

1910

THE UNIVERSITY OF TORONTO LIBRARY
130 St. George Street, Toronto, Ontario
M5S 1A5



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000200053



ΔΔ
610
ΤΣΙ
2002

Αρ. εισ.:.....20.....2004.



A
333

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ – ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘ. ΑΓΓΕΛΟΣ Μ. ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

**ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΤΟΠΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗ
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ
ΙΣΧΑΙΜΙΑ- ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΧΡΗΣΤΟΣ Δ. ΤΣΙΟΤΡΑΣ

ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΟΛΟΓΟΣ / ΕΝΤΑΤΙΚΟΛΟΓΟΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2002



ΕΠΙΣΤΟΛΗ ΠΡΟΕΔΡΟΥ

ΠΡΟΣ ΤΟ ΔΕΛΤΙΟ ΤΗΣ ΕΠΙΣΤΟΛΗΣ
ΑΡΙΘΜΟΣ 75/2002

75/2002



ΕΠΙΣΤΟΛΗ

ΕΠΙΣΤΟΛΗ ΠΡΟΕΔΡΟΥ

ΕΠΙΣΤΟΛΗ ΠΡΟΕΔΡΟΥ

ΕΠΙΣΤΟΛΗ ΠΡΟΕΔΡΟΥ

ΕΠΙΣΤΟΛΗ ΠΡΟΕΔΡΟΥ

ΕΠΙΣΤΟΛΗ ΠΡΟΕΔΡΟΥ



Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής δεν
υποδηλοί αποδοχή των γνώμων του συγγραφέως.
(Νόμος 5343/32, άρθρον 202, παρ.2 και ν.1268/82, αρθρ.50 παρ.8)



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

Ο ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΓΓΕΛΟΣ Μ. ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΜΑΡΙΑ Μ. ΓΚΙΑΛΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ Α.Π.Θ

**ΑΓΓΕΛΟΣ Μ. ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΦΙΛΙΠΠΟΣ Δ. ΤΣΙΤΣΟΠΟΥΛΟΣ ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ
ΤΟΥ Α.Π.Θ**



ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΜΑΡΙΑ Μ. ΓΚΙΑΛΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΟΛΟΓΙΑΣ Α.Π.Θ

**ΝΙΚΗ ΑΓΝΑΝΤΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

ΟΛΥΜΠΙΑ ΓΚΙΜΠΑ – ΤΖΙΑΜΠΙΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ Α.Π.Θ

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΑΓΓΕΛΟΣ Μ. ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΦΙΛΙΠΠΟΣ Δ.ΤΣΙΤΣΟΠΟΥΛΟΣ ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ
Α.Π.Θ**

**ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΚΑΛΦΑΚΑΚΟΥ ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΛΩΣΣΑΡΙΟ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ..... 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ..... 3

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ανατομική εγκεφάλου κονίκλου..... 4

Αγγείωση εγκεφάλου κονίκλου..... 5

Φυσιολογία της αιμάτωσης του εγκεφάλου..... 6

Μεταβολισμός του οξυγόνου στον εγκέφαλο..... 9

Ισχαιμία του εγκεφάλου..... 12

Ισχαιμική νεκροβιωτική ζώνη..... 19

Δευτερογενείς συνέπειες της ισχαιμίας..... 22

Παθοφυσιολογία της ισχαιμικής βλάβης..... 23

Βιοχημικοί δείκτες εγκεφαλικής δυσλειτουργίας..... 34

Ελεγχος εγκεφαλικής οξυγόνωσης και μεταβολισμού..... 36

Σχηματισμός ελευθέρων ριζών του οξυγόνου..... 40

Μηχανισμός βλάβης του εγκεφαλικού ιστού κατά την επαναιμάτωση..... 43

Παθογένεση και παθοφυσιολογική εξέλιξη των διαταραχών
που προκάλεσε η ισχαιμία επαναιμάτωση..... 48

Δυνατότητες πρόληψης και θεραπευτικής αντιμετώπισης
της βλάβης του εγκεφάλου από ισχαιμία επαναιμάτωση..... 50

Δεσμευτές των ελευθέρων ριζών του οξυγόνου..... 58

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Πειραματόζωα και ομάδες..... 68

Πειραματικό πρωτόκολλο-φάσεις..... 69

Εργαστηριακές εξετάσεις..... 75

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΠΙΝΑΚΕΣ

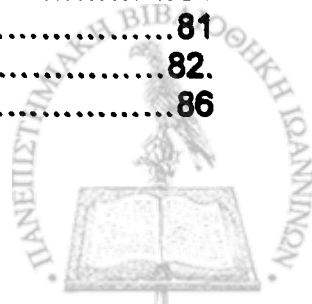
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ- ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ

Αιμοδυναμικές μετρήσεις..... 81

Αέρια αίματος και οξεοβασική ισορροπία..... 81

Βιοχημικές και βιοφυσικές μετρήσεις..... 82

Ιστολογικά ευρήματα..... 86



Αποτελέσματα-Στατιστική επεξεργασία.....	97
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
Επιλογή προστατευτικού παράγοντα.....	127
Αιμοδυναμικές μεταβολές.....	131
Μεταφορά και χρησιμοποίηση του οξυγόνου.....	132
Οξεοβασική ισορροπία.....	134
Μεταβολισμός.....	135
Ηλεκτρολύτες ορού.....	135
Οξειδωτικό stress/αντιοξειδωτικό δυναμικό.....	136
Ιστολογικά ευρήματα.....	137
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	13
	8
SUMMARY.....	141
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	144



ΓΛΩΣΣΑΡΙΟ

ADP	Adenosine diphosphate	Διφωσφορική αδενοσίνη
AMP	Adenosine monophosphate	Αδενοσινομονοφωσφορικό οξύ
ATP	Adenosine triphosphate	Αδενοσινοτριφωσφορικό οξύ
As	Ascorbic acid	Ασκορβικό οξύ
CAT	Catalase	Καταλάση
CBF	Cerebral blood flow	Εγκεφαλική αιματική ροή
CMR	Cerebral metabolic rate	Εγκεφαλικός μεταβολισμός
CMRO ₂	Cerebral metabolic rate for oxygen	Κατανάλωση οξυγόνου από τον εγκέφαλο
CPP	Cerebral perfusion pressure	Πίεση εγκεφαλικής διήθησης
CVR	Cerebral vascular resistance	Εγκεφαλικές αγγειακές αντιστάσεις
DDA	Dehydroascorbic acid	Διασκορβικό οξύ
ICP	Intracranial pressure	Ενδοκράνια πίεση
MAP	Mean arterial pressure	Μέση αρτηριακή πίεση
MDA	Malonic dialdehyde	Μαλονική δυαλδεύδη
NAD	Nicotinamide-adenine Dinucleotide	Νικοτιναμιδο-αδενινοδινουκλεοτίδιο
NAD ⁺	>>	Νικοτιναμιδο-αδενινοδινουκλεοτίδιο (οξειδωθεν)
NADH	>>	Νικοτιναμιδο-αδενινοδινουκλεοτίδιο (αναχθέν)
OFR	Oxygen free radicals	Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου
OFRS	Oxygen free radicals scavengers	Δεσμευτά ελευθέρων ριζών οξυγόνου



$O_2^{\cdot -}$, ή $\cdot O_2^-$	Superoxidation	Υπεροξειδίο ανιόν
HO_2^{\cdot}	Hydroperoxy radical	Υδροϋπεροξυ-ρίζα
OH^{\cdot}	Hydroxylradical	Ρίζα υδροξυλίου
OH^-	Hydroxylanion	Ανιόν υδροξυλίου
H_2O_2	Hydrogen peroxide	Υπεροξειδίο του υδρογόνου
1O_2	Singlet oxygen	Διεγερμένο μόριο οξυγόνου
PG	Prostaglandin	Προσταγλανδίνη
SOD	Superoxid dismutase	Δισμουτάση του υπεροξειδίου



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ευαισθησία του εγκεφάλου στην ισχαιμία είναι φανερή σε όλους τους κλινικούς γιατρούς και ιδίως στους αναισθησιολόγους και στους εντατικολόγους οι οποίοι και συχνά εκφράζουν τους φόβους τους για την νευρολογική έκβαση του ασθενούς του οποίου ο εγκέφαλος ισχαιμεί. Η βλάβη του εγκεφαλικού ιστού επέρχεται τόσο κατά τη φάση της ισχαιμίας, όσο και κατά την επαναιμάτωση, επομένως σε περίπτωση που η ισχαιμία είναι προγραμματισμένη (π.χ. νευροχειρουργικές επεμβάσεις) ή προβλεπόμενη (π.χ. shock, εγκατάσταση κολπικής μαρμαρυγής) ο θεράπων έχει την δυνατότητα να προστατεύσει τον εγκέφαλο, ενώ σε περίπτωση εκτεταμένου ισχαιμικού επεισοδίου θα πρέπει να προστατεύσει τον εγκέφαλο από την βλάβη επαναιματώσεως.

Παρά την πληθώρα των παραγόντων που ενέχονται στην εξέλιξη της εγκεφαλικής βλάβης, η αρχική εκλυτική αιτία είναι μια διαταραχή της σχέσης παροχής / απαιτήσεων σε οξυγόνο.

Παρά τη μακροχρόνια έρευνα, η φαρμακευτική αντιμετώπιση της εγκεφαλικής ισχαιμίας/υποξίας εξακολουθεί να αποτελεί αντικείμενο έρευνας και τούτο πιθανώς να οφείλεται στη μη κατανόηση της παθοφυσιολογίας των διαφορετικού τύπου προσβολών, καθώς και των δράσεων των διαφόρων φαρμάκων.

Ένα κλινικά χρήσιμο φάρμακο που θα εστερείτο ανεπιθύμητων ενεργειών και θα είχε άμεση εφαρμογή θα ήταν το επιθυμητό. Ερέθισμα για αυτή την μελέτη ήταν η ακόλουθη σκέψη:

Η βλάβη των ιστών κατά την ισχαιμική νόσο επέρχεται τόσο κατά την εξέλιξη, οφειλόμενη σε εξάντληση των ενεργειακών αποθεμάτων του κυττάρου, όσο και κατά την επαναιμάτωση του προηγούμενως ισχαιμικού ιστού, που δεν έχει ακόμα νεκρωθεί. Η βλάβη του εγκεφαλικού ιστού κατά την φάση της επανακυκλοφορίας, προκαλείται από διάφορα κυτταροτοξικά μεταβολικά προϊόντα, που παράγονται κατά τη φάση αυτή, με προεξάρχοντα ρόλο τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.

Όταν η παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου υπερκεράσει τις δυνατότητες των φυσικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών τότε προκύπτει οξειδωτικό stress και ιστική βλάβη. Στην μελέτη μας δοκιμάσαμε την α-τοκοφερόλη η οποία σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.

Το πειραματικό μέρος της παρούσης μελέτης έγινε στο εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων στο οποίο προϊστάται ο Αν. Καθ. Α. Ευαγγέλου, η δε επεξεργασία και αξιολόγηση των ιστολογικών παρασκευασμάτων έγινε στο εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων από τον Αναπλ. Καθ. Δ. Στεφάνου καθώς και στην Κτηνιατρική Σχολή του Α.Π.Θ, στο τμήμα Ανατομίας από την Αναπλ. Καθηγήτρια Ε. Μιχαλούδη.

Η ανάλυση των αερίων αίματος και της οξεοβασικής μέτρησης, καθώς και οι βιοχημικές μετρήσεις έγιναν στο Γενικό Νοσοκομείο "Χατζηκώστα" Ιωαννίνων οι δε μετρήσεις της Δισμουτάσης του Υπεροξειδίου, της Μαλονικής Δυαλδεύδης, του Ασκορβικού οξέος και του Δυσασκορβικού οξέος έγιναν στο εργαστήριο της Φυσιολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Πρόκειται για ένα δύσκολο και επίπονο πειραματικό πρωτόκολλο που χωρίς την βοήθεια και συμπαράσταση συγκεκριμένων συναδέλφων δεν γνωρίζω εάν θα το έφερα εις πέρας.



Πρόκειται για ένα δύσκολο και επίπονο πειραματικό πρωτόκολλο που χωρίς την βοήθεια και συμπαράσταση συγκεκριμένων συναδέλφων δεν γνωρίζω εάν θα το έφερα εις πέρας.

Συγκεκριμένα αναφέρομαι στους :

- κ. Α. Ευαγγέλου, Αναπλ. Καθ. της Φυσιολογίας της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, ο οποίος μου ανέθεσε το θέμα, ήταν ο οργανωτής του πειραματικού σχεδιασμού, διέθεσε το πειραματικό Εργαστήριο της Φυσιολογίας και με την πολύτιμη συνδρομή του κατά την διάρκεια των πειραμάτων και της επεξεργασίας του πειραματικού υλικού συνέβαλε στην πραγματοποίηση της μελέτης αυτής.
- κ. Κ. Χατζηνικολάου, Αναισθησιολόγο Διευθ. Μονάδας Εντατικής Θεραπείας, ο οποίος με βοήθησε κατά την εκτέλεση των πειραμάτων, μου έδωσε πολύτιμες συμβουλές, έλεγξε το κείμενο και το διόρθωσε, ώστε η τελική εικόνα να είναι ολοκληρωμένη
- κα. Μ. Γκιάλα, Καθηγήτρια Αναισθησιολογίας, η οποία ως μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής περιέβαλε με ενδιαφέρον αυτή την μελέτη και αφιέρωσε τον πολύτιμο χρόνο της για να ελέγξει το κείμενο.
- κ. Φ. Τσιτσόπουλο, Αναπλ. Καθ. της Νευροχειρουργικής του Α.Π.Θ και Διευθ. της Νευροχειρουργικής κλινική του Ιπποκράτειου Νοσοκομείου Θεσ/νίκης, που αφιέρωσε τον πολύτιμο χρόνο του για να ελέγξει το κείμενο.
- κ. Σ. Καρκαμπούνα, Λέκτορα της Φυσιολογίας του Πανεπιστημίου των Ιωαννίνων για τις μετρήσεις του Οξειδωτικού stress.
- κ. Χ. Γκόγκο, Αναισθησιολόγο Διευθυντή της Εντατικής Θεραπείας του Νοσοκομείου Ιωαννίνων "Χατζηκώστα" για την πολύτιμη υλικοτεχνική συνδρομή του κατά τη διάρκεια των πειραμάτων.
- κ. Δ. Στεφάνου, Αναπλ. Καθ. της Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και κ. Ε. Μιχαλούδη, Αναπλ. Καθηγήτρια της Κτηνιατρικής Σχολής του Α.Π.Θ στο τμήμα της Ανατομίας οι οποίοι δέχτηκαν να μελετήσουν τα ιστολογικά παρασκευάσματα του εγκεφάλου των κόνικλων στο οπτικό μικροσκόπιο ώστε να ελεγχθεί η προστατευτική ή μη δράση της α-τοκοφερόλης σε κυτταρικό πλέον επίπεδο.
- κ. Θ. Κοντακιώτη, Πνευμονολόγο του Νοσοκομείου "Παπανικολάου" και Λέκτορα της Ιατρικής Σχολής του ΑΠΘ για τη βοήθεια και καθοδήγηση στη στατιστική επεξεργασία των πειραματικών ευρημάτων.
- κα. Ν. Γρίτση Γερογιάννη Αναισθησιολόγο Διευθύντρια Μονάδας Εντατικής Θεραπείας του "Ιπποκράτειου " Νοσοκομείου και Διευθύντριά μου, η οποία μου προσέφερε κάθε διευκόλυνση και αμέριστη συμπαράσταση.

Χωρίς την πολύτιμη βοήθεια και συνεργασία των παραπάνω συναδέλφων η παρούσα μελέτη θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί και να ολοκληρωθεί.



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η προστασία του εγκεφάλου από την ισχαιμική βλάβη αποτέλεσε και αποτελεί βασική επιδίωξη της έρευνας, καθώς και της κλινικής θεραπευτικής. Ο εγκεφαλος είναι το πιο ευαίσθητο στην υποξία όργανο του οργανισμού, υφιστάμενο μόνιμη βλάβη ήδη μετά 4-6min ολικής ισχαιμίας. Ως εκ τούτου, η πρόγνωση σε ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια είναι κατά κανόνα βαριά.

Η πληθώρα των σχετικών μελετών των τελευταίων δεκαετιών συνέβαλε στην διαλεύκανση διαφόρων παθογενετικών και παθοφυσιολογικών μηχανισμών της ισχαιμικής βλάβης του εγκεφάλου και οδήγησε στην εφαρμογή διαφόρων στρατηγικών θεραπευτικής παρέμβασης. Εν τούτοις πολλά ερωτήματα μένουν ακόμη αναπάντητα, ενώ καμία από τις εφαρμοσμένες θεραπευτικές αγωγές δεν έχει αποδώσει ακόμη ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Ο όρος "εγκεφαλική προστασία" ("Brain Protection") σημαίνει κάποια προληπτική αγωγή, που αρχίζει πριν από το ισχαιμικό επεισόδιο. Αυτό διαφέρει αρκετά από τη θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών που έχουν ήδη υποστεί ισχαιμικό επεισόδιο. Η παρέμβαση αυτή αναφέρεται ως "εγκεφαλική ανάνηψη" («Brain Resuscitation»).

Σε προγραμματισμένες χειρουργικές επεμβάσεις, όπου είναι πιθανόν να συμβεί αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, όπως κατά την προσωρινή απόφραξη της καρωτίδας ή ενός ενδοκρανιακού αγγείου για την τοποθέτηση clip σε ενδοκράνιο ανεύρυσμα ή κατά την καρδιοπνευμονική παράκαμψη σε εγχειρήσεις καρδιάς ή ακόμη και κατά την εφαρμογή ελεγχόμενης υπότασης, είναι δυνατή η εγκεφαλική προστασία με την προγραμματισμένη χορήγηση φαρμάκων. Αντίθετα, ο γιατρός της μονάδος εντατικής θεραπείας αντιμετωπίζει τις περισσότερες φορές ήδη εγκατεστημένη ισχαιμία και εφαρμόζει "εγκεφαλική ανάνηψη", όπως μετά από καρδιακή ανακοπή, μετά από πνιγμό, σε κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις ή μετά από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Δυστυχώς, δεν υπάρχει καμία κλινικά διαθέσιμη «μαγική» συνταγή που μπορεί να εμποδίσει την καταστροφή των νευρώνων σε οποιαδήποτε από αυτές τις καταστάσεις.

Η βλάβη του εγκεφαλικού ιστού επέρχεται τόσο κατά τη φάση της ισχαιμίας, όσο και κατά την επαναιμάτωση του προηγουμένως ισχαιμικού εγκεφάλου. Ως εκ τούτου, η βλάβη αυτή αποκαλείται «βλάβη από ισχαιμία / επαναιμάτωση» (Ischemia / Reperfusion injury, I / R). Ο ιατρός της μονάδος εντατικής θεραπείας μπορεί να παρέμβει κατά την φάση της επανακυκλοφορίας - επαναοξυγόνωσης του εγκεφάλου, με σκοπό την αναστολή παραγωγής των βλαπτικών μεταβολιτών και την προστασία του εγκεφάλου από τους μεταβολίτες αυτούς. Υπάρχουν τεκμηριωμένα αποτελέσματα από πειραματικές μελέτες, αλλά και ενδείξεις από κλινικές μελέτες ότι η ισχαιμική βλάβη των νευρώνων μπορεί να περιορισθεί, ακόμη και αν η θεραπεία αρχίσει μετά την εγκατάσταση της ισχαιμίας, βέβαια εντός ορισμένου - μάλλον μικρού - "χρονικού παραθύρου". Εν τούτοις, η κλινική αποτελεσματικότητα της φαρμακευτικής αντιμετώπισης της εγκεφαλικής βλάβης από I / R εξακολουθεί να αποτελεί αντικείμενο αμφισβήτησης και έρευνας και καμία θεραπεία δεν έχει επικρατήσει μέχρι τώρα. Ένας από τους λόγους είναι ότι συνήθως απαιτούνται μεγάλες δόσεις της φαρμακευτικής ουσίας που χορηγείται για προστασία του εγκεφαλικού ιστού, με αποτέλεσμα να παρουσιάζονται ποικίλες ανεπιθύμητες ενέργειες, συχνά από το καρδιαγγειακό σύστημα.



Το φάρμακο που θα μπορούσε να προστατεύσει τον εγκέφαλο από την βλάβη εξ I / R, χωρίς σημαντικές παρενέργειες, θα ήταν το ιδανικό για εφαρμογή στην καθημέρα κλινική πράξη.

Σύμφωνα με τις υπάρχουσες γνώσεις, η βλάβη του εγκεφάλου κατά το σύνδρομο I / R προκαλείται κυρίως μέσω τοξικών μεταβολιτών του οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), οι οποίοι παράγονται σε αφθονία κατά τη φάση της επαναιμάτωσης. Οι τοξικότεροι από τους ROS είναι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (EPO₂), οι οποίες πυροδοτούν αλυσιδωτές αντιδράσεις υπεροξειδώσεως των λιπιδίων. Οι αντιδράσεις αυτές προκαλούν λειτουργική και δομική αποδιοργάνωση του κυττάρου.

Η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E), ένας μη ειδικός δεσμευτής των EPO₂, εξουδετερώνει την αντιδραστικότητα των ROS και διακόπτει τις αλυσιδωτές αντιδράσεις υπεροξειδώσεως των λιπιδίων. Ο εγκέφαλος είναι πλούσιος σε λιπίδια. Η βιταμίνη E είναι λιποδιαλυτή και ως εκ τούτου εμπλουτίζεται στις βιολογικές μεμβράνες, βασικό συστατικό των οποίων είναι τα λιπίδια. Εξ άλλου η βιταμίνη E, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, δεν έχει οιαδήποτε σημαντική παρενέργεια. Ο ρόλος της βιταμίνης E στη βλάβη του εγκεφάλου από I / R δεν έχει ερευνηθεί συστηματικά, σύμφωνα με τα διεθνή βιβλιογραφικά δεδομένα. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την τεκμηριωμένη αποτελεσματικότητα της ουσίας στο να διακόπτει τις αλυσιδωτές αντιδράσεις υπεροξειδώσεως των λιπιδίων και το γεγονός ότι είναι λιποδιαλυτή και ατοξική αποτέλεσαν τη βασική σκέψη για την επιλογή της α-τοκοφερόλης στην παρούσα μελέτη ως φαρμάκου προστασίας του εγκεφάλου από την βλάβη εξ I / R.

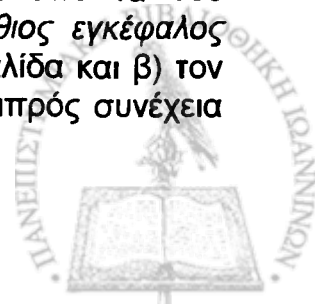
Γ Ε Ν Ι Κ Ο Μ Ε Ρ Ο Σ

ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΤΟΥ ΚΟΝΙΚΛΟΥ

Ο εγκέφαλος

Ο εγκέφαλος του κονίκλου ζυγίζει 4-6 gr και περιβάλλεται από τις μήνιγγες (1). Αποτελείται βασικά από δύο ημισφαίρια που χωρίζονται μεταξύ τους με την επιμήκη εγκεφαλική σχισμή και συνδέονται με διάφορες εγκάρσιες ταινίες νευρικού ιστού ή συνδέσμους, ο μεγαλύτερος των οποίων είναι το μεσολόβιο που ενώνει το φλοιό του ενός ημισφαιρίου με το φλοιό του άλλου. Κάθε ημισφαίριο παριστά ένα κοίλο σχηματισμό με παχύ τοίχωμα και με εξωτερική στιβάδα φαιάς ουσίας, τον εγκεφαλικό φλοιό. Κάτω από την φαιά ουσία υπάρχει η στιβάδα της λευκής ουσίας που περικλείει τις πλάγιες κοιλίες.

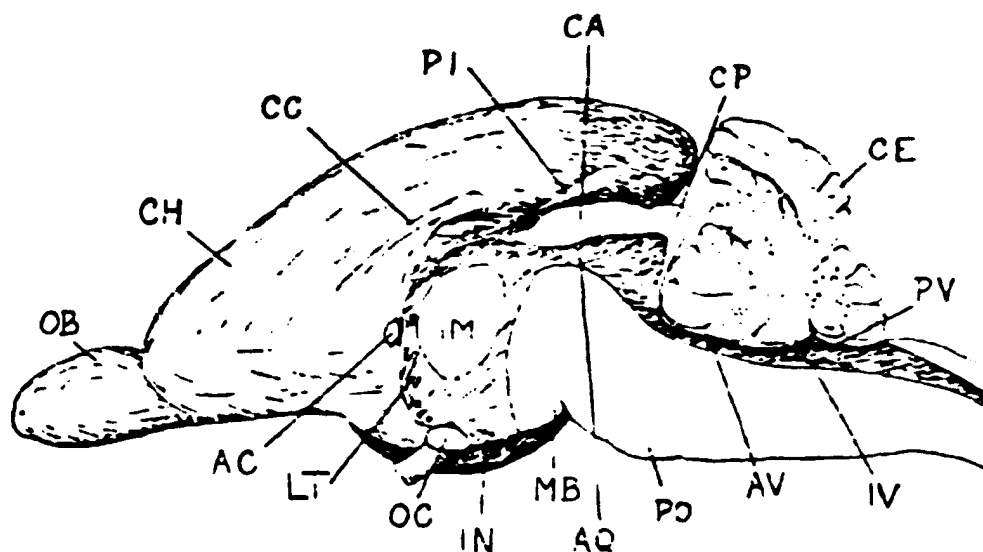
Ο πρωτογενής διαχωρισμός του εγκεφάλου είναι γνωστός ως πρόσθιος, μέσος και οπίσθιος εγκέφαλος. Ο πρόσθιος εγκέφαλος είναι ο μεγαλύτερος από τα τρία κύρια μέρη του εγκεφάλου και περιλαμβάνει α) ένα μονήρες τμήμα, τον διεγκέφαλο, ο οποίος συνεχίζεται ουραία στον μεσεγκέφαλο και β) τον τελεγκέφαλο (μπροστά από τον διεγκέφαλο), που αποτελείται από τα δύο εγκεφαλικά ημισφαίρια και ένα μικρό συνδετικό τμήμα. Ο οπίσθιος εγκέφαλος διαιρείται επίσης σε δύο τμήματα α) τη γέφυρα με την παρεγκεφαλίδα και β) τον προμήκη μυελό. Ο οπίσθιος εγκέφαλος είναι η άμεση προς τα εμπρός συνέχεια



του νωτιαίου μυελού, χωρίς να υπάρχει εμφανής διαχωρισμός ανάμεσα τους. Ο οπίσθιος εγκέφαλος περιέχει μία ευρεία κοιλότητα, την τετάρτη κοιλία που συνδέεται με τον κεντρικό αυλό του νωτιαίου μυελού.

Ο προμήκης μυελός φαίνεται να παριστά επέκταση του νωτιαίου μυελού. Τα πλάγια και κοιλιακά τοιχώματά του περιέχουν τις συνδέσεις των περισσοτέρων οπισθίων κρανιακών νεύρων και μεγάλες δεσμίδες νευρικών ινών που διέρχονται από πρόσθια και οπίσθια τμήματα του ΚΝΣ. Περιέχει: α) κέντρα αντανακλαστικών για την περιοχή της κεφαλής, β) αισθητικά κέντρα (για ακουστικά γευστικά και άλλα ερεθίσματα), γ) κέντρα ισορροπίας, δ) κέντρα για τον συσχετισμό των ερεθισμάτων, ε) το αναπνευστικό κέντρο και ζ) άλλες οδούς αγωγής. Τα περισσότερα από τα κρανιακά νεύρα συνδέονται με τον οπίσθιο εγκέφαλο. Ο μέσος εγκέφαλος βρίσκεται εμπρός από τον οπίσθιο εγκέφαλο.

Ο διεγκέφαλος βρίσκεται κάτω από τα εγκεφαλικά ημισφαίρια και αποτελείται από διπλούς σχηματισμούς γύρω από κάθε πλευρά μιας στενής μέσης σχισμής, της τρίτης κοιλίας. Αυτή συνδέεται με την τετάρτη κοιλία μέσω ενός στενού υδραγωγού του μεσεγκεφάλου και με τις δύο πλάγιες κοιλίες των εγκεφαλικών ημισφαιρίων (Σχ.1).



Σχ.1 OB: Bulbus Offactorius - Οσφρυτικός βολβός CH: Cerebri Hemispherium - Ημισφαίριο
 CC: Crus Cerebri - Σκέλος του εγκεφάλου PI: Glandula pinealis- κωνάριο
 CA: Cornu Ammonis - Αμμώνειον κέρασ CP: Polus caudalis-τετράδυμο πέταλο
 CE: Cerebelli - Παρεγκεφαλής PV: Ventriculus quartus - 4^η κοιλία
 IV: Vagus - 4^η κοιλία AV: Arbor vitae- δένδρο ζωής
 PO: Pons -Γέφυρα AQ: Aqueductus Υδραγωγός
 MB: Mammillary bodies -Μαστία IN: Ventriculus tertius - 3^η κοιλία
 OC: Opticum Chiasma - Οπτικό χίασμα IM: Διάμεσος μάζα
 LT: Lamina Terminalis - Τελικό πέταλο AC: Aqueductus cerebri-υδραγωγός του sylvius

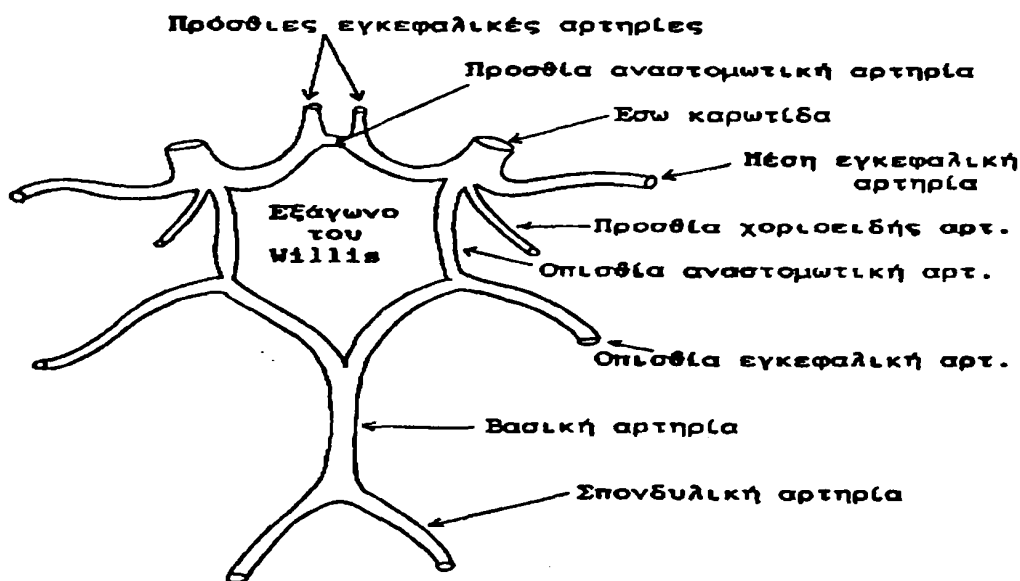
Η αγγείωση του εγκεφάλου

Ο εγκέφαλος του κονίκλου αιματώνεται από α) τις δύο έσω καρωτίδες, τη δεξιά και την αριστερή καρωτίδα και β) τη βασική αρτηρία, η οποία προέρχεται από την συνένωση των δύο σπονδυλικών. Το αίμα απάγεται από α) τις δύο έσω σφαγίτιδες, τη δεξιά και την αριστερά και β) τις δύο σπονδυλικές φλέβες.

Οι μεγάλες αρτηρίες βρίσκονται κοιλιακά και οι μεγαλύτερες φλέβες βρίσκονται περισσότερο ραχιαία και παροχετεύουν το αίμα στους κόλπους της σκληράς μήνιγγας.

Η βασική αρτηρία, ένα μονήρες μεσαίο αγγείο στην κοιλιακή επιφάνεια του προμήκη μυελού, δέχεται αίμα από τις δύο σπονδυλικές αρτηρίες και από κλάδους της υποκλειδίου αρτηρίας. Ανώμαλοι επιφανειακοί και εν τω βάθη κλάδοι περιλαμβάνουν ένα ζεύγος κατωτέρων εγκεφαλικών αρτηριών. Ο κορμός διχάζεται στο μετωπιαίο άκρο της γέφυρας και σχηματίζει τις οπίσθιες εγκεφαλικές αρτηρίες. Οι δύο οπίσθιες εγκεφαλικές αρτηρίες αιματώνουν τον διεγκέφαλο και το ουραίο τμήμα των εγκεφαλικών ημισφαιρίων. Δίνουν επίσης από μία μεγάλη ανώτερη εγκεφαλική αρτηρία και από μία μικρή, την οπίσθια επικοινωνούσα αρτηρία. Οι τελευταίες επικοινωνούν με τις έσω καρωτίδες.

Η έσω καρωτίδα είναι η συνέχεια της κοινής καρωτίδας που διεισδύει από την βάση του κρανίου, στρέφεται μετωπιαία και χωρίζεται στην μέση εγκεφαλική αρτηρία που πορεύεται στα πλάγια και ραχιαία τμήματα των εγκεφαλικών ημισφαιρίων και στην πρόσθια εγκεφαλική αρτηρία, η οποία πορεύεται στο τμήμα των ημισφαιρίων και του οσφρητικού βολβού. Το ζεύγος των προσθίων εγκεφαλικών αρτηριών εμφανίζεται σαν ένας κοντός κοινός κορμός, ο οποίος επαναδιχάζεται στις μέσες επιφάνειες των ημισφαιρίων. Σχηματίζεται έτσι ένας πλήρης αναστομωτικός κύκλος, ο κύκλος του Willis, από τις πρόσθιες εγκεφαλικές, τις έσω καρωτίδες, τις οπίσθιες επικοινωνούσες και τις οπίσθιες εγκεφαλικές αρτηρίες (Σχ.2).



Σχ.2 Το αίμα φθάνει στον εγκέφαλο με τις δύο έσω καρωτίδες και τη βασική αρτηρία η οποία προέρχεται από την συνένωση των δύο σπονδυλικών αρτηριών. Οι αρτηρίες αυτές αναστομώνονται μεταξύ τους και σχηματίζουν στην κάτω επιφάνεια του εγκεφάλου τον αρτηριακό κύκλο ή εξάγωνο του Willis από όπου εκπορεύονται τα έξι αγγεία (οι πρόσθιες, οι μέσες και οι οπίσθιες εγκεφαλικές αρτηρίες) τα οποία τροφοδοτούν άμεσα (Aitkenhead and Smith 1990).



ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΙΜΑΤΩΣΗΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Ο φυσιολογικός εγκέφαλος δέχεται περίπου το 15% της καρδιακής παροχής. Τα 2 / 3 της εγκεφαλικής αιματικής ροής (Cerebral Blood Flow, CBF) προέρχονται από τις καρωτίδες και το 1 / 3 από τις σπονδυλικές αρτηρίες. Η ένταση της αιματικής ροής δεν είναι η ίδια σε όλα τα σημεία της εγκεφαλικής ουσίας. Στον άνθρωπο ανέρχεται σε 20 ml / 100 gr / min στην λευκή ουσία και στα 50 έως 140ml / 100 gr / min στην φαιά ουσία.

Το αγγειακό δίκτυο της εγκεφαλικής κυκλοφορίας θα μπορούσε να θεωρηθεί ως ένα παράλληλο σύστημα άκαμπτων σωλήνων, στο οποίο ισχύει ο νόμος του Ohm (2): $F = P_i - P_o / R$ (όπου: F = ροή, P_i = πίεση εισόδου, P_o = πίεση εξόδου, R =αντίσταση). Ως P_o τίθεται η εκάστοτε μεγαλύτερη πίεση, ενδοκρανιακή ή φλεβική.

Η διαφορά $P_i - P_o$ αναφέρεται συνήθως ως πίεση εγκεφαλικής άρδευσης (Cerebral Perfusion Pressure, CPP).

Η εγκεφαλική αιματική ροή είναι το πηλίκο της εγκεφαλικής πίεσης άρδευσης προς τις εγκεφαλικές αγγειακές αντιστάσεις: $CBF = CPP / R$. Η εξίσωση αυτή μπορεί να τροποποιηθεί σύμφωνα με την σχέση του Poiseuille: $R = (8 / \pi) \times \eta \times (l / r^4) = CPP / CBF$, όπου «8 / π» είναι μία σταθερά, «η» η γλοιότητα του αίματος, «l» το μήκος και «r» η ακτίνα του αγγείου. Το ιξώδες του αίματος και το μήκος του αγγείου επηρεάζουν την αντίσταση με γραμμικό τρόπο. Είναι σημαντικό ότι στην εξίσωση η ακτίνα υψώνεται στην 4η δύναμη, διαδραματίζοντας έτσι τον πιο αποφασιστικό ρόλο στον έλεγχο των αγγειακών αντιστάσεων. Καθώς δείχνει η εξίσωση, η γλοιότητα του αίματος «η» είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας των αγγειακών αντιστάσεων, με άλλα λόγια η CBF είναι αντιστρόφως ανάλογη προς τον αιματοκρίτη. Εν τούτοις, η βελτίωση της CBF δεν είναι καθαρά ρεολογικό φαινόμενο, αλλά μεταβάλλεται κυρίως ανάλογα με τις ανάγκες των ιστών σε οξυγόνο (O_2) (3). Ο Muizelaar και οι συνεργάτες του πρότειναν ότι η γλοιότητα συμμετέχει άμεσα στην εγκεφαλική αιμοδυναμική αυτορρύθμιση (viscosity autoregulation) (4). Η CPP υπολογίζεται από την μέση αρτηριακή πίεση (MAP) μείον την P_o . Ως P_o λαμβάνεται η υψηλότερη πίεση του απαγωγού συστήματος, διότι το εγκεφαλικό φλεβικό σύστημα συμπιέζεται και μπορεί να δρα σαν μία αντίσταση Starling (Starling resistor) ή σαν φαινόμενο καταρράκτη (waterfall phenomenon) (5). Έτσι η P_o είναι ή η ενδοκράνιος πίεση (Intracranial Pressure, ICP) ή η φλεβική πίεση εξόδου \equiv κεντρική φλεβική πίεση (CVP): $CPP = MAP - ICP$ ή $CPP = MAP - CVP$ (φ.τ 5-12 mmHg).

Αυτορρύθμιση της εγκεφαλικής κυκλοφορίας

Αυτορρύθμιση είναι η ικανότητα που έχει ο εγκέφαλος να διατηρεί μια σχετικά ομαλή ροή αίματος, παρά τις μεταβολές της CPP (6). Αυτορρύθμιση λαμβάνει χώρα όταν η CPP μεταβάλλεται είτε εξαιτίας μεταβολών της αρτηριακής πίεσης και της καρδιακής παροχής, είτε εξαιτίας μεταβολών της ICP. Στον άνθρωπο, η CBF παραμένει σταθερή για ένα εύρος MAP που κυμαίνεται μεταξύ 60 και 130 mmHg. Αν και η καρδιακή παροχή αυτή καθ' εαυτή δύσκολα επηρεάζει την CBF σε φυσιολογικές καταστάσεις, μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την άρδευση των ισχαιμικών περιοχών (7). Εξω από τα όρια αυτορρύθμισης η CBF μεταβάλλεται



ανάλογα προς τη MAP (8). Σε υψηλές ICP αυξάνεται η αρτηριακή πίεση για να διατηρηθεί η τροφοδότηση του εγκεφάλου με αίμα (αντίδραση Cushing). Η αιμάτωση του εγκεφάλου διατηρείται μέχρις ότου η ICP υπερβεί τα 30 - 40 mmHg.

Η αυτορρύθμιση της CBF καταργείται σε τραύμα, ισχαιμία / υποξαιμία, υπερκαπνία και βαθιά γενική αναισθησία (9).

Παράγοντες που επηρεάζουν την εγκεφαλική αιματική ροή

Οι παράγοντες που ρυθμίζουν την CBF είναι μεταβολικοί και χυμικοί. Η CBF και ο εγκεφαλικός μεταβολικός ρυθμός (CMR) είναι στενά συνεζευγμένα στον φυσιολογικό εγκέφαλο δηλαδή, μια αύξηση του CMR συνοδεύεται από αύξηση της CBF και αντίστροφα. Έχει αποδειχθεί ότι κατά την έντονη λειτουργική δραστηριότητα ενός τμήματος του εγκεφάλου αυξάνει η περιοχική ροή του αίματος στο τμήμα αυτό. Ο πόνος, το άγχος και οι σπασμοί προκαλούν σημαντική αύξηση του CMR και της CBF. Αντίθετα, κατά το κώμα ο CMR και η CBF πέφτουν σε πολύ χαμηλά επίπεδα.

Σύμφωνα με μία θεωρία οι μεταβολές στην συγκέντρωση διαφόρων εξωκυτταρίων ιόντων, όπως H^+ , K^+ και Ca^{++} ή μεταβολικών προϊόντων όπως της αδενosίνης, προκαλούν τοπική αγγειοδιαστολή (10). Αντίθετα οι μεταβολές του ενδαγγειακού pH δεν επηρεάζουν την CBF, εφ' όσον ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός είναι ακέραιος και η μερική πίεση του CO_2 στο αρτηριακό αίμα ($PaCO_2$) σε φυσιολογικά επίπεδα.

Η $PaCO_2$ είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας ελέγχου της CBF. Η CBF είναι εξαιρετικά ευαίσθητη στις μεταβολές της $PaCO_2$ (Σχ.3). Αυτό οφείλεται σε άμεση δράση της συγκέντρωσης των ιόντων υδρογόνου (H^+) του ENY πάνω στις λείες μυϊκές ίνες των εγκεφαλικών αρτηριολίων. Για κάθε 1 mmHg μεταβολής της τιμής της $PaCO_2$ πάνω από τα 40 mm Hg, η CBF αυξάνει κατά 4%, λόγω αγγειοδιαστολής. Αντίθετα, η ελάττωση της $PaCO_2$ συνεπάγεται αγγειοσύσπασση και ελάττωση της CBF.

Η σχέση της CBF προς την $PaCO_2$ είναι γραμμική για τιμές $PaCO_2$ μεταξύ 20 και 80 mmHg και έχει μικρότερη κλίση μεταξύ 80 και 150 mmHg, ενώ σε επίπεδα $PaCO_2 > 150$ mm Hg δεν συμβαίνει καμία περαιτέρω αύξηση της CBF, πιθανώς γιατί έχει συμβεί η μεγίστη διαστολή των εγκεφαλικών αγγείων (11), ενώ όταν η MAP φθάσει τα 50 mmHg η απάντηση στο CO_2 καταργείται. Απώλεια της απαντητικότητας στο CO_2 εμφανίζεται επίσης κατά την ισχαιμία και στην περίπτωση διάσπασσης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Η παρατεταμένη απώλεια της απαντητικότητας στο CO_2 αποτελεί κακό προγνωστικό σημείο.

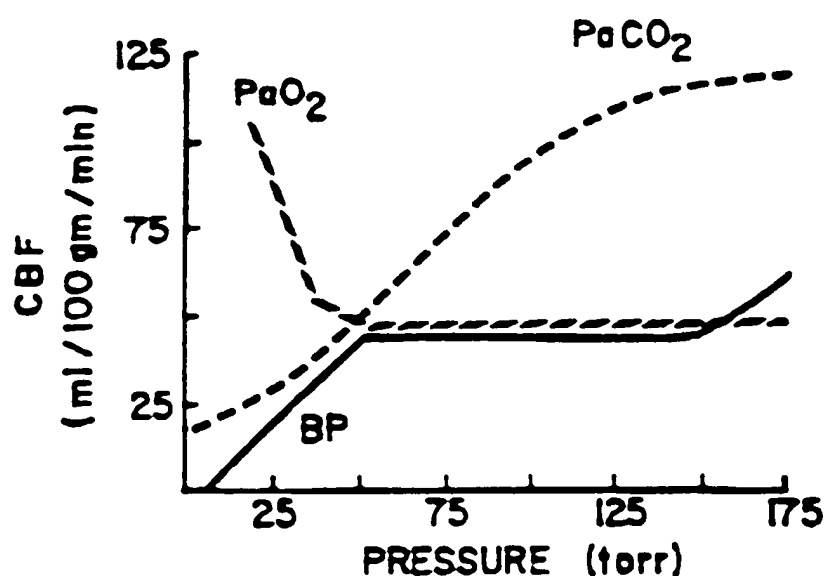
Κατά την εφαρμογή υποκαπνίας είναι απαραίτητο να ελέγχονται η $SjvO_2$ και η $AJDO_2$.

Η CBF είναι επίσης ευαίσθητη στις μεταβολές της PaO_2 , της οποίας η επίδραση είναι αντίθετη από αυτή του CO_2 . Η CBF παραμένει σταθερή όταν η PaO_2 είναι > 50 mmHg. Σε μικρότερες τιμές PaO_2 παρατηρείται σημαντική αύξηση της CBF, λόγω αγγειοδιαστολής. Όταν η PaO_2 ξεπεράσει τα 300 mmHg προκύπτει αγγειοσύσπασση των εγκεφαλικών αγγείων.

Άλλος παράγοντας που ρυθμίζει την CBF είναι ο νευρογενής, δηλαδή η επίδραση του ANΣ στην εγκεφαλική κυκλοφορία. Τα αγγεία του εγκεφάλου δέχονται ισχυρή συμπαθητική νεύρωση, η οποία προέρχεται από το άνω αυχενικό γάγγλιο του συμπαθητικού στελέχους και φέρεται προς τα άνω μαζί με τις εγκεφαλικές αρτηρίες. Αυτή η νεύρωση αφορά τόσο τις μεγάλες επιφανειακές



αρτηρίες όσο και τις μικρές αρτηρίες που εισδύουν στην εγκεφαλική ουσία. Μία σημαντική διαφορά ανάμεσα στην συστηματική και την εγκεφαλική κυκλοφορία είναι η σχετική έλλειψη χυμικού αυτόνομου ελέγχου του φυσιολογικού τόνου των εγκεφαλικών αγγείων. Έτσι η μέγιστη συμπαθητική διέγερση ελαττώνει την CBF μόνο κατά 20%, ενώ η παρασυμπαθητική διέγερση αυξάνει τη CBF κατά παρόμοιο ποσοστό. Η δραστηριότητα του ANS μπορεί να τροποποιήσει σημαντικά την αυτορρύθμιση. Η συμπαθητική διέγερση μεταθέτει την καμπύλη αυτορρύθμισης προς τα δεξιά.



Σχ.3 Επίδραση των μεταβολών της αρτηριακής πίεσης (BP), της P_{aCO_2} και της P_{aO_2} στην εγκεφαλική αιματική ροή (CBF).

Μικροκυκλοφορία του εγκεφάλου

Η μικροκυκλοφορία του εγκεφάλου είναι τελική, δηλαδή δεν διαθέτει αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις. Επομένως η απόφραξη μίας εγκεφαλικής αρτηρίας ή ενός αρτηριδίου προκαλεί εντός ολίγων λεπτών ανοξία της περιοχής του εγκεφαλικού ιστού, που αρδεύεται από το αγγείο αυτό. Εάν το αγγείο που αποφράσσεται είναι σημαντικού μεγέθους, τότε δεν αρκεί η παλίνδρομος ροή δια μέσου φλεβιδίων και τριχοειδών (retrograde flow and plasma skimming) για παροχή της απαιτούμενης ποσότητας O_2 και γλυκόζης στο νευρικό ιστό.

Όπως και σε όλους σχεδόν τους άλλους ιστούς του σώματος, η πυκνότητα των αιμοφόρων τριχοειδών του εγκεφάλου είναι μεγαλύτερη σε θέσεις όπου και οι μεταβολικές ανάγκες είναι μεγαλύτερες. Επειδή ο συνολικός ρυθμός του μεταβολισμού στη φαιά ουσία του εγκεφάλου είναι τέσσερις φορές μεγαλύτερος σε σύγκριση με το επίπεδο του μεταβολισμού της λευκής ουσίας, αντίστοιχα και ο αριθμός των τριχοειδών, καθώς και η αιμάτωση της φαιάς ουσίας είναι περίπου τετραπλάσια, σε σύγκριση με αυτή της λευκής ουσίας. Άλλο σημαντικό ανατομικό χαρακτηριστικό των τριχοειδών του εγκεφάλου είναι ότι η διαπερατότητα τους είναι πολύ μικρότερη σε σύγκριση με εκείνη των τριχοειδών όλων σχεδόν των άλλων ιστών του σώματος. Τα τριχοειδή αυτά υποστηρίζονται από όλες τις πλευρές από



μικρές προεξοχές των γύρω νευρογλοιακών κυττάρων, οι οποίες εφάπτονται σε όλη την επιφάνεια των τριχοειδών, παρέχοντας φυσική αντίσταση έναντι της υπερδιάτασης των τριχοειδών σε περίπτωση υπέρμετρης αύξησης της πίεσης του αίματος.

Μεταβολισμός του οξυγόνου στον εγκέφαλο

Ο εγκέφαλος του ενήλικος ανθρώπου αρδεύεται με το 15% της καρδιακής παροχής, αν και αποτελεί μόνο το 2% του βάρους σώματος, αντικατοπτρίζοντας έτσι τον υψηλό μεταβολικό ρυθμό του. Ο εγκέφαλος καταναλώνει κατά μέσο όρο 3 - 3.5 ml O₂ / 100 gr / min, ήτοι περίπου το 20% της ολικής κατανάλωσης O₂ (πιν.1), για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του. Ως εκ τούτου, η συνεχής τροφοδοσία του εγκεφάλου με επαρκή ποσότητα O₂ είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ομοιοστασίας του οργάνου.

Παράμετρος	Συστηματική Κυκλοφορία	Εγκεφαλική Κυκλοφορία
Ροή αίματος (ml/100g/min)	7.0	5.0
CaO ₂ (mlO ₂ /100ml)	2.0	2.0
DO ₂ (ml/100g/min)	1.4	1.0
AnDO ₂ (mlO ₂ /100ml)	5.0	7.0
Κορεσμός φλεβικού αίματος (%)	7.5	6.5
VO ₂ (ml/100g/min)	0.3	3.4

Πιν.1. Σύγκριση συστηματικής και εγκεφαλικής οξυγόνωσης

Τα αποθέματα O₂ στον εγκέφαλο είναι μικρά και έτσι είναι απαραίτητη η συνεχής παροχή αίματος. Εν τούτοις, η κατανάλωση O₂ στον εγκέφαλο (CMRO₂) διατηρείται σταθερή – μέσω αύξησης του συντελεστού απόσπασσης O₂ (OER) - και όταν ακόμα ελαττωθεί η εγκεφαλική αιματική ροή (CBF), μέχρις στο 60 % της τιμής ηρεμίας.

Το κύριο υπόστρωμα για την παραγωγή ενέργειας στον εγκέφαλο είναι η γλυκόζη. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των νευρικών κυττάρων είναι το ότι η είσοδος της γλυκόζης, μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, δεν εξαρτάται από την ινσουλίνη, όπως συμβαίνει σε όλα τα άλλα κύτταρα του σώματος. Η γλυκόζη του αίματος δεν περνά με διάχυση τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, αλλά μεταφέρεται από ειδικούς μεταφορείς της κυτταροπλασματικής μεμβράνης του ενδοθηλίου των εγκεφαλικών τριχοειδών και της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των αστροκυττάρων. Κατά συνέπεια, η γλυκόζη μεταφέρεται και μεταβολίζεται κατά κύριο λόγο, όχι όμως αποκλειστικά, μέσω της γνωστής γλυκολυτικής μεταβολικής οδού. Το γλυκογόνο που βρίσκεται φυσιολογικά αποθηκευμένο στα νευρικά κύτταρα δεν επαρκεί για την παροχή της απαιτούμενης για τον μεταβολισμό γλυκόζης για περισσότερο από δύο λεπτά. Ολο δε το O₂ του εγκεφάλου χρησιμοποιείται για την αερόβια μετατροπή της γλυκόζης σε CO₂ και H₂O. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ένα ποσοστό γύρω στο 5% μετατρέπεται με αναερόβια γλυκόλυση σε γαλακτικό οξύ. Η αερόβια οξειδωση της γλυκόζης δίνει 38 mol ATP / mol γλυκόζης, ενώ ο αναερόβιος μεταβολισμός ενός μορίου γλυκόζης παρέχει μόνο 2 mol ATP. Ομως, το ATP δεν αποτελεί τη μοναδική αποθηκευτική ενέργεια. Ο νευρικός ιστός



περιέχει φωσφοκρεατίνη που δίνει φωσφορικούς δεσμούς υψηλής ενέργειας στο ADP για να σχηματισθεί ATP.

Η $CMRO_2$ υπολογίζεται από την CBF και την αρτηριοσφαγιτιδική διαφορά O_2 ($AjvDO_2$) [$AjvDO_2 = CaO_2 - CjvO_2$, όπου CaO_2 και $CjvO_2$ οι περιεκτικότητες σε O_2 του αρτηριακού αίματος και του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού (ml O_2 / 100 ml αίματος) αντίστοιχα], σύμφωνα με την τροποποιημένη εξίσωση του Fick: $CMRO_2 = CBF \times (CaO_2 - CjvO_2)$ ή $CMRO_2 = CBF \times AjvDO_2$ και $AjvDO_2 = CMRO_2 / CBF$. Το O_2 μεταφέρεται κυρίως με την αιμοσφαιρίνη (Hb), π.χ. το περιεχόμενο σε 100 ml αρτ. αίματος O_2 είναι: $CaO_2 = (1.39 \times Hb \times SaO_2) + (PaO_2 \times 0.0031)$.

Η $AjvDO_2$ δεν μεταβάλλεται κάτω από φυσιολογικές ή και ορισμένες παθολογικές συνθήκες (πυρετός, ενδοφλέβια αναισθησία), επειδή υπάρχει σύζευξη ροής - μεταβολισμού (12). Οι φυσιολογικές τιμές της $AjvDO_2$ είναι 6.3 ± 1.2 ml O_2 / 100ml αίματος. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις η σύζευξη ροής - μεταβολισμού στον εγκέφαλο διαταράσσεται και υπάρχει αναντιστοιχία της $CMRO_2$ προς την παροχή O_2 , π. χ. κατά τη διάρκεια «status epilepticus» η $CMRO_2$ να είναι υπερβολικά αυξημένη, ενώ είναι σημαντικά ελαττωμένη κατά κώμα.

Η $AjvDO_2$ μπορεί να αντικατοπτρίζει την CBF εφ' όσον η $CMRO_2$ είναι σταθερή. Μειονέκτημα της μέτρησης της $AjvDO_2$ στην παρακολούθηση της επάρκειας της CBF είναι ότι παρέχει μόνο διαλείπουσες πληροφορίες με συνέπεια να καθίσταται αδύνατη η άμεση ανίχνευση δυσάρεστων συμβαμάτων. *Ανάλογα με την τιμή της $AjvDO_2$ μπορούν να διακριθούν τρεις καταστάσεις (13) και (πιν. 2):*

α) φυσιολογική $AjvDO_2$ (≈ 6 ml / 100 ml) παρατηρείται όταν υπάρχει στενή σύζευξη μεταξύ CBF και $CMRO_2$, ήτοι η CBF αυξάνεται ή ελαττώνεται παράλληλα με την αύξηση ή ελάττωση των απαιτήσεων του εγκεφάλου σε O_2 .

β) η ελαττωμένη $AjvDO_2$ (< 4 ml / 100 ml) δείχνει ότι η παροχή O_2 (ή η CBF) είναι μεγαλύτερη από ότι χρειάζεται η $CMRO_2$ («luxus perfusion») και επομένως υφίσταται πιθανότητα αγγειογενούς οιδήματος. Αυτό αποτελεί ένδειξη θεραπευτικής μείωσης της CBF με υπεραερισμό -υποκαπνία- για 24 ώρες.

γ) η αυξημένη $AjvDO_2$ (> 7 ml / 100 ml) δείχνει ότι η CBF είναι μικρότερη από ότι χρειάζεται η $CMRO_2$, ήτοι ότι επαπειλείται ισχαιμία. Αυτό συμβαίνει όταν είναι αυξημένη η ICP και αποτελεί ένδειξη χορήγησης μαννιτόλης (εάν η ωσμωτική πίεση < 320 mOsmol / L), ώστε να μειωθεί η ICP και να αυξηθεί η CPP.

$AjvDO_2$	Σχέση CBF και $CMRO_2$
6.3 ± 1.2 ml / 100 ml	Στενή συνάρτηση CBF - $CMRO_2$
< 4 ml / 100 ml	$CMRO_2 \lll CBF$
> 7 ml / 100 ml	$CMRO_2 \ggg CBF$

Πιν.2. Συσχέτιση $AjvDO_2$ με τη σχέση CBF / $CMRO_2$

Σήμερα είναι δυνατή η συνεχής μέτρηση της $AjvDO_2$ με την ταυτόχρονη εφαρμογή σφυγμικής οξυμετρίας (από όπου υπολογίζεται η CaO_2) και οξυμετρίας του σφαγιτιδικού βολβού (από όπου υπολογίζεται η $CjvO_2$). Με το ίδιο monitoring μπορεί να προσδιορισθεί και ο συντελεστής της εγκεφαλικής απόσπασης O_2 (Cerebral Extraction of Oxygen, CEO_2 ή OER), ως $CEO_2 = SaO_2 - SjvO_2$. Ο δείκτης αυτός σχετίζεται επίσης με τον λόγο $CMRO_2 / CBF$ και είναι πιο πρακτικός



από την $AjvDO_2$. Οι φυσιολογικές τιμές του CEO_2 κυμαίνονται, επί $PaCO_2 = 40$ mmHg, μεταξύ 24% και 42%.

Το ποσό του O_2 που μεταφέρεται από το αίμα (O_2 content) ως γνωστό είναι το άθροισμα του ποσού του O_2 που μεταφέρεται με την Hb και του ποσού που βρίσκεται διαλυμένο στο πλάσμα. Δεδομένου ότι το 98% του O_2 μεταφέρεται με την Hb, η περιεκτικότητα σε O_2 του αρτηριακού αίματος ή του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού (το αίμα του σφαγιτιδικού βολβού αποτελεί το ανάλογο του μικτού φλεβικού αίματος για τον εγκέφαλο) μπορούν να υπολογισθούν πολλαπλασιάζοντας το 1.39 (μέγιστο ποσό σε ml του O_2 που συνδέεται με 1gr Hb) επί την συγκέντρωση της Hb, επί τον κορεσμό της Hb σε O_2 (SaO_2 για το αρτηριακό αίμα, $SjvO_2$ για το αίματος του σφαγιτιδικού βολβού):

$$CaO_2 = 1.39 \times Hb \times SaO_2$$

$$CjvO_2 = 1.39 \times Hb \times SjvO_2$$

$$CaO_2 - CjvO_2 = AjvDO_2 = 1.39 \times Hb \times (SaO_2 - SjvO_2) \Rightarrow$$

$$SjvO_2 = SaO_2 - [CMRO_2 / 1.39 \times Hb \times CBF].$$

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τον $SjvO_2$ είναι η $CMRO_2$, το CaO_2 και η CBF. Μία πτώση του $SjvO_2$ μπορεί να οφείλεται σε πτώση του SaO_2 ή σε ελάττωση της Hb ή σε πτώση της CBF ή τέλος σε αύξηση της $CMRO_2$. Αν το CaO_2 (δηλ. ο SaO_2 , ή συγκέντρωση της Hb και η καμπύλη αποδέσμευσης της HbO_2) παραμένουν σταθερά τότε ο $SjvO_2$ είναι συνάρτηση της CBF και της $CMRO_2$.

Ο $SjvO_2$ αντικατοπτρίζει τη σφαιρική οξυγόνωση του εγκεφάλου και αποτελεί δείκτη της ισορροπίας μεταξύ παροχής και κατανάλωσης O_2 . Οι φυσιολογικές τιμές του κυμαίνονται μεταξύ 55 % και 75 %. Αύξηση του $SjvO_2 > 75$ % σημαίνει ότι η παροχή οξυγόνου στον εγκέφαλο υπερβαίνει τις απαιτήσεις του ($CMRO_2 \ll CBF \times CaO_2$) ή ότι η $CMRO_2$ είναι μειωμένη, όπως κατά τα πολλαπλά εγκεφαλικά έμφρακτα και τον εγκεφαλικό θάνατο. Είναι δυνατόν η τιμή του $SjvO_2$ να είναι υψηλή και όμως να υπάρχουν περιοχές του εγκεφάλου που ισχαιμούν, όπως π.χ. κατά την διάρκεια υπεραιμίας με εκτροπή του αρτηριακού αίματος από τους πάσχοντες ιστούς. Ελάττωση του $SjvO_2$ στο επίπεδο του 55%, εξάλλου, δεν σημαίνει απαραίτητα σφαιρική ισχαιμία, αλλά μπορεί να δείχνει είτε ότι η παροχή O_2 είναι ανεπαρκής για τις μεταβολικές απαιτήσεις του εγκεφάλου (ελάττωση του CaO_2 ή της CBF ή και των δύο), με αποτέλεσμα την απόσπαση μεγαλύτερου ποσοστού O_2 είτε ότι αυξήθηκε η $CMRO_2$. Τιμές $SjvO_2$ μεταξύ 55 και 50 % είναι κρίσιμες, σηματοδοτώντας εγκεφαλική ισχαιμία. ελάττωση του $SjvO_2 < 40$ % σημαίνει οπωσδήποτε σφαιρική ισχαιμία του εγκεφάλου και συνοδεύεται από αυξημένη παραγωγή γαλακτικών και κακή πρόγνωση.

Χρήσιμος για την εκτίμηση της εγκεφαλικής ιστικής οξυγόνωσης είναι ο δείκτης γαλακτικού - οξυγόνου (Lactate - Oxygen Index, LOI), ήτοι ο λόγος της αρτηριοσφαγιτιδικής διαφοράς γαλακτικού (AJDL) προς την αρτηριοσφαγιτιδική διαφορά οξυγόνου ($AjvDO_2$): $LOI = AJDL / AjvDO_2$. Η πτώση της CBF συνεπάγεται αύξηση της $AjvDO_2$, της AJDL και του LOI. Όταν σε ασθενή με χαμηλή CBF και αυξημένο LOI (> 0.08) αυξηθεί η αρτηριακή πίεση και ελαττωθεί η $AjvDO_2$ με παράλληλη πτώση του LOI κάτω του 0.08, τότε η ισχαιμία είναι δυνητικά αναστρέψιμη. Αν όμως η αύξηση της αρτηριακής πίεσης ελαττώσει την $AjvDO_2$ χωρίς να μειώσει τον LOI σε τιμές μικρότερες του 0.08, η ισχαιμία είναι πολύ δύσκολο να αναστραφεί.



ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Η ισχαιμία είναι αποτέλεσμα μείωσης της πίεσης διήθησης των ιστών με επακόλουθο την ιστική υποξία. Ο αναισθησιολόγος ασχολείται συχνά με την αντιμετώπιση αρρώστων, που έχουν υποστεί εγκεφαλική ισχαιμία, εξαιτίας καρδιακής ανακοπής, κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης, υποξαιμίας, προκλητής υπότασης, κυκλοφορικής παύσης κατά τη διάρκεια εξωσωματικής κυκλοφορίας (καρδιοχειρουργική) και τοπικής εγκεφαλικής κυκλοφορικής παύσης (νευροχειρουργική).

Ως *ισχαιμία του εγκεφάλου* ορίζεται η ελάττωση της CBF σε επίπεδα όπου δεν μπορεί πλέον να διατηρηθούν φυσιολογικά ο μεταβολισμός και η λειτουργία του εγκεφάλου (Siesjo 1976). Η ισχαιμία του εγκεφάλου μπορεί να οφείλεται σε πολλές αιτίες συστηματικής ή ενδοκράνιας προέλευσης (14) και (πιν.3).

Σφαιρική ισχαιμία	Εστιακή ισχαιμία
καρδιακή ανακοπή	αγγειακή απόφραξη
αρτηριακή υπόταση	θρόμβωση
ενδοκρανιακή υπέρταση	ενδοκράνια αιμορραγία
υποξαιμία	περιοχικός αγγειόσπασμος
υποκαπνία	αρτηριακή εμβολή
εξεσημασμένη αναιμία	

Πίνακας 3. Αίτια εγκεφαλικής ισχαιμίας

Στην καθημερινή κλινική πράξη η ισχαιμία προκαλείται σχεδόν πάντα από μία ελάττωση της CPP, λόγω πτώσης της αρτηριακής πίεσης, αύξησης της ICP ή κωλύματος της κυκλοφορίας σε ορισμένα αγγεία. Μπορεί να προκύψει κατά τη διάρκεια εγχειρήσεων, όπως ενδαρτηρεκτομή σε στένωση καρωτίδων, τοποθέτηση clip σε νευροχειρουργικές επεμβάσεις για απολίνωση ανευρύσματος, σε αφαίρεση όγκου του εγκεφάλου, σε καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις με εξωσωματική κυκλοφορία και κατά την εφαρμογή ελεγχόμενης υπότασης. Άλλες καταστάσεις που απαντώνται τυπικά στη ΜΕΘ είναι η κατάσταση μετά καρδιακή ανακοπή, μετά «παραλίγο πνιγμό», μετά κρανιοεγκεφαλική κάκωση και μετά εγκεφαλικό επεισόδιο.

Οι κύριες παθολογοφυσιολογές μορφές εγκεφαλικής ισχαιμικής βλάβης είναι:

1. Ανάλογα με την αναστρέψιμότητα ή όχι της βλάβης, που εξαρτάται από τη διάρκεια και το βαθμό ελάττωσης της CBF, η **Αναστρέψιμη ή παροδική** και η **Μη αναστρέψιμη ή μόνιμη ισχαιμική βλάβη**.
2. Ανάλογα με το αν η διακοπή της CBF πλήρης ή ατελής, η **Πλήρης** και η **Ατελής ισχαιμία**.
3. Ανάλογα με το αν αφορά σε ολόκληρο τον εγκέφαλο ή σε μία περιοχή του εγκεφάλου, η **Σφαιρική** και η **Εστιακή ή τοπική ισχαιμία**.

Η *σφαιρική εγκεφαλική ισχαιμία* μπορεί να οφείλεται είτε σε υποξαιμία (πνιγμός, ασφυξία και άλλες αιτίες αναπνευστικής ανεπάρκειας), είτε σε ισχαιμία λόγω καρδιακής ανακοπής ή ενδοκρανιακής υπέρτασης. Η ισχαιμία αυτού του τύπου μπορεί να προέλθει είτε λόγω απόφραξης των τεσσάρων αγγείων, είτε λόγω απόφραξης δύο αγγείων η οποία συνδυάζεται με υπόταση. Είναι γνωστό ότι,



παρά τη φαινομενικά ομοιογενή εμφάνισή του, ο φυσιολογικός εγκέφαλος είναι ανομοιογενής, τόσο από άποψη της ανατομίας όσο και από την άποψη της φυσιολογίας. Η σφαιρική ισχαιμία επιφέρει εκλεκτική βλάβη του ραβδωτού σώματος, των πυραμοειδών κυττάρων του ιπποκάμπου και νευρώνων στα επίπεδα 3 και 5 του φλοιού. Κατά την εστιακή εγκεφαλική ισχαιμία έχουμε τοπική ελάττωση της CBF. Η έκταση του εμφράκτου μπορεί να περιορισθεί από την ενεργοποίηση αγγειακών αναστομών. Η μορφή αυτής της ισχαιμίας είναι μικρότερης βαρύτητας από ό,τι η σφαιρική ισχαιμία.

Εστιακή ισχαιμία έχουμε σε αγγειακή απόφραξη, σε θρόμβωση, σε εγκεφαλική αιμορραγία και σε αγγειόσπασμο. Η ελάττωση αυτής της αιμάτωσης μπορεί να είναι παροδική ή μόνιμη. Ο τύπος της βλάβης ποικίλει τόσο όσον αφορά στην επιλεκτικότητα όσο και στην ταχύτητα της εξέλιξης. Γύρω από την κεντρική περιοχή της βλάβης, όπου ο κυτταρικός θάνατος είναι ακαριαίος, υπάρχει μία περιοχή, η νεκροβιωτική ζώνη ("Penumbra"), η οποία μπορεί μεν να καταλήξει σε κυτταρικό θάνατο, μπορεί όμως και να αποκατασταθεί.

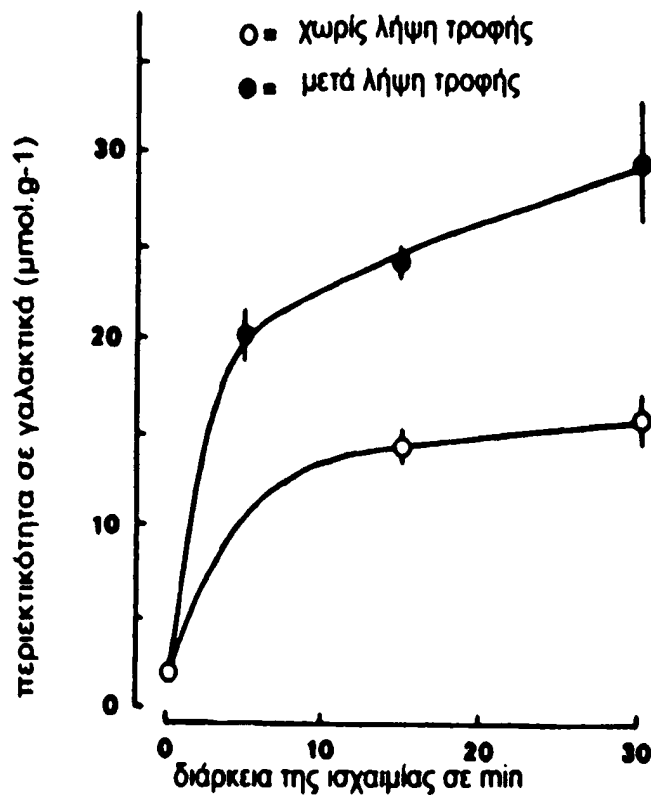
Θεωρηθείτε γενικά ότι η *πλήρης ισχαιμία* είναι πολύ πιο επικίνδυνη από ό,τι η *ατελής ισχαιμία*, ακόμη και εάν κατά την τελευταία υφίσταται μία πολύ μικρή ροή (15, 16). Παρ' όλα αυτά, μελέτες σε αρουραίους έδειξαν ότι ήταν δυνατή μία βραχύχρονη ανάνηψη του εγκεφαλικού μεταβολισμού ακόμη και μετά 30 min πλήρους ισχαιμίας, ενώ η σοβαρή μη πλήρης ισχαιμία (με CBF μικρότερη από το 5% της τιμής ελέγχου) είχε σαν επακόλουθο επίμονη ενεργειακή ανεπάρκεια (17).

Επίδραση της μεταβολικής κατάστασης στην εγκεφαλική ισχαιμική βλάβη

Παραδοσιακά, πιστεύεται ότι η μεγάλη βαθμού οξέωση των ιστών μπορεί να προκαλέσει κυτταρικό οίδημα και να επιδεινώσει την βλάβη του κυττάρου. Ο Myers απέδειξε ότι η ανάνηψη μετά από ισχαιμία επηρεάζεται από την "διατροφική κατάσταση" των πειραματοζώων (18). Ο συγγραφέας βρήκε ότι η σίτιση ή η χορήγηση γλυκόζης στα πειραματοζώα πριν από την έναρξη της ισχαιμίας, είχαν αρνητική επίδραση στην ανάνηψη. Το εύρημα αυτό αποδόθηκε στην ηυξημένη γλυκόζη του πλάσματος και τη γαλακτική οξέωση του ιστού.

Το ενδοκυττάριο pH φυσιολογικά ρυθμίζεται με την απομάκρυνση του παραγομένου CO₂, την οξείδωση του γαλακτικού οξέος και την διαμεμβρανική ανταλλαγή των ιόντων H⁺ με ιόντα Na⁺. Κατά την διάρκεια ισχαιμίας λαμβάνει χώρα αναερόβιος μεταβολισμός, ο οποίος προκαλεί γαλακτική οξέωση. Κατά την ατελή ισχαιμία τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα επηρεάζουν την ένταση της γαλακτικής οξέωσης των νευρικών κυττάρων (Σχ.4), διότι η υπολειπόμενη ροή αίματος τροφοδοτεί τον ιστό με γλυκόζη, η οποία μεταβολίζεται αναερόβια προς γαλακτικό, εξαιτίας του ότι η παροχή O₂ είναι κάτω από τον ισχαιμικό ουδό (19,20). Όπως φαίνεται στο σχήμα 4 στα νηστικά πειραματοζώα, όπου δεν υπήρχε υπεργλυκαιμία, οι συγκεντρώσεις του γαλακτικού οξέος δεν αυξήθηκαν πάνω από 15-17 mol.μgm⁻¹. Αντίθετα στα σιτισμένα πειραματοζώα που απαντούν στην ισχαιμία με σημαντική υπεργλυκαιμία παρουσιάστηκε έντονη γαλακτική οξέωση. Τα σιτισμένα πειραματοζώα που εκτίθενται σε πλήρη ισχαιμία δείχνουν παρόμοια συγκέντρωση γαλακτικού με αυτή των νηστικών πειραματοζώων που εκτίθενται σε μη πλήρη ισχαιμία.





Σχ 4. Συγκέντρωση γαλακτικών στον εγκεφαλικό φλοιό κατά την διάρκεια ατελούς ισχαιμίας με CBF 5% της control σε σιτισμένα και νηστικά ποντίκια

Δύο σημαντικά συμπεράσματα μπορούν να βγουν από τα παραπάνω ευρήματα. Πρώτον, η ανάνηψη μετά ισχαιμία είναι καλύτερη - ακόμη και εάν η ενεργειακή κατάσταση του ιστού φαίνεται βαριά επηρεασμένη- όταν, κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας, υφίσταται μία μικρή υπολειμματική άρδευση και τα επίπεδα γλυκόζης αίματος και ιστών, καθώς και οι συγκεντρώσεις γαλακτικού οξέος δεν αυξάνουν σημαντικά. Το δεύτερο συμπέρασμα είναι ότι μία μικρή ροή αίματος επιδεινώνει την ισχαιμική βλάβη, εάν υφίσταται υπεργλυκαιμία. Η επίμονη κάτω του φυσιολογικού μεταβολική δραστηριότητα στον ισχαιμικό ιστό προδικάζει μη αναστρέψιμη βλάβη, όταν αναπτυχθεί σοβαρή γαλακτική οξέωση στα κύτταρα του εγκεφάλου.

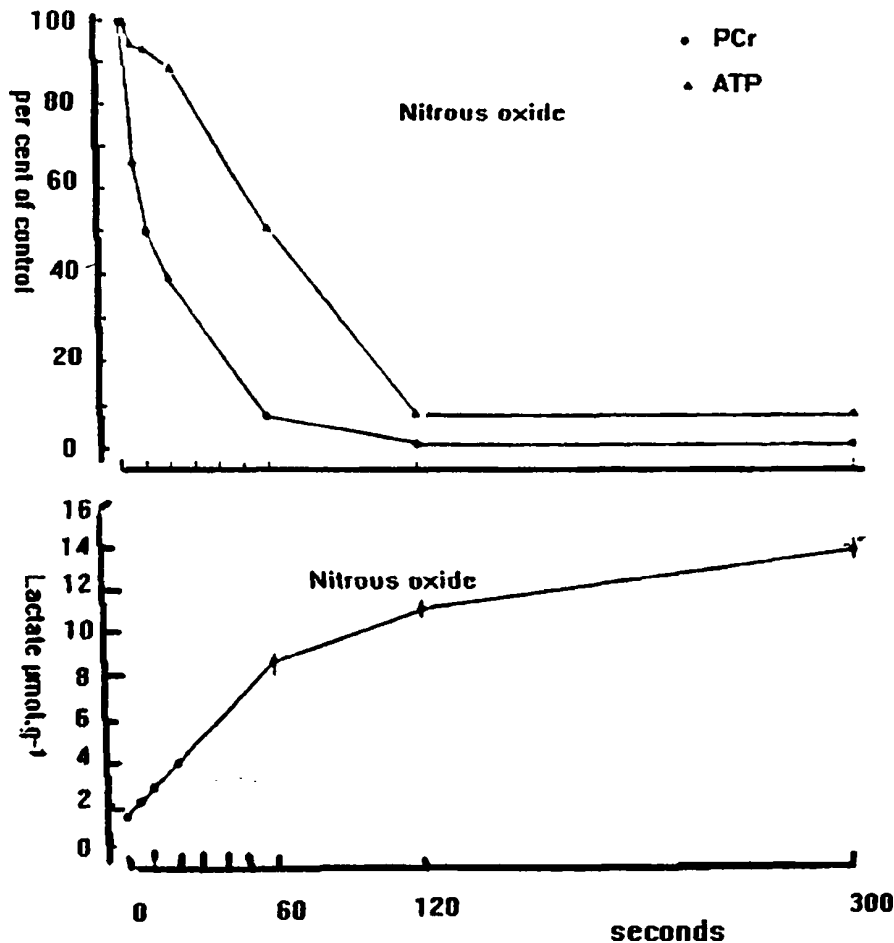
Ενεργειακή ανεπάρκεια κατά την ισχαιμία

Η βλάβη κατά τη φάση της ισχαιμίας προκαλείται από την ανεπάρκεια ενέργειας (21). Η βιωσιμότητα του κυττάρου απειλείται, καθώς τα αποθέματα ATP καταναλώνονται. Αυτό συμβαίνει γιατί το ATP είναι απαραίτητο για: α. τη **βιοσύνθεση**, ήτοι την επανασύνθεση των μακρομορίων των κυτταρικών οργανιδίων και την επανασύνθεση και αποθήκευση των νευρομεταφορέων και β. την **ιοντική ισορροπία**, ήτοι τη διατήρηση της λειτουργίας των αντλιών και των καναλιών των κυτταρικών μεμβρανών (Na^+ / K^+ και Ca^{++}). Σε περίπτωση μείωσης των αποθεμάτων ATP διαταράσσεται η ομοιοστασία των ιόντων με αποτέλεσμα αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυττάρου ασβεστίου (Ca^{++}), το οποίο, ενεργοποιώντας τις λιπάσες, πρωτεάσες και ενδονουκλεάσες, επιτείνει την



καταστροφή της δομής του κυττάρου. Σε κάποιο σημείο, αυτή η αποδόμηση γίνεται μη αντιστρεπτή.

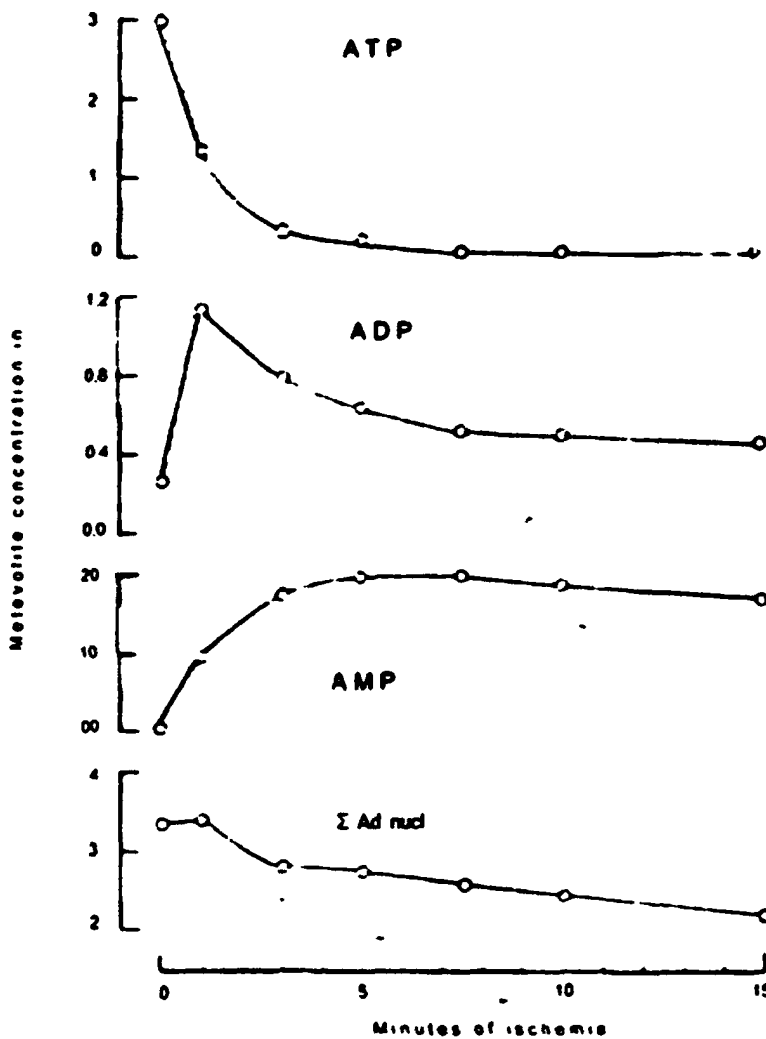
Η διακοπή της παροχής οξυγόνου κατά την πλήρη ισχαιμία / ανοξία συνεπάγεται σημαντική μείωση της φωσφοκρεατινίνης (PCr) του νευρικού ιστού και του περιεχομένου ATP μέσα σε 10-20 sec. Τα αποθέματα PCr εξαντλούνται ήδη μέσα σε 1 min, ενώ το ATP μειώνεται πιο βαθμιαία. Παράλληλα, η γλυκόζη και το γλυκογόνο μειώνονται στο μηδέν, ενώ αυξάνουν σημαντικά τα γαλακτικά Lactate⁻ (Σχ 5).



Σχ 5. Ο ρυθμός εξάντλησης των συγκεντρώσεων της φωσφοκρεατινίνης (PCr) και του ATP, και ο ρυθμός συσσώρευσης του γαλακτικού, κατά την διάρκεια της ισχαιμίας σε ποντικούς. Σημειώνεται ότι τα ενεργειακά αποθέματα είναι κατ' ουσία εξαντλημένα ήδη μετά 2 min (Nordstrom και Siesjo 1978).

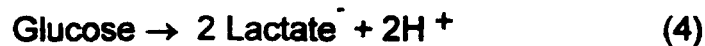
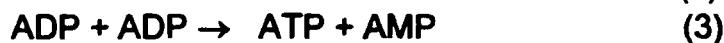
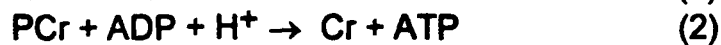
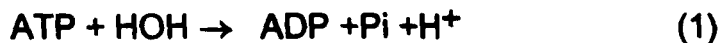
Η μείωση του ATP συνοδεύεται από συσσώρευση ADP και AMP (Σχ.6). Η συσσώρευση των αδενινονουκλεοτιδίων (ATP, ADP, AMP) βαθμιαία μειώνεται, ενώ αυξάνει η συσσώρευση προϊόντων αποδόμησης (μέσω αποφωσφοριλίωσης και απαμίνωσης) του AMP, όπως της αδενοσίνης, της ινοσίνης, του IMP και της υποξανθίνης.



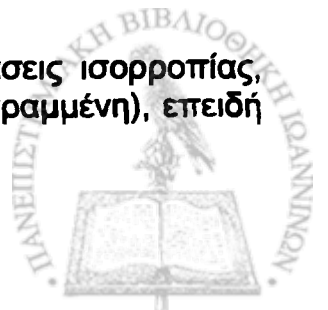


Σχ 6. Μεταβολές στις ιστικές συγκεντρώσεις των ATP, ADP, και AMP και στο άθροισμα αυτών των συγκεντρώσεων (Ad. nucl) κατά την διάρκεια 15 min ισχαιμίας σε ποντίκια

Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα (εκτός από την αποδόμηση του AMP) παριστάνονται από τις ακόλουθες τέσσερις εξισώσεις:



Οι αντιδράσεις (2) και (3) είναι στην πραγματικότητα αντιδράσεις ισορροπίας, αλλά η μεν αντίδραση (2) οδηγείται προς τα δεξιά (όπως είναι γραμμένη), επειδή



συσσωρεύεται ADP και H^+ και μειώνεται το ATP, ενώ η αντίδραση (3) οδηγείται προς την ίδια κατεύθυνση, επειδή το ADP αυξάνει και το ATP μειώνεται.

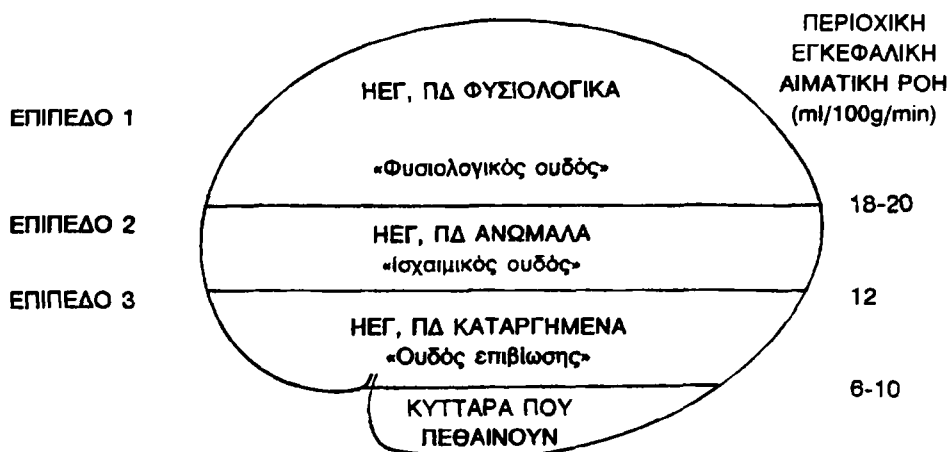
Η πτώση της συγκέντρωσης της PCr και η αύξηση των συγκεντρώσεων των ADP / AMP και των ανόργανων φωσφορικών (P_i) ενεργοποιούν τη φωσφοφρουκτοκινάση, το κυριότερο ρυθμιστικό ένζυμο στη γλυκολυτική οδό, δηλ ενεργοποιούν την αναερόβια γλυκόλυση. Το τελικό αποτέλεσμα της αναερόβιας γλυκόλυσης είναι η παραγωγή ανιόντων γαλακτικού ($Lactate^-$) - μέσω της γαλακτικής δεϋδρογενάσης (LDH) - και H^+ . Τα H^+ δεν παράγονται στην αντίδραση της LDH, αλλά κατά την υδρόλυση του ATP (εξισ.1) και των φωσφολιπιδίων σε ελεύθερα λιπαρά οξέα. Εάν η συγκέντρωση του ATP παραμένει σταθερή, τα ανιόντα των γαλακτικών συσσωρεύονται με ένα στοιχειομετρικό ποσό H^+ . Παρ όλα αυτά, η σοβαρότητα της οξέωσης είναι ανάλογη με το ποσό των γαλακτικών που συσσωρεύονται κατά την διάρκεια της ισχαιμίας.

Ουδοί ροής για την ανεπάρκεια ενέργειας

Η λειτουργική κατάσταση των νευρώνων εξαρτάται από την πρόσληψη O_2 και γλυκόζης, δηλαδή από την επάρκεια της CBF. Όταν η CBF ελαττωθεί κάτω από ένα συγκεκριμένο ουδό η νευρωνική λειτουργία διαταράσσεται (22).

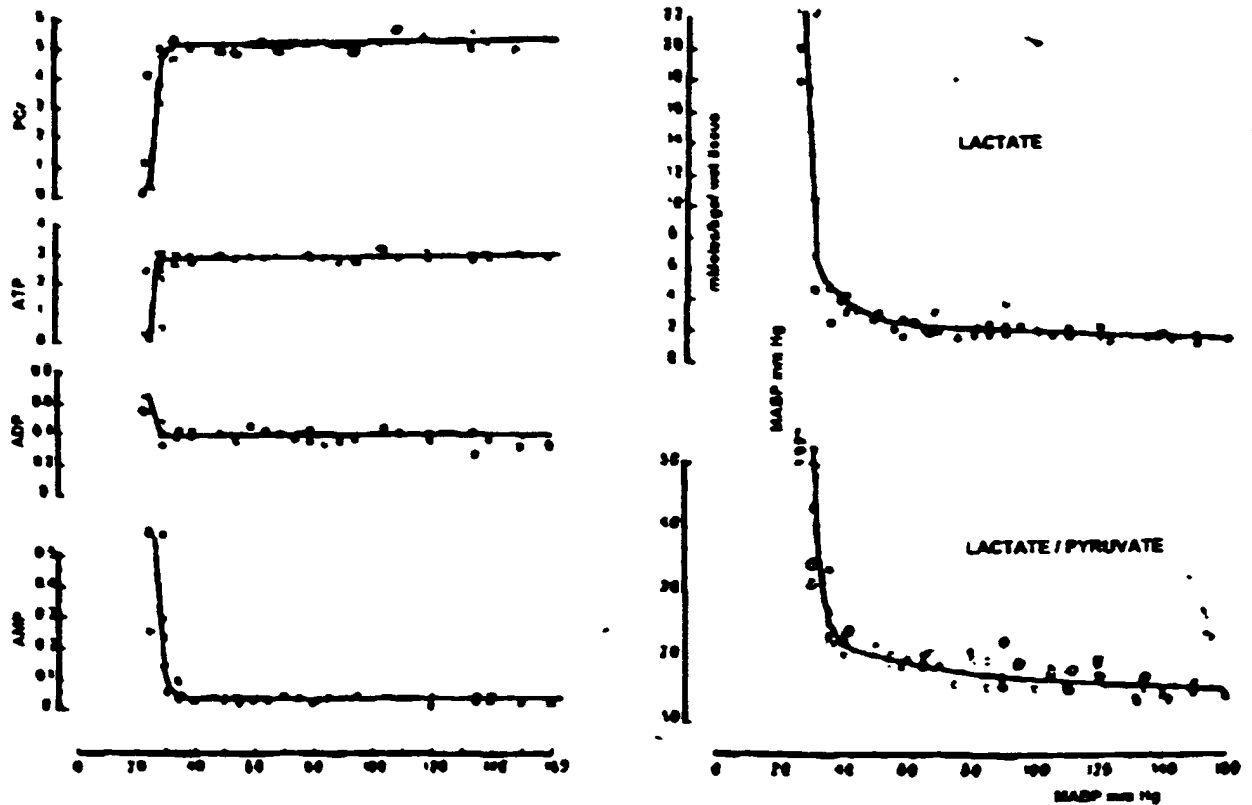
Οι ουδοί της ισχαιμικής ροής αναφέρονται στο επίπεδο ροής αίματος και προσφοράς ουσιών, όπου οι λειτουργίες του κυττάρου που χρειάζονται σημαντικά ποσά ενέργειας, όπως η νευρωνική ηλεκτρική δραστηριότητα (συναπτική μεταφορά) και η ιοντική ομοιοστασία (που διατηρεί την ακεραιότητα του κυττάρου) σταματούν (23).

Ο εγκέφαλος ανέχεται σημαντική μείωση της CPP πριν διαταραχθεί ο μεταβολισμός ενέργειας. Αυτό συμβαίνει επειδή υπάρχουν δύο αμυντικοί μηχανισμοί: η αγγειακή αυτορρύθμιση και η αυξημένη απόσπαση οξυγόνου. Σε CPP περί τα 30 mmHg η ενεργειακή κατάσταση του εγκεφάλου επηρεάζεται. Αξίζει να σημειωθεί ότι, όταν συμβαίνει αυτό, η αλλαγή είναι απότομη και εκτεταμένη (Σχ.7). Η ηλεκτρική δραστηριότητα διατηρείται μέχρις ότου η CBF κατέλθει στα 18-20 ml / 100 gr / min (φυσιολογική τιμή 45-50 ml / 100 gr / min). Η κυτταρική επιβίωση διατηρείται για 2-3 ώρες μέχρις ότου η ροή κατέλθει στα 12 ml / 100 gr / min. Καθώς η CBF ελαττώνεται περαιτέρω επίκειται ο κυτταρικός θάνατος, ο οποίος είναι σχεδόν άμεσος σε ροή 6 -10 ml / 100 gr / min (24,25).



Σχηματική απεικόνιση των επιπέδων κυτταρικής ενέργειας και της ηλεκτρικής δραστηριότητας (Sloan 1985)





Σχ 7. Μεταβολές των συγκεντρώσεων PCr, ATP, ADP, AMP και γαλακτικών στον εγκέφαλο ποντικού, κατά την διάρκεια σταδιακής μείωσης της μέσης αρτηριακής πίεσης του αίματος συνεπεία σφαιμαξής. (Siesjo 1978).

Ο ανώτερος ισχαιμικός ουδός ροής είναι η ροή στην οποία ανεπαρκεί η νευρωνική ηλεκτρική δραστηριότητα. Παρ' όλο που οι νευρώνες μπορεί να γίνουν ηλεκτρικά σιωπηλοί παραμένουν ανέπαφοι δομικά. Οι αντλίες των μεμβρανών και οι διαμεμβρανικές διαφορές ιόντων (gradient) διατηρούνται φυσιολογικές. Εξ αιτίας της σοβαρής μείωσης στην παροχή υποστρώματος, αυξάνει ήπα το εξωκυττάριο K^+ , παύει η σύνθεση νευροδιαβιβαστών και εκλύονται ουσίες που προκαλούν αγγειοσύσπαση και ενδοαγγειακή πήξη. Όλα αυτά επιδεινώνουν την ήδη ισχαιμική αιματική ροή.

Έχει βρεθεί πειραματικά - με βαθμιαία μείωση της ροής αίματος- ότι ο ουδός πάνω από τον οποίο διατηρείται η ηλεκτρική δραστηριότητα είναι περίπου 0.20 ml/gr/min και ο ουδός κάτω από τον οποίο χάνεται η ομοιοστασία των ιόντων είναι περίπου 0.10 -0.15 ml/gr/min. Όταν ο τελευταίος ουδός παραβιάζεται, η εξωκυττάρια συγκέντρωση K^+ αυξάνει, ενώ αυτή του Ca^{++} μειώνεται (26, 27). Φαίνεται πολύ πιθανό ότι αυτός ο ουδός για την διατήρηση των λειτουργιών των μεμβρανών είναι παρόμοιος με αυτόν στον οποίο χάνεται η ομοιοστασία της ενέργειας. Πιθανώς η αναερόβια γλυκόλυση ενεργοποιείται σε κάπως ψηλότερες τιμές ροής, καθότι το εξωκυττάριο pH ελαττώνεται πριν επηρεασθούν οι εξωκυττάρια συγκεντρώσεις K^+ και Ca^{++} .

Εάν η CBF αυξηθεί πάνω από τον ισχαιμικό ουδό, οι νευρωνικές λειτουργίες ανανήπτουν πλήρως.

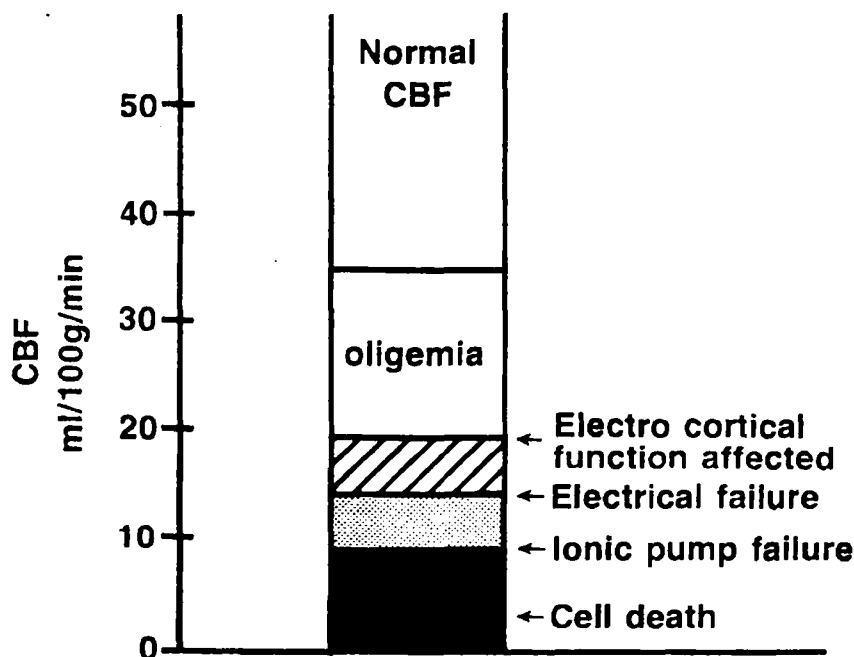


Δεν υπάρχει απόλυτη τιμή για την CBF που είναι ουδός για την ανεπάρκεια της συναπτικής μετάδοσης, διότι αυτή εξαρτάται από τις μεταβολικές απαιτήσεις των κυττάρων και μπορεί να αλλάξει τόσο από αναισθητικούς παράγοντες όσο και από την υποθερμία (6).

Ο κατώτερος ισχαιμικός ουδός ροής είναι η ροή στην οποία υπάρχει έλλειψη ATP και αποπόλωση της μεμβράνης με διαφυγή Na^+ και K^+ . Αυτός ο κατώτερος ουδός είναι αυτός που συνδέεται με τις μη αναστρέψιμες κυτταρικές βλάβες (27). Μία σαφέστερη διαφορά ανάμεσα στους ουδούς για την διέγερση της γλυκόλυσης και για την μείωση των φορτίων ενέργειας παρατηρείται στην υποξία. Έτσι, ενώ η συγκέντρωση γαλακτικών αυξάνει, όταν η PaO_2 κατέλθει κάτω από 45mm Hg, δεν προκύπτει μείωση της συγκέντρωσης ATP και αύξηση της συγκέντρωσης ADP και AMP μέχρι τιμές PO_2 κάτω από 20 mm Hg (28). Αυτό δείχνει ότι η αναερόβια γλυκόλυση ενεργοποιείται έγκαιρα, πριν η ιστική υποξία προκαλέσει βαριά ενεργειακή ανεπάρκεια και απώλεια της ομοιόστασης των ιόντων (Σχ.8).

Η διαφορά μεταξύ των δύο ισχαιμικών ουδών μπορεί να είναι μικρή, έτσι ώστε μικρές αυξήσεις στην περιοχική εγκεφαλική αιματική ροή μπορεί να βελτιώσουν την νευρωνική λειτουργία σημαντικά ή μικρές μειώσεις της CBF μπορεί να προκαλέσουν μη αναστρέψιμο θάνατο των κυττάρων που ήταν δυνητικά βιώσιμα. Οι ουδοί της CBF πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν κατά την ερμηνεία του ΗΕΓ στο χειρουργείο. Η απουσία κάποιας μεταβολής του ΗΕΓ δε σημαίνει πάντα ότι η CBF δεν έχει ελαττωθεί και η εμφάνιση ισοηλεκτρικού ΗΕΓ για σύντομα χρονικά διαστήματα δεν επιβεβαιώνει αναγκαστικά τον θάνατο των νευρώνων.

Η ευαισθησία των διαφόρων ειδών νευρώνων στη ισχαιμία ποικίλει και αυτό καθιστά δύσκολη την πρόγνωση, την πρόληψη και την θεραπεία της ισχαιμίας.



Σχ.8 Συσχέτιση της αιματικής εγκεφαλικής ροής με την λειτουργία του κυττάρου και την βιωσιμότητά του



Ισχαιμική νεκροβιωτική ζώνη

Η παρατεταμένη πλήρης εγκεφαλική ισχαιμία συνεπάγεται κυτταρική νέκρωση (Σχ.9) Γύρω από την καθαυτό ισχαιμική περιοχή, η οποία παρουσιάζει το μέγιστο των μορφολογικών αλλοιώσεων, αναπτύσσεται μία μερικώς ισχαιμική ζώνη, η καλούμενη φωτοσκιαστική ζώνη ("penumbra") ή νεκροβιωτική ζώνη. Η περιοχή αυτή είναι βιώσιμη, παρά το γεγονός ότι έχει ιδιαίτερος μειωμένη λειτουργικότητα και διατηρεί την μορφολογική ακεραιότητά της (29). Στην περιοχή της "penumbra" ο βαθμός ισχαιμίας βρίσκεται ανάμεσα στους δύο ουδούς, τον ανώτερο της ηλεκτρικής ανεπάρκειας και τον κατώτερο της ενεργειακής ανεπάρκειας και της ανεπάρκειας της αντλίας ιόντων. Λειτουργικά, χαρακτηρίζεται από ηλεκτρική σιγή και φυσιολογική ή μόνο ελαφρά αυξημένη εξωκυτάρια συγκέντρωση K^+ (27).

Επί ελαττώσεως της CBF προκύπτουν διαστολή των προτριχοειδών αρτηριδίων και αύξηση της απόσπασης O_2 από το αρτηριακό αίμα στην περιφέρεια της ισχαιμικής βλάβης. Με τους μηχανισμούς αυτούς παρέχεται το O_2 που απαιτείται για τη διατήρηση μιας σχεδόν φυσιολογικής συγκέντρωσης ATP στον ιστό και μπορεί να διατηρηθεί η βιωσιμότητα του νευρικού κυττάρου, εφόσον δεν καταναλώνεται ενέργεια για εκτέλεση μη ζωτικών λειτουργιών. Η συγκέντρωση PCr μειώνεται, ενώ οι συγκεντρώσεις ADP και AMP αυξάνονται μέτρια. Η συγκέντρωση γαλακτικών αυξάνεται, δείχνοντας ότι είναι ενεργοποιημένος ο αναερόβιος μεταβολισμός, για (μερική) κάλυψη της ενεργειακής ανεπάρκειας. Έτσι αποφεύγεται η νευρωνική καταστροφή (30).

Τα νευρικά και τα νευρογλοιακά κύτταρα της νεκροβιωτικής ζώνης παραμένουν εν ζωή και είναι δυνατόν να επιβιώσουν επί μακρόν και να ανακτήσουν τη λειτουργικότητά τους, εφ' όσον αρθεί το οίδημα και αποκατασταθεί η αιμάτωση της περιοχής (31). Έχει βρεθεί ότι ο εγκέφαλος του πιθήκου και της γαλής μπορεί να αναλάβει μεταβολική και ενζυματική δραστηριότητα και μετά από 60 λεπτά υποξίας (32).

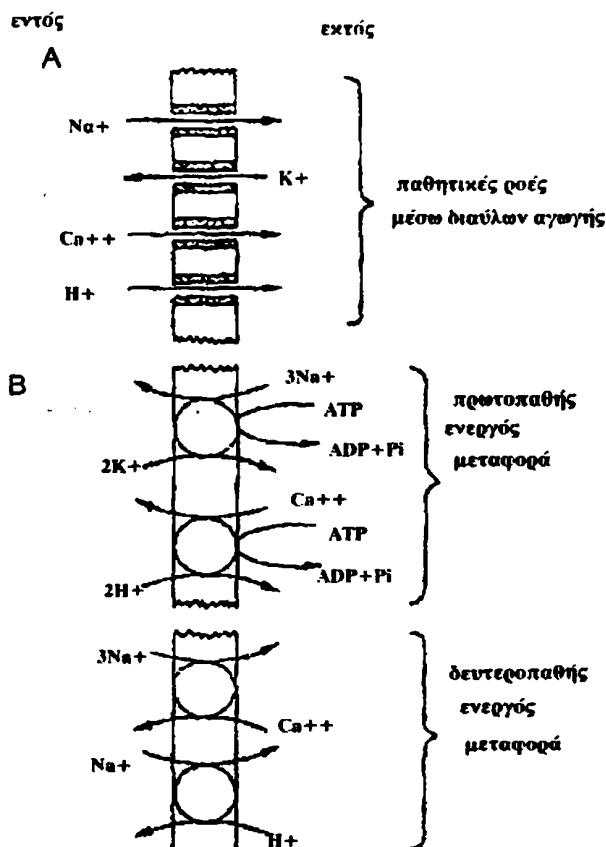


Σχ.9



Απώλεια ομοιοστασίας των ιόντων

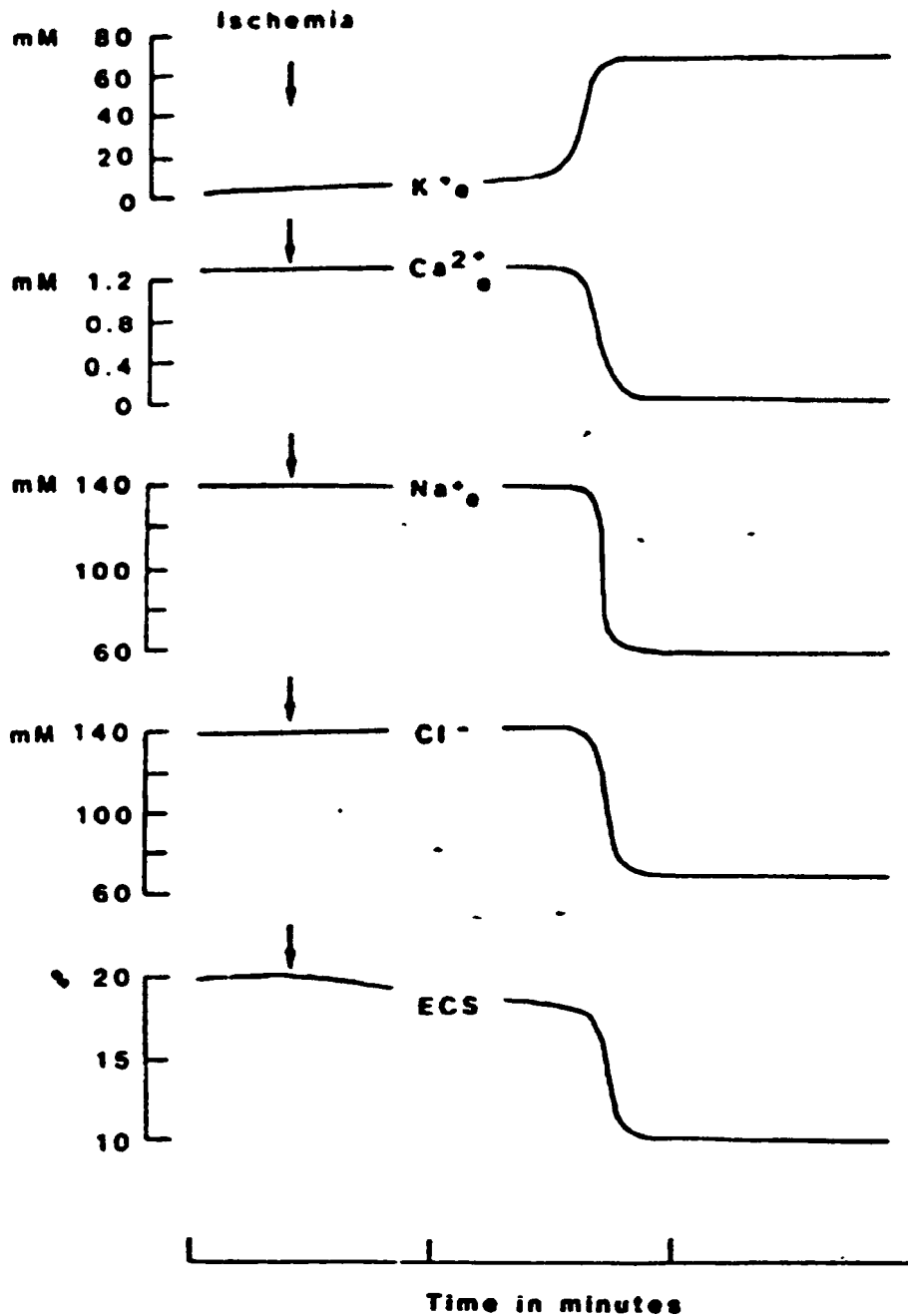
Η ενεργειακή ανεπάρκεια, η οποία προκύπτει όταν η CBF μειωθεί στον ουδό της ανεπάρκειας της μεμβρανικής λειτουργίας, συνεπάγεται, όπως αναφέρθηκε, την απώλεια της ομοιοστασίας των ιόντων. Η διαφορά συγκέντρωσης των ιόντων (gradients Na^+ , K^+ , Ca^{++} και H^+) εκατέρωθεν της μεμβράνης των νευρικών κυττάρων και των νευρών επιτυγχάνεται με την δαπάνη ενέργειας, η οποία παρέχεται από το ATP, μέσω της δράσης ATPσών. Η δαπανώμενη ενέργεια αποθηκεύεται ως gradient Na^+ (Σχ.10). Αναπόφευκτα, η ανεπάρκεια ενέργειας οδηγεί σε κατάργηση των gradients , έξοδο K^+ από τα κύτταρα και είσοδο Na^+ , Cl^- , και Ca^{++} (33). Η μεταβολή αυτή των gradients έχει όμως μία απρόσμενη χρονική πορεία, καθότι η αρχική περίοδος των 70 έως 90 sec (φάση 1) χαρακτηρίζεται από μια αργή αύξηση του εξωκυττάριου K^+ και μια βαθμιαία πτώση του εξωκυττάριου pH. Στο τέλος αυτής της περιόδου τα ιόντα K^+ εξέρχονται γρήγορα από το κύτταρο, ενώ εισέρχονται τα ιόντα Na^+ , Cl^- , Ca^{++} και H^+ (φάση 2). Φαίνεται ότι κατά τη φάση 1 καταναλώνεται το ATP και διαρκεί αυτή μέχρις ότου η συγκέντρωση του ATP του ιστού μειωθεί στο μηδέν, οπότε και προκύπτει η φάση 2.



Σχ.10. Παθητική ροή και ροή εξαρτώμενη από ενέργεια του Na^+ , K^+ , Ca^{++} και ιόντων H^+ μέσω των κυτταρικών μεμβρανών. Η ενεργή μεταφορά πιθανολογείται ότι συμβαίνει με πρωτογενή ενεργό μεταφορά, με άμεση παροχή ενέργειας από το ATP και με δευτερογενή ενεργό μεταφορά όπου τα ιόντα Ca^{++} και Na^+ βγαίνουν προς τα έξω με ανταλλαγή ιόντων Na^+ , δηλαδή με την δαπάνη της ενέργειας που είναι αποθηκευμένη στην διαφορά δυναμικού των ιόντων Na^+ (Siesjo 1984).



Η είσοδος των ιόντων Na^+ και Cl^- στα κύτταρα έλκει οσμωτικά νερό και ο εξωκυττάριος όγκος μειώνεται κατά 50%, ενώ ο ενδοκυττάριος όγκος αυξάνει. Οι ταχείες ροές ιόντων συνοδεύονται από μεταστροφή της διαφοράς δυναμικού και οξίνιστη του pH του κυττάρου (Σχ.10,11).



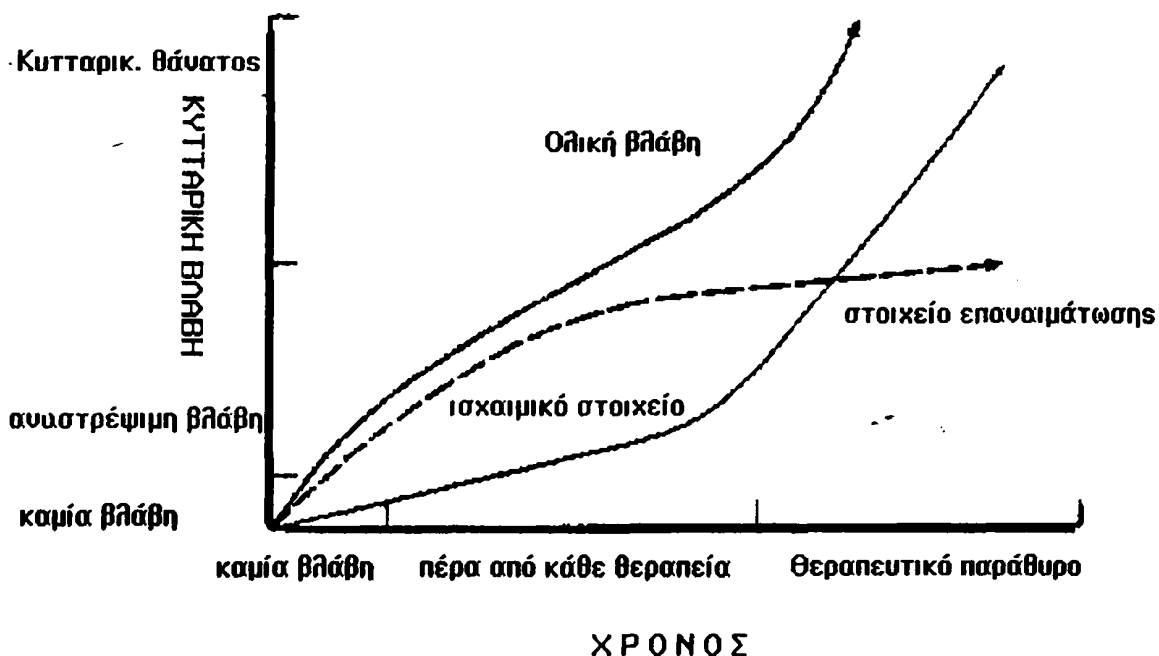
Σχ. 11. Μεταβολές στις εξωκυττάριας συγκεντρώσεις των ιόντων K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , και Cl^- , καθώς επίσης και στο εξωκυττάριο pH (pHe) και στο DC-δυναμικό μεταξύ του εγκεφάλου και της εξωεγκεφαλίκης πλευράς (Ve) κατά την διάρκεια της πλήρους ισχαιμίας, και μεταβολές του Ca^{2+} κατά την διάρκεια πλήρους ισχαιμίας, υπογλυκαιμικού κώματος, εστιακής ισχαιμίας, και ηλεκτρική προκαλούμενης καταστολής της διασποράς. (Siesjo et al:1989)



Δευτερογενείς συνέπειες της ισχαιμίας

Δευτερογενείς συνέπειες της ισχαιμίας είναι αυτές που προκύπτουν μετά την αποκατάσταση της εγκεφαλικής κυκλοφορίας. Σ' αυτές περιλαμβάνεται το οίδημα των ιστών, ο αγγειόσπασμος, η αιμόλυση, η ενδοκυττάρια οξέωση, υπερμεταβολισμός, ενδοκυττάριο οίδημα, ενδοκυτταρική / μιτοχονδριακή υπερφόρτωση με ασβέστιο και έκλυση EPO_2 . Οι ειδικές αυτές μεταβολικές διαταραχές συνιστούν τη βλάβη από επαναιμάτωση, που συμβάλει τα μέγιστα στην τελική ισχαιμική νευρολογική καταστροφή (34).

Η καθαυτή ισχαιμική κυτταρική βλάβη εξαρτάται από την σοβαρότητα και την διάρκεια της ισχαιμίας (Σχ.12). Οι δευτερογενείς συνέπειες της ισχαιμίας που προκύπτουν κατά την επαναιμάτωση προσφέρουν ένα θεραπευτικό παράθυρο.



Σχ. 12. Ισχαιμική βλάβη / βλάβη επαναιμάτωσης. Ο κυτταρικός θάνατος οφειλόμενος μόνο στο ισχαιμικό στοιχείο εξαρτάται από την σοβαρότητα και την διάρκεια της ισχαιμίας. Οι δευτερογενείς συνέπειες της ισχαιμίας περιλαμβάνουν τις βιοχημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα μετά την επαναιμάτωση. Η διάρκεια αυτών των διαδικασιών και ο βαθμός στον οποίον συμβάλλουν στην τελική νευρολογική βλάβη θα καθορίσουν το θεραπευτικό παράθυρο.

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ

Στοιχεία φυσιολογίας και μεταβολισμού του εγκεφάλου

Φυσιολογικά, ο εγκέφαλος χρησιμοποιεί το 50% της ενέργειάς του για την ηλεκτροφυσιολογική λειτουργία του. Περαιτέρω, η διατήρηση των ιοντικών κλίσεων (gradients) απαιτεί ένα μεγάλο μέρος του υπόλοιπου 50% ενέργειας. Το υπόλοιπο μέρος της ενέργειας καταναλώνεται από τα νευρογλοιακά κύτταρα (25). Κατά την διάρκεια περιόδων ελαττωμένης παροχής O_2 και θρεπτικού υποστρώματος η διαθέσιμη ενέργεια καταναλίσκεται σε λειτουργίες που είναι απαραίτητες για τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας εις βάρος της ηλεκτρικής δραστηριότητας. Αν ελαττωθεί περαιτέρω η παροχή αίματος ή αυξηθεί η ζήτηση O_2 , τίθεται σε κίνδυνο η επιβίωση των νευρώνων και εκλύεται ένας



καταρράκτης βιοχημικών αντιδράσεων (35). Επειδή τα ενεργειακά αποθέματα του εγκεφάλου είναι περιορισμένα, αν διακοπεί η CBF ακόμη και για σύντομο χρονικό διάστημα, συμβαίνει εξάντληση του ATP, πράγμα το οποίο κινητοποιεί μια σύνθετη σειρά βιοχημικών γεγονότων, διότι χωρίς ATP αναστέλλεται η ενεργητική μεταφορά και το κύτταρο δεν μπορεί να διατηρήσει τις φυσιολογικές ιοντικές κλίσεις (gradients).

Οι μηχανισμοί της κυτταρικής βλάβης με την εμφάνιση της ισχαιμίας συνοψίζονται στα παρακάτω (42):

Αγγειακές μεταβολές

- Φαινόμενο μη επανάληψης της ροής (*no-reflow phenomenon*)
- Μετα-ισχαιμική υποάρδευση (*delayed post- ischemic hyperperfusion*)
- Αγγειακό οίδημα
- Αγγειοπαράλυση

Μεταβολικές διαταραχές

- Υπερμεταβολισμός (επιληπτογενής δραστηριότητα, κατεχολαμίνες, διεγερτικοί νευροδιαβιβαστές)
- Υπομεταβολισμός (ενδογενή οπιοειδή)

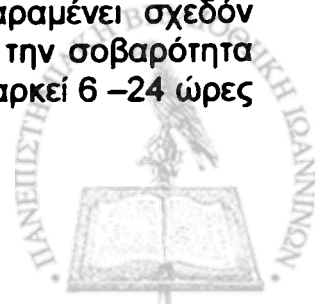
Κυτταρικές μεταβολές

- Κυτταρικό οίδημα
- Ενεργειακή ανεπάρκεια
- Ιστική οξέωση
- Προσταγλανδίνες
- Βλάβη από EPO_2

Αγγειακές μεταβολές:

Το φαινόμενο της μη επανάληψης της ροής οφείλεται σε α) αύξηση της γλοιότητας του λιμνάζοντος αίματος, β) συμπίεση της μικροκυκλοφορίας από εξοιδημένα περιαγγειακά κύτταρα γλοίας, γ) δημιουργία ενδοθηλιακών μικροθρόμβων και είναι σπάνιο. Η συνήθης αντίδραση μετά την άρση της ισχαιμίας είναι η αντιδραστική υπεραϊμία, διάρκειας 15-20 λεπτών, η οποία οφείλεται σε παροδική μείωση του αγγειακού τόνου στην ισχαιμική περιοχή (43). Κατά τη φάση αυτή διαταράσσεται η λειτουργία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, με αποτέλεσμα το σχηματισμό εγκεφαλικού οιδήματος και την είσοδο τοξικών ουσιών στον εγκεφαλικό ιστό.

Η μετα-ισχαιμική υποάρδευση αναπτύσσεται μετά την αντιδραστική υπεραϊμία και οφείλεται σε καθυστερημένη αγγειοσύσπαση και ελάττωση της CBF στο 30-50% της φυσιολογικής, ενώ ο εγκεφαλικός μεταβολισμός παραμένει σχεδόν φυσιολογικός. Η σοβαρότητα και η διάρκειά της εξαρτάται από την σοβαρότητα και την διάρκεια του ισχαιμικού επεισοδίου. Έχει αναφερθεί ότι διαρκεί 6 -24 ώρες



(44). Πιστεύεται ότι η μετα-ισχαιμική υποάρδευση είναι συνέπεια σύσπασης των προτριχοειδικών σφιγκτήρων, εξαιτίας ενεργοποίησής τους από το Ca^{++} ή / και από τη θρομβοξάνη A_2 , της οποίας η παραγωγή (από το αραχιδονικό οξύ) αυξάνεται, κατά την διάρκεια της επανακυκλοφορίας. Η διαταραχή αυτή δεν διορθώνεται με αύξηση της αρτηριακής πίεσης και της PaCO_2 και δεν ανταποκρίνεται σε συμπαθητικολυτικά, έχει βρεθεί όμως ότι βελτιώνεται με τη χορήγηση αναστολέων των διαύλων ασβεστίου και αναστολέων της σύνθεσης προσταγλανδινών.

Μεταβολικές διαταραχές:

Η ισχαιμία συνεπάγεται «ενεργειακή κρίση» και μετάθεση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του κυττάρου στην πλήρως αναχθείσα μορφή.

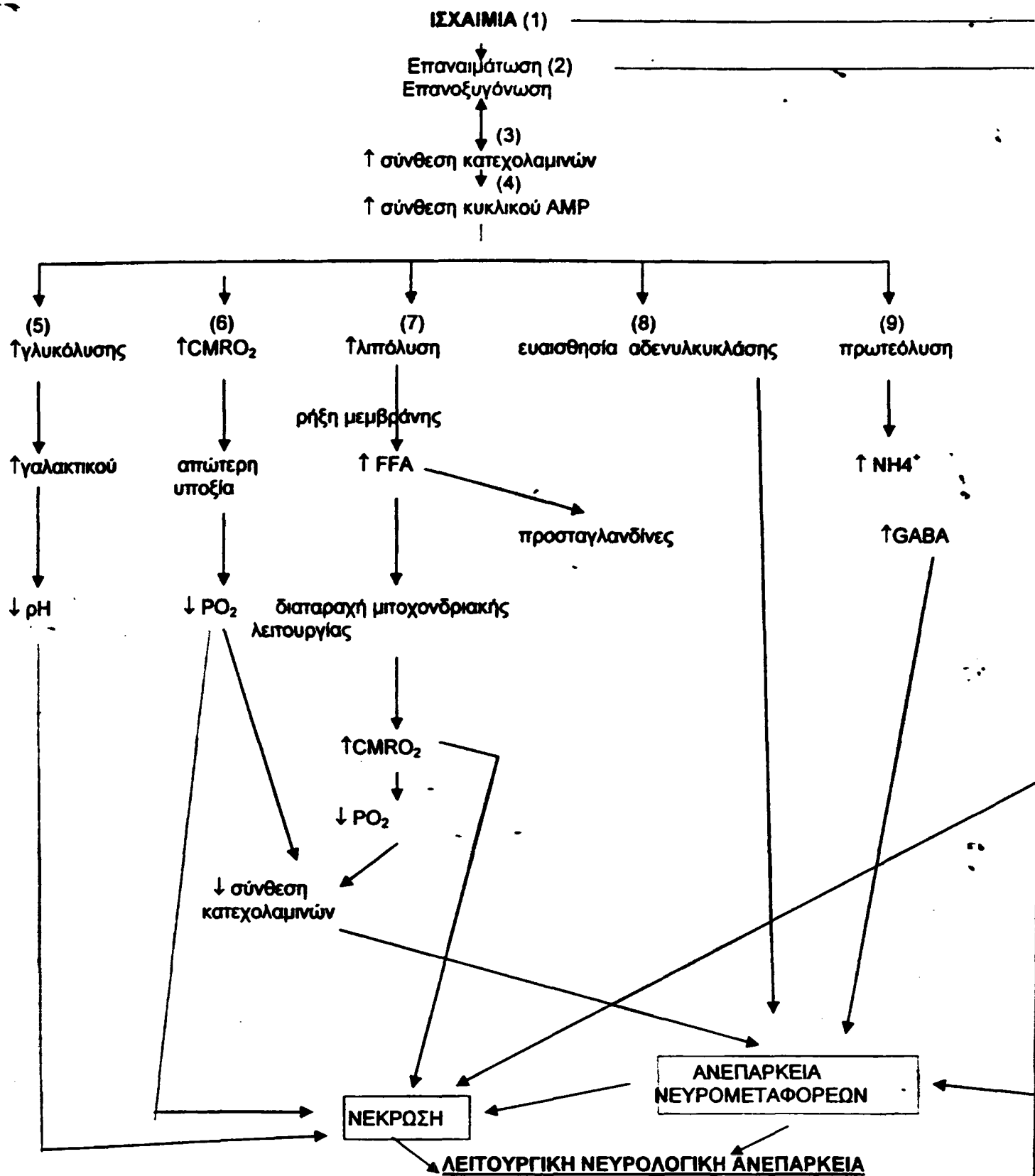
Γλυκόζη. Η εγκεφαλική λειτουργία στηρίζεται στην επαναπόλωση των νευρώνων μετά την εκπόλωση. Η επαναπόλωση των νευρώνων συμβαίνει μέσω της αντλίας Na^+ / K^+ και της επαναπρόσληψης των νευρομεταφορέων, διαδικασίες που απαιτούν ενέργεια, δηλαδή ATP. Κατά την διάρκεια σφαιρικής ισχαιμίας επταπλασιάζεται ο ρυθμός της γλυκολυτικής οδού, αλλά η συγκέντρωση του ATP πέφτει σχεδόν στο 0 ήδη μετά 2 min ισχαιμίας (Nemoto 1978). Παρατηρείται κατά σειρά γρήγορη εξάντληση της Pcr , της γλυκόζης, του ATP και του γλυκογόνου. Η γρήγορη πτώση της συγκέντρωσης της 6-φωσφορο-γλυκόζης και της 6-φωσφορο-φρουκτόζης και η αύξηση της 1,6-διφωσφορο-φρουκτόζης δείχνει ότι αυξάνεται η δραστηριότητα της φωσφοφρουκτοκινάσης και επιταχύνεται η φωσφορυλίωση της γλυκόζης. Η ενεργοποίηση της φωσφοφρουκτοκινάσης αποδίδεται στην αύξηση της συγκέντρωσης του AMP και του ADP.

Λίπη. Τα λίπη και τα λιποειδή αποτελούν το 33% του ξηρού βάρους της φαιάς ουσίας και το 55% της λευκής ουσίας. Η ισχαιμία συνεπάγεται ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A_2 και αποδόμηση των λιποειδών προς ελεύθερα λιπαρά οξέα, η συγκέντρωση των οποίων αυξάνεται δραματικά. Πέντε λεπτά μετά την εγκατάσταση απεγκεφαλισμού τα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων αυξάνεται πάνω από 100%, με κύριο αντιπρόσωπο το αραχιδονικό οξύ. Έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων στον εγκέφαλο κατά την διάρκεια πλήρους σφαιρικής ισχαιμίας αντανakλούν την εξέλιξη της εγκεφαλικής βλάβης. Η αποδόμηση των φωσφολιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών συνεπάγεται βαριά διαταραχή των μεμβρανικών λειτουργιών του εγκεφάλου.

Πρωτεΐνες. Ο μηχανισμός σύνθεσης πρωτεϊνών παραμένει ανέπαφος κατά την διάρκεια της εγκεφαλικής ισχαιμίας, αλλά διαταράσσεται κατά τη φάση της επαναιμάτωσης. Η υποξία ελαττώνει τη συγκέντρωση ασπαρτικού οξέος στον εγκεφαλικό ιστό, ενώ αυξάνει τη συγκέντρωση αλανίνης και του GABA. Το ασπαρτικό οξύ διεγείρει τους νευρώνες, ενώ η αλανίνη και το GABA έχουν κατασταλτική δράση.

Νευροδιαβιβαστές. Η συγκέντρωση της νοραδρεναλίνης, της ντοπαμίνης και της 5-υδροξυτρυπταμίνης (σεροτονίνη) στον εγκέφαλο ελαττώνεται κατά την διάρκεια της ισχαιμίας (Nemoto 1978). Οι νευροδιαβιβαστές διαδραματίζουν πρωτεύοντα ρόλο στη συναπτική λειτουργία και ασκούν έντονες δράσεις στον εγκεφαλικό μεταβολισμό, στην εγκεφαλική κυκλοφορία και στην λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης (Σχ.13). Οι δράσεις αυτές είναι πιθανώς η αιτία για την σύζευξη της εγκεφαλικής κυκλοφορίας με το μεταβολισμό. Οι νευρομεταφορείς ενοχοποιούνται στην παθογένεια της εγκεφαλικής ισχαιμικής/υποξικής βλάβης.





Σχ.12 Ρόλος των κατεχολαμινών στην παθογένεια της ισχαιμικής/υποξικής βλάβης. Κατά την άμεση μεθισχαιμική περίοδο η αποκατάσταση της εγκεφαλικής κυκλοφορίας/οξυγόνωσης, οδηγεί σε αυξημένη σύνθεση κατεχολαμινών (ΚΑ), οι οποίες επηρεάζουν έντονα την εγκεφαλική κυκλοφορία και τον μεταβολισμό (3,4) διεγείροντας την αδενυλ-κυκλάση και την σύνθεση του κυκλικού AMP(4). Οι πολλαπλές δράσεις των ΚΑ και του cAMP περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση της γλυκόλυσης (5), την αύξηση του CMRO2 (6), την αύξηση της λιπόλυσης (7) και την τροποποίηση της ευαισθησίας της αδενυλ-κυκλάσης (8). Τελικά οι ΚΑ και το cAMP αυξάνουν την πρωτεόλυση και αναστέλλουν την σύνθεση πρωτεϊνών (9), αυξάνοντας έτσι τα επίπεδα των αμινοξέων των νευρομεταφορέων και επηρεάζοντας την διεγερσιμότητα των νευρώνων και την συναπτική μεταβίβαση. Επί πλέον, οι κατεχολαμίνες αυξάνουν την διαπερατότητα της μεμβράνης στο νερό, πράγμα μεγάλης σημασίας για την ανάπτυξη εγκεφαλικού οιδήματος (Nemoto 1978).



Κατά την άμεση μεθισχαιμική περίοδο η αποκατάσταση της εγκεφαλικής κυκλοφορίας / οξυγόνωσης, οδηγεί σε αυξημένη σύνθεση κατεχολαμινών (KA), οι οποίες επηρεάζουν έντονα την εγκεφαλική κυκλοφορία και τον μεταβολισμό (3,4) διεγείροντας την αδενυλ-κυκλάση και την σύνθεση του κυκλικού AMP (cAMP) (4). Οι δράσεις των KA είναι πολλαπλές. Εκτός από το cAMP, περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση της γλυκόλυσης (5), την αύξηση του CMRO₂ (6), την αύξηση της λιπόλυσης (7) και την τροποποίηση της ευαισθησίας της αδενυλ-κυκλάσης (8). Τελικά οι KA και το cAMP αυξάνουν την πρωτεόλυση και αναστέλλουν την σύνθεση πρωτεϊνών (9), αυξάνοντας έτσι τα επίπεδα των αμινοξέων των νευρομεταφορέων και επηρεάζοντας την διεγερσιμότητα των νευρώνων και την συναπτική μεταβίβαση. Επί πλέον, οι κατεχολαμίνες αυξάνουν την διαπερατότητα της μεμβράνης στο νερό, πράγμα μεγάλης σημασίας για την ανάπτυξη εγκεφαλικού οιδήματος (Nemoto 1978).

Μεταβολές της κυτταρικής μεμβράνης. Με την εγκατάσταση πλήρους εγκεφαλικής ισχαιμίας το EEG γίνεται ισοηλεκτρικό εντός 15-25 sec, τα αποθέματα φωσφορικών υψηλής ενέργειας της Pcr φθάνουν στο μηδέν περίπου σε ένα λεπτό, τα αποθέματα γλυκόζης και γλυκογόνου μηδενίζονται σε 4 min, ενώ τα αποθέματα του ATP μηδενίζονται σε 5-7 min. Η ενεργοποίηση της αναερόβιας γλυκόλυσης παράγει ATP, αλλά με απόδοση ανεπαρκή για την αντιμετώπιση των ενεργειακών αναγκών του κυττάρου.

Η αναερόβια γλυκόλυση παράγει σημαντικές ποσότητες ιόντων H⁺ και γαλακτικού οξέος, των οποίων η συσσώρευση οδηγεί σε ενδοκυττάρια οξέωση. Αυτή η εξάντληση των αποθεμάτων ενέργειας με την οξέωση του ενδοκυττάρου περιβάλλοντος δεν αργεί να αναστείλει τους περισσότερους από τους ενζυματικούς μηχανισμούς του κυττάρου, με συνέπεια ανεπάρκεια των διαμεμβρανικών αντλιών ιόντων, που οδηγεί σε παθητικές ιοντικές κινήσεις, έχοντας ως αποτέλεσμα μαζική είσοδο Na⁺, έξοδο K⁺ και την αποπόλωση της μεμβράνης (29,45). Η είσοδος Na⁺/Cl⁻ στα κύτταρα συμπαρασύρει ωσμωτικά H₂O, με αποτέλεσμα το οίδημα των αστροκυττάρων (45). Όταν η εξωκυττάρια συγκέντρωση K⁺ αυξηθεί από 12 σε 15 μmol / ml, επιταχύνεται η αποδόμηση των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης, ενεργοποιούνται οι διάλυτοι ασβεστίου (που είναι ευαίσθητοι στις διαφορές δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης και προκύπτει μία μαζική είσοδος Ca⁺⁺ στα κύτταρα (29,45). Τα Ca⁺⁺ εισέρχονται στα κύτταρα επίσης από διαύλους ασβεστίου που λειτουργούν μέσω N-methyl -D-aspartate (NMDA) υποδοχέων. Ένα μεγάλο μέρος της παραγωγής ενέργειας του ισχαιμικού εγκεφάλου μπορεί τότε να χρησιμοποιηθεί για την μεταφορά ιόντων σε μία προσπάθεια να αποκατασταθούν οι φυσιολογικές ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια συγκεντρώσεις ιόντων. Γενικά θεωρείται ότι η ανεπάρκεια της κυτταρικής μεμβράνης σηματοδοτεί την μη αναστρέψιμη κυτταρική βλάβη.

Η ανεπάρκεια της κυτταρικής μεμβράνης μπορεί να προληφθεί κατά την εστιακή ισχαιμία, αν η αιματική ροή στην ισχαιμική περιοχή διατηρηθεί πάνω από τον ουδό ανεπάρκειας της κυτταρικής μεμβράνης. Κατά την πλήρη σφαιρική ισχαιμία, η ανάπτυξη της ανεπάρκειας της κυτταρικής μεμβράνης μπορεί να καθυστερήσει αν δεσμευθούν οι διάλυτοι των ιόντων ώστε να περιορισθεί η διακίνηση Na⁺, K⁺ και Ca⁺⁺ η αν επιταθεί η αναερόβια παραγωγή του ATP. Έχει βρεθεί ότι η υποθερμία μπορεί να δεσμεύσει την είσοδο Na⁺ η την έξοδο K⁺ δια μέσου των κυτταρικών μεμβρανών, μειώνοντας τις απαιτήσεις σε ATP και εξοικονομώντας έτσι ενέργεια για την διατήρηση του gradient των ιόντων (46).



Τα μιτοχόνδρια. Η σοβαρή μιτοχονδριακή δυσλειτουργία σηματοδοτεί επίσης τη μη αναστρέψιμη κυτταρική βλάβη. Η αύξηση της ενδοκυττάριας και ενδομιτοχονδριακής συγκέντρωσης Ca^{++} κατά την ισχαιμία συνεπάγεται ενεργοποίηση ενζύμων και βλάβη των μιτοχονδριακών μεμβρανών. Περαιτέρω, βλάβη των μεμβρανών αυτών προκύπτει από την ενδοκυττάρια γαλακτική οξέωση και από την υπεροξειδωση των λιπιδίων που προκαλούν οι ΕΡΟ₂. Η ενδοκυττάρια οξέωση (pH = 6.0 - 6.4) αναστέλλει τόσο την κυτταρική αναπνοή όσο και την απομακρυνση του Ca^{++} από τα μιτοχόνδρια (47). Όταν η ενδοκυττάρια συγκέντρωση του Ca^{++} αυξηθεί πάνω από 1 μΜ, ένζυμα όπως οι φωσφολιπασες και οι πρωτεάσες ενεργοποιούνται και καταστρέφουν τα κύτταρα. Η μιτοχονδριακή λειτουργία διακόπτεται επίσης όταν – συνεπεία της ισχαιμίας- αναστέλλεται η δραστηριότητα της αδενινονουκλεοτιδικής τρυσλοκάσης και εμποδίζεται, ως εκ τούτου, η οξειδωτική φωσφορυλίωση (48).

Ασβέστιο και εγκεφαλική ισχαιμία

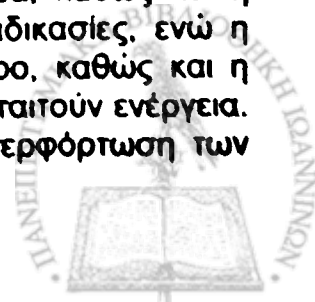
Το Ca^{++} είναι δισθενές ιόν, το οποίο λαμβάνει μέρος σε πολλές βιολογικές διεργασίες. Η ρύθμιση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης των Ca^{++} είναι πολύ σημαντική για την φυσιολογική λειτουργία του κυττάρου (38). Τόσο η μεταφορά των Ca^{++} προς τον εξωκυττάριο χώρο, όσο και η απομάκρυνσή του από τα μιτοχόνδρια απαιτούν ενέργεια.

Φυσιολογικά, το Ca^{++} είναι απαραίτητο για την διέγερση του νευρικού κυττάρου, την απελευθέρωση των νευροδιαβιβαστών στις νευρωνικές συνάψεις και την έκκριση τροφολόγων νευροδιαβιβαστών, πεπτιδίων και ορμονών. Περαιτέρω, το Ca^{++} επιταχύνει τον μεταβολισμό και την παραγωγή ATP, ρυθμίζει τη λειτουργία των διαύλων της μεμβράνης, τροποποιεί την λειτουργία πολλών ενζύμων και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και στη διαδικασία της επιβίωσης και στη διαδικασία του θανάτου του κυττάρου. Η εξωκυττάρια συγκέντρωση Ca^{++} είναι μεγαλύτερη από την ενδοκυττάρια κατά 10.000 φορές και, ως εκ τούτου, υφίσταται παθητικό ρεύμα εισόδου Ca^{++} στο κύτταρο (49).

Κατά την διάρκεια της ισχαιμίας προκύπτει μείωση ή έλλειψη των αποθεμάτων ATP και τα κύτταρα είναι ανίκανα να διατηρήσουν τα φυσιολογικά gradient των ιόντων. Το Ca^{++} μπαίνει στα νευρικά κύτταρα μέσω διαύλων, που εξαρτώνται είτε από τη διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού (voltage-dependent Ca^{++} channels, οι οποίοι ενεργοποιούνται από την αύξηση του εξωκυττάρια K^+ και την αύξηση του ενδοκυττάρια Na^+), είτε από τη λειτουργία εξειδικευμένων υποδοχέων (receptor-controlled Ca^{++} channels), η κατάληψη των οποίων από ένα αγωνιστή συνεπάγεται την διάνοιξή τους.

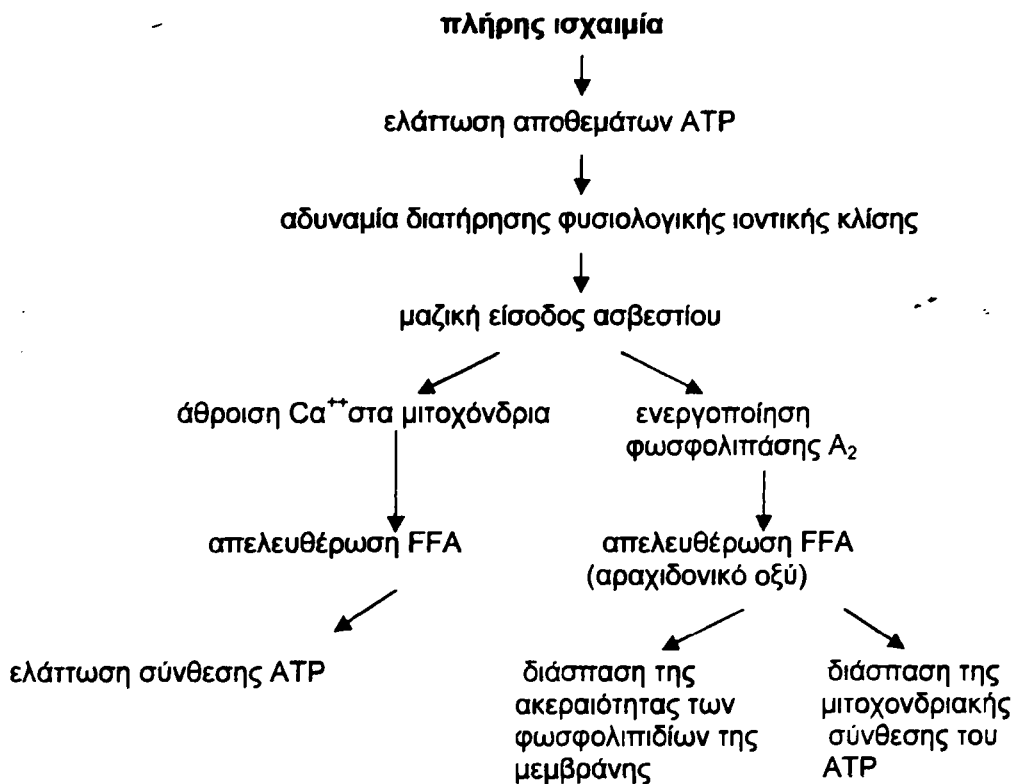
Το Ca^{++} που εισέρχεται στο νευρικό κύτταρο συγκεντρώνεται στις δεξαμενές του λείου ενδοπλασματικού δικτύου και στα μιτοχόνδρια. Η είσοδος στις δεξαμενές του λείου ενδοπλασματικού δικτύου επιτυγχάνεται με τη δράση αντλίας ασβεστίου, της αδενοσινοτριφωσφατάσης του ασβεστίου. Η είσοδος στα μιτοχόνδρια γίνεται δια μέσου εξειδικευμένων διαύλων. Η κινητοποίηση του από τις δεξαμενές του λείου ενδοπλασματικού δικτύου προς το κυτταρόπλασμα γίνεται με τη δράση της τριφωσφορικής ινositόλης σε εξειδικευμένους υποδοχείς, από δε τα μιτοχόνδρια εξέρχεται ανταλασσόμενο με Na^+ (49).

Η είσοδος Ca^{++} από τον εξωκυττάριο χώρο στο κυτταρόπλασμα, καθώς και η απελευθέρωσή του από τα μιτοχόνδρια αποτελούν παθητικές διαδικασίες, ενώ η μεταφορά του από το κυτταρόπλασμα προς τον εξωκυττάριο χώρο, καθώς και η πρόσληψή του από το ενδοπλασματικό δίκτυο και τα μιτοχόνδρια απαιτούν ενέργεια. Η ένδεια ενέργειας κατά την εγκεφαλική ισχαιμία συνεπάγεται υπερφόρτωση των



νευρικών κυττάρων με Ca^{++} . Θεωρείται ότι η υπερφόρτωση αυτή οδηγεί σε μη αναστρέψιμη κυτταρική βλάβη (δυσλειτουργία υποδοχέων και ανεπάρκεια ενδοκυττάρων μηχανισμών) και θάνατο, καθότι η μαζική είσοδος Ca^{++} ενεργοποιεί καταστρεπτικές αντιδράσεις πρωτεόλυσης. Εξάλλου, η αυξημένη συγκέντρωση Ca^{++} ενδοκυτταρικά ενεργοποιεί την φωσφολιπάση A_2 , η οποία υδρολύει τα φωσφολιπίδια μεμβρανών του κυττάρου και των οργανυλίων του. Τα ένζυμα αυτά δεν χρειάζονται O_2 ή ενέργεια και έτσι μπορούν να δρουν τόσο κατά την διάρκεια της ισχαιμίας όσο και κατά την επαναιμάτωση. Η υδρόλυση των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης εκλύει ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA), με κύριο εκπρόσωπο το αραχιδονικό οξύ, το οποίο μπορεί να μεταβολισθεί σε ενδοϋπεροξειδάση, θρομβοξάνες, λευκοτριένια και EPO_2 (44,45). Τα προϊόντα αυτά βλάπτουν περαιτέρω τις βιολογικές μεμβράνες, αυξάνοντας τη διαπερατότητά τους και συντελώντας στην κακή κατανομή των ιόντων (Σχ.14)

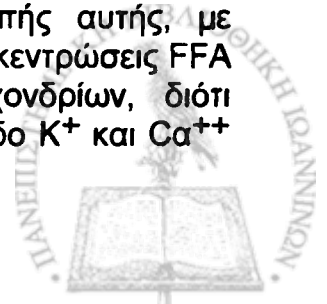
ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΣΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΒΛΑΒΗ



Σχ.14 Πρόκληση κυτταρικής βλάβης μέσω ενεργοποίησης του ασβεστίου κατά την διάρκεια της ισχαιμίας

Προσταγλανδίνες

Οι προσταγλανδίνες είναι προϊόντα αντιδράσεων του «καταρράκτου του αραχιδονικού οξέος». Τα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών υδρολύονται σε FFA, μέσω της φωσφολιπάσης A_2 , η οποία ενεργοποιείται από την είσοδο Ca^{++} στο κύτταρο, κατά την διάρκεια της ισχαιμίας. Φυσιολογικά, τα περισσότερα FFA μετατρέπονται σε acyl-CoA -μέσω της ATP-εξαρτώμενης λιγκάσης- και μπαίνουν στον κύκλο του τρικαρβονικού οξέος. Η ελάττωση των αποθεμάτων του ATP κατά την διάρκεια της ισχαιμίας συνεπάγεται αδυναμία της μετατροπής αυτής, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των FFA. Οι υψηλές συγκεντρώσεις FFA μπορεί να είναι καταστροφικές για την λειτουργία των μιτοχονδρίων, διότι αποσυνπλέκουν την οξειδωτική φωσφορυλίωση και προκαλούν έξοδο K^+ και Ca^{++}

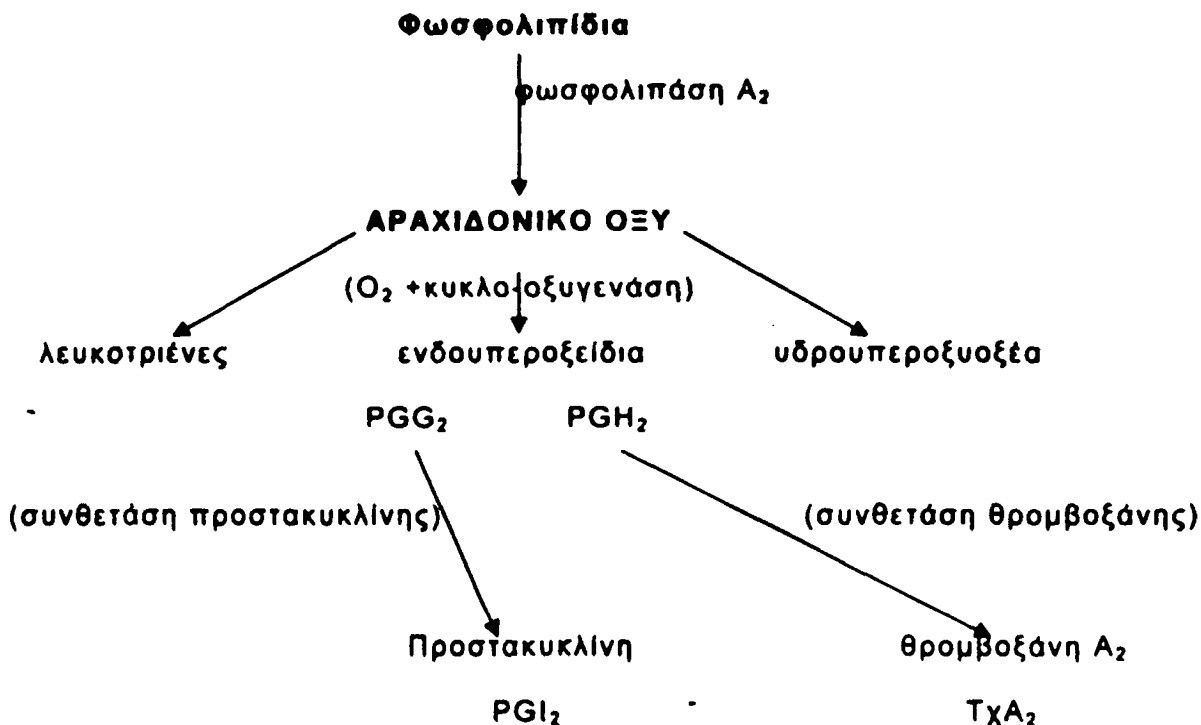


από τα μιτοχόνδρια στο κυτταρόπλασμα και κυτταρικό οίδημα, ενώ αυξάνουν και τη σύνθεση προσταγλανδινών.

Μεταβολισμός του αραχιδονικού οξέος

Το αραχιδονικό οξύ παράγεται από την διάσπαση των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης με την δράση της φωσφολιπάσης A_2 . Το αραχιδονικό οξύ είναι πρόδρομη ουσία των προσταγλανδινών (Σχ.15), της θρομβοξάνης, της προστακυκλίνης και των λευκοτριενών (50).

ΚΑΤΑΡΡΑΚΤΗΣ ΤΟΥ ΑΡΑΧΙΔΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ



Σχ.15 Ο ρόλος του αραχιδονικού οξέος στην παραγωγή λευκοτριενών, ενδοπεροξειδίων, υδροπεροξειδίων, υδροπεροξοξέων και προσταγλανδινών, κατά την επαναιμάτωση μετά ισχαιμία (Από: Milde LN: Pathophysiology of ischemic brain injury. Crit. Care Clin 1989;5:729).

Η συγκέντρωση του αραχιδονικού οξέος στους φυσιολογικούς ιστούς είναι σχεδόν μηδενική. Κατά τη διάρκεια μίας πληθώρας καταστάσεων - όπως κατά το τραύμα, την υποξία, την ισχαιμία, τη σοβαρή υπογλυκαιμία, τη σήψη, τους σπασμούς και την καταστροφή ιστών - ενεργοποιείται η φωσφολιπάση A_2 και εκλύει αραχιδονικό οξύ από τα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης (51). Η συγκέντρωση του οξέος αυτού αυξάνεται κατά την ισχαιμία, τροφοδοτώντας τον καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος, ο οποίος πυροδοτείται κατά την επαναιμάτωση από την εισροή O_2 και παράγει προσταγλανδίνες, μέσω της κυκλοοξυγονάσης και της ενδοπεροξειδάσης. Το αραχιδονικό οξύ μετατρέπεται αρχικά στα ενδοπεροξειδία PGG_2 και PGH_2 , που είναι ενδιάμεσες ουσίες βραχείας διάρκειας (Σχ.15). Το PGG_2 είναι πρόδρομη ουσία της προστακυκλίνης PGI_2 , που συντίθεται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, ενώ το PGH_2 είναι η πρόδρομη ουσία της θρομβοξάνης A_2 , που συντίθεται κυρίως στα αιμοπετάλια. Περαιτέρω, το αραχιδονικό οξύ μετατρέπεται, μέσω της λιποοξυγονάσης, στα μεν λευκοκύτταρα σε λευκοτριένια, στα δε αιμοπετάλια σε υδροξοξέα (52).

Πιστεύεται ότι τα ενδιάμεσα ενδοϋπεροξειδία αδρανοποιούν την σύνθεση της προστακυκλίνης, με αποτέλεσμα να συντίθεται λιγότερη προστακυκλίνη στο τοίχωμα των εγκεφαλικών αγγείων κατά την ισχαιμία. Η προστακυκλίνη είναι ο πιο ισχυρός φυσιολογικός αγγειοδιασταλτικός παράγοντας που είναι γνωστός (53). Η ελαττωμένη σύνθεση προστακυκλίνης συνεπάγεται αυξημένη σύνθεση θρομβοξάνης A_2 , που είναι ένας ισχυρός αγγειοσυσπαστικός παράγοντας και μπορεί να συμβάλλει στην μετιστασιμική υποάρδευση. Το αραχιδονικό οξύ, τα βραχείας διάρκειας ενδοϋπεροξειδία και η θρομβοξάνη A_2 προκαλούν συσσώρευση αιμοπεταλίων. Τα ενδοϋπεροξειδία είναι επίσης δυνητικές ελεύθερες ρίζες και μπορεί να προκαλέσουν μία καταιγίδα επιβλαβών αντιδράσεων.

Ως εκ τούτου οι μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος παίζουν σημαντικό ρόλο στην ισχαιμική βλάβη του εγκεφάλου, προκαλώντας α) αγγειοσύσπασση, β) συσσώρευση αιμοπεταλίων και γ) παραγωγή ελευθέρων ριζών.

Διεγερτικά αμινοξέα (excitatory aminoacids)

Τα δικαρβοξυλικά αμινοξέα, *L*-γλουταμινικό και *L*-ασπαρτικό είναι νευροδιαβιβαστές που προκαλούν διέγερση σε πολλές περιοχές του εγκεφάλου. Οι περισσότερες νευρωνικές συνάψεις του φλοιού των εγκεφαλικών ημισφαιρίων, καθώς και αυτές των υποφλοιωδών κέντρων, λειτουργούν με την απελευθέρωση των αμινοξέων αυτών, τα οποία άγουν τη νευρική διέγερση στις φυγόκεντρους οδούς (από τα νευρωνικά στοιχεία του φλοιού) και στις κεντρομόλους οδούς των περισσότερων αισθητικοαισθητηριακών συστημάτων. Επίσης, πολλά από τα τοπικά νευρωνικά κυκλώματα του φλοιού χρησιμοποιούν σαν κύριους νευροδιαβιβαστές το γλουταμινικό και το ασπαρτικό οξύ.

Φυσιολογικά, το γλουταμινικό οξύ είναι αποθηκευμένο σε κυστίδια των προσυναπτικών νευρικών απολήξεων και απελευθερώνεται όταν ο προσυναπτικός νευράξωνας εκπολώνεται από την είσοδο Ca^{++} , δρώντας στους μετασυναπτικούς υποδοχείς του νευρώνα (54). Οι εξωκυττάρια συγκεντρώσεις του γλουταμινικού, φυσιολογικά, αυξάνουν μόνο για σύντομο χρονικό διάστημα στην διάρκεια της συναπτικής μεταβίβασης επειδή υφίστανται μηχανισμοί επαναπρόσληψης, που απαιτούν ενέργεια. Στην διάρκεια της εγκεφαλικής ισχαιμίας αυξάνεται η συναπτική απελευθέρωση και διαταράσσεται η κυτταρική επαναπρόσληψη του γλουταμινικού. Η αυξημένη εξωκυττάρια συγκεντρώση γλουταμινικού δρα νευροτοξικά (κυτταροτοξικότητα από διέγερση). Το γεγονός αυτό αποκτά ιδιαίτερη σημασία αν ληφθεί υπόψη ότι τα διεγερτικά αμινοξέα ανευρίσκονται κυρίως στις περιοχές του εγκεφάλου που θεωρούνται ευάλωτοι στην ισχαιμία, ήτοι α) στις στοιβάδες 3, 5 και 6 του φλοιού, β) στις στοιβάδες Purkinje και στις στοιβάδες κοκκιωδών κυττάρων της παρεγκεφαλίδας, γ) στην περιοχή CA_1 του ιππόκαμπτου και δ) στο θάλαμο. Εκτός από την παθογένεση των νευροπαθολογικών αλλοιώσεων της εγκεφαλικής ισχαιμίας, τα διεγερτικά αμινοξέα διαδραματίζουν ουσιώδη ρόλο στην παθογένεση και διαφόρων άλλων παθολογικών καταστάσεων, όπως οι χρόνιες εκφυλιστικές διεργασίες του νευρικού ιστού και τα επιληπτικά φαινόμενα.

Εκτεταμένες μελέτες αποκάλυψαν την ύπαρξη πολυαριθμών υποδοχέων των διεγερτικών αμινοξέων. Οι υποδοχείς αυτοί διακρίνονται σε πέντε κυρίως κατηγορίες (55):

α. N-μεθυλο-D-ασπαρτικοί υποδοχείς (NMDA- υποδοχείς).

β. Υποδοχείς του RS-2 amino-3-(3 υδροξυ) 5-μεθυλοσαξαζολο-4-προπανοϊκού οξέος (AMPA).

γ. Καινικοί υποδοχείς (KA- υποδοχείς).

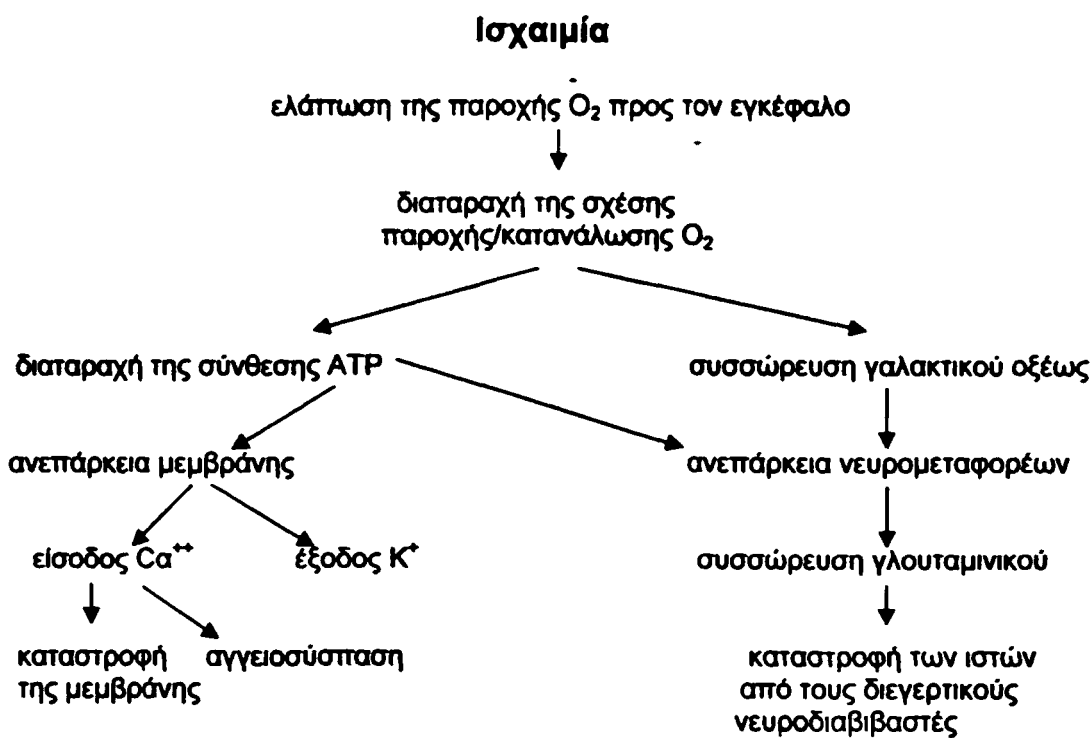


δ. Υποδοχείς L-AP₄, οι οποίοι λειτουργούν ως κατασταλτικοί αυτουποδοχείς.

ε. Μεταβοτρόποι υποδοχείς (ACPD), οι οποίοι συνδέονται με την 1,4,5 τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP₃) και τη διακυλο-γλυκερίνη.

Για απλούστευση, οι ως άνω υποδοχείς των διεγερόντων αμινοξέων διακρίνονται σε δύο κυρίως κατηγορίες: α) στους NMDA και β) στους μη NMDA υποδοχείς. Και τα δύο αυτά είδη διαδραματίζουν πρωτεύοντα ρόλο στις νευρικές συνάψεις.

Ο (περισσότερο μελετημένος) NMDA υποδοχέας διεγείρεται και από το γλουταμινικό και από το ασπαρτικό και συνδέεται με έναν διάυλο της μεμβράνης που είναι διαβατός στα Na⁺ και στα Ca⁺⁺. Η είσοδος των ιόντων αυτών μπορεί να αποκλειστεί από τα Mg⁺⁺ που είναι προσκολλημένα στο διάυλο. Η γλυκίνη διευκολύνει την σύνδεση του γλουταμινικού οξέος με τον NMDA υποδοχέα. Όταν υφίσταται έλλειμμα γλυκίνης, το γλουταμινικό δεν μπορεί, σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις, να ανοίξει τους ιοντικούς διαύλους που ελέγχονται από τον NMDA υποδοχέα (56). Όταν ο εγκέφαλος υποστεί υποξία ή ισχαιμία, απελευθερώνονται μεγάλες ποσότητες γλουταμινικού και ασπαρτικού οξέος (από τους νευρώνες και την νευρογλοία), οι οποίες ενεργοποιούν εντόνως τους NMDA υποδοχείς. Μόνιμη διέγερση των NMDA υποδοχέων έχει ως επακόλουθο να παραμένουν ανοικτοί οι διάυλοι που ελέγχονται από τους υποδοχείς αυτούς, με αποτέλεσμα αφ' ενός τη ενδοκυτταρική συσσώρευση Na⁺ και την οσμωτική διόγκωση του κυττάρου και αφ' ετέρου τη συσσώρευση Ca⁺⁺ και την κινητοποίηση ενός καταρράκτη γεγονότων που μπορεί να οδηγήσουν σε κυτταρικό θάνατο (57). Η ισχαιμική βλάβη περιορίζεται με τον αποκλεισμό των NMDA υποδοχέων (58), εύρημα που αποδεικνύει την κυτταροτοξικότητα από διέγερση (Σχ.16).



Todd 1989

Σχ.16 Παθογένεια της ισχαιμικής βλάβης



Σύνθεση και ρόλος του νιτρικού οξειδίου

Το νιτρικό οξείδιο (Nitric Oxide, NO) είναι ένας από τους βασικούς νευροδιαβιβαστές σε πολλές οδούς και νευρωνικά δίκτυα του κεντρικού νευρικού συστήματος (59). Είναι ελεύθερη ρίζα με ημιπερίοδο ζωής ≈ 8 sec. Η σύνθεση του NO πυροδοτείται πιθανώς από την είσοδο ασβεστίου (Ca^{++}) στο κύτταρο, μετά διέγερση των NMDA υποδοχέων.

Το NO συντίθεται από την L-αργινίνη με την δράση της συνθετάσης του νιτρικού οξειδίου (NOS). Έχουν περιγραφεί πολλές NO - συνθετάσες, οι οποίες απομονώθηκαν από διάφορα κύτταρα, όπως τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα νευρογλοιακά, τα ενδοθηλιακά και οι νευρώνες. Υπάρχουν δύο λειτουργικές μορφές του ενζύμου: η *constitutive* (cNOS) και η *inducible* (iNOS). Η cNOS απαντάται στον εγκέφαλο και στο ενδοθήλιο και ενεργοποιείται από το Ca^{++} , γεγονός που εξηγεί την αύξηση του NO μετά από ισχαιμία. Όταν η L-αργινίνη απουσιάζει, η cNOS μπορεί να δημιουργήσει ROS, όπως το ανιόν σουπεροξειδίου του O_2 (O_2^-) και το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2). Η μορφή iNOS ενεργοποιείται από κυτοκίνες ή από ενδοτοξίνη, ενώ είναι ανεξάρτητη από το Ca^{++} και μπορεί να παράγει πολύ μεγάλες ποσότητες NO (60). Έχουν περιγραφεί αλλαγές στην συμπεριφορά της NOS μετά I / R και αυτό μπορεί να εξηγήσει τη συμμετοχή του NO στην ισχαιμική βλάβη (61). Μέσα σε λεπτά μετά την έναρξη της ισχαιμίας, η συγκέντρωση του NO αυξάνει, μετά μειώνεται και τελικά αυξάνει κατά την επαναιμάτωση (62).

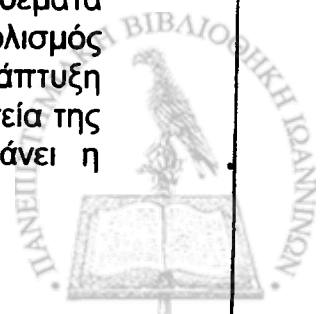
Κατ' ουσία το NO προάγει την κινητοποίηση της γουανυλικής κυκλάσης, με αποτέλεσμα είτε την ενίσχυση της συναπτικής λειτουργίας ή την ελάττωση της έντασης της συναπτικής λειτουργίας, ανάλογα με την περιοχή του εγκεφάλου, όπου παράγεται. Περαιτέρω, το NO μπορεί να ενεργοποιήσει τους υποδοχείς NMDA.

Έχει βρεθεί ότι το NO μπορεί να είναι νευροτοξικό, μπορεί όμως και να προστατεύει το νευρικό ιστό. Το παράδοξο αυτό οφείλεται κατά τον Lipton και τους συνεργάτες του στο ότι το NO μπορεί να υπάρχει, εκτός από την πρότυπη μορφή του (NO) σε αναχθείσα μορφή (NO_2^-) ή σαν NO^+ . Η τοξικότητα είναι αποτέλεσμα της μορφής NO_2^- , που αντιδρά με το O_2^- και σχηματίζει περοξυνιτρίτη (ONOO^-), ο οποίος είναι εξαιρετικά τοξικός. Το NO^+ εξάλλου αντιδρά με ομάδες θειόλης του υποδοχέα NMDA, απενεργοποιώντας τον υποδοχέα και μπλοκάροντας την νευρομεταβίβαση (63).

Η καταστολή της σύνθεσης NO αναστέλλει την εκφύλιση και νέκρωση νευρικών κυττάρων, που προκαλεί η υπέρμετρη διέγερση των NMDA υποδοχέων. Η καταστολή της σύνθεσης NO είναι εφικτή με την χορήγηση ανταγωνιστών της NOS, όπως είναι η NG-μονομεθυλική L-αργινίνη (L-NMMA), η NG-νιτρο-L-αργινίνη (NARG) και ο μεθυλικός εστέρας της L-νιτροαργινίνης (L-NAME).

Γλυκόζη / Υπεργλυκαιμική οξέωση

Κατά την ισχαιμία το κύτταρο χρησιμοποιεί τα αποθέματα των φωσφορικών δεσμών υψηλής ενέργειας και την αναερόβια γλυκόλυση για την παραγωγή του ATP. Το πυρουβικό μετατρέπεται σε γαλακτικό ώστε και τα νικοτιναμιδικά αδενοδινουκλεοτίδια οξειδώνονται. Η αναερόβια γλυκόλυση είναι ανεπαρκής πηγή ενέργειας και η παραγωγή γαλακτικού συνεχίζεται όσο υπάρχουν αποθέματα γλυκόζης στο κύτταρο. Η αποικοδόμηση του ATP και ο αναερόβιος μεταβολισμός προκαλούν γαλακτική οξέωση των κυττάρων, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη κυτταροτοξικού οιδήματος, το οποίο προστίθεται στο ήδη αναπτυσσόμενο (συνεπεία της ρήξεως του αιματοεγκεφαλικού φραγμού) αγγειογενές οίδημα. Ετσι αυξάνει η



ενδοκράνια πίεση, με αποτέλεσμα περαιτέρω στραγγαλισμό της εγκεφαλικής αιματικής ροής και τη μεταβολή των χωροταξικών σχέσεων εντός της κρανιακής κάψας.

Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση γαλακτικού οξέος είναι μία λειτουργία που εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως την μερική πίεση του O_2 του ιστού, την παροχή της γλυκόζης από το αίμα στον εγκέφαλο και τον ρυθμό της απομάκρυνσης γαλακτικού με την φλεβική κυκλοφορία (64). Κατά την πλήρη εγκεφαλική ισχαιμία η ενδοκυτταρική συγκέντρωση γαλακτικού είναι ανάλογη με τα αποθέματα γλυκόζης τη στιγμή που εγκαθίσταται η ισχαιμία. Κατά την ατελή εγκεφαλική ισχαιμία όμως η συγκέντρωση γαλακτικού είναι ανάλογη με τα αποθέματα, αλλά και με το ρυθμό παροχής γλυκόζης από το αίμα στα κύτταρα, με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη ενδοκυττάρια συγκέντρωση γαλακτικών και τη μεγαλύτερου βαθμού κυτταρική βλάβη (64). Ενδοκυττάρια συγκέντρωση γαλακτικού $> 20 \mu\text{mol}/\text{gr}$ έχει παρατηρηθεί μόνο σε καταστάσεις όπου η παροχή γλυκόζης διατηρείται, αλλά η παροχή O_2 δεν αρκεί για οξειδωτική φωσφορυλίωση. Η αύξηση του ενδοκυττάριου γαλακτικού οξέος συνοδεύονται από ανάλογη μείωση του ενδοκυτταρικού pH. Όταν η συγκέντρωση του ενδοκυττάριου γαλακτικού υπερβεί τα $16-20 \mu\text{mol}/\text{gr}$ ή όταν το ενδοκυττάριο pH μειωθεί σε τιμές μικρότερες από 5.5 συμβαίνει μη αναστρέψιμη κυτταρική βλάβη. Η γαλακτική οξέωση προκαλεί (65):

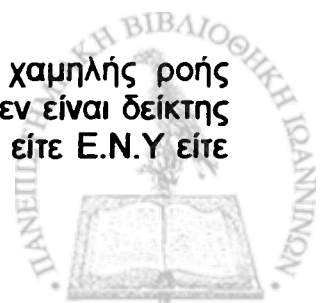
α. αναστολή της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και της παραγωγής ενέργειας,
β. διόγκωση των νευρογλοιακών κυττάρων και διαταραχή της μικροκυκλοφορίας,
γ. μετουσίωση των πρωτεϊνών και των νουκλεϊνικών οξέων,
δ. υπεροξείδωση των λιπιδίων και βλάβη της κυτταρικής μεμβράνης, μέσω απελευθέρωσης Fe^{++} , ο οποίος καταλύει τον σχηματισμό EPO_2 .
Κατά την διάρκεια πλήρους εγκεφαλικής ισχαιμίας το ενδοκυττάριο pH μειώνεται, τόσο επί νορμογλυκαιμίας όσο και επί υπεργλυκαιμίας, σε λιγότερο από 6.0. Κατά τη διάρκεια των πρώτων 15 min της επαναιμάτωσης το ενδοκυττάριο pH μειώνεται σε τιμές μικρότερες των 5.5, μόνο όταν προϋπάρχει υπεργλυκαιμία πριν από το ισχαιμικό συμβάν (66), διότι σε αυτή την περίπτωση αποκαθίσταται η παροχή γλυκόζης σε στιγμή, που ο εγκέφαλος ακόμη μεταβολίζει αναερόβια και εξακολουθούν να συσσωρεύονται γαλακτικά. Πιστεύεται ότι δεν είναι αυτή καθ' εαυτή η ενδοκυττάρια συγκέντρωση γαλακτικών, αλλά το χαμηλό ενδοκυττάριο pH που καταστρέφει το κύτταρο.

Συμπερασματικά, τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης πριν ή κατά την διάρκεια ενός ισχαιμικού επεισοδίου μπορεί να έχουν καταστροφικές συνέπειες για τη νευρολογική έκβαση. Συνιστάται, ως εκ τούτου, να μην χρησιμοποιούνται διαλύματα που περιέχουν γλυκόζη (εκτός αν υπάρχει κίνδυνος υπογλυκαιμίας) και να παρακολουθούνται τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος σε ασθενείς με ισχαιμία ή κίνδυνο ισχαιμίας του εγκεφάλου, όπως ασθενείς α) που ανανήπτουν από καρδιακή ανακοπή, β) που εμφανίζουν Shock ή δυσρυθμίες, γ) που υφίστανται επέμβαση ανοικτής καρδιάς ή αγγειοχειρουργική επέμβαση του εγκεφάλου, δ) που έχουν μεγάλη πιθανότητα να εμφανίσουν αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (67).

Βιοχημικοί δείκτες εγκεφαλικής δυσλειτουργίας

Γαλακτικό

Η αύξηση της συγκέντρωσης γαλακτικού κατά τις καταστάσεις χαμηλής ροής αίματος φανερώνει αναερόβιο μεταβολισμό, λόγω ισχαιμίας, αλλά δεν είναι δείκτης καταστροφής των κυττάρων. Η τεχνική μέτρησής του απαιτεί δείγμα είτε E.N.Y είτε



αίματος από την αρτηρία και από την έσω σφαγίτιδα, για να υπολογισθεί η αρτηριοφλεβική διαφορά της ουσίας και ως εκ τούτου τα γαλακτικά είναι σπάνια επιλογή για τον έλεγχο ισχαιμίας του Κ.Ν.Σ στην καθημέρα κλινική πράξη.

Αδενυλική κινάση

Η αδενυλική κινάση (adenylate kinase) είναι ένα κυτταροπλασματικό ένζυμο (φωσφοτρανσφεράση) των νευρώνων, καθώς και άλλων κυττάρων, όπως π.χ των ερυθροκυττάρων. Βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις και στο Ε.Ν.Υ φυσιολογικών ατόμων. Η συγκέντρωσή του στο Ε.Ν.Υ αυξάνει κατά την ισχαιμική βλάβη του εγκεφάλου. Οι Aberg και συν. πρότειναν τη μέτρηση της δραστηριότητας της αδενυλικής κινάσης στο Ε.Ν.Υ σαν βιοχημικό δείκτη ανίχνευσης δυσλειτουργίας του Κ.Ν.Σ, μετά από εξωσωματική κυκλοφορία, αλλά η μέθοδος δεν βρήκε κλινική εφαρμογή, λόγω της ανάγκης οσφυονωτιαίας παρακέντησης.

Ισοένζυμο ΒΒ της κρεατινφωσφοκινάσης

Το θεωρούμενο ως ειδικό για τον εγκέφαλο ισοένζυμο CK-BB της κρεατινφωσφοκινάσης δεν διαπερνά τον ανέπταφο αιματοεγκεφαλικό φραγμό και, ως εκ τούτου, φυσιολογικά δεν ανιχνεύεται στο Ε.Ν.Υ και τον ορρό του αίματος. Ανιχνεύεται όμως στο Ε.Ν.Υ μετά από εγκεφαλική βλάβη και η δραστηριότητά του αυξάνει παράλληλα με το βαθμό της εγκεφαλικής βλάβης. Όταν η εγκεφαλική βλάβη είναι σοβαρή, το CK-BB μπορεί επίσης να ανιχνευθεί στον ορρό του αίματος, χωρίς όμως να υπάρχει συσχέτιση της δραστηριότητας του CK-BB του ορρού με αυτή του Ε.Ν.Υ. Η συγκέντρωση του CK-BB στο Ε.Ν.Υ ανευρίσκεται υψηλότερη σε ασθενείς που υπέστησαν καρδιακή ανακοπή. Το CK-BB είναι ευαίσθητο στη θερμότητα και έτσι υπάρχει κίνδυνος λανθασμένης εκτίμησης κατά τη μέτρηση του.

Ειδική ενολάση των νευρώνων (NSE)

Η ειδική ενολάση των νευρώνων (NSE) ή γγ-ισοφορμική ενολάση είναι ένα γλυκολυτικό ένζυμο που εντοπίζεται σε νευρώνες και αυξάνει στο Ε.Ν.Υ ασθενών με επιληπτικούς σπασμούς ή οξέα εγκεφαλικά επεισόδια, όπου έχει υψηλή προγνωστική αξία για τη νευρολογική έκβαση. Η αξία του όμως ως γενικού δείκτη εγκεφαλικής βλάβης περιορίζεται από το γεγονός ότι, παρά το ότι χαρακτηρίζεται ειδικό για τον εγκέφαλο, είναι και δείκτης εξωεγκεφαλικών κακοηθειών, όπως των μικροκυτταρικών καρκινωμάτων του πνεύμονα και αυξάνει στο πλάσμα μετά αιμόλυση, ενώ δεν αυξάνει πάντα σε ασθενείς με καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή και σε αυτούς με καρδιοχειρουργική επέμβαση.

Μυελινική βασική πρωτεΐνη (MBP)

Η πρωτεΐνη αυτή δεσμεύεται κυρίως στη μεμβράνη της κεντρικής μυελίνης και φαίνεται να είναι ειδική για την μυελίνη. Εκλύεται στο Ε.Ν.Υ κατά την εγκεφαλική βλάβη και σε απομυελυνωτικές νόσους, ενώ έχει βρεθεί και στο Ε.Ν.Υ νευροχειρουργικών ασθενών, σε τραύμα ή όγκο.

Πρωτεΐνη S-100

Η πρωτεΐνη αυτή υπάρχει σε διάφορες μορφές, με άλφα ή βήτα δομή. Η βήτα υποομάδα είναι εξαιρετικά ειδική για τον εγκέφαλο. Η πρωτεΐνη S-100 μεταβολίζεται στο νεφρό, αποβάλλεται στα ούρα και έχει χρόνο ημίσειας ζωής 2 ώρες. Οι ακριβείς λειτουργίες των πρωτεϊνών S-100 δεν είναι καλά γνωστές. Η πλειοψηφία των μορίων αυτών δρουν ως ενδοκυττάριοι υποδοχείς ασβεστίου.



Φυσιολογικά η πρωτεΐνη S-100 δεν ανιχνεύεται στον ορρό. Αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης ανιχνεύονται σε παθολογικές καταστάσεις όπως στην νόσο Alzheimer, σε υπαραχνοειδή αιμορραγία, μετά καρδιακή ανακοπή, μετά κρανιοεγκεφαλική κάκωση, σε χρόνιες νευρολογικές ανωμαλίες και μετά από οξύ ισχαιμικό επεισόδιο. Τα υψηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης S-100 καταγράφηκαν την τρίτη ημέρα μετά την ισχαιμική προσβολή και η συγκέντρωση της πρωτεΐνης συσχετίζεται με το βαθμό της εγκεφαλικής βλάβης.

Monitoring εγκεφαλικής οξυγόνωσης και μεταβολισμού

Ο εγκέφαλος είναι, όπως αναφέρθηκε, πολύ ευαίσθητος στην ισχαιμία, εξαιτίας της μεγάλης κατανάλωσης O_2 , αλλά και λόγω της σχεδόν αποκλειστικής εξάρτησης του από τον αερόβιο μεταβολισμό της γλυκόζης. Ως εκ τούτου είναι αναγκαίος ο έλεγχος της εγκεφαλικής οξυγόνωσης σε περίπτωση ισχαιμίας, καθώς και σε επεμβάσεις που δυνητικά μπορούν να επηρεάσουν την CBF, με επακόλουθο νευρολογικές διαταραχές.

Εχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες μέθοδοι εκτίμησης της εγκεφαλικής οξυγόνωσης. Κάθε μία από αυτές μετρά διαφορετική παράμετρο, που δίνει μόνο έμμεσες πληροφορίες για την οξυγόνωση του εγκεφάλου:

√ Ο κορεσμός του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού

Το monitoring του $SjvO_2$ επιτρέπει την συνεχή εκτίμηση της σχέσης προσφοράς / απαιτήσεων O_2 στον εγκέφαλο. Η σχέση μεταξύ της CBF και του $CMRO_2$ περιγράφεται από την τροποποιημένη εξίσωση του Fick: $CMRO_2 = CBF \times A-JDO_2$. Ο συνεχής έλεγχος του $SjvO_2$ είναι ιδιαίτερα χρήσιμος για την πρόληψη επικείμενης ολικής εγκεφαλικής ισχαιμίας, αλλά προσφέρει και τη δυνατότητα ελέγχου της αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών παρεμβάσεων. Η ανάλυση του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού μπορεί θεωρητικά να προβλέψει την εγκεφαλική ισχαιμία, δίνοντας πληροφορίες για τον αποκορεσμό της Hb σε O_2 , τον μεταβολικό ρυθμό του εγκεφάλου, το PH, τη γλυκόζη, το γαλακτικό και άλλες ουσίες μας.

√ Το ηλεκτροεγκεφαλογράφημα

Η ισχαιμία, όπως και κάθε κατάσταση που επηρεάζει τον μεταβολισμό του εγκεφάλου αντανακλάται στο ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (HEΓ). Οι κυματομορφές του HEΓ είναι το άθροισμα των διεγερτικών και ανασταλτικών συναπτικών δυναμικών, που παράγονται από τα κύτταρα του εγκεφαλικού φλοιού, επηρεαζόμενα από τις ρυθμικές εκπολώσεις του θαλάμου. Βασική αρχή είναι ότι η HEΓ καταγραφή από ένα ηλεκτρόδιο αντιπροσωπεύει την ηλεκτρική δραστηριότητα της άμεσα υποκείμενης περιοχής του εγκεφάλου.

√ Τα προκλητά δυναμικά

Τα αισθητικά προκλητά δυναμικά είναι η ηλεκτροφυσιολογική εκδήλωση της απάντησης του νευρικού συστήματος σε αισθητικά ερεθίσματα και χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της λειτουργίας των νευρώνων. Τα σωματοαισθητικά προκλητά δυναμικά (SEPs) χρησιμοποιούνται στις επεμβάσεις του σπονδυλικού σωλήνα και του νωτιαίου μυελού, ενώ τα ακουστικά προκλητά δυναμικά στις επεμβάσεις του οπισθίου κρανιακού βόθρου και τα οπτικά προκλητά δυναμικά στις επεμβάσεις κοντά στο οπτικό νεύρο ή το οπτικό χίασμα.



√ Το διακρανιακό doppler

Η διακρανιακή doppler υπερηχογραφία (Transcranial Doppler Sonography, TCD) είναι μία μη επεμβατική τεχνική μέτρησης των μεταβολών της αιματικής ροής στις αρτηρίες του εγκεφάλου. Το φάσμα των μεταβολών της ροής αντανακλά στενά τις μεταβολές της CBF, άσχετα με την αυτορρύθμιση ή τον εγκεφαλικό μεταβολισμό. Η διαστολική κυματομορφή είναι ευαίσθητη στις μεταβολές της CCP, ήτοι η διαστολική ταχύτητα ροής είναι στενά συσχετισμένη με την λειτουργία των νευρώνων.

√ Υπέρυθρη φασματοσκοπία

Η υπέρυθρη φασματοσκοπία (near infrared spectroscopy) είναι μία μη επεμβατική τεχνική, με την οποία ελέγχεται άμεσα η οξυγόνωση του εγκεφάλου. Βασίζεται στο γεγονός ότι το φως με μήκος κύματος 650-1100 nm διαπερνά τους ανθρώπινους ιστούς, χωρίς να απορροφάται από αυτούς, απορροφάται όμως εν μέρει από την αιμοσφαιρίνη και μάλιστα η οξυαιμοσφαιρίνη παρουσιάζει μέγιστο απορρόφησης σε διαφορετικό μήκος κύματος από ό,τι η δεοξυαιμοσφαιρίνη. Η τεχνική αυτή προσφέρει την δυνατότητα συνεχούς εκτίμησης της προσφοράς και της χρησιμοποίησης O₂ στον εγκέφαλο καθώς και της επίδρασης των διαφόρων θεραπευτικών παρεμβάσεων και παθολογικών καταστάσεων.

√ Η εγκεφαλική μικροδιάλυση

Η εγκεφαλική μικροδιάλυση είναι μία πρόσφατη επεμβατική τεχνική, με την οποία γίνεται βιοχημική ανάλυση του μεσοκυττάριου υγρού του εγκεφάλου. Οι μετρήσεις της συγκέντρωσης διαφόρων ουσιών στο εξωκυττάριο υγρό του εγκεφάλου γίνονται σε δείγματα που λαμβάνονται με ειδική τεχνική (μέσω ιστικού καθετήρα). Ετσι μπορούν να προσδιορίζονται οι μεταβολές της συγκέντρωσης ουσιών -όπως γλυκίνη, κατεχολαμίνες, γλυκόζη, γαλακτικό, δεσμευτές EPO₂, γλουταμίνης και ασπαρτάμης- κατά την ισχαιμία ή την υποξία.

√ Συστήματα θερμικών μετρήσεων

Τα συστήματα αυτά ελέγχουν επεμβατικά, με θερμίστορα που τοποθετείται στην επιφάνεια του εγκεφαλικού φλοιού, τις μεταβολές της CBF. Η θερμότητα που παρέχεται στον εγκεφαλικό ιστό μεταβάλλεται με ρυθμό ανάλογο με την άρδευση του ιστού.

√ Ροομετρία με Laser doppler

Η ροομετρία με laser doppler μετρά, μετά από κρανιοτομία, την περιοχική ροή στον φλοιό του εγκεφάλου ή τον υποφλοιώδη εγκεφαλικό ιστό. Η μέθοδος μπορεί επιπρόσθετα να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της εγκεφαλικής αυτορρύθμισης, υπό την προϋπόθεση ότι διατηρείται η CBF σε κανονικά επίπεδα, με ρύθμιση της CCP και του αερισμού. Τα επίπεδα ροής, στα οποία η μέθοδος υποδεικνύει εγκεφαλική ισχαιμία δεν είναι ακόμη επαρκώς προσδιορισμένα.

√ Η μέτρηση της CBF με ραδιενεργό xenon 133

Η άκρως εξειδικευμένη αυτή μέθοδος απαιτεί «Xenon spect scan» και αξονικό τομογράφο.



✓ Μετρήσεις των ιστικών PO_2 , PCO_2 και pH

Πρόκειται για επεμβατική συνεχή μέθοδο μέτρησης των ιστικών PO_2 , PCO_2 ($PtiO_2$, $PtiCO_2$ και pH , με πολαρογραφικό μικροαισθητήρα, ο οποίος τοποθετείται μετά από κρανιοανάτρωση στο εγκεφαλικό παρέγχυμα. Ο καθετήρας τοποθετείται σε περιοχή που κινδυνεύει να ισχαιμήσει και όχι σε νεκρωμένο ιστό. Οι μετρήσεις αυτές γίνονται κατά την διάρκεια παροδικής εγκεφαλικής ισχαιμίας και επιτρέπουν την εκτίμηση της ρυθμιστικής ικανότητας του εγκεφαλικού ιστού (buffering capacity), π.χ κατά την προσωρινή απόφραξη της καρωτίδας ή ενός ενδοκρανιακού αγγείου για την τοποθέτηση clip σε ενδοκρανιακό ανεύρυσμα.

Η εφαρμογή της μεθόδου αυτής βοήθησε στην αποσαφήνιση αρκετών σκοτεινών σημείων της παθοφυσιολογίας της εγκεφαλικής βλάβης και στην έγκαιρη διάγνωση των επιπλοκών, αλλά και στην τροποποίηση θεραπευτικών πρωτοκόλλων σε ασθενείς με εγκεφαλική ισχαιμία.

Κλινική σημασία της αύξησης των επιπέδων του γαλακτικού στο πλάσμα

Μέχρι σήμερα δεν είναι δυνατή η μέτρηση των απαιτήσεων των ιστών σε O_2 . Στην κλινική πράξη η ιστική υποξία εκτιμάται είτε με τη μέτρηση γαλακτικού οξέος, του οποίου η συγκέντρωση είναι ανάλογη με το ρυθμό του αναερόβιου μεταβολισμού, είτε με τη μέτρηση της αιματικής ροής. Η αύξηση της συγκέντρωσης γαλακτικού στο αίμα δηλώνει διαταραχή της ομοιοστασίας του οργανισμού που συνοδεύεται από σοβαρού βαθμού μεταβολική οξέωση. Είναι σημαντικό να τονισθεί ότι υπεύθυνα για την οξέωση δεν είναι τα ιόντα γαλακτικού αλλά τα ιόντα υδρογόνου (H^+) που παράγονται κατά τις διαδοχικές αντιδράσεις αποικοδόμησης του ATP και του αναερόβιου μεταβολισμού.

Οι Coep και συν. ταξινομήσαν την γαλακτική οξέωση σε *τύπου Α*, η οποία είναι συνέπεια της ανεπαρκούς αιμάτωσης των ιστών και σε *τύπου Β*, η οποία προκύπτει από άλλες μεταβολικές διαταραχές, όπως η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων και η αδυναμία χρησιμοποίησης O_2 , με επακόλουθο την άθροιση NADH και H^+ .

Αυξημένη παραγωγή γαλακτικού οξέος προκαλείται ακόμη και όταν η ισχαιμία του εγκεφάλου είναι μικρής διάρκειας. Η οξέωση του εγκεφαλικού ιστού συνεπάγεται αγγειοκινητική παράλυση, που καταλήγει σε πλήρη απώλεια της αυτορρύθμισης της αιματικής ροής και υπεραϊμία, ως και αδυναμία αντίδρασης στο CO_2 . Επακόλουθο της διαταραχής αυτής είναι η κακή κατανομή της ροής αίματος και η ανάπτυξη περιοχών με υπερβολική αιμάτωση και συγχρόνως άλλων με περιορισμένη αιμάτωση, ενώ η συνολική αιματική ροή μπορεί να είναι φυσιολογική. Η πρόσμιξη του φλεβικού αίματος περιοχών με ισχαιμία με το αίμα από περιοχές χωρίς ισχαιμία ή υπεραϊμάτωση καταλήγει σε φυσιολογικές τιμές $SjvO_2$.

Η γαλακτική οξέωση που είναι αποτέλεσμα βαριάς άσκησης ή σπασμών υποχωρεί συνήθως γρήγορα με τον τερματισμό της άσκησης ή των σπασμών (χρόνος ημίσειας ζωής 60 min), ακόμη και αν είναι σοβαρού βαθμού. Αντίθετα η γαλακτική οξέωση που είναι αποτέλεσμα shock έχει παρατεταμένη διάρκεια (~18 ώρες), ακόμη και μετά επιθετική αντιμετώπιση της κυκλοφορικής ανεπάρκειας. Το ποσό του γαλακτικού που παράγεται είναι ανάλογο με τη την σοβαρότητα του shock και το συνολικό έλλειμμα O_2 . Για να αυξηθεί η συγκέντρωση του γαλακτικού στο αρτηριακό αίμα θα πρέπει όχι μόνο να αθροισθεί στους ιστούς και να εισέλθει στην κυκλοφορία, αλλά και η ταχύτητα παραγωγής του να υπερβαίνει την πρόσληψή του από το ήπαρ, τους νεφρούς και τους σκελετικούς μύες.



Η περιοχική συγκέντρωση γαλακτικού στο φλεβικό αίμα των διαφόρων οργάνων είναι πιο αξιόπιστος δείκτης αναερόβιου μεταβολισμού από ό,τι η αρτηριακή συγκέντρωση γαλακτικού (R. Park et al 1983). Μπορεί να υπολογιστεί από μετρήσεις της ροής αίματος στο όργανο και την αρτηριοφλεβική διαφορά γαλακτικών. Οπωσδήποτε, οι μετρήσεις της παραγωγής γαλακτικών σε όλο τον οργανισμό είναι δυνατόν να διαστρεβλώσουν την πραγματική κατάσταση των ανοξικών ιστών, εξ αιτίας του ότι αυτή η παράμετρος επηρεάζεται από μεταβολές στην συγκέντρωση γαλακτικών στους ιστούς και στην απομάκρυνσή τους. Επιπλέον η κινητική της συγκέντρωσης γαλακτικών στο αίμα είναι δύσκολο να προβλεφθεί, λόγω του ότι τα γαλακτικά απελευθερώνονται από το ήπαρ σε απάντηση στις κυκλοφορούσες κατεχολαμίνες ενώ ταυτόχρονα μεταβολίζονται από διάφορα όργανα.

Άλλες μεταβολές μετά την ισχαιμία

Εγκεφαλική αιματική ροή

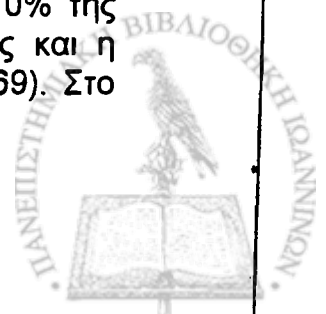
Η επαναιμάτωση του εγκεφάλου, μετά την αποκατάσταση της CPP, είναι ανομοιογενής. Αυτό οφείλεται πιθανώς στην ποικίλη αντίσταση, που αναπτύσσεται στις διάφορες αγγειακές κοίτες, καθότι αυτές επηρεάζονται κατά διαφορετικό τρόπο από τον αγγειόσπασμο, την αυξημένη τοπική πίεση των ιστών, την συμπίεση των τριχοειδών, την ενδαγγειακή πήξη κ.ά., ιδιαίτερα στις εκλεκτικά ευαίσθητες περιοχές. Παρά την διπλάσια ή τριπλάσια αύξηση στην CBF αμέσως μετά την ισχαιμία (68), μερικές περιοχές του εγκεφάλου δεν αιματώνονται καθόλου, ενώ μέρος του αίματος εκτρέπεται μέσω αρτηριοφλεβικών αναστομώνσεων. Φαίνεται ότι οι διάφορες περιοχές του εγκεφάλου έχουν διαφορετικές «οριακές πιέσεις επαναιμάτωσης» (critical reperfusion pressures).

Εγκεφαλικό pH

Το pH του εγκεφαλικού ιστού πειραματοζώων και συγκεκριμένα του επίμυα πέφτει, κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας, περίπου κατά μία μονάδα από την αρχική τιμή των 7. Στην φάση της επαναιμάτωσης το pH πέφτει ακόμη περισσότερο για μισή περίπου μονάδα πριν αρχίσει να επιστρέφει στα επίπεδα ελέγχου. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο ότι κατά την επαναιμάτωση αυξάνεται η συσσώρευση γαλακτικού οξέος, εξαιτίας αφενός αύξησης της παραγωγής του από την προσαγόμενη γλυκόζη και αφετέρου δυσανάλογη απομάκρυνση ή οξείδωση του συσσωρευμένου γαλακτικού οξέος, καθότι η διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού στην γλυκόζη είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με αυτή του γαλακτικού οξέος. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδεικνύουν επίσης ότι η γαλακτική οξέωση ευθύνεται εν πολλοίς για τα περισσότερα καταστρεπτικά αποτελέσματα της ατελούς, σε σύγκριση με την πλήρη, ισχαιμίας (Nemoto 1978).

Μεταβολισμός του εγκεφάλου

Κατά την αποκατάσταση της κυκλοφορίας ο $CMRO_2$ μειώνεται στο 50-70% της τιμής ελέγχου (προ της ισχαιμίας) για τα πρώτα 30 min επαναιμάτωσης και η ελάττωση αυτή είναι ανάλογη με το βαθμό της νευρολογικής βλάβης (68, 69). Στο διάστημα όμως 30-60 min επαναιμάτωσης ο $CMRO_2$ σχεδόν τριπλασιάζεται.



Ισχαιμικό / Υποξικό εγκεφαλικό οίδημα

Η γαλακτική οξέωση και η είσοδος ασβεστίου και νατρίου στα νευρικά κύτταρα προκαλούν κυτταρικό οίδημα, το οποίο αυξάνει την ενδοκράνια πίεση. Το οίδημα και η ενδοκράνια υπέρταση επιδεινώνονται από τη ρήξη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού στη περιοχή της ισχαιμικής βλάβης. Το εγκεφαλικό οίδημα από ισχαιμία έχει στοιχεία κυτταροτοξικού και αγγειογενούς οιδήματος.

Το **κυτταροτοξικό εγκεφαλικό οίδημα** είναι ενδοκυττάρια διεργασία που αφορά κυρίως τα αστροκύτταρα και οφείλεται σε έλλειψη ενέργειας. Η διεργασία αρχίζει όταν η CBF ελαττωθεί κάτω από το 40% της φυσιολογικής τιμής, ενώ όταν η CBF ελαττωθεί κάτω από το 20% ανεπαρκής η αντλία ιόντων της κυτταρικής μεμβράνης με συνέπεια την έξοδο καλίου και την είσοδο ασβεστίου που ενεργοποιεί τους μηχανισμούς καταστροφής. Επειδή οι ουδοί της ισχαιμικής βλάβης ποικίλουν στις διάφορες περιοχές του εγκεφάλου, συγκεκριμένες περιοχές αναπτύσσουν σοβαρή ισχαιμική βλάβη και οίδημα, ενώ άλλες όχι. Η εξοίδηση των κυττάρων επιδεινώνεται επιπρόσθετα, εξαιτίας της δυσλειτουργίας της αντλίας Na^+ .

Το **αγγειογενές εγκεφαλικό οίδημα** οφείλεται σε διαταραχή του αιματοεγκεφαλικού φραγμού που επιτρέπει την εξαγγείωση νατρίου, ύδατος και πρωτεϊνών στον διάμεσο χώρο (70) και χειροτερεύει το υπάρχον κυτταροτοξικό οίδημα. Με την εξέλιξη της ισχαιμικής βλάβης και την έναρξη νεκρωτικών αλλοιώσεων, ο εξωκυττάριος χώρος διογκώνεται γρήγορα σαν αποτέλεσμα κατάτμησης των μεμβρανών των κυττάρων. Όλα αυτά οδηγούν σε σημαντική αύξηση της ωσμωτικότητας του εξωκυττάριου χώρου, με αποτέλεσμα την περαιτέρω αύξηση της περιεκτικότητας σε νερό και αύξηση της ιστικής πίεσης. Ως συνέπεια των αλλοιώσεων αυτών προκύπτει ελάττωση της αιμάτωσης κάτω από τον κρίσιμο ουδό βιωσιμότητας και επέκταση της περιοχής με την μη αναστρέψιμη βλάβη.

Όταν αρχίσει η ανάπτυξη του εγκεφαλικού οιδήματος συχνά τίθενται σε λειτουργία δύο φαύλοι κύκλοι, εξ αιτίας των ακόλουθων μηχανισμών θετικής ανάδρασης: 1) Το ιστικό οίδημα συμπιέζει τα αιμοφόρα αγγεία, με επακόλουθο την ελάττωση της αιμάτωσης και ισχαιμία του εγκεφάλου. Η ισχαιμία προκαλεί διαστολή των αρτηριδίων, με αποτέλεσμα αύξηση της ενδοτριχοειδικής πίεσης και της παραγωγής περισσότερου οιδηματικού υγρού. Έτσι, το οίδημα καθίσταται προοδευτικά βαρύτερο. 2) Η ελάττωση της αιμάτωσης συνεπάγεται μείωση της απόδοσης O_2 στον ιστό. Αυτό προκαλεί αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών, με αποτέλεσμα την εξαγγείωση μεγαλύτερης ποσότητας υγρού.

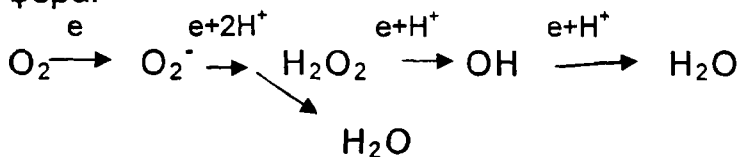
Σχηματισμός ελευθέρων ριζών οξυγόνου

Οι ελεύθερες ρίζες είναι μόρια, άτομα ή ιόντα με ένα ασύζευκτο / μονήρες ηλεκτρόνιο στην εξωτερική στοιβάδα του ηλεκτρονικού φλοιού τους, δηλ. στη στοιβάδα σθένους (71,72). Η ηλεκτρονική αυτή δομή με το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο καθιστά τις ελεύθερες ρίζες εξαιρετικά αντιδραστικές χημικές μορφές, διότι - προκειμένου να επιτύχουν την αποκατάσταση σταθερής ηλεκτρονικής δομής ζεύγους ηλεκτρονίων με εξισορροπούμενα spin- αντιδρούν με οποιοδήποτε γειτονικό μόριο, από το οποίο αποσπών ένα ηλεκτρόνιο. Το μόριο που προσβάλλεται οξειδώνεται και αλλοιώνεται.

Το 98% του O_2 που φθάνει στα κύτταρα υφίσταται σταδιακή ελεγχόμενη τετρασθενή αναγωγή σε H_2O μέσα στα μιτοχόνδρια, προσλαμβάνοντας τέσσερα ηλεκτρόνια από την κυτοχρωμοξειδάση (μεταβιβαζόμενα σε αυτή από τον κύκλο του



Krebs, μέσω των ενζύμων της αναπνευστικής αλυσίδας). Κατά την διάρκεια της διαδικασίας αυτής σχηματίζονται δραστικά ενδιάμεσα χημικά προϊόντα, οι ονομαζόμενες δεσμευμένες ρίζες οξυγόνου, οι οποίες παραμένουν συνδεδεμένες στα ενεργά κέντρα των οξειδοαναγωγικών ενζύμων της αναπνευστικής αλυσίδας και δεν αποτελούν κίνδυνο για το κύτταρο. Αντίθετα, το 2% του O_2 που φθάνει στα κύτταρα υφίσταται μονοσθενή αναγωγή με την πρόσληψη ενός ηλεκτρονίου κάθε φορά:



Η μονοσθενής αναγωγή του O_2 γίνεται σε θέσεις που δεν συνδέονται με την αναπνευστική αλυσίδα. Έτσι, οι ρίζες του οξυγόνου που σχηματίζονται ανεξέλεγκτα, δεν είναι συνδεδεμένες σε συγκεκριμένες θέσεις, γι' αυτό ονομάζονται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (EPO_2). Οι ρίζες αυτές εξυπηρετούν διάφορους διαδικασίες ζωτικής σημασίας, όπως ο μεταβολισμός των λιπιδίων, η κυτταρική αναπνοή, η παραγωγή προσταγλανδινών και λευκοτριενίων, η φαγοκυττάρωση και η ανοσολογική απάντηση.

Σε συνθήκες υπεροξίας ή υποξίας, καθώς και κατά τη φλεγμονή, τον μεταβολισμό φαρμάκων και δηλητηρίων, τα σύνδρομα ισχαιμίας / επαναιμάτωσης και τη επίδραση ιονίζουσας ακτινοβολίας λαμβάνει χώρα ανεξέλεγκτη ατελής αναγωγή του O_2 , με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Όταν η ενδοκυτταρική παραγωγή EPO_2 υπερκεράσει το αντιοξειδωτικό δυναμικό του κυττάρου επέρχεται βλάβη θεμελιωδών συστατικών των κυττάρων και διαταραχή της κυτταρικής λειτουργίας αρχικά και κυτταρικός θάνατος στην συνέχεια. Η υδροξυλική ρίζα (OH^\cdot) κατά κύριο λόγο και το ανιόν σουπεροξειδίου (O_2^\cdot) παριστούν τις πιο κυτταροτοξικές EPO_2 , ενώ το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), το οποίο δεν είναι ρίζα, παριστά δυνητικά τοξικό μεταβιολίτη του O_2 , διότι (όντας σταθερό και διαπερνώντας την κυτταρική μεμβράνη) μεταφέρεται εκτός του κυττάρου, όπου δίδει γένεση σε OH^\cdot , επεκτείνοντας το οξειδωτικό stress.

Οι κύριες θέσεις παραγωγής EPO_2 είναι οι δεξαμενές του λείου ενδοπλασματικού δικτύου και τα μιτοχόνδρια και, κατά δεύτερον λόγο, οι θέσεις του κυτταροπλάσματος, όπου γίνεται η οξείδωση των κατεχολαμινών. Ο σχηματισμός EPO_2 προκύπτει από την ενεργοποίηση ευρείας ομάδας οξειδωτικών ενζύμων. Η θεμελιώδης αντίδραση με την οποία παράγονται EPO_2 κατά την ισχαιμία / επαναιμάτωση είναι η οξείδωση της ξανθίνης, μέσω της ξανθινοξειδάσης.

Ευαίσθητα στην προσβολή των EPO_2 είναι κατά πρώτο λόγο τα πολυακόρεστα λιπίδια, τα οποία υπεροξειδώνονται με αυτονομούμενες αλυσωτές αντιδράσεις υπεροξειδώσεων, αλλά και πρωτεΐνες με σουλφυδρυλικές ομάδες ($-SH$), όπως ένζυμα ζωτικής σημασίας, τα οποία αδρανοποιούνται και το DNA, το οποίο υφίσταται μετάλλαξη. Οι βιολογικές μεμβράνες αποτελούν κύριο στόχο των EPO_2 , επειδή τα λιπίδια αποτελούν βασικά συστατικά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και της μεμβράνης των οργανυλίων. Το νευρικό σύστημα είναι ιδιαίτερα ευάλωτο στη βλάβη από EPO_2 , για λόγους βιοχημικούς, φυσιολογικούς και ανατομικούς. Αυτοί οι λόγοι είναι:

- έντονη οξειδωτική μεταβολική δραστηριότητα.



- υψηλές συγκεντρώσεις υποστρωμάτων που εύκολα οξειδώνονται και ιδιαίτερα τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των λιπιδίων των μεμβρανών.
- χαμηλά επίπεδα προστατευτικών αντιοξειδωτικών ενζύμων, και συγκεκριμένα της καταλάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης.
- ενδογενή παραγωγή EPO_2 με ειδικές νευροχημικές αντιδράσεις, όπως για παράδειγμα η οξείδωση της ντοπαμίνης.
- υψηλός λόγος επιφανείας μεμβράνης / κυτταροπλασματικού όγκου.
- εκτεταμένο αξονικό δίκτυο ευπρόσβλητο σε περιφερική βλάβη.
- τα νευρωνικά κύτταρα δεν αναπαράγονται.

Οι αλυσωτές αντιδράσεις υπεροξειδώσεως των λιπιδίων, κατά τις οποίες αναπαράγονται συνεχώς ρίζες λιπιδίων, καταστρέφουν τις βιολογικές μεμβράνες, ενώ η ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A_2 πυροδοτεί τον καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος, κατά τον οποίο παράγονται προσταγλανδίνες, θρομβοξάνες, λευκοτριένια και ελεύθερες ρίζες υδροϋπεροξειδίων, δηλαδή ανοίγει άλλον ένα μηχανισμός αδυσώπητης κυτταρικής βλάβης. Η βλάβη της μιτοχονδριακής μεμβράνης συνεπάγεται μείωση των λειτουργιών και υπερφόρτωση των μιτοχονδρίων με ιόντα Ca^{++} , καθώς επίσης και ελάττωση της συνθέσεως του ATP (73). Οι ελεύθερες ρίζες του εξωκυττάρου χώρου προκαλούν εξάλλου αλλοίωση του υαλουρονικού οξέος και του κολλαγόνου. Πέραν τούτου, οι βλάβες αυτές οδηγούν σε βιοχημικές και δομικές αλλοιώσεις των ενδοθηλιακών κυττάρων, με αποτέλεσμα αυξημένη τριχοειδική διαπερατότητα και δημιουργία ιστικού οιδήματος. Τελικά επέρχεται νέκρωση της ισχαιμικής περιοχής.

Οι κυριότεροι προασπιστικοί έναντι των EPO_2 μηχανισμοί του κυττάρου είναι ένζυμα, αλλά και μη ενζυμικές ουσίες και ονομάζονται δεσμευτές ή εκκαθαριστές EPO_2 (Free Radical Scavengers, FRS). Ένζυμα είναι η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT) και η υπεροξειδάση του γλουταθειού, ενώ μη ενζυμικές ουσίες είναι το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), η γλουταθειόνη, η L-μεθιονίνη, η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E), κ.ά.. Εξάλλου σήμερα είναι γνωστές πολλές ουσίες με FRS -δράση, που μπορούν να χορηγηθούν εξωγενώς ως φάρμακα σε ερευνητικό επίπεδο. Γνωστοί FRS για το νευρικό κύτταρο είναι Πιν:4.

Πιν.4: Δεσμευτές των ελευθέρων ριζών οξυγόνου	
Ενζυματικοί:	Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) Καταλάση (CAT)
Μη Ενζυμικοί:	Αλλοπουρινόλη Dimethyl sulfoxide (DMSO) Dimethylthioyrea (DMTU) Deferoxamine Μαννιτόλη
Υδρόφιλοι:	Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) Γλουταθειόνη peroxide
Υδρόφοβοι:	L-μεθιονίνη α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E) Βαρβιτουρικά

Αιματοεγκεφαλικός φραγμός και μικροκυκλοφορία - Η ενδοκράνια πίεση

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών του εγκεφάλου αποτελούν φραγμό για τις πρωτεΐνες και τις περισσότερες πολικές ενώσεις.



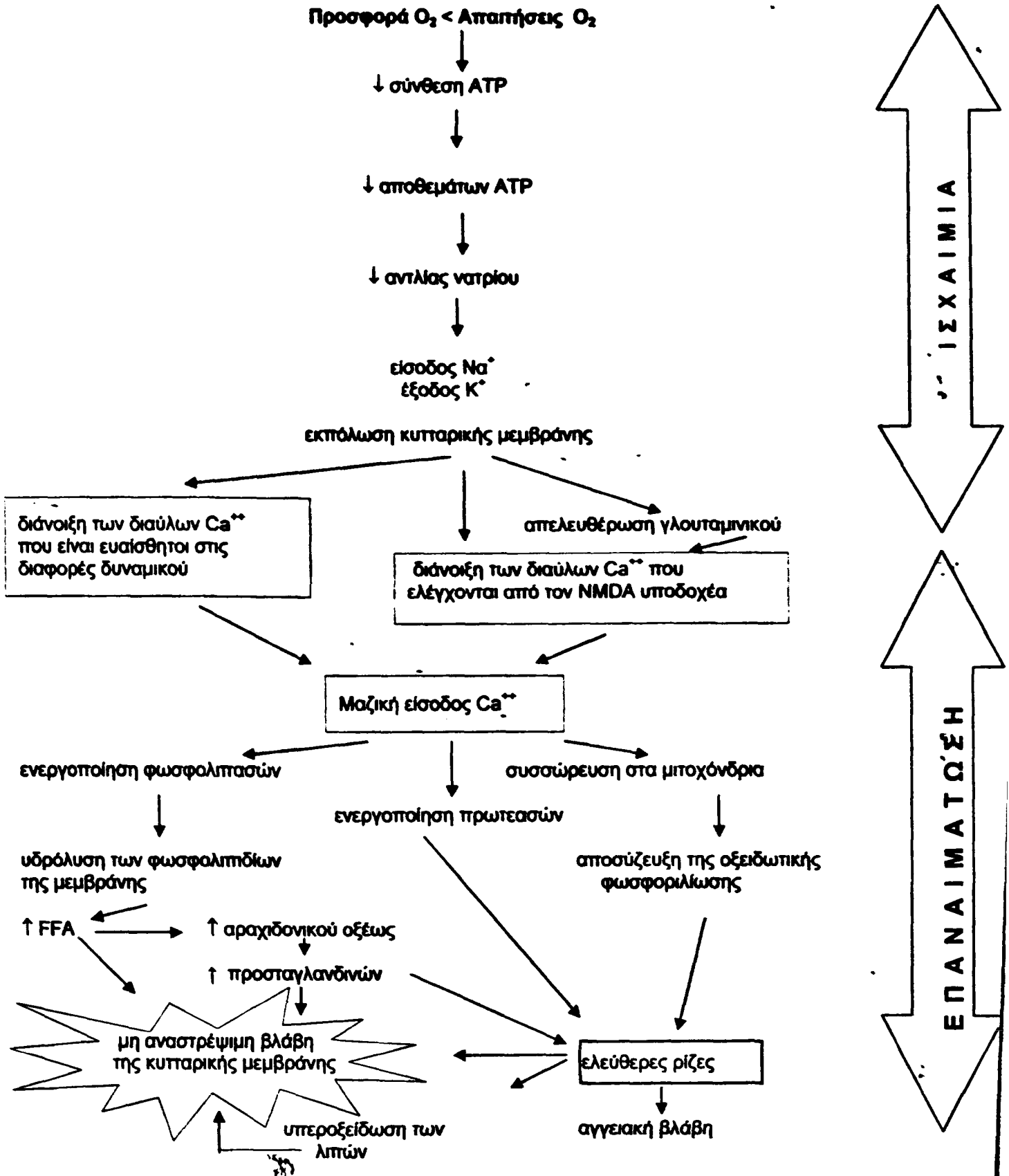
Στα αρχικά στάδια της ισχαιμίας προκύπτει ενδοκυττάριο οίδημα, λόγω στέρσης του ιστού σε γλυκόζη και O_2 και έτσι έλλειψης ενέργειας (οξεία διαταραχή της κυτταρικής οσμωρύθμισης). Η διεργασία αυτή αρχίζει όταν η CBF ελαττωθεί κάτω από το 40% της φυσιολογικής τιμής, και αφορά τα αστροκύτταρα (κυτταροτοξικό εγκεφαλικό οίδημα). Όπως ήδη αναφέρθηκε, όταν η CBF ελαττωθεί κάτω από το 20%, ανεπαρκεί η αντλία ιόντων της κυτταρικής μεμβράνης, γεγονός που συνεπάγεται την είσοδο ασβεστίου στο κύτταρο και ενεργοποίηση μηχανισμών καταστροφής. Εκ παραλλήλου προκύπτει διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού στην περιοχή της ισχαιμικής προσβολής, η οποία αποκαθίσταται μετά από 19-22 ημέρες, ανάλογα με την ηλικία του ατόμου (Baloyannis και Gonatas 1979). Η διάσπαση αυτή του αιματοεγκεφαλικού φραγμού επιτρέπει την εξαγγείωση νατρίου, ύδατος και πρωτεϊνών στο διάμεσο χώρο (αγγειογενές οίδημα). Το αγγειογενές εγκεφαλικό οίδημα σχηματίζεται συνήθως στην φαιά ουσία αλλά συγκεντρώνεται στη λευκή που έχει μεγαλύτερη ευενδοτότητα (74). Το οίδημα αυξάνει την ενδοκράνιο πίεση και η ενδοκράνιος υπέρταση επηρεάζει δυσμενώς την κυκλοφορία του αίματος στον εγκέφαλο και την υδροδυναμική του εγκεφαλονωτιαίου υγρού.

Η ηυξημένη ενδοκράνιο πίεση προκαλεί - εκτός των αιμοδυναμικών διαταραχών - και σοβαρές μετατοπίσεις της εγκεφαλικής μάζης από τον υπερσκληνίδιο προς τον υποσκληνίδιο χώρο, οριζοντίους μετατοπίσεις υπό το δρέπανο και τραγικές μετατοπίσεις από τον οπίσθιο κρανιακό βόθρο προς τον υπαραχνοειδή χώρο του νωτιαίου μυελού δια μέσου του ινιακού τρήματος, με συνέπεια τον στραγγαλισμό της εγκεφαλικής κυκλοφορίας και τον εγκεφαλικό θάνατο.

Μηχανισμός βλάβης του εγκεφαλικού ιστού κατά την επαναιμάτωση

Η βλάβη των ιστών κατά την ισχαιμία και την ιστική υποξία επέρχεται τόσο κατά την εξέλιξη της ισχαιμικής νόσου, λόγω εξάντλησης των ενεργειακών αποθεμάτων του κυττάρου (75), όσο και κατά την επαναιμάτωση του προηγουμένως ισχαιμικού ιστού, που δεν έχει ακόμα νεκρωθεί, παρά την παρουσία άφθονου O_2 (reperfusion - reoxygenation injury) (73,76). Η βλάβη του εγκεφαλικού ιστού κατά την φάση της επανακυκλοφορίας, προκαλείται από διάφορα τοξικά μεταβολικά προϊόντα, που παράγονται κατά τη φάση αυτή, όπως οι EPO_2 και τα προϊόντα του αραχιδονικού οξέος (77). Στην παραγωγή των μεταβολικών αυτών προϊόντων συμβάλλει η αυξημένη συγκέντρωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου (78). Σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της βλάβης των ιστών κατά τη φάση της επαναιμάτωσης φαίνεται ότι διαδραματίζουν εξάλλου τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, τα οποία συσσωρεύονται στα τριχοειδή της επαναιματωθείσας περιοχής (79). Η δράση όλων αυτών των παραγόντων έχει ως αποτέλεσμα την καταστροφή των ενδοθηλιακών κυττάρων, την αυξημένη διαπερατότητα των τριχοειδών και την δημιουργία διάμεσου ιστικού οιδήματος (80) και τέλος τη νέκρωση της ισχαιμικής περιοχής (Σχ. 17).

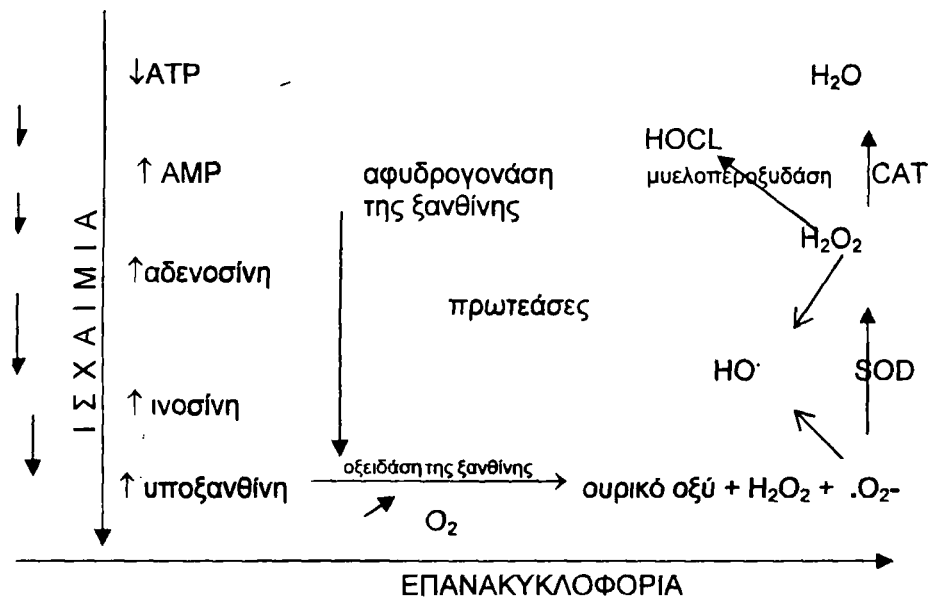




Σχ.17 Σχέση μεταξύ των κυτταρικών μεταβολών που συμβαίνουν κατά την διάρκεια της ισχαιμίας και κατά την φάση της επαναιμάτωσης, που οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο.



Κατά την ισχαιμική περίοδο συγκεντρώνονται μεγάλες ποσότητες υποξανθίνης από την αποικοδόμηση του ATP προς αδενινονουκλεοτίδια και τελικά βάσεις πουρίνης. Κατά την ίδια περίοδο εξάλλου η αφυδρογονάση της ξανθίνης μετατρέπεται σε οξειδάση της ξανθίνης. Η συγκέντρωση αφυδρογονάσης της ξανθίνης στον εγκεφαλικό ιστό είναι χαμηλή, αλλά το ένζυμο αυτό είναι παρόν στα μικροαγγεία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Η συσσωρευμένη στα κύτταρα υποξανθίνη μετατρέπεται κατά την διάρκεια της επαναιμάτωσης σε ξανθίνη και ουρικό οξύ από την οξειδάση της ξανθίνης, ανάγοντας το άφθονα προσφερόμενο μοριακό O_2 σε ρίζες σουπεροξειδίου ($\cdot O_2^-$): Υποξανθίνη + O_2 + $X.O \Rightarrow$ ουρικό οξύ + $\cdot O_2^-$ + H_2O_2

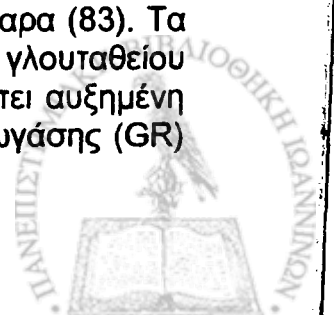


Μηχανισμός της παραγωγής των EPO_2 κατά την επανακυκλοφορία

Αυτή είναι και η κύρια πηγή ριζών σουπεροξειδίου από το οποίο παράγονται η υδροξυλική ρίζα και το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Η αντιδραστικότερη και τοξικότερη των EPO_2 ρίζα $OH\cdot$ παράγεται παρουσία ελεύθερου δισθενούς σιδήρου (Fe^{2+}) ως καταλύτου, ο οποίος απελευθερώνεται κατά την διάρκεια της ισχαιμίας (αντίδραση Fenton) (81): $Fe^{2+} + H_2O_2 \Rightarrow OH^- + OH\cdot + Fe^{+3}$.

Στα βιολογικά συστήματα, όπου είναι διαθέσιμα ιόντα Fe , αποτελεί η αντίδραση Fenton ένα ενδιάμεσο στάδιο μιας σειράς αντιδράσεων, που τροφοδοτούν τη διαρκή γένεση $OH\cdot$, εφόσον υπάρχουν αποθέματα $\cdot O_2^-$ και H_2O_2 . Συγκεκριμένα το $\cdot O_2^-$ ανάγει τον Fe^{3+} προς Fe^{2+} ($\cdot O_2^- + Fe^{3+} \Rightarrow Fe^{2+} + O_2$) και ο Fe^{2+} ανάγει το H_2O_2 κ.ο.κ. Η συνολική αντίδραση λέγεται μεταλλοκαταλυόμενη αντίδραση Haber-Weiss: $\cdot O_2^- + H_2O_2 + \text{άλσας } Fe^{2+}$ (καταλύτης) $\Rightarrow OH\cdot + OH^- + O_2$. Εκτός του Fe^{++} και ο Cu^{++} , αλλά και ιόντα χρωμίου και νικελίου επιταχύνουν την αντίδραση Haber-Weiss. Η σημασία του Fe είναι ζωτικής σημασίας, όπως δείχνει και η παρατήρηση ότι η βιωσιμότητα κυτταροκαλλιεργειών παρουσιάζει χαρακτηριστική αντίστροφη σχέση προς την συγκέντρωση του σιδήρου (82).

Τόπος παραγωγής των ριζών είναι τα επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα (83). Τα κύτταρα αμύνονται με τα ένζυμα SOD, CAT και υπεροξειδάση του γλουταθειού (GPX), τα οποία εξουδετερώνουν τις τοξικές ρίζες. Ο εγκέφαλος διαθέτει αυξημένη συγκέντρωση SOD, αναχθέντος γλουταθειού (GSH), γλουταθειό -αναγωγάσης (GR)



και γλυκόζο - 6 - φωσφορικής αφυδρογονάσης (G6PD). Ο κίνδυνος όμως υπεροξειδωσης του εγκεφάλου είναι μεγάλος, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε πολυακόρεστα λιπίδια και της χαμηλής περιεκτικότητας σε CAT και GPX (84). Εκτός τούτου ο εγκέφαλος έχει έντονο οξειδωτικό μεταβολισμό και αυτό σημαίνει αυξημένη ιστική συγκέντρωση O_2 και αυξημένη παραγωγή μεταβολιτών O_2 . Σε μεγάλης διάρκειας ισχαιμία όλοι οι προστατευτικοί μηχανισμοί του κυττάρου εξαντλούνται και το κύτταρο μένει απροστάτευτο.

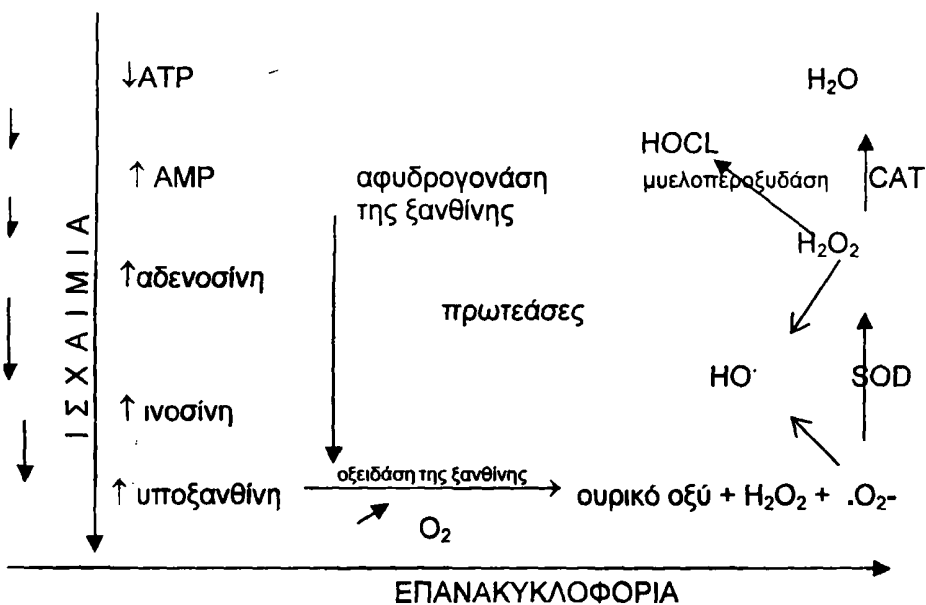
Η διέγερση του καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος αποτελεί μία νέα πηγή EPO_2 , αλλά και ουσιών που προκαλούν έμμεσα βλάβη του ενδοθηλίου, δρώντας ως χημειοτακτικοί παράγοντες και ως ενεργοποιητές των ουδετεροφίλων πολυμορφοπύρηνων, τα οποία με την σειρά τους παράγουν νέες EPO_2 και πρωτεολυτικά ένζυμα, συμβάλλοντας έτσι στην περαιτέρω καταστροφή των ιστών (85).

Φλεγμονώδης απάντηση στην εγκεφαλική ισχαιμία και επαναιμάτωση

Οι νευρώνες ενεργοποιούν σε συνθήκες ισχαιμίας τα γενετικά προγράμματα της απόπτωσης και της φλεγμονής. Η ολοκλήρωση όμως αυτών των μηχανισμών εξελίσσεται αρκετές ώρες ή και μέρες μετά την ισχαιμία. Η έκταση του εμφράκτου μπορεί να μειωθεί με την τροποποίηση και των δύο αυτών μηχανισμών της απόπτωσης και της φλεγμονής, έως και 9 ώρες μετά την ενεργοποίησή τους (85-1). Για παράδειγμα, οι σελεκτίνες (CD62 E, P) και οι ανοσοσφαιρίνες (ICAM-1, VCAM-1) δεν ανιχνεύονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αντίθετα τα ΕΚ του ΚΝΣ αναστέλλουν την συγκόλληση και την άθροιση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων μέσω της συνθετάσης του νιτρικού οξειδίου (cNOS) και των προσταγλανδινών (PGI_2) (85-2). Παρ' όλα αυτά όμως έχει αποδειχθεί ότι σε συνθήκες πειραματικής ισχαιμίας οι προφλεγμονώδεις παράγοντες TNF α , IL-6, IL1b, IL-8, KC, MCP-1, COX-2, CD62E, P και ICAM-1 εκφράζονται σε ικανές ποσότητες. (85-3) Η χορήγηση αντισωμάτων κατά των ICAM-1 και MAC-1 μειώνουν σημαντικά τον όγκο του εμφράκτου (85-4). Πρόσφατα αποδείχθηκε επίσης ότι η μινουκυκλίνη, (παράγωγο της τετρακυκλίνης) μειώνει σημαντικά τον όγκο του εμφράκτου όταν χορηγείται 4 ώρες μετά την πειραματική ισχαιμία σε επίμυες, αναστέλλοντας την κυτοκίνη IL-1b, την COX-2 και την προσταγλανδίνη E_2 . Σε άλλες ενδιαφέρουσες μελέτες αποδείχθηκε ότι αναστολή της caspase-1 με ειδικούς αναστολείς (AcYVAD.cmk) μειώνουν τον όγκο του εμφράκτου σε μεγάλο βαθμό όταν χορηγηθούν μετακριτικά. Οι caspases είναι ειδικά πρωτεολυτικά ένζυμα που ενεργοποιούνται από υποδοχείς θανάτου στα εγκεφαλικά κύτταρα και ελέγχουν τον αποπτωτικό θάνατο των νευρώνων της penumbra μετά την ισχαιμία. Στην προκειμένη περίπτωση ωστόσο, ο συγκεκριμένος αναστολέας δεν μείωσε μόνο τον αριθμό των αποπτωτικών νευρώνων, αλλά επίσης και προφλεγμονώδεις παράγοντες, τους IL-1b και TNF α (85-5). Διαπιστώνεται επομένως, ότι η απόπτωση και η φλεγμονή διανύουν κοινούς ενδοκυτταρικούς δρόμους και εμπλέκονται από κοινού στην μεταβίβαση του θανατηφόρου ερεθίσματος (π.χ υποξία, ερεθισμός NMDA υποδοχέων από περίσσεια γλουταμινικού οξέος κ.τ.λ) από την κυτταρική μεμβράνη των νευρώνων στα γονίδια του πυρήνα και των μιτοχονδρίων.



Κατά την ισχαιμική περίοδο συγκεντρώνονται μεγάλες ποσότητες υποξανθίνης από την αποικοδόμηση του ATP προς αδενινονουκλεοτίδια και τελικά βάσεις πουρίνης. Κατά την ίδια περίοδο εξάλλου η αφυδρογονάση της ξανθίνης μετατρέπεται σε οξειδάση της ξανθίνης. Η συγκέντρωση αφυδρογονάσης της ξανθίνης στον εγκεφαλικό ιστό είναι χαμηλή, αλλά το ένζυμο αυτό είναι παρόν στα μικροαγγεία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Η συσσωρευμένη στα κύτταρα υποξανθίνη μετατρέπεται κατά την διάρκεια της επαναιμάτωσης σε ξανθίνη και ουρικό οξύ από την οξειδάση της ξανθίνης, ανάγοντας το άφθονα προσφερόμενο μοριακό O_2 σε ρίζες σουπεροξειδίου ($\cdot O_2^-$): Υποξανθίνη + O_2 + $X.O \Rightarrow$ ουρικό οξύ + $\cdot O_2^-$ + H_2O_2



Μηχανισμός της παραγωγής των ERO_2 κατά την επανακυκλοφορία

Αυτή είναι και η κύρια πηγή ριζών σουπεροξειδίου από το οποίο παράγονται η υδροξυλική ρίζα και το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Η αντιδραστικότερη και τοξικότερη των ERO_2 ρίζα $OH\cdot$ παράγεται παρουσία ελευθέρου δισθενούς σιδήρου (Fe^{2+}) ως καταλύτου, ο οποίος απελευθερώνεται κατά την διάρκεια της ισχαιμίας (αντίδραση Fenton) (81): $Fe^{2+} + H_2O_2 \Rightarrow OH\cdot + OH^- + Fe^{3+}$.

Στα βιολογικά συστήματα, όπου είναι διαθέσιμα ιόντα Fe, αποτελεί η αντίδραση Fenton ένα ενδιάμεσο στάδιο μιας σειράς αντιδράσεων, που τροφοδοτούν την γένεση $OH\cdot$, εφόσον υπάρχουν αποθέματα $\cdot O_2^-$ και H_2O_2 . Συγκεκριμένα, ο $\cdot O_2^-$ ανάγει τον Fe^{3+} προς Fe^{2+} ($\cdot O_2^- + Fe^{3+} \Rightarrow Fe^{2+} + O_2$) και ο Fe^{2+} ανάγει το H_2O_2 προς $OH\cdot$ και OH^- ($H_2O_2 + \text{άλσας } Fe^{2+} \text{ (καταλύτης)} \Rightarrow OH\cdot + OH^- + O_2$). Εκτός του Fe^{2+} και ιόντα χρωμίου και νικελίου επιταχύνουν την αντίδραση Fenton. Η αντίδραση του Fe είναι ζωτικής σημασίας, όπως δείχνει και η παρατήρηση κυτταροκαλλιέργειών που παρουσιάζει χαρακτηριστική αντίστροφη συγκέντρωση του σιδήρου (82).

Τόπος παραγωγής των ριζών είναι τα επιθηλιακά και ενδοκυτταρικά κύτταρα αμύνονται με τα ένζυμα SOD, CAT και υπεροξειδάση (GPX), τα οποία εξουδετερώνουν τις τοξικές ρίζες. Ο $\cdot O_2^-$ συγκέντρωση SOD, αναχθέντος γλουταθειού (GSH), γ'



κλοφορίας (no-reflow phenomeno) λόγω αύξησης των αγγειακών
με συνέπεια την επιδείνωση της ισχαιμίας κατά την επαναιμάτωση

ών και
κεφρ
τας μτ

ΙΣΧΑΙΜΙΑ

αιμάτωση

47

αφυδρογονάσης (G6PD). Ο κίνδυνος όμως
και μεγάλος, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του
πλάσματος σε CAT και GPX (84).
πρωτογενούς οξειδωτικού μεταβολισμού O₂. Σε
(85) αυξημένη παραγωγή μεταβολιτών O₂. Σε
κατασταυρωτικούς μηχανισμούς του κυττάρου
αποτελεί μία νέα πηγή EPO₂.
ενδοθηλίου, δρώντας ως
ουδετεροφίλων.
EPO₂ και
ιστών

2 - πρωτεάσες

ή διαπερατότητα

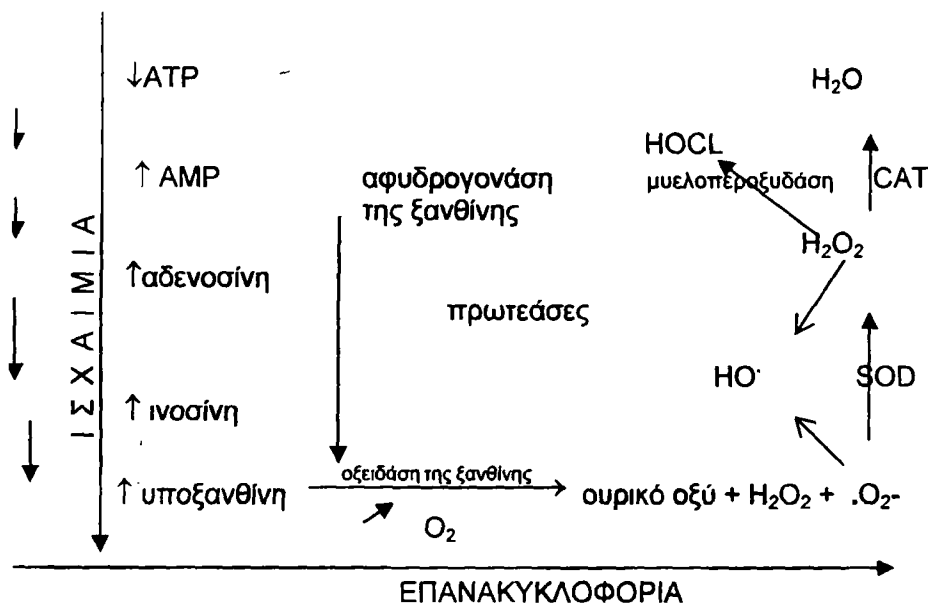
ρήνων λευκοκυττάρων (PMN) στο τριχοειδικό αγγειακό

ΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ

Ισχαιμία από καιρό θεωρούνταν σαν μία σημαντική
ητας. Μία διαλεύκανση του μηχανισμού αυτής της
αία και ευρεθεί ότι το υψηλό ενδοκυττάριο ασβέστιο κατά
είναι ένας κύριος μηχανισμός στον οποίο αποδίδεται η
όμως δεν είναι εμφανές πως αυτές οι υψηλές ενδοκυττάρια
οδηγούν σε καταστροφή των νευρώνων. Ένας πιθανός
είναι ότι οι φωσφολιπάσες που ενεργοποιούνται από το Ca⁺⁺



Κατά την ισχαιμική περίοδο συγκεντρώνονται μεγάλες ποσότητες υποξανθίνης από την αποικοδόμηση του ATP προς αδενινουκλεοτίδια και τελικά βάσεις πουρίνης. Κατά την ίδια περίοδο εξάλλου η αφυδρογονάση της ξανθίνης μετατρέπεται σε οξειδάση της ξανθίνης. Η συγκέντρωση αφυδρογονάσης της ξανθίνης στον εγκεφαλικό ιστό είναι χαμηλή, αλλά το ένζυμο αυτό είναι παρόν στα μικροαγγεία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Η συσσωρευμένη στα κύτταρα υποξανθίνη μετατρέπεται κατά την διάρκεια της επαναιμάτωσης σε ξανθίνη και ουρικό οξύ από την οξειδάση της ξανθίνης, ανάγοντας το άφθονα προσφερόμενο μοριακό O_2 σε ρίζες σουπεροξειδίου ($\cdot O_2^-$): Υποξανθίνη + O_2 + X.O \Rightarrow ουρικό οξύ + $\cdot O_2^-$ + H_2O_2



Μηχανισμός της παραγωγής των EPO_2 κατά την επανακυκλοφορία

Αυτή είναι και η κύρια πηγή ριζών σουπεροξειδίου από το οποίο παράγονται η υδροξυλική ρίζα και το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Η αντιδραστικότερη και τοξικότερη των EPO_2 ρίζα $OH\cdot$ παράγεται παρουσία ελευθέρου δισθενούς σιδήρου (Fe^{2+}) ως καταλύτου, ο οποίος απελευθερώνεται κατά την διάρκεια της ισχαιμίας (αντίδραση Fenton) (81): $Fe^{2+} + H_2O_2 \Rightarrow OH\cdot + OH^- + Fe^{+3}$.

Στα βιολογικά συστήματα, όπου είναι διαθέσιμα ιόντα Fe, αποτελεί η αντίδραση Fenton ένα ενδιάμεσο στάδιο μιας σειράς αντιδράσεων, που τροφοδοτούν τη διαρκή γένεση $OH\cdot$, εφόσον υπάρχουν αποθέματα $\cdot O_2^-$ και H_2O_2 . Συγκεκριμένα το $\cdot O_2^-$ ανάγει τον Fe^{3+} προς Fe^{2+} ($\cdot O_2^- + Fe^{3+} \Rightarrow Fe^{2+} + O_2$) και ο Fe^{2+} ανάγει το H_2O_2 κ.ο.κ. Η συνολική αντίδραση λέγεται μεταλλοκαταλυόμενη αντίδραση Haber-Weiss: $\cdot O_2^- + H_2O_2 + \text{άλγας } Fe^{2+} \text{ (καταλύτης)} \Rightarrow OH\cdot + OH^- + O_2$. Εκτός του Fe^{++} και ο Cu^{++} , αλλά και ιόντα χρωμίου και νικελίου επιταχύνουν την αντίδραση Haber-Weiss. Η σημασία του Fe είναι ζωτικής σημασίας, όπως δείχνει και η παρατήρηση ότι η βιωσιμότητα κυτταροκαλλιιεργειών παρουσιάζει χαρακτηριστική αντίστροφη σχέση προς την συγκέντρωση του σιδήρου (82).

Τόπος παραγωγής των ριζών είναι τα επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα (83). Τα κύτταρα αμύνονται με τα ένζυμα SOD, CAT και υπεροξειδάση του γλουταθείου (GPX), τα οποία εξουδετερώνουν τις τοξικές ρίζες. Ο εγκέφαλος διαθέτει αυξημένη συγκέντρωση SOD, αναχθέντος γλουταθείου (GSH), γλουταθείο -αναγωγάσης (GR)

και γλυκόζο - 6 - φωσφορικής αφυδρογονάσης (G6PD). Ο κίνδυνος όμως υπεροξειδωσης του εγκεφάλου είναι μεγάλος, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε πολυακόρεστα λιπίδια και της χαμηλής περιεκτικότητας σε CAT και GPX (84). Εκτός τούτου ο εγκέφαλος έχει έντονο οξειδωτικό μεταβολισμό και αυτό σημαίνει αυξημένη ιστική συγκέντρωση O_2 και αυξημένη παραγωγή μεταβολιτών O_2 . Σε μεγάλης διάρκειας ισχαιμία όλοι οι προστατευτικοί μηχανισμοί του κυττάρου εξαντλούνται και το κύτταρο μένει απροστάτευτο.

Η διέγερση του καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος αποτελεί μία νέα πηγή EPO_2 , αλλά και ουσιών που προκαλούν έμμεσα βλάβη του ενδοθηλίου, δρώντας ως χημειοτακτικοί παράγοντες και ως ενεργοποιητές των ουδετεροφίλων πολυμορφοπύρηνων, τα οποία με την σειρά τους παράγουν νέες EPO_2 και πρωτεολυτικά ένζυμα, συμβάλλοντας έτσι στην περαιτέρω καταστροφή των ιστών (85).

Φλεγμονώδης απάντηση στην εγκεφαλική ισχαιμία και επαναιμάτωση

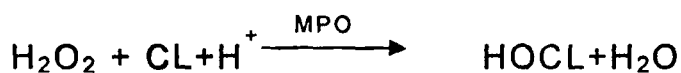
Οι νευρώνες ενεργοποιούν σε συνθήκες ισχαιμίας τα γενετικά προγράμματα της απόπτωσης και της φλεγμονής. Η ολοκλήρωση όμως αυτών των μηχανισμών εξελίσσεται αρκετές ώρες ή και μέρες μετά την ισχαιμία. Η έκταση του εμφράκτου μπορεί να μειωθεί με την τροποποίηση και των δύο αυτών μηχανισμών της απόπτωσης και της φλεγμονής, έως και 9 ώρες μετά την ενεργοποίησή τους (85-1). Για παράδειγμα, οι σελεκτίνες (CD62 E, P) και οι ανοσοσφαιρίνες (ICAM-1, VCAM-1) δεν ανιχνεύονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αντίθετα τα ΕΚ του ΚΝΣ αναστέλλουν την συγκόλληση και την άθροιση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων μέσω της συνθετάσης του νιτρικού οξειδίου (cNOS) και των προσταγλανδινών (PGI_2) (85-2). Παρ' όλα αυτά όμως έχει αποδειχθεί ότι σε συνθήκες πειραματικής ισχαιμίας οι προφλεγμονώδεις παράγοντες TNF α , IL-6, IL-1b, IL-8, KC, MCP-1, COX-2, CD62E, P και ICAM-1 εκφράζονται σε ικανές ποσότητες. (85-3) Η χορήγηση αντισωμάτων κατά των ICAM-1 και MAC-1 μειώνουν σημαντικά τον όγκο του εμφράκτου (85-4). Πρόσφατα αποδείχθηκε επίσης ότι η μινοκυκλίνη, (παράγωγο της τετρακυκλίνης) μειώνει σημαντικά τον όγκο του εμφράκτου όταν χορηγείται 4 ώρες μετά την πειραματική ισχαιμία σε επίμυες, αναστέλλοντας την κυτοκίνη IL-1b, την COX-2 και την προσταγλανδίνη E_2 . Σε άλλες ενδιαφέρουσες μελέτες αποδείχθηκε ότι αναστολή της caspase-1 με ειδικούς αναστολείς (AcYVAD.cmk) μειώνουν τον όγκο του εμφράκτου σε μεγάλο βαθμό όταν χορηγηθούν μετακριτικά. Οι caspases είναι ειδικά πρωτεολυτικά ένζυμα που ενεργοποιούνται από υποδοχείς θανάτου στα εγκεφαλικά κύτταρα και ελέγχουν τον αποπτωτικό θάνατο των νευρώνων της *penumbra* μετά την ισχαιμία. Στην προκειμένη περίπτωση ωστόσο, ο συγκεκριμένος αναστολέας δεν μείωσε μόνο τον αριθμό των αποπτωτικών νευρώνων, αλλά επίσης και προφλεγμονώδεις παράγοντες, τους IL-1b και TNF α (85-5). Διαπιστώνεται επομένως, ότι η απόπτωση και η φλεγμονή διανύουν κοινούς ενδοκυτταρικούς δρόμους και εμπλέκονται από κοινού στην μεταβίβαση του θανατηφόρου ερεθίσματος (π.χ υποξία, ερεθισμός NMDA υποδοχέων από περίσσεια γλουταμινικού οξέος κ.τ.λ) από την κυτταρική μεμβράνη των νευρώνων στα γονίδια του πυρήνα και των μιτοχονδρίων.



Ο ρόλος των λευκών αιμοσφαιρίων στις βλάβες επαναιμάτωσης

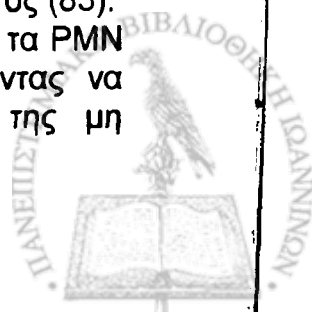
Κεντρικό ρόλο στην εξήγηση του φαινομένου της ισχαιμίας των ιστών κατά την επανακυκλοφορία φαίνεται ότι διαδραματίζουν τα λευκοκύτταρα και συγκεκριμένα τα πολυμορφοπύρρηνα (86) και (Σχ.18). Τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα (PMN) απελευθερώνονται στην κυκλοφορία κατά την ισχαιμία - επαναιμάτωση, λόγω συμπαθητικοαδρενεργικής διέγερσης, προσελκύνονται στο πάσχον εγκεφαλικό παρέγχυμα και φθάνουν σε αυτό διαπερνώντας το τοίχωμα των τριχοειδών (87). Αυτή η μετακίνηση δεν είναι δυνατή σε φυσιολογικές καταστάσεις, γιατί τα ενδοθηλιακά κύτταρα του ΚΝΣ (ΕΚ-ΚΝΣ) δεν έχουν ενεργοποιημένα τα γενετικά εκείνα προγράμματα που ρυθμίζουν την προσκόλληση στο ενδοθήλιο και τη διαπίδυση των λευκών από τον ενδο- στον εξωαγγειακό χώρο και στους νευρώνες. Η «αναγνώριση» κάποιου παθογόνου αιτίου οδηγεί -με τη δράση κυτοκινών- τα PMN σε ενεργοποίηση της «αναπνευστικής έκρηξης» και ταυτόχρονα στην απενεργοποίηση του αδρενεργικού υποδοχέα της κυτταρικής τους μεμβράνης. Οι EPO_2 , τα προϊόντα του αραχιδονικού οξέος, το ενεργοποιημένο συμπλήρωμα και ο παράγων ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) αποτελούν γνωστούς χημειοτακτικούς παράγοντες έλξης των PMN (78). Από την έως σήμερα μελέτη του φαινομένου της ισχαιμίας -επαναιμάτωσης/ επαναοξυγόνωσης φαίνεται ότι τον σπουδαιότερο παράγοντα έλξης των λευκοκυττάρων αποτελούν οι EPO_2 και μάλιστα το ανιόν του σουπεροξειδίου (O_2^-) (83). Αυτή η υπόθεση ενισχύεται και από το γεγονός ότι η χορήγηση αντιοξειδωτικών ουσιών, όπως SOD και CAT, ελαττώνει την συσσώρευση των λευκοκυττάρων στο τριχοειδικό δίκτυο και περιορίζει την έκταση της βλάβης του.

Το αγγειακό ενδοθήλιο αποτελεί το πιο ευαίσθητο στην οξειδωτική προσβολή κυτταρικό είδος (88). Αυτό οφείλεται πιθανόν στο ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα: 1) δέχονται υψηλότερες PO_2 και παράγουν περισσότερες EPO_2 , 2) έχουν μικρότερη αντιοξειδωτική άμυνα, 3) τα ενεργοποιημένα PMN προσκολλώνται στο ενδοθήλιο και παράγουν καταγισμό τοξικών μεταβολιτών O_2 (89). Οι θέσεις προσκόλλησης των PMN είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα των προτριχοειδικών αρτηριδίων (αντίστοιχα προς τον σφιγκτήρα) και κυρίως των μετατριχοειδικών φλεβιδίων (90). Υπάρχουν ενδείξεις ότι το O_2^- "διευκολύνει" την προσκόλληση, αδρανοποιώντας το NO, που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και που αντιστρατεύεται την προσκόλληση αυτή (91). Στις θέσεις αυτές παράγουν τα ενεργοποιημένα PMN υποχλωριώδες οξύ (HOCL), με την καταλυτική δράση του ενζύμου μυελοπεροξειδάση (MPO) (83,92):

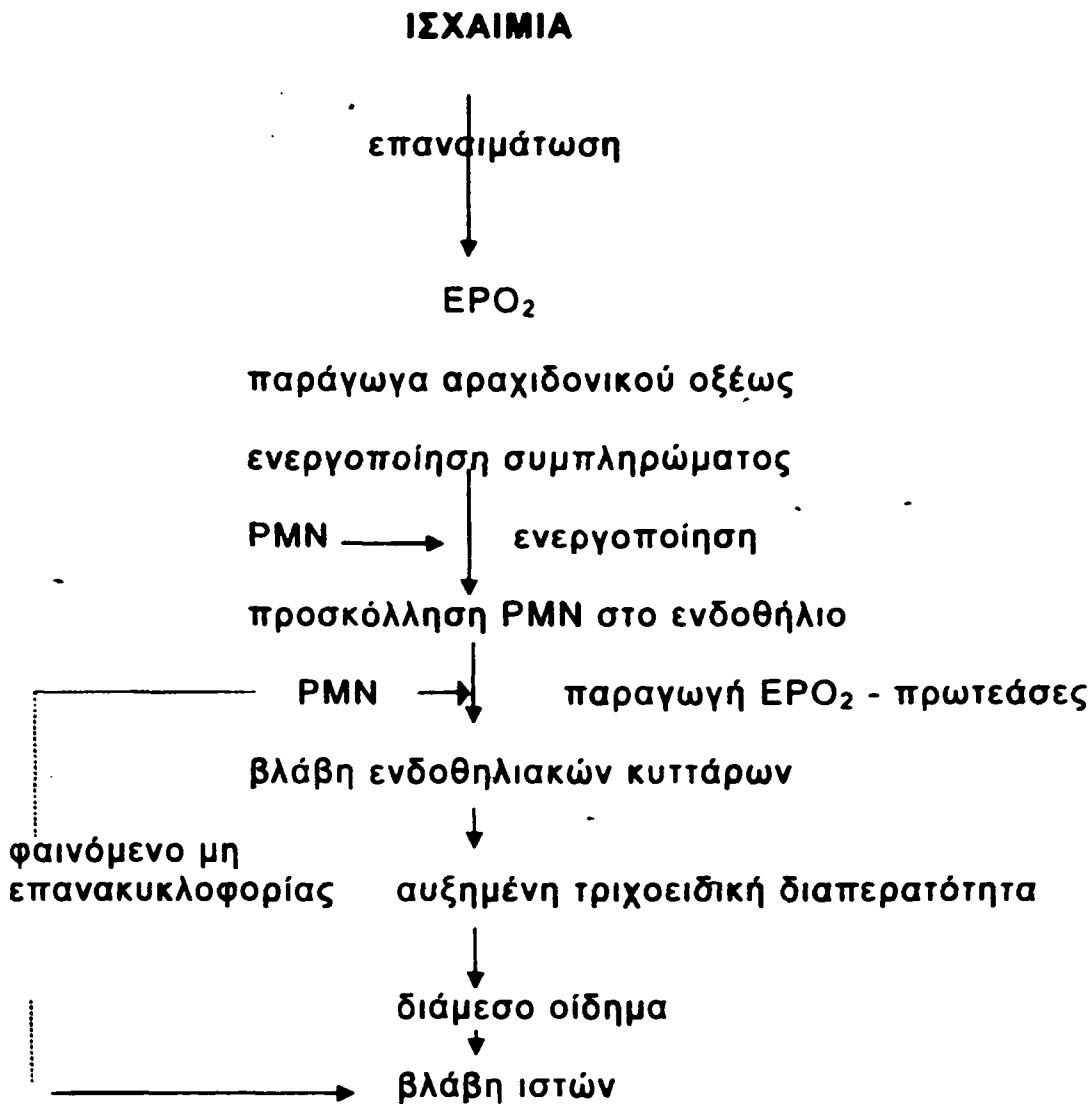


Το HOCL είναι 100 φορές ισχυρότερο οξειδωτικό σε σύγκριση με το H_2O_2 και αντιδρά ταχέως με πρωτογενείς αμίνες, παράγοντας τα N-χλωροπαράγωγα (RNHCL).

Τα ενεργοποιημένα PMN παράγουν επίσης διάφορα πρωτεολυτικά ένζυμα, όπως ελαστάση, κολλαγενάση και γελατινάση, τα οποία μαζί με την λιποφιλική δράση των RNHCl καταστρέφουν τις δομές του τοιχώματος των τριχοειδών, με αποτέλεσμα την αυξημένη μικροαγγειακή διαπερατότητα και την καταστροφή του παρεγχύματος (83). Κατά την προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο του προτριχοειδικού σφιγκτήρα τα PMN αυξάνουν σε μέγεθος, γίνονται δύσκαμπτα και παγιδεύονται, αδυνατώντας να διέλθουν δι' αυτού. Σε αυτήν την φάση παρατηρείται το φαινόμενο της μη



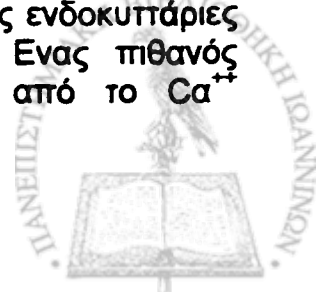
επανακυκλοφορίας (no-reflow phenomenon) λόγω αύξησης των αγγειακών αντιστάσεων με συνέπεια την επιδείνωση της ισχαιμίας κατά την επαναιμάτωση (90,93).



Σχ18. Εξήγηση της δράσης των πολυμορφοπυρήνων λευκοκυττάρων (PMN) στο τριχοειδικό αγγειακό δίκτυο και της επακόλουθης βλάβης των ιστών.

ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΕΣΕ Η ΙΣΧΑΙΜΙΑ / ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ

Η βλάβη του εγκεφάλου από ισχαιμία από καιρό θεωρούνταν σαν μία σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνητότητας. Μία διαλεύκανση του μηχανισμού αυτής της βλάβης αναπτύχθηκε τελευταία και ευρεθεί ότι το υψηλό ενδοκυττάριο ασβέστιο κατά την ισχαιμία φαίνεται να είναι ένας κύριος μηχανισμός στον οποίο αποδίδεται η βλάβη. Παρ' όλα αυτά όμως δεν είναι εμφανές πως αυτές οι υψηλές ενδοκυττάρειες συγκεντρώσεις Ca^{++} οδηγούν σε καταστροφή των νευρώνων. Ένας πιθανός μηχανισμός είναι ότι οι φωσφολιπάσες που ενεργοποιούνται από το Ca^{++}



(ασβεστιοεξαρθώμενα ένζυμα) οδηγούν σε σχηματισμό EPO_2 μέσω της ενεργοποίησης του καταρράκτου του αραχιδονικού οξέος.

Η ισχαιμία θεωρείται ως η νόσος των μιτοχονδρίων απλώς επειδή η μεγαλύτερη έλλειψη κατά την ισχαιμία, είναι η παροχή οξυγόνου στα μιτοχόνδρια, με αποτέλεσμα η γλυκόζη να μεταβολίζεται αναερόβια και η παραγόμενη ποσότητα του ATP να είναι μειωμένη αφ' ενός και αφ' ετέρου να υπάρχει συσσώρευση γαλακτικών και ιόντων H^+ όπως και διαταραχή του μεταβολισμού του ασβεστίου. Θα υπέθετε κάποιος ότι εφ' όσον αποκατασταθεί η πίεση του οξυγόνου στον ιστό, τα μιτοχόνδρια θα αποκτήσουν την φυσιολογική λειτουργία τους. Το πρόβλημα είναι ότι μερικά από αυτά τα "αναπνευστικά ένζυμα" όπως συνηθίζαμε να τα αποκαλούμε ή "συμπλέγματα" όπως τα αποκαλούμε πρόσφατα είναι ευαίσθητα σε ότι συμβαίνει κατά την διάρκεια της ισχαιμίας και κυρίως στις EPO_2 με αποτέλεσμα να προκληθεί σημαντική ανεπάρκεια του μιτοχονδρίου.

Στην *σφαιρική εγκεφαλική ισχαιμία* ή άλλως του τύπου της "καρδιακής ανακοπής" η ισχαιμία είναι πολύ έντονη, επίμονη και καταστρέφει περιοχές των νευρώνων του εγκεφάλου που είναι ευαίσθητες στην ισχαιμία και μερικές φορές αυτή η βλάβη εκδηλώνεται με καθυστέρηση, μετά από ώρες ή μέρες, σε αντίθεση με τον άλλο τύπο εγκεφαλικής ισχαιμίας την *εστιακή ισχαιμία* όπου εδώ συνήθως έχουμε να κάνουμε με ισχαιμία που διαρκεί περισσότερο, έχει διαφορετικό βάθος στον εγκεφαλικό ιστό και περιβάλλεται η ισχαιμική περιοχή από μία περιοχή μικρότερης ισχαιμίας (penumbra) που είναι σε κίνδυνο αλλά μπορεί να επιβιώσει για μερικές ώρες πριν νεκρωθεί από την ισχαιμική διαδικασία.

Κατά την διάρκεια της βραχείας ισχαιμίας η φωσφοκρεατίνη και το ATP μειώνονται πολύ γρήγορα ενώ αυξάνει η συγκέντρωση των γαλακτικών οξέων. Όταν μειωθεί το ATP στο 30-40% υπάρχει διαταραχή της ομοιοστασίας των ιόντων. Αφ' ενός αυξάνει κατά πολύ η συγκέντρωση ελεύθερου Ca^{++} ενδοκυττάρια, αφ' ετέρο εκλύεται γλουταμινικό που επιδρά σε ιοντικούς υποδοχείς και εισέρχεται ενδοκυττάρια Na^+ , αποπολώνοντας την μεμβράνη. Το Ca^{++} μπορεί επίσης να μπει από διαύλους που μπλοκάρεται από Mg, αλλά αυτή η δέσμευση παύει να υπάρχει όταν αποπολωθεί η μεμβράνη και έτσι μπορεί να εισέλθει το Ca^{++} . Το Ca^{++} μπορεί να εισέλθει ενδοκυττάρια από ένα πλήθος διαύλων επίσης.

Ιστολογικές αλλοιώσεις σε ισχαιμία και σε επαναιμάτωση

Βλάβη σε ολική εγκεφαλική ισχαιμία

Ο ιστός του εγκεφάλου είναι ο πιο ευπαθής ιστός στην ισχαιμία, ωστόσο παρατηρείται μια ιεραρχία στην ευαισθησία –ευπάθεια των κυττάρων του καθώς και διαφορετική ευπάθεια των ιδίου τύπου κυττάρων ανάλογα με την εντόπιση τους. Οι νευρώνες αποτελούν τα πλέον ευαίσθητα νευρικά κύτταρα και έπονται τα κύτταρα της γλοίας (ολιγοδενδρικά και αστροκύτταρα). Τα πυραμοειδή κύτταρα της περιοχής Sommer η οποία εντοπίζεται στον Ιππόκαμπο, τα κύτταρα Purkinje της παρεγκεφαλίδας καθώς και οι πυραμοειδείς νευρώνες του νεοφλοιού αποτελούν τα πιο επιρρεπή κύτταρα σε μη αναστρέψιμη ισχαιμική βλάβη.

Σε σοβαρού βαθμού ολική εγκεφαλική ισχαιμία, παρατηρείται εκτεταμένο εγκεφαλικό έμφρακτο. Αν οι ασθενείς αυτοί υποστηριχθούν με "μηχανική αναπνοή" ο εγκέφαλος σταδιακά αυτολύεται και ο νεκρωμένος ιστός που προκύπτει μονιμοποιείται δύσκολα σε φορμόλη και βάφεται αχνά με ιστοχημικές χρώσεις.



Μακροσκοπικά ο εγκέφαλος είναι οιδηματώδης, με διόγκωση των ελίκων και στένωση των αυλάκων και στις διατομές του υπάρχει ασαφής διαχωρισμός της λευκής από τη φαιά ουσία.

Μικροσκοπικά, οι ιστολογικές αλλοιώσεις που χαρακτηρίζουν την αμετάκλητη ισχαιμική βλάβη διαχωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

A) Στις πρώιμες αλλοιώσεις οι οποίες παρατηρούνται 12 έως 24 ώρες μετά το ισχαιμικό επεισόδιο και περιλαμβάνουν τις οξείες αλλοιώσεις των νευρώνων οι οποίοι αρχικά εμφανίζουν μικροκενοτοπίωση και οξύφιλη μετατροπή του κυτταροπλάσματος και στη συνέχεια συρρίκνωση του πυρήνα και καρυορρηξία. Παρόμοιες αλλοιώσεις, σε απώτερο χρόνο, εμφανίζουν τα ολιγοδενδροκύτταρα και τα αστροκύτταρα.

B) Στις υποξίες αλλοιώσεις οι οποίες παρατηρούνται 24 ώρες έως 2 εβδομάδες μετά το επεισόδιο. Παρατηρείται νέκρωση του ιστού με διείσδυση των μακροφάγων, παρουσία νεόπλαστων τριχοειδών αγγείων και αντιδραστική γλοιώση (B.A. Summers et al 1995).

Γ) Στην φάση της «επιδιόρθωσης», η οποία παρατηρείται μετά τις δύο εβδομάδες και χαρακτηρίζεται από απώλεια της φυσιολογικής δομής του εγκεφάλου, με απομάκρυνση των νεκρωμένων ιστών και αντιδραστική γλοιώση (Σ.Μπαλογιάννης 1984)

Βλάβη σε ισχαιμία / επαναιμάτωση

Γενικά η επαναιμάτωση των ισχαιμικών ιστών μπορεί να συμβάλλει στην αναστροφή των αλλοιώσεων όσων κυττάρων δεν έχουν υποστεί μόνιμη βλάβη. Ειδικά ωστόσο κατά την επαναιμάτωση των ισχαιμικών εμφράκτων του εγκεφάλου παρατηρείται το φαινόμενο της «βλάβης ισχαιμίας- επαναιμάτωσης» κατά το οποίο παραδόξως η επανασυγγόνωση επιδεινώνει και επιταχύνει τον κυτταρικό θάνατο με τον μηχανισμό της νέκρωσης και της απόπτωσης (Li C et al 2002).

Μικροσκοπικά στις ανωτέρω περιγραφόμενες ισχαιμικές αλλοιώσεις προστίθενται και οι χαρακτηριστικές αλλοιώσεις της απόπτωσης. Τα νευρικά κύτταρα συρρικνώνονται, ο περικυττάριος χώρος διευρύνεται και το κυτταρόπλασμα υφίσταται οξύφιλη μετατροπή. Οι πυρήνες αρχικά εμφανίζουν ασαφές περίγραμμα, είναι βαθυχρωματικοί, με πυκνή κατανομή της χρωματίνης η οποία συγκεντρώνεται στην περιφέρεια τους και στην συνέχεια κατακερματίζονται. Αναγνωρίζονται επίσης τα αποπτωτικά σωματίδια τα οποία αποτελούν στρόγγυλα ή ωοειδή τεμάχια του κυτταροπλάσματος με ή χωρίς υπολείμματα κατακερματισμένης πυρηνικής ουσίας ενώ οι οπτικά κενοί χώροι που παρατηρούνται αντιστοιχούν σε θέσεις νεκρωμένων – αποδομημένων κυττάρων (Robbins G 1999)

Δυνατότητες πρόληψης και θεραπευτικής αντιμετώπισης της βλάβης του εγκεφάλου από ισχαιμία - επαναιμάτωση

Ο αναισθησιολόγος αντιμετωπίζει στην καθημερινή κλινική του δραστηριότητα, στο χειρουργείο και στη μονάδα εντατικής θεραπείας, καταστάσεις και οξείες διαταραχές του ΚΝΣ, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε εγκεφαλική ισχαιμία ή να επιδεινώσουν υφιστάμενη εγκεφαλική ισχαιμία και πρέπει να έχει άριστη γνώση των δυνατοτήτων πρόληψης και θεραπείας της κλινικής αυτής οντότητας. Τέτοιες καταστάσεις είναι οι νευροχειρουργικές και καρδιοθωρακικές επεμβάσεις, η καρδιακή ανακοπή, τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, το shock, η υπόταση, οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις, κ.ά.



Ο εγκέφαλος είναι εξαιρετικά ευαίσθητος στην ισχαιμία και υφίσταται ταχέως μόνιμη βλάβη. Συνεπώς, το βασικότερο στοιχείο της αντιμετώπισης των εν λόγω καταστάσεων συνίσταται στην αποκατάσταση της ροής αίματος στον εγκέφαλο, ώστε η παροχή O₂ και γλυκόζης να είναι επαρκής για τις μεταβολικές ανάγκες των νευρώνων και να αποκατασταθούν τα ενεργειακά συστήματα και η ομοιοστασία (ηλεκτρολυτική, οξεοβασική κ.α.) των νευρικών κυττάρων.

Η έρευνα για την κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών και την ανεύρεση μεθόδων αντιμετώπισης της ισχαιμικής βλάβης του εγκεφάλου ήταν εντατική τα τελευταία χρόνια και σήμερα είναι διαθέσιμοι διάφοροι φαρμακευτικοί παράγοντες που μπορούν να προλάβουν την ισχαιμική βλάβη ή να μειώσουν τη σοβαρότητά της, κανένας όμως από αυτούς δεν κατέχει ιδανική αποτελεσματικότητα.

Πέραν της έγκαιρης αποκατάστασης της ροής αίματος, ουσιώδους σημασίας στην αντιμετώπιση των συνεπειών της εγκεφαλικής ισχαιμίας είναι η έγκαιρη αντιρρόπηση των καταβολικών διεργασιών και η αναστολή της εισόδου ασβεστίου στο νευρικό κύτταρο, ώστε να αποτραπεί η μη ανατάξιμη αλλοίωση της οργάνωσής του και να παραταθεί η επιβίωσή του. Ο κυτταρικός θάνατος μπορεί να καθυστερήσει ή και να αποφευχθεί, μέσω θεραπευτικής παρέμβασης σε παθοφυσιολογικές διαταραχές που προκύπτουν κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας.

Στην επέλευση του νευρωνικού θανάτου συμβάλλουν οι εξής παράγοντες: 1) Η μεταβολική δραστηριότητα του νευρώνα. Όσο πιο δραστήριος είναι ο νευρώνας, τόσο περισσότερη ενέργεια απαιτεί και επομένως τόσο πιο ευαίσθητος στην ισχαιμία. Αντίθετα, η ευαισθησία του εγκεφάλου στην ισχαιμία μειώνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες, διότι ο μεταβολισμός και συνεπώς οι ενεργειακές ανάγκες του κυττάρου μειώνονται παράλληλα με τη μείωση της θερμοκρασίας. 2) Η συσσώρευση μεταβολιτών, όπως το γαλακτικό οξύ και οι ελεύθερες ρίζες. 3) Η ακεραιότητα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης του νευρώνα και 4) Η διαφορά μεταξύ της ενδοκυττάριας και της εξωκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου. Η είσοδος ασβεστίου στα κύτταρα συνεπάγεται κυτταρική βλάβη.

Συγκεκριμένα, δύο είναι οι βασικές στρατηγικές θεραπευτικής παρέμβασης σε οξεία εγκεφαλική ισχαιμία: α. αποκατάσταση της παροχής οξυγόνου και υποστρωμάτων στον εγκέφαλο, που σημαίνει επαναιμάτωση και βελτίωση της μικροκυκλοφορίας και β. τροποποίηση των βιοχημικών μεταβολών, οι οποίες τελικά προκαλούν το θάνατο των νευρώνων.

Η επαναιμάτωση της ισχαιμικής περιοχής (reperfusion) και δη της νεκροβιωτικής ζώνης, η οποία περιβάλλει τον πυρήνα της οριστικής βλάβης, επιτυγχάνεται με την έγκαιρη άρση του κωλύματος της κυκλοφορίας, είτε μέσω θρομβόλυσης (στα θρομβωτικά εγκεφαλικά επεισόδια), είτε με ενδαρτηρεκτομή / θρομβεκτομή (στα οξεία εμβολικά επεισόδια), -εφ'όσον βέβαια είναι προσπελάσιμος ο αποφραγμένος αρτηριακός κλάδος, όπως οι καρωτίδες (Φ. Τσιτσόπουλος: Πειραματική μελέτη των αγγειακών μικροαναστομώσεων, διατριβή επί υφηγεσία, 1981).

Η θρομβολυτική αγωγή με ανασυνδυασμένο ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (rt-PA), εντός 3-6 ωρών μετά την εμφάνιση των νευρολογικών συμπτωμάτων, βελτιώνει τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα, αν και συνοδεύεται από κλινικά σημαντικό ποσοστό (10%) ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας, πλεονεκτώντας σημαντικά έναντι της αγωγής με στρεπτοκινάση, η οποία συνεπάγεται πολύ υψηλό ποσοστό εγκεφαλικής αιμορραγίας και θνησιμότητας (89, 90).

Η ηπαρίνη, η οποία εχρησιμοποιήτο κατά το παρελθόν, δεν έχει ευεργετικά αποτελέσματα και μερικές φορές επιδεινώνει την κατάσταση του πάσχοντος.



Οι αντιθρομβωτικές ουσίες, όπως η ασπιρίνη, η σουλφινπυραζόνη (οι οποίες αναστέλλουν την κυκλοοξυγενάση και ευνοούν την σύνθεση της PGI_2), η πεντοξυφυλλίνη και η διπυριδαμόλη (οι οποίες αναστέλλουν τη φωσφοδιεστεράση, αυξάνοντας το ενδοκυττάριο cAMP και ελαττώνοντας τη συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων) χρησιμοποιούνται ευρέως για την αντιμετώπιση παροδικών ισχαιμικών προσβολών και την πρόληψη εστιακού εγκεφαλικού εμφράκτου (91). Η πεντοξυφυλλίνη βελτιώνει τη μικροκυκλοφορία στο επίπεδο των προτριχοειδών αρτηριολίων και των τριχοειδών, αυξάνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα του οξυγόνου στους ιστούς του εγκεφάλου.

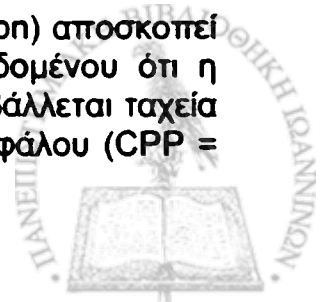
Η επαναιμάτωση είναι αποτελεσματική, σύμφωνα με πειραματικές και κλινικές μελέτες εστιακής ισχαιμίας, όταν επιτευχθεί εντός του αναφερόμενου ως "θεραπευτικού παραθύρου" χρόνου, ήτοι εντός 3 - 4 ωρών μετά την εγκατάσταση του επεισοδίου (92, 93).

Η ισοογκαιμική αιμοαραίωση (isovolumic hemodilution) αποσκοπεί στη βελτίωση της μικροκυκλοφορίας στο νευροπυλιματικό χώρο και την ανάπτυξη της παράπλευρης αιματικής ροής, μέσω της μείωσης της γλοιότητας του αίματος, που προκαλεί (94). Οι παράγοντες που καθορίζουν την γλοιότητα του αίματος είναι ο Ht, η πλαστικότητα των ερυθροκυττάρων, η συσώρευση αιμοπεταλίων και η γλοιότητα του πλάσματος. Η ροή είναι αντιστρόφως ανάλογη της γλοιότητας (νόμος του Poiseuille). Η μείωση της αιματικής ροής κατά την ισχαιμία συνεπάγεται αύξηση της γλοιότητας του αίματος τοπικά, με επακόλουθο να δυσχεραίνεται περαιτέρω η άρδευση των ιστών της ισχαιμικής περιοχής και να επιδεινώνεται η αρχική προσβολή, δηλαδή προκύπτει ένας φαύλος κύκλος στην ισχαιμική περιοχή (95).

Η ισοογκαιμική αιμοαραίωση επιτυγχάνεται με αφαίρεση αίματος και την χορήγηση ίσου όγκου κολλοειδών (δεξτράνη, αλβουμίνη ή υδροξυαιθυλικό άμυλο) ή κρυσταλλοειδών διαλυμάτων. Σε πειραματική εστιακή εγκεφαλική ισχαιμία η ισοογκαιμική αιμοαραίωση με χαμηλού μοριακού βάρους δεξτράνη βελτιώνει την νευρολογική έκβαση και ελαττώνει την έκταση του εγκεφαλικού εμφράκτου, σε αντίθεση με την ισοογκαιμική αιμοαραίωση με γαλακτικό Ringer (R/L) που επιδεινώνει την έκβαση και αυξάνει την έκταση του εμφράκτου (96). Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι το κολλοειδές παραμένει στο ενδοαγγειακό διαμέρισμα, ενώ το R/L εξαγγειώνεται και επιδεινώνει το οίδημα.

Η αιμοαραίωση μειώνει βέβαια τη συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης και έτσι την ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου. Εν τούτοις, η βελτίωση της ροής του αίματος έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της διαθεσιμότητας οξυγόνου στους ιστούς, εφόσον ο Ht δεν είναι μικρότερος από 30%. Δεν είναι γνωστό ποιος είναι ο βέλτιστος Ht για την εγκεφαλική ισχαιμία. Σύμφωνα με πρόσφατες πειραματικές μελέτες η μεταφορά και διαθεσιμότητα του οξυγόνου είναι καλύτερη με τιμές Ht 33 - 35% (97, 98) και η ροή αίματος στην ισχαιμική περιοχή -ακόμη και όταν η αυτορρύθμιση είναι επηρεασμένη- με τιμές Ht 30-32%, επιτευχθείσες μέσω αιμοαραίωσης με κολλοειδή (99). Δυστυχώς, σε ελεγχόμενες κλινικές μελέτες εγκεφαλικής ισχαιμίας με τυχαία κατανομή η ισοογκαιμική αιμοαραίωση δεν πρόσφερε οιαδήποτε νευρολογική βελτίωση (100).

Η προκλητή αύξηση της αρτηριακής πίεσης (deliberate hypertension) αποσκοπεί στη βελτίωση της πίεσης άρδευσης στην εστία της ισχαιμίας. Δεδομένου ότι η μεθισχαιμική υπόταση προκαλεί επιπρόσθετη εγκεφαλική βλάβη, επιβάλλεται ταχεία αποκατάσταση της αρτηριακής πίεσης. Η πίεσης άρδευσης του εγκεφάλου (CPP =



Ο εγκέφαλος είναι εξαιρετικά ευαίσθητος στην ισχαιμία και υφίσταται ταχέως μόνιμη βλάβη. Συνεπώς, το βασικότερο στοιχείο της αντιμετώπισης των εν λόγω καταστάσεων συνίσταται στην αποκατάσταση της ροής αίματος στον εγκέφαλο, ώστε η παροχή O_2 και γλυκόζης να είναι επαρκής για τις μεταβολικές ανάγκες των νευρώνων και να αποκατασταθούν τα ενεργειακά συστήματα και η ομοιοστασία (ηλεκτρολυτική, οξεοβασική κ.α.) των νευρικών κυττάρων.

Η έρευνα για την κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών και την ανεύρεση μεθόδων αντιμετώπισης της ισχαιμικής βλάβης του εγκεφάλου ήταν εντατική τα τελευταία χρόνια και σήμερα είναι διαθέσιμοι διάφοροι φαρμακευτικοί παράγοντες που μπορούν να προλάβουν την ισχαιμική βλάβη ή να μειώσουν τη σοβαρότητά της, κανένας όμως από αυτούς δεν κατέχει ιδανική αποτελεσματικότητα.

Πέραν της έγκαιρης αποκατάστασης της ροής αίματος, ουσιώδους σημασίας στην αντιμετώπιση των συνεπειών της εγκεφαλικής ισχαιμίας είναι η έγκαιρη αντιρρόπηση των καταβολικών διεργασιών και η αναστολή της εισόδου ασβεστίου στο νευρικό κύτταρο, ώστε να αποτραπεί η μη ανατάξιμη αλλοίωση της οργάνωσής του και να παραταθεί η επιβίωσή του. Ο κυτταρικός θάνατος μπορεί να καθυστερήσει ή και να αποφευχθεί, μέσω θεραπευτικής παρέμβασης σε παθοφυσιολογικές διαταραχές που προκύπτουν κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας.

Στην επέλευση του νευρωνικού θανάτου συμβάλλουν οι εξής παράγοντες: 1) Η μεταβολική δραστηριότητα του νευρώνα. Όσο πιο δραστήριος είναι ο νευρώνας, τόσο περισσότερη ενέργεια απαιτεί και επομένως τόσο πιο ευαίσθητος στην ισχαιμία. Αντίθετα, η ευαισθησία του εγκεφάλου στην ισχαιμία μειώνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες, διότι ο μεταβολισμός και συνεπώς οι ενεργειακές ανάγκες του κυττάρου μειώνονται παράλληλα με τη μείωση της θερμοκρασίας. 2) Η συσσώρευση μεταβολιτών, όπως το γαλακτικό οξύ και οι ελεύθερες ρίζες. 3) Η ακεραιότητα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης του νευρώνα και 4) Η διαφορά μεταξύ της ενδοκυττάριας και της εξωκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου. Η είσοδος ασβεστίου στα κύτταρα συνεπάγεται κυτταρική βλάβη.

Συγκεκριμένα, δύο είναι οι βασικές στρατηγικές θεραπευτικής παρέμβασης σε οξεία εγκεφαλική ισχαιμία: α. αποκατάσταση της παροχής οξυγόνου και υποστρωμάτων στον εγκέφαλο, που σημαίνει επαναιμάτωση και βελτίωση της μικροκυκλοφορίας και β. τροποποίηση των βιοχημικών μεταβολών, οι οποίες τελικά προκαλούν το θάνατο των νευρώνων.

Η επαναιμάτωση της ισχαιμικής περιοχής (reperfusion) και δη της νεκροβιωτικής ζώνης, η οποία περιβάλλει τον πυρήνα της οριστικής βλάβης, επιτυγχάνεται με την έγκαιρη άρση του κωλύματος της κυκλοφορίας, είτε μέσω θρομβόλυσης (στα θρομβωτικά εγκεφαλικά επεισόδια), είτε με ενδαρτηρεκτομή / θρομβεκτομή (στα οξέα εμβολικά επεισόδια), -εφ'όσον βέβαια είναι προσπελάσιμος ο αποφραγμένος αρτηριακός κλάδος, όπως οι καρωτίδες (Φ. Τσιτσόπουλος: Πειραματική μελέτη των αγγειακών μικροαναστομών, διατριβή επί υφηγεσία, 1981).

Η θρομβολυτική αγωγή με ανασυνδυασμένο ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (rt-PA), εντός 3-6 ωρών μετά την εμφάνιση των νευρολογικών συμπτωμάτων, βελτιώνει τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα, αν και συνοδεύεται από κλινικά σημαντικό ποσοστό (10%) ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας, πλεονεκτώντας σημαντικά έναντι της αγωγής με στρεπτοκινάση, η οποία συνεπάγεται πολύ υψηλό ποσοστό εγκεφαλικής αιμορραγίας και θνησιμότητας (89, 90).

Η ηπαρίνη, η οποία εχρησιμοποιήτο κατά το παρελθόν, δεν έχει ευεργετικά αποτελέσματα και μερικές φορές επιδεινώνει την κατάσταση του πάσχοντος.



Οι αντιθρομβωτικές ουσίες, όπως η ασπιρίνη, η σουλφινπυραζόνη (οι οποίες αναστέλλουν την κυκλοοξυγενάση και ευνοούν την σύνθεση της PGI_2), η πεντοξυφυλλίνη και η διπυριδαμόλη (οι οποίες αναστέλλουν τη φωσφοδιεστεράση, αυξάνοντας το ενδοκυττάριο cAMP και ελαττώνοντας τη συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων) χρησιμοποιούνται ευρέως για την αντιμετώπιση παροδικών ισχαιμικών προσβολών και την πρόληψη εστιακού εγκεφαλικού εμφράκτου (91). Η πεντοξυφυλλίνη βελτιώνει τη μικροκυκλοφορία στο επίπεδο των προτριχοειδών αρτηριολίων και των τριχοειδών, αυξάνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα του οξυγόνου στους ιστούς του εγκεφάλου.

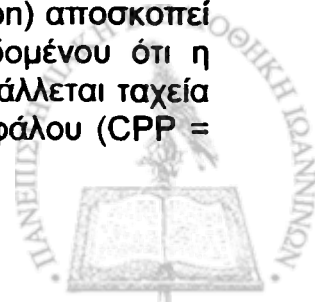
Η επαναιμάτωση είναι αποτελεσματική, σύμφωνα με πειραματικές και κλινικές μελέτες εστιακής ισχαιμίας, όταν επιτευχθεί εντός του αναφερόμενου ως "θεραπευτικού παραθύρου" χρόνου, ήτοι εντός 3 - 4 ωρών μετά την εγκατάσταση του επεισοδίου (92, 93).

Η ισοογκαιμική αιμοαραίωση (isovolumic hemodilution) αποσκοπεί στη βελτίωση της μικροκυκλοφορίας στο νευροπυλιματικό χώρο και την ανάπτυξη της παράπλευρης αιματικής ροής, μέσω της μείωσης της γλοιότητας του αίματος, που προκαλεί (94). Οι παράγοντες που καθορίζουν την γλοιότητα του αίματος είναι ο Ht, η πλαστικότητα των ερυθροκυττάρων, η συσσώρευση αιμοπεταλίων και η γλοιότητα του πλάσματος. Η ροή είναι αντιστρόφως ανάλογη της γλοιότητας (νόμος του Poiseuille). Η μείωση της αιματικής ροής κατά την ισχαιμία συνεπάγεται αύξηση της γλοιότητας του αίματος τοπικά, με επακόλουθο να δυσχεραίνεται περαιτέρω η άρδευση των ιστών της ισχαιμικής περιοχής και να επιδεινώνεται η αρχική προσβολή, δηλαδή προκύπτει ένας φαύλος κύκλος στην ισχαιμική περιοχή (95).

Η ισοογκαιμική αιμοαραίωση επιτυγχάνεται με αφαίρεση αίματος και την χορήγηση ίσου όγκου κολλοειδών (δεξτράνη, αλβουμίνη ή υδροξυαιθυλικό άμυλο) ή κρυσταλλοειδών διαλυμάτων. Σε πειραματική εστιακή εγκεφαλική ισχαιμία η ισοογκαιμική αιμοαραίωση με χαμηλού μοριακού βάρους δεξτράνη βελτιώνει την νευρολογική έκβαση και ελαττώνει την έκταση του εγκεφαλικού εμφράκτου, σε αντίθεση με την ισοογκαιμική αιμοαραίωση με γαλακτικό Ringer (R/L) που επιδεινώνει την έκβαση και αυξάνει την έκταση του εμφράκτου (96). Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι το κολλοειδές παραμένει στο ενδοαγγειακό διαμέρισμα, ενώ το R/L εξαγγειώνεται και επιδεινώνει το οίδημα.

Η αιμοαραίωση μειώνει βέβαια τη συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης και έτσι την ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου. Εν τούτοις, η βελτίωση της ροής του αίματος έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της διαθεσιμότητας οξυγόνου στους ιστούς, εφόσον ο Ht δεν είναι μικρότερος από 30%. Δεν είναι γνωστό ποιος είναι ο βέλτιστος Ht για την εγκεφαλική ισχαιμία. Σύμφωνα με πρόσφατες πειραματικές μελέτες η μεταφορά και διαθεσιμότητα του οξυγόνου είναι καλύτερη με τιμές Ht 33 - 35% (97, 98) και η ροή αίματος στην ισχαιμική περιοχή -ακόμη και όταν η αυτορρύθμιση είναι επηρεασμένη- με τιμές Ht 30-32%, επιτυγχθείσες μέσω αιμοαραίωσης με κολλοειδή (99). Δυστυχώς, σε ελεγχόμενες κλινικές μελέτες εγκεφαλικής ισχαιμίας με τυχαία κατανομή η ισοογκαιμική αιμοαραίωση δεν πρόσφερε οιαδήποτε νευρολογική βελτίωση (100).

Η προκλητή αύξηση της αρτηριακής πίεσης (deliberate hypertension) αποσκοπεί στη βελτίωση της πίεσης άρδευσης στην εστία της ισχαιμίας. Δεδομένου ότι η μεθισχαιμική υπόταση προκαλεί επιπρόσθετη εγκεφαλική βλάβη, επιβάλλεται ταχεία αποκατάσταση της αρτηριακής πίεσης. Η πίεσης άρδευσης του εγκεφάλου (CPP =



MAP-ICP) οφείλει να είναι ≥ 70 mm Hg, πράγμα που σημαίνει ότι η MAP πρέπει να διατηρείται *υψηλότερη από 90 mm Hg* (101). Σε φυσιολογικές καταστάσεις η CBF ρυθμίζεται από τις τοπικές μεταβολικές ανάγκες και είναι ανεξάρτητη από την αρτηριακή πίεση (αυτορρύθμιση), σε ένα ευρύ πλαίσιο τιμών της MAP (50-150 mm Hg). Με την έναρξη όμως της ισχαιμίας χάνεται ο έλεγχος της αιματικής ροής μέσω αυτορρύθμισης στην προσβεβλημένη περιοχή και η CBF μεταβάλλεται παράλληλα προς την αρτηριακή πίεση (102). Η αιματική ροή της ισχαιμικής περιοχής παρέχεται από την παράπλευρη κυκλοφορία. Αυτή η ροή είναι μειωμένη συγκρινόμενη με την φυσιολογική κυκλοφορία, αλλά δεν είναι μηδενική (103). Η αύξηση της αρτηριακής πίεσης συνεπάγεται την αύξηση της υπολειμματικής αυτής αιματικής ροής στην ισχαιμική περιοχή ανοίγοντας παράπλευρα αγγεία (104). Διάφοροι ερευνητές βρήκαν νευρολογική βελτίωση μετά από πρόκληση υπέρτασης σε πειραματόζωα (105), καθώς και βελτίωση του εγκεφαλικού αγγειοσπασμού (106). Άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η προκλητή υπέρταση επιδεινώνει το αγγειογενές οίδημα, επειδή ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός είναι ανοικτός και έχουμε ηυξημένη εξαγγείωση μακρομορίων στον εξωκυττάριο χώρο (107). Η υπέρταση μπορεί επίσης να προκαλέσει αιμορραγία και να επεκτείνει έτσι τη βλάβη πέρα από την ισχαιμική ζώνη (108,109), ενώ εξάλλου αυξάνει την πιθανότητα βλάβης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (110). Οι παρατηρήσεις αυτές έγιναν σε πειραματόζωα που υποβλήθηκαν σε 5 ωρη ισχαιμία.

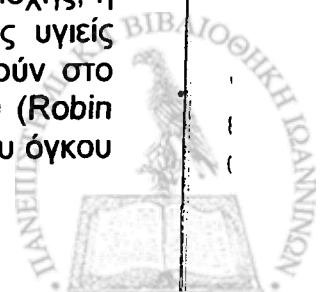
Έχοντας υπόψιν αυτές τις πιθανές επιπλοκές της προκλητής υπέρτασης και γνωρίζοντας επίσης τις τραγικές συνέπειες της υπότασης, συνιστάται η διατήρηση της MAP σε φυσιολογικά επίπεδα (90-110 mmHg) ή σε επίπεδα $\sim 10\%$ πάνω από την προισχαιμική τιμή. Είναι γνωστό ότι η αρτηριακή πίεση αυξάνεται κατά την εγκατάσταση των ισχαιμικών αγγειακών επεισοδίων, ιδιαίτερα οσάκις αυξάνεται η ενδοκράνια πίεση. Η προσπάθεια ελάττωσης της συστηματικής αρτηριακής πίεσης χωρίς προηγούμενη αντιμετώπιση της ενδοκράνιας υπέρτασης έχει κατά κανόνα τραγικές συνέπειες, καθ' όσον για να διατηρηθεί η CBF πρέπει απαραίτητως η ICP να βρίσκεται σε επίπεδα κατώτερα της MAP.

Πολλοί ασθενείς με αγγειακό ισχαιμικό επεισόδιο έχουν χρόνια συστηματική υπέρταση και τα όρια της εγκεφαλικής αυτορρύθμισης αποκλίνουν προς τις υψηλές πιέσεις, δηλαδή δεν ανέχονται τις χαμηλές πιέσεις. Σε αυτούς τους ασθενείς χορηγείται αντιυπερτασική αγωγή μόνο όταν η συστολική πίεση ανέλθει > 220 mmHg ή διαστολική πίεση > 130 mmHg, διότι η ελάττωση της συστηματικής αρτηριακής πίεσης συνεπάγεται ελάττωση της CBF και επέκταση του θρόμβου (111).

Μεταβολές του αγγειακού τόνου

Ο αγγειακός τόνος των εγκεφαλικών αγγείων μπορεί να μεταβληθεί με μεταβολές της PaCO_2 και μέσω αγγειοδραστικών φαρμάκων.

Η **υποκαπνία** προκαλεί αγγειοσύσπασση, περιορίζοντας έτσι τον όγκο του αίματος του εγκεφάλου και την ICP. Ο μηχανικός υπεραερισμός είναι μία παραδοσιακή μέθοδος ελάττωσης της ICP σε ασθενείς με ενδοκράνια υπέρταση. Η υποκαπνία περιορίζει τις δευτεροπαθείς εγκεφαλικές βλάβες μέσω της ελάττωσης της ICP, της αύξησης του ιστικού pH και της βελτίωσης της άρδευσης της ισχαιμικής περιοχής, η οποία προκύπτει από το γεγονός ότι η αγγειοσύσπασση γίνεται μόνο στις υγιείς περιοχές του εγκεφάλου (τα αγγεία στην περιοχή της βλάβης δεν απαντούν στο CO_2), ανακατανέμοντας το αίμα από τις υγιείς προς την ισχαιμική περιοχή (Robin Hood effect). Στόχος της θεραπευτικής αυτής παρέμβασης είναι η μείωση του όγκου



του εγκεφάλου χωρίς όμως να μειωθεί η CBF κάτω από την ισχαιμική ουδό και να επιταθεί έτσι η ήδη υπάρχουσα βλάβη. Η συνιστώμενη τιμή PaCO₂ είναι 30-35 mmHg (112). Εάν η καταστολή και η αποιδηματική αγωγή αποτύχουν να ελαττώσουν την ICP θα χρειασθεί μείωση της PaCO₂ < 30 mmHg. Σε τιμές PaCO₂ ~28 mmHg αλκαλοποιείται το ENY και τον εγκεφαλικό ιστό αντιροπίζοντας την μετιστασιμική ιστική οξέωση (113). Σε τιμές PaCO₂ όμως μικρότερες από 18 mmHg προκύπτει έντονος αγγειόσπασμος, με επακόλουθο την εγκεφαλική ισχαιμία και υποξία. Αυτό δείχνει ότι η υποκαπνία πρέπει να τιτλοποιείται. Η τιτλοποίηση της PaCO₂ βασίζεται στην AJDO₂ και στον SjvO₂. Τιμές AJDO₂ > 9ml/dl ή SjvO₂ < 55% σημαίνουν εγκεφαλική ισχαιμία.

Ο **υπεραερισμός** παριστά την πρώτη επιλογή στην αντιμετώπιση ενδοκράνιας υπέρτασης από υπεραιμία, οπότε ο SjvO₂ είναι > 75%. Ο υπεραιρισμός είναι αποτελεσματικός για λιγότερο από 24ώρες. Στη συνέχεια επανέρχονται το ενδοκυτταρικό και εξωκυτταρικό pH στις αρχικές τιμές τους και οι λείες μυϊκές ίνες των εγκεφαλικών αγγείων δεν αντιδρούν στην υποκαπνία. Σε εστιακή ισχαιμία χωρίς ενδοκράνια υπέρταση πρέπει να διατηρείται νορμοκαπνία. Η υποκαπνία προκαλεί σε αυτή την περίπτωση υποκλοπή της ροής από την πέριξ της ισχαιμίας περιοχή.

Αγγειοδραστικά φάρμακα. Αγγειοδιασταλτικά φάρμακα όπως οι αναστολείς διαύλων ασβεστίου, η προστακυκλίνη (PGI₂) και οι αναστολείς της συνθετάσης της θρομβοξανής A₂ φαίνεται να βελτιώνουν αποτελεσματικά την αιματική ροή στις ισχαιμικές περιοχές, χωρίς εν τούτοις να επιδρούν στην έκβαση των πειραματοζώων (114, 115). Η **αμινοφυλλίνη** αυξάνει την αιματική ροή στις ισχαιμικές περιοχές, πιθανώς μέσω αγγειοσύσπασης στις φυσιολογικές περιοχές και βελτίωσης της παράπλευρης κυκλοφορίας (116). Η **ινδομεθακίνη**, ένας ισχυρός αναστολέας της κυκλοοξυγενάσης, αναστέλλει τη σύνθεση της θρομβοξανής περισσότερο από ό,τι αυτή της προστακυκλίνης και έτσι ασκεί θεωρητικά προστατευτική δράση στους ισχαιμικούς ιστούς, αναφέρεται όμως ότι επιδεινώνει το οίδημα μετά από ισχαιμία (117). Έχει χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με PGI₂ για προστασία του εγκεφάλου (118). Πρόσφατα έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ανθεκτικής στον υπεραιρισμό και στα βαρβιτουρικά ενδοκρανιακής υπέρτασης, που βελτιώθηκε με ινδομεθακίνη και μάλιστα για παρατεταμένο χρόνο. Η προληπτική χορήγηση ινδομεθακίνης (πριν από ισχαιμία) βελτιώνει τη νευρολογική έκβαση (119), δυστυχώς όμως η θεραπευτική χορήγηση του φαρμάκου (μετά την εγκατάσταση της ισχαιμίας) δεν έχει καμία ευνοϊκή δράση (120).

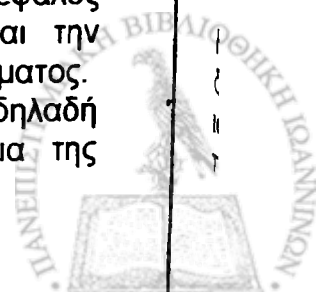
Οξυγόνο. Ο εγκεφαλος χρησιμοποιεί μεγάλες ποσότητες O₂ και ως εκ τούτου είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος στην υποξία. Καταναλώνει το 15-20% του συνολικά καταναλισκόμενου οξυγόνου, ενώ το βάρος του αποτελεί μόλις το 2% του σωματικού βάρους. Είναι λογικό να θεωρείται ότι η αύξηση της PaO₂ ≥ 100mm Hg με τη χορήγηση O₂ 100% (FiO₂ = 1) με σκοπό την αύξηση του διαλυμένου στο πλάσμα και έτσι της ιστικής PO₂ βελτιώνει την οξυγόνωση των κυττάρων της ισχαιμικής περιοχής. Εν τούτοις, αν αναλογισθεί κανείς ότι αφενός η Hb είναι σχεδόν πλήρως κορεσμένη και με FiO₂ ≠ 0.21 και αφετέρου ότι το O₂ προκαλεί βλάβη στους πνεύμονες και ελαττώνει την CBF συνεπεία αγγειοσυσπάσεως, φαίνεται ότι η νορμοβαρική υπεροξία δεν προσφέρει κάποιο πλεονέκτημα στην αντιμετώπιση της εγκεφαλικής ισχαιμίας. Το υπέρβαρες οξυγόνο όμως υπόσχεται πολλά στην αντιμετώπιση αρρώστων με εστιακή ισχαιμία του εγκεφάλου. Ελαττώνει την έκταση



του εμφράκτου εάν χορηγηθεί σε πειραματόζωα 2.5 - 3.5 ώρες μετά από αποκλεισμό της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας (121). Η μέθοδος όμως αυτή δεν χαίρει ευρείας εφαρμογής στον άνθρωπο λόγω έλλειψης σχετικών κλινικών μελετών και του κινδύνου της τοξικής δράσης της υπερβαρικής υπεροξίας (αυξάνει την παραγωγή κυτταροτοξικών μεταβολιτών του O_2) στον εγκεφαλικό ιστό (122). Έχει βρεθεί εξάλλου σε πειραματόζωα ότι αύξηση της οξυγονώσεως του αίματος με ένα γαλακτώδη φθοριοάνθρακα (Fluosol DA, τεχνητός μεταφορέας O_2) μειώνει το μέγεθος του εγκεφαλικού εμφράκτου και βελτιώνει την τελική νευρολογική έκβαση (123). Το πρόβλημα με το Fluosol DA είναι ότι προκαλεί βλάβες στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα και στα λευκοκύτταρα.

Υποθερμία. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η βλάβη από ισχαιμία αναπτύσσεται εξαιτίας του ότι η παροχή O_2 δεν αρκεί για την διατήρηση του αερόβιου μεταβολισμού και ο αναερόβιος μεταβολισμός αδυνατεί να παράγει τις απαραίτητες για τη διατήρηση της φυσιολογικής ιοντικής διαφοράς εκατέρωθεν της μεμβράνης του νευρικού κυττάρου ποσότητες ενέργειας. Η διαταραχή της φυσιολογικής ιοντικής διαφοράς συνεπάγεται σημαντικό αριθμό μεταβολικών επακόλουθων, τα οποία παίζουν με τη σειρά τους το δικό τους ρόλο στην οξεία κυτταροπαθολογία του εξελισσόμενου εμφράκτου. Η υποθερμία αυξάνει την αντοχή του νευρικού κυττάρου στην πλημμελή παροχή O_2 και προστατεύει τον εγκέφαλο από την υποξική βλάβη, επειδή ελαττώνει τον εγκεφαλικό μεταβολισμό και τις ανάγκες των νευρώνων σε ενέργεια, παριστώντας την πλέον αποτελεσματική φυσιολογική προφύλαξη από την ισχαιμική βλάβη. Η κατανάλωση O_2 στον εγκέφαλο μειώνεται κατά 5-7% ανά βαθμό ελαττώσεως της θερμοκρασίας (124,125). Έχει βρεθεί ότι πειραματόζωα, τα οποία υποβάλλονται σε υποξία τέτοιου βαθμού, ώστε να μειωθεί η συγκέντρωση ATP στο ήμισυ υπό συνθήκες νορμοθερμίας ($37^{\circ}C$) διατηρούν τη συγκέντρωση ATP και φωσφοκρεατίνης σε φυσιολογικά επίπεδα αν παράλληλα με την υποξία υποβληθούν σε υποθερμία (126). Εκτός από την εξοικονόμηση ενέργειας η υποθερμία συνεπάγεται μία σειρά ευνοϊκών για τη διατήρηση της ακεραιότητας των νευρικών κυττάρων βιοχημικών και παθοφυσιολογικών μεταβολών, ανταγωνιζόμενη όλες τις βλαβερές συνέπειες της ισχαιμίας. Συγκεκριμένα: α) μειώνει την είσοδο ιόντων ασβεστίου στο κύτταρο, β) μειώνει την έκλυση γλουταμίνης, γλυκίνης και ντοπαμίνης, γ) αναστέλλει την πρωτεϊνική κινάση C, δ) βελτιώνει τη χρησιμοποίηση της γλυκόζης, ε) περιορίζει την υπεροξειδωση των λιπιδίων και το σχηματισμό EPO_2 , ζ) σταθεροποιεί την κυτταρική μεμβράνη και ελαττώνει τη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, η) μειώνει την έκκριση νευροδιαβιβαστών και θ) περιορίζει την υπεραϊμία που προκύπτει κατά την επαναιμάτωση (127). Το κλινικό όφελος της υποθερμίας συνίσταται σε μείωση της έκτασης της ισχαιμικής περιοχής και βελτίωση της νευρολογικής έκβασης.

Η βαθιά υποθερμία ($< 28^{\circ}C$) προστατεύει τον εγκέφαλο και από την εστιακή και από την ολική ισχαιμία, αλλά η υποθερμία μπορεί να προκαλέσει βλάβες ποιοτικά όμοιες με αυτές που προκαλεί η υποξία (128). Επίσης η έντονη υποθερμία προκαλεί σοβαρές αιμοδυναμικές διαταραχές και συνθήκες οξέωσης. Τελευταία το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί στην ήπια ($33^{\circ}-36^{\circ}C$) και μέτρια ($29^{\circ}-32^{\circ}C$) υποθερμία, καθότι βρέθηκε πειραματικά και κλινικά ότι ο εγκέφαλος προστατεύεται από την ισχαιμική βλάβη, το σχηματισμό οιδήματος και την ενδοκράνια υπέρταση ακόμα και με μικρές μειώσεις της θερμοκρασίας του σώματος. Η χρονική στιγμή εφαρμογής της υποθερμίας (timing) έχει κρίσιμη σημασία, δηλαδή η υποθερμία είναι αποτελεσματική όταν εφαρμόζεται κατά την διάρκεια της



εγκεφαλικής ισχαιμίας ή το πολύ 15-90 min μετά το ισχαιμικό επεισόδιο (129). Παρομοίως, ήπια υποθερμία (34°C) που εφαρμόζεται αμέσως μετά καρδιοπνευμονική αναζωογόνηση για διάρκεια μίας ώρας, περιορίζει σημαντικά την ιστοπαθολογική βλάβη και το βαθμό λειτουργικής έκπτωσης, ενώ καθυστέρηση στην εφαρμογή της υποθερμίας μέχρι 15-30 min μετά την ανακοπή σχετίζεται με χειρότερη έκβαση.

Η υπερθερμία, ακόμη και η μέτρια, αυξάνει τον εγκεφαλικό μεταβολισμό και τις ανάγκες των νευρώνων σε ενέργεια και προκαλεί - αντίθετα προς την υποθερμία - επιδείνωση της νευρολογικής έκβασης (130). Ως εκ τούτου, ενδείκνυται στην κλινική πράξη η «θεραπεία» της υπερθερμίας με αντιπυρετικά και ψυχρά επιθέματα σε ασθενείς με εγκεφαλική ισχαιμία.

Καταστολή. Τα κατασταλτικά φάρμακα και οι αναισθητικοί παράγοντες μειώνουν τον εγκεφαλικό μεταβολισμό (CMR) και μπορεί να προστατεύσουν τον εγκέφαλο από την ισχαιμική βλάβη. Τα *βαρβιτουρικά* μειώνουν τον CMR, αλλά και την ICP και μάλιστα είναι δυνατόν να αντιμετωπισθεί με αυτά το ανθεκτικό στον υπεραερισμό και στην χορήγηση μαννιτόλης εγκεφαλικό οίδημα και η ενδοκράνια υπέρταση. Περαιτέρω τα βαρβιτουρικά μειώνουν την είσοδο ασβεστίου και γλυκόζης στο κύτταρο, μπλοκάρουν τους διαύλους Na^+ και την δημιουργία EPO_2 , ενώ αυξάνουν την παραγωγή κυκλικού AMP και αντιστρατεύονται τις δράσεις του NMDA και του AMPA (131). Δεν προστατεύουν όμως τον εγκέφαλο από τη βλάβη που προκαλεί η σφαιρική εγκεφαλική ισχαιμία συνεπεία καρδιακής ανακοπής, είτε χορηγηθούν πριν, είτε κατά, είτε μετά το επεισόδιο και τούτο διότι *δεν μπορούν να καταστείλουν τον εγκεφαλικό μεταβολισμό όταν απουσιάζει η ηλεκτροφυσιολογική λειτουργία* (132). Τα βαρβιτουρικά ελαττώνουν εξάλλου το μέγεθος της εμφραγματικής περιοχής σε μοντέλα πειραματοζώων με προσωρινή εστιακή ισχαιμία (133), μέσω υποκλοπής αίματος από τις υγιείς περιοχές, όπου προκαλούν αγγειοσύσπασση προς την περιοχή της ισχαιμίας (134). Φαίνεται ότι ιδανική ένδειξη χορήγησης βαρβιτουρικών αποτελούν οι εγχειρήσεις έξω- και ενδοκρανιακής επαναγγείωσης, λίγο πριν την προσωρινή απολίνωση του αγγείου, ενώ δεν συνιστώνται σε πλήρη εγκεφαλική ισχαιμία (135).

Οι *βενζοδιαζεπίνες* περιορίζουν το νευρολογικό έλλειμμα και αυξάνουν το ποσοστό επιβίωσης μετά από ατελή σφαιρική ισχαιμία και υποξία (136). Η *διαζεπάμη* μειώνει την συχνότητα εμφάνισης και το μέγεθος των μετεγχειρητικών νευρολογικών και ψυχιατρικών προβλημάτων σε ασθενείς που υποβλήθησαν σε επέμβαση με εξωσωματική καρδιοπνευμονική κυκλοφορία (137). Η *μιδαζολάμη* ελαττώνει σημαντικά στον άνθρωπο (κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο) τον CMR και την CBF και διατηρεί τα επίπεδα του ATP, προστατεύοντας τους νευρώνες του ιπποκάμπτου από την ανοξική βλάβη (138). Παρά τις ιδιότητες αυτές η μιδαζολάμη και η διαζεπάμη δεν αποτελούν την πρώτη κλινική επιλογή για προστασία του εγκεφάλου από ισχαιμία, διότι έχουν παρατεταμένη δράση και είναι δύσκολο να εκτιμηθεί έγκαιρα η νευρολογική εικόνα του αρρώστου.

Η *προποφόλη* ελαττώνει σημαντικά τον CMR και την CBF (139) και επιπλέον δεσμεύει τις EPO_2 . Ενώ όμως μπορεί θεωρητικά να προστατεύσει τον εγκέφαλο από ισχαιμία, βρέθηκε σε ένα πειραματικό μοντέλο σφαιρικής ισχαιμίας ότι τα πειραματόζωα δεν παρουσίασαν καλύτερη νευρολογική έκβαση από αυτά της



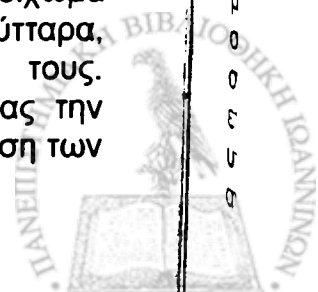
ομάδας ελέγχου, παρά την καλύτερη ΗΕΓφική εικόνα και ηλεκτρολυτική ομοιοστασία (140,141).

Η **Ετομιδάτη** προκαλεί σύσπασση των αγγείων του εγκεφάλου, ελαττώνει την CBF ταχύτατα και προκαλεί αναστρέψιμη δοσοεξαρτώμενη μείωση του CMR και σε βαθμό παρόμοιο με τα βαρβιτουρικά, αλλά με λιγότερη καρδιαγγειακή καταστολή (142). Δεν ενδείκνυται όμως για παρατεταμένη χορήγηση, επειδή καταστέλλει σημαντικά τη στεροειδογένεση (143).

Η **Φαινυτοΐνη** προστατεύει τον εγκέφαλο από υποξία ή ισχαιμία, διότι ελαττώνει τον CMR κατά 40-60% (144) και προστατεύει τους νευρώνες από την - προκαλούμενη από την υποξία- διαταραχή της συγκέντρωσης καλίου / νατρίου εκατέρωθεν της κυτταρικής τους μεμβράνης και την είσοδο ιόντων ασβεστίου στο κύτταρο (145).

Τα **πηητικά αναισθητικά** ισοφλουράνιο, σεβοφλουράνιο και δεσφλουράνιο βελτιώνουν τη σχέση προσφερόμενου / απαιτούμενου O_2 σε εστιακή εγκεφαλική ισχαιμία, διότι καταστέλλουν το μεταβολισμό του εγκεφάλου, ιδίως όταν χορηγούνται σε δόση μεγαλύτερη των 2MAC. Μελέτες σε πειραματόζωα με εστιακή ισχαιμία ή ατελή ισχαιμία ενός ημισφαιρίου απέδειξαν ότι τα φάρμακα αυτά μπορούν να περιορίσουν την εμφραγματική περιοχή και να βελτιώσουν την νευρολογική έκβαση, όταν χορηγηθούν προ της πρόκλησης της ισχαιμίας (146). Ανάλογα ήταν τα αποτελέσματα μελέτης σε αναισθητοποιημένους ασθενείς που υποβλήθησαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, όπου βρέθηκε αύξηση της αντοχής του εγκεφάλου σε χαμηλή αιματική ροή και διατήρηση της νευρολογικής λειτουργίας κατά την διάρκεια του αποκλεισμού της καρωτίδας (147). Το ισοφλουράνιο προκαλεί μεγάλη αλλά ταχέως αναστρέψιμη δοσοεξαρτώμενη καταστολή της μεταβολικής δραστηριότητας του εγκεφάλου (148), ενώ παράλληλα εμφανίζεται μια ελάχιστη αύξηση της CBF, λόγω ελάττωσης των εγκεφαλικών αγγειακών αντιστάσεων (149). Η προστατευτική δράση του ισοφλουρανίου επιβεβαιώνεται και από το εύρημα ότι αν χορηγηθεί κατά την διάρκεια ισχαιμίας διατηρεί σε φυσιολογικά επίπεδα τα αποθέματα του εγκεφάλου σε ATP και φωσφοκρεατίνη (150).

Ανταγωνιστές των διαύλων ασβεστίου. Η ισχαιμία προκαλεί μαζική είσοδο ιονισμένου ασβεστίου στα κύτταρα, με επακόλουθο μία σειρά βιοχημικών γεγονότων, που καταλήγουν σε μη αναστρέψιμη βλάβη των νευρώνων, ακόμα και εκείνων που δεν υπέστησαν ολοκληρωτική βλάβη από την ένδεια οξυγόνου (Shapiro 1985). Η πρόληψη της εισόδου ιόντων ασβεστίου και έτσι της βιοχημικής αυτής καταιγίδας μπορεί να διασώσει τα κύτταρα εκείνα που δεν έχουν υποστεί μη αναστρέψιμη βλάβη από υποξία. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τους αποκλειστές των διαύλων ασβεστίου, μία ετερογενή ομάδα φαρμάκων (συμπεριλαμβανομένων παραγώγων της παπαβερίνης, της διυδροπυριδίνης και της πιπεραζίνης), τα οποία αποκλείουν την είσοδο Ca^{++} μέσω των ευαίσθητων στις διαφορές δυναμικού διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης. Οι αποκλειστές των διαύλων ασβεστίου ασκούν διπλή ευεργετική δράση: α) βελτιώνουν την αιματική ροή, δρώντας στο αγγειακό τοίχωμα και β) ασκούν προστατευτική δράση στα νευρικά και νευρογλοϊκά κύτταρα, αποτρέποντας την υπέρμετρη συγκέντρωση Ca^{++} στο κυτταρόπλασμα τους. Περαιτέρω ελαττώνουν την συγκέντρωση γαλακτικού οξέος, καταστέλλοντας την παραγωγή και επιτείνουν την οξειδωση του και περιορίζουν την υπεροξειδωση των



λιπιδίων, διότι εγκλωβίζουν τις EPo_2 (που σχηματίζονται κατά την ισχαιμία) στην διπλοστιβάδα των λιποειδών, αποτρέποντας έτσι την δράση τους (151). Επί πλέον, τα φάρμακα αυτά βελτιώνουν τις ρεολογικές ιδιότητες του αίματος, διότι διατηρούν την πλαστικότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, εμποδίζοντας την παραμόρφωσή τους, η οποία προκύπτει κατά την υποξία λόγω της εισόδου Ca^{++} στο κυτταρόπλασμα τους και δυσχεραίνει τη αιματική ροή στη νεκροβιωτική ζώνη.

Οι ανταγωνιστές Ca^{++} *νιμοδιπίνη*, *φλουναριζίνη*, *νικαρδιπίνη* και *λιδοφλαζίνη* ασκούν εκλεκτική δράση στα εγκεφαλικά αγγεία και γιαυτό προτιμούνται για την εγκεφαλική προστασία. Η *νιμοδιπίνη* (ανήκει στην ομάδα των διυδροπυριδινών) δρα κυρίως στα αγγεία του εγκεφάλου, λόγω της μεγαλύτερης ευαισθησίας των ειδικών υποδοχέων των αγγείων αυτών στην εν λόγω ουσία και λόγω του ότι διέρχεται εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, όπου προκαλεί αύξηση της CBF (152). Έχει καταδειχθεί πειραματικά ότι η νιμοδιπίνη, χορηγούμενη πριν την απολίνωση της καρωτίδας, περιορίζει τις ισχαιμικές αλλοιώσεις των πειραματοζώων, παρά τη μικρή υπόταση που προκαλεί (153). Αντιφατικά είναι τα αποτελέσματα όσον αφορά στη βελτίωση της περιοχικής CBF και στο μέγεθος της εμφραγματικής περιοχής, όταν η νιμοδιπίνη χορηγείται μετά την πρόκληση της εστιακής ισχαιμίας (154, 155). Σε πειραματική πλήρη εγκεφαλική ισχαιμία η νιμοδιπίνη βελτίωσε την κατανομή της αιματικής ροής στην φάση της επαναιμάτωσης, καθώς και τη νευρολογική έκβαση (156). Σε μία μετα-ανάλυση συσσωρευμένων δεδομένων από πολλαπλές μελέτες φάνηκε ότι οι ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν έγκαιρα, ήτοι τις πρώτες 12 -18 ώρες μετά την εμφάνιση των συμπτωμάτων του ισχαιμικού επεισοδίου, παρουσίασαν βελτίωση (157). Σημαντική ήταν η βελτίωση, όσο αφορά στην επιβίωση των ασθενών, σε μία ομάδα που είχαν υποστεί καρδιακή ανακοπή και η προσπάθεια καρδιοπνευμονικής αναζωογόνησης καθυστέρησε ≥ 10 min (158).

Η *φλουναριζίνη* (ανήκει στην ομάδα των διφαινυλπιπεραζινών) δρα στις λείες μυϊκές ίνες του τοιχώματος των αγγείων, στα θρομβοκυττάρων και στα ερυθροκύτταρα του εγκεφαλικού ιστού και μπορεί να προστατεύσει τη νεκροβιωτική ζώνη της ισχαιμικής εστίας, προλαμβάνοντας την αγγειοσύσπαση, ελαττώνοντας τη γλοιότητα του αίματος και διατηρώντας την πλαστικότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Η ευεργετική της δράση καθίσταται καταφανής κατά την 4-6η ημέρα από την εγκατάσταση του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου. Εν τούτοις, δεν προστατεύει από σφαιρική ισχαιμία, όταν χορηγείται 10 min μετά την εγκατάστασή της (159) ούτε αυξάνει την CBF κατά την ισχαιμία και κατά την επαναιμάτωση, όταν χορηγείται πριν και μετά από ισχαιμία 15 min (160).

Η *λιδοφλαζίνη* έχει μελετηθεί κυρίως για την πρόληψη της νευρολογικής βλάβης μετά από ανακοπή. Σε πειραματικά μοντέλα καρδιακής ανακοπής τα αποτελέσματα ήταν αντιφατικά. Η χορήγηση της λιδοφλαζίνης σε ασθενείς, που υπέστησαν επιτυχή καρδιοαναπνευστική αναζωογόνηση αλλά παρέμειναν σε κωματώδη κατάσταση, δεν είχε κανένα θετικό αποτέλεσμα (161). Επομένως η λιδοφλαζίνη μόνη της δεν βελτιώνει τη νευρολογική βλάβη μετά από παρατεταμένη ολική εγκεφαλική ισχαιμία.

Η *νικαρδιπίνη* με όμοιες ιδιότητες και δράσεις με αυτές της νιμοδιπίνης (162) έχει χρησιμοποιηθεί σε κλινικές μελέτες ασθενών με υπαραχνοειδή αιμορραγία και έδειξε μικτά αποτελέσματα, ήτοι ελάττωση του αγγειοσπασμού, αλλά καμία βελτίωση στην συνολική έκβαση, σε σύγκριση με την συνήθη αντιμετώπιση (163, 164). Καμία σημαντική διαφορά όσο αναφορά στη νευρολογική έκβαση δεν παρατηρήθηκε επίσης μεταξύ των ομάδων με ή χωρίς αποκλειστή Ca^{++} , όπως και μεταξύ των υποομάδων νιμοδιπίνης / νικαρδιπίνης σε ασθενείς που χειρουργήθηκαν για ανεύρυσμα εγκεφάλου (165).



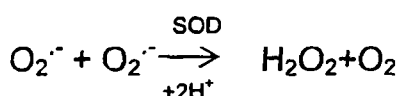
Μαγνήσιο. Σε παρατηρήσεις *in vitro* έχει βρεθεί ότι τα ιόντα μαγνησίου (Mg^{++}) ελαττώνουν τη συνεπεία ισχαιμίας / ανοξίας μετακίνηση Ca^{++} , μπλοκάροντας τους διαύλους που είναι ευαίσθητοι στην διαφορά δυναμικού και προστατεύει έτσι τους νευρώνες από την ανοξική βλάβη (166). Προκαλεί επίσης διαστολή των αγγείων του εγκεφάλου με αποτέλεσμα την αύξηση της CBF και παρεμποδίζει την απελευθέρωση νευρομεταβιβαστών, αποκλείοντας τη συναπτική μεταβίβαση (162).

Αποκλειστές των διαύλων νατρίου. Οι ουσίες αυτές (Riluzole, Flunarizine) συμβάλλουν στην σταθεροποίηση των νευρωνικών μεμβρανών κατά την ισχαιμία. Χρησιμοποιώντας παρασκεύασμα οπτικού νεύρου, ο Stys και οι συνεργάτες του (37), βρήκαν ότι τα τεταρτοταγή τοπικά αναισθητικά που δεσμεύουν το Na (QX-314 και QX-222) παρέχουν, σε συγκεντρώσεις που δεν δεσμεύουν την αγωγή, ικανοποιητικά μεγαλύτερη προστασία από ό,τι η λιδοκαΐνη ή η προκαΐνη. Όπως τα βαρβιτουρικά, η Riluzole μειώνει την είσοδο Na και την έκλυση γλουταμινικού κατά την ισχαιμία, προστατεύοντας τα πειραματόζωα από σφαιρική και εστιακή εγκεφαλική ισχαιμία, όταν χορηγείται μετά την έναρξη της προσβολής. Η Flunarizine, γνωστή και σαν ανταγωνιστής των διαύλων ασβεστίου, προστατεύει από την ισχαιμία κυρίως μέσω της ικανότητάς της να δεσμεύει τους διαύλους Na. Η προφυλακτική της δράση έχει αποδειχθεί πρόσφατα σε μοντέλο ποντικών με εγκεφαλική υποξία- ισχαιμία (167).

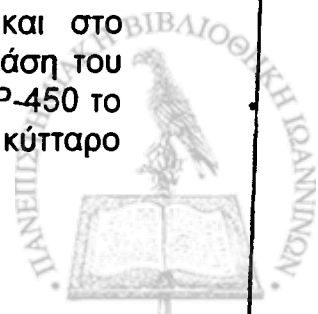
Δεσμευτές των ελευθέρων ριζών του οξυγόνου. Οι ενεργοποιημένοι μεταβολίτες του O_2 αποτελούν μία σοβαρή απειλή για την υπόσταση του κυττάρου, διότι προσβάλλουν τις λιπιδεικές μεμβράνες, τα ένζυμα και το DNA. Ως εκ τούτου, η άμεση εξουδετέρωση των EPO_2 είναι ζωτικής σημασίας για το κύτταρο. Ο οργανισμός διαθέτει ένα πολύπλοκο σύστημα άμυνας που περιλαμβάνει ενδογενή αντιοξειδωτικά, δεσμευτές των ελευθέρων ριζών και υπεροξειδάσες (168). Όταν αυτό το σύστημα εξαντληθεί, όπως συμβαίνει κατά την περίοδο της επαναιμάτωσης μετά από ισχαιμία, μπορεί να συμβεί σημαντική κυτταρική καταστροφή.

Η αποτοξίνωση του οργανισμού από τους τοξικούς μεταβολίτες του O_2 επιτυγχάνεται με μία σειρά συντονισμένων, αλληλοκαλυπτομένων αναγωγικών μηχανισμών του κυττάρου κυρίως και λιγότερο του εξωκυττάρου χώρου, οι οποίοι είναι σε θέση να προφυλάσσουν τους ιστούς από την βλάβη, ακόμη και σε καταστάσεις σημαντικού οξειδωτικού stress (79).

Το ένζυμο superoxid dismutase (SOD) είναι το πρώτο στοιχείο του αντιοξειδωτικού μηχανισμού και ο ρόλος του είναι βασικός. Η πρωταρχικά σχηματιζόμενη ελεύθερη ρίζα O_2 , το σουπεροξειδανιόν (O_2^-) μετατρέπεται με τη δράση της SOD σε υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2):

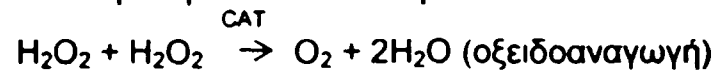


Η συγκέντρωση της SOD είναι μεγαλύτερη στον εγκέφαλο (169). Το H_2O_2 είναι μεν λιγότερο επικίνδυνο, όχι όμως ακίνδυνο και πρέπει να αναχθεί περαιτέρω. Αυτό γίνεται στα υπεροξειδοσωμάτια μέσω του ενζύμου καταλάση (CAT) και στο κυτταρόπλασμα, καθώς και στα μιτοχόνδρια, μέσω του ενζύμου υπεροξειδάση του γλουταθείου (GPX), ενώ στα μικροσωμάτια με την GPX και το κυτόχρωμα P-450 το οποίο έχει ιδιότητες υπεροξειδάσης. Έτσι η συγκέντρωση του H_2O_2 στο κύτταρο

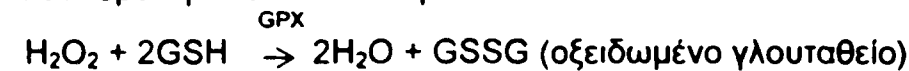


βρίσκεται διαρκώς περιορισμένη στα 10-9mol/l, μέσω της δραστηριότητας αυτών των ενζύμων. Η συγκέντρωση της CAT και της GPX κυμαίνεται από ιστό σε ιστό, στον εγκέφαλο είναι σχετικά μικρή η συγκέντρωση και των δύο αυτών ενζύμων (79).

Η αντίδραση που καταλύει η CAT είναι:



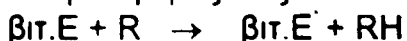
Η αντίδραση που καταλύει η GPX είναι:



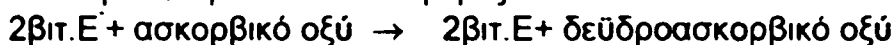
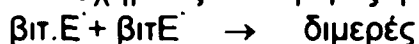
Τα ένζυμα SOD, CAT, και GPX αποτελούν την πρώτη και σπουδαιότερη γραμμή άμυνας των κυττάρων έναντι των τοξικών μεταβολιτών του οξυγόνου, τους οποίους μετατρέπουν με την συντονισμένη δράση τους σε αβλαβές ύδωρ.

Στην δεύτερη γραμμή άμυνας του κυττάρου εναντίον των τοξικών μεταβολιτών του O_2 και των αντιδράσεων τους, παρατάσσονται υδατοδιαλυτές και λιποδιαλυτές ουσίες, οι οποίες παγιδεύουν τις EPO_2 και παύουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις αναπαραγωγής τοξικών μεταβολιτών (170). Κατά συνέπεια ο ρόλος τους είναι σημαντικός όταν το οξειδωτικό stress υπερκεράσει την ενζυματική άμυνα. Οι ουσίες αυτές οξειδώνονται κατά την αντίδρασή τους και μετατρέπονται οι ίδιες σε ελεύθερες ρίζες, έχουν όμως την ιδιότητα να κατανέμουν την ενέργεια του μονήρους ηλεκτρονίου στον ηλεκτρονικό τους φλοιό (resonance stability), ώστε να μηδενίζεται η χημική αντιδραστικότητα και να σταματάει η αλυσιδωτή αντίδραση (171). Οι κυριότεροι υδατοδιαλυτοί αντιοξειδωτικοί παράγοντες είναι το γλουταθειό (GSH) και η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ-As), οι οποίοι καλύπτουν το κυτοδιάλυμα. Η βιταμίνη C αποτελεί το υδατοδιαλυτό σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων στο κυτταρόπλασμα ή στο εξωκυττάριο υγρό, είναι δε ένας μη ειδικός δεσμευτής EPO_2 , που μπορεί να εξουδετερώσει όλους τους τοξικούς μεταβολίτες του οξυγόνου. Ο κυριότερος λιποδιαλυτός παράγοντας που προστατεύει τις μεμβράνες του κυττάρου και των οργανυλίων του από την οξείδωση, είναι η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) η οποία δεσμεύει τις δευτερογενείς ρίζες των λιπιδίων, αλλά και το OH (171,172).

Η βιταμίνη E παίρνει μέρος στις αλυσιδωτές αντιδράσεις ως εξής:



Δύο ρίζες βιτ. E. σχηματίζουν διμερές ή η ρίζα βιτ. E. ανάγεται από το ασκορβικό οξύ:



Ετσι εξαφανίζονται από το προσκήνιο οι EPO_2 και αναγεννάται η βιτ. E

Εκτός από αυτές και άλλες ουσίες μπορούν να εξουδετερώσουν τις EPO_2 , έχουν όμως μικρότερο αντιοξειδωτικό δυναμικό, όπως η β-καροτένη (προβιταμίνη A), η οποία εξουδετερώνει την ενέργεια του διηγεργμένου O_2 και μπορεί να δεσμεύσει υπεροξειδία λιπιδίων (170) και πιθανώς η βιταμίνη K (173).

Στον εξωκυττάριο χώρο η ενζυμική αντιοξειδωτική άμυνα είναι σχεδόν ανύπαρκτη, αφού η SOD βρίσκεται μόνο σε ίχνη (79), αλλά ο ορός του αίματος και η λευκωματίνη είναι δραστικοί δεσμευταί των EPO_2 (174). Ο ορός του αίματος, κυρίως μέσω της σερουλοπλασμίνης, έχει δραστηριότητα τύπου SOD, αλλά μπορεί να εξουδετερώσει και το H_2O_2 , όπως η CAT. Στην αντιοξειδωτική δράση του ορού συμβάλλει όμως και η τρανσφερρίνη (174).

Ο σημαντικός ρόλος των EPO_2 στην παθογένεση της βλάβης του εγκεφαλικού ιστού κατά τα σύνδρομα ισχαιμίας - επαναιμάτωσης φαίνεται από πειραματικά δεδομένα, όπου αναστολή των άλλων μεσολαβητών της βλάβης (ισταμίνης / αντιισταμινικά,



προσταγλανδίνες / ινδομεθακίνη, λυσοσωματικά ένζυμα / μεθυλπρεδνιζολόνη) αποτυγχάνει ενώ προφυλάσσει σημαντικά η χορήγηση δεσμευτών EPO₂.

Η αντιμετώπιση των τοξικών μεταβολιτών του O₂ περιλαμβάνει:

- α) πρόληψη σχηματισμού EPO₂ και
β) δέσμευση των EPO₂:

α) Πρόληψη σχηματισμού EPO₂:

1α. **Ανοξική επαναιμάτωση**, για την χορήγηση δεσμευτών των EPO₂ πριν την επαναοξυγόνωση (Κ. Χατζηνικολάου 1992).

2α. **Πρόληψη απελευθέρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (Fe⁺⁺)** από την τρανσφερίνη, με την πρόληψη δημιουργίας οξέωσης ή με χορήγηση NaHCO₃ για τη διόρθωσή της (175).

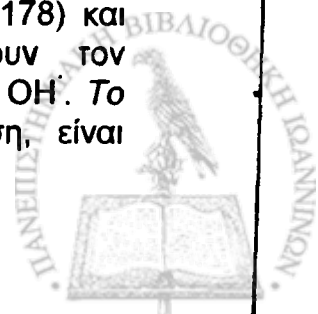
2β. **Δέσμευση του Fe⁺⁺**, που απελευθερώνεται κατά την διάρκεια της ισχαιμίας, με χηλικές ενώσεις, όπως η δεφεροξαμίνη, ώστε να αποτραπεί η μετατροπή των H₂O₂ προς τις περισσότερο αντιδραστικές υδροξυλικές ρίζες (OH[·]), μέσω της αντίδρασης Fenton: $Fe^{++} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+++} + OH^{\cdot} + OH^{\cdot}$.

2γ. **Δέσμευση του Fe⁺⁺⁺** μπορεί να γίνει με αποτρανσφερίνη (176) και τις αντίστοιχες χηλικές ενώσεις απολακτοφερρίνη και δεσφερριοξαμίνη.

3. **Αναστολή της ξανθοξειδάσης με αλλοπουρινόλη**. Κατά τη φάση της ισχαιμίας συγκεντρώνονται στους ιστούς υποξανθίνη (παράγωγο αποικοδόμησης του ATP) και το ένζυμο ξανθοξειδάση (XO, από βιομετατροπή της αφυδρογονάσης της ξανθίνης). Κατά την επαναιμάτωση - επαναοξυγόνωση εισρέουν άφθονα μόρια O₂ στον ισχαιμικό ιστό, τα οποία "πυροδοτούν" την αντίδραση υποξανθίνης / ξανθοξειδάσης, και προκύπτει μία εκρηκτική παραγωγή O₂^{·-} (υποξανθίνη + O₂ + XO → ουρικό οξύ + O₂^{·-} + H₂O₂). Στην ίδια αντίδραση σχηματίζεται και H₂O₂. Επομένως διατίθενται τα δύο συστατικά της αντίδρασης Haber-Weiss η οποία καταλύεται από ίχνη Fe⁺⁺⁺ και δίνει την τοξικότερη ρίζα οξυγόνου, το OH[·], όπως και το διηγεμένο μόριο οξυγόνου (¹O₂): $O_2^{\cdot-} + H_2O_2 + \text{άλας Fe} \rightarrow O_2 + OH^{\cdot} + OH^{\cdot}$. Η αλλοπουρινόλη αναστέλλει την δραστηριότητα της ξανθοξειδάσης και ελαττώνει την παραγωγή O₂^{·-} και H₂O₂ και επομένως ενδείκνυται η χορήγησή της σε καταστάσεις ισχαιμίας / επαναιμάτωσης (177).

β) Δέσμευση των EPO₂:

1β. **Χορήγηση ειδικών δεσμευτών των EPO₂** όπως SOD, CAT, μαννιτόλης, διμεθυλ-σουλφοξειδίου (DMSO). Η SOD εξουδετερώνει το O₂^{·-}, το οποίο γεννάται κατά την διάρκεια της επαναιμάτωσης ισχαιμικού ιστού από την οξειδωση της υποξανθίνης και κατά την διάρκεια της φλεγμονής από τα λευκά αιμοσφαίρια. Σε μια πειραματική μελέτη σε σκύλους τα ένζυμα SOD και CAT δεν βελτίωσαν το νευρολογικό αποτέλεσμα όταν χορηγήθηκαν μετά από σφαιρική υποξία (178) και τούτο μπορεί να οφείλεται στην αδυναμία τους να διαπεράσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Η μαννιτόλη και το (DMSO) δεσμεύουν τη ρίζα OH[·]. Το DMSO, ένας οργανικός διαλύτης με διουρητική και αντιπηκτική δράση, είναι

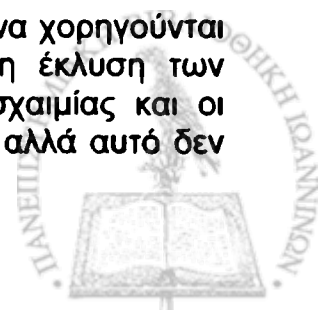


δραστικός δεσμευτής του OH και βελτιώνει την επαναιμάτωση (179). Περαιτέρω, περιορίζει το εγκεφαλικό αγγειογενές οίδημα μετά από έμφρακτο. Μερικές πειραματικές μελέτες έχουν δείξει βελτίωση της νευρολογικής έκβασης και της επιβίωσης (180), ενώ άλλες έδειξαν ότι η χορήγηση DMSO στην αντιμετώπιση της οξείας εγκεφαλικής ισχαιμίας ήταν αναποτελεσματική (181, 182).

2β. Χορήγηση μη ειδικών δεσμευτών των EPO₂. Η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) είναι μη ειδικός δεσμευτής EPO₂, που δεσμεύει τις δευτερογενείς ρίζες των λιπιδίων, αλλά και το OH[·] (171). Σε κυτταροκαλλιέργειες παρατηρήθηκε ελάττωση του ανιχνευομένου OH[·] κατά 26%, όταν το μέσον της καλλιέργειας περιέχει βιταμίνη E (183). Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) αποτελεί επίσης μη ειδικό δεσμευτή EPO₂, που μπορεί να εξουδετερώνει όλους τους τοξικούς μεταβολίτες του οξυγόνου (184), αν και κατά άλλους δεσμεύει, σε αερόβιο περιβάλλον, μόνο το O₂^{·-} (185). Η β-καροτένη εξουδετερώνει την ενέργεια του ¹O₂ και μπορεί να δεσμεύσει υπεροξειδία λιπιδίων (186). Η χλωροπρομαζίνη δεσμεύει τις EPO₂ από τα συνεσπασμένα αγγεία και αναστέλλει τον αγγειόσπασμο σε πειραματική υπαραχνοειδή αιμορραγία (182).

Ανταγωνιστές των διεγερτικών αμινοξέων. Υπάρχουν αρκετά είδη ανταγωνιστών του συμπλέγματος NMDA υποδοχέα - ιοντικού διαύλου. Διακρίνονται σε ανταγωνιστικούς και σε μη ανταγωνιστικούς ανταγωνιστές. Οι ανταγωνιστικοί ανταγωνιστές ανταγωνίζονται το γλουταμινικό στη θέση σύνδεσής του με τον υποδοχέα και δεν διέρχονται εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Η χρήση των ανταγωνιστών NMDA έχει περιοριστεί από το γεγονός ότι ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός εμποδίζει την είσοδο των περισσότερων απ' αυτούς στον εγκεφαλικό ιστό σε ικανοποιητικές ποσότητες, ώστε να επιτευχθούν υψηλές συγκεντρώσεις και να είναι αποτελεσματικοί (187). Οι ανταγωνιστές του γλουταμινικού οξέος καταστέλλουν τη μακρά μετασυναπτική ενίσχυση, διαταράσσουν τις διεργασίες της μνήμης και της μάθησης, ενώ προστατεύουν τους νευρώνες από την ισχαιμία και τη γλυκαιμία. Ο τρόπος δράσης τους έγκειται πιθανώς στην παρεμπόδιση της υπερβολικής εισόδου ιόντων Ca⁺⁺. Ετσι ο παράγων CGS 19755 μειώνει την σύνδεση ασβεστίου - καλμοδουλίνης, δηλαδή μειώνει την εισροή Ca⁺⁺ στους ισχαιμικούς νευρώνες (188). Λογικά οι ανταγωνιστές των NMDA - υποδοχέων και οι ανταγωνιστές Ca⁺⁺ μπορούν να συνδυαστούν (189). Οι μη ανταγωνιστικοί ανταγωνιστές εισέρχονται στους διαύλους, συνδέονται σε συγκεκριμένες θέσεις και εμποδίζουν την ελεύθερη ροή ιόντων. Οι μη ανταγωνιστικοί ανταγωνιστές είναι λιποδιαλυτοί, διέρχονται εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, έχουν την τάση να συγκεντρώνονται στον εγκέφαλο και έχουν σύντομη και προβλέψιμη ημιπερίοδο ζωής. Τα φάρμακα αυτά έδωσαν τις περισσότερα υποσχόμενες φαρμακολογικές ενδείξεις και έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά ακόμη και όταν δοθούν λίγες ώρες μετά από τον αποκλεισμό της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας (190). Γενικά θεωρείται ότι οι ανταγωνιστές NMDA μπορούν να εμποδίσουν την επέκταση του εμφράκτου στην ζώνη της "penumbra", ενώ δεν έχουν δράση στον ισχαιμικό πυρήνα. Οι μη ανταγωνιστικοί ανταγωνιστές του NMDA δεσμεύουν τους ιοντικούς διαύλους και φάνηκε πιθανό ότι η πρωταρχική δράση τους είναι να εμποδίσουν την είσοδο Ca⁺⁺, αλλά η ερμηνεία αυτή αμφισβητείται (191).

Οι ανταγωνιστές των διεγερτικών αμινοξέων θα όφειλαν, θεωρητικά, να χορηγούνται πριν την εγκατάσταση σφαιρικής εγκεφαλικής ισχαιμίας, επειδή η έκλυση των διεγερτικών αμινοξέων εξελίσσεται ταχέως μετά την έναρξη της ισχαιμίας και οι ουσίες αυτές εξαφανίζονται γρήγορα κατά την επαναιμάτωση (192), αλλά αυτό δεν



έχει αποδειχθεί στην πράξη (193). Εξάλλου, αυτό δεν είναι κλινικά ρεαλιστικό, καθώς τα περισσότερα σφαιρικά ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια είναι απροσδόκητα και συμβαίνουν συνήθως έξω από το νοσοκομείο. Κατά την εστιακή εγκεφαλική ισχαιμία παράγεται μία περιοχή μόνιμης βλάβης, αλλά και μία νεκροβιωτική ζώνη, η "penumbra", η οποία κινδυνεύει να εξελιχθεί σε νέκρωση. Στην περίπτωση αυτή θα μπορούσαν οι ανταγωνιστές των διεγερτικών αμινοξέων να περιορίσουν τη βλάβη στην νεκροβιωτική ζώνη, ακόμη και αν χορηγηθούν μετά την εγκατάσταση του ισχαιμικού επεισοδίου. Πράγματι βρέθηκε ότι ο μη ανταγωνιστικός ανταγωνιστής MK-801 (διζοκιλιπίνη) μειώνει το μέγεθος του εμφράκτου μετά από απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας, ακόμη και εάν δοθεί 2 ώρες μετά τον αποκλεισμό (194). Σε ορισμένες μελέτες έχει αναφερθεί βελτίωση και μετά πλήρη ισχαιμία. Ο παράγων αυτός ελαττώνει τη θερμοκρασία του σώματος και του εγκεφάλου και είναι πιθανόν να τον προστατεύει με αυτόν το μηχανισμό.

Ο ανταγωνιστικός ανταγωνιστής των NMDA υποδοχέων D-CPP-ene ελαττώνει την εμφραγματική επιφάνεια, από 20.6 (+9.9)% σε 7.2 (+4.4)% ($p < 0.01$) σε γάτες, που υποβλήθηκαν σε εστιακή ισχαιμία (195), ενώ ο συνθετικός ανταγωνιστικός ανταγωνιστής CGS 19755, που διέρχεται τον BBB, χορηγούμενος 5min πριν ή μετά από τον αποκλεισμό της μέσης εγκεφαλικής, ελαττώνει το μέγεθος του εμφράγματος σε 64% ή 50% αντίστοιχα, ($p < 0.001$) (196).

Αναστολή σχηματισμού διεγερτικών αμινοξέων. Το μέγεθος των εγκεφαλικών εμφράκτων συσχετίζεται με την ποσότητα των εκλυόμενων αμινοξέων και ως εκ τούτου η αναστολή έκλυσης των αμινοξέων αυτών μπορεί να προφυλάξει τον εγκέφαλο από την ισχαιμική βλάβη (197). Η αναστολή αυτή μπορεί να επιτευχθεί με «σταυροσπορίνη», η οποία αναστέλλει την πρωτεϊνοκινάση C, ένα ασβεστιοεξαρτώμενο ένζυμο, που έχει σχέση με την έκλυση διαβιβαστών. Τοπικές εγχύσεις σταυροσπορίνης στο υποεπίπεδο CA₁ του ιπποκάμπου ποντικών προστάτευσαν τον πρόσθιο εγκέφαλο από την ισχαιμία.

Οι θεωρούμενοι ανασταλτικοί διαβιβαστές ή νευρομετρατοπείς, όπως η νοραδρεναλίνη και η αδενοσίνη μπορεί να είναι νευροπροστατευτικοί. Τα επίπεδα αδενοσίνης αυξάνουν στον υποξικό / ισχαιμικό εγκέφαλο. Η αδενοσίνη μειώνει την έκλυση ερεθιστικών νευροδιαβιβαστών, συμπεριλαμβανομένου του γλουταμινικού, και έτσι μειώνει την πυροδότηση της βλάβης των νευρώνων. Τα σταθερά ανάλογα της ουσίας, όπως η 2-χλωροαδενοσίνη, καθώς και η προπεντοφυλλίνη, που αυξάνει τα επίπεδα αδενοσίνης, μειώνουν την απώλεια νευρώνων σε πειραματόζωα (gerbils), ενώ η θεοφυλλίνη, ένας ανταγωνιστής αδενοσίνης, την επιδεινώνει (198). Αυξημένα επίπεδα νοραδρεναλίνης μειώνουν επίσης το βαθμό απώλειας νευρώνων του ιπποκάμπου (199).

Η πρόσφατη έρευνα έχει επικεντρωθεί στο σύμπλεγμα του AMPA υποδοχέα (quisqualate) με τον ιοντικό δίαυλο. Ο ανταγωνιστής του AMPA υποδοχέα NBQX, ο οποίος διέρχεται εύκολα τον BBB, μπορεί να ελαττώσει την ισχαιμική βλάβη των νευρώνων ακόμη και όταν χορηγηθεί μετά την ισχαιμία (200).

Η μέχρι τώρα έρευνα υποστηρίζει ότι οι διεγερτικοί νευρομεταβιβαστές συνεισφέρουν στην πρόκληση του εκλεκτικού θανάτου των νευρώνων μετά από παροδική εγκεφαλική ισχαιμία. Οι NMDA ή AMPA ανταγωνιστές ίσως προσφέρουν μία νέα στρατηγική για την αντιμετώπιση της ισχαιμικής εγκεφαλικής βλάβης στην κλινική πράξη (201).

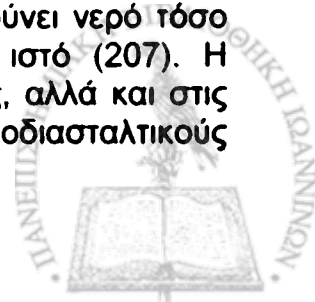


Στεροειδή / «Λαζαροειδή». Τα στεροειδή δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες και αναστέλλουν τη διάσπαση των φωσφολιπιδίων, σταθεροποιώντας έτσι τις κυτταρικές μεμβράνες. Χάριν της ιδιότητάς τους αυτής θεωρητικά τα στεροειδή προστατεύουν τους νευρώνες, αφού αναστέλλουν την -μέσω υπεροξειδωσης- απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος και την έκλυση λυσοσωματικών ενζύμων -τα οποία, ως γνωστόν, καταστρέφουν τα βασικά συστατικά του κυττάρου (202). Έχει δειχθεί ότι τα κορτικοστεροειδή μειώνουν το αγγειογενές οίδημα, αλλά όχι το κυτταροτοξικό, το οποίο παράγεται κατά τη διάρκεια της πρώιμης φάσης της ισχαιμίας (202). Η ελάττωση της υδατοβρίθειας του νευροπυλματικού χώρου του εγκεφάλου συνεπάγεται μείωση της ICP, η προκαλούμενη όμως από τα φάρμακα αυτά αύξηση της γλυκόζης του πλάσματος μπορεί να επιδεινώσει την εγκεφαλική ισχαιμική βλάβη. Η αποτελεσματικότητα των στεροειδών στα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια παραμένει αντικείμενο συζητήσεως, λόγω των πολλών αντικρουόμενων ευρημάτων, που διαπιστώθηκαν κατά καιρούς σε πειραματικές και κλινικές μελέτες (203, 204). Οι Sapolsky και Pulsinelli έδειξαν ότι τα γλυκοκορτικοειδή προκαλούν, σε φαρμακολογικές δόσεις, βλάβη του ιπποκάμπου επιμύων (205). Ως εκ τούτου, δεν συνιστάται η κλινική εφαρμογή των γλυκοκορτικοστεροειδών για προστασία του εγκεφάλου από ισχαιμική βλάβη (206).

Μια νέα κατηγορία στεροειδών όμως, τα 21-αμινοστεροειδή ή λαζαροειδή, με γνωστότερο εκπρόσωπο την *Tirilazad mesylate (U-74006F)*, τα οποία είναι παράγωγα της μεθυλπρεδνιζολόνης, αλλά στερούνται γλυκοκορτικοειδούς δράσης, υπόσχεται σημαντικές θεραπευτικές δυνατότητες. Τα φάρμακα αυτά διέρχονται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες, περιορίζουν το σχηματισμό του OH[·] και μπλοκάρουν την προκαλούμενη από τις EPO₂ (με την καταλυτική δράση του σιδήρου) υπεροξειδωση των λιπιδίων. Τα 21-αμινοστεροειδή U-74006F και U-74500A εμπλουτίζονται στο ενδοθήλιο των εγκεφαλικών αγγείων και προστατεύουν κάποιους εκλεκτικά ευαίσθητους CA₁ νευρώνες του ιπποκάμπου, καθώς και συγκεκριμένες περιοχές του νεοφλοιού από την ισχαιμία, ακόμα και όταν χορηγηθούν μετά την έναρξη της ισχαιμίας. Επίσης ελαττώνουν το ισχαιμικό εγκεφαλικό οίδημα, βελτιώνουν την επαναιμάτωση του εγκεφάλου και αυξάνουν την επιβίωση. Το U-74500A δεσμεύει, επί πλέον, το σίδηρο και - ίσως γιαυτό- είναι αποτελεσματικότερο όσον αφορά στη αναστολή της υπεροξειδωσης των λιπιδίων.

Οσμωτικώς δρώντας παράγοντες / Διουρητικά. Η ανάπτυξη του εγκεφαλικού οιδήματος εξαρτάται από τις διαφορές υδροστατικής και κολλοειδωσμοτικής πίεσης ανάμεσα στους ενδοαγγειακούς και εξωαγγειακούς χώρους και από την αγγειακή διαπερατότητα. Η διαπερατότητα των αγγείων είναι φυσιολογική κατά τα πρώτα στάδια της ισχαιμικής προσβολής, οπότε αναπτύσσεται μόνο το κυτταροτοξικό οίδημα. Εάν επομένως αυξηθεί η ωσμωτικότητα του πλάσματος θα κινητοποιηθεί νερό προς τον ενδοαγγειακό χώρο, θα μειωθεί το οίδημα και θα αυξηθεί η άρδευση της ισχαιμικής περιοχής.

Η μαννιτόλη είναι το συνηθέστερα χρησιμοποιούμενο οσμωτικό διουρητικό. Ασκει τη δράση της στις άθικτες περιοχές του εγκεφάλου, ενώ σε περιοχές όπου υπάρχει ρήξη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού εμποδίζεται η ανάπτυξη οσμωτικής διαβάθμισης. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η μαννιτόλη απομακρύνει νερό τόσο από τον φυσιολογικό όσο και από τον οίδηματώδη εγκεφαλικό ιστό (207). Η μαννιτόλη αυξάνει παροδικά την CBF σε φυσιολογικούς εγκεφάλους, αλλά και στις ισχαιμικές περιοχές του εγκεφάλου σκύλων και εκλύει αγγειοδιασταλτικούς



παράγοντες όπως η αδενosίνη, βελτιώνοντας έτσι την προσφορά O_2 στους ιστούς του εγκεφάλου (158-208). Στο ευνοϊκό αυτό αποτέλεσμα συμβάλλει η αύξηση της CPP, η οποία προκύπτει από την ελάττωση της ICP, ως επακόλουθο της οσμωτικής «απορρόφησης» του διάμεσου οιδήματος. Περαιτέρω, η τοπική άρδευση βελτιώνεται, επειδή η μαννιτόλη μειώνει τη γλοιότητα του αίματος (159-209) και προλαμβάνει την οφειλόμενη σε εξοίδηση των αστροκυττάρων σύμπτωση των τριχοειδών (210). Η μαννιτόλη είναι γενικώς δραστική για 48 έως 72 ώρες. Εάν χρησιμοποιηθεί για περισσότερες από 72 ώρες είναι αναποτελεσματική διότι βραδέως διαρρέει εκτός των αγγείων, ειδικώς σε περιοχές όπου ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός είναι κατεστραμμένος, με απώλεια του οσμωτικού gradient. Η μαννιτόλη δρα επίσης και σαν δεσμευτής EPO_2 και συγκεκριμένα της ρίζας OH (211). Για να εκμεταλλευτούμε τη δράση αυτή τη χορηγούμε με συνεχή έγχυση.

Επί παρατεταμένης χορήγησης της μαννιτόλης επέρχεται σταδιακή ελάττωση της αποιδηματικής της δράσης. Η μαννιτόλη για αποιδηματική δράση θα πρέπει να χορηγείται σε bolus παρά σε συνεχή στάγδην χορήγηση και σε δόση 0.25 g/Kg, η οποία είναι εξ ίσου αποτελεσματική με την δόση 1 g/Kg (212). Η χορήγηση μαννιτόλης μπορεί να επαναληφθεί εφ' όσον η οσμωμοριακότητα είναι μικρότερη των 320 mOsm/L και υπάρχει νορμοογκαιμία.

Η γλυκερόλη PO είναι συνήθως πλέον ευεργετική της μαννιτόλης. Γενικότερα, η αύξηση της οσμωτικής πίεσης του αίματος κατά 10 mOsm / L είναι ικανή να αντιρροπώσει την αύξηση της ICP. Τα ανώτερα όρια οσμωτικής πίεσεως, τα οποία επιτρέπονται χωρίς να εγκυμονείτε κίνδυνος διαταραχής της ομοιοστασίας του οργανισμού, είναι τα 315-320 mOsm / L (49).

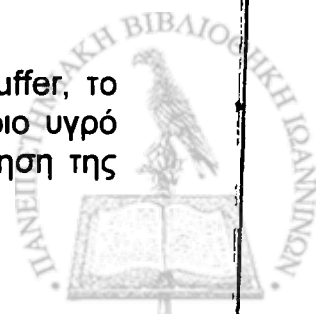
Πιθανές επιπλοκές από την χορήγηση οσμωτικών δρώντων σκευασμάτων είναι η αφυδάτωση, η αύξηση του ενδοαγγειακού όγκου υγρών, η υπερνατριαιμία και η υποκαλιαιμία.

Το υπέρτονο NaCl 7.5%, χορηγούμενο εφάπαξ σε δόση 4 ml/Kg εντός 5min, περιορίζει το εγκεφαλικό οίδημα και ελαττώνει την ICP, βελτιώνοντας έτσι την CBF. Εκτός από αυτό το NaCl 7.5% σμικραίνει τον όγκο των ενδοθηλιακών κυττάρων των τριχοειδών και των ερυθρών αιμοσφαιρίων και βελτιώνει έτσι τη μικροκυκλοφορία του εγκεφάλου. Η χορήγηση του όμως μπορεί να διασπάσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, προκαλώντας βλάβη αντί για όφελος.

Το κολλοειδές διάλυμα hydroxy ethyl starch (HS-HES) 6 ή 10% προκαλεί ταχεία, αποτελεσματική, αλλά μόνο προσωρινή μείωση της ICP, μεγαλύτερη από αυτήν της μαννιτόλης, αλλά δεν αυξάνει την CPP όσο η μαννιτόλη (213). Οι κλασικές ενδείξεις για τη χρήση του είναι η επείγουσα αντιμετώπιση της υποογκαιμικής καταπληξίας και οι νευροχειρουργικές επεμβάσεις.

Όσον αφορά τα διουρητικά της αγκύλης (φουροσεμίδη) θεωρείται ότι ενισχύουν τη δράση της μαννιτόλης, χορηγούμενα παράλληλα με την έγχυση μαννιτόλης. Ελαττώνουν το οίδημα της νευρογλοίας, περιορίζοντας έτσι την έκταση της δευτερογενούς εγκεφαλικής βλάβης.

THAM. Το THAM (tris-hydroxymethyl- aminomethane) αποτελεί διάλυμα buffer, το οποίο διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, αλκαλοποιεί το ενδοκυττάριο υγρό και βελτιώνει την οξέωση του ENY, δεσμεύοντας τα ιόντα H^+ . Η αντιρρόπηση της



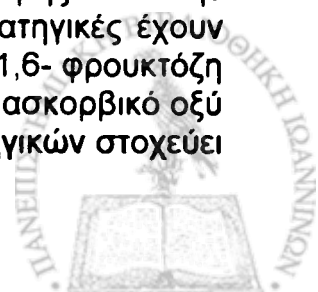
ιστικής μεταβολικής οξέωσης, η οποία συνοδεύει την ισχαιμία, και η πρόληψη των βλαβερών της επιδράσεων, όπως η εγκεφαλική εξοίδηση, αποτελούν τη λογική για τη πιθανή δυνατότητα του THAM να προστατεύει τον εγκέφαλο από την ισχαιμική βλάβη (214, 215). Η αλκαλοποιητική του δράση στους ιστούς είναι όμοια με αυτή της υποκαπνίας, αλλά χωρίς να μειώνει την τοπική εγκεφαλική ροή αίματος, διακινδυνεύοντας την αερόβιο γλυκόλυση και αυξάνοντας το γαλακτικό οξύ των ιστών, το παραπροϊόν του αναερόβιου μεταβολισμού. Μπορεί να χορηγηθεί με στάγδην έγχυση από κεντρικό φλεβικό καθετήρα σε δόση 60 mmol διαλυμένο σε 100 ml δεξτρόζης 5%, με ρυθμό έγχυσης 3 mmol/ώρα. Η χορήγηση οφείλει να γίνεται με ωριαίο έλεγχο των αερίων αίματος (216). Το THAM μπορεί να χορηγηθεί μόνο σε ασθενείς που βρίσκονται υπό μηχανικό αερισμό διότι έχει αρνητική δράση στην λειτουργία του αναπνευστικού κέντρου, είναι δραστικό μόνο την πρώτη ή δεύτερη ημέρα μετά το επεισόδιο και με την διακοπή της χορήγησής του μπορεί να εμφανισθούν rebound φαινόμενα.

Ναλοξόνη. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η ναλοξόνη, ένας ανταγωνιστής των οπιοειδών, μπορεί να βελτιώσει την νευρολογική έκβαση σε διάφορες μορφές εγκεφαλικής ισχαιμίας, ανταγωνιζόμενη τις ενδορφίνες, που παράγονται με την ισχαιμία (217).

Φαινυντοίνη. Η Φαινυντοίνη, το πιο διαδεδομένο αντιεπιληπτικό φάρμακο, βρέθηκε ότι προστατεύει τον εγκέφαλο σε καταστάσεις με ελαττωμένη παροχή οξυγόνου (218). Η φαινυντοίνη ελαττώνει τον CMRO₂ κατά 40-60% (219), ενώ κατ' άλλους δεν επηρεάζει τον CMRO₂ (220). Η πλειοψηφία των αποτελεσμάτων από μελέτες επί της CBF δείχνει ότι η φαινυντοίνη δεν αυξάνει ή μπορεί και να ελαττώνει την CBF (220). Έχει αποδειχθεί ότι προλαμβάνει την - παρατηρούμενη σε υποξικές καταστάσεις- αύξηση του εξωκυττάρου K⁺ και του ενδοκυττάρου Na⁺, επειδή σταθεροποιεί τη μεμβράνη των νευρώνων ή δρώντας επί της αντλίας Na⁺/K⁺ (219, 221). Η φαινυντοίνη αποκλείει τους διαύλους ασβεστίου, εμποδίζοντας έτσι την εισροή Ca⁺⁺ στο κύτταρο και την - παρατηρούμενη σε συνθήκες ισχαιμίας ή υποξίας- υπερφόρτωση του κυττάρου με ασβέστιο. Η χορήγηση φαινυντοίνης ενδείκνυται σε ασθενείς που υπέστησαν καρδιακή ανακοπή.

Συνδυασμένη θεραπεία. Είναι αβέβαιο, επί του παρόντος, ποια είναι η καλύτερη θεραπεία για τον περιορισμό της εγκεφαλικής βλάβης από ισχαιμία / επαναιμάτωση. Είναι γνωστό ότι η αναζωογόνηση του εγκεφάλου μετά από ισχαιμία είναι αποτελεσματικότερη όταν συνδυασθούν διάφορες θεραπευτικές πρακτικές, όπως φάρμακα / έλεγχος της θερμοκρασίας, της αρτηριακής πίεσης και της θέσης της κεφαλής. Δεν υπάρχουν όμως στη βιβλιογραφία κλινικές μελέτες που χρησιμοποίησαν συνδυασμό περισσότερων φαρμάκων, με σκοπό τη μείωση του βαθμού της εγκεφαλικής βλάβης από ισχαιμία / επαναιμάτωση, μέσω της αθροιστικής προστατευτικής δράσης των φαρμάκων αυτών. Σε πειραματικά μοντέλα εγκεφαλικής ισχαιμίας βρέθηκε πάντως ότι η συνδυασμένη θεραπεία ήταν αποτελεσματικότερη από ό,τι η χορήγηση ενός μόνο παράγοντα.

Οι στρατηγικές που έχουν εφαρμοσθεί μέχρι σήμερα σε διάφορα μοντέλα πειραματοζώων στόχευαν σε ειδικές πλευρές του καταρράκτου βλάβης κατά την εστιακή ή σφαιρική εγκεφαλική ισχαιμία. Μερικές από αυτές τις στρατηγικές έχουν περιλάβει υποστήριξη του μεταβολισμού ενεργείας με διφωσφορική -1,6- φρουκτόζη (FBP), αντιοξειδωτικές ουσίες / δεσμευτές ελευθέρων ριζών, όπως το ασκορβικό οξύ και ή α-tocopherol και αντιφλεγμονώδη φάρμακα. Άλλη ομάδα στρατηγικών στοχεύει



στην αποτροπή μετακίνησης ιόντων, όπως της μαζικής εισροής ιόντων Ca^{++} και Na^+ στο κύτταρο ή στον ανταγωνισμό των υποδοχέων και της έκλυσης γλουταμικού. Άλλες στρατηγικές περιλαμβάνουν παράγοντες που αυξάνουν τους ανασταλτικούς νευροδιαβιβαστές στο ΚΝΣ (GABA), όπως τα βαρβιτουρικά, τα πτητικά αναισθητικά και οι βενζοδιαζεπίνες, με στόχο τη μείωση της ευερεθιστότητας των νευρώνων και της κατανάλωσης ενέργειας. Πιο πρόσφατα οι θεραπείες στόχευαν στην πρόληψη του καθυστερημένου κυτταρικού θανάτου, για παράδειγμα, με κυκλοσπορίνη Α. Λίγες μελέτες είναι διαθέσιμες για σύγκριση της αποτελεσματικότητας αυτών των διαφόρων προσεγγίσεων και τα αποτελέσματά τους συχνά μπορούν να εφαρμοσθούν μόνο σε ειδικά μοντέλα βλάβης. Επειδή η θεραπεία της ισχαιμικής βλάβης του ΚΝΣ είναι ακόμη ατελής, είναι σημαντικό να ξέρει κανείς αν και κατά πόσο ο συνδυασμός διαφόρων στρατηγικών (πιν.5) και κοκτέιλ νευροπροστατευτικών παραγόντων μπορεί να δράσει συνεργικά και να επιτύχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Μία πιθανή ωφέλεια του συνδυασμού νευροπροστατευτικών παραγόντων σε ένα κοκτέιλ είναι ότι μπορεί να επιτευχθεί μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα με μικρότερες συγκεντρώσεις του ενός εκάστου παράγοντα (από ό,τι όταν αυτός χρησιμοποιείται μεμονωμένα), ώστε να αποφεύγονται κάποιες από τις ανεπιθύμητες δράσεις που περιορίζουν την χρήση κάποιων παραγόντων, όπως οι ανταγωνιστές NMDA. Πραγματικά μερικές πρόσφατες μελέτες έχουν ελέγξει την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού NMDA με αναστολείς του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Η διαθέσιμη σήμερα πληροφόρηση για τις στρατηγικές που προσφέρουν την μέγιστη συνέργεια, όταν συνδυάζονται, είναι μικρή.

Συμπερασματικά, παρ' όλο που η νευροπροστασία ως θεραπευτική στρατηγική έχει λογική βάση και υπάρχουν και αποτελέσματα από μοντέλα πειραματόζωων, που υπόσχονται πολλά, οι κλινικές μελέτες απέτυχαν να αποδείξουν σαφές κλινικό όφελος.

Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε πολλές αιτίες, όπως είναι η καθυστέρηση έναρξης της θεραπείας, η ανεπαρκής δοσολογία, το εμπόδιο του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, οι ανεπιθύμητες ενέργειες και βεβαίως η ακαταλληλότητα των φαρμάκων για το μηχανισμό που προκαλεί την εκάστοτε παθολογοφυσιολογική διαταραχή. Εξ' άλλου, ο εμπλουτισμός του νευροπροστατευτικού παράγοντα στην πάσχουσα περιοχή παρεμποδίζεται κατά κανόνα από αυτή καθ' εαυτή την κυκλοφορική διαταραχή που προκάλεσε το επεισόδιο.



Πίνακας 5 . Στρατηγικές νευροπροστασίας και αντιμετώπισης της εγκεφαλικής βλάβης από ισχαιμία / επαναιμάτωση

Αρση της απόφραξης	Θρομβόλυση Στρεπτοκινάση Ενεργοποιητής ιστικού πλασμινογόνου Ηπαρίνη Επαύξηση της επαναιμάτωσης
Θεραπεία αγγειοσπασμού	Αναστολείς διαύλων ασβεστίου Ελεγχόμενη υπέρταση Φόρτιση με υγρά Αιμοδιάλυση Αναστολή των EPO ₂
Αλλαγή γλοιότητας αίματος	Αιμορραϊωση
Αύξηση παροχής οξυγόνου	Υπερφθοριόανθρακες
Μείωση δραστηριότητας διεγερτικών αμινοξέων	Αναστολείς του συμπλέγματος ιοντικού διαύλου-NMDA υποδοχέα. Ανταγωνιστικοί ανταγωνιστές, μη ανταγωνιστικοί ανταγωνιστές
Μείωση CMRO ₂	Αναισθητικά Υποθερμία
Αδρανοποίηση EPO ₂	21-Αμινοστεροειδή Βιταμίνη E Αλλοπουρινόλη Διμεθυλουρία Καταλάση Υπεροξειδοδυσμουτάση Μείωση υπεροξινιτρικού από νιτρικό οξείδιο
Προστασία κυτταρικών μεμβρανών	Γαγγλιοσίδες
Πρόληψη υπεργλυκαιμικής βλάβης	Διατήρηση φυσιολογικών επιπέδων γλυκόζης αίματος
Εξουδετέρωση οπιοειδών	Δέσμευση υποδοχέων οπιοειδών
Μείωση εγκεφαλικού οιδήματος	Μαννιτόλη-Διουρητικά THAM-ινδομεθακίνη
Μείωση προτεασών Ενεργοποιούμενων από το ασβέστιο	Αναστολή της καλπαίνης
Μείωση κατεχολαμινών	Δέσμευση υποδοχέων κατεχολαμινών
Ελάττωση των ουδετ. πολυμορφοκυττάρων	Δέσμευση υποδοχέων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα με αντ. μονοκλωνικά



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΑ ΚΑΙ ΟΜΑΔΕΣ

Χρησιμοποιήθηκαν 23 νεαροί (ηλικίας 3-5 μηνών) και υγιείς λευκοί, θήλειοι κόνικλοι της φυλής New Zealand, μετά από έγκριση που λάβαμε από το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων και αφού τηρήθηκαν όλες οι αρχές χειρισμού των πειραματόζωων. Οι κόνικλοι ήταν βάρους 1700-2000 gr και κατανεμήθηκαν τυχαία στις εξής ομάδες:

1. Ομάδα Α (n=6): Ισχαιμία / Επαναιμάτωση εγκεφάλου, χωρίς να προηγηθεί χορήγηση οποιασδήποτε προστατευτικής ουσίας.

2. Ομάδα Β (n=7): Ισχαιμία / Επαναιμάτωση εγκεφάλου, μετά προηγούμενη χορήγηση βιταμίνης Ε. Στα πειραματόζωα αυτά χορηγείτο ενδομυϊκά (γλουτιαίος μυς, βελόνη 23) μία δόση βιταμίνης Ε (α-τοκοφερόλη, Eryhpal^R Roche) 50 mg / Kgr ΒΣ / ημέρα, επί πέντε ημέρες πριν το πείραμα. Η τελευταία δόση χορηγείτο μία ώρα πριν την έναρξη του πειράματος.

3. Ομάδα ελέγχου Α' (n=5): Όλοι οι χειρισμοί (αναισθησία, τραχειοστομία, μηχανικός αερισμός, καθετηριασμοί), πλην Ισχαιμίας / Επαναιμάτωσης εγκεφάλου.

4. Ομάδα ελέγχου Β' (n=5): Ισχαιμία / Επαναιμάτωση εγκεφάλου, μετά προηγούμενη χορήγηση των εκδόχων του σκευάσματος της βιταμίνης Ε. Στα πειραματόζωα αυτά χορηγείτο ενδομυϊκά, επί πέντε ημέρες πριν το πείραμα, μία δόση διαλύματος 2 ml / ημέρα, αποτελούμενου από τα έκδοχα του ενέσιμου διαλύματος της βιταμίνης Ε (10 mg φαινόλη, 83.2 mg καστορέλαιο PEG-36, γλυκερίνη και αποσταγμένο νερό).

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΔΙΑΒΙΩΣΗΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τα πειραματόζωα ζούσαν για 5 ημέρες πριν την έναρξη του πειράματος σε άνετο χώρο του εργαστηρίου με σταθερές κλιματολογικές συνθήκες και δάπεδο επιστρωμένο με ροκανίδια. Είχαν σημαντική ελευθερία κινήσεων και εύκολη πρόσβαση σε τροφή και νερό. Οι κλιματολογικές συνθήκες στο εσωτερικό του εργαστηρίου κυμάνθηκαν κατά την εκτέλεση των πειραμάτων ως εξής:

Θερμοκρασία:	19-21 ⁰ C
Σχετική υγρασία:	70-80%
Βαρομετρική πίεση:	735-745 mmHg

Η τροφή των κόνικλων (Πίν. 6.) αποτελείτο από προκατασκευασμένους κυλίνδρους (της εταιρείας ΕΛ, ΒΙ, Ζ, ΑΕ, Πλατύ Ημαθίας) με τις εξής πρώτες ύλες: Δημητριακά,



Σογιάλευρο, Μηδικάλευρο, Ζύμη, Γάλα, Υποπροϊόντα. Σίτου, Αλάτι, Ανθρακικό Ασβέστιο, Φωσφορικό Διασβέστιο, Βιταμίνες, Ιχνοστοιχεία, Αμινοξέα.

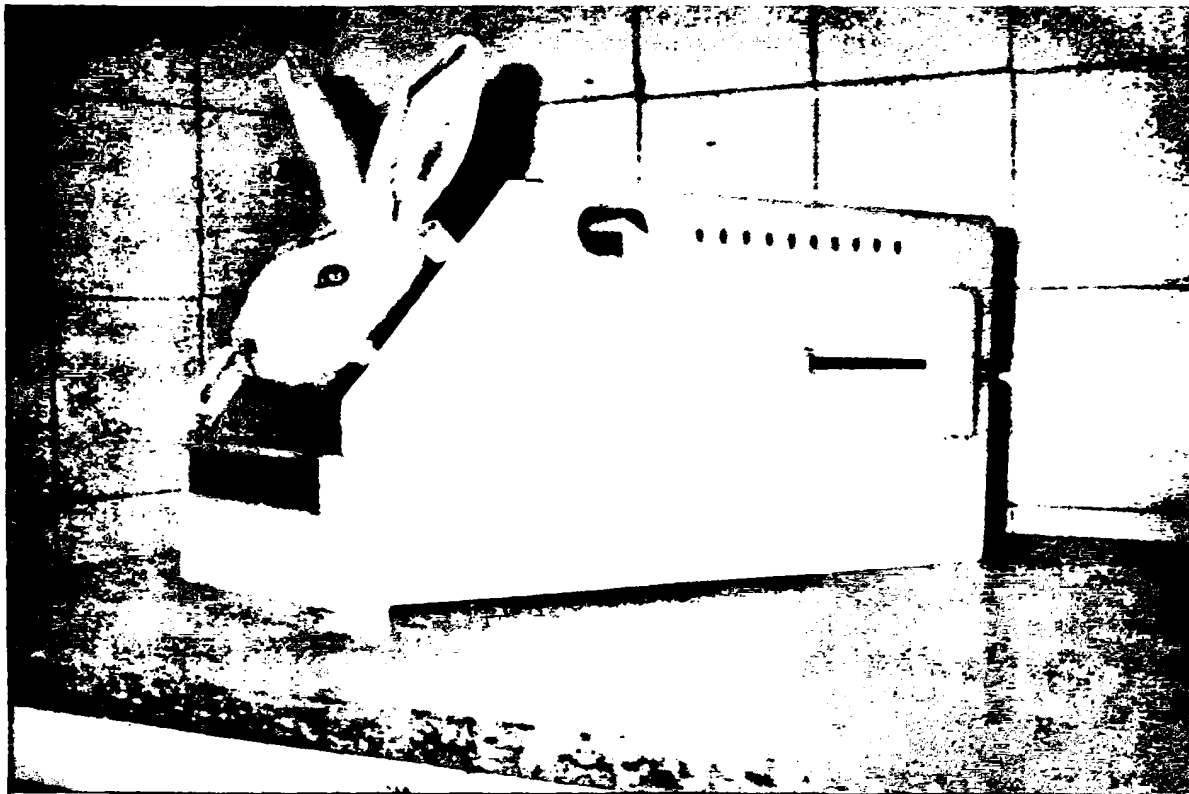
Πίνακας 6. Συστατικά της διατροφής

Ολικές πρωτεΐνες	Ελάχιστο	12 gr %
Λιπαρές Ουσίες	Ελάχιστο:	16 gr %
Κυτταρίνες	Μέγιστο:	15 gr %
Τέφρα	Μέγιστο:	10 gr %
Ασβέστιο	Ελάχιστο:	1 gr %
Φωσφόρος	Ελάχιστο:	0.6 gr %
Υγρασία	Μέγιστο:	12 gr %
Νάτριο	Ελάχιστο:	0.32 gr %

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ, ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΑΕΡΙΣΜΟΣ, MONITORING, ΚΑΘΗΤΗΡΙΑΣΜΟΙ

Το πειραματόζωο τοποθετείτο σε ειδικό κλωβό καθήλωσης του σώματος με ήπιους χειρισμούς, ώστε να αποφεύγεται, κατά το δυνατόν, το stress και αμέσως μετά εισέπνεε



Φωτογ.1

ατμούς αλοθανίου από εμποτισμένο τολύπιο, μέχρις ότου επιτευχθεί αναισθησία II σταδίου για τη φλεβοκέντηση και τη σταθεροποίηση του πειραματοζώου σε ειδική χειρουργική τράπεζα.

Μετά από εντριβή του πτερυγίου του ωτός με ξυλόλη, για επίτευξη αγγειοδιαστολής και τοπική αναισθησία τοποθετείτο στην ωτιαία φλέβα του ζώου ένας φλεβοκαθετήρας 22 G, ο οποίος καθλωνόταν με ράμμα στο δέρμα. Από τον φλεβοκαθετήρα αυτό χορηγείτο NaCl 0,9 % από μία δοσομετρική σύριγγα έγχυσης με ρυθμό 2 ml / Kgr / h. Στην συνέχεια χορηγείτο θειοπεντάλη 15 mg / Kgr B.Σ. ενδοφλεβίως, ελευθερώνονταν το ζώο από τον κλωβό καθήλωσης και μεταφερόταν στο χειρουργικό τραπέζι. Εκεί γινόταν έλξη της γλώσσας με λαβίδα προς τα έξω προς απελευθέρωση των αναπνευστικών οδών, και μετά καθήλωση των άκρων του πειραματοζώου επί της τραπέζης σε απαγωγή (Σχ.19) και (φωτογρ.2β). Μετά γινόταν αποψίλωση και αντισηψία της περιοχής του τραχήλου και στη συνέχεια διήθηση του δέρματος και των υποκειμένων ιστών με διάλυμα λιδοκαΐνης 1%. Ακολουθούσε τραχειοστομία και τοποθέτηση τραχειοστόματος εσωτερικής διαμέτρου 2 mm, το οποίο καθλωνόταν σε τέτοιο βάθος, ώστε να αερίζονται ισότιμα οι δύο πνεύμονες. Αμέσως μετά άρχιζε μηχανικός αερισμός με αναπνευστήρα για μικρά πειραματόζωα (V5 KG, Narco Bio Systems, INC. Houston Texas) με αναπνεόμενο όγκο 15 ml / Kgr B.Σ. και αρχικό αριθμό αναπνοών 30 / min (Φωτογ. 2α).



Φωτογ.2α

Για την διατήρηση της αναισθησίας / αναλγησίας και τη μυοχάλαση χορηγούνται θειοπεντάλη 4 mg / 5 min, μέχρι συνολική δόση 30 mg / Kgr B.Σ., Fentanyl 4 μg / Kgr B.Σ / 20 min και ατρακούριο 0.4 mg / Kgr B.Σ / 25 min αντίστοιχα.

Ο κυψελιδικός αερισμός ρυθμιζόταν, μέσω μεταβολής της αναπνευστικής συχνότητας, έτσι ώστε το τελοεκπνευστικό CO₂ (end tidal CO₂, μέτρηση με monitor CO₂ / O₂, Normocap Datex) να βρίσκεται μεταξύ 35 και 40 mmHg.

Ο καρδιακός ρυθμός και το ΗΚΓ του πειραματοζώου παρακολουθούνταν συνεχώς (Patient Monitor 575 Kone), μέσω τριών μεταλλικών παραμανών, οι οποίες διαπνεονούσαν το δέσμα του θώρακα του ζώου.

Η θερμοκρασία του σώματος του πειραματοζώου παρακολουθείτο συνεχώς με ένα ηλεκτρονικό θερμόμετρο (Digital thermometer, Model 49 TA Scientific Division, Yellow Springs Instrument Co Inc.), που τοποθετούνταν στο ορθό. Η θερμοκρασία διατηρείτο σταθερή στους $38 \pm 1^{\circ}\text{C}$. με την βοήθεια μιας θερμαντικής πλάκας, τοποθετημένης κάτω από το χειρουργικό τραπέζι (Holder Temperature Control Unit MK IV, Narco Bio Systems INC), και μιας λάμπας υπεριώδων ακτίνων 100 watt



φωτογ. 2β

Μετά την αποψίλωση και την αντισηψία της βουβωνικής περιοχής γινόταν μικροχειρουργική απελευθέρωση της δεξιάς μηριαίας αρτηρίας και φλέβας, ανάρτηση ενός εκάστου αγγείου με δύο ράμματα απολινώσεων και τοποθέτηση, με την βοήθεια αγγειολαβίδων, ενός καθετήρα 26 G στη μηριαία αρτηρία και ενός καθετήρα 24 G στη μηριαία φλέβα. Και οι δύο καθετήρες σταθεροποιούνταν στους πέριξ ιστούς με ράμματα. Αμέσως μετά τους καθετηριασμούς αυτούς λαμβανόταν αρτηριακό και φλεβικό δείγμα αίματος (0.3ml το καθένα) με ηπαρινισμένη σύριγγα ινσουλίνης για τον προσδιορισμό των αερίων αίματος και της οξεοβασικής και ηλεκτρολυτικής ισορροπίας. Τα δείγματα αίματος τοποθετούνταν σε δοχείο με παγάκια και αναλύονταν εντός 15-20 min.

Η αρτηριακή πίεση (συστολική, διαστολική και μέση) παρακολουθείτο "αιματηρά" συνεχώς, μέσω ενός μορφομετατροπέα πίεσεως (transducer Mallinckrodt), συνδεδεμένου στον καθετήρα της μηριαίας αρτηρίας και σε ένα monitor 575 Kone. Ο μορφομετατροπέας στερεωνόταν σταθερά στο επίπεδο που αντιστοιχούσε στο μέσο του θώρακα του ζώου και ακολουθούσε βαθμονόμηση του συστήματος.

Η βατότητα της αρτηριακής γραμμής εξασφαλιζόταν με συνεχή ηπαρινισμό 3ml / h (NaCl 0,9 % 1 L με 5 IU ηπαρίνης / ml, συνδεδεμένος στον transducer, υπό συνεχή πίεση 250 mmHg). Η βατότητα της φλεβικής γραμμής εξασφαλιζόταν με εφ' άπαξ ηπαρινισμό, αμέσως μετά τον καθετηριασμό. Για την πρόσβαση στις αγγειακές γραμμές τοποθετούνταν «three way» στο σημείο σύνδεσης των καθετήρων.

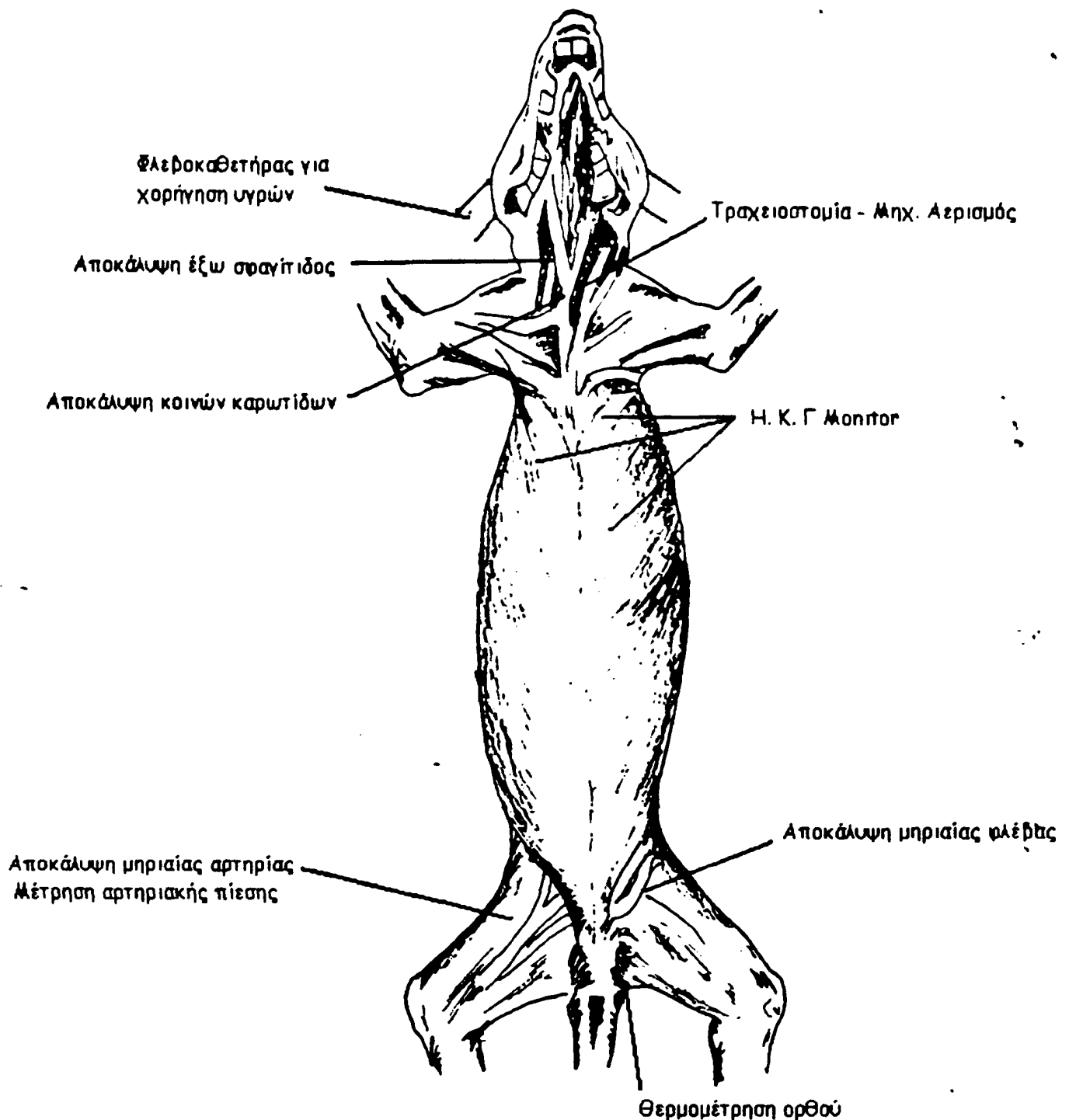


Ακολουθούσε μικροχειρουργική απελευθέρωση α) των δύο κοινών καρωτίδων, όπου τοποθετείτο Surg-i-Loop (silicone loops) προς επίτευξη αναστρέψιμης διακοπής της ροής αίματος στις καρωτίδες και β) της δεξιάς έσω σφαγιτίδας, όπου τοποθετείτο ελεύθερο ράμμα.

Στην έσω σφαγιτίδα εισαγόταν μετά από μικρή διατομή του τοιχώματος της ένας ινοοπτικός καθετήρας (Intravascular optical catheter, Abbott Lab.), με ανάστροφη πορεία προς την κεφαλή και -με την βοήθεια αγγειολαβίδας- προωθείτο, μέχρις ότου γίνει αισθητή μικρή αντίσταση, ένδειξη ότι έχουμε φθάσει στο σφαγιτιδικό βολβό. Ο καθετήρας αυτός ηπαρινιζόταν συνεχώς με σύστημα pressure transducer (Mallinckrodt), με ρυθμό έγχυσης 3ml / h. Μέσω του καθετήρα αυτού παρακολουθείτο συνεχώς ο κορεσμός του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού με ειδικό οξύμετρο (Oximetrix 3 SO₂ / Computer, Abbott Lab), μετά «in vivo» βαθμονόμηση της έντασης του φωτός και έλεγχο της σωστής θέσης του άκρου του καθετήρα.

Η ροή αίματος στις καρωτίδες ελεγχόταν με Doppler (Multi Doppler Hamec ES-107 PZ και με Prob 8MS) α) προ της περιόδου, β) κατά την περίοδο, για να επιβεβαιωθεί ότι η ροή του αίματος ήταν μηδενική και γ) μετά την περίοδο, για να διαπιστωθεί η αποκατάσταση της ροής μετά την άρση της περιόδου.





Σχ.19. Σχηματική παράσταση των χειρισμών επί του πειραματοζώου.

ΙΣΧΑΙΜΙΑ / ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ- ΦΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ - ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Μετά τη γενική αναισθησία, τη σύνδεση στο μηχανικό αερισμό, τις αποκαλύψεις και τους καθετηριασμούς των αγγείων εφαρμοζόταν ισχαιμία του εγκεφάλου, μέσω περισφιξης των ραμμάτων και των δύο καρωτίδων και παράλληλης αφαιμάξης (με ηπαρινισμένη σύριγγα) από τη μηριαία φλέβα τόσης ποσότητας αίματος ώστε η μέση

αρτηριακή πίεση να κατέλθει στα 50 mmHg. Η αφαίμαξη αποσκοπούσε στο να ελαττωθεί στο ελάχιστο η ροή αίματος στις σπονδυλικές αρτηρίες, διαρκούσε 2 περίπου min και ανερχόταν σε 4 - 5.5 ml. Η σύριγγα με το αίμα αυτό εμβαπτιζόταν σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C (Portex BW1). Η διάρκεια της ολικής ισχαιμίας ήταν 10 min. Μετά την παρέλευση του χρόνου αυτού ελευθερώνονταν τα ράμματα των δύο καρωτίδων και μεταγγιζόταν το αίμα από την μηριαία φλέβα σε 2 περίπου min. Η εγκατάσταση της επαναιμάτωσης του εγκεφάλου ελεγχόταν με τη μέτρηση της ροής αίματος στις δύο καρωτίδες.

Μετρήσεις και καταγραφές

Στην πρώτη καταγραφή (base line) καταγράφεται με το Doppler (αιματοταχύμετρο) η τριφασική κυματομορφή φυσιολογικής αρτηρίας με την οξύαιμο κορυφή στο πρώτο έπαρμα, που αντιστοιχεί στην φάση της συστολής και το ανάκροτο έπαρμα, που αντιστοιχεί στην αρχή της διαστολής.

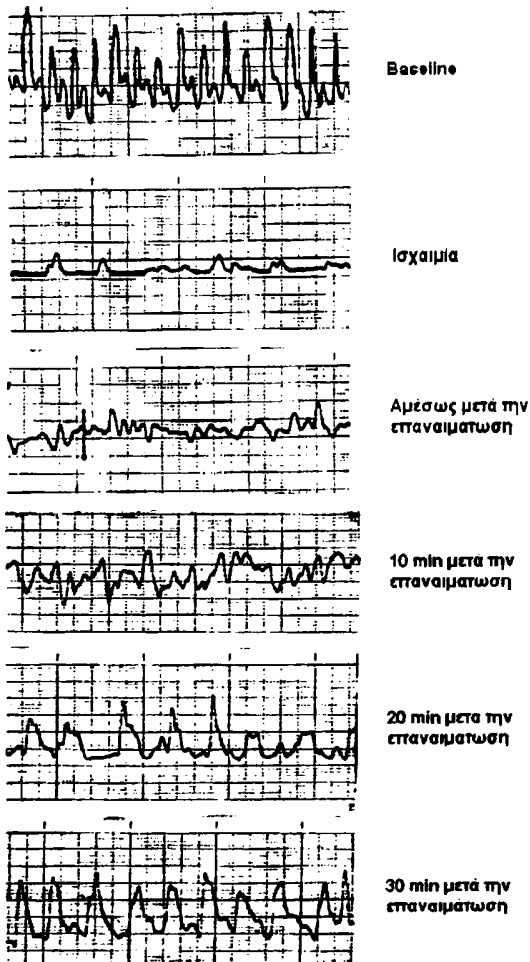
Κατά την ισχαιμία, έχουμε απώλεια του ανάκροτου επάρματος και το συστολικό έπαρμα καθίσταται αποστργγυλομένο, σχεδόν επίπεδο και μη σφυγμικό.

Στην άμεση επαναιμάτωση το συστολικό έπαρμα γίνεται υψηλότερο, παραμένει όμως αποστρογγυλομένο και μη σφυγμικό.

10min μετά την επαναιμάτωση, έχουμε βελτίωση της κυματομορφής.

Στα 20min μετά την επαναιμάτωση το συστολικό έπαρμα έχει επανέλθει σχεδόν στην αρχική του μορφή, δεν παρατηρείται όμως το ανάκροτο έπαρμα.

Στα 30min μετά την επαναιμάτωση λαμβάνεται πάλι η φυσιολογική τριφασική κυματομορφή. (Καταγρ.1)



Καταγραφή 1



Αμέσως μετά την επαναιμάτωση δίδονταν 4mEq /Kg βάρους σώματος διπτανθρακικά επειδή ήταν αναμενόμενη η γαλακτική οξέωση.

Το πείραμα περιελάμβανε τις παρακάτω φάσεις, κατά τις οποίες καταχωρούνταν οι (ενδεικνυόμενες στα monitors) τιμές των αιμοδυναμικών και οξυγονομετρικών παραμέτρων και λαμβάνονταν δείγματα αίματος για εργαστηριακή μελέτη:

- Χρονική στιγμή 1 (T₁): Βασικές τιμές, 5 min μετά και τον τελευταίο προπαρασκευαστικό χειρισμό, ώστε να έχει σταθεροποιηθεί η κατάσταση του πειραματοζώου από την αναισθησία.

- Χρονική στιγμή 2 (T₂): Στο τέλος των 10 min ισχαιμίας.

- Χρονική στιγμή 3 (T₃): Επαναιμάτωση 5 min.

- Χρονική στιγμή 4 (T₄): Επαναιμάτωση 10 min.

- Χρονική στιγμή 5 (T₅): Επαναιμάτωση 20 min και

- Χρονική στιγμή 6 (T₆): Επαναιμάτωση 30 min

Αιμοδυναμικές και οξυγονομετρικές παράμετροι:

- Καρδιακή συχνότητα (αριθμός σφύξεων / min),

- Συστολική, Διαστολική και Μέση αρτηριακή πίεση,

- SjnO₂

Εργαστηριακές εξετάσεις:

- Αέρια αίματος / Οξεοβασική ισορροπία στο αρτηριακό αίμα και το αίμα του σφαγιτιδικού βολβού,

- Ηλεκτρολύτες στο αρτηριακό αίμα και το αίμα του σφαγιτιδικού βολβού,

- Σάκχαρο αίματος στο αρτηριακό αίμα και το αίμα του σφαγιτιδικού βολβού,

- Γαλακτικό οξύ στο αρτηριακό αίμα και το αίμα του σφαγιτιδικού βολβού,

- Δείκτες οξειδωτικού stress στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού.

ΑΦΑΙΡΕΣΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΚΑΙ ΝΕΚΡΟΤΟΜΗ

Μετά το πέρας του χρόνου του πειράματος, δηλαδή μετά τα 30 min επαναιμάτωσης, χορηγούνταν μία μεγάλη δόση θειοπεντάλης και fentanyl 0.05 mg / Kg IV και 1 min μετά στρέφονταν το πειραματόζωο σε πρηνή θέση επί μιας νεκροτομικής πλάκας. Αμέσως μετά και ενώ διατηρούνταν η κυκλοφορία και η οξυγόνωση του αίματος (ΜΑΠ: 40 – 50 mmHg, Μηχανικός αερισμός), ώστε να αποφευχθούν μεταθανάτιες νεκρωτικές βλάβες, γινόταν α) διατομή και αποκόλληση του δέρματος από την ινιακή έως την μετωπιαία χώρα, β) κρανιοτομή με την χρήση οστεοτόμου και αφαίρεση όλου του θόλου του κρανίου και γ) προσεκτική, αλλά γρήγορη κινητοποίηση και αφαίρεση ολόκληρου του εγκεφάλου του πειραματοζώου. Ο εγκέφαλος τυλιγόταν σε αλουμινόχαρτο και φυλασσόταν σε ειδικό δοχείο υγρού N₂ (για ταχεία κατάψυξη), με το οποίο μεταφερόταν - προς φύλαξη και παθολογοανατομική μελέτη σε δεύτερο χρόνο- σε ψυγείο βαθιάς κατάψυξης (- 70⁰ C). Ακολουθούσε νεκροτομή και αφαίρεση όλων των οργάνων, τα οποία εξετάζονταν μακροσκοπικά και ζυγίζονταν.

Τα ιστοτεμάχια επιτυγχάνονται με την βοήθεια του κρουστάτη (κατεψυγμένος θάλαμος) και του μικροτόμου. Η θερμοκρασία του θαλάμου και το πάχος της τομής ρυθμίζονται εύκολα και απεικονίζονται ψηφιακά.

Η αξιολόγηση των ιστολογικών τομών έγινε με χρώσεις αιματοξυλίνης/ηωσίνης (Α/Ε).



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Αέρια αίματος / Οξεοβασική ισορροπία και Ηλεκτρολύτες

Δείγματα αίματος από την μηριαία αρτηρία και από τον σφαγιτιδικό βολβό, 0.3ml το καθένα, που λαμβάνονταν ταυτόχρονα σε ηπαρινισμένη σύριγγα ινσουλίνης, αναλύονταν σε αυτόματους αναλυτές αερίων και ηλεκτρολυτών αίματος (AVL 995-Hb Automatic Blood Gas System και AVL 984-S Electrolyte Analyzer αντίστοιχα). Ο αναλυτής αερίων μετρά μέσω ηλεκτροδίων το pH, την PO₂ και την PCO₂, και από αυτές τις μετρήσεις υπολογίζει τον κορεσμό της αιμοσφαιρίνης σε O₂ (Saturation, SO₂), την απόκλιση βάσεως (Base Excess, BE) το περιεχόμενο σε 100 ml αίματος O₂ (Content O₂) και το συνολικό CO₂ (TCO₂). Αφαιρώντας το περιεχόμενο σε 100 ml αίματος του σφαγιτιδικού βολβού O₂ (C_{Jv}O₂) από το περιεχόμενο σε 100 ml αρτηριακού αίματος O₂ (C_aO₂) υπολογίζαμε την αρτηριοσφαγιτιδική διαφορά O₂ (A_{Jv}DO₂). Ο πίνακας 2 δείχνει τις παραμέτρους που προσδιορίζονταν με τους εν λόγω αυτόματους αναλυτές.

Πίνακας 2. Παράμετροι Αερίων Αίματος, Οξεοβασικής και Ηλεκτρολυτικής ισορροπίας

- √ Μερική πίεση του οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα (PaO₂), mmHg
- √ Μερική πίεση του οξυγόνου στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (P_{Jv}O₂), mmHg
- √ Μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακα στο αρτηριακό αίμα (PaCO₂), mmHg
- √ Μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακα στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (P_{Jv}CO₂)mmHg
- √ pH του αρτηριακού αίματος, IU
- √ pH του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού (pH_{Jv}), IU
- √ Κορεσμός της αιμοσφαιρίνης στο αρτηριακό αίμα (SaO₂), %
- √ Κορεσμός της αιμοσφαιρίνης στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (S_{Jv}O₂), %
- √ Περιεχόμενο οξυγόνο στο αρτηριακό αίμα (C_aO₂) και στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (C_{Jv}O₂).
- √ K⁺, meq /L
- √ Na⁺, meq /L
- √ Ca⁺⁺, meq /L

Σάκχαρο αίματος

Η συγκέντρωση του σακχάρου στο αίμα προσδιοριζόταν στο αρτηριακό αίμα και το αίμα του σφαγιτιδικού βολβού με σακχαρόμετρο Precision Q.I.D της Medisemse.

Γαλακτικό οξύ

Δείγματα αίματος 0.3ml λαμβάνονταν ταυτόχρονα από την μηριαία αρτηρία και τον σφαγιτιδικό βολβό για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης γαλακτικού. Τα δείγματα αυτά τοποθετούνταν, αμέσως μετά την λήψη τους, σε φιαλίδια με EDTA για να διακοπεί ο μεταβολισμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ακολουθούσε φυγοκέντρηση και διαχωρισμός του υπερκείμενου πλάσματος. Η μέτρηση του γαλακτικού στο πλάσμα έγινε με ενζυματική / χρωματομετρική μέθοδο (έτοιμα αντιδραστήρια του οίκου Sigma, φυσιολ. τιμές: 0.33 -1.33 mmol /L). Αφαιρώντας τη συγκέντρωση του γαλακτικού στο φλεβικό αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (Jv.Lact) από την συγκέντρωση του γαλακτικού στο αρτηριακό αίμα (Art.Lact) υπολογίζαμε την αρτηριοσφαγιτιδική διαφορά γαλακτικού (AJDL) σε mmol / l: AJDL = Art.Lact.-



Jv.Lact. Διαιρώντας την AJDL προς την AJvDO₂ υπολογίζαμε το δείκτη γαλακτικό / οξυγόνο (LOI) του αίματος του εγκεφάλου: LOI = AJDL / AJvDO₂.

Δείκτες Οξειδωτικού stress

Στον ορό του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού υπολογίζονταν μερικά από τα τυπικά παράγωγα υπεροξειδωσης των λιπιδίων, τα οποία ταυτοχρόνως αποτελούν και δείκτες κυτταρικής φθοράς από οξειδωτικό stress. Σαν κύριο παράγωγο λιπούπεροξειδωσης προσδιορίζονταν η συγκέντρωση της **Μαλονικής Διαλδεύδης (MDA)**, η οποία ανήκει στα λεγόμενα «αντιδρώντα με το θειοβαρβιτουρικό οξύ σώματα». Από την άλλη μεριά, σαν βασικός δείκτης της σφοδρότητας του οξειδωτικού stress στο επίπεδο των ερυθροκυττάρων επιλέχθηκε η καταγραφή του επιπέδου δραστηριότητας του ακρογωνιαίου αντιοξειδωτικού ενζύμου **Δισμουτάσης του Σουπεροξειδίου (SOD)**.

Δύο άλλα παράγωγα που υπολογίζονταν ήταν το **Ασκορβικό οξύ (As)** (βιταμίνη C) μη ειδικός OFRS που μπορεί να εξουδετερώσει όλους τους τοξικούς μεταβολίτες του οξυγόνου και το **Δεϋδροασκορβικό οξύ (DAA)** το οποίο είναι προϊόν οξειδωσης του ασκορβικού οξέος.

Μέθοδοι προσδιορισμού του οξειδωτικού stress

A. Προσδιορισμός της Δισμουτάσης του σουπεροξειδίου (SOD)

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της SOD είναι περίπλοκος, διότι το υπόστρωμα του ενζύμου, δηλαδή το ανιόν σουπεροξειδίου του O₂ (O₂⁻) είναι ασταθές και ως εκτούτου δεν διατίθεται σε καθαρή μορφή. Ετσι, ο ποσοτικός προσδιορισμός της SOD συμπεριλαμβάνει αναγκαστικά και ένα σύστημα παραγωγής O₂⁻. Επί πλέον, το O₂⁻ δεν επισημαίνεται εύκολα με τα συνήθη αναλυτικά μέσα. Ως εκ τούτου οι πιο πολλές από τις μεθόδους προσδιορισμού της SOD βασίζονται στην αναστολή χημικών αντιδράσεων, που εξαρτώνται από το O₂⁻, μέσω της SOD (244). Επιλέξαμε την αναστολή δύο αντιδράσεων εξαρτημένων από το O₂⁻ και συγκεκριμένα: α) την αναγωγή του κυτοχρώματος C μέσω του O₂⁻, που δημιουργείται από την αντίδραση ξανθίνης / ξανθοξειδάσης και β) την αυτοοξειδωση της πυρογαλόλης.

α) Η δοκιμή αναγωγής του κυτοχρώματος C βασίζεται στην εξής αρχή:

Το ένζυμο ξανθοξειδάση οξειδώνει - παρουσία O₂⁻ την ξανθίνη προς ουρικό οξύ, παράγοντας ταυτόχρονα O₂⁻, το οποίο αντιδρά με το οξειδωμένο κυτόχρωμα C. Η αντίδραση αυτή καταγράφεται διαρκώς με φασματόμετρο στα 550 nm. Εάν στο σύστημα υπάρχει SOD η αναγωγή του κυτοχρώματος C αναστέλλεται, εξ αιτίας της εκκαθάρισης του O₂⁻. Η ποσότητα της SOD του δείγματος μπορεί να προσδιορισθεί από τον βαθμό αναστολής της αναγωγής του κυτοχρώματος C, μέσω κατάλληλων standarts και προτύπων καμπυλών.

Απαιτούμενα Αντιδραστήρια:

- Δισόξινο φωσφορικό K (KH₂PO₄) για αναλύσεις.
- Όξινο φωσφορικό δινάτριο (Na₂HPO₄) για αναλύσεις.
- Δινатρικό άλας του αιθυλεν-διαμινο-τετροξεικού οξέος (EDTA).
- Κρυσταλική ξανθίνη 99 έως 100% (Merck).
- Ξανθοξειδάση από γάλα, βαθμού I (Sigma).
- Κυτόχρωμα C από καρδιά αλόγου, βαθμού reserch (Serva).
- Διάλυμα A: 0.75 mgr (= 5 μmol) ξανθίνης σε 10 ml διαλύματος 0,001N υδροξειδίου του Νατρίου (NaOH) και 24,8 mgr (= 2 μmol) κυτοχρώματος C αναμιγνύονται με 100



ml Φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος 50 μ M pH 7.8, περιέχοντος 0.1mM EDTA. Το διάλυμα αυτό είναι σταθερό για 3 ημέρες στους 4°C.

- Διάλυμα B: Ένα πρόσφατο διάλυμα ξανθοξειδάσης σε 0.1mM EDTA, 0.2 U / ml. Επειδή η δραστηριότητα της οξειδάσης της ξανθίνης μπορεί να μεταβάλλεται, χρησιμοποιείται επαρκής ποσότητα ενζύμου, τέτοια ώστε να προκύπτει ένας ρυθμός αναγωγής του κυτοχρώματος C 0.025 μονάδων / λεπτό στην δοκιμή χωρίς την SOD.

Διαδικασία:

Μία συνολική ποσότητα 2 ml διαλύματος A, θερμοκρασίας 25°C αναμιγνύεται με 50 μ l του δείγματος σε μία κυβέττα 3 ml και η αντίδραση αρχίζει με την προσθήκη 50 μ l διαλύματος B. Κατόπιν ανάμιξης η αλλαγή της απορρόφησης στα 550 nm δεικνύει την αναγωγή του κυτοχρώματος C και καταγράφεται. (Η αντίδραση μπορεί να λαμβάνει χώρα με την κυβέττα τοποθετημένη στην σχισμή του φασματομέτρου). Η ποσότητα της SOD που αντιστοιχεί στο 50 % αναστολής της αναγωγής του κυτοχρώματος C ορίζεται ως μία μονάδα. Πολύ πιο αξιόπιστα αποτελέσματα επιτυγχάνονται χρησιμοποιώντας μία πρότυπη ρυθμιστική καμπύλη.

Για τον σκοπό αυτό εκτελούμε μετρήσεις σε δείγματα που περιέχουν διαδοχικά από 50 έως 500 ng καθαρής χαλκό / ψευδαργυρικής SOD (Cu / Zn SOD) βοείου προέλευσης με δραστηριότητα 3.200 U / mg πρωτεΐνης). Μέσα σε αυτό το φάσμα συγκεντρώσεων η γραφική παράσταση μιας μεταβολής 1 / ΔE / min / ng SOD είναι σε ευθεία γραμμή. Η ακρίβεια βελτιστοποιείται, αν τα άγνωστα αραιώνονται σε μία έκταση αντιστοιχούσα κατά προσέγγιση σε αναστολή της αναγωγής του κυτοχρώματος C κατά 50 %.

Παρατηρήσεις:

Το ως άνω περιγραφέν σύστημα δοκιμής πάσχει από μερικές ενδογενείς ατέλειες. Τα αποτελέσματα του εξαρτώνται από την συγκέντρωση του κυτοχρώματος C, το pH και το παρασκεύασμα της ξανθοξειδάσης. Προς αποφυγή των ειδικών αυτών ατελειών ρυθμίσαμε το σύστημα χρησιμοποιώντας καθαρή SOD, όπως έχει αναφερθεί, μειώνοντας έτσι την εντός της δοκιμής μεταβολή < του 10 %, παρά την περιπλοκότητα του συστήματος δοκιμής. Το όριο ευαισθησίας είναι περί τα 15 ng / ml ανά επωαζόμενο δείγμα. Ακόμα πιο σημαντικοί περιορισμοί της δοκιμής αυτής μπορεί να προκύψουν από την αντιδραστικότητα του O_2^- με διάφορα συστατικά του δοκιμαστικού συστήματος. Προς παράκαμψη του προβλήματος αυτού απομακρύναμε -με διάλυση-, πριν την δοκιμή, μόρια όπως το ασκορβικό οξύ, η GSH και οι κατεχολαμίνες. Ατυχώς όμως, διάφορες άλλες πρωτεΐνες μπορούν να αντιδράσουν με το O_2^- με συνέπεια τον κίνδυνο υπερεκτίμησης της ποσότητας της SOD μόνον κατόπιν μερικής κάθαρσης του εξεταζόμενου βιολογικού δείγματος. Μπορούμε επίσης για λόγους αναλυτικούς να τροποποιήσουμε το παρουσιασθέν πειραματικό σύστημα σε συγκεκριμένες περιπτώσεις. Επί παραδείγματι, για να προλάβουμε την επανοξειδωση της αναχθείσης μορφής του κυτοχρώματος C από την οξειδάση του κυτοχρώματος C των μιτοχονδρίων μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε ακετυλιωμένες μορφές του κυτοχρώματος C. Ακόμη ο διαχωρισμός μεταξύ της Cu / Zn SOD από τις αντίστοιχες Mn - SOD και Fe - SOD, επιτυγχάνεται με την αναστολή του Cu / Zn ενζύμου, μέσω 2 mM κυανίου. (Sara Goldstein et al 1996)

B. Προσδιορισμός της MDA

Υπολογισμός της *in vitro* υπεροξειδωσης των λιπιδίων - δοκιμή του θειοβαρβιτουρικού οξέος:



Η MDA παράγεται σε σχετικά σταθερά ποσά κατά την υπεροξειδωση των λιπιδίων (λιπούπεροξειδωση) και γι αυτό παριστά ένα καλό δείκτη του βαθμού λιπούπεροξειδωσης, ειδικά *in vitro*. Η δοκιμή του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) για την MDA πραγματοποιείται αναμιγνύοντας το προς μέτρηση δείγμα με το αντιδραστήριο TBA που συνίσταται από 0.375 % TBA και 15 % τριχλωρικού οξέος σε 0.25N HCL. Το TBA διαλύεται κατ' αρχήν στο HCL και στο διάλυμα που προκύπτει προστίθεται το τριχλωροξικό οξύ. Το αντιδραστήριο είναι γενικά σταθερό αλλά μπορεί να εμφανίσει ίζημα κατά την αποθήκευσή του, οπότε θερμαίνεται και ανακινείται, ώστε το TBA να διαλυθεί. Το αντιδρών μίγμα του υπό μελέτη δείγματος και του αντιδραστηρίου TBA τίθενται εντός φιάλης με στεγανό πώμα σε ζέον υδατόλουτρο επί 15 min για να περατωθεί η αντίδραση. Κατόπιν η φιάλη αφήνεται να ψυχθεί και το περιεχόμενό της φυγοκεντρείται. Η οπτική πυκνότητα του καθαρού υπερκείμενου καταγράφεται στα 532 nm. Πρέπει να λαμβάνουμε περιοδικά ένα φάσμα απορρόφησης για να σιγουρευόμαστε ότι δεν υπάρχουν άλλες τυχούσες αλληλεπιδρώσες αλδεύδες. Η ύπαρξη τέτοιων ουσιών διαπιστώνεται όταν εμφανίζεται μέγιστη απορρόφηση σε άλλα μήκη κύματος κατά την διαδρομή του φάσματος.

Η καμπύλη αναφοράς (standard καμπύλη) επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας τετρακετάλιο της μαλονδιαλδεύδης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και εφαρμόζοντας σε αυτές την προαναφερθείσα μέθοδο. Υπάρχει ένας συντελεστής απόσβεσης (extinction coefficient) ίσος προς $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$.

Η δοκιμή του TBA για την MDA επιτρέπει τον προσδιορισμό τόσο της προϋπάρχουσας MDA όσο και της δημιουργούμενης κατά τη διάρκεια της δοκιμής (από ουσίες οι οποίες αποδίδουν MDA). Τα υδροϋπεροξειδία των λιπιδίων μπορούν να διασπασθούν κατά την διάρκεια της θέρμανσης παρουσία οξέων και μετάλλων και να παράγουν MDA. Για να αποφύγουμε το πρόβλημα αυτό μπορούμε να πραγματοποιήσουμε ορισμένους χειρισμούς, μέσω των οποίων θα απομακρυνθεί η MDA που σχηματίζεται κατά την δοκιμή ή θα αποφευχθεί ο σχηματισμός της. Ετσι, μπορούμε να πραγματοποιήσουμε ανάλογα είτε μία μόνο δοκιμή που θα αφορά την προϋπάρχουσα MDA ή δύο δοκιμές στις οποίες μετράται η ολική και η προϋπάρχουσα MDA, η διαφορά των οποίων αποτελεί ένα μέτρο εκτίμησης της ποσότητας των σχηματιζόμενων υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων. Αυτό το τελευταίο επιτυγχάνεται επαναλαμβάνοντας την δοκιμή υπό την παρουσία ενός αντιοξειδωτικού (βουτυρικού υδροξυτολουενίου) που προστίθεται στο αντιδραστήριο TBA. Ένα διάλυμα (εναιώρημα) βουτυρικού υδροξυτολουενίου επιτυγχάνεται με την προσθήκη 0.01 όγκου βουτυρικού υδροξυτολουενίου 2% σε απόλυτη αιθανόλη (αποθηκευόμενο στο σκοτάδι) στο αντιδραστήριο TBA. Δοθέντος ότι το βουτυρικό υδροξυτολουένο δεν διαλύεται στο αντιδραστήριο TBA σχηματίζεται ένα λεπτό εναιώρημα που πρέπει να χρησιμοποιείται άμεσα (R. K. Brown et al 1996).

Γ. Προσδιορισμός του Ασκορβικού οξέος

α) Χρωματομετρική μέθοδος με 2,4 - δινιτροφαινυλ - υδραζίνη (DNPH).

Η μέθοδος του DNPH χρησιμοποιείται συνήθως για τον προσδιορισμό του ολικού ασκορβικού οξέος (ασκορβικό + δεϋδροασκορβικό) σε ιστούς και υγρά του σώματος. Στην μέθοδο αυτή το ασκορβικό οξύ οξειδούται κατά πρώτον προς δεϋδροασκορβικό το οποίο αντιδρά με την 2,4 - δινιτροφαινυλ - υδραζίνη, σχηματίζοντας ένα υδραζονικό παράγωγο που μπορεί να μετρηθεί χρωματομετρικά.

Αντιδραστήρια :

- Τριχλωροξικό οξύ (TCA), διάλυμα 5 έως 6 %.



- Οξαλικό οξύ, διάλυμα 0.5%.
- Θειϊκό οξύ 9N: ένα μέρος πυκνού θειϊκού οξέος αναμιγνύεται με τρία μέρη απεσταγμένου ύδατος.
- Θειουρία 10%: 10gr θειουρίας διαλύονται σε 50ml αιθανόλης και αραιώνονται μέχρι 100ml δι' απεσταγμένου ύδατος.
- H_2SO_4 : 85%-εννέα μέρη πυκνού θειϊκού οξέος αναμιγνύονται με ένα μέρος απεσταγμένου ύδατος.
- Νορίτης: άνθρακας ενεργοποιημένος εκπλυθείς με οξέα.
- Χάρτινα φίλτρα whatman No 42 ή χάρτινα φίλτρα πυκνότητας 2V.
- Διάλυμα DNPH: 2gr 2,4-δινιτροφαινύλ-υδραζίνης διαλύονται σε 100ml H_2SO_4 9N, αφήνονται να επωασθούν επί μία νύκτα και κατόπιν φιλτράρονται.
- Διάλυμα χρωστικής: ένα μέρος θειουρίας 10% και 10 μέρη διαλύματος DNPH.

Παρασκευή δειγμάτων για μέτρηση του ολικού ασκορβικού οξέος:

1. Πλάσμα, ορός, αίμα ολικό: ένα μέρος πλάσματος, ορού ή αίματος αναμιγνύονται με τρία μέρη TCA 6 % ή 5 %.
2. Ούρα: 1 μέρος ούρων αναμιγνύεται με 20 μέρη TCA 5%.
3. Λαχανικά, φρούτα και ζωικές τροφές: 2gr υλικού εκχειλίζονται με 100ml οξαλικού οξέος 0.55 σε ένα μπλέντερ.
4. Ζωικοί ιστοί: Ομογενοποιείται κάθε γραμμάριο ιστού με 20ml TCA 5%.
5. Γάλα: Χρησιμοποιείται ένα μέρος γάλακτος και 5 μέρη TCA 6%.

Οξειδωση και Παρασκευή του διαλύματος:

Σε 20ml διαλύματος, εκχυλίσματος ή ομογενοποιημένου προσθέτουμε ½ κουταλιά (του τσαγιού) Νορίτη. Αναδεύουμε ζωηρά και διηθούμε. Αν ο όγκος του διαλύματος, εκχυλίσματος, ομογενοποιημένου είναι μικρότερος των 5ml χρησιμοποιούμε 1/8 του κουταλιού Νορίτη. Πριν την διήθηση φυγοκεντρούμε και μετά διηθούμε με ένα μικρού μεγέθους φίλτρο.

Ανάπτυξη του χρώματος:

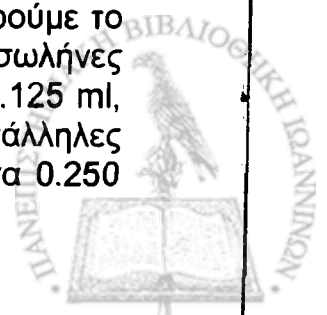
Πιπετάρουμε 1ml διηθήματος σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα, προσθέτουμε 0.25ml διαλύματος χρωστικής, αναμιγνύουμε καλώς και επωάζουμε σε ένα υδατόλουτρο στους 37°C για τέσσερις ώρες. Μετά την επώαση, θέτουμε τους δοκιμαστικούς σωλήνες σε πάγο και προσθέτουμε στάγδην 1ml ψυχρού H_2SO_4 85%, αναμιγνύουμε και αφήνουμε το μίγμα να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου για 30min. Μεταφέρουμε το διάλυμα σε μία κυψελίδα και διαβάζουμε την απορρόφηση στα 515 nm σε ένα φασματόμετρο, χρησιμοποιώντας σαν λευκό (blanc) ένα μίγμα σύστασης 1ml TCA 5 %, 0.25ml χρωστικού διαλύματος και 1ml H_2SO_4 85 %.

Σταντάρισμα:

1. Διάλυμα standard ασκορβικού οξέος (stock solution) = 1mg ασκορβικού οξέος / ml TCA 5%.
2. Standard διάλυμα ασκορβικού οξέος με το οποίο δουλεύουμε = 2ml του διαλύματος stock σε 98 ml TCA 5 % (διάλυμα εργασίας).

Διαδικασία:

Αναδεύουμε ζωηρά το προδιαγεγραμμένο διάλυμα εργασίας εφ' όσον έχουμε προσθέσει ένα κοχλιάριο ενεργού άνθρακα (Νορίτης) ώστε να οξειδωθεί το υπάρχον ασκορβικό οξύ προς δεϋδροασκορβικό. Για να έχουμε πλήρη οξειδωση πραγματοποιούμε την ζωηρή ανάδευση επί πεντάλεπτο. Κατόπιν φυγοκεντρούμε το διάλυμα και διηθούμε το υπερκείμενο. Τοποθετούμε σε επτά δοκιμαστικούς σωλήνες διαδοχικά αυξανόμενες ποσότητες διηθήματος με την εξής διαδοχή: 0 ml, 0.125 ml, 0.25 ml, 0.375 ml, 0.5 ml, 0.75 ml και 1.0 ml. Κατόπιν προσθέτουμε κατάλληλες ποσότητες διαλύματος τριχλωροξεικού οξέος (5 %). Προσθέτουμε ποσότητα 0.250



πί διαλύματος DNPH και ακολουθούμε όλα τα βήματα που περιγράψαμε ανωτέρω στην παράγραφο «ανάπτυξη του χρώματος». Χρησιμοποιούμε την πρότυπη καμπύλη ως αναφορά για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων του ασκορβικού στα υπό μελέτη δείγματα.

β) Δεϋδροασκορβικό οξύ (DAA)

Αν θέλουμε να προσδιορίσουμε μόνο το δεϋδροασκορβικό, τότε δεν πραγματοποιούμε την οξείδωση του δείγματος μας με ενεργό άνθρακα. Απλώς παρασκευάζουμε το δείγμα μας σύμφωνα με τα περιγραφέντα ανωτέρω στην σχετική παράγραφο και πραγματοποιούμε τα βήματα τα σχετικά με την ανάπτυξη του χρώματος. Η διαφορά μεταξύ ολικού ασκορβικού και δεϋδροασκορβικού μας δίνει την ολική ποσότητα της αναχθείσης μορφής του ασκορβικού οξέος. (Detlef Mohr et al 1996)



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΑΙΜΟΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Πίνακας Α₁. Μέση αρτηριακή πίεση (ΜΑΠ) – Καρδιακή Συχνότητα (ΣΦ)

Ομάδες	Παράμετροι	Χ ρ ο ν ι κ ή σ τ ι γ μ ή π ε ι ρ ά μ α τ ο ς					
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
A	ΜΑΠ	91	103	72	67	58	43
	ΣΦ	201	224	211	226	187	132
B	ΜΑΠ	87	95	70	66	59	47
	ΣΦ	212	231	224	217	197	164
Α'	ΜΑΠ	82	89	88	91	87	80
	ΣΦ	194	201	208	164	185	178
Β'	ΜΑΠ	84	88	79	82	48	40
	ΣΦ	196	236	206	185	175	136

ΑΕΡΙΑ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΗ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ

Πίνακας Α₂. Αέρια αίματος-οξεοβασική ισορροπία στο αρτηριακό αίμα

ομάδες	παράμετροι	χ ρ ο ν ι κ ή σ τ ι γ μ ή π ε ι ρ ά μ α τ ο ς					
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
A	PH	7,36	7,3	7,26	7,23	7,2	7,17
	PαO ₂	91	80,4	74,6	71,21	69,2	56
	PαCO ₂	41,56	38,21	41,93	42,89	43,88	43,14
	BE	-0,5	-6	-5,31	-6,08	-7,05	-8,31
	Sat	97,1	72,93	70,53	64,03	72,83	62,25
	CaO ₂	19,98	15,75	14,59	13,78	13,26	12,8

B	PH	7,37	7,3	7,3	7,22	7,19	7,15
	PαO ₂	88,37	79,38	74,75	70,85	68,4	66,74
	PαCO ₂	39,28	39,04	38,62	43,04	43,46	46,34
	BE	-2,33	-5,3	-5,21	-6,31	-7,15	-7,92
	Sat	96,81	90,27	88,94	78,68	72,05	63,1
	CaO ₂	19,76	14,74	14,7	14,1	13,61	12,97

Α'	PH	7,36	7,35	7,32	7,31	7,31	7,28
	PαO ₂	84,7	82,94	79,38	78,78	80,26	77,94
	PαCO ₂	43,55	38,94	39,31	42,8	41,86	34,89
	BE	0,7	-2,74	-3,74	-3,58	-3,34	-4,58
	Sat	97,44	96,28	96,50	94,34	95,08	95,92
	CaO ₂	19,89	19,69	19,7	19,26	19,4	19,58

Β'	PH	7,36	7,28	7,29	7,23	7,18	7,15
	PαO ₂	84,42	79,02	72,64	66,3	60,58	55,04
	PαCO ₂	38,95	39,55	40,79	44,03	44,59	46,99
	BE	-2,38	-5,22	-4,76	-5,86	-6,72	-7,14
	Sat	96,56	88,68	91,1	87,86	69,14	58
	CaO ₂	19,71	15,58	14,71	13,9	13,11	12,58



Πίνακας Α₃. Αέρια αίματος-οξειδωτική ισορροπία στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

ομάδες	παράμετροι	χρονική στιγμή πειράματος					
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
A	PH	7,36	7,31	7,32	7,26	7,22	7,17
	PvO ₂	40,48	33,06	30,85	29,71	32,21	30,13
	PvCO ₂	37,78	38,66	38,07	41,52	43,43	43,82
	BE	-2,96	-4,71	-4,43	-5,43	-6,33	-6,86
	Sat	65,48	44,58	38,48	30,01	27,53	22,16
	CvjO ₂	13,92	9,17	11,70	12,02	12,39	11,79

B	PH	7,37	7,31	7,3	7,25	7,21	7,17
	PvO ₂	42,18	34,41	33	31,17	32,45	34,85
	PvCO ₂	42,98	42,04	40,99	42,98	44	42,71
	BE	-0,82	-4,92	-4,6	-5,58	-6,04	-6,88
	Sat	69,08	49,64	44,32	38,15	31,27	25,41
	CvjO ₂	14,64	8,21	10,82	11,19	11,16	11,21

A'	PH	7,36	7,32	7,26	7,26	7,3	7,28
	PvO ₂	43,16	41,64	39,76	41,42	42,26	42,85
	PvCO ₂	39,82	37,79	41,87	40,32	41,29	41,39
	BE	0,44	-2,62	-1,34	-2,92	-3,6	-3,02
	Sat	68,36	66,32	65,26	63,94	62,16	61,08
	CvjO ₂	14,63	14,65	14,71	14,34	14,14	14,04

B'	PH	7,38	7,32	7,28	7,27	7,23	7,19
	PvO ₂	44,38	36,28	34,32	32,86	34,5	32,64
	PvCO ₂	36,42	43,92	40,02	43,19	41,34	40,78
	BE	0,92	-4,88	-4,62	-5,98	-7,02	-7,44
	Sat	68,68	47,36	46,22	30,94	27,1	23,02
	CvjO ₂	14,83	9,27	11,36	11,27	10,78	10,53

ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Πίνακας Α₄. Μετρήσεις Γλυκόζης (mg/dl) - Κ (mmol/l) - Na (mmol/l) - Ca (mmol/l) στο αρτηριακό αίμα

Ομάδες	Παράμετροι	χρονική στιγμή πειράματος					
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
A	Γλυκόζη	137	150	159	164	175	192
	K ⁺	4,06	4,28	4,44	4,34	4,45	4,31
	Na ⁺	136	135	139	138	137	137
	Ca ⁺⁺	1,15	1,16	1,06	0,95	1,08	1,18



B	Γλυκόζη	122	133	141	155	170	192
	K ⁺	4,31	4,52	4,7	4,82	5,04	5,15
	Na ⁺	136	139	140	143	143	141
	Ca ⁺⁺	1,29	1,22	1,13	1,05	0,99	1,09

A'	Γλυκόζη	123	131	139	140	146	147
	K ⁺	4,01	4	3,92	4,14	4,36	4,5
	Na ⁺	137	139	137	138	137	136
	Ca ⁺⁺	1,30	1,24	1,29	1,26	1,30	1,26

B'	Γλυκόζη	113	123	136	142	148	153
	K ⁺	3,82	4,08	4,26	4,24	4,4	4,62
	Na ⁺	137	138	138	140	136	137
	Ca ⁺⁺	1,22	1,05	0,96	0,91	0,86	0,92

Βιοχημικές μετρήσεις στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

Πίνακας A₅. Γλυκόζη (mg/dl) - K (mmol/l) - Na (mmol/l) - Ca (mmol/l)

Ομάδες	Παράμετροι	Χρονική στιγμή πειράματος					
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
A	Γλυκόζη	117	111	129	138	149	161
	K ⁺	4,0	4,3	4,6	4,6	4,9	5,1
	Na ⁺	136	137	136	135	138	141
	Ca ⁺⁺	1,26	1,16	1,10	1,07	1	0,95

B	Γλυκόζη	118	112	128	138	147	159
	K ⁺	4,07	4,3	4,52	4,75	4,84	5,04
	Na ⁺	137	136	136	138	139	140
	Ca ⁺⁺	1,08	1,03	0,99	0,93	0,91	0,96

A'	Γλυκόζη	119	124	131	130	136	137
	K ⁺	3,84	4,04	4,16	4,06	4,18	4,5
	Na ⁺	138	136	136	137	138	140
	Ca ⁺⁺	1,1	1,12	1,04	0,99	0,91	0,90

B'	Γλυκόζη	108	116	125	129	134	135
	K ⁺	3,9	4,2	3,8	4,06	4,38	4,56
	Na ⁺	138	137	138	140	139	142
	Ca ⁺⁺	1,14	1,04	1	1,03	0,94	0,94



Πίνακας Α₆. Συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στο αρτηριακό αίμα, στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού, αρτηριοσφαγιτιδική διαφορά γαλακτικού.

Ομάδες	Παράμετροι	Χρονική στιγμή πειράματος					
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
A	lact.art. (mean)	1,30	4,62	5,62	5,30	4,98	4,64
	lact.Jv. (mean)	1,41	3,98	4,33	4,21	3,99	3,94
	AjDL	0,20	0,43	0,91	0,78	0,68	0,53

B	lact. art. (mean)	1,43	3,92	4,21	4,36	4,11	4,0
	lact. Jv. (mean)	1,44	3,02	3,77	3,80	3,67	3,44
	AjDL	0,10	0,41	0,37	0,43	0,33	0,42

A'	lact.art. (mean)	0,77	0,91	1,21	1,12	0,99	0,87
	lact. Jv. (mean)	0,75	0,87	0,72	0,95	0,93	0,95
	AjDL	0,09	0,23	0,62	0,33	0,16	0,08

B'	lact.art. (mean)	0,75	4,07	4,87	5,23	4,98	4,77
	lact. Jv. (mean)	0,99	4,17	4,57	4,60	4,43	4,03
	AjDL	0,05	0,16	0,41	0,64	0,52	0,51

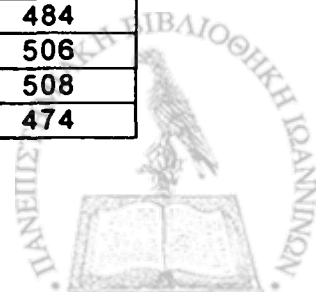
Παράγωγα υπεροξειδώσεως

Πίνακας Α₇. Συγκέντρωση M D A στο αίμα των πειραματόζων (Abs)

ΟΜΑΔΑ	Χρονική στιγμή του πειράματος					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
A	0,43	0,36	0,43	0,55	0,73	0,85
B	0,3	0,32	0,31	0,3	0,42	0,42
A'	0,36	0,36	0,32	0,34	0,38	0,38
B'	0,34	0,34	0,36	0,34	0,38	0,38

Πίνακας Α₈. Προσδιορισμός της διαμωτάσης του σουπεροξειδίου (SOD) στο αίμα των πειραματόζων σε pgr (10-12gr)

ΟΜΑΔΑ	Χρονική στιγμή του πειράματος					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
A	493	496	496	489	475	484
B	506	507	508	507	504	506
A'	502	501	508	505	498	508
B'	501	505	503	496	486	474



Πίνακας Α₉. Προσδιορισμός του ασκορβικού (Asc) σε μM στο αίμα των πειραματόζων

ΟΜΑΔΑ	Χρονική στιγμή του πειράματος					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
A	147	145	141	137	135	132
B	158	157	157	155	153	153
A'	149	153	152	152	154	147
B'	148	150	151	151	149	144

Πίνακας Α₁₀. Προσδιορισμός του δεύδροασκορβικού οξέος σε μM στο αίμα των πειραματόζων

ΟΜΑΔΑ	Χρονική στιγμή του πειράματος					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
A	136	136	138	139	140	143
B	132	131	133	134	134	136
A'	138	136	134	135	137	134
B'	142	139	139	139	138	140



Μικροσκοπικά ευρήματα

ομάδα ελέγχου

Στον φλοιό του εγκεφάλου στα νευρικά κύτταρα παρατηρούνται: Οξύφιλη μετατροπή του κυτταροπλάσματος, συρρίκνωση του κυτταρικού σώματος, ενδοκυτταροπλασματική κενοτοπίωση, πυκνωτικοί πυρήνες, πυρηνολυσία, κυτταροδιάλυση η οποία και δημιουργεί ευμεγέθη κενοτόπια.

Διευρυσμένα (διατεταμένα) περινευρικά και περιαγγειακά διαστήματα (Εικ.9).

Υπερχρωματικοί (πυκνωτικοί) πυρήνες τόσο των νευρογλοιακών όσο και των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Στην λευκή ουσία παρατηρούνται ετεροχρωματικοί πυρήνες νευρογλοιακών κυττάρων, διάταση των τριχοειδών και σε κάποιες θέσεις καταστροφή του τοιχώματος τους και κενοτοπίωση, η οποία όμως είναι μικρότερου βαθμού από εκείνη των κυτταρικών στιβάδων του φλοιού (Εικ. 1).

Στον ιππόκαμπο (αμμώνιο κέρας και οδοντωτή έλικα) παρατηρούνται οι ίδιες αλλοιώσεις με εκείνες του φλοιού, αλλά σε μικρότερο σχετικά βαθμό. Εντοπίζονται κυρίως στη στιβάδα των πυραμοειδών κυττάρων (CA₁, CA₃) αλλά και στην κοκκώδη στιβάδα της οδοντωτής έλικας (Εικ.5, Εικ.7).

Στην παρεγκεφαλίδα υπάρχουν έντονες αλλοιώσεις που είναι ιδιαίτερα εμφανείς στην στιβάδα των κυττάρων Purkinje, όπου μεγάλος αριθμός κυττάρων εμφανίζουν κυρίως χρωματολυσία (λύση της ουσίας Nissl), margination (δακτυλιοειδής, κενός πυρήνας) και κενοτοπίωση (Εικ.3).

Στους αιθουσαίους πυρήνες παρατηρείται συρρίκνωση των νευρώνων και margination

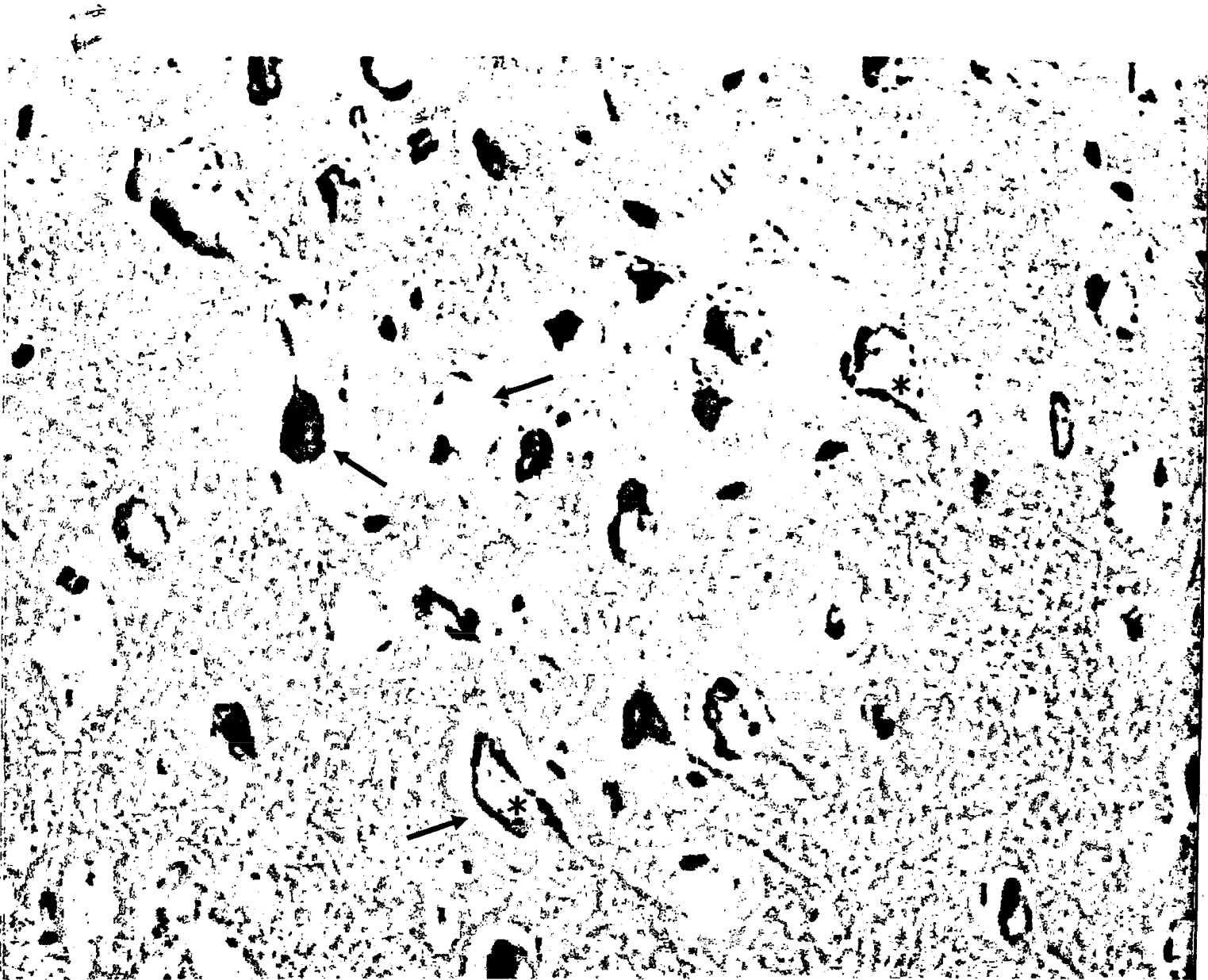
προστατευμένη με βιταμίνη Ε ομάδα

Στον φλοιό γενικά οι αλλοιώσεις που παρατηρούνται είναι μικρότερης έκτασης και έντασης από εκείνες των πειραματοζώων της ομάδας ελέγχου (μικρότερος αριθμός διαλυμένων νευρώνων, μικρότερο μέγεθος κενοτοπίων στο κυτταρόπλασμά τους) αν και υπάρχουν περιοχές όπου με "κοινή" παρατήρηση δεν φαίνεται να διαφέρουν από κάποιες περιοχές των controls. Για να εκτιμηθούν οι διαφορές θα πρέπει να γίνουν ποσοτικές και μορφομετρικές μετρήσεις σε αντίστοιχες. Πάντως η έσω στιβάδα των πυραμιδοειδών κυττάρων τόσο σ' αυτά της ομάδας ελέγχου όσο και στα προστατευμένα με την βιταμίνη Ε, φαίνεται να έχει τις πιο εκτεταμένες και τις πιο έντονες αλλοιώσεις από ότι οι άλλες στιβάδες. (Εικ.2 και Εικ.10)

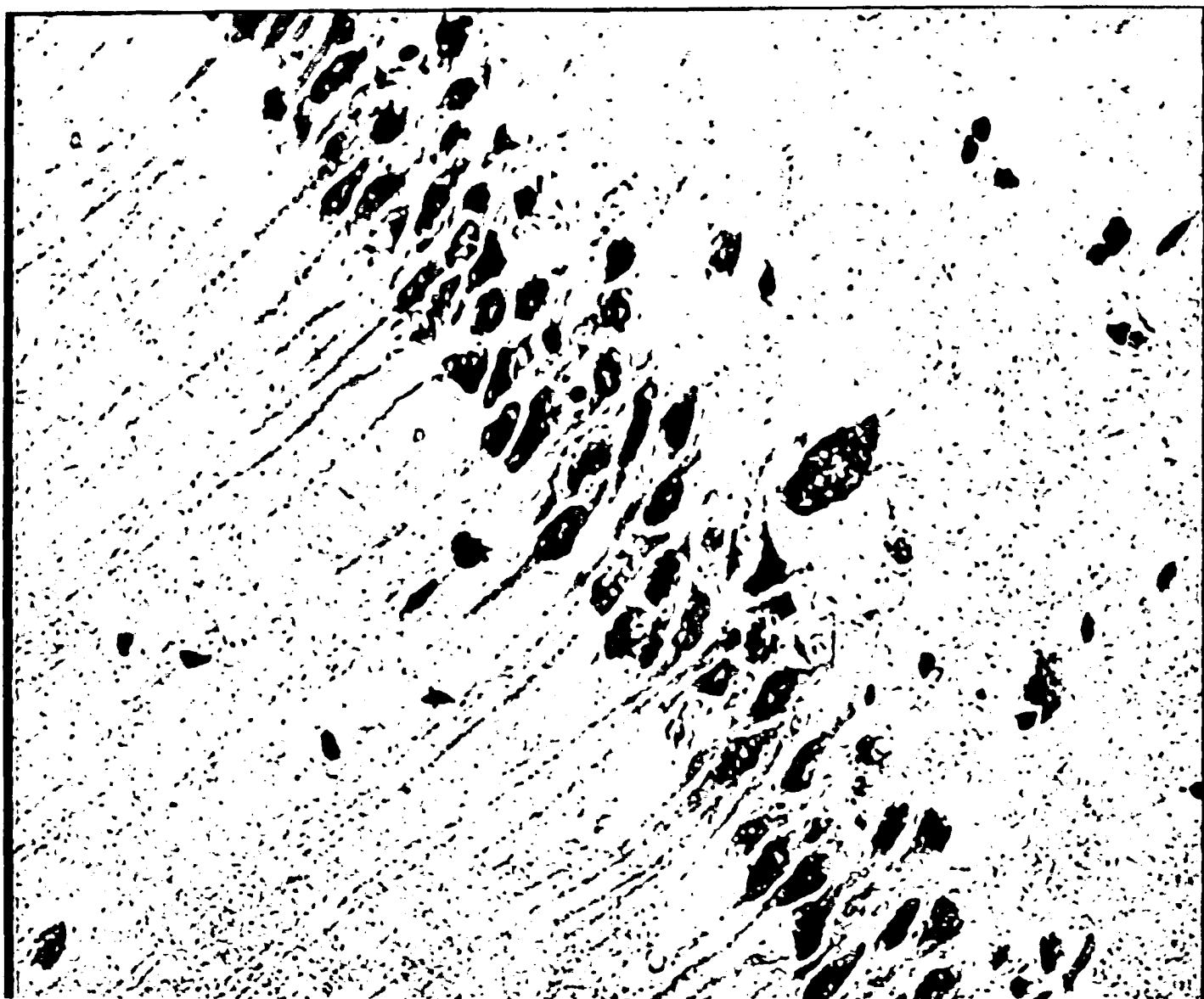
Στον ιππόκαμπο, στην παρεγκεφαλίδα και στους αιθουσαίους πυρήνες σε αντίθεση με τον φλοιό στις παραπάνω δομές οι αλλοιώσεις είναι σαφώς μεγαλύτερης έκτασης και έντασης. Οι αλλοιώσεις αυτές εντοπίζονται επίσης κυρίως στις αντίστοιχες με αυτά της ομάδας ελέγχου περιοχές (π.χ. στα pyramidalis και στα Purkinje cells) αλλά περιορίζονται κυρίως σε συρρίκνωση των κυττάρων με πυκνωτικούς πυρήνες (νευρώνων και νευρογλοιακών κυττάρων) και σε μικρότερου βαθμού κενοτοπίωση (Εικ.4, Εικ.6 και Εικ.8).



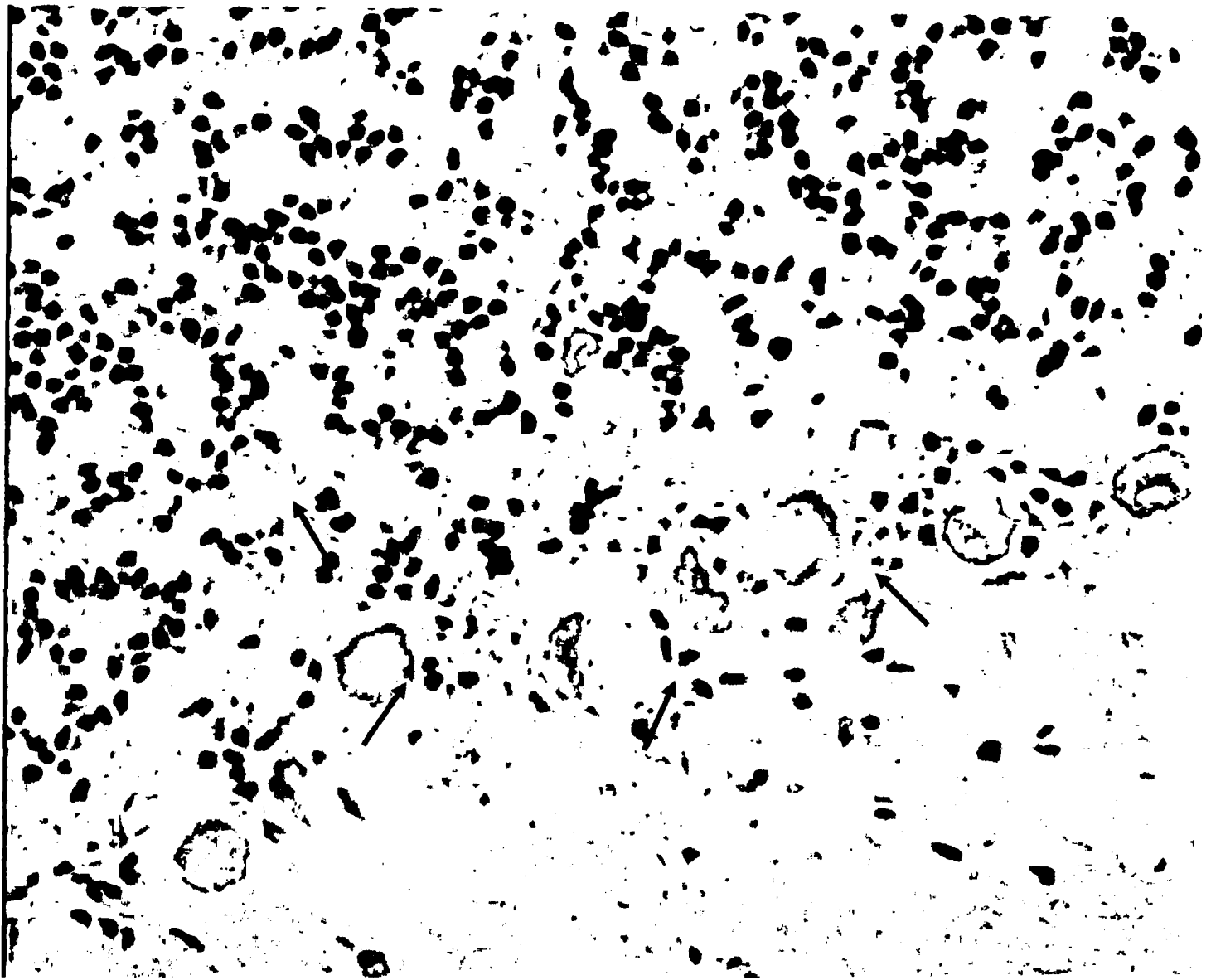
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΙΚΟΝΕΣ



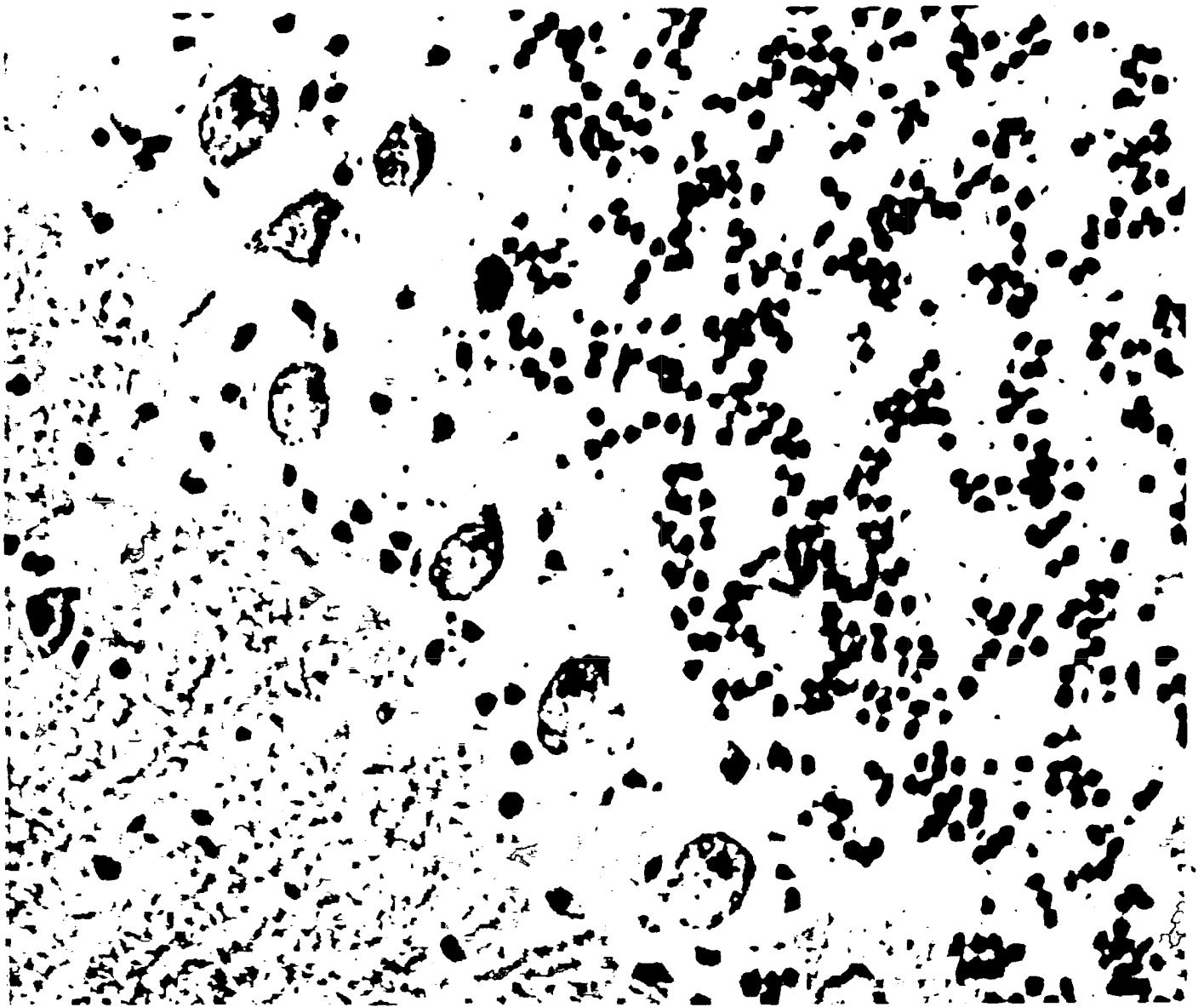
Εικ.1. Ιστολογική εικόνα επιμήκους τομής μετωπιαίου λοβού του εγκεφάλου κονίκλου της ομάδας ελέγχου, αντίστοιχα προς την έξω στιβάδα των πυραμοειδών κυττάρων. Παρατηρούνται ισχαιμικές αλλοιώσεις των νευρώνων: όπως οξύφιλη μετατροπή του κυτταροπλάσματος, συρρίκνωση νευρώνων και διεύρυνση του περικυτταρικού χώρου (→), κενοδοπιώδεις εκφυλίσεις νευρώνων. Διακρίνεται επίσης πυρηνική συρρίκνωση-πύκνωση, καρυορρηξία ή πυρηνολυσία (★) και πλήρης κυτταρόλυση (→) Αιματοξυλίνη/Ηωσίνη(A/E)
Μεγέθυνση φωτογραφίας 400X



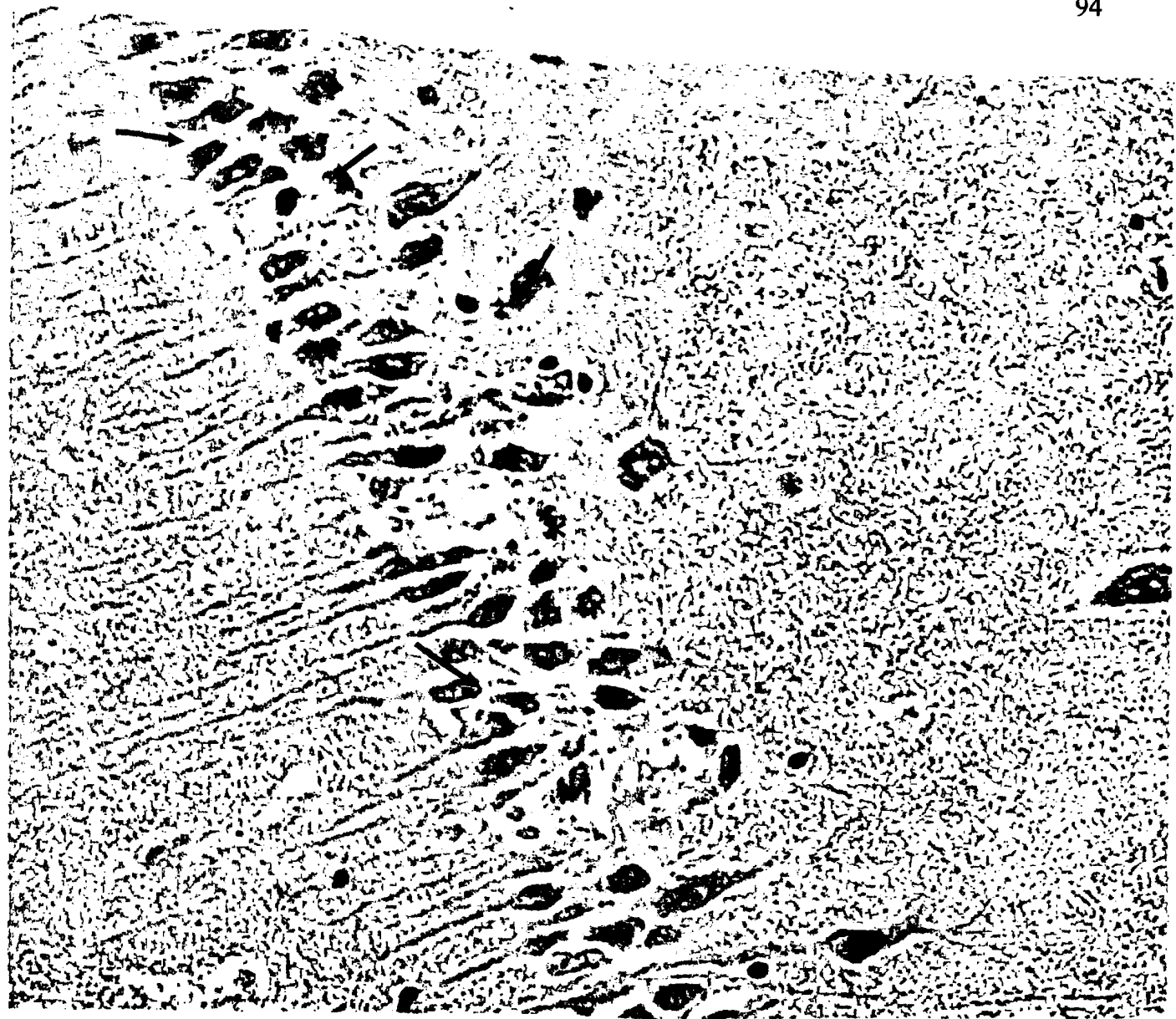
Εικ. 2. Ιστολογική εικόνα φλοιού, περιοχής αντίστοιχης εκείνης της εικόνας 5, πειραματόζωου της προστατευόμενης με βιταμίνη Ε ομάδας, στην οποία φαίνεται ότι οι ισχαιμικές αλλοιώσεις είναι περιορισμένες σε σύγκριση με εκείνες της εικ.5.
Α/ΕΧ800



Εικ.3. Επιμήκης τομή παρεγκεφαλίδας πειραματόζωου της ομάδας ελέγχου με ισχαιμικές αλλοιώσεις κυρίως στην στιβάδα Purkinje όπως συρρίκνωση του κυτταροπλάσματος, διεύρυνση περικυτταρικού χώρου(→), καρυορρηξία και κυτταρόλυση(→).
Α/Ε X800

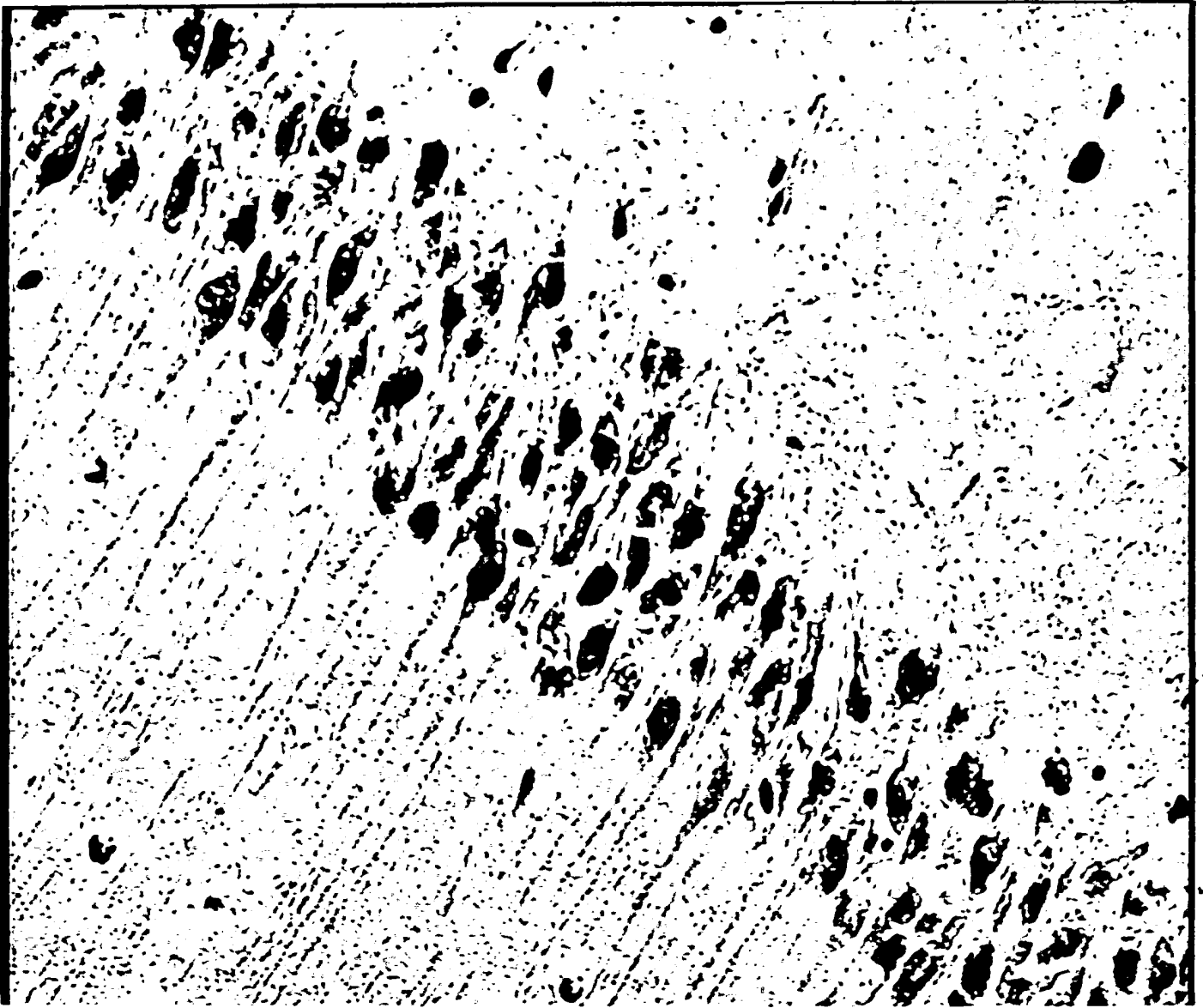


Εικ.4. Ιστολογική τομή παρεγκεφαλίδας, σε θέση αντίστοιχη εκείνης της εικ. 3, πειραματόζωου της προστατευμένης με βιτ. Ε ομάδας, όπου οι ισχαιμικές αλλοιώσεις είναι περιορισμένες σε σύγκριση με εκείνες της εικ. 3.
A/EX800

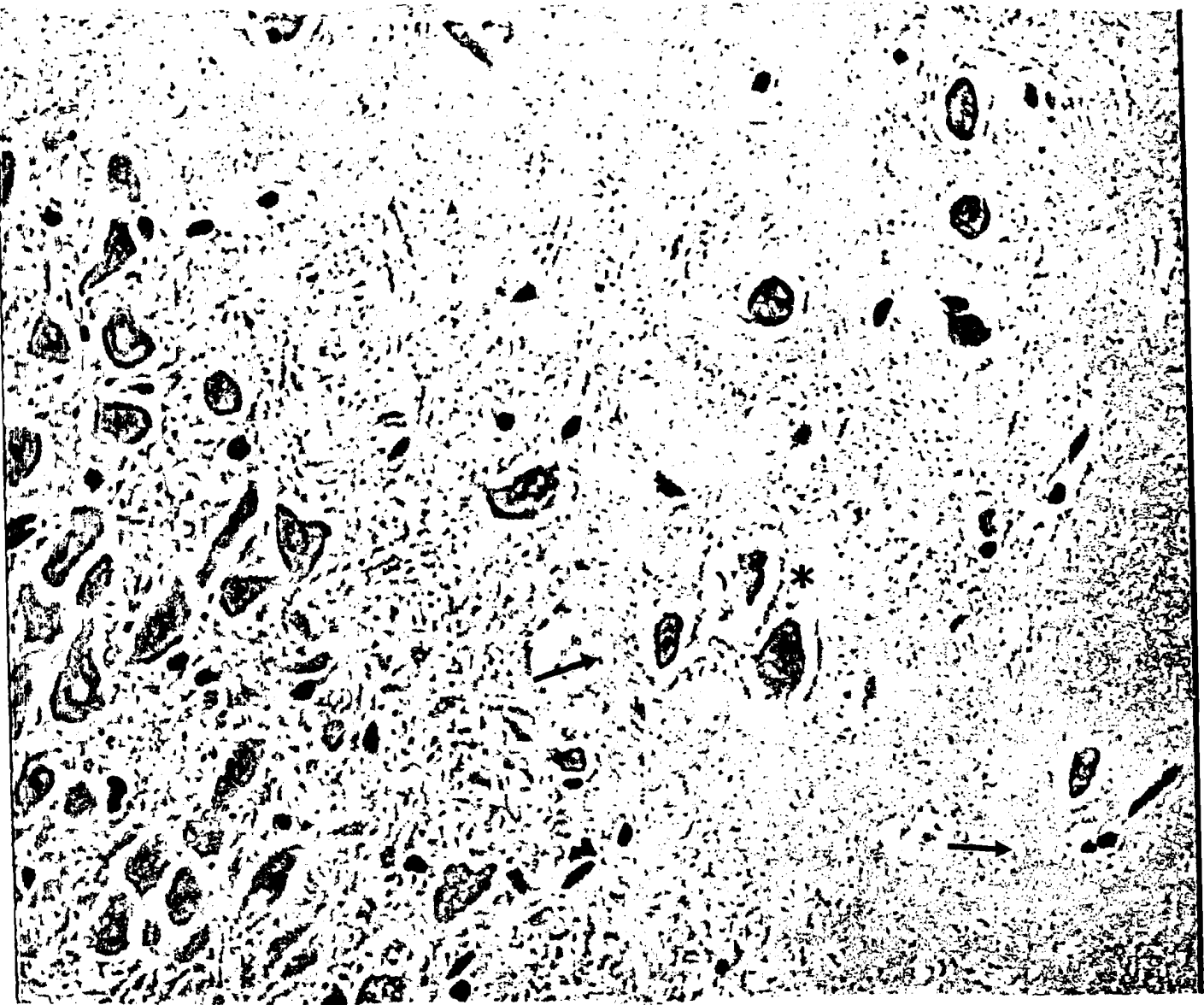


Εικ.5. Επιμήκης τομή του κοιλιακού τμήματος του ιπποκάμπου (πεδίο CA₁) αντίστοιχα προς τη στιβάδα των πυραμοειδών κυττάρων, σε πειραματόζωο της ομάδας ελέγχου. Παρατηρείται όπως διεύρυνση του περικυτταρικού χώρου και συρρίκνωση του κυτταροπλάσματος των νευρώνων (→), πύκνωση των πυρήνων (→) και κυτταρόλυση (★).

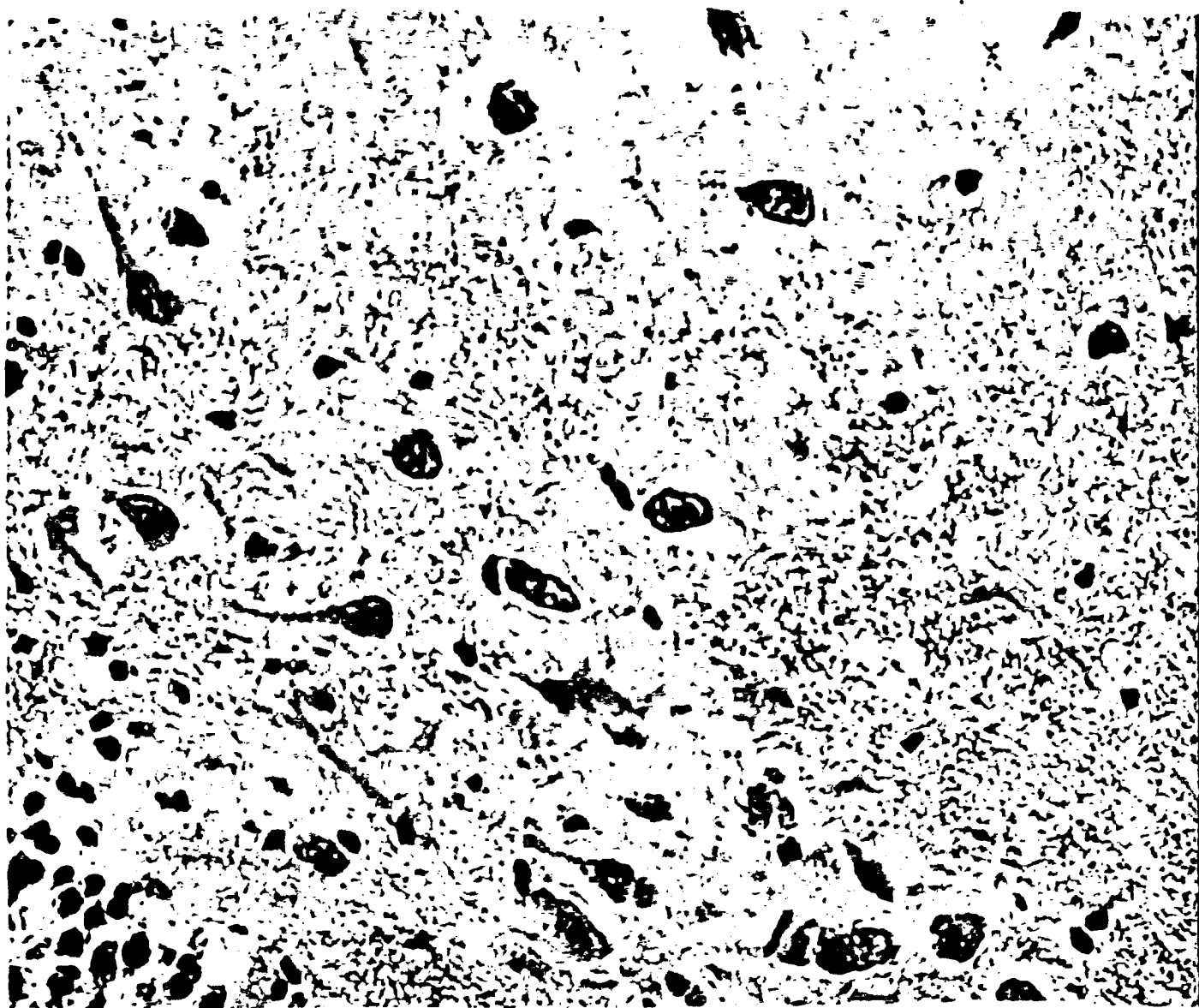
Α/ΕΧ800



Εικ.6. Ιστολογική εικόνα πηπόκαμπτου, περιοχής αντίστοιχης εκείνης της εικόνας 5, πειραματόζωου της προστατευόμενης με βιταμίνη Ε ομάδας, στην οποία φαίνεται ότι οι ισχαιμικές αλλοιώσεις είναι περιορισμένες σε σύγκριση με εκείνες της εικ.5.
Α/ΕΧ800



Εικ.7. Επιμήκης τομή στο ύψος της πύλης της οδοντωτής έλικας του κοιλιακού τμήματος του ιππόκαμπου (ομάδα ελέγχου) με ισχαιμικές αλλοιώσεις όπως διεύρυνση του περικυτταρικού χώρου και συρρίκνωση των νευρώνων (*), κενοτοπιώδη εκφύλιση νευρώνων και κυτταρόλυση (→).
Α/ΕΧ800



Εικ. 8. Ιστολογική εικόνα πύλης ιππόκαμπτου, περιοχής αντίστοιχης εκείνης της εικόνας 7, πειραματόζωου της προστατευμένης με βιταμίνη Ε ομάδας, όπου οι ισχαιμικές αλλοιώσεις είναι περιορισμένες σε σύγκριση με εκείνες της εικ.7.
Α/ΕΧ800



Εικ. 9. Επιμήκης τομή ενδορρινικού φλοιού πειραματόζωου της ομάδας ελέγχου, όπου φαίνονται εκτεταμένες ισχαιμικές αλλοιώσεις, όπως συρρίκνωση του κυτταροπλάσματος των νευρώνων (★), διεύρυνση του περικυττάριου χώρου, μικροκενοτοπιώδης εκφύλιση του κυτταροπλάσματος των νευρώνων (→), πυρηνική πύκνωση (U) και πλήρης κυτταρόλυση (→).

A/EX400



Εικ. 10. Περιοχή αντίστοιχης εκείνης της εικ. 9, πειραματόζωου της προστατευόμενης με βπ. Ε ομάδας, όπου οι αλλοιώσεις είναι περιορισμένες σε σύγκριση με εκείνες της εικ. 9.

Α/ΕΧ400

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες στους οποίους αναφέρονται οι απόλυτες τιμές των μετρήσεων, ο μέσος όρος (Mean), η σταθερή απόκλιση (Std. Deviation), η ελάχιστη η μέγιστη τιμή των μετρήσεων, και η διαφορά της μεταβλητής για κάθε ζεύγος τιμών (t-test for paired observations).

Για την είσοδο των τιμών στην βάση δεδομένων που διαμορφώθηκε, έγινε χρήση του πακέτου EXCELL ver for Windows XP, Microsoft Corp. Για την βιοστατική ανάλυση εφαρμόστηκαν οι κατάλληλες δοκιμασίες με την χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS ver 10 που έτρεξε σε πρόγραμμα Windows XP.

Ειδικότερα η στατιστική ανάλυση κάθε χρονικής στιγμής μεταξύ των 4 ομάδων πειραματοζώων έγινε με την μέθοδο ανάλυσης παραμέτρου analysis of Variance ANOVA, ενώ η ανάλυση των διακυμάνσεων στις καταγραφείσες 6 χρονικές στιγμές έγινε με την παραμετρική δοκιμασία της κατά ζεύγη ανάλυσης μεταξύ κάθε χρονικής στιγμής με την άλλη (student paired t-test). Κλασικά στατιστικά σημαντική διαφορά θεωρείτο η πιθανότητα απόρριψης της μηδενικής υπόθεσης κατά 95% ($p < 0.05$). Όμως σε παράρτημα αναφέρεται η ακριβής πιθανότητας (p) κάθε κρινόμενης ομάδας δεδομένων.

Με το πρόγραμμα Excell 5 επίσης κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα σε συνεχή γραμμή διακύμανσης ή μορφή μπάρας.

Οι παράμετροι τις οποίες επεξεργαστήκαμε ήταν:

- ✓ Αιμοδυναμικές παράμετροι (Μέση αρτηριακή πίεση - ΜΑΠ, Αριθμός σφύξεων/ min – ΣΦ) : Εικόνα: 11 και 12
- ✓ Αέρια αρτηριακού αίματος (PaO_2 , $PaCO_2$, CaO_2): Εικόνα: 13,15 και 19.
- ✓ Αέρια αίματος σφαγιτιδικού βολβού (PvO_2 , $PvCO_2$, CvO_2): Εικόνα: 14,16 και 20.
- ✓ Οξεοβασική ισορροπία (pH, έλλειμμα βάσεως – BE): Εικόνα: 22, 23, 24, και 25.
- ✓ Μέτρηση ηλεκτρολυτών (K, Na, ιονισμένου ασβεστίου): Εικόνα: 30, 31, 32, 33 και 34.
- ✓ Μέτρηση γλυκόζης αρτηριακού και αίματος σφαγιτιδικού βολβού: Εικόνα: 28 και 29
- ✓ Συγκέντρωση γαλακτικού στο αρτηριακό αίμα και στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού: Εικόνα: 26 και 27
- ✓ Δείκτες οξειδωτικού stress (Μαλονική Διαλδεύδη - MDA, Δισμουτάση του Σουπεροξειδίου – SOD, Ασκορβικό οξύ – Asc, Δεϋδροασκορβικό οξύ – DAA): Εικόνα: 36, 37, 38 και 39.

Μετά την παρουσίαση των μεταβολών των τιμών μεταξύ των διαφόρων φάσεων ακολουθεί και η γραφική παράσταση της μέσης τιμής της αντίστοιχης μεταβλητής.



ΑΙΜΟΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Μεταβολές της μέσης αρτηριακής πίεσης (ΜΑΠ)

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_2 και T_3 , T_2 και T_6 , T_3 και T_6 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

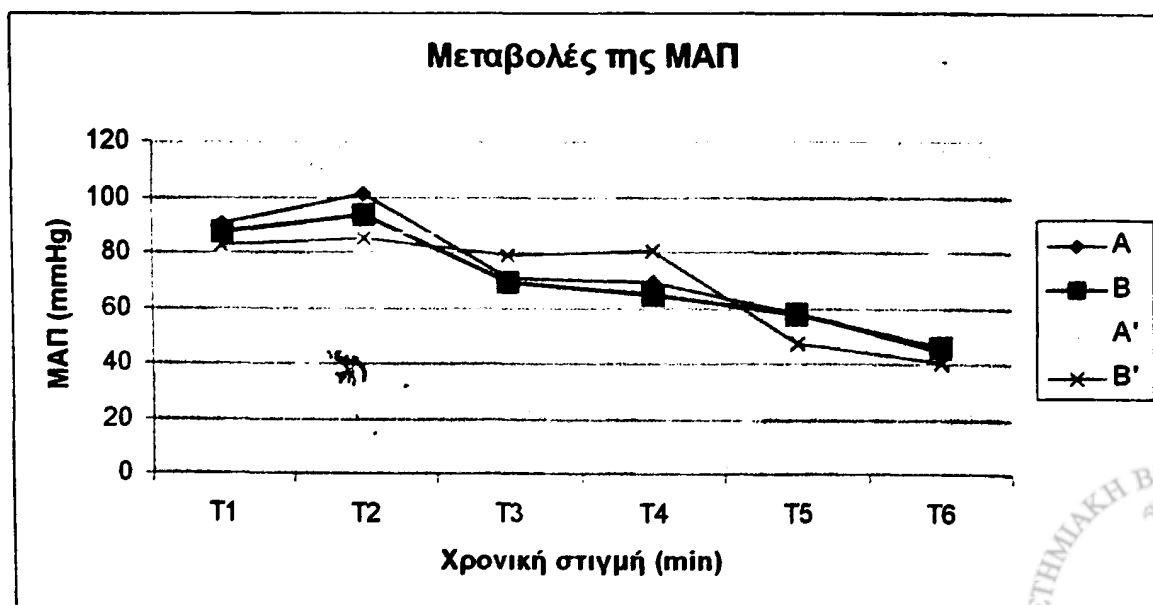
Στην ομάδα Β' στις ομάδες T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)															
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6	
A	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,274	0,002	0,000	0,003	0,000	0,004
B	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,000	0,000	0,003	0,000	0,001	0,001
A'	0,008	0,039	0,003	0,018	0,218	0,002	0,199	0,762	0,011	0,062	0,465	0,031	0,066	0,014	0,039	0,039
B'	0,295	0,129	0,207	0,000	0,000	0,035	0,014	0,000	0,000	0,455	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002

Παρ' όλο την αιμοδυναμική αποκατάσταση των πειραματόζων - επαναχορήγηση του αίματος, μετά την αφαιμάξη τους (για να πετύχουμε εγκεφαλική ισχαιμία), η αρτηριακή πίεση προοδευτικά ελαττώνονταν στατιστικώς σημαντικά ($p < 0,05$) σε όλες τις φάσεις (χρονικές στιγμές) του πειράματος και σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων πλην της ομάδας Α' όπου δεν έγινε ισχαιμία επαναιμάτωση (πιν:Β₁).

Πίνακας Β₁ Μεταβολές μέσης αρτηριακής πίεσης

ΟΜΑΔΑ	Μ.δρ.	Σταθ. αποκ.	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
A	90,5	1,8708	101,1	3,1885	70,8	2,4833	69,1	3,7639
B	87,28	3,0394	93,28	2,5635	69,28	2,2147	65,14	3,0783
A'	81,5	1,8708	87,66	2,8752	85,83	3,1885	90,33	3,559
B'	83	3,3912	85,6	2,4083	79	3,5355	80,8	2,5884



Εικόνα 11

Μεταβολές του αριθμού των σφύξεων

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_6 , T_2 και T_6 , T_3 και T_6 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' διαφορές μεταξύ των ομάδων T_2 και T_4 , T_3 και T_4 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Β' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,144	0,177	0,152	0,119	0,000	0,576	0,588	0,066	0,002	0,238	0,081	0,001	0,042	0,001	0,000
B	0,054	0,111	0,410	0,002	0,000	0,116	0,030	0,007	0,000	0,035	0,008	0,000	0,004	0,000	0,003
A'	0,448	0,443	0,359	0,979	0,170	0,716	0,007	0,446	0,095	0,003	0,307	0,059	0,270	0,651	0,009
B'	0,065	0,219	0,825	0,221	0,008	0,002	0,023	0,006	0,007	0,077	0,012	0,009	0,000	0,006	0,017

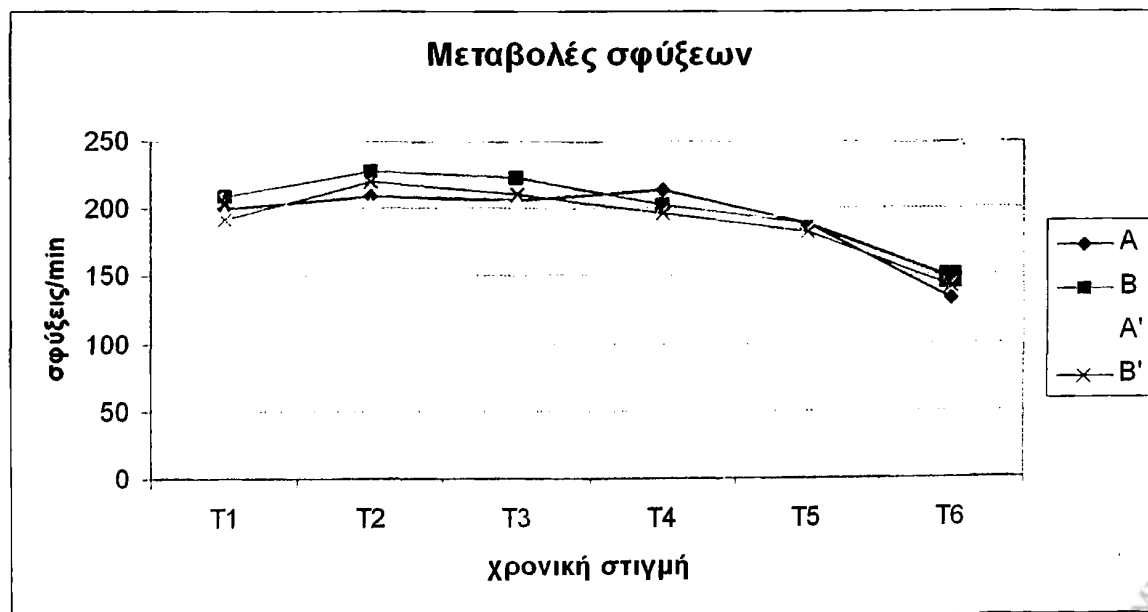
Παρ' όλο την αιμοδυναμική αποκατάσταση των πειραματόζων μετά την αφαιμάξη τους ο αριθμός των σφύξεων προοδευτικά αυξάνονταν, στατιστικώς σημαντικά ($p < 0,05$), αντιρροπιστικά με την πτώση της αρτηριακής πίεσης σε όλες τις χρονικές στιγμές

του πειράματος και σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων πλην της ομάδας Α' όπου δεν έγινε ισχαιμία επαναιμάτωση (πιν: Β₂).

Στις δύο τελευταίες φάσεις (χρονικές στιγμές) του πειράματος παρατηρείται μία σημαντική ελάττωση του αριθμού των σφύξεων (βραδυκαρδία)

Πίνακας Β₂. Μεταβολές του αριθμού των σφύξεων /min

ΟΜΑΔΑ	Μ.δρ.	Σταθ. αποκ.	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6					
A	200	10,3811	209	18,4147	206	11,4543	215	17,4976	190	8,2865	133	15,975
B	209	13,68	228	17,7241	223	12,9026	204	14,8484	189	16,7019	149	16,9509
A'	197	14,6526	204	12,1367	206	15,5563	188	9,5237	197	16,9558	185	14,9499
B'	193	13,5536	221	21,5244	211	18,9077	197	12,145	184	13,1072	143	14,3422



Εικόνα 12



ΑΕΡΙΑ ΑΙΜΑΤΟΣ

Μεταβολές της μερικής πίεσης του οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα (PaO_2)

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

Στην ομάδα Α' διαφορές μεταξύ T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_5 και T_6 .

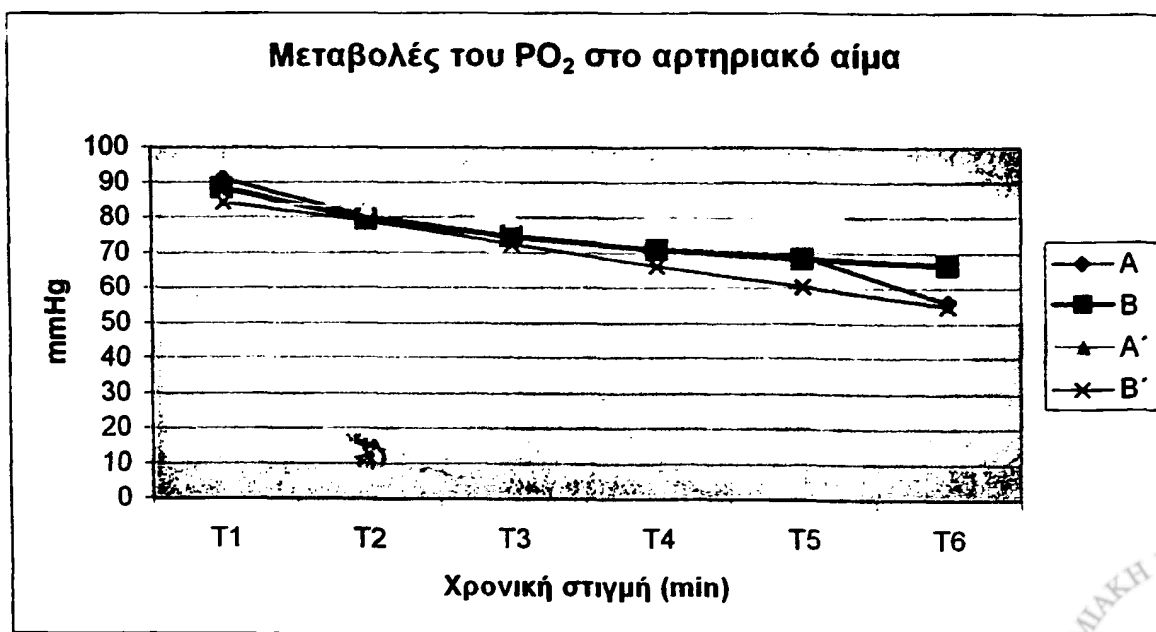
Στην ομάδα Β' στατιστικά σημαντικές διαφορές T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0.004	0.002	0.000	0.000	0.000	0.005	0.001	0.000	0.000	0.013	0.003	0.001	0.003	0.001	0.002
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
A'	0.135	0.008	0.039	0.124	0.047	0.004	0.080	0.255	0.075	0.765	0.533	0.454	0.349	0.408	0.031
B'	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.001	0.000	0.001	0.004	0.001	0.003	0.011	0.009	0.027	0.071

Η μερική πίεση του οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα (PaO_2) παρουσιάζει στατιστικά σημαντική, πτώση, σε όλες τις ομάδες των πειραματόζωων (πιν: Β₃), και σε όλες τις χρονικές στιγμές μετά την ισχαιμία, πλην της Α' (ομάδα όπου έγιναν όλοι οι χειρισμοί πλην ισχαιμίας /επαναιμάτωσης).

Πίνακας Β₁ Μεταβολές του PO_2 στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρ.	Σταθ.αποκ.	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6				
A	91	2.8541	80.4	3.5674	74.6	5.2207	71.21	3.8327	69.2	3.2137	56	6.5576
B	88.37	3.6805	79.38	3.6421	74.75	3.4063	70.85	2.7452	68.4	2.7368	66.74	2.5514
A'	84.7	3.3593	82.94	2.7291	79.38	2.2289	78.78	2.5665	80.26	2.6044	77.94	2.9126
B'	84.42	4.4606	79.02	5.0534	72.64	4.4875	66.3	3.2611	60.58	3.1713	55.04	7.5962



Εικόνα 13



Μεταβολές του O₂ στο σφαγιτιδικό βολβό

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₄ και T₅, T₅ και T₆ στην ομάδα A.

Στην ομάδα B υπήρξαν διαφορές μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₃ και T₄, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

Στην ομάδα A' υπήρξαν διαφορές μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₂ και T₃, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₆.

Στην ομάδα B' οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₅ και T₆.

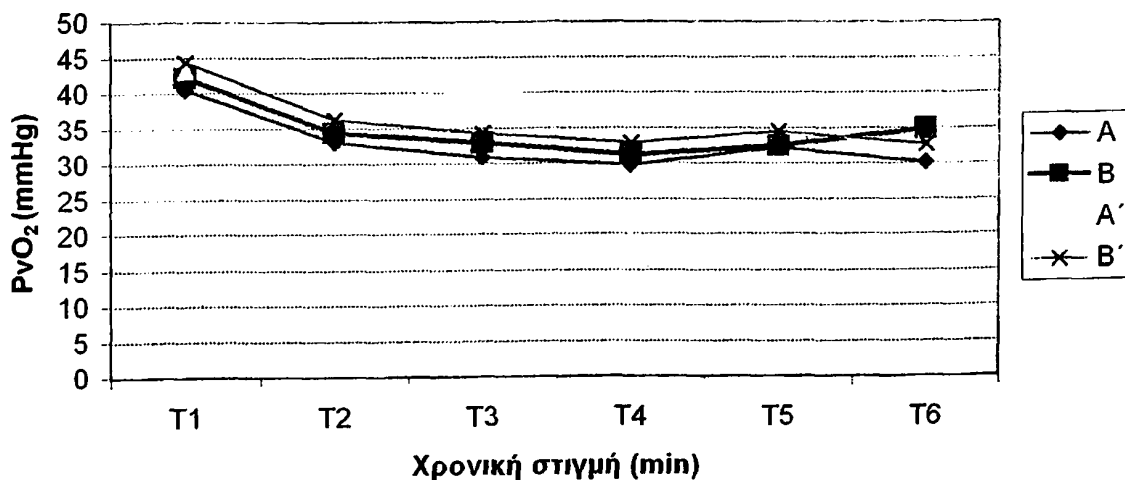
		Τιμή p (paired t-test)													
ΟΜΑΔΑ	T ₁ /T ₂	T ₁ /T ₃	T ₁ /T ₄	T ₁ /T ₅	T ₁ /T ₆	T ₂ /T ₃	T ₂ /T ₄	T ₂ /T ₅	T ₂ /T ₆	T ₃ /T ₄	T ₃ /T ₅	T ₃ /T ₆	T ₄ /T ₅	T ₄ /T ₆	T ₅ /T ₆
A	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,004	0,145	0,003	0,017	0,048	0,261	0,012	0,587	0,000
B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,012	0,687	0,001	0,262	0,096	0,006	0,006	0,015
A'	0,046	0,020	0,183	0,458	0,749	0,034	0,792	0,422	0,177	0,004	0,004	0,001	0,148	0,019	0,251
B'	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,001	0,046	0,004	0,004	0,809	0,025	0,046	0,595	0,030

Η μερική πίεση του οξυγόνου στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (PvO₂) παρουσιάζει στατιστικά σημαντική, πτώση, σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων (πιν: B₄), και σε όλες τις χρονικές στιγμές μετά την ισχαιμία, πλην της A' (ομάδα όπου έγιναν όλοι οι χειρισμοί πλην ισχαιμίας /επαναιμάτωσης).

Πίνακας B₄

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.αποκ.										
	T ₁		T ₂		T ₃		T ₄		T ₅		T ₆	
A	40,48	3,3193	33,06	2,1942	30,85	1,7536	29,71	1,8389	32,21	1,9333	30,13	1,8875
B	42,18	1,7696	34,41	1,8685	33	1,6961	31,17	1,3622	32,45	1,3963	34,85	1,8911
A'	43,16	1,2779	41,64	1,055	39,76	0,8735	41,42	1,3517	42,26	1,5209	42,84	1,0114
B'	44,38	1,1777	36,28	1,2911	34,32	1,1946	32,86	0,7436	34,5	0,7141	32,64	1,0015

Μεταβολές του PvO₂ στον σφαγιτιδικό βολβό



Εικόνα 14



Μεταβολές του CO₂ στο αρτηριακό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄ στην ομάδα A.

Στην ομάδα B οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

Στην ομάδα A' οι διαφορές που παρατηρήθηκαν ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

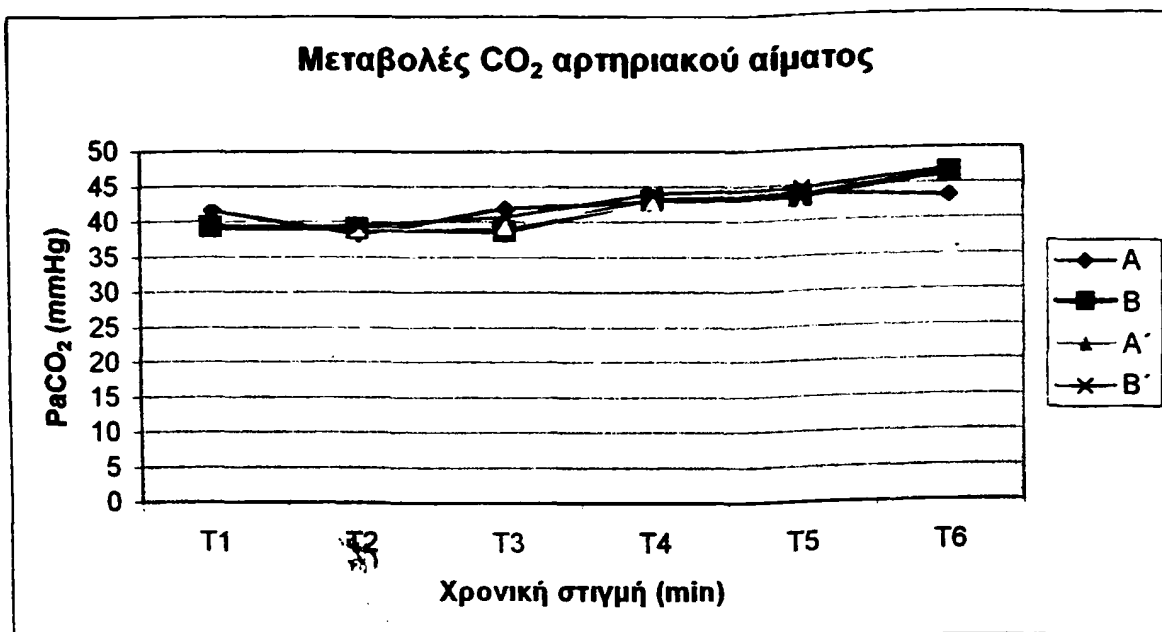
Στην ομάδα B' οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T ₁ /T ₂	T ₁ /T ₃	T ₁ /T ₄	T ₁ /T ₅	T ₁ /T ₆	T ₂ /T ₃	T ₂ /T ₄	T ₂ /T ₅	T ₂ /T ₆	T ₃ /T ₄	T ₃ /T ₅	T ₃ /T ₆	T ₄ /T ₅	T ₄ /T ₆	T ₅ /T ₆
A	0,144	0,684	0,159	0,220	0,359	0,028	0,013	0,000	0,006	0,020	0,089	0,266	0,302	0,774	0,156
B	0,866	0,520	0,024	0,031	0,002	0,744	0,027	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,542	0,001	0,003
A'	0,039	0,019	0,835	0,575	0,490	0,644	0,209	0,151	0,039	0,235	0,258	0,120	0,586	0,648	0,990
B'	0,662	0,235	0,017	0,015	0,008	0,516	0,047	0,003	0,005	0,001	0,037	0,002	0,664	0,026	0,023

Στην μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακος (CO₂) δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στο αρτηριακό σκέλος σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων και σε όλες τις χρονικές στιγμές του πειράματος (B₅).

Πίνακας B₅. Μεταβολή του CO₂ στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ. όρος	Σταθ.σπόκλ.	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆				
A	41,56	2,7681	38,21	2,3864	41,93	1,3616	42,89	1,1531	43,88	1,6933	43,14	2,0408
B	39,28	4,4772	39,04	2,2972	38,62	2,3266	43,04	2,0415	43,46	2,358	46,34	1,2451
A'	43,55	3,4541	38,94	2,082	39,31	2,3414	42,8	7,0601	41,86	5,6177	34,89	4,0993
B'	38,95	3,418	39,55	3,7332	40,79	1,2262	44,03	1,715	44,59	2,3105	46,99	1,3459



Εικόνα 15



Μεταβολές του CO₂ στο σφαγιτιδικό βολβό

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₅ στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅.

Στην ομάδα Α' μεταξύ των ομάδων T₁ και T₃, T₁ και T₅, T₂ και T₃, T₄ και T₅.

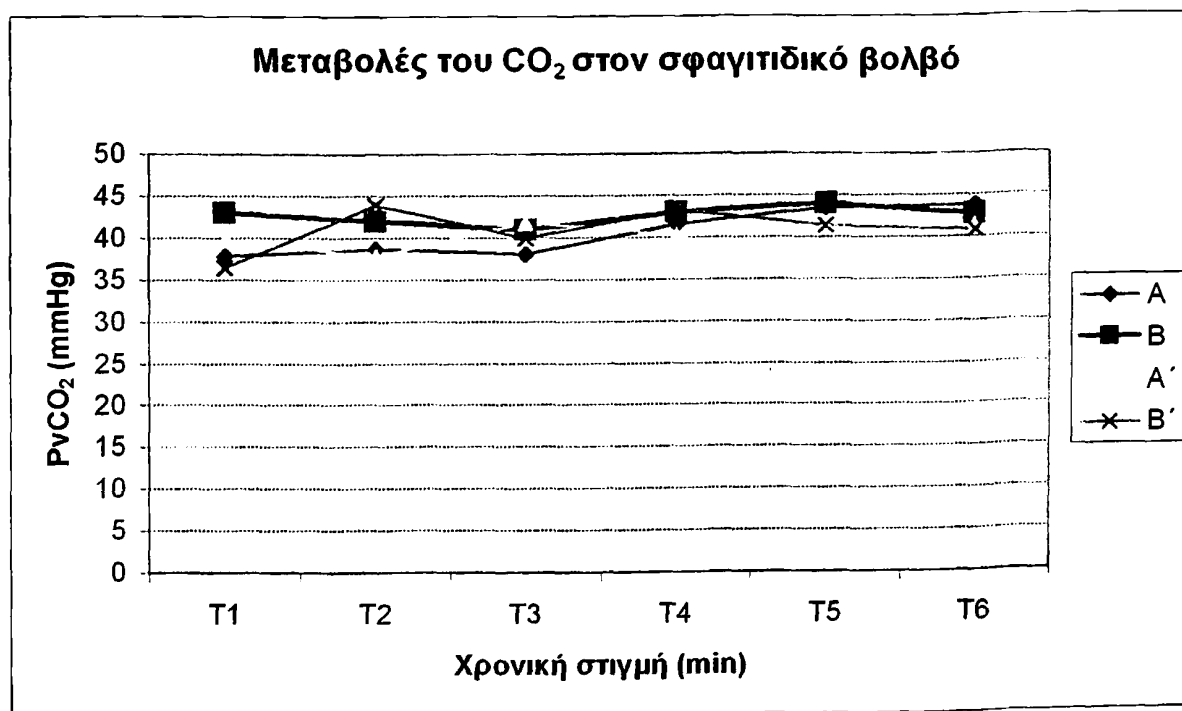
Στην ομάδα Β' μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₄ και T₆.

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T ₁ /T ₂	T ₁ /T ₃	T ₁ /T ₄	T ₁ /T ₅	T ₁ /T ₆	T ₂ /T ₃	T ₂ /T ₄	T ₂ /T ₅	T ₂ /T ₆	T ₃ /T ₄	T ₃ /T ₅	T ₃ /T ₆	T ₄ /T ₅	T ₄ /T ₆	T ₅ /T ₆
A	0,254	0,689	0,050	0,008	0,003	0,227	0,039	0,009	0,002	0,015	0,002	0,000	0,017	0,122	0,776
B	0,000	0,050	0,001	0,000	0,001	0,455	0,360	0,059	0,349	0,036	0,016	0,204	0,167	0,836	0,227
A'	0,159	0,022	0,282	0,011	0,216	0,018	0,155	0,077	0,056	0,052	0,460	0,419	0,035	0,331	0,938
B'	0,006	0,019	0,001	0,016	0,006	0,018	0,477	0,133	0,020	0,039	0,301	0,400	0,272	0,003	0,730

Στην μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακος (CO₂) δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού λόγω του ότι τα πειραματόζωα αερίζονταν μηχανικά και υπήρχε νορμοκαπνία (B₆).

Πίνακας Β₆. Μεταβολή του CO₂ στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

ΟΜΑΔΑ	Μ. όρος T ₁	Σταθ. απόκλ.	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆					
A	37,78	2,6137	38,66	1,6869	38,07	1,6008	41,52	2,2202	43,43	2,5301	43,82	1,3048
B	42,98	1,4731	42,04	1,7107	40,99	2,3946	42,98	1,2053	44	1,1561	42,71	1,6557
A'	39,82	1,4815	37,79	1,9249	41,87	0,7828	40,32	1,8459	41,29	1,8947	41,39	1,4769
B'	36,42	1,2458	43,92	2,3158	40,02	2,1885	43,19	0,7671	41,34	2,6955	40,78	1,2984



Εικόνα 16



Μεταβολές του Sat στο αρτηριακό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα Α μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Β οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

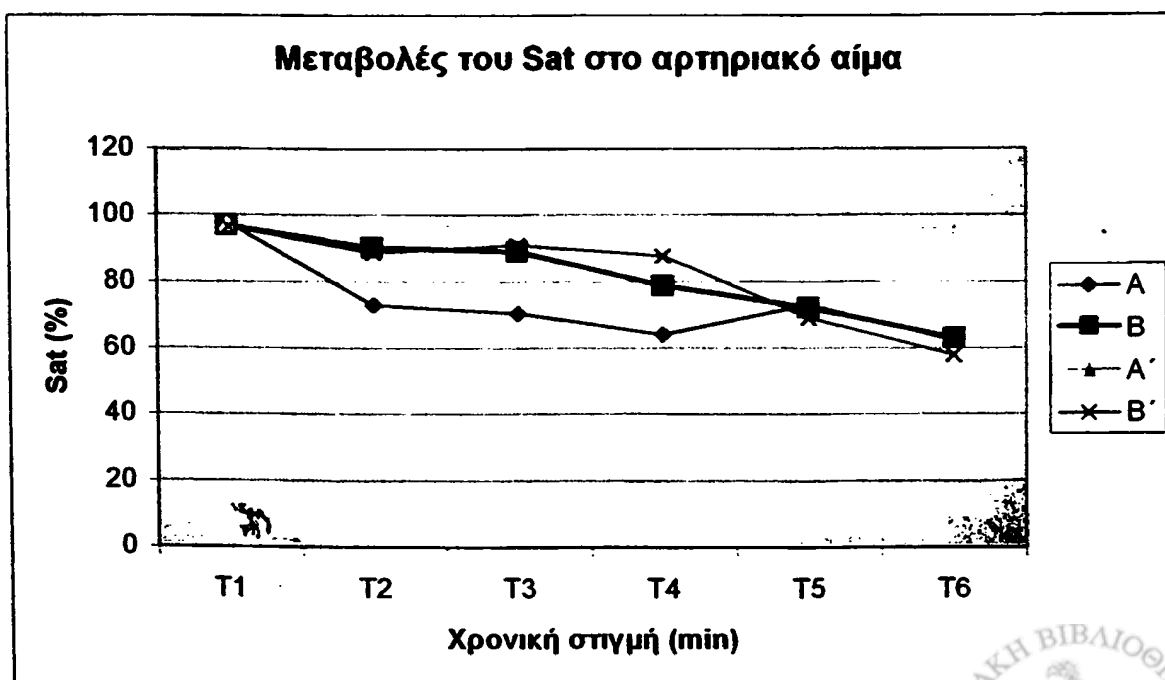
Στην ομάδα Β' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

	Τιμή p (paired t-test)														
ΟΜΑΔΑ	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,018	0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,001	0,089	0,013	0,010
B	0,002	0,001	0,000	0,000	0,000	0,197	0,003	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,001	0,019
A'	0,005	0,039	0,000	0,000	0,001	0,130	0,011	0,008	0,263	0,016	0,017	0,178	0,036	0,015	0,027
B'	0,011	0,013	0,004	0,000	0,000	0,012	0,739	0,005	0,001	0,170	0,002	0,000	0,001	0,000	0,001

Ο κορεσμός του αρτηριακού αίματος παρουσιάζει μεγάλη πτώση σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων πλην της Α' (πιν:Β₇).

Πίνακας Β₇. Μεταβολή του Sat στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ. όρος	Σταθ. απόκλ.	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
A	97,81	0,3488	72,93	3,5274	70,53	5,3695	64,03	4,3618
B	96,81	1,0319	90,27	2,8359	88,94	2,3642	78,64	4,3168
A'	97,44	1,0691	96,28	1,205	96,5	1,3096	94,34	1,3409
B'	96,56	0,6229	88,68	4,2921	91,1	3,2481	87,86	3,0121



Εικόνα 17



Μεταβολές του Sat στο σφαγιτιδικό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ και T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' ήταν μεταξύ των ομάδων T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

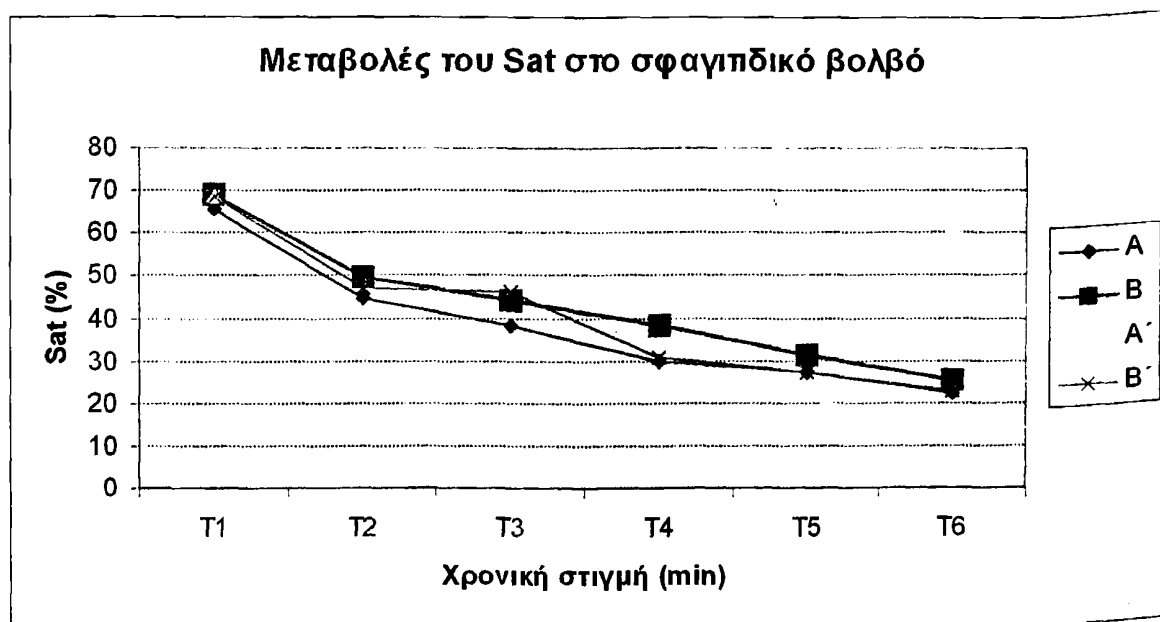
Στην ομάδα Β' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,000	0,003	0,003	0,001	0,039	0,001	0,000
B	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,079	0,083	0,003	0,001	0,182	0,003	0,000	0,009	0,001	0,000
A'	0,276	0,165	0,112	0,074	0,052	0,025	0,029	0,018	0,010	0,034	0,017	0,009	0,012	0,006	0,029
B'	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,285	0,001	0,001	0,000	0,001	0,001	0,000	0,039	0,002	0,006

Ο κορεσμός του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού παρουσιάζει μεγάλη πτώση σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων πλην της Α' (πιν:Β₈).

Πίνακας Β₈. Μεταβολή του Sat στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.										
	T_1		T_2		T_3		T_4		T_5		T_6	
A	65,48	4,0578	44,58	4,2367	38,48	5,7164	30,01	2,7382	27,53	0,975	22,16	0,7685
B	69,08	2,2682	49,64	8,7359	44,32	7,0712	38,15	6,9166	31,27	3,4052	25,41	2,1536
A'	68,36	2,2501	66,32	3,8081	65,26	4,0695	63,94	4,6328	62,16	5,4606	61,08	5,4531
B'	68,68	4,0578	47,36	4,2367	46,22	5,7164	30,94	2,7382	27,1	0,975	23,02	0,7685



Εικόνα 18



Μεταβολή του περιεχόμενου O₂ στο αρτηριακό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα Α μεταξύ των T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆

Στην ομάδα Β οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆

Στην ομάδα Α' ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆

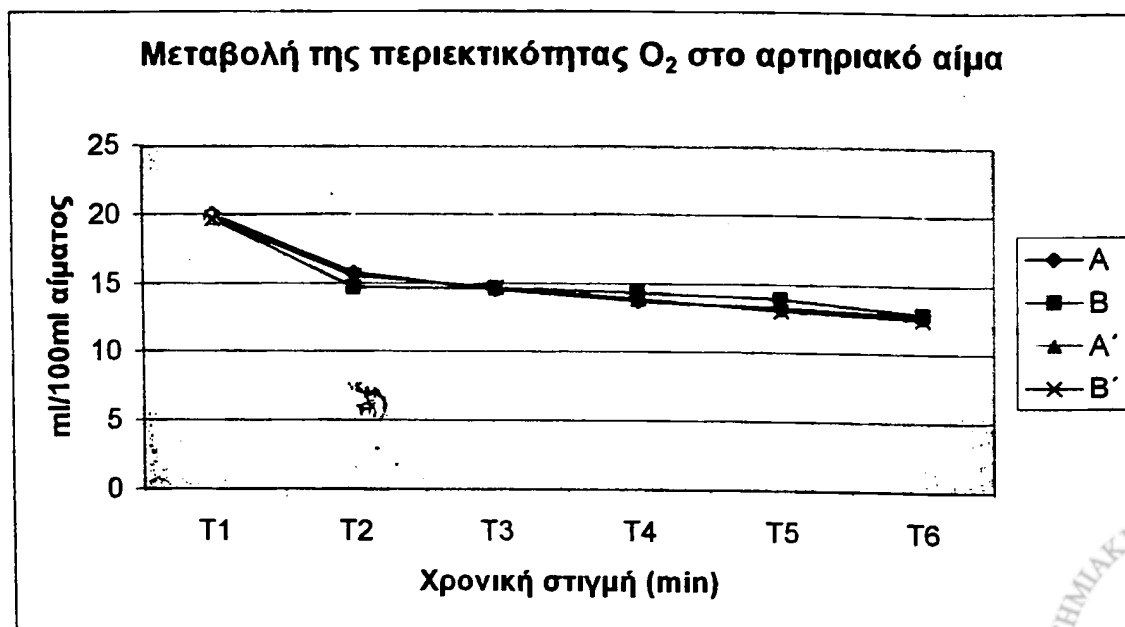
Στην ομάδα Β' μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₆.

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T ₁ /T ₂	T ₁ /T ₃	T ₁ /T ₄	T ₁ /T ₅	T ₁ /T ₆	T ₂ /T ₃	T ₂ /T ₄	T ₂ /T ₅	T ₂ /T ₆	T ₃ /T ₄	T ₃ /T ₅	T ₃ /T ₆	T ₄ /T ₅	T ₄ /T ₆	T ₅ /T ₆
A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,001	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,024
B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,898	0,104	0,008	0,001	0,014	0,001	0,000	0,002	0,002	0,007
A'	0,022	0,039	0,000	0,000	0,001	0,919	0,016	0,010	0,035	0,016	0,016	0,173	0,052	0,015	0,020
B'	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,002	0,003	0,001	0,002	0,015	0,004	0,097	0,011	0,051

Η περιεκτικότητα του οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα (CaO₂) ως αναμένετο παρουσίασε προοδευτική πτώση σε όλες τις χρονικές στιγμές του πειράματος και σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων (από 19,98 έως 12,58ml O₂/100ml αίματος) πλην των πειραματόζων της ομάδας Α' (Πιν:Β₉).

Πίνακας Β₉. Μεταβολές του περιεχόμενου O₂ στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.	T ₁		T ₂		T ₃		T ₄		T ₅		T ₆	
	T ₁		T ₁	T ₂	T ₁	T ₂	T ₁	T ₂	T ₁	T ₂	T ₁	T ₂	T ₁	T ₂
A	19,98	0,1479	15,75	0,1981	14,59	0,4473	13,78	0,5854	13,26	0,5326	12,80	0,5253		
B	19,76	0,2119	14,74	0,4621	14,7	0,6289	14,10	0,6479	13,61	0,5671	12,97	0,4469		
A'	19,89	0,2187	19,69	0,1858	19,7	0,268	19,26	0,2736	19,40	0,2448	19,58	0,1517		
B'	19,71	0,1246	15,58	0,1084	14,71	0,5621	13,90	0,5654	13,11	0,8938	12,58	0,848		



Εικόνα 19



Μεταβολές του περιεχομένου O₂ στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα A μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₄ και T₅.

Στην ομάδα B οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅.

Στην ομάδα A' ήταν μεταξύ των ομάδων T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

Στην ομάδα B' μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

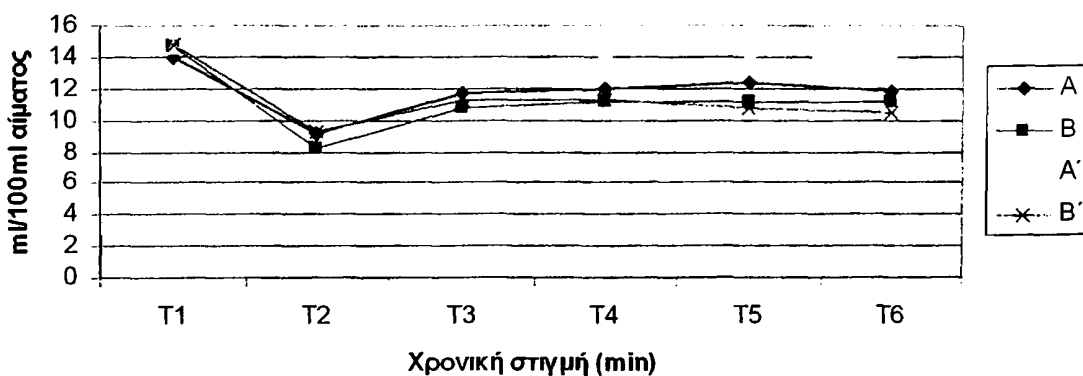
ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T ₁ /T ₂	T ₁ /T ₃	T ₁ /T ₄	T ₁ /T ₅	T ₁ /T ₆	T ₂ /T ₃	T ₂ /T ₄	T ₂ /T ₅	T ₂ /T ₆	T ₃ /T ₄	T ₃ /T ₅	T ₃ /T ₆	T ₄ /T ₅	T ₄ /T ₆	T ₅ /T ₆
A	0,000	0,001	0,002	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,758	0,002	0,419	0,084
B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,012	0,018	0,069	0,881	0,911	0,788
A'	0,928	0,675	0,204	0,114	0,059	0,822	0,071	0,035	0,012	0,177	0,085	0,051	0,082	0,021	0,018
B'	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,005	0,003	0,004	0,004	0,673	0,042	0,035	0,006	0,004	0,036

Η περιεκτικότητα του οξυγόνου στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (CvO₂) ως αναμένετο παρουσίασε προοδευτική πτώση σε όλες τις χρονικές στιγμές του πειράματος και σε όλες τις ομάδες των πειραματόζωνων (από 14,83 έως 8,21ml O₂ /100ml αίματος) πλην των πειραματόζωνων της ομάδας A' (Πιν:Β₁₀), εξ αιτίας των αντίστοιχων μεταβολών του P_vO₂ και του S_{at}O₂.

Πίνακας Β₁₀. Μεταβολή του περιεχομένου O₂ στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.														
	T ₁		T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₅	T ₆			
A	13,92	0,5335	9,17	0,6618	11,70	0,8719	12,02	0,8783	12,39	0,871	11,79	0,6365				
B	14,64	0,8074	8,21	0,8781	10,82	0,8943	11,19	0,8582	11,16	0,8771	11,21	0,572				
A'	14,63	1,0867	14,65	0,8545	14,71	1,1669	14,34	0,7982	14,14	0,7255	14,04	0,7353				
B'	14,83	0,8639	9,278	1,1542	11,36	0,4346	11,27	0,7432	10,78	0,6999	10,53	0,8595				

Μεταβολή της περιεκτικότητας του O₂ στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού



Μεταβολή του περιεχόμενου O₂ στο αρτηριοσφαγιτιδικό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα Α μεταξύ των ομάδων T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆.

Στην ομάδα Β οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

Στην ομάδα Α' ήταν μεταξύ των ομάδων T₂ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

Στην ομάδα Β' μεταξύ των ομάδων T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄.

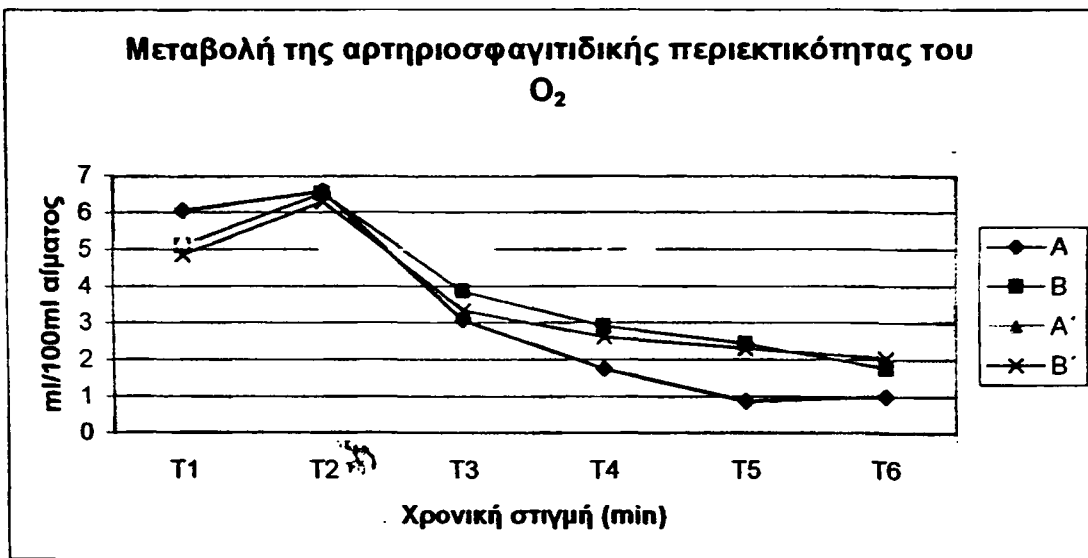
Μεταβολή του περιεχόμενου O₂ στο αρτηριοσφαγιτιδικό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T ₁ /T ₂	T ₁ /T ₃	T ₁ /T ₄	T ₁ /T ₅	T ₁ /T ₆	T ₂ /T ₃	T ₂ /T ₄	T ₂ /T ₅	T ₂ /T ₆	T ₃ /T ₄	T ₃ /T ₅	T ₃ /T ₆	T ₄ /T ₅	T ₄ /T ₆	T ₅ /T ₆
A	0,158	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,007	0,001	0,003	0,000	0,013	0,604
B	0,015	0,047	0,003	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,004	0,001	0,000	0,026	0,012	0,032
A'	0,160	0,272	0,141	0,975	0,249	0,847	0,346	0,266	0,026	0,782	0,351	0,087	0,003	0,000	0,005
B'	0,053	0,083	0,020	0,016	0,015	0,002	0,000	0,000	0,000	0,046	0,148	0,081	0,451	0,143	0,166

Η αρτηριοσφαγιτιδική διαφορά της περιεκτικότητας του οξυγόνου (CaO₂-CvO₂) παρουσίασε στην αρχή T₁-T₂ στατιστικά σημαντική αύξηση (από 4,87 έως 6,302ml/100ml) (πιν:Β₁₁), ενώ στην συνέχεια παρουσίασε προοδευτική μείωση και στατιστικά σημαντική σε όλες τις ομάδες.

Πίνακας Β₁₁. Μεταβολή του περιεχόμενου O₂ στο αρτηριοσφαγιτιδικό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ. όρος	Σταθ. απόκλ.	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆					
A	6,06	0,5579	6,58	0,7241	3,08	1,1529	1,75	0,422	0,87	0,4721	1,01	0,6269
B	5,12	0,8581	6,53	0,6876	3,87	1,1402	2,91	1,2773	2,44	1,0974	1,76	0,7041
A'	5,25	0,8929	5,04	0,7154	4,98	0,9707	4,91	0,5578	5,26	0,4875	5,53	0,5858
B'	4,87	0,8318	6,30	1,1954	3,35	0,8987	2,63	1,0078	2,32	1,5606	2,04	1,5618



Εικόνα 21



Μεταβολές του ΡΗ του αρτηριακού αίματος

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β μεταξύ των T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

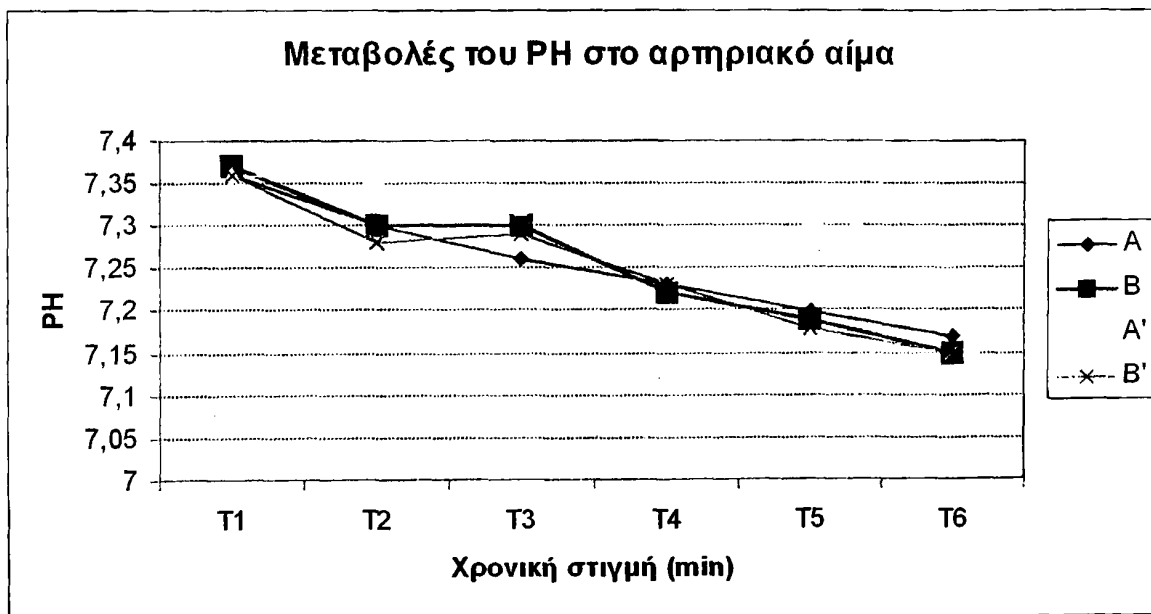
Στην ομάδα Β' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,001	0,010
B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,659	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000
A'	0,120	0,001	0,006	0,053	0,011	0,049	0,000	0,044	0,004	0,280	0,552	0,092	1,000	0,040	0,003
B'	0,004	0,004	0,000	0,000	0,000	0,395	0,009	0,003	0,001	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,002

Σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων όπου έγιναν οι χειρισμοί (I/R) παρατηρήθηκε σταδιακή πτώση του ΡΗ στο αρτηριακό αίμα με στατιστικά σημαντική διαφορά (πιν: Β₁₂).

Πίνακας Β₁₂. Μεταβολές του ΡΗ στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ. απόκλ.													
	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6	T_2/T_1	T_3/T_1	T_4/T_1	T_5/T_1	T_6/T_1	T_3/T_2	T_4/T_2	T_5/T_2	T_6/T_2
A	7,36	2,95E-02	7,3	3,03E-02	7,26	2,73E-02	7,23	1,87E-02	7,20	2,28E-02	7,17	2,26E-02			
B	7,37	1,68E-02	7,3	1,62E-02	7,3	1,91E-02	7,22	1,38E-02	7,19	1,35E-02	7,15	1,40E-02			
A'	7,36	1,30E-02	7,35	1,64E-02	7,32	2,07E-02	7,31	2,28E-02	7,31	4,44E-02	7,28	4,03E-02			
B'	7,36	1,41E-02	7,28	2,35E-02	7,29	2,41E-02	7,23	1,87E-02	7,18	3,03E-02	7,15	2,61E-02			



Εικόνα 22



Μεταβολές του ΡΗ του σφαγιτιδικού βολβού

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 .

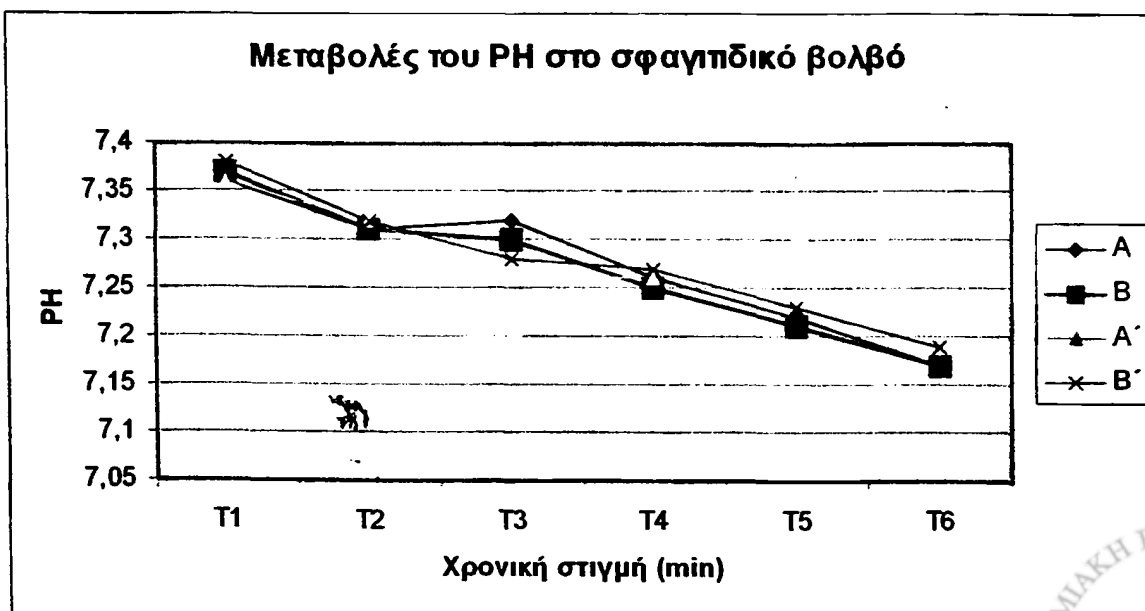
Στην ομάδα Β' παρατηρήθηκαν στατιστικές διαφορές μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,000	0,004	0,002	0,000	0,000	0,341	0,011	0,001	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
B	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,143	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
A'	0,002	0,000	0,009	0,096	0,018	0,000	0,022	0,482	0,091	0,915	0,204	0,378	0,178	0,278	0,280
B'	0,001	0,004	0,000	0,000	0,000	0,086	0,012	0,003	0,000	0,639	0,106	0,011	0,000	0,002	0,013

Σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων όπου έγιναν οι χειρισμοί (I/R) παρατηρήθηκε σταδιακή πτώση του ΡΗ στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού και σε όλες τις χρονικές στιγμές του πειράματος με στατιστικά σημαντική διαφορά (πιν:Β₁₃).

Πίνακας Β₁₃. Μεταβολές του ρΗ στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6				
A	7,36	2,42E-02	7,31	1,87E-02	7,32	2,50E-02	7,26	3,01E-02	7,22	2,83E-02	7,17	1,72E-02
B	7,37	2,64E-02	7,31	2,34E-02	7,3	3,13E-02	7,25	1,99E-02	7,21	1,11E-02	7,17	1,41E-02
A'	7,36	3,74E-02	7,32	2,83E-02	7,26	1,86E-02	7,26	3,62E-02	7,30	6,33E-02	7,28	4,15E-02
B'	7,38	1,95E-02	7,32	2,74E-02	7,28	4,00E-02	7,27	1,23E-02	7,23	1,14E-02	7,19	1,92E-02



Εικόνα 23



Μεταβολές του ΒΕ στο αρτηριακό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα Α μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Β οι διαφορές ήταν μεταξύ των T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_4 και T_5 .

Στην ομάδα Α' μεταξύ των T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_6 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

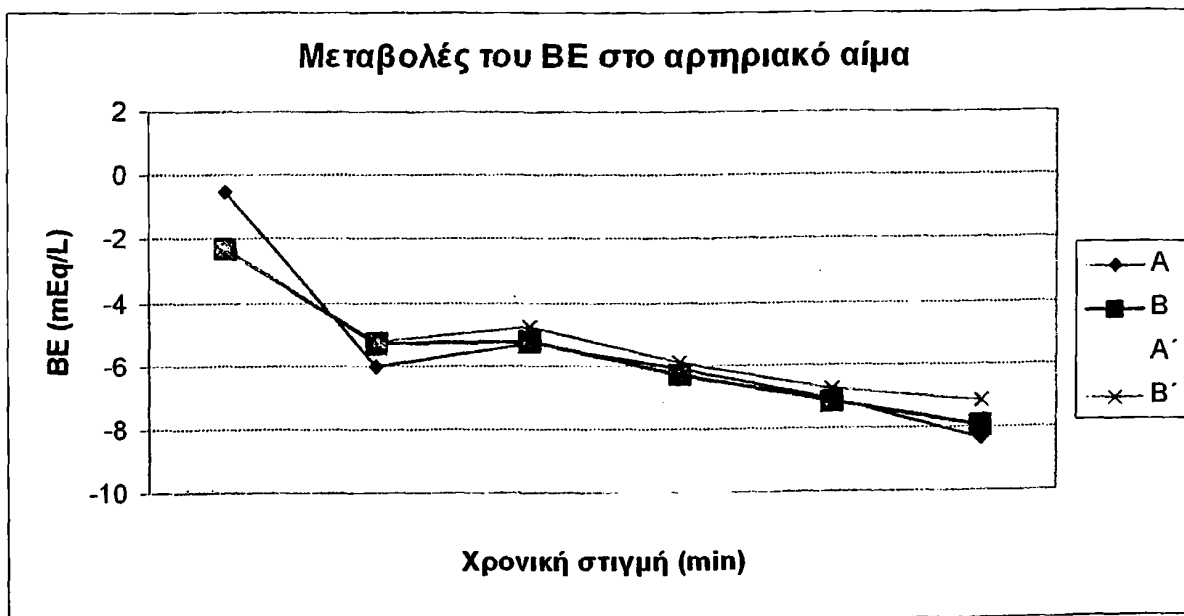
Στην ομάδα Β' ήταν μεταξύ των T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,002	0,001	0,001	0,027	0,003	0,001	0,001	0,002	0,015
B	0,048	0,036	0,729	0,638	0,627	0,031	0,539	0,496	0,704	0,132	0,088	0,839	0,000	0,630	0,449
A'	0,008	0,002	0,005	0,016	0,004	0,004	0,074	0,239	0,005	0,718	0,505	0,157	0,474	0,048	0,008
B'	0,036	0,014	0,005	0,004	0,001	0,017	0,061	0,002	0,001	0,263	0,008	0,002	0,030	0,005	0,006

Το έλλειμμα βάσεως (ΒΕ) στο αρτηριακό αίμα παρουσίασε σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων όπου έγιναν οι χειρισμοί (I/R) και σε όλες τις χρονικές στιγμές του πειράματος, αύξηση αντίστοιχα. (πιν:Β₁₄).

Πίνακας Β₁₄. Μεταβολές του ελλείμματος βάσεως στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.										
	T_1		T_2		T_3		T_4		T_5		T_6	
A	-0,5	2,6298	-6	0,7099	-5,31	0,7111	-6,08	0,5076	-7,05	0,5167	-8,31	0,5742
B	2,33	1,5716	-5,3	0,6164	-5,21	0,3934	-6,31	0,5146	-7,15	0,6729	-7,92	0,5619
A'	0,7	1,9352	-2,74	0,8385	-3,74	1,0431	-3,58	0,9149	-3,34	1,1589	-4,58	0,8672
B'	-2,38	2,3167	-5,22	0,4658	-4,76	0,5177	-5,86	0,3286	-6,72	0,249	-7,14	0,3507



Εικόνα 24



Μεταβολές του ΒΕ του σφαγιτιδικού βολβού

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β παρατηρήθηκαν οι εξής διαφορές T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_5 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 .

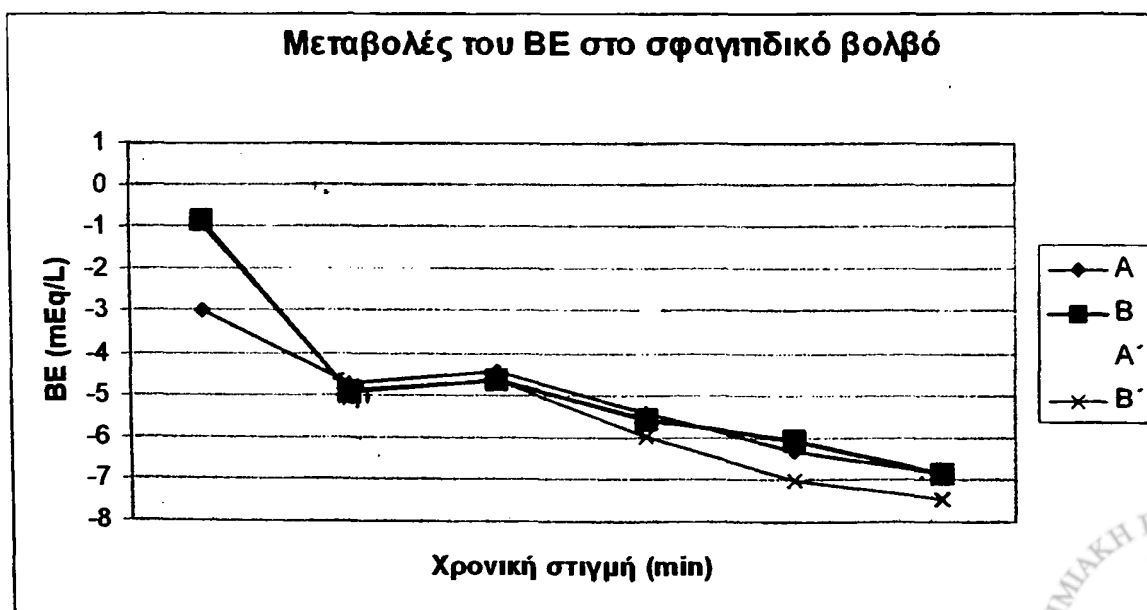
Στην ομάδα Β' ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,000	0,002	0,002	0,000	0,000	0,059	0,092	0,006	0,004	0,017	0,002	0,001	0,000	0,000	0,001
B	0,004	0,005	0,001	0,000	0,000	0,151	0,114	0,026	0,001	0,004	0,001	0,000	0,011	0,000	0,000
A'	0,030	0,171	0,022	0,011	0,039	0,007	0,437	0,030	0,388	0,045	0,011	0,049	0,010	0,790	0,225
B'	0,016	0,013	0,005	0,004	0,003	0,290	0,002	0,002	0,001	0,007	0,001	0,001	0,040	0,011	0,001

Το έλλειμμα βάσεως στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσιάζει επίσης αύξηση (πιν:Β₁₅) σε όλες τις χρονικές φάσεις του πειράματος και σε όλες οι ομάδες των πειραματόζων πλην της ομάδας Α'.

Πίνακας Β₁₅. Μεταβολές του ελλείμματος βάσεως στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σ.απόκ	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
A	-2,96	0,925	-4,71	0,5419	-4,43	0,4457	-5,43	0,6683
B	-0,82	2,286	-4,92	0,6651	-4,6	0,3367	-5,58	0,652
A'	0,44	2,3448	-2,62	1,0402	-1,34	1,5405	-2,92	0,7463
B'	-0,92	2,5034	-4,88	0,6979	-4,62	0,8643	-5,98	0,7844



Εικόνα 25



Μεταβολή του γαλακτικού οξέος στο αρτηριακό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα A μεταξύ των T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₆.

Στην ομάδα B οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅.

Στην ομάδα A' ήταν μόνο μεταξύ των ομάδων T₂ και T₃.

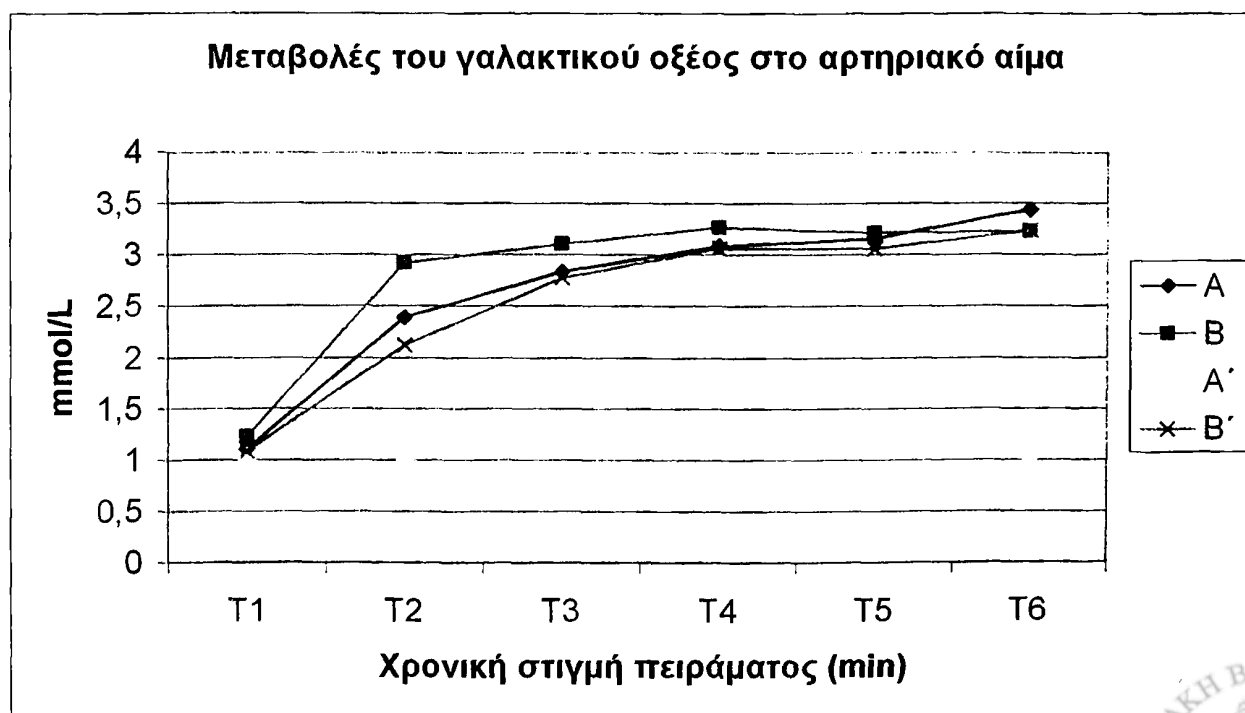
Στην ομάδα B' μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₃, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅.

	Τιμή p (paired t-test)														
ΟΜΑΔΑ	T ₁ /T ₂	T ₁ /T ₃	T ₁ /T ₄	T ₁ /T ₅	T ₁ /T ₆	T ₂ /T ₃	T ₂ /T ₄	T ₂ /T ₅	T ₂ /T ₆	T ₃ /T ₄	T ₃ /T ₅	T ₃ /T ₆	T ₄ /T ₅	T ₄ /T ₆	T ₅ /T ₆
A	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,014	0,011	0,008	0,012	0,014	0,008	0,014	0,204	0,024	0,068
B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,004	0,013	0,023	0,135	0,323	0,641	0,757
A'	0,941	0,321	0,403	0,209	0,810	0,036	0,070	0,077	0,793	0,216	0,494	0,234	0,685	0,313	0,210
B'	0,005	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003	0,001	0,001	0,008	0,016	0,049	0,055	0,916	0,332	0,292

Κατά την επαναιμάτωση έχουμε αύξηση της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος στο αρτηριακό αίμα, σε όλες τις χρονικές στιγμές του πειράματος και σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων που υπέστησαν (I/R) πλην της ομάδας A' (πιν: B₁₆).

Πίνακας B₁₆. Μεταβολές του γαλακτικού οξέος στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.σπόκλ.	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆				
A	1,11	0,2126	2,39	0,3702	2,84	0,1394	3,09	0,2018	3,16	0,1301	3,44	0,4072
B	1,23	0,3048	2,92	4,51E-02	3,11	9,23E-02	3,27	0,1139	3,22	7,54E-02	3,23	0,1647
A'	1,06	0,4097	1,07	0,2435	1,19	0,1605	1,17	0,1553	1,14	0,2965	1,05	0,392
B'	1,09	0,4871	2,12	0,1062	2,78	0,2345	3,07	0,1677	3,06	0,2092	3,24	0,4838



Εικόνα 26



Μεταβολή του γαλακτικού οξέος στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα A T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

Στην ομάδα B οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 .

Στην ομάδα A' ήταν μόνο μεταξύ των ομάδων T_3 και T_5 .

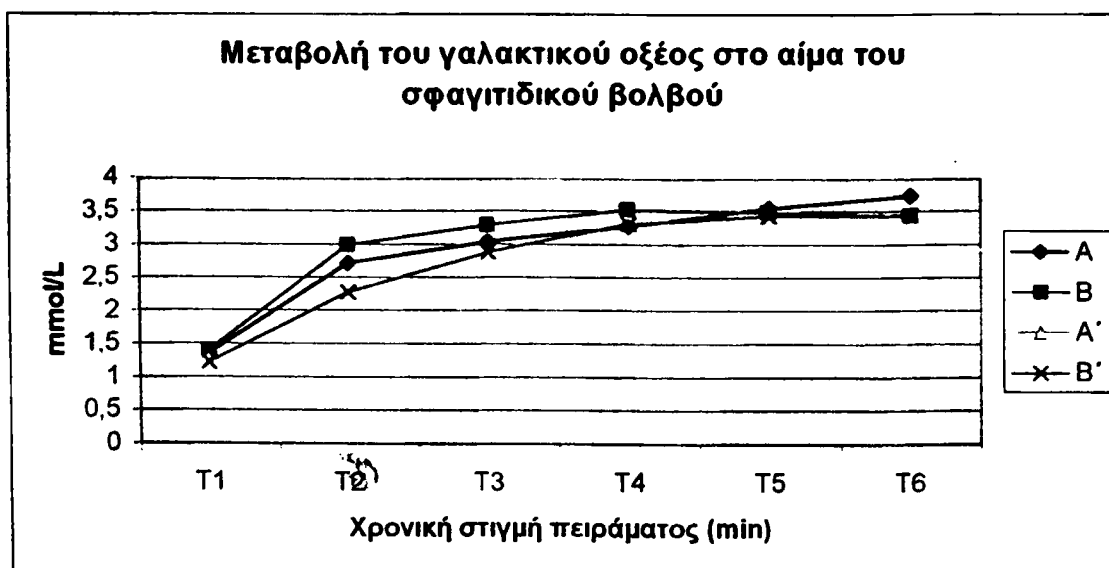
Στην ομάδα B' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,012	0,001	0,003	0,030	0,002	0,002	0,031	0,007	0,089
B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,002	0,000	0,000	0,016	0,026	0,120	0,547	0,437	0,460
A'	0,736	0,237	0,765	0,377	0,666	0,086	0,827	0,066	0,749	0,163	0,022	0,300	0,258	0,922	0,689
B'	0,005	0,001	0,002	0,002	0,002	0,003	0,002	0,001	0,004	0,006	0,006	0,012	0,140	0,183	0,946

Κατά την επαναιμάτωση έχουμε αύξηση της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού, σε όλες τις χρονικές στιγμές του πειράματος και σε όλες τις ομάδες των πειραματόζωων που υπέστησαν (I/R) πλην της ομάδας A' (πιν: B₁₇).

Πίνακας B₁₇. Μεταβολή του γαλακτικού οξέος στο αίμα του σφαγιτιδικού κόλπου

ΟΜΑΔΑ	Mean	Std.Dev.	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6				
A	1,37	9,579E-02	2,72	0,2633	3,05	0,1346	3,28	0,19	3,55	0,2796	3,74	0,3493
B	1,41	9,238E-02	2,99	5,823E-02	3,30	0,244	3,53	0,2693	3,49	0,1492	3,44	0,1149
A'	1,24	0,5176	1,26	0,4204	1,17	0,4471	1,27	0,3345	1,30	0,3871	1,28	0,4415
B'	1,24	0,442	2,29	0,1583	2,89	0,2356	3,32	0,2944	3,44	0,3495	3,45	0,4021



Εικόνα 27



ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Στο αρτηριακό αίμα

Μεταβολές της γλυκόζης στο αρτηριακό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β οι διαφορές ήταν μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

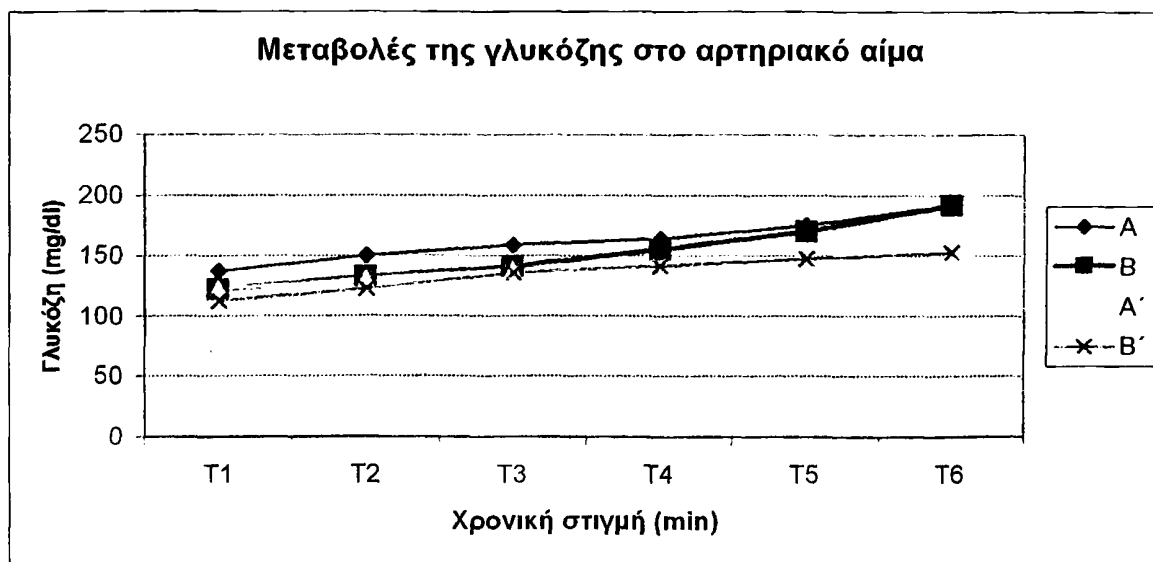
Στην ομάδα Β' ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,007	0,004	0,003	0,002	0,000	0,002	0,001	0,001	0,000	0,003	0,001	0,000	0,002	0,000	0,000
B	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,002	0,000	0,018	0,001	0,000
A'	0,022	0,006	0,009	0,006	0,009	0,024	0,064	0,020	0,022	0,681	0,028	0,078	0,010	0,024	0,906
B'	0,157	0,045	0,012	0,005	0,009	0,009	0,003	0,003	0,010	0,050	0,030	0,041	0,078	0,082	0,312

Η συγκέντρωση της γλυκόζης αυξήθηκε προοδευτικά (από την χρονική στιγμή T_1 έως την T_6) στατιστικά και σημαντικά (πιν: B_{18}), πλην της ομάδας Α' η οποία και δεν υπέστη (I/R).

Πίνακας B_{18} . Μεταβολές της γλυκόζης στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.										
	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6						
A	137	23,5797	150	16,2193	159	12,801	164	11,7204	175	9,5237	192	10,4051
B	122	27,0766	133	25,3236	141	23,1907	155	20,892	170	17,4055	192	18,8579
A'	123	12,3976	131	13,9032	139	9,7108	140	11,149	146	10,1833	146	13,6858
B'	113	15,2905	123	8,3187	136	7,3959	142	6,9785	148	6,9138	153	7,3007



Εικόνα 28



Μεταβολές της γλυκόζης στο σφαγιτιδικό βολβό

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 στην ομάδα A.

Στην ομάδα B οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα A' οι στατιστικές διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 .

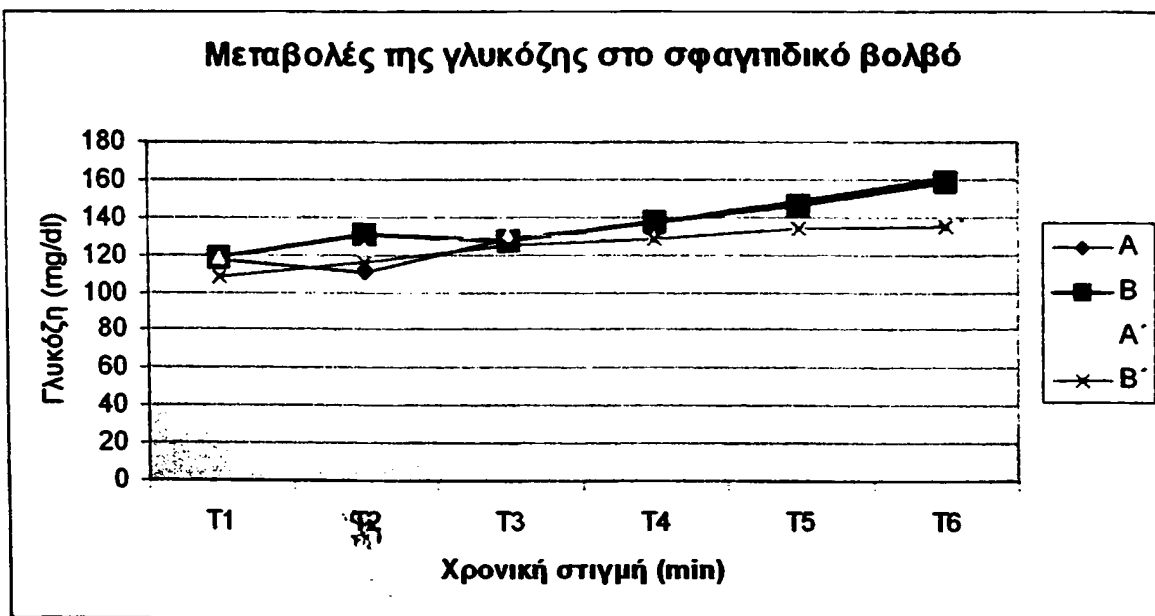
Στην ομάδα B' ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)															
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6	T_6/T_7
A	0,102	0,072	0,011	0,001	0,002	0,005	0,003	0,001	0,002	0,035	0,001	0,003	0,004	0,005	0,020	0,020
B	0,271	0,071	0,002	0,001	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,004	0,001	0,000	0,003	0,000	0,003	0,003
A'	0,010	0,006	0,019	0,006	0,020	0,010	0,038	0,009	0,041	0,772	0,078	0,189	0,012	0,084	0,916	0,916
B'	0,017	0,003	0,002	0,001	0,001	0,024	0,010	0,004	0,004	0,012	0,002	0,006	0,002	0,005	0,208	0,208

Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού αυξήθηκε προοδευτικά (από την χρονική στιγμή T_1 έως την T_6) στατιστικά και κλινικά σημαντικά (πιν: B₁₉), σε όλες τις ομάδες πλην της ομάδας A'.

Πίνακας B₁₉. Μεταβολές της γλυκόζης στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ. απόκλ.	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6				
A	117	15,5005	111	14,391	129	10,3618	138	5,3072	149	9,7707	161	14,3167
B	118	18,0726	131	21,5384	128	16,3649	138	14,7245	147	13,4625	159	19,2774
A'	119	23,4478	124	23,5223	131	23,3174	130	22,2306	136	19,8192	136	16,9912
B'	108	19,5013	116	19,9173	125	19,0079	129	17,4011	134	18,1052	135	16,8167



Εικόνα 29



Ηλεκτρολύτες

Μεταβολές του Κ στο αρτηριακό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_3 και T_4 , T_5 και T_6 στην ομάδα Α.

Στην ομάδα Β ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

Στην ομάδα Α' ήταν μεταξύ των T_2 και T_5 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 .

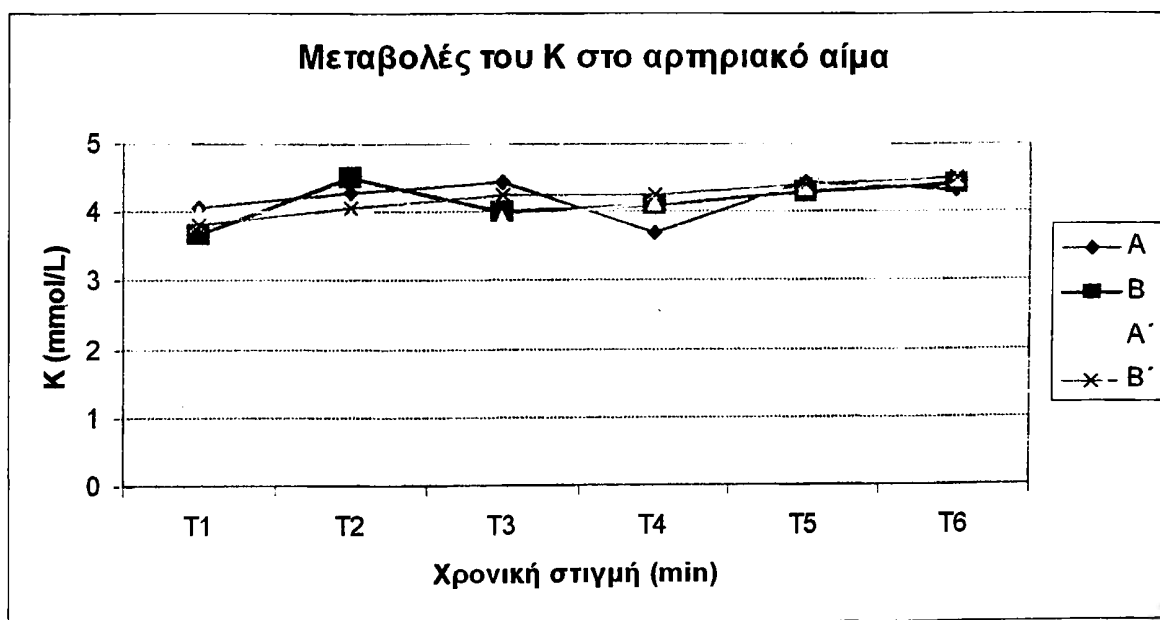
Στην ομάδα Β' ήταν μεταξύ των T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,010	0,004	0,007	0,004	0,034	0,032	0,370	0,094	0,755	0,014	1,000	0,208	0,110	0,754	0,008
B	0,001	0,000	0,000	0,000	0,001	0,004	0,000	0,001	0,003	0,043	0,002	0,010	0,027	0,009	0,239
A'	1,000	0,621	0,404	0,083	0,191	0,338	0,206	0,014	0,108	0,040	0,006	0,038	0,011	0,135	0,546
B'	0,007	0,004	0,039	0,012	0,004	0,009	0,242	0,040	0,020	0,887	0,280	0,127	0,016	0,049	0,266

Η μεταβολή του Κ που παρουσιάστηκε στο αρτηριακό αίμα ήταν μικρή αύξηση αυτού σε όλες τις φάσεις και σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων πλην της ομάδας Α' (Πίν:Β₂₀).

Πίνακας Β₂₀. Μεταβολές του Κ στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.											
	T_1			T_2		T_3		T_4		T_5		T_6	
A	4,06	0,3933		4,28	0,4489	4,44	0,3771	3,7	0,3352	4,44	0,2902	4,31	0,2404
B	3,68	0,4604		4,5	0,4899	4,1	0,5125	4,11	0,4243	4,3	0,4215	4,4	0,3011
A'	4	0,4183		4	0,2345	3,92	0,2387	4,14	0,3362	4,36	0,2702	4,46	0,4506
B'	3,82	0,1924		4,08	0,1789	4,26	0,251	4,24	0,1673	4,4	0,2	4,5	0,1871



Εικόνα 30



Μεταβολές του K στο σφαγιτιδικό κόλπο

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 στην ομάδα A.

Στην ομάδα B μεταξύ των T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_6 .

Στην ομάδα A' ήταν μεταξύ των T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_6 , T_2 και T_6 .

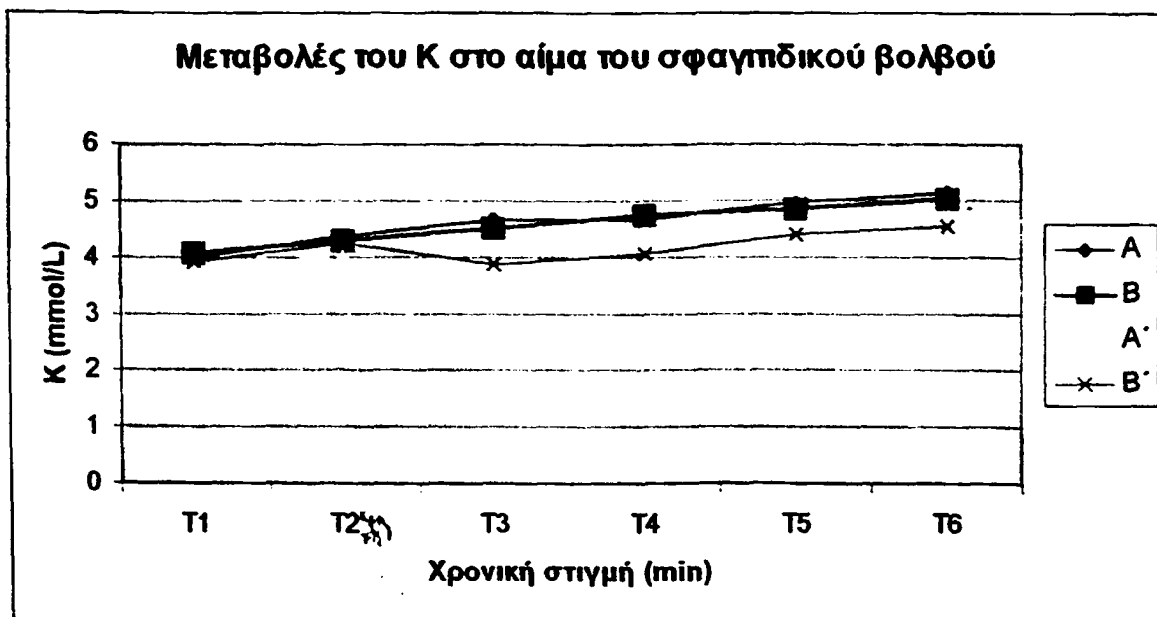
Στην ομάδα B' ήταν μεταξύ των T_1 και T_2 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

	Τιμή p (paired t-test)														
ΟΜΑΔΑ	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,007	0,001	0,012	0,002	0,003	0,005	0,137	0,011	0,015	1,000	0,045	0,033	0,007	0,008	0,111
B	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,003	0,002	0,005	0,003	0,012	0,029	0,007	0,200	0,033	0,074
A'	0,003	0,040	0,180	0,077	0,004	0,324	0,898	0,439	0,011	0,351	0,902	0,082	0,235	0,060	0,115
B'	0,043	0,861	0,160	0,016	0,007	0,000	0,021	0,108	0,016	0,037	0,002	0,001	0,005	0,002	0,001

Οι μεταβολές του K που παρουσιάστηκαν ήταν μικρή αύξηση αυτού σε όλες τις φάσεις και σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων πλην της ομάδας A' (πιν: B₂₁).

Πίνακας B₂₁. Μεταβολές του K στο αίμα του σφαγιτιδικού κόλπου

ΟΜΑΔΑ	Μ. όρος	Σταθ. απόκλ.	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6					
A	4	0,4243	4,36	0,3983	4,65	0,3271	4,67	0,3937	4,95	0,3146	5,15	0,2588
B	4,07	0,3352	4,3	0,4123	4,52	-0,4461	4,45	0,4756	4,84	0,4467	5,04	0,5192
A'	3,84	0,2881	4,04	0,305	4,16	0,2408	4,06	0,2793	4,18	0,2683	4,5	0,2236
B'	3,9	0,255	4,24	0,2408	3,88	0,1924	4,06	0,2608	4,38	0,2168	4,56	0,2074



Εικόνα 31



Μεταβολές του Na στο αρτηριακό αίμα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα A και μεταξύ T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

Στην ομάδα B οι διαφορές ήταν μεταξύ των T₁ και T₃, T₂ και T₆, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

Στην ομάδα A' οι διαφορές ήταν μεταξύ T₁ και T₂, T₁ και T₆, T₂ και T₆, T₃ και T₅, T₃ και T₆.

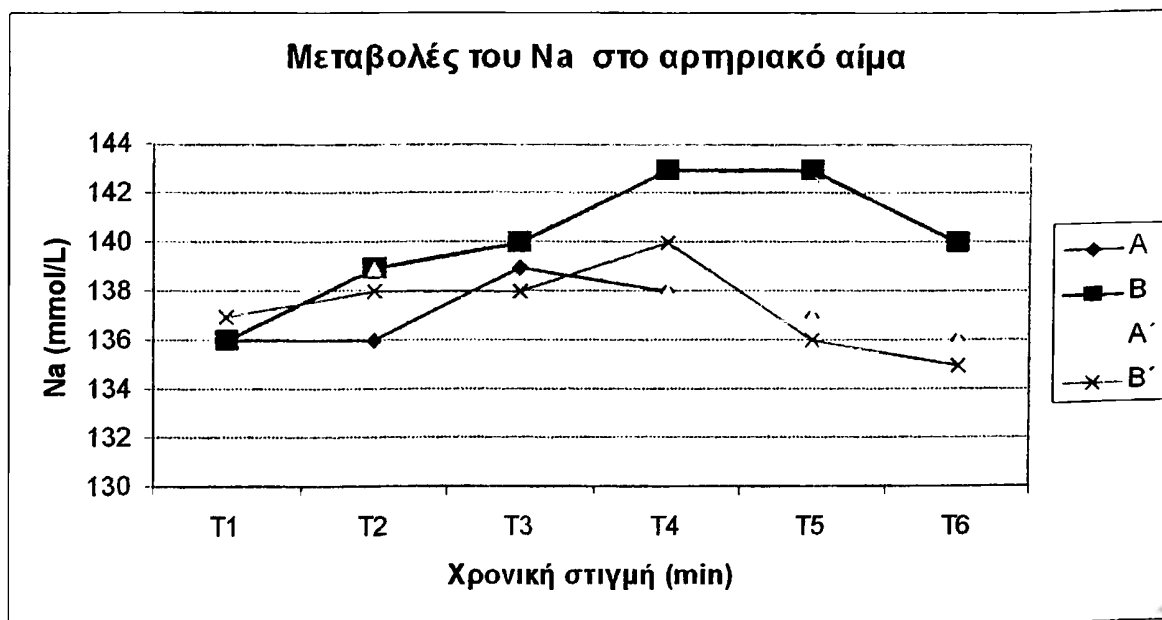
Στην ομάδα B' οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T₁ και T₂, T₁ και T₃, T₁ και T₄, T₁ και T₅, T₁ και T₆, T₂ και T₄, T₂ και T₅, T₂ και T₆, T₃ και T₄, T₃ και T₅, T₃ και T₆, T₄ και T₅, T₄ και T₆, T₅ και T₆.

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T ₁ /T ₂	T ₁ /T ₃	T ₁ /T ₄	T ₁ /T ₅	T ₁ /T ₆	T ₂ /T ₃	T ₂ /T ₄	T ₂ /T ₅	T ₂ /T ₆	T ₃ /T ₄	T ₃ /T ₅	T ₃ /T ₆	T ₄ /T ₅	T ₄ /T ₆	T ₅ /T ₆
A	0,501	0,007	0,185	0,611	0,856	0,006	0,071	0,178	0,004	0,224	0,195	0,028	0,474	0,248	0,566
B	0,000	0,005	0,000	0,000	0,007	0,268	0,001	0,001	0,309	0,012	0,003	0,869	0,654	0,035	0,006
A'	0,003	0,634	0,414	0,374	0,052	0,119	0,757	0,011	0,005	0,255	0,815	0,405	0,242	0,098	0,034
B'	0,080	0,607	0,025	0,034	0,294	0,596	0,025	0,004	0,083	0,180	0,195	0,108	0,003	0,024	0,634

Η τιμή του Na στο αρτηριακό αίμα παρουσιάζει αυξομειώσεις στις διάφορες φάσεις του πειράματος σε όλες τις ομάδες (πιν: B₂₂)

Πίνακας B₂₂. Μεταβολές του Na στο αρτηριακό αίμα

	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.											
A	136	2,1602	136	1,4142	139	1,7224	138	1,9664	137	2,5884	136	1,6021	
B	136	2,2678	139	2,3705	140	1,7995	143	1,5275	143	1,6036	140	2,5728	
A'	137	2,4083	139	1,9235	137	2,3452	138	1,9235	137	2,1679	136	2,1679	
B'	137	2,0736	138	1,4832	138	2,7386	140	1,6432	136	1,5166	135	1,6432	



Εικόνα 32



Μεταβολές του Na στο σφαγιτιδικό βολβό

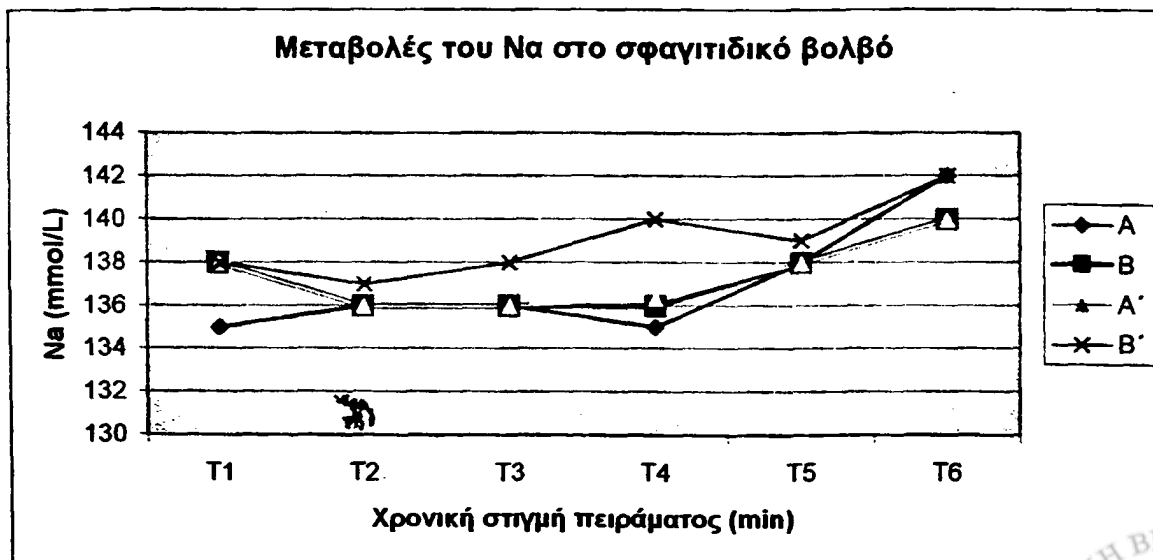
Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα Α μεταξύ T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .
 Στην ομάδα Β ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_3 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .
 Στην ομάδα Α' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_6 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 .
 Στην ομάδα Β' οι στατιστικές διαφορές ήταν μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_6 , T_2 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)															
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4
A	0,750	0,426	0,842	0,023	0,002	0,484	0,363	0,001	0,000	0,297	0,058	0,006	0,017	0,003	0,001	
B	0,084	0,039	0,066	0,418	0,080	0,220	0,283	0,074	0,018	1,000	0,009	0,005	0,003	0,001	0,003	
A'	0,009	0,171	0,426	0,757	0,024	0,704	0,898	0,086	0,005	0,426	0,019	0,023	0,103	0,068	0,129	
B'	0,005	0,828	0,256	0,473	0,049	0,178	0,101	0,136	0,023	0,296	0,629	0,072	0,646	0,065	0,003	

Οι τιμές του Na παρουσίασαν στατιστική προοδευτική αύξηση σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων και σε όλες τις χρονικές στιγμές του πειράματος (πιν:Β₂₃).

Πίνακας Β₂₃. Μεταβολές του Na στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού.

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.σπόκλ.	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
A	135	2,1602	136	1,2649	136	1,8619	138	2,3664
B	138	2,6458	136	1,6762	136	1,5736	138	2,5635
A'	138	2,8636	136	2,0736	136	1,2247	138	2,7019
B'	138	2,0736	137	2,3452	138	1,5166	140	2,3022



Εικόνα 33



Μεταβολές του ιονισμένου Ca στο αρτηριακό αίμα

Παρατηρήθηκαν στην ομάδα Α στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_3 και T_4 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Β μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_4 και T_5 , T_5 και T_6 .

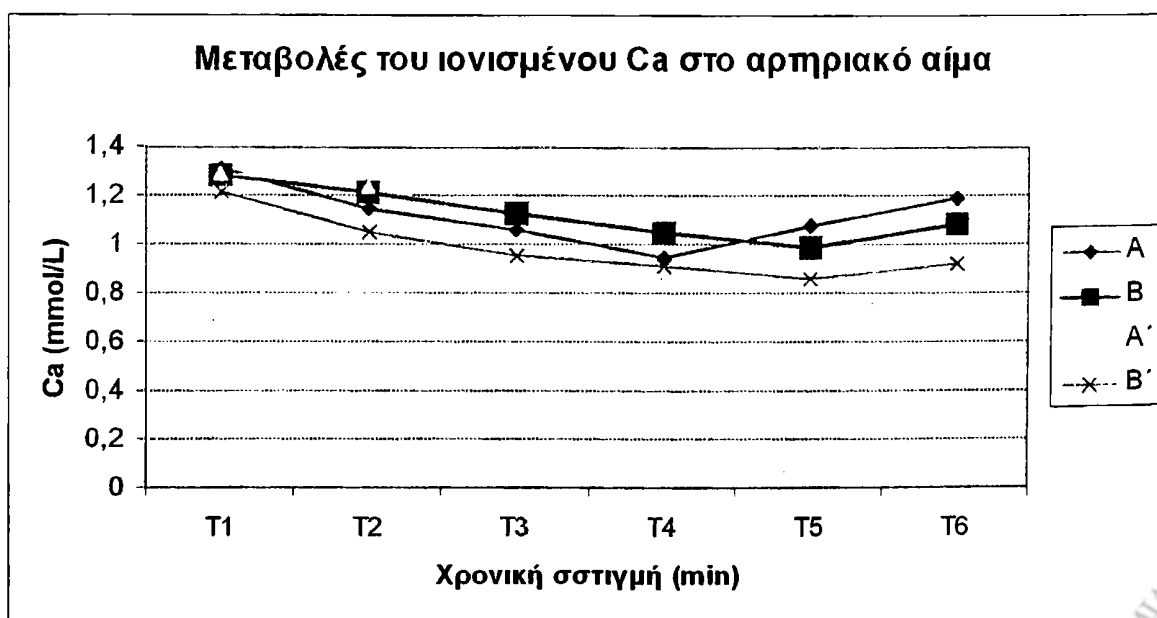
Στην ομάδα Β' παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_4 και T_5 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,220	0,397	0,699	0,007	0,043	0,001	0,014	0,554	0,810	0,002	0,796	0,953	0,888	0,644	0,008
B	0,000	0,000	0,002	0,013	0,031	0,000	0,000	0,002	0,007	0,000	0,002	0,010	0,001	0,001	0,001
A'	0,001	0,022	0,047	0,025	0,108	0,011	0,020	0,019	0,116	0,006	0,001	0,053	0,019	0,151	0,036
B'	0,019	0,003	0,002	0,002	0,003	0,008	0,002	0,004	0,019	0,013	0,027	0,322	0,049	0,466	0,003

Οι διακυμάνσεις του ιονισμένου ασβεστίου κινήθηκαν στα όρια του φυσιολογικού σε όλες τις φάσεις του πειράματος (πιν:Β₂₄)

Πίνακας Β₂₄. Μεταβολές του ιονισμένου Ca στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ. όρ.	Σ.σπόκλ.										
	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6	T_5	T_6	T_6	T_6	T_6	T_6
A	1,31	0,2085	1,15	0,1602	1,06	0,1591	0,95	0,1398	1,0867	8,19E-02	1,19	9,21E-02
B	1,29	0,1516	1,22	0,135	1,13	0,1549	1,05	0,1364	0,9986	0,1306	1,09	0,1517
A'	1,30	0,1041	1,24	0,106	1,29	0,1042	1,26	8,08E-02	1,302	8,67E-02	1,26	6,71E-02
B'	1,22	7,40E-02	1,05	0,1117	0,96	0,1171	0,91	0,1013	0,864	9,017E-02	0,92	8,70E-02



Εικόνα 34



Μεταβολές του ιονισμένου Ca στο σφαγιτιδικό βολβό

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα Α μεταξύ T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 .

Στην ομάδα Β οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_5 και T_6 .

Στην ομάδα Α' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_6 .

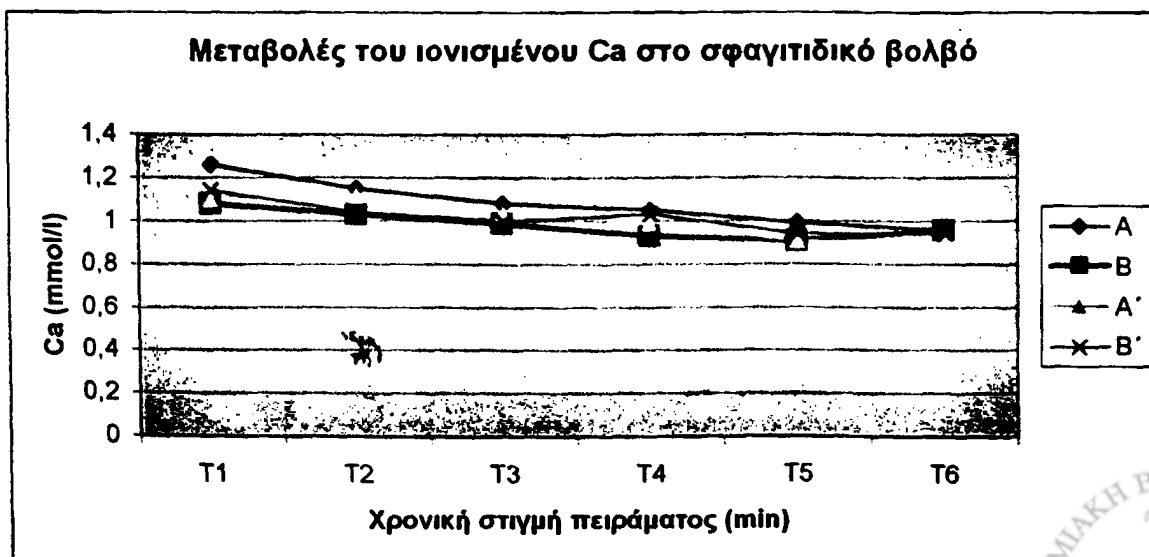
Στην ομάδα Β' μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_3 , T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_2 και T_3 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,014	0,006	0,004	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,005	0,010	0,001	0,029	0,005	0,075	0,479
B	0,007	0,001	0,000	0,000	0,003	0,001	0,000	0,003	0,080	0,001	0,010	0,322	0,120	0,390	0,007
A'	0,759	0,214	0,106	0,004	0,002	0,005	0,015	0,004	0,001	0,089	0,022	0,007	0,066	0,043	0,634
B'	0,013	0,001	0,038	0,003	0,064	0,039	0,864	0,105	0,290	0,498	0,214	0,524	0,020	0,299	1,000

Οι διακυμάνσεις του ιονισμένου ασβεστίου κινήθηκαν στα όρια του φυσιολογικού σε όλες τις φάσεις του πειράματος (πιν: B₂₅)

Πίνακας B₂₅. Μεταβολές του ιονισμένου Ca στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

ΟΜΑΔΑ	Μ. όρος	Σταθ. απόκλ.										
	T_1		T_2		T_3		T_4		T_5		T_6	
A	1,26	0,1586	1,15	0,1102	1,08	9,99E-02	1,05	0,1046	0,99	0,1211	0,96	8,47E-02
B	1,04	9,03E-02	1,03	0,1053	0,99	0,1034	0,93	8,88E-02	0,91	6,88E-02	0,96	6,64E-02
A'	1,10	4,76E-02	1,12	0,1084	1,04	0,1081	0,99	0,1262	0,91	8,36E-02	0,90	7,60E-02
B'	1,14	9,57E-02	1,04	0,1244	1,00	0,1108	1,03	7,80E-02	0,94	3,85E-02	0,94	9,84E-02



Εικόνα 35



Μεταβολές της Μαλονικής Δυαλδεύδης (MDA)

Παρατηρήθηκαν στην ομάδα Α στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

Στην ομάδα Β μεταξύ των ομάδων T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

Στην ομάδα Α' δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων.

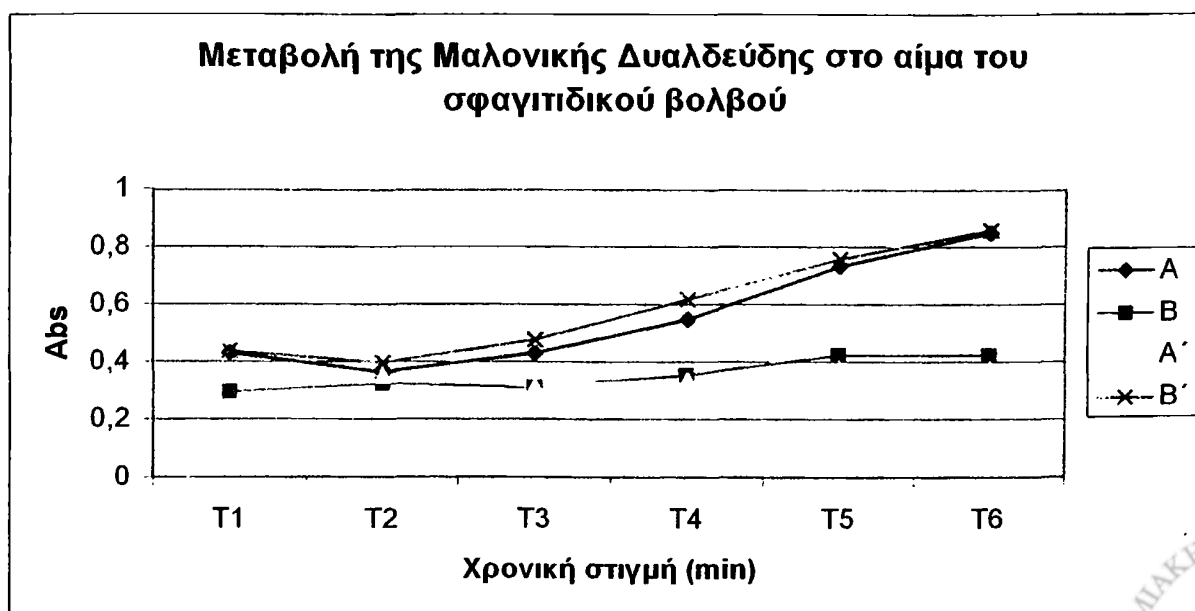
Στην ομάδα Β' παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,102	1,000	0,013	0,000	0,000	0,025	0,002	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,000	0,000	0,034
B	0,172	0,604	0,103	0,000	0,000	0,356	0,172	NSD	NSD	0,078	0,000	0,000	0,008	0,008	NSD
A'	1,000	0,178	0,621	0,374	0,374	0,374	0,621	0,374	0,621	0,621	0,070	0,070	0,374	0,178	1,000
B'	0,178	0,178	0,009	0,003	0,002	0,016	0,004	0,006	0,002	0,005	0,009	0,003	0,108	0,024	0,034

Η αύξηση της MDA δείχνει προοδευτικά αυξανόμενο οξειδωτικό stress από την χρονική στιγμή T_2 έως και την T_6 (πιν:Β₂₆), σε όλες τις ομάδες των πειραματόζων που υπέστησαν (I/R) πλην της ομάδας Α'. Στην ομάδα Β δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι είχαμε σημαντικό περιορισμό του οξειδωτικού stress, ότι δηλαδή η βιταμίνη Ε περιόρισε το οξειδωτικό stress.

Πίνακας Β₂₆. Μεταβολές της Μαλονικής Δυαλδεύδης στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
A	0,43	5,16E-02	0,36	5,16E-02	0,43	5,16E-02	0,55	5,48E-02
B	0,3	8,17E-02	0,32	4,88E-02	0,31	3,78E-02	0,35	5,35E-02
A'	0,36	5,48E-02	0,36	5,48E-02	0,32	4,47E-02	0,34	5,48E-02
B'	0,44	5,48E-02	0,4	7,07E-02	0,48	8,37E-02	0,62	1,30E-01



Εικόνα 36



Μεταβολές της Δισμουτάσης του Σουπεροξειδίου στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (SOD)

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα Α μεταξύ T_2 και T_4 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_6 .

Στην ομάδα Β δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές

Στην ομάδα Α' οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_3 , T_3 και T_5 .

Στην ομάδα Β' ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , όπως και T_5 με T_6 .

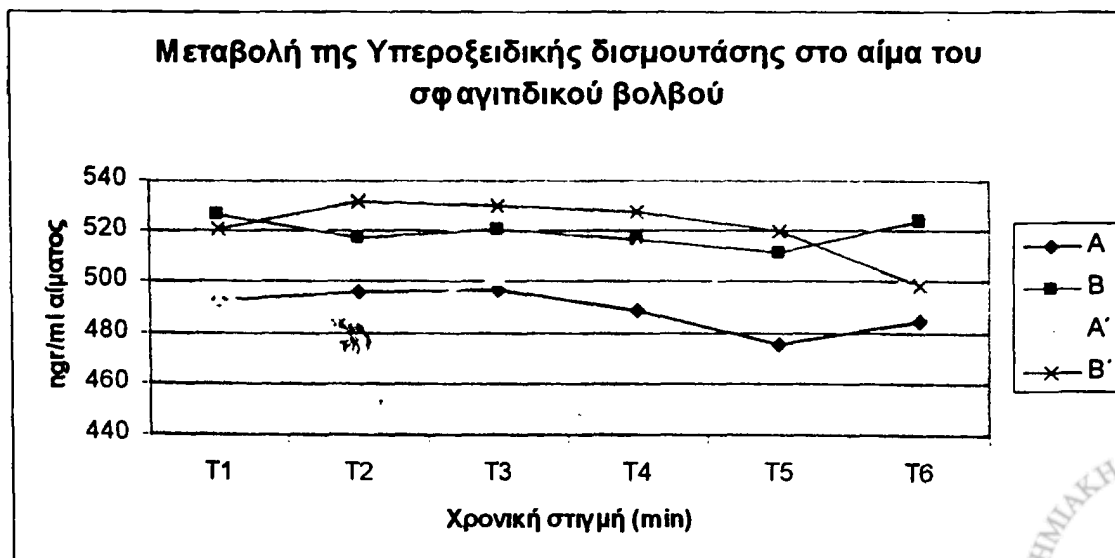
ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,133	0,327	0,177	0,101	0,110	0,956	0,006	0,066	0,031	0,016	0,050	0,001	0,143	0,286	0,382
B	0,681	0,398	0,766	0,477	0,772	0,815	0,844	0,243	0,699	0,626	0,148	0,351	0,262	0,788	0,387
A'	0,493	0,035	0,464	0,067	0,055	0,081	0,420	0,063	0,105	0,648	0,037	0,861	0,197	0,635	0,053
B'	0,181	0,621	0,235	0,045	0,002	0,479	0,026	0,015	0,001	0,024	0,006	0,001	0,010	0,001	0,018

Η συγκέντρωση της Δισμουτάσης του Σουπεροξειδίου (SOD) ελαττώνεται κατά την αντιμετώπιση του οξειδωτικού stress, από την χρονική στιγμή T_2 έως και την T_6 σε όλες τις ομάδες που υπέστησαν (I/R)

Το ότι στην ομάδα Β δεν ελαττώθηκε σημαντικά η συγκέντρωση της SOD δείχνει ότι η βιταμίνη Ε περιόρισε τον ρυθμό του οξειδωτικού stress (πιν:Β₂₇).

Πίνακας Β₂₇. Μεταβολές της Δισμουτάσης του Σουπεροξειδίου

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ.απόκλ.	T_2		T_3		T_4		T_5		T_6	
	T_1											
A	493	22,9695	496,83	25,9801	496,66	22,3666	489	24,996	475,66	23,8048	484,66	21,8052
B	506,42	21,6014	507,85	16,527	508,28	18,8212	507,42	16,092	504	16,8226	506,85	19,1523
A'	502,2	25,7721	501	25,3377	508,4	25,4126	505,8	24,294	498,8	24,4172	508,6	26,9035
B'	501,6	14,8593	505,2	17,6833	503	18,1934	496,8	19,0053	486,4	20,3421	474,4	14,5705



Εικόνα 37



Μεταβολές As στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού

Παρατηρήθηκαν στην ομάδα Α στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

Στην ομάδα Β οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 .

Στην ομάδα Α' οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_2 , T_1 και T_5 , T_3 και T_5 .

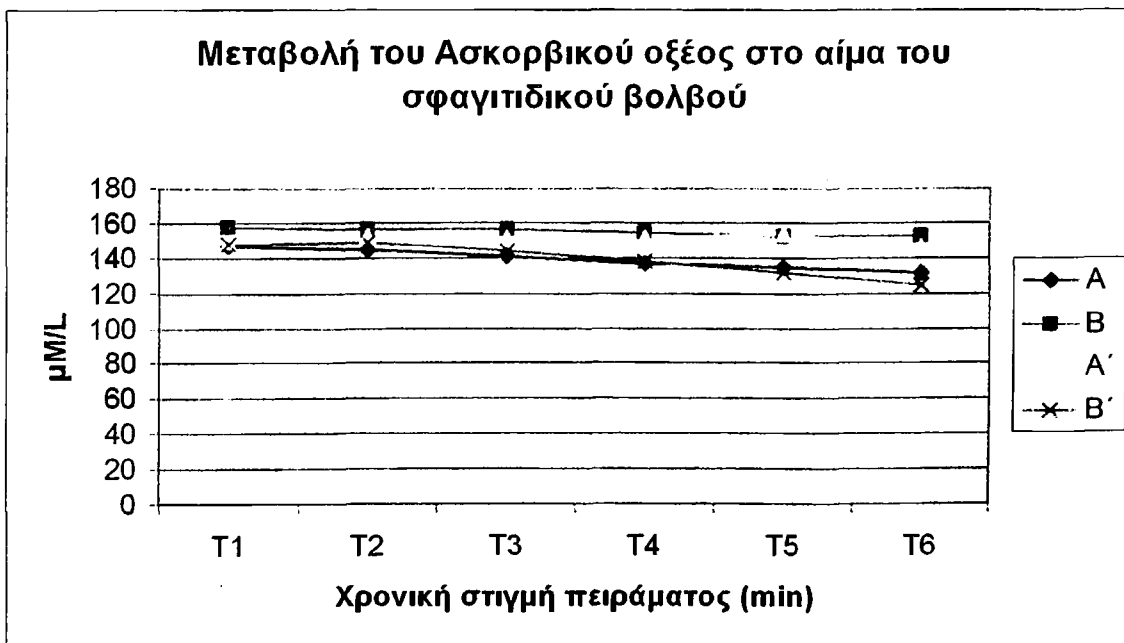
Στην ομάδα Β' οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_4 , T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_4 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	0,097	0,052	0,020	0,010	0,009	0,157	0,033	0,014	0,010	0,038	0,024	0,010	0,041	0,009	0,057
B	0,197	0,386	0,010	0,004	0,000	0,649	0,111	0,018	0,002	0,001	0,001	0,000	0,033	0,006	0,508
A'	0,005	0,097	0,229	0,039	0,324	0,326	0,690	0,473	0,061	0,828	0,011	0,171	0,477	0,080	0,105
B'	0,845	0,172	0,014	0,003	0,000	0,010	0,002	0,001	0,000	0,017	0,011	0,001	0,014	0,004	0,010

Η προοδευτική μείωση του Ασκορβικού οξέος δείχνει κατανάλωση του Ασκορβικού οξέος στο οξειδωτικό stress (πιν: B₂₈), από την χρονική στιγμή T_2 έως και την T_6 σε όλες τις ομάδες που υπέστησαν (I/R). Το ότι στην ομάδα Β δεν μειώθηκε σημαντικά η συγκέντρωση του Ασκορβικού οξέος δείχνει ότι η βιταμίνη Ε περιόρισε τον ρυθμό του οξειδωτικού stress.

Πίνακας B₂₈. Μεταβολές του Ασκορβικού οξέος στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος	Σταθ. απόκλ.														
	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
A	147,66	8,2865	145	9,5289	141,16	10,8888	137	12,2638	135	12,083	132,33	11,7927				
B	158,14	7,4929	157,14	6,1489	157,57	7,5907	155,14	7,267	153,57	6,6548	153	7,4386				
A'	149,8	3,9623	153	3,3166	152	2,5495	152,4	4,3932	154	2,2361	147,6	6,9498				
B'	148,6	3,5071	149	5,6125	144	7,5166	138	6,6708	132,8	5,4037	125,2	4,3818				



Εικόνα 38



Μεταβολές του Δυασκορβικού οξέος στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (D- ASC)

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα Α μεταξύ των T_2 και T_5 , όπως και μεταξύ των T_2 και T_6 .

Στην ομάδα Β οι διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_3 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_6 .

Στην ομάδα Α' δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων.

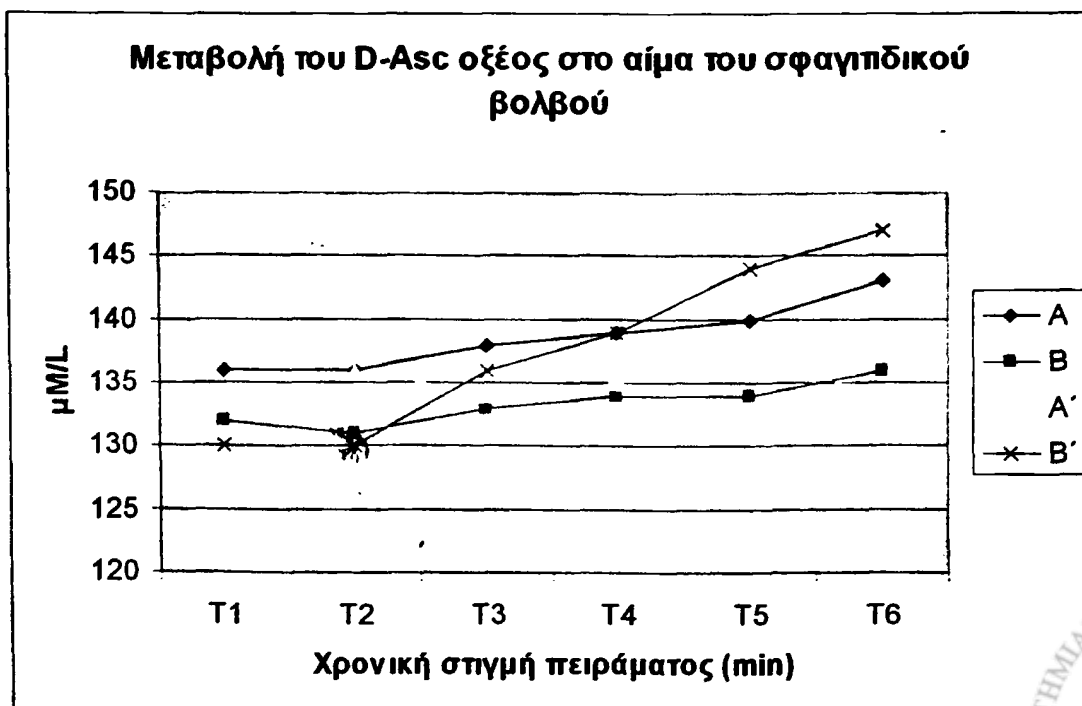
Στην ομάδα Β' ήταν μεταξύ των ομάδων T_1 και T_5 , T_1 και T_6 , T_2 και T_4 , T_2 και T_5 , T_2 και T_6 , T_3 και T_5 , T_3 και T_6 , T_4 και T_5 , T_4 και T_6 , T_5 και T_6 .

ΟΜΑΔΑ	Τιμή p (paired t-test)														
	T_1/T_2	T_1/T_3	T_1/T_4	T_1/T_5	T_1/T_6	T_2/T_3	T_2/T_4	T_2/T_5	T_2/T_6	T_3/T_4	T_3/T_5	T_3/T_6	T_4/T_5	T_4/T_6	T_5/T_6
A	1.000	0.228	0.298	0.193	0.066	0.157	0.070	0.034	0.038	0.474	0.234	0.073	0.239	0.084	0.076
B	0.172	0.093	0.094	0.018	0.008	0.035	0.023	0.017	0.005	0.270	0.356	0.024	0.869	0.052	0.086
A'	0.108	0.168	0.159	0.413	0.132	0.305	0.504	0.235	0.299	0.847	0.130	0.745	0.259	0.473	0.175
B'	1.000	0.127	0.099	0.045	0.019	0.055	0.036	0.011	0.004	0.058	0.020	0.004	0.017	0.004	0.025

Η προοδευτική αύξηση του δυασκορβικού οξέος δείχνει κατανάλωση του ασκορβικού οξέος στο οξειδωτικό stress με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή του δυασκορβικού οξέος (πιν:Β₂₉), από την χρονική στιγμή T_2 έως και την T_6 σε όλες τις ομάδες που υπέστησαν (I/R). Το ότι στην ομάδα Β δεν αυξήθηκε σημαντικά η συγκέντρωση του Δυασκορβικού οξέος δείχνει ότι η βιταμίνη Ε περιόρισε τον ρυθμό του οξειδωτικού stress.

Πίνακας Β₂₉. Μεταβολές του Δυασκορβικού οξέος στο αρτηριακό αίμα

ΟΜΑΔΑ	Μ.όρος T_1	Σταθ.σπύκλ.	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6					
A	136.16	10.5341	136.16	10.9621	138.33	10.2892	139.33	10.0333	140.5	10.2323	143	10.2372
B	132.42	6.4254	131.28	5.219	133.71	5.7652	134.57	5.8554	134.42	7.1614	136.14	6.3095
A'	138.8	3.8341	136.6	3.1305	134.6	2.7019	135	2.5495	137.8	2.7749	134	2.5495
B'	130.6	7.7653	130.6	4.7749	136.8	4.9699	139.8	5.3572	144.2	4.4385	147	3.6742



Εικόνα 39



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Επιλογή προστατευτικού παράγοντα

Επιλέξαμε το πειραματικό μας πρωτόκολλο με βάση το γεγονός ότι –παρά την πληθώρα των μελετών- δεν έχει ακόμα ισχυροποιηθεί κάποια αποτελεσματική θεραπεία της βλάβης από ισχαιμία / επαναιμάτωση.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο κύριος μηχανισμός βλάβης των νευρώνων κατά την ισχαιμία και την ανοξία του εγκεφάλου είναι η υπερβολική διέγερσή τους συνεπεία ραγδαίας αύξησης της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης Ca^{++} (49,78). Το Ca^{++} ενεργοποιεί τις φωσφολιπάσες και έτσι τον «καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος», με επακόλουθο το σχηματισμό ενδιάμεσων αγγειοδραστικών μεταβολιτών και EPO_2 . Οι πρώτοι προκαλούν αγγειοσύσπαση, περιορίζοντας έτσι την αιματική ροή στις αντίστοιχες περιοχές του εγκεφάλου, ενώ οι EPO_2 είναι κυτταροτοξικές και βλάπτουν άμεσα τους νευρώνες, οι οποίοι είναι τα πιο ευάλωτα στις EPO_2 κύτταρα του οργανισμού. Οι EPO_2 προκαλούν μη αναστρέψιμη απώλεια της λειτουργικότητας των νευρώνων, εξαιτίας α) υπεροξειδωσής των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών, β) οξειδωσής των σουλφυδρικών ομάδων (αλλοδομής) πρωτεϊνών, όπως τα ένζυμα, οι αντλίες ιόντων κ. ά., γ) καταστροφής κυτταρικών οργανυλίων.

Επί πλέον, η ισχαιμία ελαττώνει την αμυντική ικανότητα των κυττάρων κατά των EPO_2 . Κατά τα πρώτα 30 sec έως 5 min από την έναρξη της επαναιμάτωσης διαταράσσεται περαιτέρω η ισορροπία οξειδωτικού stress - αντιοξειδωτικού δυναμικού, εξαιτίας της γένεσης μεγάλων ποσοτήτων EPO_2 μόλις το O_2 εισέλθει στους πρώην ισχαιμικούς ιστούς. Διάφοροι ερευνητές απέδειξαν, χρησιμοποιώντας τη φασματοσκοπική μέθοδο «electron paramagnetic resonance spectroscopy», ότι κατά την πρώιμη φάση της επαναιμάτωσης μετά πειραματική εγκεφαλική ισχαιμία προκύπτει εκρηκτική παραγωγή EPO_2 , η οποία είναι ανάλογη με τη διάρκεια και την σοβαρότητα της ισχαιμίας (243). Αργότερα προκύπτει διήθηση του προσβεβλημένου εγκεφάλου με πολυμορφοπύρρηνα, τα οποία παράγουν επίσης EPO_2 (87). Έτσι, η μέσω των EPO_2 βλάβη από ισχαιμία / επαναιμάτωση είναι διφασική: Κατά την *πρώιμη φάση* προκύπτει βλάβη του εγκεφάλου από την είσοδο του O_2 , ενώ κατά την *όψιμη φάση* η οξειδωτική βλάβη επεκτείνεται, εξαιτίας της διήθησης των ιστών με ενεργοποιημένα πολυμορφοπύρρηνα.

Η επαναιμάτωση του εγκεφάλου αυξάνει τη συγκέντρωση προϊόντων υπεροξειδωσής των λιπιδίων στο αίμα της σφαγίτιδας φλέβας. Υπάρχουν δύο θεωρίες σχετικά με την ερμηνεία του φαινομένου. Σύμφωνα με την πρώτη η υπεροξειδωσής των λιπών συμβαίνει κατά τη φάση της ισχαιμίας και γίνεται έκπλυση των προϊόντων κατά την φάση της επαναιμάτωσης (75). Η δεύτερη θεωρία υποστηρίζει ότι η υπεροξειδωσής των λιπών είναι αποτέλεσμα κυρίως της δημιουργίας EPO_2 κατά την φάση της επαναιμάτωσης (72,73,76). Είναι σχεδόν αδύνατο να διαχωρίσει κανείς τις δύο αυτές πιθανότητες σε ασθενείς, εκτός εάν χρησιμοποιήσει μέθοδο καθορισμού του χρόνου δημιουργίας των EPO_2 με «electron spin resonance» ή με βιοψία του εγκεφάλου στην ισχαιμική περιοχή. Από πολλές πειραματικές εργασίες προκύπτει πάντως ότι ο σχηματισμός EPO_2 βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα κατά την ισχαιμία, ενώ υπάρχει μαζική αύξηση παραγωγής EPO_2 κατά την επαναιμάτωση (224).

Στη μελέτη μας χρησιμοποιήσαμε ως δείκτη ποσοτικής εκτίμησης του βαθμού υπεροξειδωσής των λιπιδίων τη MDA, που είναι ένα σταθερό παράγωγο υπεροξειδωσής. Η αύξηση των λευκοκυττάρων, που θα μπορούσε επίσης να



χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της υπεροξειδωσης των λιπιδίων, λαμβάνει χώρα με ρυθμό βραδύτερο από αυτόν της διαδικασίας του πρωτοκόλλου μας.

Η καταλληλότητα μίας εξωγενώς χορηγούμενης χημικής ουσίας, που δεσμεύει τις EPO₂ ή τα προϊόντα τους και προστατεύει έτσι τον εγκέφαλο από την οξειδωτική βλάβη, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες:

α) Τοξικότητα αυτής καθ' αυτής της ουσίας, ιδίως όταν αυτή χορηγείται σε μεγάλη δόση.

β) Κατανομή της ουσίας στους ιστούς και συγκέντρωσή της στις διάφορες θέσεις των κυττάρων. Ευνοϊκό αποτέλεσμα της χορήγησης αναμένεται, όταν η ουσία εμπλουτίζεται στις περιοχές, όπου παράγονται οι EPO₂ και αναπτύσσεται το οξειδωτικό stress, αφού οι EPO₂ αντιδρούν επιτόπια και επομένως οφείλουν να εξουδετερωθούν επί τόπου. Η αιμάτωση των διαφόρων ιστών καθορίζει τη συγκέντρωση της ουσίας σ' αυτούς, επομένως και η αποτελεσματικότητα της ουσίας (ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας του ιστού) εξαρτάται σημαντικά από την αιμάτωση του ιστού (228).

γ) Χρονική στιγμή της χορήγησης. Η αντιοξειδωτική ουσία πρέπει να βρίσκεται επί τόπου τη στιγμή της δημιουργίας των EPO₂, επειδή αυτές αντιδρούν πάραυτα με τα παρακείμενα βιολογικά μόρια και τα καταστρέφουν (223). Στο σύνδρομο ισχαιμίας - επαναιμάτωσης οι EPO₂ παράγονται μαζικά κατά την έναρξη της επαναιμάτωσης (230) και κατά συνέπεια η προστατευτική ουσία θα πρέπει να είναι διαθέσιμη - κατά τη φάση αυτή - στα κύτταρα, όπου αναπτύσσεται το οξειδωτικό stress.

δ) Δόση. Η μοριακή συγκέντρωση της ουσίας στους ιστούς διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο τελικό αποτέλεσμα της φαρμακολογικής δράσης της. Το ασκορβικό οξύ π.χ. είναι ισχυρό αντιοξειδωτικό όταν βρίσκεται σε μεγάλη συγκέντρωση, ενώ σε μικρές συγκεντρώσεις προωθεί τη γένεση EPO₂ (231).

ε) Είδος της ρίζας. Κατά την επιλογή μιας ουσίας που δεσμεύει EPO₂ θα ήταν ιδανικό να γνωρίζουμε ποιό είδος ρίζας έχει δημιουργηθεί και ποιές βλάβες κυρίως προκαλεί, ώστε να χορηγηθεί και ο αντίστοιχος "scavenger". Η άμεση ταυτοποίηση των EPO₂ δεν είναι όμως δυνατή, εξαιτίας του -συνεπεία της μεγάλης χημικής αντιδραστικότητάς τους- βραχύτατου (κλάσματα δευτερολέπτου) χρόνου ύπαρξής τους (232, 233). Είναι γνωστό ότι στις περισσότερες περιπτώσεις σχηματίζεται αρχικά το O₂^{·-}, και απ' αυτό προκύπτουν οι υπόλοιποι τοξικοί μεταβολίτες του οξυγόνου και στην συνέχεια οι δευτερογενείς EPO₂ (κυρίως λιπιδίων) και τοξικά παράγωγα αποικοδόμησης των τελευταίων.

Όλοι οι μεταβολίτες του O₂ με υψηλή αντιδραστικότητα είναι ικανοί να ασκήσουν τοξικές δράσεις στα βιολογικά συστήματα (234). Σύμφωνα με τον βαθμό αντιδραστικότητας του κάθε μεταβολίτη, ο βαθμός τοξικότητας ιεραρχείται ως εξής: OH[·] > ¹O₂ > HO₂[·] > O₂^{·-} > H₂O₂. Η σημασία του O₂^{·-}, έγκειται κυρίως στο ότι το μόριο αυτό αποτελεί τη μητρική ουσία αντιδραστικότερων και επομένως τοξικότερων μεταβολιτών, όπως το OH[·] και το singlet oxygen (¹O₂), που παριστούν το μεγαλύτερο κίνδυνο για τα βιολογικά μόρια (235, 233). Ο κίνδυνος από τις χημικές αυτές μορφές είναι μεγαλύτερος και λόγω του ότι, από όσο είναι γνωστό, δεν υπάρχει κάποιος αντίστοιχος ενδογενής ενζυμικός "scavenger", όπως αυτό συμβαίνει με το O₂^{·-} (SOD) και το H₂O₂ (CAT, GPX). Οι θεωρήσεις αυτές καθιστούν σαφή την ανάγκη εξωτερικής παρέμβασης, για την πρόληψη σχηματισμού ή την δέσμευση του OH[·] και του ¹O₂. Το OH[·] και το ¹O₂ σχηματίζονται κατά την αντίδραση Haber-Weiss, όταν συσσωρεύονται μεγάλα ποσά O₂^{·-} και H₂O₂, ιδιαίτερα επί παρουσίας ελευθέρων ιόντων σιδήρου. Κατά συνέπεια η στρατηγική πρόληψης σχηματισμού OH[·] και ¹O₂



οφείλει να περιλαμβάνει α) την πρόληψη σχηματισμού ή εξουδετέρωση του O_2^- , και H_2O_2 και β) την πρόληψη απελευθέρωσης ή δέσμευση των ιόντων σιδήρου:

α₁) Η πρόληψη σχηματισμού O_2^- και H_2O_2 κατά το σύνδρομο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης μπορεί να επιτευχθεί με προηγούμενη χορήγηση αλοπουρινόλης, η οποία αναστέλλει τη δραστηριότητα της ξανθοξειδάσης και ελαττώνει την παραγωγή O_2^- και H_2O_2 (236).

α₂) Εξουδετέρωση του O_2^- , και του H_2O_2 μπορεί να επιτευχθεί με τη χορήγηση των ενζύμων SOD και CAT. Ο εγκέφαλος διαθέτει αυξημένη συγκέντρωση SOD και χαμηλή συγκέντρωση CAT. Χορήγηση μόνο της SOD είναι δυνατό να μείνει χωρίς αποτέλεσμα, λόγω του ότι το OH^\cdot μπορεί να σχηματισθεί και χωρίς τη συμμετοχή του O_2^- (237).

β₂) Δέσμευση των ιόντων Fe^{+++} μπορεί να γίνει με χορήγηση αποτρανσφερρίνης και των χηλικών ενώσεων δεσφερριοξαμίνη και απολακτοφερρίνη (236). Έχει βρεθεί πειραματικά ότι η δεσφερριοξαμίνη προσφέρει σημαντική κυτταροπροστασία από οξειδωτικό stress (238).

Δέσμευση του OH^\cdot επιτυγχάνεται με χορήγηση μαννιτόλης, χλωροπρομαζίνης, διμεθυλ-σουλφοξειδίου (DMSO), αιθανόλης, L-μεθειονίνης, κυστείνης, βιταμίνης E και βιταμίνης C. Η β - καροτένη (προβιταμίνη A) και η L-ιστιδίνη εξουδετερώνουν την ενέργεια του singlet oxygen και των υπεροξειδίων των λιπιδίων (228), δράση την οποία ασκεί και η α- τοκοφερόλη.

Οι ουσίες που εξουδετερώνουν τους τοξικούς μεταβολίτες του O_2 είναι δραστικές σε κάθε μηχανισμό δημιουργίας των EPO_2 (237). Η γνώση του μηχανισμού παραγωγής EPO_2 είναι απαραίτητη, για την επιλογή μιας προφυλακτικής ουσίας. Τα αντιοξειδωτικά είναι χημικές ενώσεις, που αναστέλλουν την υπεροξείδωση των λιπιδίων, κυρίως των πολυακόρεστων, παρεμβαίνοντας στις αλυσιδωτές αντιδράσεις υπεροξειδώσεων και δεσμεύοντας τις EPO_2 (Κ.Χατζηνικολάου 1992).

Η βιταμίνη E κατέχει εξέχουσα θέση στην λίστα των αντιοξειδωτικών, κατ' αρχήν γιατί είναι ατοξική. Φαίνεται όμως ότι κατέχει πλεονεκτική θέση έναντι των άλλων δυνατοτήτων αντιμετώπισης του οξειδωτικού stress, επί πλέον επειδή -ως μικρομοριακή ένωση (MB = 488 dalton)- διεισδύει ευκολότερα στο κύτταρο και τα οργανύλιά του. Έτσι συγκεντρώνεται στις πηγές παραγωγής EPO_2 και μπορεί να εξουδετερώσει περισσότερες τοξικούς μεταβολίτες, από ότι οι μακρομοριακές ενώσεις (239). Εξ άλλου, η βιταμίνη E είναι λιποδιαλυτή και ως εκ τούτου εμπλουτίζεται στις μεμβράνες των κυττάρων και των οργανυλίων τους, όπου υπάρχουν άφθονα πολυακόρεστα λιπίδια. Ο εγκεφαλικός ιστός χαρακτηρίζεται από την αφθονία του σε πολυακόρεστα λιπίδια. Ο κύριος ρόλος της βιταμίνης E, είναι η προφύλαξη των ακορέστων λιπιδίων και άλλων ασταθών μορίων (όπως η βιταμίνη A και συνένζυμα) του οργανισμού από την ανεξέλεγκτη αυτοοξειδωση (240). Πειραματόζωα με έλλειψη βιταμίνης E προσβάλλονται από παθολογικές καταστάσεις, που είναι συνέπεια αυξημένων οξειδώσεων. Τα πειραματόζωα βελτιώνονται κλινικά με την επαναχορήγηση της βιταμίνης και η κατάσταση των οξειδώσεων επανέρχεται στο φυσιολογικό (231). Αν και ο μοριακός μηχανισμός δράσης της α-τοκοφερόλης δεν έχει ακριβώς διευκρινισθεί, η φυσιολογική εντόπισή της στο υδρόφοβο κέντρο των μεμβρανών του κυττάρου και των οργανυλίων του εντοπίζει και τη δράση της στην θέση αυτή. Στα μιτοχόνδρια η θέση αυτή αποτελεί τον τόπο της κυτταρικής αναπνοής. Η δομική ομοιότητα της α-τοκοφερόλης με το συνένζυμο Q_4 , υποδεικνύει ότι η βιταμίνη E συμμερίζεται πιθανόν τις βιολογικές δραστηριότητες του συνενζύμου Q_4 στην αρχή της αναπνευστικής αλυσσού μεταξύ φλαβοπρωτεϊδίων και κυτοχρώματος C (241). Επί ελλείψεως της βιταμίνης E διαταράσσεται κατά πάσα



πιθανότητα η μεταφορά ηλεκτρονίων και έτσι η παραγωγή ενέργειας στα μιτοχόνδρια (242). Το 1962 ο Tappel ανακάλυψε ότι η α-τοκοφερόλη παρεμποδίζει την υπεροξειδωση των λιπιδίων σε βιολογικούς οργανισμούς, ενώ το 1972 ο Lucy πρότεινε ότι η βιταμίνη E κατέχει και ένα δομικό ρόλο στις βιολογικές μεμβράνες όπου και εμπλουτίζεται. Εκεί, συμβάλλει κυρίως στον έλεγχο της σταθερότητας της κυτταρικής μεμβράνης και στην ενζυμική λειτουργία (240), λειτουργίες που επηρεάζονται αρνητικά από τις EPO₂. Το μόριο της βιταμίνης E εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και λιπιδίων, και διακόπτει έτσι τις αλυσιδωτές αντιδράσεις υπεροξειδώσεων των λιπιδίων της μεμβράνης του κυττάρου και των οργανυλίων του (243). Η εξουδετέρωση αυτή γίνεται με την χορήγηση ενός ηλεκτρονίου από την βιταμίνη προς την ελεύθερη ρίζα (βιτ. E + R· → βιτ. E· + RH, όπου R = ρίζα λιπιδίου), οπότε δημιουργείται ζεύγος ηλεκτρονίων στην εξωτερική στοιβάδα της τελευταίας, η οποία παύει έτσι να είναι ρίζα. Σε κυτταροκαλλιέργειες παρατηρείται ελάττωση των ριζών υδροξυλίου κατά 26% όταν το μέσον της καλλιέργειας περιέχει και α-τοκοφερόλη (244). Η ενέργεια του παραμένοντος στη βιτ. E· μονήρους ηλεκτρονίου κατανέμεται στον ηλεκτρονικό φλοιό του μορίου της, με αποτέλεσμα την κατάργηση της υψηλής χημικής αντιδραστικότητας ("resonance stability") και τη διακοπή της αλυσιδωτής αντίδρασης υπεροξειδώσεων. Τα οξειδωμένα μόρια βιτ. E· είτε σχηματίζουν ανά δύο ουδέτερο διμερές είτε ανάγονται από μόρια βιταμίνης C (238). Επομένως η βιταμίνη E καταναλώνεται κατά την μαζική υπεροξειδωση των λιπιδίων και η συγκέντρωσή της ελαττώνεται σημαντικά κατά το οξειδωτικό stress (245). Έτσι ελαττώνεται και το πηλίκιο βιταμίνη E / ακόρεστα λιπαρά οξέα (το οποίο πρέπει να έχει μία ορισμένη τιμή) στις κυτταρικές μεμβράνες και προκύπτει ανεπάρκεια βιταμίνης E (246). Η εμπλοκή της βιταμίνης E στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος και των προσταγλανδινών, όπου επίσης παράγονται EPO₂, καθώς και η ανασταλτική της δράση στο ένζυμο NADPH -κυτόχρωμα C οξειδοαναγωγή, το οποίο παράγει EPO₂ ισχυροποιούν την υποψηφιότητα της ως προστατευτικής ουσίας.

Λαμβάνοντας υπ' όψη τα παραπάνω δεδομένα επιλέξαμε για τη μελέτη μας τη βιταμίνη E ως προστατευτική ουσία του εγκεφαλικού ιστού από τη βλάβη εξ ισχαιμίας - επαναιμάτωσης, με βάση το εξής σκεπτικό: α) η υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών του εγκεφαλικού κυττάρου και των οργανυλίων του είναι η κυριότερη και πιθανότατα η πιο πρώιμη κυτταροτοξική δράση των EPO₂ (247), β) η βιταμίνη E εμπλουτίζεται στις πλούσιες σε λιπίδια μεμβράνες των κυττάρων και των οργανυλίων τους και τερματίζει την αλυσιδωτή αντίδραση υπεροξειδώσεων, γ) οι θέσεις στις οποίες παράγονται EPO₂ κατά την ισχαιμία - επαναιμάτωση του εγκεφάλου είναι κυρίως τα οργανύλια ενδοπλασματικό δίκτυο και μιτοχόνδρια, δ) η βιταμίνη E είναι ατοξική και κατανέμεται σ' όλους τους ιστούς και κυρίως όπου υπάρχει αφθονία σε πολυακόρεστα λιπίδια, όπως στον εγκεφαλικό ιστό (246), ε) η βιταμίνη E κινείται προς την περιοχή του οξειδωτικού stress (248), ζ) χορηγώντας τη βιταμίνη E πριν το πείραμα αυξάνουμε τις εφεδρείες της.

Δεν υπάρχουν αρκετές βιβλιογραφικές πληροφορίες για την απαιτούμενη δόση της βιταμίνης E, αλλά, δεδομένου ότι το μέγεθος της βλάβης είναι ανάλογο με το ρυθμό σχηματισμού ελευθέρων ριζών, θα πρέπει μάλλον η δόση να είναι ανάλογη της έντασης του απίου, που "πυροδοτεί" την γένεση EPO₂. Στην παρούσα μελέτη η βιταμίνη E χορηγήθηκε στη σχετικά υψηλή δόση των 50 mg / Kg για πέντε ημέρες πριν την έναρξη του πειράματος, ώστε να αποθηκευθεί σε ικανοποιητικά ποσά στις κυτταρικές μεμβράνες, για να αντιμετωπισθούν οι αυξημένες ανάγκες (236).



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αιμοδυναμικές μεταβολές

Η μέση αρτηριακή πίεση (ΜΑΠ) παρουσίασε «κλινικά» και στατιστικά σημαντική προοδευτική πτώση κατά τη διάρκεια του πειράματος σε όλες τις ομάδες πλην της Α', από τη χρονική στιγμή T_1 μέχρι T_6 (Πιν Β₁, Εικ.11). Η κυκλοφορική ανεπάρκεια προέκυψε πιθανώς από α) ισχαιμία του προμήκους και του νωτιαίου μυελού, β) μεταβολική οξέωση και γ) καρδιακή ανεπάρκεια. Η αδυναμία ανάταξης της αιμοδυναμικής εικόνας των πειραματοζώων, παρά την επαναχορήγηση του αίματος που είχε αφαιρεθεί και τη χορήγηση NaHCO_3 και κρυσταλλοειδών, σημαίνει ότι τα ζώα περιέπιπταν σε κατάσταση μη αναστρέψιμης κυκλοφορικής καταπληξίας.

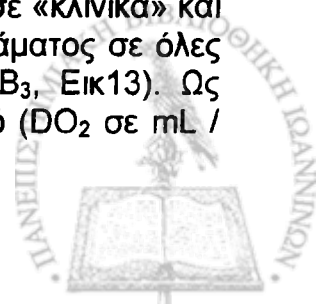
Είναι γνωστό ότι η μετάγγιση αίματος και κρυσταλλοειδών διαλυμάτων κατά την διάρκεια μη αναστρέψιμης καταπληξίας μπορεί να αποκαταστήσει προσωρινά την καρδιακή παροχή και την αρτηριακή πίεση στο φυσιολογικό τους επίπεδο, αλλά σύντομα η καρδιακή παροχή ελαττώνεται και πάλι. Η κατάσταση αυτή οδηγεί αναπότρεπτα στο θάνατο, εξαιτίας αποδιοργάνωσης της λειτουργίας του κυκλοφορικού και κυρίως καταστολής της αντλητικής ικανότητας της καρδιάς. Οι παράγοντες που οδηγούν στην κατάσταση αυτή είναι πολλαπλοί, όπως η μεταβολική οξέωση, η απελευθέρωση κυτταρολυτικών ενζύμων και η εξάντληση των αποθεμάτων των φωσφορικών ενώσεων υψηλής ενέργειας, ιδιαίτερα στην καρδιά και το ήπαρ. Ουσιαστικά το απόθεμα της φωσφορικής κρεατίνης διασπάται και σχεδόν όλο το ATP μετατρέπεται σε ADP, AMP και τελικά αδενοσίνη. Μεγάλο μέρος της αδενοσίνης διαχέεται έξω από τα κύτταρα προς το αίμα και μετατρέπεται σε ουρικό οξύ, μία ουσία που δεν μπορεί να επανέλθει στα κύτταρα, ώστε να αποκαταστήσει το σύστημα φωσφορικών ενώσεων υψηλής ενέργειας. Ο ρυθμός νεοσύνθεσης αδενοσίνης ανέρχεται μόνο σε 2 % περίπου ανά ώρα, πράγμα που σημαίνει ότι τα αποθέματα των κυττάρων σε φωσφορικές ενώσεις υψηλής ενέργειας είναι δύσκολο να αναπληρωθούν αν εξαντληθεί η διαθέσιμη αδενοσίνη. Φαίνεται ότι το κύριο αίτιο της αποδιοργάνωσης του κυκλοφορικού κατά τη μη αναστρέψιμη καταπληξία είναι η εξάντληση των φωσφορικών ενώσεων υψηλής ενέργειας από τα κύτταρα (Guyton 1981). Περαιτέρω, είναι δυνατόν να συμμετέχει ως αίτιο της υπότασης η αδενοσίνη, η οποία παριστά ισχυρό αγγειοδιασταλτικό παράγοντα.

Στην περίπτωση του πειράματός μας, διαδραμάτισε στην εγκατάσταση της κυκλοφορικής ανεπάρκειας -πιθανότατα σημαντικό ρόλο- και η ισχαιμία του αγγειοκινητικού κέντρου (κάτω μέρος του εγκεφαλικού στελέχους). Τα νευρικά κύτταρα του αγγειοκινητικού κέντρου αντιδρούν στην ισχαιμία αρχικά με έντονη διέγερση -που συνεπάγεται διέγερση του συμπαθητικού συστήματος και αρτηριακή υπέρταση-, αλλά τελικά παραλύουν.

Στις δύο τελευταίες φάσεις του πειράματος προέκυψε σημαντική ελάττωση του αριθμού των σφύξεων (βραδυκαρδία), μάλλον εξαιτίας βλάβης του κέντρου της κυκλοφορίας στον προμήκη, αλλά πιθανόν και εξαιτίας ενεργειακής ανεπάρκειας του μυοκαρδίου.

Αέρια αίματος

Η μερική πίεση του οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα (P_{aO_2}) παρουσίασε «κλινικά» και στατιστικά σημαντική προοδευτική πτώση κατά τη διάρκεια του πειράματος σε όλες τις ομάδες πλην της Α', από τη χρονική στιγμή T_1 μέχρι T_6 (Πιν.Β₃, Εικ13). Ως γνωστόν, η ποσότητα O_2 που μεταφέρεται στους ιστούς κάθε λεπτό (DO_2 σε mL /



min) είναι ανάλογη των ανά λεπτό μεταβολικών τους αναγκών (VO_2 σε mL / min) και εξαρτάται από την περιεκτικότητα O_2 (σε mL) σε 100 mL αρτηριακού αίματος (CaO_2) και από την ανά λεπτό ροή αίματος στους ιστούς, δηλαδή την καρδιακή παροχή (CO σε L), ήτοι: $DO_2 = CaO_2 \times CO \times 10$ (το 10 αποτελεί το συντελεστή μετατροπής των L σε dl) (West JB 1977). Το CaO_2 είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης αιμοσφαιρίνης (Hb σε gr) σε 100 mL αρτηριακού αίματος, του κορεσμού της Hb ($SatO_2$) και της PaO_2 , ήτοι: $CaO_2 = [Hb \times SatO_2 \times 1,34] + 0,0031 \times PaO_2$ (το 1,34 αποτελεί το ποσό O_2 που μεταφέρεται από 1 gr Hb). Επομένως: $DO_2 = [(Hb \times SatO_2 \times 1,34) + (0,0031 \times PaO_2)] \times CO \times 10$ (το 10 αποτελεί το συντελεστή μετατροπής των L σε dl). Το 98,5% του O_2 μεταφέρεται με την Hb ($Hb \times SatO_2 \times 1,34$) και μόνο το 1,5% ως φυσικώς διαλυμένο στο πλάσμα ($0,0031 \times PaO_2$ }), η PaO_2 διαδραματίζει όμως σημαντικό ρόλο, καθότι απ' αυτήν εξαρτάται η $SatO_2$ (καμπύλη αποδέσμευσης της οξυαιμοσφαιρίνης). Το O_2 διατίθεται από τα τριχοειδή στα μιτοχόνδρια με ρυθμό ανάλογο με τις ενεργειακές ανάγκες του οργανισμού, ώστε αυτές να καλύπτονται με αερόβιο μεταβολισμό. Γι αυτό οι μεταβολικές ανάγκες των ιστών εκφράζονται από την ποσότητα O_2 που προσλαμβάνει ο οργανισμός κάθε λεπτό: $VO_2 = C(a-v)O_2 \times CO \times 10$, όπου $C(a-v)O_2 = CaO_2 - CvO_2$ και CvO_2 το περιεχόμενο σε 100 mL φλεβικού αίματος O_2 (σε mL), δηλαδή η αρτηριοφλεβική διαφορά O_2 (σε mL / 100 mL αίματος). Το ποσοστό του O_2 που προσλαμβάνει ο οργανισμός από το προσφερόμενο O_2 λέγεται «oxygen extraction ratio» (OER), δηλαδή κλάσμα απόσπασης O_2 ή συντελεστής χρησιμοποίησης O_2 : $OER = VO_2 / DO_2$ ή $OER = C(a-v)O_2 / CaO_2$. Όπως δείχνει η τροποποίηση της εξίσωσης αυτής με σημείο αναφοράς την ανά λεπτό κατανάλωση O_2 ($VO_2 = DO_2 \times OER$) όταν αυξάνονται οι ενεργειακές ανάγκες του οργανισμού αυξάνονται ανάλογα το DO_2 και το OER. Αυτό επιτυγχάνεται με την αύξηση της CO (οπότε αυξάνει το DO_2) και την επιστράτευση τριχοειδών που ήταν κλειστά (οπότε αυξάνει το OER). Από την εξίσωση αυτή φαίνεται επίσης ότι αν ελαττωθεί το DO_2 θα πρέπει να αυξηθεί ανάλογα το OER, προκειμένου να διατηρηθεί η VO_2 , δηλαδή ο αερόβιος μεταβολισμός. Αρα, σε περίπτωση ισχαιμίας, δηλαδή πτώσης της CO και έτσι του DO_2 αυξάνεται ανάλογα το OER και η $C(a-v)O_2$, με επακόλουθο την πτώση της μερικής πίεσης του οξυγόνου και του κορεσμού της Hb στο φλεβικό αίμα (PvO_2 και SvO_2 αντίστοιχα). Οι παραπάνω εξισώσεις μεταφοράς και χρησιμοποίησης του οξυγόνου ισχύουν και για τα καθέκαστα όργανα, αν στη θέση της CO, που αντιπροσωπεύει την άρδευση όλου του οργανισμού, τοποθετηθεί η άρδευση (αιμάτωση) του οργάνου (Q). Έτσι η κατανάλωση O_2 στον εγκέφαλο (περιοχική $VO_2 = CMRO_2$) μεταβάλλεται παράλληλα προς τις ενεργειακές ανάγκες του οργάνου και μεταβάλλει ανάλογα την αιμάτωση και την απόσπαση O_2 (CBF και περιοχικό OER αντίστοιχα). Σε περίπτωση ισχαιμίας του εγκεφάλου, δηλαδή πτώσης της CBF, αυξάνεται ανάλογα το OER_{brain} και η $C(a-v)O_2$, με επακόλουθο την πτώση της μερικής πίεσης του οξυγόνου και του κορεσμού της Hb στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού ($PjvO_2$ και $SjvO_2$ αντίστοιχα). Το OER μέχρι κάποιο όριο και όταν φθάσει τη μέγιστη τιμή του η VO_2 πέφτει παράλληλα προς το DO_2 και προκύπτει κρίσιμη ιστική υποξία (H. Haljamae 1991).

Ως το πιθανότερο αίτιο της υποξαιμίας των πειραματοζώων μας μπορεί να θεωρηθεί η - συνεπεία της κυκλοφορικής ανεπάρκειας- υποάρδευση των ιστών, η οποία συνεπάγεται αύξηση του OER και πτώση της PvO_2 . Η πτώση της PvO_2 συνοδεύεται από πτώση της PaO_2 (D. Dantzker 1990). Η πτώση αυτή είναι σημαντική ακόμη και όταν οι πνεύμονες λειτουργούν φυσιολογικά, ενώ είναι δραματική όταν συνυπάρχει διαταραχή της σχέσης αερισμού \ αιμάτωσης ($V \setminus Q$). Στην περίπτωση του πειράματός μας ενέχεται πιθανότατα διαταραχή της σχέσης $V \setminus Q$ και αύξηση του



shunt, μετά τη φάση της ισχαιμίας, εξαιτίας της εγκατάστασης καρδιακής δυσλειτουργίας και κυκλοφορικής ανεπάρκειας.

Το περιεχόμενο στο αρτηριακό αίμα οξυγόνο (CaO_2) παρουσίασε «κλινικά» και στατιστικά σημαντική προοδευτική πτώση κατά τη διάρκεια του πειράματος σε όλες τις ομάδες πλην της Α', από τη χρονική στιγμή T_1 μέχρι T_6 (Πιν. Β₉, Εικ.19). Η μεταβολή αυτή είναι αναμενόμενη, ως συνέπεια της πτώσης της PaO_2 και του κορεσμού της αιμοσφαιρίνης στο αρτηριακό αίμα.

Ανάλογη μεταβολή παρουσίασε και το περιεχόμενο στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού O_2 ($CjvO_2$) σε όλες τις ομάδες πλην της Α', από τη χρονική στιγμή T_1 μέχρι T_6 , εξ αιτίας της πτώσης της $PjvO_2$ και του $SjvO_2$ (Πιν.Β₁₀, Εικ.20). Η αρτηριοσφαγιτιδική διαφορά οξυγόνου ($CaO_2 - CjvO_2$) παρουσίασε στο τέλος της ισχαιμίας στατιστικά σημαντική αύξηση (από T_1 έως T_2), ενώ στην συνέχεια παρουσίασε προοδευτική και στατιστικά σημαντική μείωση σε όλες τις ομάδες πλην της Α'. Η αρχική αύξηση της $CaO_2 - CjvO_2$ οφείλεται στην ελάττωση της CBF, η οποία συνεπάγεται αύξηση του OER και αντίστοιχη μείωση του $CjvO_2$. Η μείωση της $CaO_2 - CjvO_2$ στους επόμενους χρόνους οφείλεται κατά πάσα πιθανότητα σε δύο λόγους 1) στην μεταισχαιμική αύξηση της CBF, η οποία συνεπάγεται μείωση του OER και αντίστοιχη αύξηση του $CjvO_2$ και 2) στην ελάττωση της χρησιμοποίησης O_2 στον εγκέφαλο, αφ' ενός λόγω δυσλειτουργίας της μικροκυκλοφορίας («no reflow» φαινόμενο) και αφ' ετέρου λόγω μεταβολικής δυσπραγίας των εγκεφαλικών κυττάρων. Η δυσλειτουργία της μικροκυκλοφορίας προκύπτει λόγω μικροθρόμβωσης των τριχοειδών, αύξησης της γλοιότητας του αίματος, συμπίεσης των τριχοειδών από το οίδημα και σύσπασης των προτριχοειδικών σφικτήρων. Η ελάττωση της χρησιμοποίησης του O_2 στα εγκεφαλικά κύτταρα είναι συνέπεια αδρανοποίησης ενζύμων του μεταβολισμού ενέργειας, όπως η πυρουβική αφυδρογονάση (PDH) και τα κυτοχρώματα, από τις EPo_2 .

Ο κορεσμός του αρτηριακού αίματος σε O_2 ($SatO_2$) θα αναμένετο να μεταβάλλεται ανάλογα με την PaO_2 . Εν τούτοις, ενώ αρχικά παρουσίασε αντίστοιχη προς την PaO_2 πτώση, σε μετέπειτα χρονικές στιγμές του πειράματος ο $Sat O_2$ ήταν αναντίστοιχος της PaO_2 , παρουσιάζοντας μεγαλύτερη πτώση (Πιν.Β₇, Εικ.17). Αυτό προέκυψε από το γεγονός ότι η καμπύλη αποδέσμευσης της οξυαιμοσφαιρίνης ήταν μετατοπισμένη προς τα δεξιά (αύξηση του P50), με επακόλουθο ο κορεσμός της Hb να είναι μικρότερος από αυτόν που θα αντιστοιχούσε σε ορισμένη τιμή PaO_2 αν η θέση της καμπύλης ήταν φυσιολογική. Η προς τα δεξιά μετατόπιση της καμπύλης αποδέσμευσης της οξυαιμοσφαιρίνης των πειραματοζώων μας ήταν επακόλουθο της μεταβολικής οξέωσης και της αύξησης της ιστικής $PaCO_2$, εξαιτίας της κυκλοφορικής ανεπάρκειας.

Ο κορεσμός του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού σε O_2 ($SjvO_2$) παρουσίασε μεγάλη πτώση σε όλες τις ομάδες των πειραματοζώων πλην της Α' (Πιν.Β₈, Εικ.18), εξ αιτίας ισχαιμίας του εγκεφάλου και της συνεπαγόμενης αύξησης του OER και της $CaO_2 - CjvO_2$ και πτώσης του $PjvO_2$.

Οξεοβασική ισορροπία

Η μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακος στο αρτηριακό αίμα ($PaCO_2$) και στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού ($PjvCO_2$) δεν παρουσίασε καμία κλινικά σημαντική μεταβολή (Πιν.Β₅, Εικ.15), δεδομένου ότι ήταν ελεγχόμενη -μέσω του μηχανικού αερισμού- στο πλαίσιο της νορμοκαπνίας παράμετρος.

Το pH του αρτηριακού αίματος και του αίματος του σφαγιτιδικού βολβού παρουσίασε «κλινικά» και στατιστικά σημαντική προοδευτική πτώση κατά τη διάρκεια του πειράματος σε όλες τις ομάδες πλην της Α', από τη χρονική στιγμή T_1 μέχρι T_6



(Πιν. Β₁₂ και Β₁₃, Εικ. 22 και 23). Το αρτηριακό αίμα και το αίμα του σφαγιτιδικού βολβού όλων των ομάδων πλην της Α' παρουσίασαν έλλειμμα βάσεως (BE), το οποίο αυξήθηκε προοδευτικά και στατιστικά σημαντικά από τη χρονική στιγμή T₁ μέχρι T₆ (Πιν. Β₁₄ και Β₁₅, Εικ. 24 και 25). Ως γνωστόν, $pH = 6.1 + \log \frac{HCO_3}{(PCO_2 \times 0,03)}$. Δεδομένου ότι η PaCO₂ και η P_vCO₂ των πειραματοζώων μας κυμάνθηκαν σε φυσιολογικά επίπεδα η πτώση του pH προήλθε από ελάττωση του HCO₃, δηλαδή από έλλειμμα βάσεως. Αυτό σημαίνει ότι επρόκειτο για μεταβολική οξέωση και συγκεκριμένα - αφού δεν υπήρχε κάποιο αίτιο απώλειας HCO₃ - για προσθήκη ιόντων H⁺ στο πλάσμα, τα οποία κατανάλωσαν την αλκαλική παρακαταθήκη (H⁺ + HCO₃ → CO₂ + H₂O). Δεδομένης της κυκλοφορικής ανεπάρκειας κατά τις φάσεις αυτές, η πηγή παραγωγής ιόντων H⁺ ήταν η αποικοδόμηση του ATP (ATP → ADP + P_i + H⁺ + Ενέργεια) και η L-γαλακτική οξέωση τύπου A, συνεπεία της ιστικής υποξίας, πράγμα που επιβεβαιώνεται από την αύξηση του γαλακτικού οξέος στο αρτηριακό αίμα και στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού (Πιν. Β₁₆ και Β₁₇, Εικ. 26 και 27). Ως γνωστόν, η κυτταρική υποξία συνεπάγεται διάσπαση του ATP και εκτροπή του μεταβολισμού ενέργειας από την αερόβια σε αναερόβια διαδικασία. Όταν υπάρχει επάρκεια O₂ στα κύτταρα, το πυρουβικό οξύ εισέρχεται στα μιτοχόνδρια και μετατρέπεται σε Ακέτυλο CoA, το οποίο, μεταβολιζόμενο στον κύκλο του Krebs, τροφοδοτεί την αναπνευστική αλυσίδα με ηλεκτρόνια υψηλής ενεργειακής στάθμης. Κατά τη μετάβασή τους από το ένα στο άλλο μέλος της αναπνευστικής αλυσίδας (κυτοχρώματα) τα ηλεκτρόνια αυτά αποδίδουν την ενέργειά τους, η οποία παγιδεύεται στο ATP (ADP + P_i + Ενέργεια → ATP). Τελικός αποδέκτης των χαμηλής πλέον ενεργειακής στάθμης- ηλεκτρονίων είναι το O₂. Όταν όμως δεν υπάρχει επάρκεια O₂ στα κύτταρα το πυρουβικό οξύ δεν εισέρχεται στα μιτοχόνδρια, αλλά -παριστώντας το ίδιο τον τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων- ανάγεται προς γαλακτικό οξύ (αναερόβιος μεταβολισμός γλυκόζης: 2 πυρουβικά + 4ADP + 4P_i → 2 γαλακτικά + 4ATP). Η αδυναμία ανάταξης της μεταβολικής οξέωσης με την ενδοφλέβια χορήγηση NaHCO₃ προέκυψε από το γεγονός ότι -από τη χρονική στιγμή T₂ και εντεύθεν- είχε εγκατασταθεί πλέον, ως πηγή συνεχούς παραγωγής H⁺, το κυκλοφορικό shock.

Η αύξηση της πυκνότητας του γαλακτικού στο αίμα (φ.τ. 1,5 mmol / L) είναι ανάλογη με τη βαρύτητα της ιστικής υποξίας και αποτελεί δείκτη του «συσσωρευμένου ελλείμματος O₂», ο οποίος συσχετίζεται αρνητικά με την επιβίωση. Η αύξηση της πυκνότητας του γαλακτικού στο αρτηριακό αίμα των πειραματοζώων μας (Πιν. Β₁₆, Εικ. 26) κατά τη χρονική στιγμή T₃ προέκυψε από την έκπλυση του -αθροισθέντος στους ιστούς κατά την προηγούμενη φάση της συστηματικής υπότασης- γαλακτικού, μέσω της αύξησης της αιμάτωσης των ιστών κατά τη φάση αυτή. Η αύξησή του γαλακτικού στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού ήταν επί πλέον επακόλουθο της «περιοχικής καταπληξίας» του εγκεφάλου, συνεπεία της παροδικής απολίνωσης των καρωτίδων.

Μεταβολισμός

Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο αρτηριακό αίμα και στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσίασε προοδευτική αύξηση από τη χρονική στιγμή T₁ έως τη χρονική στιγμή T₆. Η αύξηση αυτή ήταν «κλινικά» και στατιστικά σημαντική (Πιν. Β₁₈ και Β₁₉, Εικ. 28 και 29). Ως γνωστόν, κατά το shock αυξάνεται η συγκέντρωση της γλυκόζης στο εξωκυττάριο υγρό και στο αίμα, εξαιτίας της νευροενδοκρινικής διέγερσης που προκύπτει αντιρροπιστικά. Συγκεκριμένα, η ελάττωση του όγκου του αίματος και η αρτηριακή υπόταση προκαλούν την έκκριση των ορμονών κορτιζόλη, γλουκαγόνη



και αδρεναλίνης, οι οποίες αφενός καταστέλλουν τα β-κύτταρα του παγκρέατος, αφετέρου μειώνουν την ευαισθησία των υποδοχέων στην ινσουλίνη. Επιπρόσθετα, οι ορμόνες αυτές προκαλούν διάσπαση του γλυκογόνου του ήπατος και των μυών σε γλυκόζη. Προφανώς, αυτά ήταν τα αίτια της αύξησης της γλυκόζης στο αίμα των πειραματοζώων μας. Σε παρατεινόμενο shock προκύπτει νεογλυκογένεση στο ήπαρ από το γαλακτικό οξύ (μέσω του κύκλου του Cori) και από τα αμινοξέα, τα οποία αποτελούν τα προϊόντα αποδόμησης των πρωτεϊνών, συνεπεία της καταβολικής δράσης της κορτιζόλης και της αδρεναλίνης στους σκελετικούς μύες. Κατά πάσα πιθανότητα δεν συμμετείχε όμως ο μηχανισμός αυτός στην περίπτωση μας, καθότι το πείραμα ήταν βραχυπρόθεσμο.

Οι μικρότερες τιμές της γλυκόζης στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού σε σύγκριση με τις τιμές του αρτηριακού αίματος (Πιν.Β₁₈ και Β₁₉, Εικ. 28 και 29) οφείλονται, κατά πάσα πιθανότητα, στο ότι ο εγκέφαλος αυξάνει το ρυθμό χρησιμοποίησης της γλυκόζης κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό.

Ηλεκτρολύτες ορού

Το Κ⁺ του ορού παρουσίασε μικρή αύξηση σε όλες τις φάσεις και σε όλες τις ομάδες των πειραματοζώων πλην της ομάδας Α' (Πιν.Β₂₀ και Β₂₁, Εικ.30 και 31). Ως αιτίες αυτής της αύξησης μπορούν να θεωρηθούν: α) η μεταβολική οξέωση, η οποία συνεπάγεται έξοδο ιόντων Κ⁺ από τον ενδοκυττάριο χώρο (έπ' ανταλλαγή με Η⁺), β) η δυσλειτουργία της NaK- ATPάσης, συνεπεία της ενεργειακής ανεπάρκειας και της προσβολής της από ΕΡΟ₂ και γ) κάποιος βαθμός κυτταρόλυσης, συνεπεία της ισχαιμίας.

Οι μεταβολές του Na⁺ του ορού (Πιν.Β₂₂ και Β₂₃, Εικ.32 και 33) δεν αξιολογούνται, αφ'ενός διότι ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων και αφετέρου διότι χορηγήθηκε NaCl 0,9% και NaHCO₃ ενδοφλεβίως. Εάν δεν χορηγούνταν νατριούχα διαλύματα θα βρισκόταν πιθανώς πτώση του Na⁺ του ορού, εξαιτίας εισόδου του ιόντος στα κύτταρα, συνεπεία της δυσλειτουργίας της NaK- ATPάσης.

Το Ca⁺⁺ του ορού διακυμάνθηκε εντός φυσιολογικών ορίων σε όλες τις φάσεις του πειράματος (Πιν.Β₂₄ και Β₂₅, Εικ.34 και 35). Θεωρητικά θα αναμενόταν μία διφασική μεταβολή, ήτοι ελάττωση του Ca⁺⁺ του ορού κατά τη φάση της ισχαιμίας / επαναιμάτωσης, εξαιτίας της μαζικής εισόδου του ιόντος στα κύτταρα και αύξηση κατά την τελική φάση του κυκλοφορικού shock, εξ αιτίας εξόδου του από τα κύτταρα, συνεπεία δυσλειτουργίας των καναλιών Ca⁺⁺ και της κυτταρόλυσης.

Οξειδωτικό stress / αντιοξειδωτικό δυναμικό

Η συγκέντρωση της Μαλονικής Διαλδεύδης (MDA) στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσίασε προοδευτική αύξηση σε όλες τις φάσεις και σε όλες τις ομάδες των πειραματοζώων, πλην της ομάδας Α' (Πιν.Β₂₆, Εικ.36). Η αύξηση της συγκέντρωσης της MDA από την χρονική στιγμή T₂ έως και την T₆ ήταν «κλινικά» και στατιστικά σημαντική στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού των πειραματοζώων των ομάδων Α και Β'. Δεδομένου ότι η MDA παριστά αξιόπιστο δείκτη του ρυθμού υπεροξειδωσης των λιπιδίων, το αποτέλεσμα αυτό δείχνει αυξανόμενο οξειδωτικό stress στον εγκεφαλικό ιστό των πειραματοζώων αυτών. Η αύξηση της συγκέντρωσης της MDA δεν ήταν όμως στατιστικά σημαντική στα πειραματοζώα της ομάδας Β. Το εύρημα αυτό δείχνει ότι το αντιοξειδωτικό δυναμικό του εγκεφαλικού ιστού των πειραματοζώων αυτών ήταν μεγαλύτερο σε σχέση με αυτό των ομάδων Α και Β', αφού οι πειραματικές συνθήκες και επομένως -θεωρητικά- και η έκταση του



οξειδωτικού stress του εγκεφάλου ήταν ίδια και στις τρεις αυτές ομάδες. Δεδομένου ότι η ομάδα Β διέφερε από την ομάδα Α μόνο ως προς την -προ του πειράματος- χορήγηση της βιταμίνης Ε και από την ομάδα Β' μόνο ως προς το ότι το σκεύασμα της βιταμίνης Ε περιείχε α-τοκοφερόλη (στην ομάδα Β' χορηγήθηκε μόνο το έκδοχο), φαίνεται ότι η α-τοκοφερόλη περιόρισε το οξειδωτικό stress και κατά συνέπεια προσέφερε σημαντική προστασία στον εγκέφαλο των πειραματοζώων της ομάδας Β.

Η τιμή της Δισμουτάσης του Σουπεροξειδίου (SOD) στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσίασε προοδευτική ελάττωση σε όλες τις ομάδες των πειραματοζώων, πλην της ομάδας Α' (Πιν.Β27, Εικ.37). Η ελάττωση της SOD από την χρονική στιγμή T_2 έως και την T_6 ήταν στατιστικά σημαντική στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού των πειραματοζώων των ομάδων Α και Β', δεν ήταν όμως στατιστικά σημαντική στην ομάδα Β. Η SOD ανήκει, ως γνωστόν στο ενζυμικό αντιοξειδωτικό δυναμικό των κυττάρων. Το ειδικό υπόστρωμα του ενζύμου αυτού είναι η «μητρική ρίζα» $O_2^{\cdot-}$ και συγκεκριμένα ο ρόλος της SOD συνίσταται στην κατάλυση της αντίδρασης $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + SOD + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, όπου η ρίζα $O_2^{\cdot-}$ χάνει την αντιδραστικότητά της, μετατρέπόμενη σε σταθερά μόρια (247). Κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού stress η SOD αφενός καταναλώνεται και αφετέρου οξειδώνεται και αδρανοποιείται, όταν η παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι μαζική (248). Το εύρημα ότι η ελάττωση της SOD στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού των πειραματοζώων της ομάδας Β ήταν μικρή και όχι στατιστικά σημαντική οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το αντιοξειδωτικό δυναμικό του εγκεφαλικού ιστού των πειραματοζώων της ομάδας αυτής ήταν μεγαλύτερο σε σχέση με αυτό των ομάδων Α και Β', αφού οι πειραματικές συνθήκες και επομένως -θεωρητικά- και η έκταση του οξειδωτικού stress του εγκεφάλου ήταν ίδια και στις τρεις αυτές ομάδες. Δεδομένου ότι η ομάδα Β διέφερε από την ομάδα Α μόνο ως προς την -προ του πειράματος- χορήγηση της βιταμίνης Ε και από την ομάδα Β' μόνο ως προς το ότι το σκεύασμα της βιταμίνης Ε που χορηγήθηκε στα πειραματοζώα της ομάδας αυτής περιείχε α-τοκοφερόλη, φαίνεται ότι η α-τοκοφερόλη περιόρισε το οξειδωτικό stress και κατά συνέπεια προσέφερε σημαντική προστασία στον εγκέφαλο των πειραματοζώων της ομάδας Β.

Η συγκέντρωση του Ασκορβικού οξέος (Asc) στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσίασε προοδευτική ελάττωση κατά το χρονικό διάστημα T_2 έως T_6 , σε όλες τις ομάδες των πειραματοζώων, πλην της ομάδας Α' (Πιν.Β28, Εικ.38). Η συγκέντρωση του Διασκορβικού οξέος (DAA) στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσίασε, αντίστροφα, προοδευτική αύξηση κατά το χρονικό διάστημα T_2 έως T_6 , σε όλες τις ομάδες των πειραματοζώων, πλην της ομάδας Α' (Πιν.Β29, Εικ.39). Οι μεταβολές των As και DAA ήταν στατιστικά σημαντικές στα πειραματοζώα των ομάδων Α και Β'. Το As παριστά, ως γνωστόν, ένα ισχυρό αναγωγικό, το οποίο οξειδώνεται, κατά τη διαδικασία της αναγωγής, προς DAA. Κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού stress το As αντιδρά με την οξειδωμένη βιτ.Ε', ανάγοντάς την: $2\text{βιτ.Ε}' + \text{As} \rightarrow 2\text{βιτ.Ε} + \text{DAA}$. Ετσι αναγεννιέται η βιταμίνη Ε και είναι διαθέσιμη να εξουδετερώσει νέες ελεύθερες ρίζες. Η ελάττωση του As και η αύξηση του DAA στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού των πειραματοζώων μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το As συμμετείχε στη διαδικασία του οξειδωτικού stress του εγκεφάλου, όπου καταναλώθηκε μετατραπέν σε DAA. Είναι πιθανόν να προέκυπτε πιο ολοκληρωμένη προστασία του εγκεφάλου, αν χορηγείτο στα πειραματοζώα μας As, επιπρόσθετα της η βιταμίνης Ε.



Ιστοπαθολογικά ευρήματα

⇒ Στην ομάδα A, B και B' όπου πραγματοποιήθηκε I/R ο εγκέφαλος είχε ήπιο οίδημα, με μικρή διόγκωση των ελίκων και στένωση των αυλάκων.

Οι ιστολογικές αλλοιώσεις στις ομάδες A, B και B' ήταν μικροκενοτοπίωση και οξύφιλη μετατροπή του κυτταροπλάσματος, συρρίκνωση του πυρήνα και καρυορρηξία, ενδείξεις χαρακτηριστικές της βλάβης εξ ισχαιμίας. Παρατηρούνται επίσης στρόγγυλες περιοχές του κυτταροπλάσματος με υπολείμματα κατακερματισμένης πυρηνικής ουσίας, όπως και κενोटόπια τα οποία αντιστοιχούν σε αποδομημένα κύτταρα, γνώρισμα της επαναιμάτωσης που υποβλήθησαν τα πειραματόζωα (Robbins 1999).

Στην ομάδα A' δεν παρατηρήθηκαν αυτές οι βλάβες διότι τα πειραματόζωα δεν υποβλήθηκαν σε I/R.

Στην ομάδα B όμως (προστατευόμενη ομάδα) οι ισχαιμικές αλλοιώσεις είναι περιορισμένες ήτοι οι νευρώνες διατηρούν την κυτταρική τους δομή σε μεγαλύτερη έκταση και η εμφανιζόμενη συρρίκνωση είναι ηπιότερη. Τα αποπτωτικά σωματίδια που παρατηρούνται είναι περιορισμένα σε αριθμό. Επομένως είναι πιθανό η βιταμίνη E να προστάτευσε τα πειραματόζωα της ομάδας B από την ισχαιμία επαναιμάτωση που υποβλήθησαν.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο τελικός μηχανισμός της βλάβης του εγκεφαλικού ιστού κατά τα σύνδρομα ισχαιμίας / επαναιμάτωσης (διεθνώς «I / R») του εγκεφάλου φαίνεται να είναι η δημιουργία -από διάφορες πηγές- τοξικών μεταβολιτών του οξυγόνου (O_2) και δη των ελευθέρων ριζών O_2 (EPO_2). Σημαντική πηγή τοξικών μεταβολιτών O_2 αποτελεί ο καταρράκτης του αραχιδονικού οξέος, ο οποίος κινητοποιείται από την ενεργοποιημένη φωσφολιπάση A_2 . Το ένζυμο αυτό ενεργοποιείται από την αυξημένη ενδοκυτταρική συγκέντρωση Ca^{++} , η οποία προκύπτει ως συνέπεια της ισχαιμίας. Ο μεταβολισμός του αραχιδονικού οξέος συνεπάγεται το σχηματισμό -πέραν των EPO_2 - και διαφόρων αγγειοδραστικών ουσιών. Οι EPO_2 προκαλούν μη αναστρέψιμη απώλεια της λειτουργίας των νευρώνων και βλάβη ενδοκυτταρικών οργανυλίων, επειδή οξειδώνουν τα λιπίδια και τα σουλφυδρυλικά ένζυμα, καθώς και άλλες λειτουργικές πρωτεΐνες, όπως οι αντλίες ιόντων. Το νευρικό σύστημα είναι ιδιαίτερα ευάλωτο στις EPO_2 , εξαιτίας - κυρίως - της αφθονίας και της σημασίας των λιπιδίων σε αυτό. Εξάλλου, τα αγγειοδραστικά παράγωγα του αραχιδονικού οξέος, όπως η θρομβοξάνη, μειώνουν την τοπική αιματική ροή στις προσβληθείσες περιοχές του εγκεφάλου, επειδή προκαλούν αγγειοσύσπαση.

Κατά την έρευνα της βλάβης του εγκεφάλου από «I / R» έχουν χρησιμοποιηθεί ποικίλες «προστατευτικές» ουσίες, αλλά καμία δεν έχει -μέχρι τώρα- καθιερωθεί στην κλινική πράξη. Η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E) εξουδετερώνει τις EPO_2 , εμπλουτίζεται στα λιπίδια και είναι ατοξική. Εν τούτοις έχει ερευνηθεί ελάχιστα. Σκοπός της παρούσας πειραματικής μελέτης ήταν να διερευνηθεί αν η α-τοκοφερόλη προστατεύει τον εγκέφαλο από τη βλάβη εξ «I / R».

Η μελέτη έγινε σε νεαρούς κόνικλους υπό γενική αναισθησία και μηχανικό αερισμό. Η ισχαιμία του εγκεφάλου προκλήθηκε με προσωρινή περιδεση και των δύο καρωτιδων αρτηριών και ταχεία αφαίρεση αίματος, τόσης ποσότητας, ώστε η ΜΑΠ να κατέλθει στα ≤ 50 mmHg και η ισχαιμία να είναι ολική. Η διάρκεια της ολικής ισχαιμίας ήταν 10 min, μετά την παρέλευση των οποίων επακολούθησε άρση της περιδεσης και επαναχορήγηση του αίματος, ώστε να γίνει επαναιμάτωση του εγκεφάλου διάρκειας 30 min. Οι ομάδες των πειραματοζώων ήταν οι εξής τέσσερις: α) ομάδα A (n = 6), στην οποία έγινε «I / R», χωρίς την προηγούμενη χορήγηση βιταμίνης E, β) ομάδα B (n = 7), στην οποία έγινε «I / R», μετά προηγούμενη ενδομυϊκή εφάπαξ χορήγηση 50 mg / Kg ΒΣ βιταμίνης E / ημέρα για 5 συνεχόμενες ημέρες (ομάδα θεραπευτικής παρέμβασης), γ) ομάδα A' (n = 5), στην οποία έγιναν όλοι οι χειρισμοί όπως στην ομάδα A, αλλά δεν έγινε «I / R», δ) ομάδα B' (n = 5), στην οποία έγιναν όλοι οι χειρισμοί όπως στην ομάδα B, αλλά, αντί της βιταμίνης E, χορηγήθηκε μόνο το έκδοχο του σκευάσματος της βιτ. E. Το πείραμα περιελάμβανε τις εξής έξι φάσεις: 1) φάση σταθεροποίησης, μετά την αναισθησία και τις προπαρασκευαστικές επεμβάσεις: χρονική στιγμή T_1 = τέλος της φάσης 1, 2) φάση 10λεπτης ισχαιμίας: χρονική στιγμή T_2 = τέλος της φάσης ισχαιμίας - έναρξη επαναιμάτωσης, 3) φάση 5λεπτης επαναιμάτωσης: χρονική στιγμή T_3 = τέλος της φάσης 3, 4) φάση 10λεπτης επαναιμάτωσης: χρονική στιγμή T_4 = τέλος της φάσης 4, 5) φάση 20λεπτης επαναιμάτωσης: χρονική στιγμή T_5 = τέλος της φάσης 5 και 6) φάση 30λεπτης επαναιμάτωσης: χρονική στιγμή T_6 = τέλος της τελευταίας αυτής φάσης. Σε κάθε χρονική στιγμή καταχωρούνταν οι τιμές των αιμοδυναμικών παραμέτρων και



λαμβάνονταν δείγματα αρτηριακού αίματος και αίματος του σφαγιτιδικού βολβού για ανάλυση των αερίων αίματος και της οξεοβασικής ισορροπίας, καθώς και μέτρηση του γαλακτικού, της γλυκόζης και των ηλεκτρολυτών (Na, K, Ca). Στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού προσδιορίζονταν, επιπρόσθετα, η μαλονική διαλδεύδη (MDA), το ασκορβικό και το διασκορβικό οξύ (As και DAA αντίστοιχα), καθώς και η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD), για την ανίχνευση και εκτίμηση του οξειδωτικού stress του εγκεφάλου. Μετά το πέρας της τελευταίας αυτής φάσης του πειράματος ακολουθούσε αφαίρεση του εγκεφάλου ως σύνολο υπό βαθιά αναισθησία, περιτύλιξη του οργάνου με αλουμινόχαρτο και μονιμοποίησή του σε βαθιά ψύξη υγρού αζώτου -70°C , για την -σε δεύτερο χρόνο- λήψη ιστοτεμαχίων και τη μελέτη τους σε οπτικό μικροσκόπιο.

Κατά την έναρξη της επαναιμάτωσης ανήλθε η αρτηριακή πίεση (συστολική, διαστολική και ΜΑΠ) σε ικανοποιητικά για την άρδευση των οργάνων επίπεδα και παρέμεινε ικανοποιητική κατά τις πρώτες φάσεις επαναιμάτωσης, στη συνέχεια προέκυψε όμως προοδευτική πτώση σε όλα τα πειραματόζωα των ομάδων, στις οποίες εφαρμόσθηκε «I / R» (A, B και B'), παρά την αποκατάσταση του όγκου αίματος και τη μερική διόρθωση της μεταβολικής οξέωσης. Στην τελευταία φάση ήταν αδύνατη η αιμοδυναμική ανάταξη, γεγονός που υποδεικνύει την εγκατάσταση μη αναστρέψιμης κυκλοφορικής καταπληξίας, στη γένεση της οποίας σημαντικό ρόλο διαδραμάτισε, πιθανότατα, η ισχαιμία του αγγειοκινητικού κέντρου στο στέλεχος του εγκεφάλου. Οι παράμετροι μεταφοράς και χρησιμοποίησης του O_2 τόσο στη συστηματική όσο και στην εγκεφαλική κυκλοφορία παρουσίασαν σε όλα τα πειραματόζωα των ομάδων, στις οποίες εφαρμόσθηκε «I / R» (A, B και B'), τις αναμενόμενες επί κυκλοφορικής ανεπάρκειας μεταβολές, ήτοι προοδευτική αύξηση της αρτηριοφλεβικής διαφοράς O_2 (αρτηριοσφαγιτιδική διαφορά O_2), -εξαιτίας αύξησης του συντελεστού χρησιμοποίησης O_2 - και προοδευτική πτώση των PaO_2 , SaO_2 , CaO_2 , PjvO_2 , SjvO_2 , CjvO_2 κατά τις φάσεις επιδείνωσης της κυκλοφορικής ανεπάρκειας. Οι τιμές του pH, του BE και του γαλακτικού παρουσίασαν στις ομάδες αυτές προοδευτική μεταβολή συμβατή με την εγκατάσταση αναερόβιου μεταβολισμού, συνεπεία της κυκλοφορικής ανεπάρκειας, τουτέστιν το pH ελαττώθηκε, ενώ το έλλειμμα βάσης και η συγκέντρωση του γαλακτικού στο αρτηριακό αίμα και στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού αυξήθηκαν σημαντικά. Είναι αξιοσημείωτο το εύρημα ότι οι υψηλότερες τιμές της συγκέντρωσης γαλακτικού τόσο στο αρτηριακό όσο και στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσιάσθηκαν αμέσως μετά την έναρξη της επαναιμάτωσης, πιθανότατα εξαιτίας της «έκπλυσης» της ουσίας αυτής από τους περιφερικούς ιστούς και τον εγκεφαλικό ιστό, όπου είχε παραχθεί και συσσωρευθεί κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας.

Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο αρτηριακό αίμα και στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσίασε προοδευτική αύξηση από τη χρονική στιγμή T_3 προς τη χρονική στιγμή T_6 , κατά πάσα πιθανότητα εξαιτίας της νευροενδοκρινικής διέγερσης, συνεπεία του stress της αναισθησίας, των χειρουργικών χειρισμών και της κυκλοφορικής καταπληξίας.

Οι μεταβολές όλων των παραπάνω παραμέτρων ήταν στατιστικά σημαντικές.

Η συγκέντρωση της MDA στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσίασε προοδευτική αύξηση από τη χρονική στιγμή T_3 προς τη χρονική στιγμή T_6 , σε όλες τις ομάδες των πειραματοζώων, στις οποίες εφαρμόσθηκε «I / R» (A, B και B'). Η συγκέντρωση της ουσίας αυτής ήταν σημαντικά χαμηλότερη στα πειραματόζωα της ομάδας B σε σύγκριση με αυτά των ομάδων A και B'. Η τιμή της SOD στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού παρουσίασε προοδευτική ελάττωση από τη χρονική στιγμή T_3



προς τη χρονική στιγμή T_8 , σε όλες τις ομάδες των πειραματοζώων, στις οποίες εφαρμόσθηκε «I / R». Η συγκέντρωση της ουσίας αυτής ήταν σημαντικά υψηλότερη στα πειραματόζωα της ομάδας B σε σύγκριση με αυτά των ομάδων A και B'. Οι συγκεντρώσεις του As και του DAA στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού των πειραματοζώων, στις οποίες εφαρμόσθηκε «I / R» μεταβλήθηκαν σημαντικά, κατ' αντίστροφη κατεύθυνση, ήτοι το μεν As ελαττώθηκε, ενώ το DAA αυξήθηκε, πιθανότατα εξαιτίας της οξειδωσης του As. Οι μεταβολές των συγκεντρώσεων των ουσιών αυτών ήταν σημαντικά μικρότερες στα πειραματόζωα της ομάδας B σε σύγκριση με αυτά των ομάδων A και B'. Οι μεταβολές όλων των παραπάνω παραμέτρων ήταν στατιστικά σημαντικές.

Οι μεταβολές των MDA, SOD, As και DAA στο αίμα του σφαγιτιδικού βολβού των πειραματοζώων δείχνουν ότι η εφαρμοσθείσα στην παρούσα μελέτη «I / R» προκάλεσε οξειδωτικό stress στον εγκέφαλο των πειραματοζώων, κατά το οποίο καταναλώθηκαν SOD και As και δημιουργήθηκαν λιποπεροξειδία και DAA. Το εύρημα ότι οι μεταβολές των ουσιών αυτών ήταν μικρότερου βαθμού στα πειραματόζωα της ομάδας B υποδεικνύει ότι η α-τοκοφερόλη περιόρισε το οξειδωτικό stress.

Το συμπέρασμα αυτό ενισχύεται και από τα ιστολογικά ευρήματα, τα οποία δείχνουν ότι στα πειραματόζωα των ομάδων A, B και B' προέκυψε διάχυτη εγκεφαλική βλάβη με μικροκενοτοπίωση και οξύφιλη μετατροπή του κυτταροπλάσματος, με συρρίκνωση του πυρήνα και καρυορρηξία, με περιοχές του κυτταροπλάσματος όπου υπάρχει κατακερματισμένη πυρηνική ουσία και κενोटτία ήτοι βλάβη τύπου «I / R». Στην ομάδα B η συρρίκνωση είναι ηπιότερη, οι νευρώνες σε μεγαλύτερη έκταση διατηρούν την κυτταρική τους δομή και τα αποπτωτικά σωμάτια είναι περιορισμένα σε αριθμό, επομένως η βλάβη αυτή ήταν μικρότερου μεγέθους.

Φαίνεται δηλαδή ότι η α-τοκοφερόλη προστάτευσε την εγκεφαλική ουσία των πειραματοζώων, στα οποία χορηγήθηκε, από τη βλάβη εξ «I / R».

Συμπεράσματα

1. Η 10-λεπτη ολική ισχαιμία του εγκεφάλου κονίκλων και η επακόλουθη επαναιμάτωση του προκαλεί εκτεταμένη βλάβη τύπου I/R.
2. Σημαντικό ρόλο στην πρόκληση της βλάβης διαδραματίζει το οξειδωτικό stress.
3. Η προηγούμενη χορήγηση 50mg/kg Β.Σ. βιταμίνης E ενδομυϊκά εφ' άπαξ ημερησίως επί πέντε ημέρες προστατεύει τον εγκέφαλο από την βλάβη τύπου I/R.
4. Η παρούσα μελέτη υποδεικνύει ότι η βιταμίνη E, η οποία χορηγείται ήδη εδώ και δεκαετίες στον άνθρωπο για άλλες αιτίες, θα μπορούσε να χορηγηθεί σε κλινικές περιπτώσεις αναμενόμενης ισχαιμίας επαναιμάτωσης του εγκεφάλου, όπως νευροχειρουργικές επεμβάσεις, ανάταξη κυκλοφορικού Shock και καρδιακής ανακοπής, για την προστασία του εγκεφάλου από το οξειδωτικό stress.

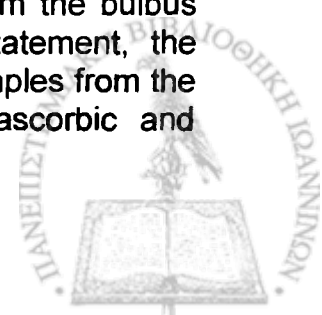


SUMMARY

The existing evidence of research indicates reactive oxygen species, especially oxygen free radicals (OFR), as the terminal molecular mechanism of brain injury, caused by Ischemia - Reperfusion (I / R). Between the sources of reactive oxygen species in I / R the arachidonic acid cascade dominates, initiated by the enzyme phospholipase A₂, which is activated by the increased intracellular [Ca⁺⁺] concentration, caused by ischemia. In addition, the arachidonic acid cascade produces different vasoactive substances. OFR cause permanent loss of neuronal function, as well as destruction of cellular organelles, by induction of lipidperoxidation and inactivation of sulfhydryl enzymes and other functional proteins, e.g. ion-pumps. The nervous system possesses a characteristic sensitivity to free radicals, mainly because of the abundant lipids in its structural web. On the other hand, the vasoconstrictive products of the arachidonic acid cascade cause intracerebral regional blood flow restriction.

During the intensive research on pathophysiology of I / R injury of the brain many substances have been tested to protect brain tissue damage by blocking different pathogenetic mechanisms. However, none of these has been validated for clinical usage. A-tocopherol (vitamin E) has the properties to be enriched in tissular lipids and to scavenge OFR, and it is a known nontoxic molecule. However, it has, substantially, not been tested in this context. The objective of this experimental work was to test if a-tocopherol has a protective effect on I / R injury of the brain.

The study was performed on young rabbits under general anesthesia and mechanical ventilation. Brain ischemia was induced by transient complete block of the two carotid arteries and simultaneous draw of blood to shutdown the animals MAP to the level of ≤ 50 mmHg and achieve a global brain ischemia. Ischemia lasted for 10 minutes and was followed by reperfusion, established by loss of the carotid block and transfusion of the drawn blood, and lasting for 30 min. The study protocol consisted of four groups of experimental animals: a) group A (n = 6), which was subjected into I / R, without any brain protection, b) group B (n = 7), which was subjected into I / R, after precedent intramuscular administration of 50 mg / Kg BW / per day vitamin E for 5 days (the treatment group), c) group A' (n = 5), which was subjected into all procedures like group A, except I / R, d) group B' (n = 5), which was handled like group B, but has not received a-tocopherol, i.e. it received only the vehicle of the vitamin E preparation. The study protocol discriminated the following six phases: 1) phase of stabilization after anesthesia and preparative surgical procedures: time moment T₁ = end of phase 1, 2) phase of ten-minutes ischemia: time moment T₂ = end of ischemia - beginning of reperfusion, 3) phase of five-minutes reperfusion: time moment T₃ = end of phase 3, 4) phase of ten-minutes reperfusion: time moment T₄ = end of phase 4, 5) phase of twenty-minutes reperfusion: time moment T₅ = end of phase 5 and 6) phase of thirty-minutes reperfusion: time moment T₆ = end of this last phase. At every time moment the monitored haemodynamic parameters arterial blood pressure and heart rate were registered, and blood samples from the femoral artery, as well as from the bulbus jugularis were drawn for analysis of blood gases, acid / base statement, the electrolytes Na⁺, K⁺ and Ca⁺⁺, the blood lactate and glucose. The samples from the bulbus jugularis were analyzed also for malondialdehyde (MDA), ascorbic and



diascorbic acid (As and DAA respectively), as well as for superoxide dismutase (SOD), aiming for detection and assessment of oxidative stress.

At the end of the last phase the animals were sacrificed by extraction of the brain as a whole, under deep anesthesia and immediately thereafter the brains were sealed in an aluminium foil and fixed by freezing in -70° C liquid nitrogen for histologic preparation and microscopic study, in a secondary phase.

At the beginning of reperfusion arterial blood pressure raised in adequate perfusion levels and remained stable during the first phases of reperfusion, but declined progressively during the later phases of reperfusion in all animals, which were subjected into I / R (groups A, B and B'), despite transfusion of the drawn blood and partial correction of metabolic acidosis. At the last phase it was not possible to sustain hemodynamic stability, the mainly cause of irreversible circulatory shock being presumably severe brainstem ischemia and shutdown of the vasomotor center. The parameters of oxygen transport and utilization of the systemic and cerebral circulation changed as a result of circulatory failure, i.e. the arterial - venus (bulbus jugularis) oxygen content difference raised and the PaO_2 , SaO_2 , CaO_2 , $PjvO_2$, $SjvO_2$, $CjvO_2$ decreased progressively, due to increased oxygen extraction ratio, during the phases of hemodynamic deterioration in all animals, which were subjected into I / R (groups A, B and B'). The values of pH, BE and Lactate of these groups changed also progressively, as a result of establishment of anaerobic metabolism, due to the circulatory failure, i.e. the pH fell, and the basis deficit, as well as lactate concentration in the arterial and bulbus jugularis blood increased significantly. It is worth noting that the concentration of lactate in the arterial and bulbus jugularis blood has had his peak levels immediately after the beginning of reperfusion presumably because of outwash of this substance from the ischemic peripheral and brain tissues. The concentration of glucose in the arterial and bulbus jugularis blood increased significantly during the reperfusion phases in all animals, which were subjected into I / R, presumably as a result of sympathetic and hormonal activation, caused by the stress of anesthesia, surgical procedures and the circulatory shock.

All previously reported hemodynamic and biochemical changes were statistically significant

The concentration of MDA in the blood of bulbus jugularis increased significantly and progressively at time moments T_3 throughout T_6 in all animals, experienced I / R (groups A, B and B'), being significantly lower in group B. The concentration of SOD in the blood of bulbus jugularis decreased significantly and progressively at time moments T_3 throughout T_6 in all animals, experienced I / R, showing significantly higher values in group B. The concentrations of ascorbic and diascorbic acid (As and DAA respectively) in the blood of bulbus jugularis of all animals, experienced I / R, changed significantly in the opposite direction, i.e. As decreased and DAA increased, presumably because of oxidation of the As. These changes were significantly less in group B in comparison to groups A and B.

All formerly reported biochemical changes were statistically significant. The changes of MDA, SOD, As and DAA in the blood of bulbus jugularis of the experimental animals experienced I / R indicate that the performed in the present protocol I / R induced a significant oxidative stress consuming SOD and As and producing lipoperoxides and DAA in the brain tissues of the animals. The finding that these changes were significantly less in the treated animals (group B) indicates that a-tocopherol effectively protected the brain tissues of these animals from oxidative stress.



This conclusion is supported by the histological findings, which demonstrate that diffuse cerebral lesion was caused to the animals of the groups A, B and B' including formation of vacuole and acidulous transformation of the cytoplasm, with nuclear shrinkage and cytoplasmic areas where smashed nuclear substance and vacuole can be found, i.e. type "I/R" damage. Shrinkage in group B is milder, the neurons maintain in their cellular structure in a greater range and the destructed particles are restricted in number, therefore this lesion was of a lesser extent. It seems obvious that a-tocopherol protected the animals' cerebral tissue to which it was administered from the damage because of "I/R".

Conclusions

1. The ten-minute total brain ischemia in rabbits and the subsequent reperfusion cause extensive damage of the type I/R.
2. The oxidative stress has a major role in the process of the damage.
3. Previous administration of Vitamin E, 50 mg/kg BW once daily for five days, protects the brain from the damage of type I/R.
4. The present study suggests that Vitamin E, which is already being administered to man for other reasons since decades, could also be administered in clinical cases where brain ischemia - reperfusion is expected, such as neurosurgery operations, restoration of circulatory shock and heart stroke, in order to protect the brain from the oxidative stress.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Συγγράμματα

R. K. Brown and F.J. Kelly: Peroxides and other producers in Free radicals, a practical approach 1996, pg;119-131, ed: N. A. PUNCHARD and F.J Kelly, Oxford university press 1996 - London.

DR. Dantzker: The influence of mixed venous PO₂ on arterial oxygenation. In JL Vincent (Ed) "Update in intensive care and emergency medicine 10;132. Sprihger Verlag, 1990.

Detlef Mohr and Roland Stocker: Selective and sensitive measurement of vitamin C and other low molecular weight antioxidants; in Free radicals, a practical approach, pg 271-283, 1996,ed Neville A. PUNCHARD and Frank J.Kelly, Oxford university press 1996 - London.

Goldstein Sara and Gidon Czapski: Superoxide Dismutase in Free radicals, a practical approach pg;240-255 1996 ed: N. A. PUNCHARD and F.J Kelly, Oxford university press 1996-London).

Guyton and Hall. Circulatory Shock and Physiology of its Treatment in Textbook of Medical Physiology, cap.28 pg 333-343, ed Igaku – Shoin /Saunders Philadelphia 1981.

H. Haljamae. Cellular Metabolic Consequencew of Altered Perfusion. In: Tissue Oxygen Utilization edited by G. Gutierrez and J.L.Vincent (Springer-Verlag, Berlin) 1991:71-86.

Li C, Jackson RM: Reactive species mechanisms of cellular hypoxia – reoxygenation injury. Am. J. Physiol. 2002 Feb;282(2):C227-4.

Σ. Μπαλογιάννης. Μορφολογικαί αλλοιώσεις του νευρώνος επί παθολογικών καταστάσεων. Κλινική Νευροπαθολογία 59-72, 1984)

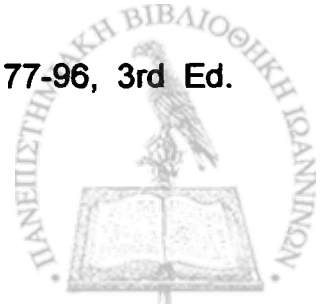
R. Park, A.I.Arieff. Lactic Acidosis: Current Concepts. Clinics in Endocrinology and Metabolism 1983;12(2):339-358.

G. Robbins : Pathologic Basis of Disease. Sixth Edition, W.B. Saunders Company 1999.

B.A.. Summers, J.F. Kummings, A. De Lahunta. Veterinary Neuropathology Ch.5 Degenerative diseases of the central nervous system.237-249 (ed) Mosby, 1995.)

K. Χατζηνικολάου: Η επίδραση της υπεροξίας στον καρδιακό μυ και στους γραμμωτούς μύες. Διδακτορική διατριβή 1992.

West JB.: Ventilation / blood flow and gas exchange, cap 7, pg 77-96, 3rd Ed. Oxford, London, Blackwell Sci. Publ., 1977.



Φ. Τσιτσόπουλος: Πειραματική μελέτη των αγγειακών μικροαναστομώσεων. Διατριβή επί υφηγεσία 1981.

Ειδική βιβλιογραφία

1. E. Horne Craigie: A Laboratory guide to the anatomy of the rabbit; second edition 1966, pp 101-114. University of Toronto, Toronto.
2. WL. Young: Cerebral Blood Flow; When should we be concerned? IARS 68th congress and Review Course Lectures 1994; pp 132-140.
3. Todd M.M, Wu B, Maktabi M, Hindman BJ, Warner DS. Cerebral blood flow and oxygen delivery during hypoxemia and hemodilution: role of arterial oxygen content. *Am. J. Physiol.* 1994; 2:h2025-31.
4. Bouma GJ, Muizelaar JP. Cerebral blood flow, cerebral blood volume and cerebrovascular reactivity after severe head injury. *J Neurotrauma.* 1992;9 suppl 1;s333-s348.
5. Luce JM, Huseby JS, Kirk W, Butler JA. String resistor regulates cerebral venous out flow in dogs. *J Appl. Physiol.* 1982; 53:1496-1503.
6. Lassen N.A, Christensen M.S: Physiology of cerebral blood flow. *Br. J. Anaesth.* 1976; 48:719-734.
7. Tranmer BI, Keller TS, Kindt GW, Archer D. Loss of cerebral regulation during cardiac output variations in focal cerebral ischemia. *J Neurosurg.* 1992; 77:253-259.
8. Aitkenhead AR, Smith G. *Textbook of Anaesthesia* 2nd Edition Churchill, Livingstone 1990.
9. Miletich DJ, Ivankovich AD, Albrecht RF: Absence of autoregulation of cerebral blood flow during halothane and enflurane anesthesia. *Anesth Anal.* 55:100, 1976.
10. Lou HC, Edvinsson L, Mackenzie ET: The concept of coupling blood flow to brain function: Revision required *Ann Neurol.* 1987; 22: 289.
11. Harper AM. Physiology of the cerebral blood flow. *Br. J. Anaesth.* 1965; 37:225.
12. Hans P. Venous oxygen saturation in the jugular bulb. *Update in Intensive Care and Emergency Medicine.* Springer-Verlag 1991;14:516-521.
13. C.D. Deyne, J. Decruyenaere, F.Colardyn: New Insights in the Management of Acute Neurologic crisis using Jugular Bulb Oximetry. In *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine.* Springer-Verlag 1994;638-643.



14. N.M.Dearden. Can jugular venous oxygen saturation identify critical cerebral perfusion pressure after severe brain injury? *British Journal of intensive care* . 1992;7-11.
15. Bo K., B.K. Siesjo. Reviw Article: Cerebral circulation and metabolism. *J. Neurosurg* 1984;60:883-908.
16. Hossman K.A., Kleihues P. Reversibility of ischemic brain damage. *Arch Neurol* 1973;29:375-384.
17. Nordstrom C.H., Siesjo B.K. Effects of henobarbital in cerebral ischemia. Part I. Cerebral energy metabolism during pronoumced incomplete ischemia. *Stroke* 1978;9:327-335.
18. Myers RE, Yamaguchi S: Central nervous system effects of cardiac arrest in monkeys. *Arch Neurol*, 1977;34:65-74.
19. Siesjo BK: Cell damage in the brain : Aspeculative synthesis. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 1981;1:155-185.
20. Pulsinelli WA, Wadman S, Rawlinson D., Plum F: Moderate hyperglycemia augments schemic brain damage: A neuropathologic study in the rat. *Neurology* 1982;32:1239-1246.
21. Siesjo BK. Mechanisms of ischemic brain damage. *Crit Care Med*. 1988;16:954-963.
22. Heiss WD. Flow Thresholds of functional and morphological damage of brain tissue. *Stroke* 1983;14:329-331.
23. Astrup J., Siesjo BK., Symon L. Theresholds in cerebral iscemia - The ischemic penumbra. *Stroke* 1981;12:723-725.
24. Siesjo BK. Cerebral circulation and metabolism. *J. Nneurosurg*. 1984;60:883-908.
25. Harris RJ., Symon L. Extracellular PH, potassium and and calcium activities in progressive iscaemia rat cortex. *J. Cerebral Blood Flow Metab*. 1984;4:178-186.
26. Braston NM., Strong AJ., Symon L.: Extracellular potassium activity, evoked potencial and tissue blood flow. Relationships during progressive ishaemia in baboon cerebral cortex. *J. Neurol, Sci*. 1977; 32:305-321.
27. Siesjo BK., Nilsson L: The influence of arterial hypoxemia upon labile phosphates and upon extracellular and intracellular lactate and pyruvate concentration in the rat brain: *Scand. J. Clin. Lab. Invest* 1971;27:83-96.
28. Astrup J, Symon L., Braston NM., Lassen NA. : Cortical evoked potential and extracellular K⁺ and H⁺ levels in brain ischemia. *Stroke* 1977; 8:51-57.



29. Safford LG., Plum F., Siesjo BK. : Graded hypoxia - oligemia in rat brain. J. Biochemical alterations and their implications. Arch. Neurol. 1973;29:227-233.
30. Fieschi C., Argentino C., Lenzi GL., Sacchetti ML., Toni D., Bozzao L. Clinical and instrumental evaluation of patients with ischemic stroke within the first six hours: J. Neuros. Sci. 1989;91:311-322.
31. Hossman KA., Kleihuesp: Reversibility of ischemic brain damage: Arch. Neurol 1973;29:375.
32. Stys PK et al: Tertiary and quaternary local anesthetics protect CNS white matter from ischemia and hypoxia. Neurophys. 1992;67 (1) 236-239.
33. Leslie Newberg Milde, MD: Pathophysiology of ischemic brain injury: Neurologic Critical Care 1989; 729-753.
34. Sloan T: Clinical applications of electrophysiologic monitoring. 36th Annual ASA refresher course lectures 1985:211.
35. Baloyannis SJ.: Clinical Neuropathology, Vol.III, Thessaloniki 1989;100-168.
36. Hossmann KA: Postischemic resuscitation of the brain. Selective vulnerability versus global resistance. Prog. Brain Res. 1985;63, 3-17.
37. Ames A, Wright RL., Kowada M.: Cerebral ischemia II. The no-reflow phenomenon. Am. J. Pathol. 1968;52:427-435.
38. Hossman KA: Experimental ischemia of the brain. J. Cereb. Blood Flow Metab. 1996;47 14-23.
39. White BC, Wiegstein JG, Wineger CD: Brain Ischemic Anoxia: mechanism of injury. JAMA, 1984; 251:1586-1590.
40. Raichle ME: The pathophysiology of brain ischemia. Ann Neurol 1983;13:2-10.
41. Astrup J, Sorensen PM, Sorensen HR: Inhibition of cerebral oxygen and glucose consumption in the dog by hypothermia, pentobarbital, and lidocaine. Anesthesiology 1981;55:263-268.
42. Hillered L, Ernster L, Siesjo BK: Influence of in vitro lactic acidosis and hypercapnia on respiratory activity of isolated rat brain mitochondria. J cereb Blood Flow Metab 1984;4:430-437.
43. Farber JL, Chien KR, Mitnacht S Jr: Myocardial ischemia: The pathogenesis of irreversible cell injury in ischemia. Am J Pathol 1981;102:271-281.
44. Μπαλογιάννης ΣΙ: Ο ρόλος του ασβεστίου εις την ζωήν και τον θάνατον του νευρικού κυττάρου. Θεσσαλονίκη 1994.



45. White BC, Wiegenstein JG, Wineger CD: Brain Ischemia Anoxia: mechanismus of injury. *JAMA*, 1984;251:1586-1590.
46. Wolfe LS: Eicosanoids: prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes, and other derivatives of carbon-20 unsaturated fatty acidw. *J Neurochem* 1982;38:1-14.
47. Higgs GA, Mugridge KG, Moncada S: Arachidonic acid metabolism and calcium flux. In: Godfraind T, Vanhoutte P, Govoni S, Paoletti R (eds): Calcium entry blockers and tissue protection. Raven Press. New York, 1985, pp51-58.
48. Leslie NewbergMilde : Pathophysiology of ischemic brain injury. *Neurologic Crit. Care Clin.* 1989;5:729-753.
49. Kronggaard-Larsen P: Excitatory amino acid receptors: Multiplicity and specificity of the NMDA and AMPA receptor subtype. In: Simon RP (ed) Excitatory amino acid. Thieme, New York 1992;55-61.
50. Hansen J, Kronggaard-Larsen P:Structural, conformational and stereochemical requirements of central excitatory amino acid receptors. *Med. Res. Rev.* 1990;10:55-94.
51. Albers GW: Potential therapeutic uses of N-methyl-D-aspartate antagonists in cerebral ischemia. *Clin. Neuropharmacol* 1990;13: 177-180.
52. Choi DW, Koh J, Peters S: Pharmacology of glutamate neurotoxicity in cortical cell culture attenuation by NMDA antagonists. *J Neurosci.* 1988;8:185 192.
53. Colins RC: Selective vulnerability of brain. New insights from the excitatory synpse. *Metab. Br. Dis* 1986;1:231-240.
54. Ljunggren B, Norberg K, Siesjo BK: Influence of tissue acidosis upon restitution of brain energy metabolism following total ischemia. *Brain Res.* 1974;77:173-186.
55. Siesjo BK: Acidosis and ischemic brain damage. *Neurochem. Pathol.* 1988;9:31-37.
56. Kraig RP, Pulsinelli WA, Plum F: Heterogenous distribution of hydrogen and bicarbonate ions during complete ishemia. *Prog. Brain Res.* 1985;63:155-166.
57. Sieber FE, Smith DS, Traystman RJ, et al: A re-evaluation of its intraoperative use. *Anesthesiology* 1987;67:72-81.
58. Snyder JV, Nemoto EM, Carroll RG, Safar P: Global ischemia in dogs: Intracranial pressures brain, blood flow and metabolism. *Stroke* 1975;6:21-28.
59. Bredt D, Snyder S. Nitric oxide: A novel neuronal messenger *Neuron* 1992;8:3-11.



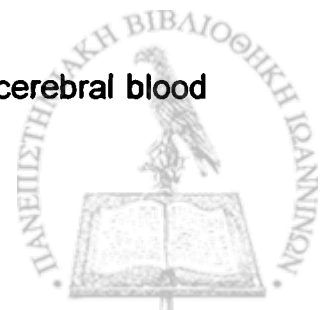
60. Faraci F, Brian J. Nitric oxide and the cerebral circulation. *Stroke* 1994;25:692-703.
61. Zhang Z, Chopp M, Zaloga C, Pollock J, Forstermann U. Cerebral endothelial nitric oxide synthase expression after focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 1993;24:2016-2022.
62. Malinski T, Bailey F, Zhang Z, Chopp M. Nitric oxide measured by a porphyrinic microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1993;13:355-358.
63. Lipton S, Choi Y-B, Pan Z-H. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effect of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Natura* 1993;362:59-62.
64. Bruce DA, Langfitt TW, Miller DJ: Regional cerebral blood flow, intracranial pressure and brain metabolism in comatose patients. *J Neurosurg* 1973;38:131-144.
65. Kuroiwa T, Ting P, Suzuki R, et al: The relationship of the blood-brain barrier opening to the thresholds of regional blood flow in cerebral ischaemia. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1982;41:352-363.
66. Weisiger RA: Oxygen radicals and ischemic tissue injury. *Gastroenterology* 1986;90:494-496.
67. Webster NR, Nunn JF. Molecular structure of free radical and their importance in biological reactions. *Br. J. Anaest.* 1988;60:98-108.
68. Granger DN, Hollworth ME, Parks DA: Ischemia reperfusion injury- role of oxygen derived free radicals. *Acta Physiology Scand.* 1986
69. Klatzo I: Brain oedema following brain ischemia and the influence of therapy. *Br. J. Anaesth.* 1985;57:18-22.
70. Παπαδημητρίου ΣΚ. Γενική παθολογία και παθολογική ανατομική. Κεφ. Κυκλοφορικές διαταραχές. Εκδ. Λίτσας 1990:47-68.
71. Τσιμογιάννης ΕΚ, Λέκκας ΕΘ. Ο ρόλος των ελευθέρων ριζών οξυγόνου στην βλάβη των ιστών από ισχαιμία - επανακυκλοφορία. *Ιατρική* 1991;59:267-274.
72. Ernster L. Biochemistry of reoxygenation injury. *Crit. Care Med.* 1988;16:947-953.
73. Gheng JY, Bonventre JV, Malis CD, Leat A. Calcium and ischemic injury. *N. Engl. J. Med.* 1986;314:1670-1676.
74. Harlan JM. Leukocyte - endothelial interaction. *Blood* 1985;65:513-525.



75. Harlan JM. PMN mediated vascular injury. *Acta chir. Scand. Suppl.* 1987;715:123-129.
76. Schmidley JW. Free radicals in central nervous system ischemia. *Stroke* 1990;21:1086-1091.
77. Ogasawara T, Kan K. Protective effect of the serum against cellular damage by active oxygen inculture. *J. Exp. Med.* 1984;144:9-20.
78. Zimmerman JB, Granger DN. Reperfusion injury. *Surgical Clinics of North America* 1992;72:65-83.
79. Marklund SL. Oxygen toxicity and protective systems. *J. Toxicol* 1985;23:289-298.
80. Cord JM. Oxygen - derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc.* 1987;46:2402-2406.
81. Weiss SJ. Tissue destruction by PMNS. *N. Engla. J. Med.* 1989;320:365-376.
82. Boxer LA, et al. Diminished polymorphonuclear leukocyte adherence. Function dependent of release of cAMP by endothelial cells after stimulation of b-receptors by epinephrine. *J. Clin. Invest.* 1980;66:268-273.
83. Hladovec J. Protective effect of oxygen - derived free radical scavengers on the endothelium in vivo. *Physiol. Bohemoslov* 1985;35:97-103.
84. Bishop CT, Mirza Z, Crapo JD, et al. Free radical damage to cultured porcine aortic endothelial cells and lung fibroblasts: Modulation by culture conditions. *In vitro cel-develop. Biol* 1985;21:229-236.
85. Weiboum CRB, Goldman G, Paterson IS, et al. Pathophysiology of ischemia reperfusion injury central role of the neutrophil. *Br. J. Surg.* 1991;78:651-655.
- 85-1 Barone FC, Feuerstein GZ. Inflammatory mediators and strock: new opportunities for novel therapeutics. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999;19:819-834)
- 85-2 Del Zoppo G. Ginis I, Hallrenbeck JM, Iadecola C, Wang X, Feurtein GZ. Inflammation and strock: putative role for cytokines, adhesion molecullew and iNOS in brain response to ischemia. *Brain Pathol* 2000;10:95-112)
- 85-3. Liu T, Clark RK, McDonnell PC, Yopung PR, White RF, Barone FC, Feuerstein GZ. Tumor necrosis factor alfa expression in ischemic strock. *Strock* 1994;25:1481-1488.
- 85-4. Feuerstein GZ. Inflammatory mediators in brain microvessels. In Welch KMA, Caplan LR, Reis DJ, Siegjo BK, Weir B ed al. *Primer in cerebrovascular diseases.* Academic Press, New York, 1997, pp.220-222).



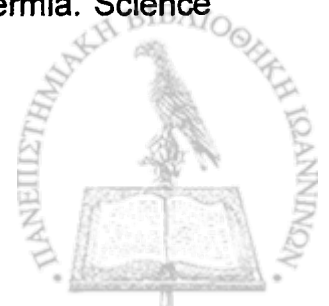
- 85-5. Rabuffetti M, Sciorati C, Tarozzo g, Clementi E, Manfredi AA, Beltramo M. Inhibition of capsase-1-like activity by Ac-tyr-Val-Asp-chloromethyl ketone induces long-lasting neuroprotection in cerebral ischemia through apoptosis reduction and decrease of pro-inflammatory cytokines. *J Neurosci* 2000;20:4398-4404.)
86. Gryglwiski RJ, Palmer RM, Moncada S. Superoxide anion is involved in the break down of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 1986;320-464.
87. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia reperfusion injury. *Am. J. Physiol.* 1988;255H:1269-1275.
88. Τσιμογιάννης ΕΚ, Τσιμογιάννης ΙΚ. Η παθογένεια της ισχαιμίας των ιστών. *Ιατρική* 1989;55:566-574.
89. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, et al. Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke. The European Cooperative Acute Stroke Study (ECASS). *JAMA* 1995;274:1017-1025.
90. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Rt-PA Stroke Study Group. Issue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N. England J. Med.* 1995;333:1581-1587.
91. Branston NM et al. Acute medical therapy of strokes. *Stroke* 1982;13:524-526.
92. Michael J. Harrison G. Protection against ischaemia: The basis of acute stroke therapy. *Current Opinion in Neurology and Neurosurgery* 1992;5:33-38.
93. Heiss WD. Pathophysiology of ischaemic stroke as determined by PET. *Stroke* 1990;21(suppl1):2-3.
94. Cole DJ, Drummond JC, Osborne TN, et al: Hypertension and hemodilution during cerebral ischemia reduce brain injury and edema. *Am. J. Physiol.* 1990;259:H211.
95. Grotta JC, Ackerman R, Correia J, et al. Whole blood viscosity parameters in cerebral blood flow. *Stroke* 1982;13:296-301.
96. Tu YK, Heros RC, Guillerno C, et al: Isovolemic hemodilution in experimental focal cerebral ischemia. Part 1: Effects on hemodynamics hemorrheology and intracranial pressure. *J. Neurosurg* 1988;69:72-81.
97. Czer LSC, Shoemaker WC. Optimal hematocrit value in critically ill postoperative patients. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1978;142:363-368.
98. P. Van der Linden. The Optimal Hematocrit. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine* 1994:227-236.
99. Vorstrup S, Anderson A, Juhler M, et al. Hemodilution increases cerebral blood flow in acute ischemic stroke. *Stroke* 1989;20:884-889.



100. Hemodilution in stroke study group. Hypervolemic hemodilution treatment of acute stroke. *Stroke* 1989;20:317-323.
101. J. Albanese, C. Martin. Emergency Drug Therapy of Closed Head Injury . *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine* 1995:875-886.
102. Syman L, Branston NM, Strong AJ. Autoregulation in acute focal ischemia. *Stroke* 1976;7:547-554.
103. Paulson OB. Regional cerebral blood flow in apoplexy due to occlusion of the middle cerebral artery. *Neurology* 1990;20:63-77.
104. Drummond JC, Cole DJ, et al. Phenyleprine induced hypertension decreases the area of ischemia following middle cerebral artery occlusion in the rat. *Stroke* 1989;20:15-38.
105. Hope DT, Branston NM, Symon L. Restoration of neurological function with induced hypertension in acute experimental cerebral ischaemia.
106. Awad JA, Carter LP, Spetzler RF, et al. Clinical vasospasm after subarachnoid hemorrhage. Response to hypervolemic hemodilution and arterial hypertension. *Stroke* 1987;18:365-369.
107. Fenske A, Kohl J, Regli F, et al. The effect of arterial hypertension on focal ischemic edema: an experimental study. *J. Neurol.* 1978;219:241-251.
108. Sana U. Bhatt, Warren R. Selman, W. David Lust, and Robert A. Ratcheson. Techniques of cerebral protection. *Neurosurgery Quarterly* 1991;4:197-213.
109. Cole DJ, Drummond JC, Ruta TS, Peckham NH. Haemodilution and hypertension effects on cerebral haemorrhage cerebral ischaemia in rats. *Stroke* 1990;21:1333-1339.
110. Sakaki T, Tsunoda S, Utsomi S: The influence of volume expansion with induced hypertension on vessel reactivities. The blood-brain and cerebral infarction in cats with one hour occlusion of the middle cerebral artery. *Neurosurgery* 1990;27:268-274.
111. Inger E, Gillesber I, Steven Roth: Resuscitation of the brain after ischemia. *ASA, Inc.* 1995:81-91.
112. J. R. Maas: Guidelines for management of severe head injury in adults. *Yearbook of Intensive Care and Emergency medicine* 1996:707-715.
113. Siesjo B. K.: Cell damage in the brain a speculative synthesis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1981;1:155-185.



114. Van Den Kerckhoff W, Hossmann K.A, Hossmann V: No effect of prostacyclin on blood flow regulation of blood flow and blood coagulation following global cerebral ischemia. *Stroke* 1983;14:724-730.
115. Tani E, Maeda Y, Fukumori T, et al: Effectiveness of selective inhibitor of thromboxane A2 synthetase on cerebral vasospasm after early surgery. *J. Neurosurgery* 1984;61:24-29.
116. Estrin W.J. :Treatment of acute cerebral ischemia with intravenous aminophylline. *Ann. Neurol.* 1987;3:372-375.
117. Harris RJ, Bayhan M, Branston NM, et al. Modulation of the pathophysiology of primate focal cerebral ischaemia by indomethacin. *Stroke* 1982;13:17-24.
118. Hallenbeck J.M, Furlow T.W. PGI2 and indomethacin prevent impairment of post-ischemic brain reperfusion in the dog. *Stroke* 1979;10:629-637.
119. Demsey RL, Roy MW, Meyer KL, et al: Indomethacin mediated improvement following middle cerebral artery occlusion in cats. *J. Neurosurg.* 1985;62:874-879.
120. Boulu RG, Plotkine M, Gueniau C, et al: Effect of indomethacin in experimental cerebral ischemia. *J. Pathol. Biol.* 1982;30:278-281.
121. Kawamura S, Yasui N, Shirasawa M, Fukasawa H. : Therapeutic effects of Hyperbaric oxygenation on acute focal cerebral ischaemia in rats. *Neurol.* 1990;34:101-106.
122. Kapp J.P. : neurologic response to hyperbaric oxygen. A criterion for cerebral revascularization. *Surg. Neurol.* 1980;15:43-46.
123. Kusske J, Pritz M, Tremper K; Perfluorochemical Emulsions for the treatment of cerebral ischemia. *IAC* 1985;23(1);131-141.
124. Rosomoff H.L. : The effects of hypothermia on the physiology of the nervous system. *Surgery* 1956:328-337.
125. Michenfelder JD: The experts opine on brain protection. *Survey of Anesthesiology* 1987;31:122-125.
126. Brain Protection in Neurosurgery – Do's and Don't's: James E. Cottrell, M.D. Annual Refresher Course Lectures October 9-13, 1999.
127. Xue P, Huang Z-G, Smith K, Bucham A: Immediate or delayed mild hypothermia prevents focal cerebral infarction. *Brain Res.* 1992;587:66-72.
128. Hochachka PW: Defense strategies against hypoxia and hypothermia. *Science* 1986;231:234-241.



129. Minamisawa H, Nordstrom CH, Smith ML, et al: The influence of mild body and brain hypothermia on ischemic brain damage. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 1990;10:365-371.
130. Dietrich WP, Busto R, Valdes I, et al: Effects of normothermic versus mild hyperthermic forebrain ischemia in rats. *Stroke* 1990;21:318-321.
131. Cottrell JE: Brain protection in neurosurgery. *ASA. Annual Refresher Course Lectures*. Lecture 1997;153.
132. Gisvold SE, Safar P, Hendrick HI, Rao G, Moossy J, Alexander H. Thiopental treatment after global brain ischemia in pigtail monkeys. *Anesthesiology* 1984;60:88-96.
133. Abramson NS, Safar P, Detre K, Kelsey S, et al: The results of a randomized clinical trial of brain resuscitation with thiopental. *Anesthesiology* 1983;59A:101-106.
134. Bendo A, Kass IS, Hartung J, Cottrell JE, In Paul C, Barash BF, Collen RH. Stoelting (eds). *Clinical Anesthesiology* 1992;76:161-164.
135. Steven Roth: Resuscitation of the brain following ischemia. *Annual Refresher Course Lectures* 1994;262:1-7.
136. Baughman VL, et al: Cerebral metabolic depression and brain protection produced by midazolam and etomidate in the rat. *J. Neurosurg Anesthesiol.* 1989;1(1)22-28.
137. Marana E, Cavaliere F, Beccia F, et al. Cerebral protection during extracorporeal circulation. *Resuscitation* 1992;10:89-100.
138. Foster A, et al: Effects of midazolam on cerebral blood flow in human volunteers. *Anesthesiology* 1982;56:453-455.
139. Andesterne A, Trempont V, Engelman E, et al: Effect of propofol on cerebral blood flow and metabolism in man. *Anaesthesia* 1988;43(suppl):42-43.
140. Weir DL, Goodchild CS, Graham DI: Effects on indices of cerebral ischemia. *J. Neurosurg. Anesth.* 1989;1:284-289.
141. Ridenour TR, Warner DS, Todd MM, et al: Comparative effects of propofol and halothane an out come from temporary middle cerebral artery occlusion in the rat. *Anaesthesiology* 1992;76:807-812.
142. Milde LN, Milde JH, Michenfelder JD: Cerebral functional, metabolic and hemodynamic effects of etomidate in dogs. *Anesthesiology* 1985;63:371-377.
143. Lambert A, Mitchell R, et al: Direct in vitro inhibition of adrenal steroidogenesis by etomidate. *Lancet*, 1983;11:1085-1088.



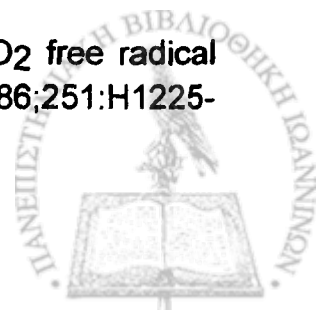
144. Brodie W, Nelson SR: The effect of diphenylhydantoin in energy reserve levels in the brain. *Fed. Proc.* 1978;27:751-755.
145. Yaari Y, Selzer ME, Pincus JH: Phenytoin-Mechanisms of its anticonvulsant action. *Ann. Neurol.* 1986;20:171-183.
146. Werner C, Mollenberg O, Kochs E: Sevoflurane improves neurological outcome following incomplete cerebral ischaemia in rats. *Br. J. Anaesth.* 1995;75:756-760.
147. Messick JM, Casement B, Sharbrongh FW, Milde LN, Michenfelder JD, Sundt TM: Correlation of regional cerebral blood flow with EEG changes during isoflurane anesthesia for carotid endarterectomy. *Critical rCBF. Anesthesiology* 1987;66:344-349.
148. Newberg LA, Milde JH, Michenfelder JD: The cerebral metabolic effects of isoflurane at and above concentrations that suppress the EEG. *Anesthesiology*, 1983;59:23-28.
149. Cucciara RF, Theye RA, Michenfelder JD: The effects of isoflurane on canine cerebral metabolism and blood flow. *Anesthesiology*, 1984;40:571-574.
150. Newberg LA, Michenfelder JD: Cerebral protection by isoflurane during hypoxemia or ischemia. *Anesthesiology* 1983;59:29-35.
151. Ondrias K, Misik V, Gergel D, Stasko A: Lipid peroxidation of phosphatidyl choline liposomes depressed by the calcium channel blockers nifedipine and verapamil and by the antiarrhythmic-antihypoxic drug stobadine. *Biochim. Biophys. Acta*, 1989;1003:238-245.
152. Mohamed AA, Gotoh O, Graham DJ, et al: Effect of pretreatment with the calcium antagonist Nimodipine of local cerebral blood flow and histopathology after MCA occlusion. *Ann. Neurol.* 1985;18:705-711.
153. Jocewicz M, Brint S, Tanahe J, Wang XJ, Pulsinelli WA: The effect of Nimodipine pretreatment on focal cerebral ischemia in the hypertensive rat. In: Scriabine A, Teasdale GM, Tettenborn D, Yong W. (Eds) *Nimodipine, Pharmacological and clinical results in cerebral ischemia*. Spriger, Berlin- Heidelberg- N.Y pp 33-44.
154. Germano IM, Bartkowskilt M, Cassel ME, et al: The therapeutic value of nimodipine in experimental focal cerebral ischemia. *J. Neurosurg.* 1987;67:81-86.
155. Gotoh O, Mohamed AA, McCulloch J, et al: Nimodipine and the haemodynamic and histopathological consequences of middle cerebral artery occlusion in the rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1986;6:321-327.
156. Steen PA, Gisvold SE, Milde JH, Newberg AL, et al: Nimodipine improves outcome when given after complete cerebral ischemia in primates. *Anesthesiology* 1985;62:406-414.



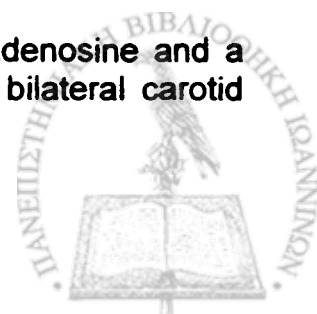
157. Gelmers H, Hennerici M: Effect of nimodipine on acute ischemic stroke. Pooled results from five randomized trials. *Stroke* 1990;21(supl IV):81-84.
158. Roine RO, Kaste M, Kinnunen A, et al: Safety and efficacy of nimodipine in resuscitation of patient outside hospital. *Br. Med. J.* 1987;294:20-26.
159. Newberg LA, Steen PA, Milde JH, et al: Failure of flunarizine to improve cerebral blood flow on neurological recovery in a canine model of complete cerebral ischemia. *Stroke* 1984;15:666-671.
160. Grgoard B, Gerdin B, Arfors KE: Inability of flunarizine, lidoflazine or magnesium to counteract delayed hypoperfusion after forebrain ischaemia in the rat. *Acta Neurochir.* 1988;95:136-142.
161. Brain Resuscitation Clinical Trial Group: A randomized clinical study of a calcium entry blocker (lidoflazine) in the treatment of comatose survivors of cardiac arrest. *N. Engl. J. Med.* 1991;324:1225-1231.
162. Alborch E, Salom JB, Perales AJ, et al: Comparison of the anticonstrictor action of dihydropyridines (nimodipine and nicardipine) and Mg^{2+} in isolated human cerebral arteries. *Eur. J. Pharmacol.* 1992;229:83-89.
163. Haley EC, Kassell NF, Tomer JC: A randomized trial of nicardipine in suprachnoid hemorrhage: angiographic and transcranial Doppler ultrasound results. A report of the Cooperative Aneurysm Study. *J. Neurosurg* 1993;78:548-553.
164. Haley EC, Kassell NF, Tomer JC: A randomized controlled trial of high-dose intravenous nicardipine in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A report of the Cooperative Aneurysm Study. *J. Neurosurg* 1993;78:537-547.
165. Mercier P, Alhayek G, Rizk T, et al: Are the calcium antagonists really useful in cerebral aneurysmal surgery ; A retrospective study. *Neurosurgery* 1994;34:30-36;discussion 36-37.
166. Kass IS, Cotrell JE, Chambers G: Magnesium and cobalt, not nimodipine, protect neurons against anoxic damage in the rat hippocampal slice. *Anesthesiology* 1988;69:710-715.
167. Chumas PP, et al: A comparison of the protective effect of dexamethasone and flunarizine from cerebral hypoxia-ischemia.
168. Mc Cord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. England J. Med.* 1985;312:159-163.
169. Puglia CD, Loeb GA: Influence of rat brain superoxide dismutase inhibition by diethyldithiocarbonate upon the rate of development of central nervous system oxygen toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1984;75:258-264.



170. Webster NR, Nunn: Molecular structure of free radical and their importance in biological reactions. *Br. J. Anaesth.* 1988;60:98-108.
171. Clark IA, Hunt NH, Cowden WB: Oxygen – derived free radicals in the pathogenesis of parasitic disease. *Advances in parasitology* 1986;25:1-44.
172. Gilbert PL: Oxygen and life. *Anesthesiology* 1982;37:100-109.
173. Hauggard N: Cellular mechanisms of oxygen toxicity: *Physiological Reviews.* *Amer. Physiol. Soc.* 1988;48:311-373.
174. Dormandy TL: Free- radical oxidation and antioxidants. *The Lancet* 1978:647-650.
175. Siesjo BK. Cerebral metabolism in hypoxia and ischemia. Therapeutic implications. 3th International steglitz symposium 1989;399-427.
176. Rubes P, Granger DN: Interaction between circulation Granulocytes and Xanthine. Oxidase-derived oxidants in the postischemic intestine. 3rd international steglitz symposium 1989:133-147.
177. Simmons K: Defense against free radicals has therapeutic implications. *Medical News* 1984;251:2187-2192.
178. Forsman M, Fleischer JE, Milde JH, Steen PA, Michenfelder JB: Superoxide dismutase and catalase failed to affect neurologic outcome following complete cerebral ischemia in dogs. *Stroke* 1987;18:128-131.
179. Gisvold SE, Steen PA: Drug therapy in brain ischaemia. *Br. J. Anaesth.* 1985;57:96-107.
180. Laha RK, Dujovny M, Barrionuevo PJ, et al: Protective effects of methyl prednisolone and dimethyl sulfoxide in experimental middle cerebral artery embolotomy. *J. Neurosurg.* 1988;49:508-516.
181. John R. Little, Robert F. Spetzler, Richard A. Roski: Ineffectiveness of DMSO in treating experimental brain ischemia. *Annals NY Academy of Sciences* 1983:269-277.
182. Daniel G Nehls, Robert F. Spetzler: A Review of cerebral protection against ischemia. Part III. Cerebral blood flow by James H. Wood 1987:2-8.
183. Bishop CT, Mirza Z, Crapo JD, Freeman BA: Free radical damage to cultured porcine aortic endothelial cells and lung fibroblasts: Modulation by culture conditions. *In Vitro Cel-Develop-Biol* 1985;21:229-236.
184. Jackson CV, Mickelson JK, Pope TK, Rao PS, Lucchesi BR: O₂ free radical mediated myocardial and vascular dysfunction. *Amer. J. Physiol.* 1986;251:H1225-H1231.



185. Hull DS, Green K, Thomas L, Alderman N: Hydrogen peroxidemediated corneal endothelium damage. *Invest Ophthalmol Vis Science* 1984;25:1246-1253.
186. Weitberg AB, Weitzman SA, Clark EP, Stossel TP: Effects of antioxidants on oxidant-induced sister chromatid exchange formation. *J. of Clin. Invest.* 1985;75:1835-1841.
187. Schwarcz R, Meldrum B: Excitatory amino acid antagonists provide a therapeutic approach to neurological disorders. *Lancet* 1995;2:140-143.
188. Grotta JC, Picone CM, Ostrow PT, et al: A competitive NMDA receptor antagonist. Reduces calcium. Calmodulin binding and improves outcome after global cerebral ischaemia. *Ann. Neurol.* 1990;27:612-619.
189. Ulmatsu D, Araki N, Greenberg J: Combined therapy with MK801 and Nimodipine for protection of ischaemic brain damage. *Neurolog.* 1991;41:88-94.
190. Oyzuart E, Graham DI, et al: Protective effect of the glutamate antagonist, MK-801 in focal cerebral ischemia in the cat. *J.Cereb. Blood Flow Metab.* 1988;8:138-143.
191. Siesjo BK, Bengtsson F: Calcium fluxes, calcium antagonists and calcium-related pathology in brain ischemia, hypoglycemia and spreading depression: a unifying hypothesis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1989;9:127-140.
192. Izumiyama K, Kogure K: Prevention of delayed neuronal death in gerbil hippocampus by ion channel blockers. *Stroke* 1988;19:1003-1007.
193. Croucher MJ, Collins JF, Meldrum B: Anticonvulsant action of excitatory amino acid antagonists *science* 1992;216:899-901.
194. Park CK, Nehls DG, Graham DI, et al: Focal cerebral ischaemia in the cat: Treatment with the glutamate antagonist MK-801 after induction of ischaemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1988;8:757-762.
195. Bullock R, Graham DI, Chen MH, et al: Focal Cerebral Ischaemia in the cat: Pretreatment with a comperative NMDA-receptor antagonist D-CPP-ene. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1990;10:668-674.
196. Simon R, Shirasht K: N-Methyl-D-Aspartate antagonist reduces stroke size and regional glucose metabolism. *Ann. Neurol.* 1990;27:606-611.
197. Butcher SP, Bullock R, Graham DI, et al: Correlation between amino acid release and neuropathological outcome in the rat brain following middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 1990;21:1727-1733.
198. Dux E, Fastbom J, Ungerstedt U, et al: Protective effect of adenosine and a novel xanthine derivative propentofylline on the cell damage after bilateral carotid occlusion in the gerbil hippocampus. *Brain Res.* 1990;516:248-256.



199. Gustafsen I, Westerberg E, Wieloch T: Protection against ischaemia induced neuronal damage by the alpha2-adrenoceptor antagonist idazoxan: Influence of time of administration and possible mechanisms of action. *J. cereb. Blood flow Metab.* 1990;10:885-894.
200. Sheardown MJ, et al: 2,3-Dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo (F) quinoxaline: A neuroprotectant for cerebral ischemia. *Science* 1990;247:571 - 574.
201. Buchan A: Do NMDA antagonists protect against cerebral ischemia; are clinical trials warranted; *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.* 1990;2:1-26.
202. Anderson DC, Cranford RE: Corticosteroids in ischemic stroke. *Stroke* 1989;10:68-71.
203. Fishman R.A: Steroids in the treatment of brain edema. *N. Engl. J. Med.* 1982;306:359-361.
204. Norris J.W: Steroid therapy in acute cerebral infraction. *Arch. Neurol.* 1986;33:69-71.
205. Sapolsky RM, Pulsinelli WA: Glucocorticoids potentiate ischemic injury to neurons. *Scienc*, 1985;229:1379-1400.
206. Hall ED: The neuroprotective pharmacology of methyl-prednisolone. *J. Neurosurg.* 1992;76:13-22.
207. Marmarou A, Tabaddor k: Intracranial pressure physiology and pathophysiology in head injury. M. Cooper (ed). *J.B. Lippincot Co Philadelphie* 1993:203-232.
208. Ravussin p, Abou- Madi M, Archer D, Chiolero R, Freman J ed all: Changes in CSF pressure after mannitol in patients with and without elevated CSF pressure. *J Neurosurg.* 1988;69:869-876.
209. Jafar J, Johns LM, Mullan SF: The effect of mannitol on cerebral blood flow. *J. Neurosurg.* 1986;64:754-759.
210. Little JR: Modification of acute focal ischemia by treatment with mannitol and high dose dexamethasone. *J. Neurosurg.* 1978;49:517-524.
211. J. Suzuki, H. Abico, K. Mizoi, M. Oba, T. Yoshimoto: Protective Effect of Phenytoin and Its Enhanced Action by Combined Administration with Mannitol and Vitamin E in Cerebral Ischaemia. *Acta Neurochir.* 1987;88:56-64.
212. R.M.Chesnut: Guidelines for the Management of Severe Head Injury. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine* Ed. By J.L.Vincent.



213. Schwarz S, Schwab S, Bertram M, Aschoff A, Hacke W: Effects of hypertonic saline hydroxyethyl starch solution and mannitol in patients with increased intracranial pressure after stroke. *Stroke* 1998;29:1550-1555.
214. Wolf A, Levi L, Marmaron A, et al. Effect of THAM upon outcome in severe head injury: a randomized prospective clinical trial. *J. Neurosurg.* 1993;78:54-59.
215. Rosner MJ, Becker DP: Experimental brain injury: successful therapy with the weak base, tromethamine with an overview of CNS acidosis. *J. Neurosurg.* 1984;60:961-971.
216. M. Bertram, S. Schwab, W. Hacke: Emergency Treatment and Intensive Care in Ischemic Stroke. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine* 1999:333-343.
217. Hosobushi Y, Baskin DS, Wook SK: A reversal of neurologic deficit by opiate antagonist naloxone after cerebral ischemia in animals and humans. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1982;2:S98.
218. Cullen JP, Aldrete JA, Jankovsky L, et al: protective action of phenytoin in cerebral ischemic hypoxia. *Anesth. Analg.* 1979;58:165-169.
219. Brodie W, Nelson SR: The effect of diphenylhydantoin in energy reserve levels in the brain. *Fed. Proc.* 1978;27:751-756.
220. Artru AA, Michenfelder JD: Cerebral protective, metabolic, and vascular effects of phenytoin. *Stroke* 1980;11:377-382.
221. Ferziger AP, Liuzzi SE, Dunham PB: Diphenyl-hydantoin, Stimulation of potassium influx in lobster axons. *Brain res.* 1981;33:592-596.
222. Weitberg AB, Weitzman SA, Clark EP, Stossel TP: Effect of antioxidants on oxidant-induced sister chromatid exchange formation. *J. of Clin. Invest* 1985;75:1835-1841.
223. Sanfey H, Bulkley GB, Cameron JL: The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Annals of Surgery* 1984;200:405-413.
224. Siesjo BK: Cerebral metabolism in hypoxia and ischemia. Therapeutic implication. 3rd international steglitz symposium 1989;399-427.
225. Dormandy TL: Free-radical oxidation and antioxidants. *The Lancet* 1978:647-650.
226. Slater TF: Free radicals and tissue injury: fact and fiction. *Br. J. Cancer* 1987;55,suppl VIII)5-10.



227. Halliwell B, Grootveld M: The measurement of free radical reactions in humans. Some thoughts for future experimentation. *Febs. Letters* 1987;213:9-14.
228. Ferrari R, Ceconi E, Curello S, Cargnoni A, Medici D: Oxygen free radicals and reperfusion injury; the effect of ischemia and reperfusion on the cellular ability to neutralise oxygen toxicity. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1986;18: (suppl.4) 67-69.
229. Puglia CD, Loeb GA: Influence of rat brain superoxide dismutase inhibition by diethyldithiocarbamate upon the rate of development of central nervous system oxygen toxicity. *Toxicol Appl. Pharmacol.* 1984;75:258-264.
230. Simmons K: Defense against free radicals has therapeutic implications. *Medical News* 1984;251:2187-2192.
231. Fox RB: Prevention of granulocyte-mediated oxidant lung injury in rats by a hydroxylradical scavenger, dimethylthiourea. *J. Clinical Invest* 1984;74:1456-1464.
232. Halliwell B, Gutteridge JM: Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *J. Biochem.* 1984;219:1-14.
233. Hladovec J: Protective effect of oxygen-derived free radical scavengers on the endothelium in vivo. *Physiol. Bohemoslov* 1985;35:97-103.
234. Nakamura H, Takada S, Shimabuku R, Matsuo T, Obara H: Effect of vitamin E on the response of lung antioxidant enzymes in young rats exposed to hyperoxia. *Kobe J. Med. Sci.* 1987;33:53-63.
235. Goodman LS, Gilman AG: Fat soluble vitamins, in: the Pharmacological basis of therapeutics. Gilman AG, Goodan LS, Roll TW, Murad F (Eds). Mac millan publishing company, New York 1985:1586-1591.
236. Jackson RM: Pulmonary oxygen toxicity. *Chest* 1985;88:900-905.
237. Bardosi A, Dickmann V: Necrotizing myopathy with paracrystalline inclusion bodies in hypervitaminosis E. *Acta Neuropathl. (Berl)* 1987;75:166-172.
238. Bishop CT, Mirza Z, Crapo Jd, Freeman BA: Free radical damage to cultured porcine aortic endothelial cells and lung fibroblasts: Modulation by culture conditions. *In Vitro Cel-Develop-Biol* 1985;21:229-236.



239. Bertrand Y, Artoisenet A, Allard B, Barbier B, De Menlder A, Raynovent M, Mathieu P, Dumont E: Lipid peroxidation and alpha-tocopherol during an acute respiratory failure after near drowning. *Intens. Care Med.* 1985;11:65-67.
240. Frank L, Nerlishi K: Endotoxin treatment protects vitamin E-deficient rats from pulmonary O₂ toxicity. *Amer. J. Physiol.* 1984;247:R 520-R526.
241. Webster NR, Nunn JF: Molecular structure of free radical and their importance in biological reactions. *Br. J. Anaesth.* 1988;60:98-108.
242. Clark IA, Hunt NH, Cowden WB: Oxygen – derived free radicals in the pathogenesis of parasitic disease. *Advances in parasitology* 1986;25:1-44.
243. Richard J. Traystman, Jeffrey R. Kirsch, and Raymond C. Koehler. Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion; brief review in *American Physiological Society* 1991, p.1185-1195.).
244. Sara Goldstein and Gidon Czapski: Superoxide Dismutase in Free radicals, a practical approach pg;240-255 1996 ed: N. A. PUNCHARD and F.J Kelly, Oxford university press 1996-London.
245. R. K. Brown and F.J Kelly: Peroxides and other producers in Free radicals, a practical approach 1996, pg;119-131, ed: N. A. PUNCHARD and F.J Kelly, Oxford university press 1996 - London.
246. Detlef Mohr and Roland Stocker: Selective and sensitive measurement of vitamin C and other low molecular weight antioxidants; in Free radicals, a practical approach, pg 271-283, 1996,ed Neville A. PUNCHARD and Frank J.Kelly, Oxford university press 1996 - London.
247. B. M. Pereira, P. H. Chan, P.R. Weinstein and R. A. Fishman: Cerebral Protection During Reperfusion with Superoxide Dismutase in Focal Cerebral Ischemia; *Advances in Neurology*, vol.52, 97-103, 1990.
248. Turrens F, Crapo JD, Freeman BA: Protection against oxygen toxicity by intravenous injection of liposome entrapped catalase and superoxide formation. *J Clin Invest* 1984;73:87-95.

