

MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI, ROMAN GADAMSKI

WPLYW INDOMETACYNY NA NIEDOKRWIENNE USZKODZENIA SEKTORA CA₁ ROGU AMONA U CHOMIKÓW MONGOLSKICH

Zakład Neuropatologii, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN,
Warszawa

Poglądy na działanie indometacyny w warunkach niedokrwienia mózgu są kontrowersyjne. Obok opinii o jej osłaniającym wpływie na regulację przepływu krwi w mózgu, zaburzonego w okresie po niedokrwieniu (Furlow, Hallenbeck 1978; Boulu i wsp. 1982; Kärgrström i wsp. 1983), wypowiedane są zdania o jej wręcz szkodliwym oddziaływaniu (Harris i wsp. 1982). Hallenbeck i Furlow (1979) oraz Hallenbeck i wsp. (1980) wykazali z kolei jej wpływ ochronny tylko w warunkach równoczesnego stosowania z prostacykliną PGI₂ i heparyną. We wcześniejszych badaniach własnych stwierdzono, iż indometacyna pozostając bez wpływu na objawy uogólnionego przekrwienia mózgu, występującego po niedokrwieniu oraz obecność wtórnych ognisk niedokrwienia w obszarach pogranicza unaczynienia przez duże pnie tętnicze, zapobiegała skutecznie uogólnionym zaburzeniom mikrokrążenia, obejmującym praktycznie wszystkie formacje szare ośrodkowego układu nerwowego (Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1982). Redukowała ona stopień uszkodzeń tkankowych i ograniczała je do wspomnianych powyżej obszarów tzw. ostatniej łąki (Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1983). Badania mikroskopowo-elektronowe wykazały, iż indometacyna zapobiegała uogólnionemu obrzęknięciu komórek glejowych oraz pozwalała na utrzymanie strukturalnej integralności neuronów w większości formacji szarych (Mossakowski, Gajkowska 1984). W oparciu o te spostrzeżenia wysunięto przypuszczenie, że podstawą korzystnego wpływu indometacyny w warunkach niedokrwienia mózgu jest jej działanie cytoprotekcyjne. Przedstawione powyżej obserwacje uzyskano w modelu drastycznego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego, stanowiącego skutek 30-minutowego podwiązania tętnic szyjnych wspólnych, w którym możliwe jest współdziałanie różnych mechanizmów patogenetycznych uszkodzenia tkanki nerwowej. Skłoniło to do próby oceny wpływu indometacyny w warunkach mniej

ciężkiego niedokrwienia. Modelem z wyboru wydawało się 5-minutowe obustronne podwiązanie tętnic szyjnych wspólnych u chomików mongolskich, którego jedynym następstwem jest powtarzalny zanik komórek piramidowych w sektorze CA₁ rogu Amona, występujący po upływie 3—5 dni od incydentu niedokrwieniowego (Suzuki i wsp. 1983a,b), a uznany za wykładnik tzw. dojrzewania procesu patologicznego (Klatzo 1975).

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na chomikach mongolskich (*Meriones unguiculatus*), dorosłych samcach o masie ciała około 75 g, którym w narkozie wziewnej (eter lub 2% narkotan podawany w układzie otwartym w mieszaninie gazowej składającej się z 70% azotu i 30% tlenu) zaciskano obustronnie tętnice szyjne wspólne przy użyciu klipsów Heifetza na czas 5 lub 7,5 min. Po zabiegu pozostawiano je w warunkach zwierzętarnianych. Zwierzęta zabijano po upływie 5 i 7 dni przez przezsercową perfuzję przy użyciu zbuforowanego 10% roztworu formaliny.

Grupa doświadczalna I obejmowała 15 zwierząt, które na 45 min przed 5-minutowym (10 zwierząt) lub 7,5-minutowym (5 zwierząt) zaciśnięciem tętnic szyjnych wspólnych, otrzymywały dootrzewnowo iniekcję indometacyny (Merck-Sharp and Dohme Res. Lab. USA) w dawce 8 mg/kg masy ciała. Roztwór indometacyny przygotowywano na świeżo przed każdym doświadczeniem, rozpuszczając sproszkowaną substancję w 70% alkoholu etylowym (5 mg/03 ml), a następnie rozprowadzając go w 5 ml płynu Krebsa—Ringera wysyconego dwutlenkiem węgla. Zwierzęta usypiano po upływie 5 i 7 dni od niedokrwienia mózgu.

Grupa doświadczalna II liczyła 10 zwierząt. Czas niedokrwienia mózgu, podobnie jak w grupie I, wynosił 5 (5 zwierząt) i 7,5 (5 zwierząt) minut. Różniła się ona od grupy poprzedniej dwukrotnym podaniem indometacyny w dawce 8 mg/kg masy ciała. Pierwszą iniekcję stosowano 45 min przed zaciśnięciem tętnic szyjnych, a drugą 5 godz. po niedokrwieniu. Czas przeżycia w obu podgrupach czasowych wynosił 5 dni.

Grupa doświadczalna III, obejmująca 5 zwierząt z 5-minutowym podwiązaniem tętnic szyjnych, różniła się od poprzednich czasem podania leku. Pojedynczą jego dawkę otrzymywały one w 3 godz. po niedokrwieniu mózgu. Czas przeżycia — 5 dni.

Grupa kontrolna liczyła łącznie 24 zwierzęta, których poza podwiązaniem tętnic szyjnych nie poddawano innym zabiegom doświadczalnym. U 18 zwierząt czas niedokrwienia mózgu wynosił 5 min; u 6 przedłużono go do 7,5 min. Usypiano je w większości po 5 dniach, w nielicznych przypadkach czas przeżycia wynosił 7 dni. Zwierzęta kontrolne otrzymywały w analogicznych do zwierząt doświadczalnych układach czasowych dootrzewnowo iniekcję płynu Krebsa—Ringera. Dodatkową kontrolę

stanowiły 3 chomiki mongolskie nie poddane żadnym zabiegom doświadczalnym.

Po wykonaniu perfuzji mózgi wyjmowano z jamy czaszki pozostawiając je w płynie perfuzyjnym przez 5 dni. Następnie krojono je na bloki cięciami w płaszczyźnie czołowej. Blok tkankowy zawierający pełny przekrój rogu Amona przeprowadzano w sposób rutynowy do parafiny. Skrawki parafinowe o wystandaryzowanej grubości 10 μm barwiono fioletem krezylu.

Dla ilościowej charakterystyki zmian przeprowadzono badania morfometryczne. Dzięki pasmowemu, jednowarstwowemu układowi komórek piramidowych sektora CA₁ rogu Amona, analizę morfometryczną wykonaną przy użyciu rutynowej siatki, oparto na obliczeniu liczby komórek w powtarzalnym 0,3 mm jego odcinku. Każde obliczenie przeprowadzano na 5 kolejnych skrawkach pochodzących z 3—5 zwierząt. Uśrednioną liczbę neuronów przypadających na pojedynczy 0,3 mm odcinek sektora CA₁ u zwierząt nie poddanych żadnemu zabiegowi doświadczalnemu traktowano jako 100%, do których odnoszono zmiany ilościowe stwierdzone u zwierząt doświadczalnych i kontrolnych. Znamienności statystyczne obliczano przy użyciu testu dla średnich niezależnych.

WYNIKI

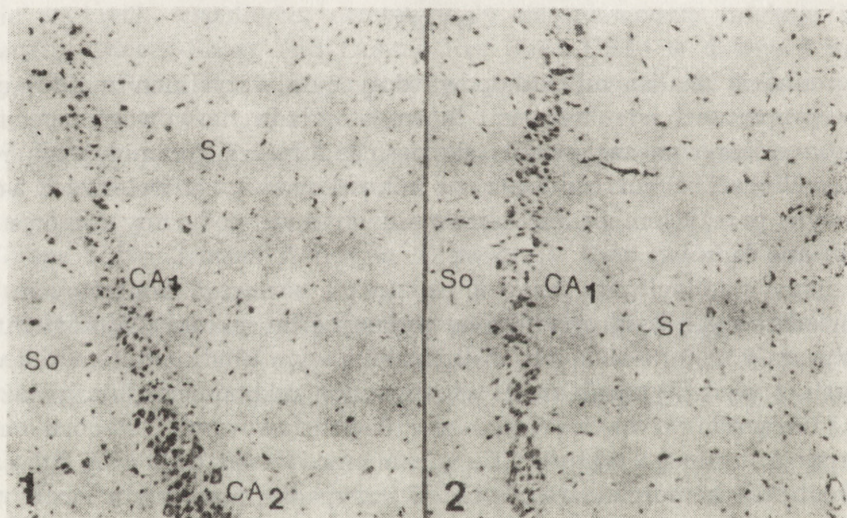
Pomimo iż analiza mikroskopowa dotyczyła wszystkich znajdujących się w preparatach struktur ośrodkowego układu nerwowego, specjalną uwagę zwrócono na zachowanie się pasma komórek piramidowych rogu Amona. Wobec braku różnic obrazu mikroskopowego u zwierząt z 5-i 7-dniowym przeżyciem po niedokrwieniu obydwie podgrupy czasowe po-traktowano łącznie.

Zmiany patologiczne zarówno w grupie zwierząt kontrolnych, jak i doświadczalnych były ograniczone wyłącznie do sektora CA₁ rogu Amona. Wyrażały się one całkowitym lub częściowym ubytkiem komórek nerwowych, z wyraźnym, niekiedy warstwowym rozplemem gleju gwiaździstego. Pozwoliło to na wprowadzenie 3 podstawowych kategorii oceny stanu strukturalnego sektora CA₁: niezmienny oraz całkowity lub częściowy ubytek komórek nerwowych. W przypadku pierwszym liczba neuronów przypadających na uśredniony 0,3 mm odcinek sektora CA₁ wynosiła $44,7 \pm 2,5$, analogicznie jak u zwierząt nie poddanych żadnym zabiegom doświadczalnym, w drugim — nie stwierdzano całkowicie komórek nerwowych w całym obszarze sektora CA₁ lub tylko ich pojedyncze egzemplarze. Zróznicowanie natężenia uszkodzeń struktury sektora CA₁, w grupie określonej jako „zanik częściowy” wymagało bliższej ilościowej charakterystyki stopnia uszkodzeń w oparciu o morfologiczną analizę proporcji zachowanych komórek nerwowych. Pozwoliła ona na wyróżnienie trzech stopni uszkodzenia, określonych jako znaczny (1°), umiarkowany

(2°) i nieznaczny (3°) ubytek neuronów. W przypadku 1° średnia liczba zachowanych komórek nerwowych w 0,3 mm odcinku sektora CA₁ wynosiła $15,7 \pm 4,3$, w 2° — $23,6 \pm 4,1$ a w 3° — $33,0 \pm 4,7$. Stanowiło to odpowiednio 35,1, 52,7 i 73,8% wartości prawidłowych. Analiza statystyczna wykazała wysoką znamienność różnic pomiędzy poszczególnymi grupami i każdą z nich w stosunku do wartości prawidłowej ($p \leq \leq 0,0001$).

Zwierzęta kontrolne

Spośród 18 zwierząt z 5-min niedokrwieniem mózgu zmiany patologiczne w sektorze CA₁ rogu Amona stwierdzono w 9 przypadkach, co stanowiło 50% badanego materiału. U 5 chomików wyrażały się one całkowitym zanikiem komórek piramidowych z wtórnym odczynem wytwórczym gleju gwiaździstego, zachowującym warstwowy układ struktury (ryc. 1). W pozostałych 4 przypadkach stwierdzono ubytki komórkowe o różnym nasileniu, z przewagą nieprawidłowości zakwalifikowanych do stopnia 1 i 2 (ryc. 2, 3, 4). Ubytkom komórkowym towarzyszyło zwyrodnienie znacznej części zachowanych neuronów. W 9 przypadkach obraz mikroskopowy całego pasma komórek piramidowych rogu Amona,

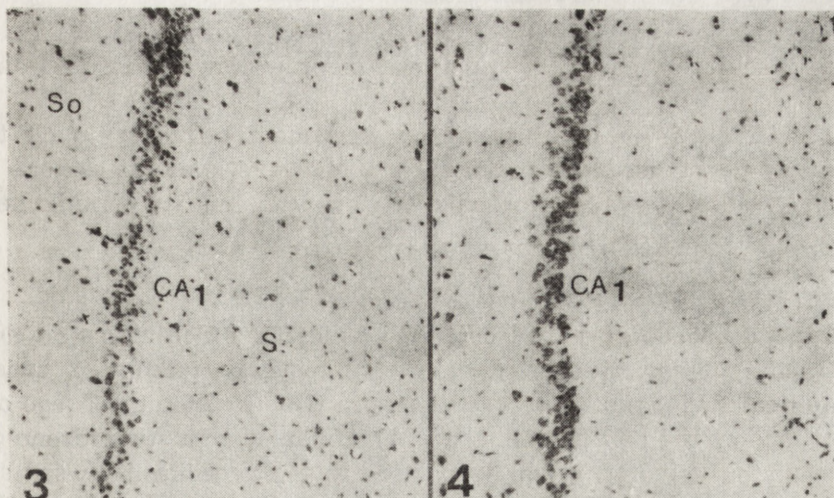


Ryc. 1. Zwierzę kontrolne z 5-min niedokrwieniem bez podawania indometacyny, 5 dni przeżycia. Całkowity zanik neuronów w sektorze CA₁. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×, CA₁ — sektor CA₁ rogu Amona, CA₂ — sektor CA₂, So — warstwa brzeżna, Sr — warstwa promienista

Fig. 1. Control animal, 5 min ischemia without indomethacin pretreatment, 5 days survival. Total loss of CA₁ neurons with secondary glial proliferation. Cresyl violet. × 100. CA₁ and CA₂ — CA₁ and CA₂ sectors of Ammon's horn, So — stratum oriens, Sr — stratum radiatum

Ryc. 2. Zwierzę kontrolne z 5-min niedokrwieniem bez podawania indometacyny, 5 dni przeżycia. Częściowy zanik neuronów sektora CA₁. Zachowanych ok. 30% komórek. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 2. Control animal, 5 min ischemia without indomethacin pretreatment, 5 days survival. Partial loss of CA₁ neurons: ca 30% of neuronal population is preserved

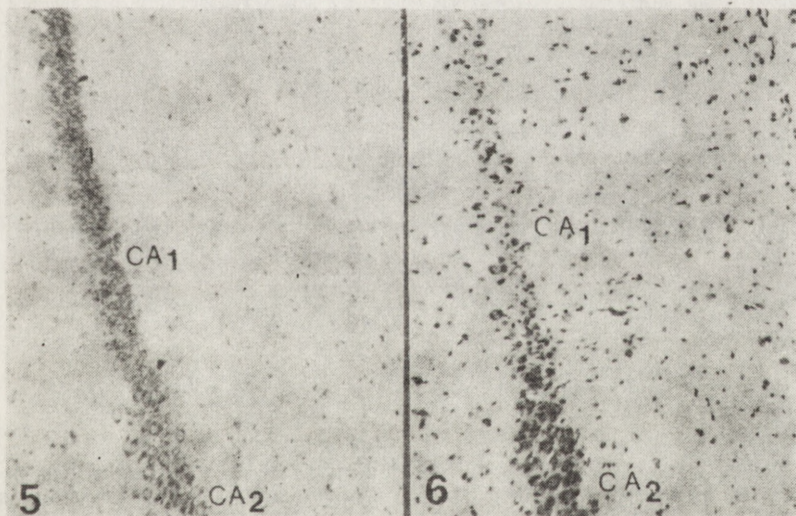


Ryc. 3. Zwierzę kontrolne z 5-min niedokrwieniem bez podawania indometacyny. Częściowy zanik neuronów sektora CA₁. Zachowanych ok. 50% neuronów. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 3. Control animal, 5 min ischemia without indomethacin pretreatment, 5 days survival. Partial loss of CA₁ neurons: ca 50% of neuronal population is preserved (2°). Cresyl violet. × 100

Ryc. 4. Zwierzę kontrolne z 5-min niedokrwieniem bez podawania indometacyny, 5 dni przeżycia. Częściowy zanik neuronów sektora CA₁. Zachowanych ok. 70% neuronów. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 4. Control animal, 5 min ischemia without indomethacin pretreatment, 5 days survival. Partial loss of CA₁ neurons: ca 70% of neuronal population is preserved (3°). Cresyl violet. × 100



Ryc. 5. Zwierzę kontrolne z 5-min niedokrwieniem bez podawania indometacyny, 5 dni przeżycia. Całkowicie zachowane neurony sektora CA₁. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 5. Control animal, 5 min ischemia without indomethacin pretreatment, 5 days survival. Unchanged neuronal population of CA₁ sector. Cresyl violet. × 100

Ryc. 6. Zwierzę doświadczalne z 5-min niedokrwieniem z wyprzedzającą pojedynczą dawką indometacyny, 5 dni przeżycia. Całkowity zanik neuronów sektora CA₁. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 6. Experimental animal, 5 min ischemia preceded by a single dose of indomethacin, 5 days survival. Total loss of CA₁ neurons with secondary gliosis. Cresyl violet. × 100

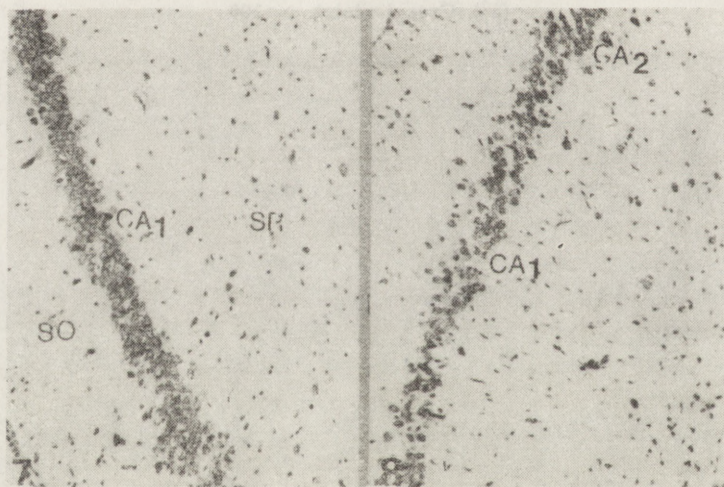
łącznie z sektorem CA₁ nie wykazywał nieprawidłowości strukturalnych (ryc. 5).

U zwierząt z 7,5 minutowym podwiązaniem tętnic szyjnych tylko u 1 spośród 6 stwierdzono prawidłowo zachowane komórki sektora CA₁, w 3 przypadkach występował całkowity, a w 2 częściowy zanik neuronów oceniony na stopień 1 i 3.

Zwierzęta doświadczalne

Grupa doświadczalna I. Spośród 10 zwierząt z 5-minutowym niedokrwieniem poprzedzonym podaniem indometacyny tylko u 2 zwierząt wystąpił całkowity zanik neuronów sektora CA₁ (ryc. 6), a u 3 jego obraz mikroskopowy był niezmieniony (ryc. 7). U pozostałych stwierdzono częściowy ubytek komórek z tym jednak, że w 4 przypadkach mieścił się w stopniu 3 (ryc. 8) i 2 (3 chomiki — stopień 3, 1 — stopień 2). Tylko u jednego zwierzęcia miał on nasilenie odpowiadające stopniowi 1 (ryc. 9).

U zwierząt z 7,5-minutowym niedokrwieniem nasilenie zmian mimo podawania leku było większe. Niezmienioną populację komórkową sektora CA₁ stwierdzono tylko w 1 przypadku na łączną liczbę 5 zwierząt. W 2 przypadkach występował całkowity, a w 2 częściowy zanik neuronów, po jednym w stopniu 2 i 3.

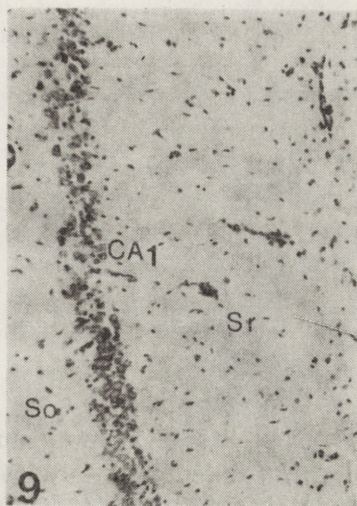


Ryc. 7. Zwierzę doświadczalne z 5-min niedokrwieniem z poprzedzającą pojedynczą dawką indometacyny, 5 dni przeżycia. Całkowicie zachowane neurony sektora CA₁. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 7. Experimental animal, 5 min ischemia with indomethacin pretreatment, 5 days survival. Unchanged neuronal population of CA₁ sector. Cresyl violet. × 100

Ryc. 8. Zwierzę doświadczalne z 5-min niedokrwieniem z poprzedzającą pojedynczą dawką indometacyny, 5 dni przeżycia. Częściowy zanik neuronów sektora CA₁. Zachowane ok. 70% komórek nerwowych. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 8. Experimental animal, 5 min ischemia with indomethacin pretreatment, 5 days survival. Partial neuronal loss in CA₁ sector (3°). Cresyl violet. × 100



Ryc. 9. Zwierzę doświadczalne z 5 min niedokrwieniem z poprzedzającą pojedynczą dawką indometacyny, 5 dni przeżycia. Częściowy zanik neuronów sektora CA₁. Zachowane ok. 30% komórek. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 9. Experimental animal, 5 min ischemia with indomethacin pretreatment, 5 days survival. Partial neuronal loss in CA₁ sector (1°). Cresyl violet. × 100

Grupa doświadczalna II. U zwierząt z 5-minutowym niedokrwieniem przy dwukrotnym podaniu indometacyny w żadnym przypadku nie stwierdzono całkowitego ubytku neuronów sektora CA₁, a aż w 4 spośród 5 obraz mikroskopowy był niezmienny. W jednym przypadku częściowego zaniku neuronów, nasilenie odpowiadało stopniowi 3. Przy wydłużeniu czasu niedokrwienia do 7,5 min, przy dwukrotnym podaniu indometacyny w żadnym przypadku nie stwierdzono również całkowitego ubytku neuronów sektora CA₁. Częściowy zanik występujący u 1 zwierzęcia spośród 5 badanych obejmował około 50% populacji komórkowej (stopień 2). U czterech królików nie stwierdzono żadnych nieprawidłowości strukturalnych.

Grupa doświadczalna III. Przy przesunięciu czasu podania jednorazowej iniekcji indometacyny z 45 min przed 5-minutowym niedokrwieniem, na 3 godz. po niedokrwieniu niezmienną populację komórkową rogu Amona stwierdzono w 3 przypadkach na 5 badanych. U dwu zwierząt występował częściowy zanik komórek sektora CA₁ mieszczący się w granicach 2°.

Porównanie wyników uzyskanych u zwierząt kontrolnych i doświadczalnych, przedstawionych w tabeli 1 wskazuje, że u chomików mongolskich z niedokrwieniem mózgu, którym nie podawano indometacyny uszkodzenie sektora CA₁ występowało w 58,3% przypadków, w tym ciężkie, za które uznano zarówno całkowity zanik neuronów, jak i ich ubytek w granicach stopnia 1, obecne było w 45,8%. Analogiczne dane dla grupy z indometacyną wynoszą odpowiednio 50,0 i 12,6%. Niezmienną po-

Tabela 1. Zestawienie wyników u zwierząt kontrolnych i doświadczalnych
 Table 1. Comparison of results in treated and untreated animals

Grupa zwierząt Group of animals	Liczba zwierząt No of animals	Całkowity zanik neuronów w CA ₁ Total loss of CA ₁ neurons	Częściowy zanik neuronów w CA ₁ Partial loss of CA ₁ neurons			CA ₁ niezmieniony No changes
			1°	2°	3°	
Zwierzęta kontrolne Untreated animals	24	8	3	1	2	10
Zwierzęta doświadczalne Treated animals	30	4	1	3	7	15

populację komórek nerwowych sektora CA₁ w grupie nie leczonej stwierdzono w 41,7% przypadków, a w leczonej — w 50,0%. Różnica ta kształtowała się jeszcze wyraźniej przy uwzględnieniu natężenia uszkodzeń komórkowych. Niezmieniona populacja komórkowa sektora CA₁ oraz lekkie i umiarkowane uszkodzenia (stopień 2 i 3 łącznie), występowało u zwierząt bez indometacyny w 54,2% przypadków, a u zwierząt z podawanym lekiem w 83,2%.

Tabela 2. Zestawienie wyników u zwierząt doświadczalnych w zależności od sposobu podawania indometacyny

Table 2. Comparison of results of treated animals depending on the mode of indomethacin application

Grupa zwierząt Group of animals	Liczba zwierząt No of animals	Całkowity zanik neuronów w CA ₁ Total loss of CA ₁ neurons	Częściowy zanik neuronów w CA ₁ Partial loss of CA ₁ neurons			CA ₁ niezmienione No changes
			1°	2°	3°	
Grupa doświadczalna I Experimental group I	15	4	1	2	4	4
Grupa doświadczalna II Experimental group II	10	—	—	1	1	8
Grupa doświadczalna III Experimental group III	5	—	—	—	2	3

Porównanie skuteczności indometacyny w zależności od sposobu jej podania (tab. 2) wskazuje, iż najmniej korzystne wyniki uzyskano przy jednorazowym podaniu w 45 min przed niedokrwieniem mózgu. W grupie tej w aż 33,3% przypadków stwierdzono ciężkie uszkodzenia sektora CA₁ rogu Amona, wyrażające się bądź całkowitym zanikiem neuronów bądź ich znacznym ubytkiem (1°). Najkorzystniejsze wyniki stwierdzono natomiast przy dwukrotnym podaniu indometacyny. Zmiany ciężkie nie występowały tu w ogóle, a w 80% przypadków nie stwierdzono żadnych

nieprawidłowości w strukturze sektora CA₁. Dobre wyniki uzyskano również przy opóźnionym w stosunku do poprzedniego schematu, podawaniu indometacyny. Tu również nie obserwowano zmian ciężkich, a obecne w 2 przypadkach uszkodzenia sektora CA₁ mieściły się w ich stopniu najlżejszym (3°).

Tabela 3. Zestawienie wyników u zwierząt kontrolnych i doświadczalnych w zależności od czasu niedokrwienia

Table 3. Comparison of results in treated and untreated animals depending on the time of ischemia

Grupa zwierząt Group of animals	Czas niedokrwienia Time of ischemia	Liczba zwierząt No of animals	Całkowity zanik neuronów w CA ₁ Total loss of CA ₁ neurons	Częściowy zanik neuronów w CA ₁ Partial loss of CA ₁ neurons			CA ₁ niezmiennione No changes
				1°	2°	3°	
Grupa kontrolna Control group	5 min 7.5 min	18 6	5 3	2 1	1 —	1 1	9 1
Grupa doświadczalna I Experimental group I	5 min 7.5 min	10 5	2 2	1 —	1 1	3 1	3 1
Grupa doświadczalna II Experimental group II	5 min 7.5 min	5 5	— —	— —	— 1	1 —	4 4

Przedłużenie czasu niedokrwienia do 7,5 min pogłębiało nasilenie uszkodzeń tkankowych (tab. 3). Zaznaczało się to w sposób wyraźny w grupie zwierząt nie otrzymujących indometacyny oraz w grupie doświadczalnej I. Dwukrotne podanie leku różnicę tę niwelowało niemal całkowicie.

OMÓWIENIE

Przedstawione wyniki badań, w przeciwieństwie do spostrzeżeń Suzuki i wsp. (1983a) wskazują, iż zanik komórek piramidowych sektora CA₁ rogu Amona, stanowiący późne następstwo krótkotrwałego obustronnego podwiązania tętnic szyjnych wspólnych u chomików mongolskich nie jest zjawiskiem stałym. Występuje ono jedynie u około 50% zwierząt, przy czym całkowity zanik obecny jest w jeszcze mniejszym odsetku przypadków. U części zwierząt ma on charakter niecałkowity wahając się w granicach od około 30 do 70% komórek nerwowych. Ubytkom komórkowym towarzyszą nieswoiste zmiany zwyrodnieniowe zachowanej populacji neuronów. W 50% przypadków struktury rogu Amona nie wykazują nieprawidłowości mikroskopowych. Jest to tym bardziej zaskakujące, iż w innej serii badań Suzuki i wsp. (1983b) wykazali całkowity zanik czynności bioelektrycznej neuronów sektora CA₁, badanej przy użyciu elektrod głębinowych już w drugim dniu po niedokrwieniu, kiedy nie stwier-

dzono jeszcze wykładników ich strukturalnego uszkodzenia. Co więcej, przedłużenie czasu niedokrwienia do 7,5 min, pogłębiając wprawdzie stopień uszkodzeń tkankowych, nie prowadziło do ich wystąpienia u wszystkich zwierząt poddanych zabiegowi. Fakt ten w sposób niewątpliwy ogranicza wartość modelu doświadczalnego do badań wpływu leków, mających osłaniać tkankę nerwową przed skutkami jej niedokrwienia.

Do grupy takich substancji należy indometacyna, stanowiąca znany inhibitor cyklo-oksigenazy, katalizującej syntezę różnych klas prostaglandyn (Abdel-Halim i wsp. 1978), gromadzących się w mózgu w następstwie jego niedokrwienia (Ruszczewski 1977; Gaudet, Levine 1979; Gaudet i wsp. 1980; Iannotti i wsp. 1981; Moscowitz, Coughlin 1981a; Bhakoo i wsp. 1982). Nagromadzone w mózgu prostaglandyny, a przynajmniej niektóre ich grupy, mogą wywierać uszkodzający wpływ na elementy strukturalne tkanki nerwowej na drodze ich wazoaktywnego działania oraz destabilizującego efektu na błony komórkowe. Mogą również sprzyjać powstawaniu mikrozakrzepów płytkowych. Badania szeregu autorów, w tym Furlowa i Hallenbecka (1978), Moscowitza i Coughlina (1981b), Boulu i wsp. (1982), Bhakoo i wsp. (1982), Kärgrströma i wsp. (1983), Mossakowskiego i Kwiatkowskiej-Patzer (1983) oraz Mossakowskiego i Gajkowskiej (1984) wskazują, iż indometacyna może tym uszkodzeniom skutecznie zapobiegać.

Pogląd ten popierają również wyniki przedstawionej powyżej serii badań, jakkolwiek sugerują one, iż osłaniający wpływ indometacyny nie jest w tym przypadku całkowity i wykazuje wyraźną zależność od dawki i sposobu podawania leku. Przy pojedynczej dawce indometacyny, zastosowanej w okresie poprzedzającym niedokrwienie mózgu jej efekt niewątpliwie uchwytany, był najsłabszy zarówno u zwierząt z 5-, jak i 7,5-minutowym podwiązaniem tętnic szyjnych. W obydwu grupach występowały, choć w mniejszej proporcji niż u zwierząt nieleczonych, przypadki całkowitego lub częściowego zaniku komórek nerwowych w sektorze CA₁ rogu Amona. Znacznie wyraźniejszy wpływ osłaniający stwierdzono przy dwukrotnym podawaniu leku — w okresie poprzedzającym niedokrwienie i w 5 godz. po przywróceniu krążenia w mózgu. Przy tym sposobie podawania indometacyny zarówno u zwierząt z 5- i 7,5-minutowym niedokrwieniem nie występował całkowity zanik neuronów piramidowych, a częściowe uszkodzenia sektora CA₁ spostrzegane w pojedynczych przypadkach miały nieznaczne nasilenie. Wyjaśnienie korzystniejszego działania leku przy jego dwukrotnym podawaniu jest oczywiście w świetle 6-godzinnego okresu półtrwania indometacyny (Abdel-Halim i wsp. 1978). Podobnie dla zapobieżenia zaburzeniom mikrokrążenia w mózgu, rozwijającym się w następstwie jego niedokrwienia okazało się niezbędne wielokrotne podawanie leku (Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1982). W badaniach nad ultrastrukturalnymi skutkami niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego u chomików mongolskich, Mos-

sakowski i Gajkowska (1984) stwierdzili, że osłaniające działanie indometacyny wyczerpuje się po upływie 6 godz. Podtrzymująca dawka leku okazała się tym bardziej niezbędna w przypadku długotrwałego procesu jakim jest zanik neuronów sektora CA₁, ujawniający się dopiero po upływie kilku dni od niedokrwienia i stanowiący wyraz tzw. zjawiska dojrzewania procesu patologicznego (Klatzo 1975).

Na odrębną uwagę zasługują wyniki badań w grupie zwierząt ze zmienionym schematem podawania indometacyny z wyprzedzającego niedokrwienia na wczesną fazę restytucji krążenia mózgowego. Uzyskano tu efekt niewątpliwie korzystniejszy niż w grupie I. W badaniach nad osłaniającym działaniem indometacyny w przypadkach niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego podkreśla się na ogół niezbędność jej stosowania w okresie wyprzedzającym zatrzymanie krążenia w mózgu (Furlow, Hallenbeck 1978; Hallenbeck, Furlow 1979; Iannotti i wsp. 1981; Kårgström i wsp. 1983; Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1983). Związane jest to z faktem, iż cyklo-oksigenaza, której działanie jest hamowane przez indometacynę, wymaga dla ujawnienia swojej aktywności obecności tlenu (Siesjö i wsp. 1982), dostarczanego do mózgu natychmiast po przywróceniu w nim krążenia. Obecność odpowiedniego stężenia indometacyny we krwi już przed niedokrwieniem zapewnia hamowanie aktywności enzymu w mózgu we wczesnej fazie po przywróceniu krążenia, kiedy dochodzi do gromadzenia się kwasu arachidonowego, stanowiącego substrat do syntezy prostaglandyn. Uzyskanie osłaniającego efektu indometacyny przy jej podaniu po incydencie niedokrwicznym stwarza korzystne implikacje zastosowań klinicznych. Należy jednakże wziąć pod uwagę fakt, że w użytych modelach doświadczalnych mamy do czynienia z bardzo lekkim niedokrwieniem mózgu, mieszczącym się w czasowych granicach pełnej odwracalności, o ograniczonym zakresie uszkodzeń strukturalnych i bardzo powolnym przebiegu procesu patologicznego. Cechą zmienną natomiast zjawiska dojrzewania procesu patologicznego jest odwrotna proporcjonalność czasu jego rozwoju do intensywności uszkodzeń. Skuteczność tego schematu stosowania indometacyny w ciężkich epizodach niedokrwicznych wymaga odrębnego sprawdzania doświadczalnego.

Mechanizm osłaniającego działania indometacyny, związany z zahamowaniem syntezy prostaglandyn w warunkach niedokrwienia mózgu jest nadal niewyjaśniony. Wobec braku w zastosowanym modelu doświadczalnym znaczących zaburzeń mikrokrążenia mózgowego (Mossakowski 1978) i nie stwierdzenia mikrozakrzepów naczyniowych (Mossakowski, Gajkowska 1984), najbardziej prawdopodobne wydaje się bezpośrednie działanie cytoprotekcyjne, związane z zapobieganiem destabilizacji błon komórkowych, być może między innymi przez antagonistyczne oddziaływanie w stosunku do fosfolipazy A₂, aktywizującej się w czasie niedokrwienia (Jesse, Franson 1979), lub ograniczenie przepuszczalności błon

komórkowych dla jonów wapnia (Volpi i wsp. 1980). Znaczenie tego właśnie cytoprotekcyjnego działania indometacyny w zapobieganiu następstwom tkankowym niedokrwienia mózgu podnosili uprzednio Crockard i wsp. (1980), Iannotti i wsp. (1981), Bhakoo i wsp. (1982) oraz Mossakowski i Gajkowska (1984), a Pappius i Wolf (1976) zwrócili uwagę na jej korzystny wpływ na szereg metabolicznych parametrów mózgu uszkodzonego przez różne czynniki.

ВЛИЯНИЕ ИНДОМЕТАЦИНА НА ИШЕМИЧЕСКОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ СЕКТОРА СА₁ АММОНОВА РОГА У МОНГОЛЬСКИХ ХОМЯКОВ

Резюме

Авторы проследили защищающее влияние индометацина на селективное повреждение сектора СА₁ аммонова рога вследствие кратковременной ишемии головного мозга. Эксперимент был проведен на монгольских хомяках, у которых авторы подвязывали с обеих сторон общие сонные артерии на промежуток 5 мин. и 7,5 мин. Переживаемость после ишемии составляла 5 или 7 дней. Экспериментальные животные получали брюшинную инъекцию индометацина в дозе 8 мг/кг массы тела на 45 мин. перед или в 3 часа после ишемии. Добавочную группу составляли животные с двукратным введением индометацина в промежутке 6 часов. Контрольные животные не получали лекарственного средства.

Результаты исследований показали что индометацин оказывал защищающее действие во всех экспериментальных группах, защищая от повреждения нейроны сектора СА₁ аммонова рога или уменьшая интенсивность констатированных изменений. Самый благоприятный защищающий эффект констатировано у животных, которые двукратно получали лекарственное средство. Заслуживает внимания хороший результат полученный в группе с применением лекарственного средства в 3 часа после ишемии.

Авторы выдвинули предположение, что защищающий эффект индометацина связан с предупреждением дестабилизации клеточных оболочек нейронов.

INFLUENCE OF INDOMETHACIN ON ISCHEMIC ALTERATIONS OF THE CA₁ SECTOR OF AMMON'S HORN IN MONGOLIAN GERBILS

Summary

The protective influence of indomethacin on selective damage of Ca₁ neurons of Ammon's horn resulting from short lasting cerebral ischemia was studied. Experiments were performed on Mongolian gerbils in which common carotid arteries were bilaterally ligated for 5 or 7.5 min. The animals were given intraperitoneal injection of indomethacin in a dosis of 8 mg/kg b.w. either 45 min prior to cerebral ischemia or 3 h after release of carotid ligation. Animals with doubled dosis of indomethacin given 45 min before and 5 h after ischemia formed an additional experimental group. Untreated animals were considered as a control group.

The results of experiments demonstrated that indomethacin exerts a protective action in all experimental groups either preventing appearance of neuronal damage in Ammon's horn sector CA₁ or reducing its intensity. The most remarkable effect of the drug was found in the case of its double application. Good results obtained in the group of animals in which indomethacin was given 3 h following ischemia, are worth mentioning.

It seems that the protective effect of indomethacin is connected with prevention of cellular membrane destabilization.

PIŚMIENICTWO

1. Abdel-Halim M. S., Sjoquist B., Änggård E.: Inhibition of prostaglandin biosynthesis in rat brain. *Pharmacol. Toxicol.*, 1978, 43, 266—272.
2. Bhakoo K. K., Lascelles P. T., Crockard H. A., Avery S. F.: Brain prostaglandins and cerebral edema following temporary vascular occlusion in gerbils. V Intern. Conf. Prostaglandins, Florence, May 18—21, 1982. Abstracts, p. 706.
3. Boulu R. G., Plotkin M., Guenian C., Sofeir M., Wiernsperger N.: Effect of indomethacin in experimental cerebral ischemia. *Pathol. Biol.*, 1982, 30, 278—281.
4. Crockard H. A., Iannotti F., Hunstock A. H., Smith R. D., Harris R. J., Symon L.: Cerebral blood flow and edema following carotid occlusion in gerbil. *Stroke*, 1980, 11, 494—498.
5. Furlow T. W. Jr., Hallenbeck J. M.: Indomethacin prevents impaired perfusion of the dog brain after global ischemia. *Stroke*, 1978, 9, 591—594.
6. Gaudet R. J., Alam I., Levine L.: Accumulation of cyclooxygenase products of arachidonic acid metabolism in gerbil brain during reperfusion after bilateral common carotid artery occlusion. *J. Neurochem.*, 1980, 35, 653—658.
7. Gaudet R. J., Levine L.: Transient cerebral ischemia and brain prostaglandins. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1979, 86, 393—401.
8. Hallenbeck J. M., Furlow T. W. Jr.: Prostaglandin I₂ and indomethacin prevent impairment of postischemic brain reperfusion in the dog. *Stroke*, 1979, 10, 629—637.
9. Hallenbeck J. M., Leitch D. R., Dutka A. J., Greenbaum L. J., McKee A. E.: Prostaglandin I₂, indomethacin and heparin promot postischemic neuronal recovery in dogs. *Ann. Neurol.*, 1980, 12, 145—156.
10. Harris R. J., Bayhan M., Brandson N. M., Watson A., Symon L.: Modulation of pathophysiology of primate focal cerebral ischemia by indomethacin. *Stroke*, 1982, 13, 17—24.
11. Iannotti F., Crockard A., Ladds G., Symon L.: Are prostaglandins involved in experimental cerebral ischemia in gerbils? *Stroke*, 1981, 12, 301—306.
12. Jesse R. L., Dranson R. C.: Modulation of purified phospholipase A₂ activity from human platelets by calcium and indomethacin. *Biochem. Biophys. Acta*, 1979, 375, 467—470.
13. Kårgström E., Smith M. L., Wallstedt L., Siesjö B. K.: Cyclo-oxygenase inhibition by indomethacin and recirculation following cerebral ischemia. *Acta physiol. Scand.*, 1983, 118, 193—201.
14. Klatzo I.: Pathophysiological aspects of cerebral ischemia. W: *The nervous system — the basic neuroscience*. Red. D. B. Tower. Raven Press, New York 1975, 313—322.
15. Moscovitz M. A., Coughlin S. R.: Clinical application of prostaglandins and their inhibitors. *Stroke* 1981a, 12, 882—886.
16. Moscovitz M. A., Coughlin S. R.: Basic properties of the prostaglandins. *Stroke*, 1981b, 12, 689—701.
17. Mossakowski M. J.: Cerebral circulatory disturbances in various types of hypoxic conditions. W: *Advances in Neurology*. Red. J. Cervos-Navarro. Raven Press. New York, 1978, 20, 161—171.
18. Mossakowski M. J., Kwiatkowska-Patzer B.: Effect of indomethacin on the morphology of the brain vascular network in the postischemic period. International symposium on "Developmental and circulatory aspects of brain metabolism". Belgrad 1982, Abstracts p. 47.
19. Mossakowski M. J., Kwiatkowska-Patzer B.: Wpływ indometacyny na niedokrwienne uszkodzenia mózgu u chomika mongolskiego. *Neuropat. Pol.*, 1983, 21, 287—301.

20. Mossakowski M. J., Gajkowska B.: Influence of indomethacin on the ultrastructural pathology of the brain following temporary ischemia in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Neuropat. Pol.*, 1984, 22, 347—365.
21. Pappius H. M., Wolf L. S.: Some further studies on vasogenic edema. W: Dynamics of brain edema. Red. H. M. Pappius, W. Feindel. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1976, 138—148.
22. Ruszczewski P.: Poziom endogennych prostaglandyn w krwi żyłnej mózgu u psa w warunkach hipo- i hiperkapnii, hipoksji i ostrego niedokrwienia mózgu. Praca doktorska. CMDiK PAN, Warszawa 1977.
23. Siesjö B. K., Wieloch T., Ingvar M.: Pathophysiology of hypoglycemic brain cell damage. W: Energy transduction and neurotransmission. Red.: G. Benzi, A. M. Giuffrida-Stella, H. S. Bachelard, A. Agnoli. World Federation of Neurology. Roma 1983, 69—82.
24. Suzuki R., Yamaguchi T., Kirino T., Orzi F., Klatzo J.: The effect of 5-minute ischemia in Mongolian gerbils. I. Blood-brain barrier, cerebral blood flow and local cerebral glucose utilization changes. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1983a, 69, 207—216.
25. Suzuki R., Yamaguchi T., Croh-Luh Li, Klatzo J.: The effect of 5-minute ischemia in Mongolian gerbils: II. Changes in spontaneous neuronal activity in cerebral cortex and CA₁ sector of hippocampus. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1983b, 60, 217—222.
26. Volpi M., Naccache P. H., Shaafi R. I.: Arachidonate metabolites increase permeability of the plasma membrane of the neuropil to calcium. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1980, 92, 1221—1231.

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