknięcie tętnic szyjnych wspólnych u szczurów powoduje krótkotrwałe zmniejszenie mózgowego przepływu krwi średnio do wartości 19,4 % poziomu przepływu prawidłowego. Mechanizmy regulacyjne krążenia mózgowego i układowego powodują kompensację ukrwienia mózgu zwiększając mózgowy przepływ krwi średnio do wartości 57,2 % poziomu przepływu prawidłowego.

po 1 godzinie od zamknięcia tętnic. Zabieg ten nie prowadzi do powstawania obrzęku mózgu i do rozwoju nieodwracalnych uszkodzeń tkanki nerwowej.

2. Niedotlenienie szczurów z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych powoduje upośledzenie ukrwienia mózgu charakteryzujące się następującą dynamiką:
 - a. W okresie niedotlenienia występuje znaczne zmniejszenie mózgowego przepływu krwi z towarzyszącym mu przekrwieniem biernym.
 - b. Po okresie niedotlenienia ukrwienie mózgu ulega poprawie osiągając wartości wyższe niż u zwierząt kontrolnych.
 - c. W późniejszym okresie po niedotlenieniu ukrwienie mózgu osiąga poziom ukrwienia mózgu zwierząt kontrolnych.
3. Niedotlenienie zwierząt z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych powoduje rozwój obrzęku mózgu. Obrzęk ten jest odwracalny i charakteryzuje go następująca dynamika:
 - a. Powstaje w okresie niedotlenienia.
 - b. Narasta po okresie niedotlenienia osiągając szczyt pomiędzy 80 i 120 minutą od początku doświadczenia.
4. Rozwój obrzęku mózgu w tym modelu związany jest z zaburzeniami hemodynamicznymi w krążeniu mózgowym.
5. Bariera krew-mózg w powyższym modelu nie wykazuje wzmożonej przepuszczalności dla nadtechnetanu i znakowanej albuminy, co przemawia za cytotoksycznym charakterem wywołanego obrzęku.
6. Zwiększeniu zawartości wody w mózgu w warunkach tego modelu towarzyszy zmniejszenie objętości krwi w mózgu.

7. S T R E S Z C Z E N I E

W pracy przeprowadzono analizę ukrwienia i dynamiki obrzęku mózgu u szczurów na modelu niedokrwienia skojarzonego z niedotlenieniem. Stosując metodę klirensu ^{133}Xe w mózgu oceniono wpływ obustronnego zamknięcia tętnic szyjnych wspólnych na zmniejszenie mózgowego przepływu krwi. Zwierzęta z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych przetrzymywano przez 20 minut w atmosferze niskotlenowej ($5\% \text{O}_2 + 95\% \text{N}_2$) oceniając zmiany ukrwienia mózgu i czynnego transportu związków do mózgu (^{75}Se -selenometionina), objętości krwi w mózgu (^{51}Cr -albumina), zawartości wody w mózgu oraz stan bariery krew-mózg ($^{99\text{m}}\text{TcO}_4$, ^{131}I -albumina). Równolegle wykonano badania histologiczne i mikroskopowo-elektronowe. Obustronne zamknięcie tętnic szyjnych wspólnych u szczurów powoduje krótkotrwałe zmniejszenie mózgowego przepływu krwi średnio do wartości 19,4 % poziomu przepływu prawidłowego. Dzięki mechanizmom regulacyjnym krążenia mózgowego i układowego, mózgowy przepływ krwi u takich zwierząt ulega poprawie osiągając wartość średnią 57,2 % poziomu przepływu prawidłowego po 1 godzinie od wykonania zamknięcia tętnic. Niedotlenienie zwierząt z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych przez umieszczanie ich w komorze hipoksyjnej powoduje znaczne ogólne niedokrwienie mózgu. Zmniejszonemu mózgowemu przepływowi krwi towarzyszy rozszerzenie naczyń mózgowych z wzrastającą objętością krwi w mózgu co odpowiada stanowi przekrwienia biernego. Po okresie niedokrwienia występuje u tych zwierząt poischemiczne zwiększenie mózgowego przepływu krwi, które ^{po 1 mg} normalizuje się w ~~poźniejszych czasach~~. W okresie poischemicznego zwiększenia mózgowego przepływu krwi, czynny transport selenometioniny do mózgu nie ulega zaburzeniom. Niedotlenienie

zwierząt z obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych powoduje rozwój obrzęku mózgu bez cech wzmożonej przepuszczalności bariery krew-mózg dla nadtechnetanu i znakowanej albuminy. Obrzęk mózgu rozwija się już podczas niedotlenienia osiągając szczyt po okresie niedotlenienia pomiędzy 80 i 120 minutą od początku doświadczeń. Zwiększeniu zawartości wody w mózgu towarzyszy zmniejszenie objętości krwi w mózgu. Ostry obrzęk mózgu rozwijający się w tym modelu jest obrzękiem odwracalnym i ma cechy uznawane za charakterystyczne dla obrzęku cytotoksycznego.

8. P I S M I E N N I C T W O

1. Albrecht J., Kapuściński A., Januszewski S.: Effect of partial ischemia and ischemic-hypoxic hypoxia on the activity of a cell-free protein synthesizing system from rat brain. Bull. Acad. Sci. Pol., 1972, 4, 269 - 272.
2. Albrecht J.: Polyribosomes of the rabbit brain in circulatory hypoxia. Neuropat. Pol., 1974, 12, 665 - 669.
3. Bacalzo L.V., Jr., Wolfson S.K., Jr.: Preferential cerebral hypothermia, Tromethamine and dextran 40 and tolerance to circulatory arrest of 90 to 120 minutes. Arch. Surg., 1971, 103, 393 - 397.
4. Bakay L., Bendixen H.H.: Central nervous system vulnerability in hypoxemic states. Isotope uptake studies. In: Selective vulnerability of the central nervous system in hypoxia, J.P. Schade and W.H. McMenemey. Oxford, Blackwell Scient. Publ., 1963, 63 - 78.
5. Bakay L.: Radio-isotopic studies in brain edema. In: Brain edema. Ed. I. Klatzo, F. Seitelberger. Springer Verl., Wien, New York, 1967, 517 - 529.
6. Bakay L., Lee J.C.: The effect of acute hypoxia and hypercapnia on the ultrastructure of the central nervous system. Brain, 1968, 91, 697 - 706.
7. Baldy-Moulinier M.: Comparative effects of various metabolic inhibitors on cerebral hemodynamics, electrical activity and cation transport. In: Cerebral circulation and metabolism, 6th International Cerebral Blood Flow Symposium, Philadelphia 1973.

8. Baldy-Moulinier M., Humeau Cl.: Electron microscopic study of ischemic and histotoxic cerebral hypoxia. Correlation of ultrastructural changes and cerebral blood flow. In: Pathology of cerebral microcirculation. Ed. J. Cervós-Navarro. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1974, 307 - 314.
9. Brierley J.B., Meldrum B.S., Brown A.W.: The threshold and neuropathology of cerebral "anoxic ischemic" cell change. Arch. Neurol., 1973, 29, 367 - 374.
10. Brodersen P.: Critical levels of blood flow and oxygen utilisation in brain. 2nd Intern. Symp. on Nuclear Medicine, Karlovy Vary, 1971. Streszczenia referatów, 11.
11. Cantu R.C., Ames I.A., DiGiacinto G., Dixon J.: Hypotension: a major factor limiting recovery from cerebral ischemia. J. Surg. Res., 1969, 9, 525 - 529.
12. Crone C.: The permeability of capillaries in various organs determined by use of the indicator diffusion method. Acta Physiol. Scand., 1963, 58, 292 - 305.
13. Crowell J.W., Sharpe G.P., Lambright R.L., Read W.L.: The mechanisms of death after resuscitation following acute circulatory failure. Surgery, 1955, 38, 696 - 702.
14. Crowell R.M., Olsson Y.: Observations on the microvasculature in focal cerebral ischemia and infarction. In: Cerebral vascular diseases. Ed. F.H. McDowell, R.W. Brennan. Grune and Stratton, New York, 1973, 77 - 88.
15. Dale W.A.: Cardiac arrest. Ann. Surg., 1952, 135, 376 - 393.
16. Duffy T.E., Nelson S.R., Lowry O.H.: Cerebral carbohydrate metabolism during acute hypoxia and recovery. J. Neurochem., 1972, 9, 959 - 977.

26. Hossmann K.A., Zimmermann V.: Factors influencing the recovery of the monkey brain after prolonged cerebral ischemia. In: Pathology of cerebral microcirculation. Ed. J. Cervós-Navarro. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1974, 354-360.
27. Kapuściński A., Mossakowski M.J.: Quantitative evaluation of transport of some labelled compounds into the rat cerebral tissue under normal conditions and during ischemia and hypoxia of brain. 2nd Intern. Symp. on Nuclear Medicine, Karlovy Vary, 1971, Streszczenia referatów, 28.
28. Kapuściński A., Mossakowski M.J., Albrecht J., Januszewski S. Wpływ niedokrwienia i niedotlenienia na barierę krew-mózg u szczurów. Neuropat. Pol., 1972, 10, 45 - 64, a.
29. Kapuściński A., Goel Y.S., Lindsay R., Kapuścińska B. and McDonald M.W.: Study on the mechanism and kinetics of brain edema induced by ischemia and hypoxia. A new ischemic-hypoxia model of cerebral edema. Southeastern Chapter Soc. Nucl. Med 13th Annual Meeting, 1972, Atlanta, Georgia, Southern Med. J 1972, 65, 1425, b.
30. Kapuściński A., McDonald M.W.: Efficiency of collateral circulation in cerebral ischemic diseases. 3rd Intern. Symp. on Nuclear Medicine, Karlovy Vary, 1973. Streszczenia referatów 40.
31. Kapuściński A., Karczewski W.A.: The effects of hyperventilation on the cerebral blood flow in normo- and hyperthermic rabbits. Intern. Res. Com. System. Medical Science, 1973, 11 - 1 - 22.
32. Kapuściński A.: Efficiency of cerebral blood supply by the vertebral and spinal arteries in ischemic conditions. 7th

- Intern. Congress of Neuropathology, Budapest, 1974. Proc. from the Congress, Excerpta Medica, Amsterdam, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1975, 637 - 640, a.
33. Kapuściński A.: Significance of the circle of Willis in cerebral blood supply in ischemic conditions. (Research and clinical studies). In: Recent advances in nuclear medicine, Proc. of the 1st World Congress of Nuclear Medicine, Tokyo and Kyoto, 1974. Publish. Com., Ohkawa Printing Co., Yokohama 1176 - 1178, b.
34. Kapuściński A.: Cerebral blood flow under conditions of circulatory hypoxia with particular reference to the retransfusion period. Neuropat. Pol., 1974, 4, 563 - 572, c.
35. Kapuściński A., Mchedlishvili G.I., Nikolaishvili L.: Development of the post-ischemic brain edema and its relation to circulatory disorders. Proc. of the 7th Intern. Symp. on Cerebral Blood Flow and Metabolism, Aviemore, 1975. Blood flow and metabolism in the brain. Ed. M. Harper, B. Jennett, D. Miller, J. Rowan, Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York, 1975, 10, 21 - 25.
36. Kapuściński A., Nikolaishvili L.: Studies on pathomechanism of the acute postischemic brain edema. Intern. Symp. on Physiological, Biochemical and Morphological Aspects of Cerebral Ischemia and Arterial Hypertension, Warszawa, 1975. Streszczenia referatów, 21
37. Klatzo I., Piraux A. and Laskowski E.J.: The relationship between edema, blood-brain barrier and tissue elements in a local brain injury. J. Neuropath. Exp. Neurol., 1958, 17, 548 - 564.
38. Klatzo I.: Presidential address: Neuropathological aspects

- of brain edema. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1967, 26, 1 - 13.
39. Klatzo I., Ito U., Go G., Spatz M.: Observations on experimental cerebral ischemia in mongolian gerbils. In: *Pathology of cerebral microcirculation*. Ed. J. Cervós Navarro. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1974, 338 - 341.
40. Klatzo I.: Pathophysiological aspects of cerebral ischemia. In: *The nervous system*. Ed. D.B. Tower, Vol. 1.: *The basic neurosciences*, Raven Press, New York, 1975, 313 - 322.
41. Klatzo I.: Some pathophysiological aspects of cerebral ischemia. *Joint Meeting Scandinavian Neuropath. Soc. and Polish Neuropath. Soc.*, 1976, Linköping, Sweden.
42. Kunicki A.: 1974, uwagi osobiste.
43. LaPresle Milhaud M.: Lésions du système nerveux central après arrêt circulatoire. *Étude de 10 cas*. *La Presse Med.*, 1962, 70, 429 - 432.
44. Lassen N.A. and Ingvar D.H.: The blood flow of cerebral cortex determined by radioactive Krypton⁸⁵. *Experientia*, 1961, 17, 24 - 43.
45. Levine S.: Anoxic-ischemic encephalopathy in rats. *Am. J. Pathol.*, 1960, 36, 1 - 17.
46. Mandel M.M., Berry R.G.: Human brain changes in cardiac arrest. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1959, 108, 692 - 696.
47. Matakas F., Cuyper J.: Lesions of microvasculature in brain edema. In: *Pathology of cerebral microcirculation*. Ed. Cervós-Navarro. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1974, 274 - 281.
48. McDonald M.W., Kapuściński A.: Trial of comparative-quantita-

- tive evaluation of efficiency of collateral circulation in cerebral ischemic diseases. Southeastern Chapter Soc. Nucl. Med., 13th Annual Meeting, 1972, Atlanta, Georgia. Southern Med. J., 1972, 65, 1426.
49. Mchedlishvili G.I.: Experimental model of controllable circulatory hypoxia (ischemia) of cerebral hemispheres. Neuropat. Pol., 1973, 3, 249 - 262.
50. Mchedlishvili G.I., Kapuściński A., Nikolaishvili L.: Role of circulatory changes in the formation of postischemic brain edema. Intern. Res. Com. System., Medical Science, 1975, 3, 45.
51. Meyer J.S., Gotoh F., Fevale E.: Effects of carotid compression on cerebral metabolism and electroencephalogram. EEG Clin. Neurophysiol., 1965, 19, 362 - 376.
52. Miller J.R., Myers R.E.: Neuropathology of systemic circulatory arrest in adult monkeys. Neurol., 1972, 22, 888 - 904.
53. Mossakowski M.J., Long D.M., Myers R.E. de Curret R.H., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 1968, 27, 500 - 516.
54. Mossakowski M.J.: 1973, uwagi osobiste.
55. Mrsulja B.B., Mrsulja B.J., Ito U., Fujimoto T., Spatz M. and Klatzo I.: Cerebral ischemia: some new aspects of post-ischemic period. Intern. Symp. on Pathophysiological, Biochemical and Morphological Aspects of Cerebral Ischemia and Arterial Hypertension, Warszawa, streszczenia referatów, 70.
56. Myers R.E.: Two patterns of perinatal brain damage and their conditions of occurrence. Am. J. Obstet. Gynec., 1972, 112, 246 - 276.

57. Myers R.E.: Neuropathology of total oxygen lack (anoxia) in Rhesus monkey. In: Pathology of cerebral microcirculation. Ed. Cervós-Navarro. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1974, 299 - 306.
58. Neuburger K.T.: Lesions of the human brain following circulatory arrest. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1954, 13, 144-160
59. Olsson Y., Crowell R.M., Klatzo I.: The blood-brain barrier to protein tracers in focal cerebral ischemia and infarction caused by occlusion of the middle cerebral artery. *Acta Neuropath. (Berlin)*, 1971, 18, 89 - 102.
60. Pronaszko-Kurczyńska A., Mossakowski M.J., Ostenda M., Korthals J.: Zmiany zawartości glikogenu w mózgu w doświadczalnej ischemii. *Neuropat. Pol.*, 1971, 9, 281 - 296.
61. Renkawek K., Palladini G., Ieradi L.A.: Morphology of glia cultured in vitro in presence of ouabain. *Brain Res.*, 1970, 18, 363 - 367.
62. Schneider M.: Survival and revival of the brain in anoxia and ischemia. In: Cerebral anoxia and the electroencephalogram. Ed. E.H. Gastant, J.S. Myer. Thomas, Springfield, 1969, 134 - 143.
63. Sikorska M., Śmiałek M.: Glycogen level and UDPglucose: glycogen-alfa-4-glucosyltransferase (EC 2.4.1.11.) activity in the brains of rabbits after experimental circulatory hypoxia. *Neuropat. Pol.*, 1974, 12, 655 - 664.
64. Steegman A.T.: The neuropathology of cardiac arrest. In: Pathology of the nervous system. Ed. J. Minckler. McGraw-Hill, New York, 1969, 1005 - 1029.

65. Sugar O., Gerard R.W.: Anoxia and brain potentials. J. Neurophysiol., 1938, 1, 558 - 572.
66. Sundt T.M. and Waltz A.G.: Cerebral ischemia and reactive hyperemia. Studies of cortical blood flow and microcirculation before, during and after temporary occlusion of middle cerebral artery of squirrel monkeys. Circulation Res., 1971, 28, 426 - 433.
67. Symon L.: A comparative study of middle cerebral pressure in dogs and macaques. J. Physiol. (London), 1967, 191, 449-465.
68. Smiałek M., Sikorska M. Bicz W., Mossakowski M.J.: UDPglucose:glycogen alfa-4-glucosyltransferase (EC 2.4.1.11.) and alfa-1, 4 glucan:orthophosphate glucosyltransferase (EC 2.4.1.1.) activity in rat brain in experimental ischemia. Acta neuropath. (Berlin), 1971, 19, 242 - 248.
69. Wagner H.N., Jr.: In: Nuclear Medicine. Ed. W.H. Blahd. McGraw-Hill Book Co., New York, 1972, 328.
70. Waltz A.G., Wanek A.R. and Anderson R.E.: Comparison of analytic methods for calculation of cerebral blood flow after intracarotid injection of ¹³³Xe. J. Nucl. Med., 1972, 13, 66 - 72.
71. Waltz A.G., O'Brien M.D., Jordan M.M.: Intraluminal, regulatory and permeability changes in cerebral vasculature caused by ischemia. In: Pathology of cerebral microcirculation. Ed. Cervós-Navarro. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1974, 333 - 337.
72. Wender M., Kozik M., Piechowski A.: Effect of chronic triethyl tin intoxication on the morphological and histoenzymatic pattern of rat brain. Neuropat. Pol., 1973, 3, 323 - 340.

73. Wexler B.C., Saroff J.: Metabolic changes in response to acute cerebral ischemia following unilateral carotid artery ligation in arteriosclerotic rats. *Stroke*, 1970, 1, 38 - 51.
74. Zaren H.A., Weinstein J.D., Langfitt T.W.: Experimental ischemic brain swelling. *J. Neurosurg.*, 1970, 32, 227 - 235.