

03086

1
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL
Y DE POSGRADO
CENTRO DE NEUROBIOLOGIA

ANÁLISIS ELECTROGRÁFICO DEL EFECTO
DE LA NALOXONA SOBRE
VARIAS ESTRUCTURAS
CEREBRALES EN GATOS
SOMETIDOS A ISQUEMIA-ANOXIA
CEREBRAL GLOBAL AGUDA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS
P R E S E N T A
EL MAESTRO EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

DOLORÉS ARTURO CONTRERAS GÓMEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. J. MIGUEL CERVANTES ALFARO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D.F.

1998

268272



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

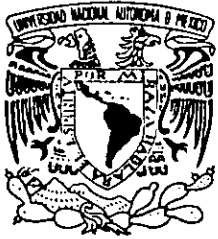


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**PROYECTO ACADÉMICO DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

MDCF/SDM/165/98

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIERREZ

**Director General de
Administración Escolar.
Presente**

Por este conducto, me permito poner a su consideración, el siguiente Jurado para el examen de Doctorado en Ciencias Fisiológicas del alumno **CONTRERAS GÓMEZ DOLORES ARTURO** con números de cuenta 91817822 y de expediente 30912021 con la tesis titulada: **"ANÁLISIS ELECTROFÁFICO DEL EFECTO DE LA NALOXONA SOBRE VARIAS ESTRUCTURAS CEREBRALES EN GATOS SOMETIDOS A ISQUEMIA-ANOXIA CEREBRAL GLOBAL AGUDA"**, bajo la dirección del Dr. José Miguel Cervantes Alfaro.

Jurado de Examen:

PRESIDENTE:	Dr. León F. Cintra McGlone
SECRETARIO	Dr. José Miguel Cervantes Alfaro
PRIMER VOCAL:	Dr. Fructuoso Ayala Guerrero
SEGUNDO VOCAL	Dra. Sofía Y. Díaz Miranda
TERCER VOCAL	Dra. Gabriela Morali de la Brena
PRIMER SUPLENTE:	Dr. Marte Lorenzana Jiménez
SEGUNDO SUPLENTE:	Dr. Hugo Solís Ortiz

Sin otro particular por el momento, reciba un atento saludo.

Atentamente

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Campus UNAM-UAQ. Juriquilla, Querétaro, 05 de noviembre de 1998


**Dra. Sofía Díaz Miranda
Coordinadora del Proyecto**

Ccp. Expediente

SDM/ibg

Este trabajo está dedicado especialmente a

Mis padres, los señores:

Heladio Contreras Chávez

María Francisca de los Dulces y Gómez Cruz.

A mi mujer :

Lic. Práxedes Mojica Juanchi.

A mis hijos para que sirva como ejemplo:

José Bryan
Dennis Arturo
Jesús Emmanuel

Agradecimientos sinceros

A mi asesor académico Dr. José Miguel Cervantes Alfaro, sin su apoyo, dirección y recomendaciones, este proyecto no hubiera podido ser posible.

A la Doctora Gabriela Morali de la Brena, por brindarme su amistad, sugerencias y comentarios, que enriquecieron este trabajo.

De manera especial a la C. M. en C. Marcela Arteaga Silva, Dra. Dolores González Vidal y Dra. Marisela Hernández, por su amistad consejos y solidaridad.

De manera muy especial al Doctor León Cintra McGlone y Doctora Sofía Díaz Miranda, por su siempre decidido apoyo y orientación. Por ser ejemplos a seguir para futuras generaciones.

Al programa de la D.G.A.P.A., que confió en el proyecto presentado y otorgó los estímulos económicos correspondientes a un servidor.

Al Instituto Mexicano del Seguro Social, por darme la oportunidad de realizar el trabajo experimental en sus instalaciones, en especial al Doctor Onofre Muñoz, a quien sin conocer, me apoyó.

A mi Universidad Autónoma de Guerrero, por la confianza que siempre me ha depositado en mí. Especialmente a mi amigo el Ing. Ramón Reyes Carreto, por sus comentarios sinceros al inicio de esta trayectoria.

INDICE

Contenido	Páginas
I.-Resumen.....	4
II.-Abstract	6
II.-Introducción	7
IV.-Antecedentes.....	10
V.-Justificación.....	19
VI.-Hipótesis.....	21
VII.-Objetivos.....	22
VIII.-Material y métodos.....	23
IX.-Resultados.....	29
X.-Discusión.....	45
XI.-Conclusión.....	51
XII.-Bibliografía.....	52
XIII.-Apéndice.....	66

RESUMEN

La investigación de los efectos de la isquemia-anoxia sobre estructuras cerebrales específicas y el estudio de fármacos que protegen en contra de tales efectos patológicos, han sido motivo de interés en los años recientes.

Se conoce, que la lesión de los componentes celulares del sistema nervioso central postisquemia, es dependiente de la duración de la isquemia y de la aplicación oportuna de fármacos que antagonicen algunos de los mecanismos fisiopatológicos que se activan a partir del episodio de isquemia. Estudios farmacológicos han mostrado que los opioides endógenos mediante acciones sobre sus receptores, juegan un importante papel en la lesión neuronal que se produce después de la isquemia-anoxia. Reportes de estudios con naloxona a diferentes dosis, basados en sus propiedades como antagonista de receptores a opioides, han mostrado en seres humanos y en diferentes animales de experimentación que la naloxona es capaz de producir protección en contra del daño cerebral ocasionado por la isquemia-anoxia.

Con base en los datos reportados, se realizó un estudio para probar los efectos de la naloxona sobre las alteraciones funcionales del sistema nervioso provocados por la isquemia-anoxia cerebral global aguda, mediante el análisis de las características de la actividad eléctrica (AMN y EEG) de diversas estructuras cerebrales; así como sobre la deficiencia neurológica. El trabajo se efectuó mediante el desarrollo de un modelo experimental en el que se indujo el paro cardiorrespiratorio en gatos. Estos animales fueron implantados a permanencia con electrodos bipolares concéntricos en formación reticular mesencefálica (FRM) hipocampo dorsal (HIP) y sustancia gris periacueductal (SGP); así como con agujas de acero inoxidable sobre la corteza parieto-occipital (CP).

Se estudiaron dos grupos de animales. Grupo I.- Animales sometidos a isquemia-anoxia sin tratamiento de naloxona. Bajo anestesia con halotano, bloqueo neuromuscular y ventilación mecánica controlada, los animales fueron expuestos a un período de 15-19 min de isquemia-anoxia cerebral global aguda en condiciones controladas de presión arterial media, presión arterial de oxígeno, presión arterial de CO₂, y pH. Grupo II.-Animales sometidos a isquemia-anoxia con tratamiento de naloxona. A este grupo se le efectuaron las mismas maniobras que a los animales del grupo I, pero con tratamiento de naloxona (2 mg/kg) inmediatamente después de las maniobras de resucitación, y dosis similar en infusión continua durante las siguiente 6 horas.

La actividad eléctrica cerebral registrada en las estructuras cerebrales, antes del experimento en los registros control, desapareció del trazo electroencefalográfico durante el período que duró el paro cardiorrespiratorio y apareció nuevamente en los primeros minutos después de este evento significativamente reducida, tanto en las bandas del EEG (frecuencia y voltaje) en CP, FRM, HIP y SGP, como en la AMN (descargas/seg) en FRM, HIP y SGP, con recuperación progresiva en el transcurso del tiempo en todas las estructuras registradas en los animales de los grupos no tratados y tratados con naloxona.

En los 6 días siguientes después de la isquemia-anoxia, en los animales del grupo no tratado, los componentes del EEG (bandas 0.5-3.5 Hz; 4-7 Hz y 13-32 Hz) mostraron alteraciones en su frecuencia de aparición y en su potencia, y la AMN no mostró variaciones significativas con respecto a los valores obtenidos de sus mismos controles en todas las estructuras registradas. En los animales del grupo tratado, sometidos a isquemia-anoxia y con tratamiento de naloxona los valores de la frecuencia de aparición y su potencia del EEG, no mostraron alteraciones menores a las encontradas en el grupo I y la AMN en el sexto día posterior al paro cardiorrespiratorio se redujo significativamente con respecto a sus valores control y a los valores del grupo I.

La evaluación de la deficiencia neurológica en los animales del grupo no tratado, después del episodio de isquemia-anoxia mostró puntajes muy superiores con respecto a los puntajes encontrados en su registro control y mayores en comparación con los puntajes obtenidos de los animales del grupo tratado. Los valores obtenidos en los animales del grupo tratado con naloxona, después del paro cardiorrespiratorio respecto a su control, fue significativamente mayor, solo que en el transcurso del tiempo la recuperación mejoró considerablemente en los puntajes obtenidos con respecto a los obtenidos en los animales del grupo no tratado.

El presente estudio, indica la probable participación del sistema opioide en el proceso de lesión cerebral, ya que los datos obtenidos en el análisis espectral y la evaluación de la deficiencia neurológica en los gatos tratados con naloxona después de la isquemia-anoxia, mejora considerablemente en comparación con el grupo de animales que no recibieron tratamiento con naloxona.

SUMMARY

Research concerning the effects of ischemia-anoxia on specific cerebral structures and the neuroprotective effects of drugs preventing or counteracting ischemia-induced pathophysiological mechanisms, have been a matter of interest in recent years.

It is known, that postischemic lesion of cellular components of the central nervous system, is mainly dependent on the duration of the ischemic episode and the timing of administration of drugs capable to counteract these pathophysiological mechanisms elicited by ischemia. Pharmacological studies have shown that endogenous opioids contribute to neuronal injury after ischemia-anoxia through actions mediated by opiate receptors. It has been shown a neuroprotective effect of naloxone against cerebral injury induced by ischemia-anoxia in experimental animals and human beings, which seems to be mediated through to opiate receptor antagonist action. The present work was designed to analyse the effects of naloxone on functional alterations of the central nervous system induced by acute global cerebral ischemia. A model of acute global cerebral ischemia by cardiorespiratory arrest (CRA) in cats was used. Bipolar concentric electrodes were chronically implanted in the mesencephalic reticular formation (MRF), dorsal hippocampus (HIP) and periaqueductal grey matter (PGM) and stainless steel needles were placed over the parieto-occipital cortex in these animals. Two groups of animals were studied. Group I.- Animals exposed to ischemia-anoxia without naloxone treatment. Cats were exposed to a 15-19 min of global cerebral ischemia, induced by 15 min of CRA and 2-4 min for reanimation manoeuvres, which were carried out under halotane anaesthesia, neuromuscular blockade, mechanical ventilation and mean arterial pressure, pH, arterial pO₂ and arterial pCO₂ under controlled conditions. Group II. - Animals were exposed to ischemia-anoxia under naloxone treatment. This group was exposed to ischemia-anoxia in the same manner as group I, but continuous i.v. naloxone (2mg/kg/h) was administered during a 6 h period, following the ischemia-anoxia episode.

Cerebral electrical activity registered from cerebral structures (MRF, HIP and PGM), before CRA in the control records, was suppressed immediately after CRA and progressively recovered as time elapsed during the 6 h period immediately after CRA, however frequency and voltage of EEG waves and MUA discharge were significantly reduced both in untreated animals and in animals under naloxone treatment. The EEG components (bands 0.5 - 3.5 Hz; 4 - 7 Hz and 13 - 32 Hz), showed alterations on frequency and power, whereas MUA, did not significantly change in comparison to control conditions before CRA in all registered brain structures the days after ischemia-anoxia, in the untreated group (group I). Values of frequency and power of EEG and frequency of MUA discharge, did not show significant differences between treated and untreated animals during the six day period after CRA. Neurologic deficit scores after ischemia-anoxia in untreated animals were significantly higher than those observed in the naloxone treated group.

The present experimental results, from neurological deficit evaluations after the ischemia-anoxia episode support the neuroprotective effect of naloxone.

INTRODUCCION

Los accidentes cardiovasculares, son parte de los problemas médicos más frecuentes, que hoy en día ocupan el 3er. lugar como causa de muerte en el mundo, solo después de las enfermedades cardíacas y cancer. En los Estados Unidos de Norteamérica, se reportan 500,000 casos anuales de este tipo de padecimiento, por lo que la investigación al respecto es tema de actualidad.

Es sabido que la isquemia-anoxia cerebral al presentarse de manera súbita es catastrófica, pero más cuando es global y con episodios de más de cinco minutos. El origen más común de isquemia cerebral global es el paro cardiorrespiratorio, situación en la cual las células nerviosas quedan expuestas a la falta de irrigación sanguínea. De esta manera, en este tipo de accidentes el suministro de O₂ en todos los tejidos es disminuído rápidamente y las células más sensibles a esta deficiencia son dañadas en algunos de sus mecanismos homeostáticos o mueren después del evento, provocando una gran cantidad de desórdenes intra y extracelularmente, de tal manera que su tratamiento inmediato es esencial para la posible reversibilidad del daño. Sin embargo, las condiciones que favorecen la presentación de eventos de esta naturaleza, usualmente han estado presentes durante muchos años, antes de que esto suceda. Así, se ha demostrado que la edad, el sexo, la presión arterial alta, la diabetes, el tabaquismo y el alcoholismo entre otros, aunado al aumento de colesterol en sangre son factores que en seres humanos aumentan el riesgo. En cambio en animales de experimentación el suceso se induce utilizando para ello varios modelos.

La lesión cerebral que se presenta postisquemia es un fenómeno complejo. Así, estudios realizados en diferentes condiciones experimentales en animales y observaciones en seres humanos que han padecido fenómenos de esta naturaleza, han permitido conocer que los mecanismos de lesión y recuperación varían dependiendo de factores, como el tiempo de exposición y severidad de la isquemia; presencia de hipoxia; hipotensión; nivel de glucosa; la sensibilidad de las estructuras cerebrales de acuerdo a la función celular que desarrollen y la

ubicación con relación a la irrigación sanguínea, siendo estas características de vulnerabilidad o poca vulnerabilidad las que diferencian las células en las que se desencadenan una serie de reacciones en cascada; mismas que provocan el daño cerebral. Aunque hay estructuras cerebrales, así como formas celulares que no mueren, las que logran sobrevivir después de períodos relativamente largos de isquemia, originan secuelas neurológicas de diferente magnitud.

Entre los intentos para reducir el daño que se provoca después de la isquemia-anoxia, se encuentra la aplicación oportuna de fármacos con propiedades neuroprotectoras probados experimentalmente, principalmente cuando estos se proponen como la base terapéutica durante los primeros minutos después de la isquemia. Así se han probado anestésicos generales; bloqueadores de canales de calcio; antagonistas de los receptores de neurotransmisores; bloqueadores de la formación de radicales libres; benzodiazepinas y antagonistas de receptores a opiodes entre otros, teniendo su efecto ya sea a nivel de la membrana presináptica o postsináptica.

El análisis electrográfico de los efectos de la naloxona sobre varias estructuras cerebrales en gatos sometidos a isquemia-anoxia cerebral global aguda, es parte de los trabajos que se desarrollan dentro de la línea de investigación "Fármacos que protegen en contra del daño producido por isquemia-anoxia" del Instituto Mexicano del Seguro Social, siendo uno de los pocos estudios en los que se utilizan parámetros como la actividad multineuronal, el electroencefalograma y el análisis de la conducta de manera simultánea, para valorar el efecto de la naloxona a una concentración de 2 mg/kg/h, sobre el daño que se provoca en la corteza parieto-occipital, formación reticular mesencéflica, hipocampo y sustancia gris periacueductal, al inducir períodos de 15 minutos de isquemia en gatos, estudiando principalmente estos efectos durante el período agudo y las repercusiones sobre el período crónico, en un intento por explorar propiedades nuevas de la naloxona que permitan efectivamente contrarrestar o disminuir la magnitud de los mecanismos que provocan efectos adversos en las células expuestas a isquemia-anoxia o al menos reducir las secuelas. En este

estudio se utiliza un modelo en animales, que simula un accidente cardiovascular como un recurso importante para el estudio de la fisiopatología de la isquemia cerebral y el efecto de fármacos sobre estas patologías. Este modelo se asemeja a los accidentes que sufren seres humanos en situación hospitalaria y en él se efectúan las maniobras de resucitación parecidas a las que se utilizan en este tipo de situaciones, manteniendo el control de variables como la presión arterial, frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca, pH, y presión de gases en sangre. Asimismo, en estos animales se registró el EEG, para valorar la integración funcional de las actividades cerebrales; la frecuencia de descarga de la AMN, como indicador de la función de poblaciones neuronales de estructuras específicas, y se efectuó la evaluación neurológica, que nos permite evaluar diferentes patrones conductuales, considerados como parámetros de gran utilidad en el estudio de la organización funcional del cerebro. El análisis se hizo utilizando registros visuales, poligráficos, y programas de computación que utilizan la transformada rápida de Fourier, para valorar el estado funcional de los sujetos después de la isquemia y los efectos de fármacos antagonistas a opioides sobre las alteraciones producidas.

En este estudio los efectos de los antagonistas de receptores a opioides, se manifestaron mediante el análisis espectral del EEG realizado durante el período agudo, en cambio durante el período crónico, dicho efecto se hizo evidente en el análisis de potencia y en el análisis de la conducta después del período de isquemia anoxia.

Las propiedades que se le atribuyen a los antagonistas de receptores a opioides, en los datos obtenidos permiten contemplar a la naloxona, como un fármaco con propiedades para inhibir o disminuir la magnitud de los mecanismos de lesión dependientes de la concentración de opioides endógenos, permitiendo preservar el estado funcional de las estructuras susceptibles a ser dañadas después de un período de isquemia.

ANTECEDENTES

El análisis experimental de los mecanismos fisiopatológicos del daño cerebral provocado por isquemia-anoxia global aguda, el conocimiento de sus características y la investigación de procedimientos terapéuticos que prevengan, impidan o disminuyan el daño irreversible de los componentes celulares del sistema nervioso central en tales condiciones, ha sido motivo de especial interés en los últimos años. Esto se debe en gran parte al avance de procedimientos que permiten efectivamente la reanimación de los pacientes que han sufrido episodios de isquemia-anoxia y a la evidencia acerca de la capacidad del sistema nervioso central para soportar, bajo ciertas condiciones, las consecuencias de la isquemia-anoxia global durante períodos relativamente prolongados sin sufrir daño incompatible con la vida, aunque dando lugar a secuelas neurológicas de naturaleza y magnitud diversas (Snyder 1977; Granger et al., 1978; Safar 1978; Myerburg et al., 1980; Eisenberg et al., 1980; Earnest et al., 1980; Safar et al., 1982; Kotila et al., 1984; Safar et al., 1984; Abramson et al., 1985; Hossmann, 1993).

Las evidencias obtenidas en animales de experimentación expuestos a isquemia-anoxia cerebral global aguda y en seres humanos que han sufrido este tipo de fenómenos han permitido caracterizar un conjunto de mecanismos fisiopatológicos que tienen lugar en el sistema nervioso central y que pueden provocar daño neuronal irreversible. En estos se incluyen alteraciones de los procesos metabólicos energéticos neuronales y del metabolismo cerebral global, modificaciones del flujo de iones a través de la membrana neuronal y de las células de la glía, lipoperoxidación de los componentes de la membrana celular y de las membranas de los organelos intracelulares, activación de enzimas citosólicas que pueden provocar autólisis celular, alteración de la dinámica de los

neurotransmisores y defectos de la transmisión sináptica, edema intersticial, aumento del tono del músculo liso vascular que conduce al fenómeno de hipoperfusión postisquemia, y actividad paroxística (Nemoto, 1978; Yotis y Vigouret, 1982; Plum, 1983; Raichle, 1983; White et al., 1984; Dearden, 1985; Graham, 1985; Heuser et al., 1985; Meldrum et al., 1985; Siesjo y Wieloch 1985; Kaplan et al., 1987; Kogure et al., 1988; White et al., 1992; Tominaga et al., 1993; Wengenack et al., 1997.)

La interacción de los diversos fenómenos fisiopatológicos provocados por la isquemia-anoxia global aguda es compleja y sus consecuencias sobre la integridad anatomofuncional del sistema nervioso se relacionan con la duración de la isquemia-anoxia, con la vulnerabilidad de las diferentes regiones cerebrales ante este fenómeno y en su caso, con la aplicación oportuna de procedimientos terapéuticos efectivos contra el daño neuronal (Nemoto, 1978; Plum, 1983; Dearden, 1985; Graham, 1985; Heuser y Gugenberg, 1985; Hossman, 1985; Kaplan et al., 1987; Kogure et al., 1988; Krause et al., 1988; Kuroiwa et al., 1991; Kochs et al., 1992; Ridenour et al., 1992; Wagner et al., 1994; Thaminy et al., 1997). Dichos estudios indican asimismo, que la magnitud del daño cerebral depende principalmente de las alteraciones fisiopatológicas que ocurren en el período inmediato (minutos a horas) al episodio de isquemia-anoxia cerebral global aguda (Heiss y Rosner, 1983; Suzuky et al., 1983; Suzuky, 1985; Paschen et al., 1992; Hall et al., 1993; Santos et al., 1996), aunque también se ha demostrado daño neuronal adicional debido a fenómenos fisiopatológicos que pueden ocurrir 24 horas después del episodio de isquemia-anoxia (Ito et al., 1975; Pulsinelli et al., 1982; Kaplan et al., 1987; Kogure et al., 1988; Krause et al., 1988; Inuzuka et al., 1990; Kitagawa et al., 1990; Du et al., 1996; Akins et al., 1996). A este respecto, cabe señalar que las alteraciones de la homeostasis del Ca^{++} provocadas por la isquemia-anoxia, dan lugar al ingreso y permanencia de

cantidades anormalmente grandes de calcio libre a los distintos componentes celulares del sistema nervioso central. Estas alteraciones parecen ser fenómenos importantes como factores desencadenantes de un conjunto de eventos celulares que ocurren en forma progresiva, y pueden dar lugar a daño neuronal irreversible y lisis de diversos componentes estructurales de las neuronas. Esto se debe en parte a las alteraciones fisiopatológicas que tienen lugar en las neuronas mismas y en parte mediante alteraciones vasculares que originan fenómenos de perfusión y de hipoperfusión tardía, aún cuando se hubieran restaurado condiciones adecuadas de perfusión y oxigenación cerebrales luego del episodio de isquemia-anoxia (Nemoto, 1978; Plum, 1983; Raichle, 1983; White et al., 1984; Dearden, 1985; Graham, 1985; Heuser y Guggenberger, 1985; Meldrum. et al., 1985; Siesjo y Wieloch, 1985; Schlaepfer y Zimmerman, 1985; Hoff, 1986; Kaplan et al., 1987; Kogure et al., 1988; Krause et al., 1988; Choi, 1988; Siesjo, 1988; Tsubokawa et al., 1992; Shimizu et al., 1993; Matsumoto et al., 1996).

Por otra parte, el fenómeno de vulnerabilidad neuronal se ha sustentado originalmente en estudios histopatológicos que han demostrado diferencias importantes en la naturaleza y magnitud del daño neuronal consecutivo a períodos prolongados de isquemia-anoxia cerebral global aguda, en las diversas regiones del sistema nervioso central y aún dentro de la misma estructura cerebral. Así, entre las neuronas que originalmente forman parte de circuitos neuronales, pueden encontrarse diferentes proporciones de neuronas con daño irreversible y reducción de la población neuronal, luego de un periodo de 5 min de isquemia-anoxia, junto con neuronas que conservan características morfológicas compatibles con su integridad funcional luego de períodos de isquemia-anoxia considerablemente mayores (Kirino, 1982; Crain y Victor, 1988; Schmidt-Kastner et al., 1990; Pulsinelli et al., 1996). De esta manera se han señalado como regiones muy vulnerables a las estructuras del sistema límbico, particularmente el

hipocampo y en especial a las células piramidales de la zona CA1; el complejo amigdalino, principalmente las regiones central y basolateral; el cerebelo, en especial las células de Purkinje; el cuerpo estriado, especialmente las neuronas de tamaño mediano y pequeño; las capas 3, 5 y 6 de la corteza cerebral; de la sustancia nigra, principalmente la pars reticulata y diversos conglomerados neuronales del tallo cerebral, incluyendo a la formación reticular mesencefálica, los núcleos oculomotores y el fascículo longitudinal medial. En cambio, el tálamo, algunas estructuras del cuerpo estriado formadas por neuronas de mayor tamaño, los núcleos subtálamicos, de la sustancia nigra principalmente la pars compacta, el hipotálamo y la medula espinal son estructuras menos vulnerables a la isquemia-anoxia cerebral. (Brierly et al., 1973; Hossman y Kleihues, 1973; Nemoto et al., 1977; Nemoto et al., 1979; Neiss, 1983; Hossmann, 1985).

La diferente vulnerabilidad de las estructuras cerebrales a la isquemia-anoxia, se ha relacionado con características diferentes de la irrigación cerebral en los períodos pre y post isquemia (Nemoto, 1979; Myerburg et al., 1980; Welsh, 1985; Kogure, 1988; Krause et al., 1988; Kawai et al., 1997); con las características morfológicas de los diferentes tipos neuronales (Raichle, 1983; Simón, 1984; Kirino et al., 1985; Suzuki et al., 1985); con la dinámica y las características funcionales de diversos neurotransmisores en las células nerviosas (Yotis y Vigouret 1982; Meldrum et al., 1985; Chin et al., 1985; Kogure et al., 1988; McCulloch et al., 1993; Phillis et al., 1994; Matsumoto et al., 1996; Santos et al., 1996); con la presencia y cantidad de diversos componentes bioquímicos neuronales involucrados en los mecanismos que regulan la concentración intraneuronal de Ca^{++} cuyas modificaciones parecen jugar un papel importante en la fisiopatología del daño neuronal (Chin et al., 1985; Hossman, 1985; Kirino et al., 1985; Meldrum et al., 1985; Pulsinelli, 1985; Welsh, 1985; Wieloch, 1985; Kaplan et al., 1987; Choi, 1988; Kogure et al., 1988; Krause et al., 1988; Siesjo, 1988;

Kirschenbaum y Pulsinelli, 1990; Katayama et al., 1991; Katsura et al., 1991; Pulsinelli, 1996). Se ha descrito que estas alteraciones ocurren en forma preferente en células nerviosas ubicadas en estructuras cerebrales mayormente susceptibles al daño consecutivo a la isquemia -anoxia (Chin et al., 1985; Hossman, 1985; Kirino et al., 1985; Meldrum et al., 1985; Pulsinelli, 1985; Welsh, 1985; Wieloch, 1985; Kaplan et al., 1987; Choi, 1988; Kogure et al., 1988; Krause et al., 1988; Siesjo, 1988; Araki, 1989).

Muchos de los estudios referentes a las consecuencias de la isquemia-anoxia sobre las características anatomofuncionales del cerebro, han mostrado alteraciones inmediatas de los componentes intra y extracelulares en el sistema nervioso central a partir del episodio de isquemia-anoxia y se ha tratado de establecer su significación fisiopatológica mediante su correlación con el curso temporal de las alteraciones de la actividad eléctrica cerebral durante las primeras horas siguientes al episodio de isquemia-anoxia. En cambio, la evaluación sistemática del estado neurológico de los pacientes o de los animales de experimentación, se ha utilizado como el principal indicador a largo plazo del estado funcional del sistema nervioso central, luego del episodio de isquemia-anoxia (Hossman y Kleihues, 1973; Moller et al., 1978; Meldrum, 1981; Griffiths et al., 1982; Todd et al., 1982; Winegar et al., 1983; Gisvold et al., 1984; Simon et al., 1984; Dearden, 1985; Steen et al., 1985; Mabe et al., 1986; Kaplan et al., 1987; Choi, 1988; Kogure et al., 1988; Krause et al., 1988; Siesjo, 1988; Wauquier et al., 1988; Squire et al., 1996). Estos estudios demuestran que la deficiencia neurológica adquiere su mayor magnitud inmediatamente después del episodio de isquemia-anoxia y tiende a reducirse con el transcurso del tiempo.

Pocos estudios han abordado el análisis de la actividad eléctrica neuronal asociada con los fenómenos fisiopatológicos atribuibles a la isquemia-anoxia en estructuras cerebrales específicas (Howard et al., 1998); así se han demostrado

cambios en la potencia y ritmicidad de las ondas theta registradas durante el estado de alerta (atento quieto) entre los días 2-4 después de la isquemia en rata (Monmaur, 1986; Thomson et al., 1988). Estos cambios en la actividad, fueron acompañados por disminución y eventual desaparición de las respuestas evocadas en el hipocampo (Buzsaki et al., 1989) sin embargo, se han identificado también modificaciones en la descarga neuronal multiunitaria que puede ser relevante como parte de los mecanismos fisiopatológicos inmediatos y tardíos inducidos por la isquemia-anoxia cerebral global en gatos; estas alteraciones persisten al menos durante 7 días subsecuentes al episodio de isquemia-anoxia y se correlacionan con signos electroencefalográficos de lesión cerebral y con deficiencias neurológicas (Cervantes et al., 1990).

Recientemente, se han estudiado las características de la actividad multineuronal de estructuras nerviosas como el septum medial y su correlación con fenómenos electrográficos en las diferentes fases del sueño; así como en el estado de alerta en gatos, mediante la exposición de estos animales a isquemia-anoxia cerebral global aguda como consecuencia de un paro cardiorrespiratorio de 10 min de duración (Contreras-Gómez, 1994). El estudio se realizó utilizando el registro del electroencefalograma y de la actividad multineuronal, así como la evaluación en el tiempo de las diferentes condiciones conductuales (sueño y vigilia), durante los días 2,6,15 y 30 siguientes a la isquemia-anoxia en ciclos de 24 h, en los que se encontraron alteraciones significativas de la descarga multineuronal en los diferentes estados conductuales, en comparación con sus propios valores de control antes del paro cardiorrespiratorio y con los valores obtenidos de animales expuestos solo a maniobras simuladas. Estos resultados se correlacionaron con la alteración en el tiempo total de sueño, principalmente en la fase II del sueño de ondas lentas y sueño paradójico, significativamente menores en los animales expuestos a isquemia-anoxia con respecto a su propio control y en comparación

con el grupo de animales expuestos solo a maniobras simuladas. Estas alteraciones persistieron hasta 30 días después del episodio de isquemia-anoxia en los animales expuestos.

Estudios dirigidos a disminuir las alteraciones que se producen después de isquemia-anoxia utilizando diferentes fármacos, han abierto la posibilidad de reducir el daño cerebral producido por la isquemia-anoxia, basándose en parte, en la administración inmediata (dentro de los primeros 60 min a partir del episodio de isquemia-anoxia) de medicamentos que disminuyan o contrarresten uno o varios de los mecanismos fisiopatológicos que se desencadenan en consecuencia; mismos que son dependientes del tiempo de duración de la isquemia-anoxia. Con este objetivo se han utilizado anestésicos generales (tiopental, alfaxalona-alfadolona), bloqueadores de canales de calcio a nivel de membrana celular (flunarizina, nifedipina, nimodipina), anticonvulsivos (difenilhidantoína), antagonistas de los receptores de glutamato, benzodiazepinas; así como antagonistas de receptores opioides (naloxona) y otros fármacos (Safar, 1984; Baskin y Hosobuchi, 1986; Warner, 1989; Hoffman y Prekeses, 1989; Olinger et al., 1990; Faden et al., 1993; Grahan et al., 1993).

Desde la demostración de la existencia de receptores a opioides endógenos en el tejido nervioso (Pert y Snyder, 1973), estos receptores han sido identificados por sus propiedades farmacológicas y características moleculares. A la fecha se han descrito los receptores μ , δ , κ , (Tempel y Zukin, 1987), como mediadores de los diferentes efectos de los compuestos opioides.; así como también receptores ϵ y λ , (Khachaturian et al., 1985) aunque su existencia ha sido objetada. Se ha reportado que los opioides endógenos, pueden actuar en múltiples receptores ubicados en diferentes estructuras cerebrales en las cuales se ha probado su existencia como la amígdala, hipotálamo, tálamo sustancia gris periacueductal, rafe e hipocampo entre otros (Della-Bella et al., 1978;

Khachaturian et al., 1985; Araki et al., 1993). Siendo algunas de estas estructuras cerebrales muy sensibles a la deficiencia de oxígeno producida por isquemia-anoxia y otras poco sensibles a la lesión que se provoca por la deficiencia de este elemento (Schmidt-Kastner et al., 1990). En este sentido, estudios anteriores han examinado el papel de los antagonistas a opioides en el daño que se produce en las células nerviosas, utilizando naloxona en la lesión traumática y contusiones del cordón espinal, para evaluar el potencial terapéutico de estos fármacos opioides (Faden et al., 1981), en estos estudios se utilizaron ratas en las que se provocó lesión espinal y se trataron con antagonistas de receptores a opioides, lo cual mejoró su recuperación en comparación con las ratas que sirvieron como control. A este respecto, un sustancial cuerpo de evidencias experimentales han mostrado que los antagonistas de receptores opioides mejoran la recuperación de las lesiones que se provocan al sistema nervioso central mediante isquemia de diferente intensidad (Hosobuchi y Baskin, 1982; Faden, 1983; Jabaily et al., 1984; Faden et al., 1990; Grahan et al., 1993). En consecuencia diversos estudios han mostrado que los opiodes endógenos juegan un importante papel en la fisiopatología del daño cerebral provocado por la isquemia-anoxia (Hosobuchi y Baskin, 1982; Faden, 1983; Jabaily et al., 1984; Ting et al., 1994; Browning et al., 1997), ya que fármacos antagonistas de receptores opiodes disminuyen el daño producido por la isquemia-anoxia en el sistema nervioso central (Sawynok et al., 1979; Faden et al., 1982; Zabramski et al., 1984; Fallis, 1984; Skarphedinsson y Thorén, 1988; Faden et al., 1990, 1993; Graham, 1993).

Los resultados de diversos estudios han sustentado el efecto de la administración de naloxona contra el daño que produce la isquemia-anoxia parcial o global en el sistema nervioso central (Baskin et al., 1981; Faden et al., 1982; Zabramski et al., 1984; Faden et al., 1990; Kanai et al., 1994). Dicho efecto se atribuye al bloqueo de la liberación de opiodes endógenos (Baskin et al 1986; Ma

et al., 1991); a la inhibición de la liberación de superóxido neutro (Simkins et al., 1986); a la reducción del flujo de calcio en el interior de las neuronas (Stokes et al., 1984); a un efecto antioxidante que reduce la peroxidación de los componentes lípidos de la membrana (Koreh et al., 1981); a la estabilización de la membrana lisosomal, inhibición de la proteólisis, y posiblemente a efectos como antiagregante plaquetario (Turcani et al., 1986). La naloxona también antagoniza la vasoconstricción arterial inducida por la noradrenalina y en dosis grandes provoca vasodilatación y aumento del flujo sanguíneo cerebral (Turner et al., 1984; Nishimura et al., 1992); también puede reducir el edema cerebral postisquemia (Wexler, 1984).

Con base en estos antecedentes parece importante abordar el estudio de los efectos de la naloxona sobre las alteraciones funcionales del sistema nervioso central provocadas por la isquemia cerebral global aguda en estructuras cerebrales específicas, mediante el análisis de las características de la actividad eléctrica de diversas estructuras cerebrales.

Dado el descubrimiento de numerosos receptores a opioides en años recientes, y la variación de la concentración de opioides endógenos después de la lesión cerebral producida por isquemia el propósito del presente trabajo, es investigar el efecto de la administración de naloxona sobre las alteraciones de la actividad multineuronal y el electroencefalograma de estructuras cerebrales susceptibles al daño provocado por la isquemia-anoxia cerebral global aguda; así como el seguimiento en el transcurso del tiempo de la condición neurológica que permita la administración de este fármaco, como una posible medida terapéutica en el procedimiento de reanimación y recuperación en las horas y días siguientes después de un posible evento de esta naturaleza.

JUSTIFICACION

Las evidencias que existen sobre los mecanismos de lesión y los efectos de la isquemia-anoxia cerebral sobre estructuras nerviosas sensibles, han aumentado el interés por encontrar fármacos que permitan contrarrestar los mecanismos que se activan después de eventos de esta naturaleza. Sin embargo, de los encontrados a la fecha, ninguno ha demostrado tener las propiedades suficientes para inhibir o disminuir en su totalidad los mecanismos de lesión en los diferentes procesos que conducen a la muerte celular de estructuras nerviosas. Así, se ha demostrado que la disminución de la lesión postisquemia se produce por efecto de la aplicación de fármacos con propiedades específicas, cuyo efecto propicia la inhibición de solo algunos de los mecanismos que se activan y provocan desequilibrio en la homeostasis nerviosa; mismos que pueden ser bloqueados.

En años recientes, se ha demostrado que los opioides endógenos contribuyen al mecanismo de lesión seguido de un período de isquemia y que los antagonistas de receptores a opioides, reducen las manifestaciones de lesión fisiológicas, histológicas y conductuales entre otras, en modelos de isquemia global y focal. Sin embargo, los estudios que permiten caracterizar los efectos de la naloxona como antagonista de receptores a opioides, sobre la actividad eléctrica cerebral en animales de experimentación y en seres humanos que han padecido este tipo de trastornos, son escasos, a pesar de la importancia que tienen las alteraciones que se provocan sobre la descarga neuronal en el transcurso del tiempo; las modificaciones reveladas por el análisis espectral y de potencia del EEG y la valoración de la conducta, como una manifestación del funcionamiento nervioso después que se presentan este tipo de fenómenos por deficiencia de oxígeno.

Los efectos benéficos, que se atribuyen a los antagonistas de receptores a opioides, ponen de manifiesto la importancia de estudiar las modificaciones que produce la naloxona, sobre las alteraciones que induce la isquemia-anoxia en la actividad eléctrica cerebral y evaluación del estado neurológico en gatos sometidos a isquemia-anoxia cerebral global aguda, como un intento de explorar a corto y a largo plazo las propiedades neuroprotectoras de este fármaco.

HIPOTESIS

Con base en los antecedentes expuestos, puede plantearse que la naturaleza y magnitud de las alteraciones funcionales provocadas por la isquemia-anoxia cerebral global aguda en diferentes estructuras cerebrales, dependerá de la vulnerabilidad específica de cada estructura y del tiempo de exposición a este evento. La situación de isquemia, dará lugar a modificaciones de las características de su actividad multineuronal y del electroencefalograma; así como a la modificación de la condición neurológica de los animales durante el estado conductual de alerta.

De acuerdo a datos reportados, el aumento de la concentración de opiodes endógenos en el período inmediato postisquemia, está relacionado con la lesión que se produce en estructuras sensibles; dicha lesión, es disminuida cuando los receptores a la acción de estos opioides son bloqueados por antagonistas de receptores a opioides, disminuyendo el daño que se provoca ante eventos de esta naturaleza. Sí la naloxona es antagonista opioide y tiene propiedades que permiten reducir el efecto de los opioides endógenos sobre las estructuras nerviosas que se registran en nuestro experimento, reducirá las alteraciones funcionales que provoca la isquemia-anoxia cerebral global aguda en las estructuras cerebrales seleccionadas y reducirá las alteraciones de su actividad multineuronal, del electroencefalograma y del estado neurológico.

OBJETIVO GENERAL

El propósito del presente estudio, es investigar los efectos de la naloxona sobre las alteraciones que se producen en la actividad eléctrica cerebral (EEG y AMN) en estructuras cerebrales sensibles (corteza parieto-occipital, formación reticular mesencéfala, hipocampo y sustancia gris periacueductal) durante el período agudo, con experimento controlado y durante el período crónico, en el estado conductual de alerta; así como los efectos de la naloxona sobre las alteraciones en la evaluación neurológica, mediante una escala que nos permite medir el estado neurológico en el transcurso del tiempo, después de inducir isquemia-anoxia global aguda en gatos.

OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar las alteraciones provocadas por la isquemia-anoxia global aguda, sobre la actividad eléctrica cerebral y la conducta en gatos.

Determinar la concentración adecuada de naloxona, para producir efectos sobre las alteraciones de la actividad eléctrica, producidas por isquemia-anoxia cerebral global aguda.

Evaluar el efecto de la naloxona sobre las alteraciones producidas en el EEG (frecuencia y potencia) de estructuras subcorticales específicas (CP, FRM, HIP y SGP) después de la isquemia-anoxia cerebral.

Evaluar el efecto de la naloxona sobre las alteraciones producidas por la isquemia-anoxia en la AMN (numero de descargas/seg) sobre estructuras sensibles (FRM, HIP y SGP) después de la isquemia-anoxia cerebral.

Evaluar el efecto de la naloxona sobre las alteraciones producidas por la isquemia-anoxia en el estado neurológico, valorando el estado conductual.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 12 animales de experimentación (Felis domesticus) machos adultos (2.5-3.0 kg) con electrodos bipolares, concéntricos, implantados a permanencia bajo anestesia general (pentobarbital sódico 35 mg/K) de acuerdo a las coordenadas estereotaxicas (Snyder y Niemer, 1961) en las siguientes estructuras cerebrales: Formación reticular mesencefálica (FRM), Hipocampo (HIP) y Sustancia Gris Periacueductal (SGP). Los electrodos se construyeron con alambre de nicromo (60 μ m de diámetro) aislado, colocado dentro de una cánula de acero inoxidable calibre 25, cubierta de barníz aislante, excepto en una pequeña superficie de 1 mm en la punta; de tal manera que el extremo del alambre de nicromo con su área de sección descubierta rebasó 1 mm la punta de la cánula. Asimismo, se colocaron dos agujas de acero inoxidable en el hueso suprayacente a la corteza parietal (CP) como electrodos corticales y un electrodo de referencia en el seno frontal. Los electrodos se unieron a las terminales de un conector, los cuales se fijaron al cráneo de cada gato mediante cemento acrílico.

Diez días después de la implantación de los electrodos, se obtuvieron en cada gato registros simultáneos del electroencefalograma (EEG) de la CP y el EEG y la actividad multineuronal (AMN) de FRM, HIP y SGP, en la condición de alerta (atento-quieto). Para el registro de la actividad eléctrica cerebral, observación de la conducta y de la actividad motora, se colocó a cada uno de los animales dentro de una jaula sonamortiguada (70 cm x 60 cm x 50 cm). Los registros se efectuaron en papel y en cinta magnética, mediante un polígrafo Grass, modelo 7 y una grabadora Ampex respectivamente. La técnica básica para el registro del EEG y AMN en estas condiciones ha sido descrita anteriormente y utilizada en nuestro laboratorio (Winters et al., 1967; Buchwald, 1973; Cervantes et al., 1989). Los potenciales de acción de mayor magnitud fueron seleccionados de

la actividad multineuronal total de las estructuras subcorticales por medio de un circuito de compuerta; los potenciales seleccionados alimentaron a un circuito generador de escalera el cual dió lugar a un escalón cuando se recibió cada potencial de acción y una vez admitidos 20 potenciales se restauraba el nivel de cero, para nuevamente iniciar otro escalamiento. La salida del generador de escalera se conectó al sistema de operación de las pajillas del polígrafo, de tal manera que el número de escaleras registradas en el papel por unidad de tiempo fue un indicador gráfico de la frecuencia de la actividad multineuronal. Se efectuaron también cuatro evaluaciones neurológicas en cada uno de los animales durante los seis días sucesivos, de acuerdo al procedimiento descrito por Todd (Todd et al., 1982), el cual permite analizar: nivel de conciencia, 0-15 puntos; respiración, 0-10 puntos; pares craneales (tamaño pupilar, reflejos a la luz, reflejo oculocefálico, reflejo corneal, reacción de orientación al ruido, sensación facial, reflejo nauseoso), 0-14; reflejos espinales (tono muscular, reflejo flexor al dolor), 0-16 puntos; patrones conductuales (alimentación, acicalamiento), 0-20 puntos; actividad motora (carretillando, oposición a la extensión), 0-25 puntos. En esta escala, un animal antes de exponerse a isquemia-anoxia (control), debe obtener 0 puntos en la evaluación neurológica, en cambio un animal post maniobras de reanimación a la isquemia-anoxia cerebral global aguda con trastornos severos en la población neuronal de estructuras cerebrales, puede obtener hasta 100 puntos (estado premortem). Un criterio de exclusión en el presente estudio, eliminó animales con cualquier puntaje superior a 1.

Luego de la obtención de estos registros control, los gatos fueron asignados en forma aleatoria a cualquiera de los siguientes grupos:

Grupo I (no tratados).- Seis gatos expuestos a isquemia-anoxia cerebral global aguda sin tratamiento de naloxona. En estos animales, bajo anestesia con halotano se intubó la tráquea, se efectuó bloqueo neuromuscular con bromuro de

pancuronio $0.136 \mu\text{M}/\text{kg}$ y se inició la ventilación mecánica controlada mediante un ventilador Bird Mark VIII con frecuencia respiratoria de 24-28 respiraciones por minuto con FiO_2 al 21 % para mantener la PaCO_2 entre 32 y 38 mm Hg. Se realizó una arteriodisección previa infiltración con lidocaina al 2 % en la extremidad posterior derecha y se colocó un catéter en la arteria femoral, al cuál se conectó a un aparato de Boyle para el registro continuo de la presión arterial y obtención de muestras para el análisis de gases. Se realizó una venodisección de la vena yugular derecha previa infiltración con lidocaina, por la cual se introdujo una cánula de acero inoxidable como electrodo de corriente, colocada dentro de una cánula de plástico para aislarla, hasta llegar a la aurícula derecha de la cavidad cardíaca. Se tomó un registro control del electroencefalograma y del electrocardiograma. Inmediatamente después se provocó paro cardíaco mediante el paso de corriente eléctrica (60 Hz, 10 V) durante 2 a 5 segundos, a través del electrodo intraauricular y un electrodo subcutáneo, colocado en la pared torácica a nivel de la punta del corazón; al mismo tiempo se suspendió la ventilación mecánica durante 15 minutos. Estas maniobras dieron lugar a la suspensión de la sistole y la diastole cardíacas, de tal manera que durante este período la PAM, permaneció con valor de 0 mm de Hg. tiempo en que también se mantuvo el paro cardíaco, el cuál se produjo en el gato cuando la osmolaridad, pH, y gases en sangre se encontraban dentro de límites fisiológicos.

Al término de los 15 minutos de paro cardíaco y respiratorio se iniciaron las maniobras de reanimación, que consistieron en ventilación mecánica controlada con FiO_2 al 100 %, masaje cardíaco externo manteniendo la presión arterial femoral entre 90 y 110 mm Hg, bicarbonato de sodio $2 \text{ mM}/\text{kg}$ IV, epinefrina $0.068 \mu\text{M}/\text{kg}$, gluconato de calcio $23.24 \mu\text{M}/\text{kg}$, en caso necesario se administró atropina $0.072 \mu\text{M}/\text{kg}$ IV y clorhidrato de lidocaina $3.69 \mu\text{M}/\text{kg}$ IV para estabilizar el ritmo

cardíaco, así como dopamina 0.017 $\mu\text{M}/\text{kg}/\text{min}$ para mantener la presión arterial femoral entre 90-110 mm Hg.

GRUPO II (tratados).- Seis gatos expuestos a isquemia-anoxia mediante paro cardiorrespiratorio con tratamiento de naloxona. En estos animales se realizaron las mismas maniobras efectuadas en los gatos del grupo I. Sin embargo en este grupo, 30 min después de las maniobras de resucitación posterior al inicio del paro cardiorrespiratorio, a cada gato se le administró una dosis inicial de naloxona (2 mg/kg, i.v.) y una concentración similar mediante una dosis sostenida (2 mg/kg/h) con infusión continua durante las 6 h siguientes.

Cada uno de los animales de los grupos I y II, se mantuvieron con bloqueo neuromuscular durante 6 horas, en este tiempo se tomaron registros cada 30 min de la actividad eléctrica cerebral (EEG Y AMN). Al término de este período se antagonizó el efecto del bromuro de pancuronio (neostigmina 0.01 mg/kg) y se retiró la cánula traqueal una vez que se hubo reiniciado la actividad respiratoria espontánea en los animales de los dos grupos.

En los dos grupos de animales de experimentación, se determinaron también pH y gases en sangre a los 15, 30, 60, 120, 240 y 360 minutos después de la reanimación, y se realizaron las correcciones necesarias para mantener el pH entre 7.35 y 7.40 durante las 6 h que duró cada experimento. Posteriormente se efectuaron registros continuos de la actividad eléctrica cerebral del EEG, incluyendo el análisis espectral y de potencia, durante el estado conductual de alerta en los 6 días siguientes a las maniobras de inducción de isquemia-anoxia, en los animales sin tratamiento con naloxona y en los tratados con este fármaco después del paro cardiorrespiratorio. Se determinó la frecuencia de descarga de la actividad multineuronal de las estructuras subcorticales durante el estado conductual de alerta en cada uno de los animales antes y después del paro

cardiorrespiratorio. En estos mismos días se efectuaron evaluaciones neurológicas (Todd et al., 1982).

Después del último registro los animales se perfundieron bajo anestesia con pentobarbital sódico (35 mg/k, i.v.), con solución salina al 0.85 %, seguida por infusión de formol al 10 % para fijar el cerebro y confirmar la posición de los electrodos en las estructuras subcorticales (Guzmán-Flores et al., 1958).

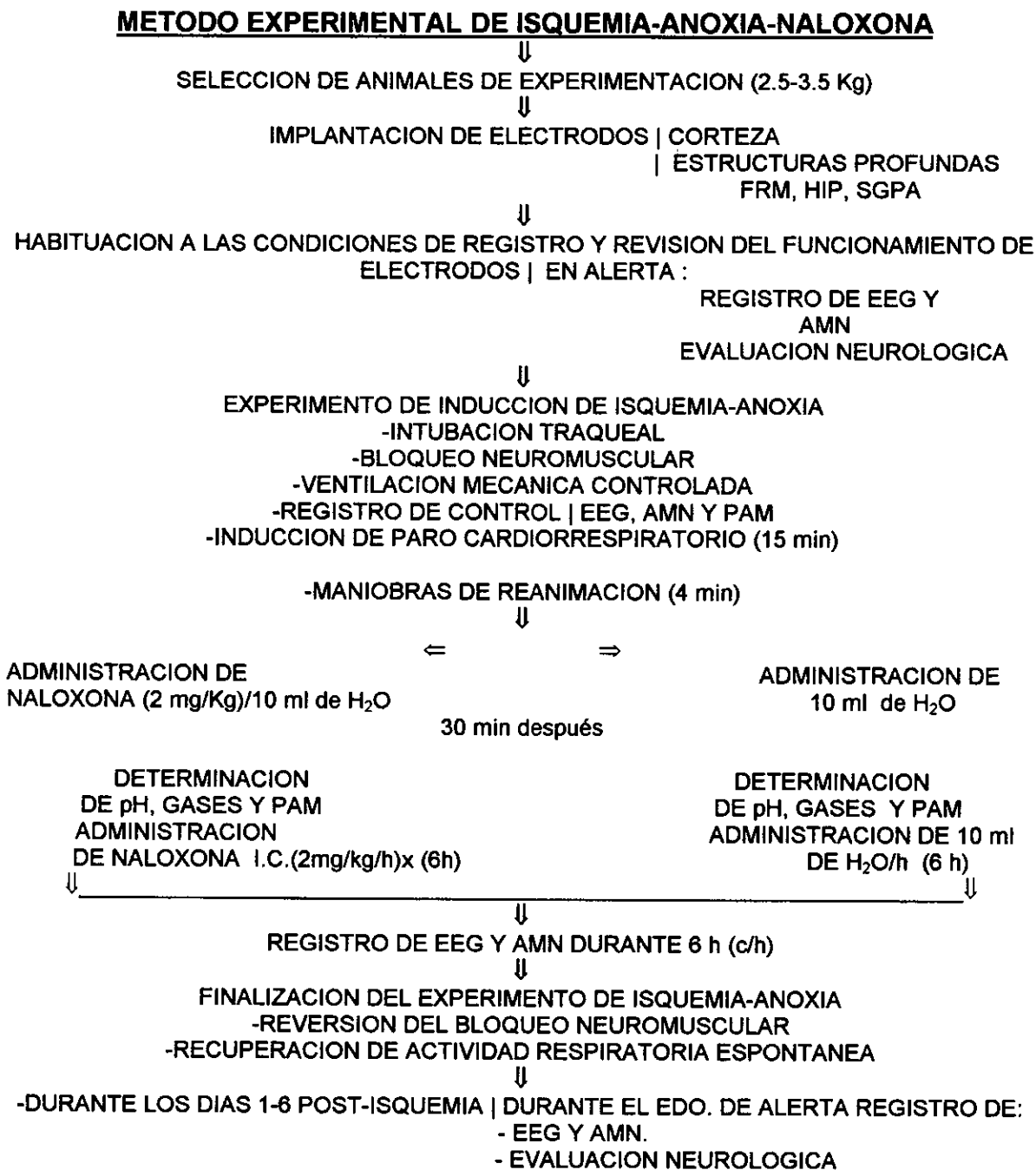
El diagrama del anexo I, presenta los puntos centrales de la metodología seguida en el presente estudio para provocar la isquemia global aguda en gatos.

Los valores promedio de la AMN y la potencia absoluta de las bandas del EEG de las diferentes estructuras durante el estado conductual de alerta, se analizaron mediante un análisis de variación de mediciones repetidas con prueba de Duncan para establecer las diferencias entre grupos y con respecto a sus valores control (Scheffler, 1981; Daniel, 1991), comparando en los animales no tratados y tratados, los valores control con los valores obtenidos en los días posteriores al episodio de isquemia-anoxia cerebral global aguda. Se compararon también los valores del grupo I con los valores obtenidos del grupo II en la misma situación experimental en cada intervalo de tiempo.

Los valores promedio del pH, PaO₂, PaCO₂ y PAM, se analizaron mediante un análisis de variación de mediciones repetidas con prueba de Duncan para establecer las diferencias entre grupo y con respecto a sus valores control (Scheffler, 1981; Daniel, 1991), comparando en los animales no tratados y tratados, los valores control con los valores obtenidos en los días posteriores al episodio de isquemia-anoxia cerebral global aguda. Se compararon también los valores del grupo I con los valores obtenidos del grupo II en la misma situación experimental.

El análisis de los resultados de la evaluación neurológica, se efectuó mediante la prueba U de Mann-Whitney (Siegel, 1956).

ANEXO I



RESULTADOS

Los valores encontrados en las determinaciones de pH, gases en sangre; así como presión arterial media (PAM) en los animales de los grupos I y II, en las diferentes condiciones experimentales después del paro cardiorrespiratorio se muestran en la tabla I. Los valores obtenidos, se encuentran dentro de los límites fisiológicos presentados en la situación de los controles, antes del paro cardiorrespiratorio en los dos grupos de animales de experimentación.

En los animales de los grupos I y II, 15 min después de la isquemia-anoxia y de las maniobras de reanimación, se observó una reducción significativa del pH durante la primera hora a partir del episodio de isquemia, con recuperación de valores normales similares a los valores de control pre-isquemia desde 1 h, hasta 6 h post-isquemia

La PAM en estos dos grupos experimentales se mantuvo entre 90 y 110 mm de Hg antes, y hasta 6 h después del periodo de isquemia-anoxia de acuerdo con las características del modelo de isquemia-anoxia cerebral global aguda inducida por paro cardiorrespiratorio.

La ventilación pulmonar con FiO_2 100 %, misma que se suministró a los animales de los dos grupos de experimentación, durante las 6 horas siguientes a las maniobras de inducción de paro cardiorrespiratorio, originó valores de PaO_2 significativamente mayores a sus propios valores control preisquemia, tanto en el grupo I; como en los animales del grupo II.

Los valores de $PaCO_2$ se incrementaron significativamente en ambos grupos de animales de experimentación durante los primeros 30 minutos posteriores al episodio de isquemia, sin embargo estos valores fueron similares a los obtenidos antes de la isquemia a partir de 1 h y hasta las 6 h siguientes al episodio de isquemia-anoxia.

Tabla 1.- Valores promedio ($\bar{X} \pm D.E.$), de pH, gases y presión arterial en gatos no tratados y tratados, en diferentes tiempos después de isquemia-anoxia

	CONTROL	15 min	30 min	60 min PH	2 H	4 H	6 H
NO TRATADO	7.34 ± 0.03	6.4 ± 0.04*	7.0 ± 0.04*	7.22 ± 0.04*	7.32 ± 0.02	7.31 ± 0.03	7.35 ± 0.05
TRATADO	7.35 ± 0.02	6.83 ± 0.03*	7.15 ± 0.05*	7.35 ± 0.02	7.32 ± 0.03	7.32 ± 0.04	7.33 ± 0.03
O ₂							
NO TRATADO	87 ± 4	94 ± 6	132 ± 8*	158 ± 10*	181 ± 15*	194 ± 11*	201 ± 12*
TRATADO	85 ± 5	96 ± 5	147 ± 8*	208 ± 11*	193 ± 10*	207 ± 8*	200 ± 9*
CO ₂							
NO TRATADO	36 ± 2	115 ± 5*	55 ± 4*	40 ± 4	40 ± 3	32 ± 5	38 ± 3
TRATADO	35 ± 2	120 ± 5*	118 ± 5*	44 ± 4	39 ± 3.5	33 ± 3	38 ± 2
PAM							
NO TRATADO	104 ± 2	0	95 ± 6	102 ± 4	103 ± 5	104 ± 6	107 ± 4
TRATADO	98 ± 3	0	101 ± 3	105 ± 5	108 ± 4	121 ± 4	100 ± 3

* Diferencia significativa, $p < 0.01$ con respecto a los valores del control.

Los registros del EEG de la CP, FRM, el HIP y la SGP, obtenidos antes del episodio de isquemia en los animales del grupo I y del grupo II, mostraron una predominancia de ondas entre 4 y 15 Hz, con pocos componentes de actividad lenta de menos de 4 Hz, como se ilustra en los espectros del EEG en las figuras 1 a 4.

A partir del episodio de isquemia-anoxia se observó la desaparición del EEG durante aproximadamente 30 min y la reaparición progresiva de la actividad electroencefalográfica con el transcurso del tiempo, durante las 6 h post-isquemia. Fue evidente la cantidad significativamente menor de componentes de actividad rápida mayor de 4 - 12 Hz y de 13 - 32 Hz, en el EEG de la corteza parieto-occipital de los animales sin tratamiento, en comparación con los animales tratados, a partir de la primera hora para las bandas de mas de 13 Hz y a partir de las 2 h y hasta las 6 h post-isquemia para las bandas de 4-12 Hz (figura 1). Un

fenómeno semejante con respecto a las ondas rápidas de mas de 13 Hz, se observó en el EEG de la FRM (figura 2) y la SGP (fig 4). En cambio respecto a la presentación de ondas de 4 - 12 Hz y ondas rápidas de más de 13 Hz, no se observaron diferencias en el EEG del HIP entre los animales tratados y no tratados (figura 3).

El análisis de potencia de los componentes del EEG (Bandas de 0.5-3.5 Hz) durante el estado de alerta en los días posteriores a la isquemia-anoxia en la CP, mostró valores significativamente mayores a los de su propio control en los primeros días (1,2 y 3) y valores similares al control preisquemia en las bandas correspondientes, tanto en los animales tratados como en los no tratados. En cambio los valores de potencia para la banda entre los 4-7 Hz, fue significativamente menor durante los 4 días siguientes a isquemia, con respecto a los valores del control en los animales del grupo I; así como en los animales del grupo II (fig 5). El análisis de potencia que corresponde a las bandas de 13-32 Hz, fue significativamente mayor el primer día con respecto al control en ambos grupos de animales, con valores significativamente menores al control durante los días 5 y 6 en los grupos I y II.

El análisis de potencia efectuado al EEG de la FRM durante el estado de alerta, mostró valores significativamente menores a su propio control en los dos primeros días después del experimento con valores similares al control preisquemia en los días siguientes en la banda de 0.5-3.5 Hz en ambos grupos. No se observaron diferencias en la potencia de la banda de 4-7 Hz, en ambos grupos de animales con respecto a su control, durante los días siguientes al episodio de isquemia. La banda de 13-32 Hz, mostró valores de potencia significativamente menores durante los tres primeros días postisquemia y valores sin diferencia significativa con respecto a su control preisquemia los días siguientes y hasta el día sexto, en los animales tratados y no tratados como se aprecia en la figura 6.

ANÁLISIS ESPECTRAL
CORTEZA PARIETO-OCCIPITAL

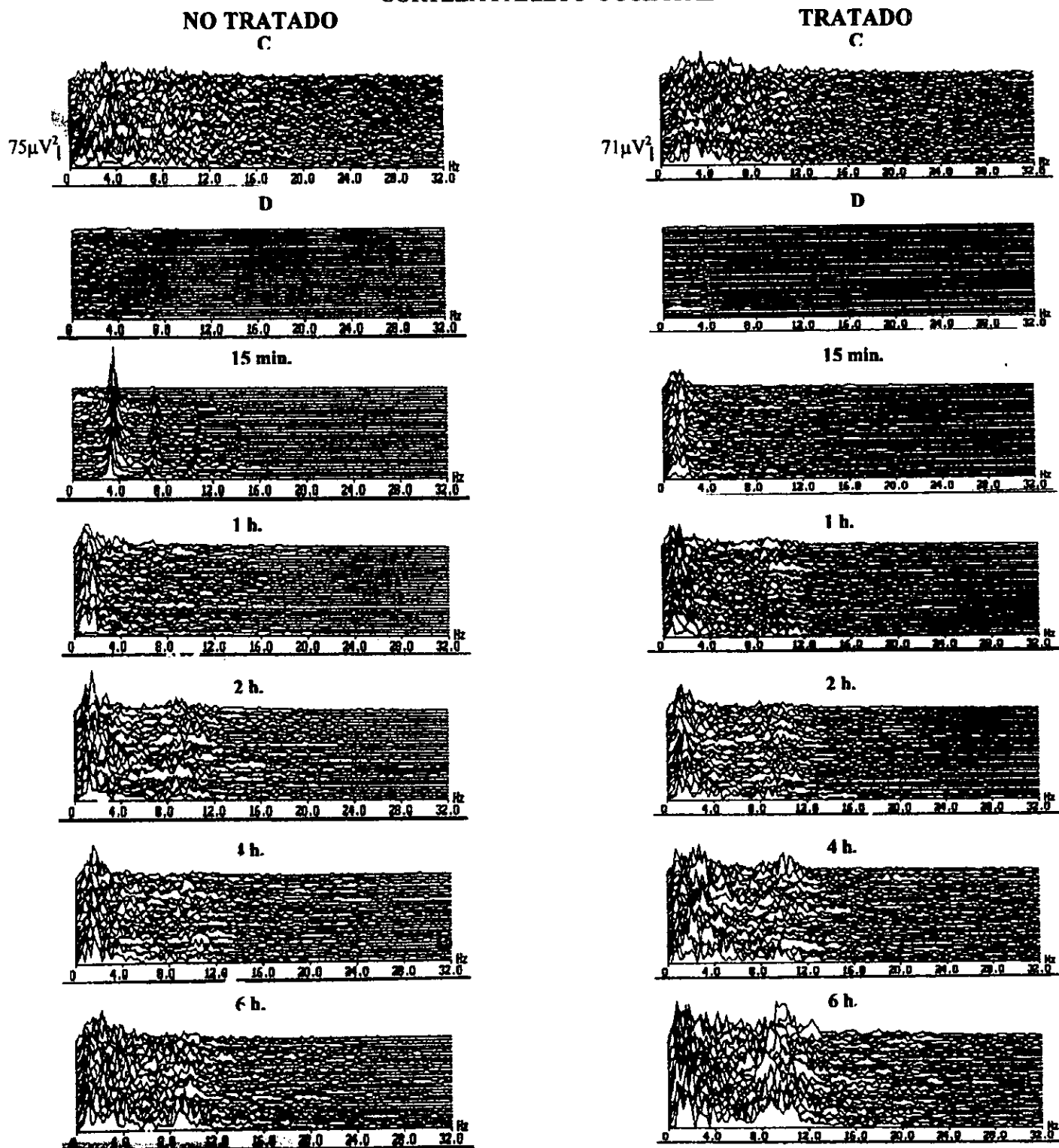


Figura 1.- Gráficas correspondientes al análisis espectral del EEG registrado en la corteza parieto-occipital en uno de los animales de cada uno de los grupos no tratados y tratados durante el período control (C) con el gato paralizado, 15 minutos durante el paro cardiorrespiratorio (D) y en las horas siguientes después de las maniobras de resuscitación. Puede notarse la ausencia de la actividad cerebral en D, y la paulatina aparición del trazo electroencefalográfico en el transcurso del tiempo en la estructura registrada. Note durante las 2, 4 y 6 h después de la isquemia la persistencia de ondas de más de 4 Hz y la pronta aparición de las ondas rápidas en los gatos tratados con naloxona.

ANÁLISIS ESPECTRAL

FORMACION RETICULAR

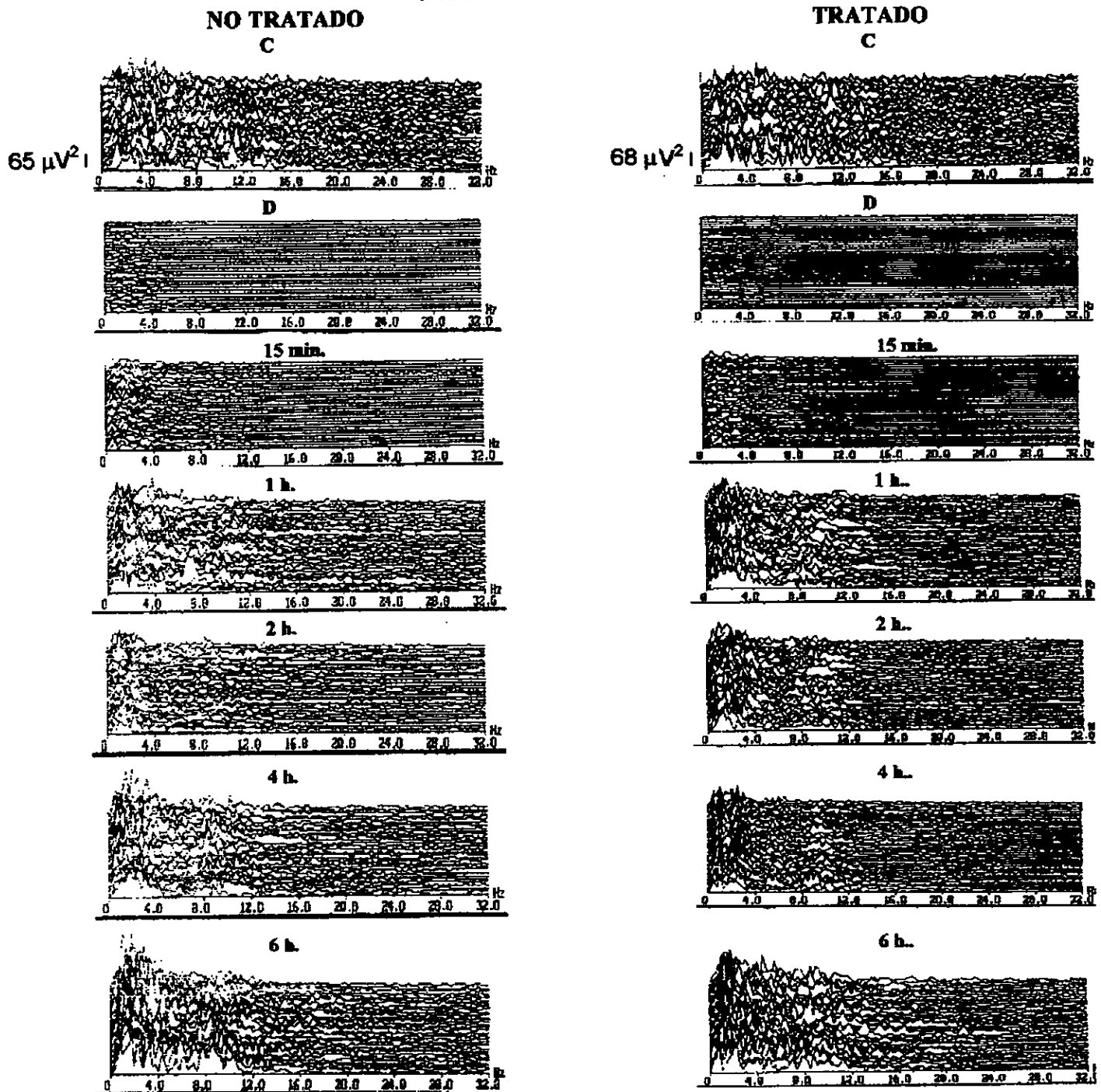


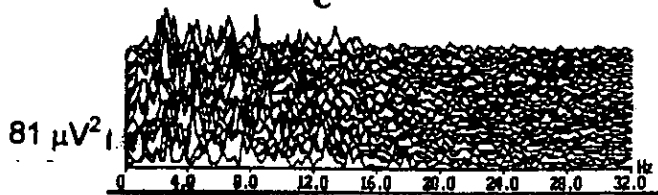
Figura 2.- Gráficas correspondientes al análisis espectral del EEG, registrado en la FRM en uno de los animales de cada uno de los grupos no tratados y tratados durante el período control (C), con el gato paralizado, 15 minutos durante el paro cardiorrespiratorio (D) y en las horas siguientes después de las maniobras de resuscitación. Puede notarse la ausencia de la actividad cerebral en D, y la paulatina aparición del trazo electroencefalográfico en el transcurso del tiempo. Note en las horas siguientes a la isquemia, la mejor recuperación en las ondas rápidas del EEG en el trazo de los animales tratados con naloxona.

ANÁLISIS ESPECTRAL

HIPOCAMPO

NO TRATADO

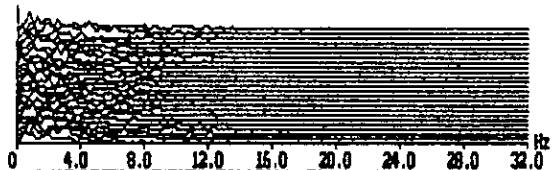
C



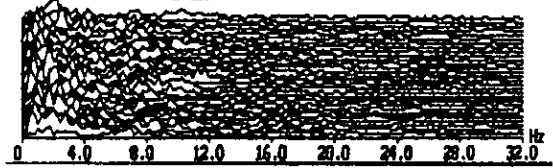
D



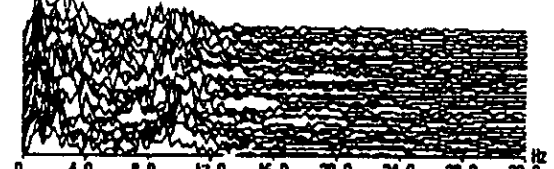
15 min.



1 h.



2 h.



4 h.

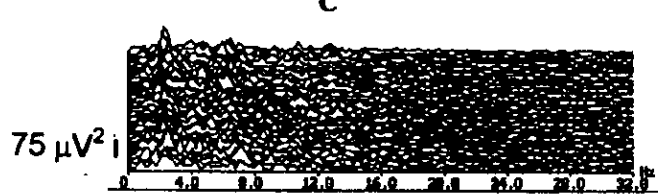


6 h.

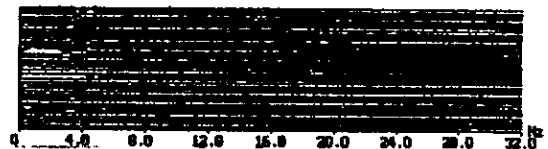


TRATADO

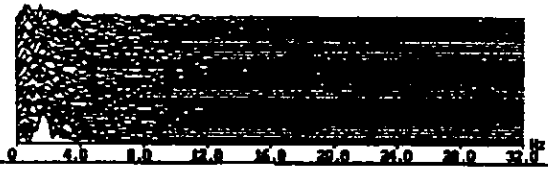
C



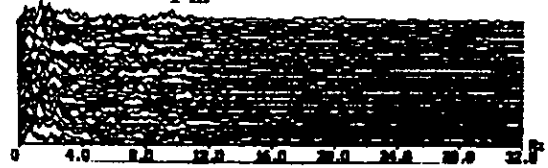
D



15 min.



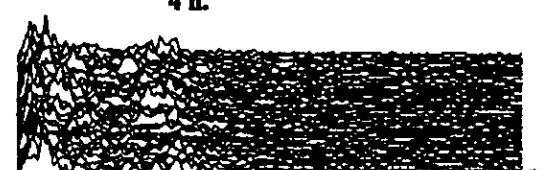
1 h.



2 h.



4 h.



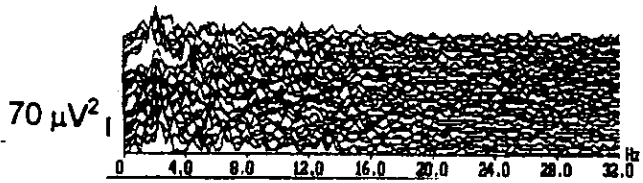
6 h.



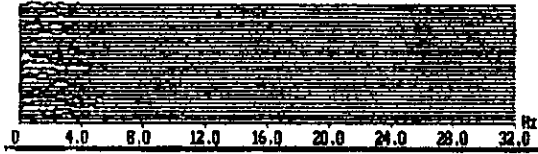
Figura 3.- Gráficas correspondientes al análisis espectral del EEG, registrado en el HIP en uno de los animales de cada uno de los grupos no tratados y tratados durante el período control (C), con el gato paralizado, 15 minutos durante el paro cardiorrespiratorio (D) y en las horas siguientes después de las maniobras de resuscitación. Puede notarse la ausencia de la actividad cerebral en D, y la paulatina aparición del trazo electroencefalográfico en el transcurso del tiempo. Note la persistencia de las bandas de más de 4 Hz a las 2,4 y 6 h en ambos grupos después de la isquemia-anoxia.

ANÁLISIS ESPECTRAL
SUSTANCIA GRIS PERIACUEDUCTAL

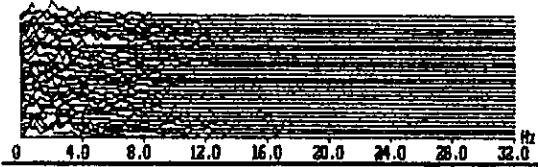
NO TRATADO
C



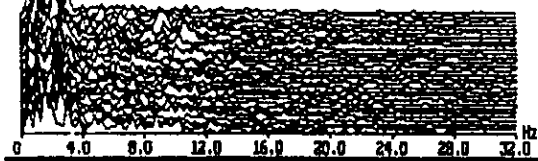
D



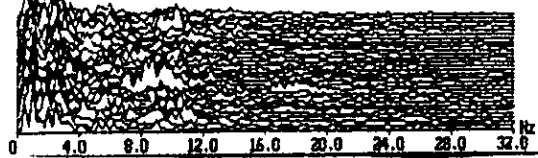
15 min.



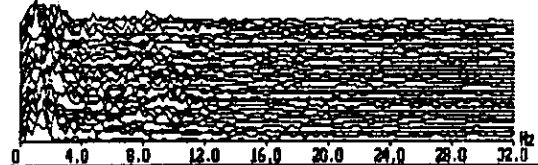
1 h.



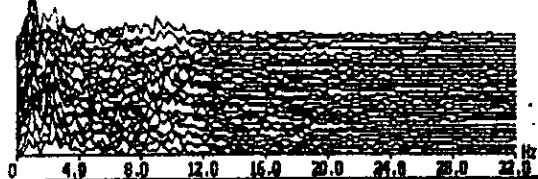
2 h.



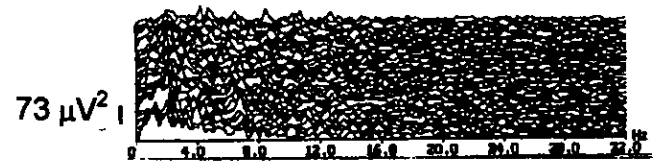
4 h.



6 h.



TRATADO
C



D



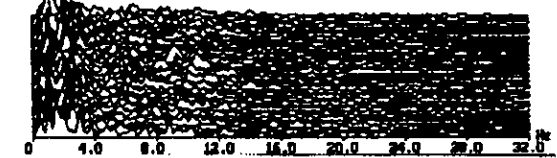
15 min.



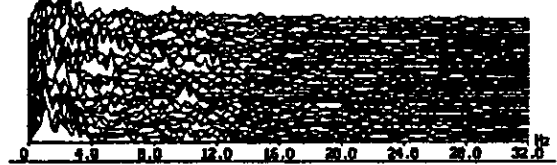
1 h.



2 h.



4 h.



6 h.

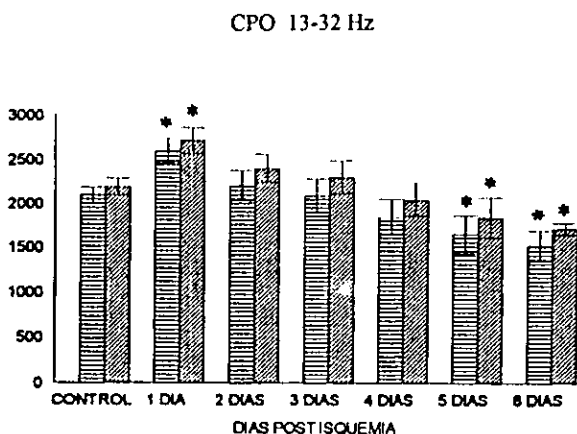
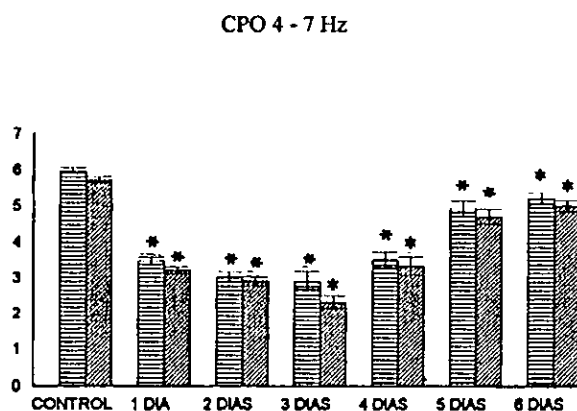
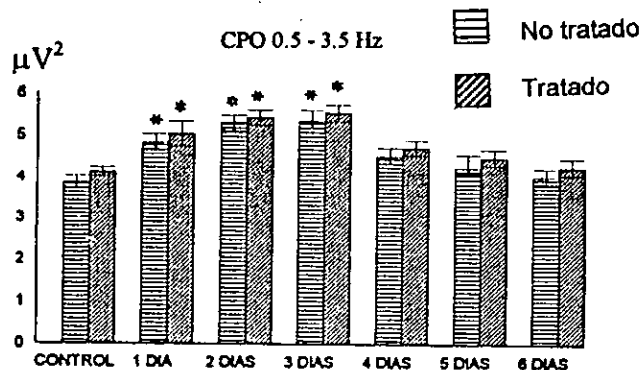


Figura 4.- Gráficas correspondientes al análisis espectral del EEG, registrado en la SGP en uno de los animales de cada uno de los grupos no tratados y tratados durante el período control (C), con el gato paralizado, 15 minutos durante el paro cardiorrespiratorio (D) y en las horas siguientes después de las maniobras de resuscitación. Puede notarse la ausencia de la actividad cerebral en D, y la paulatina aparición del trazo electroencefalográfico en el transcurso del tiempo. Note la persistencia de las ondas rápidas del EEG en las horas siguientes a la isquemia, en el trazo de los animales con tratamiento de naloxona en comparación con los animales no tratados.

El análisis de potencia del electroencefalograma del hipocampo en los animales tratados y no tratados, mostró valores significativamente menores a los de su control preisquemia en los seis días siguientes al episodio de isquemia-anoxia sin recuperación en las bandas 0.5-3.5 Hz y 4-7 Hz. En cambio, en las bandas de 13-32 Hz, en los días 1,2,5 y 6, no se encontró diferencias significativas entre los grupos de animales tratados y no tratados con respecto a los valores preisquemia, sin embargo durante los días 3 y 4 ambos grupos mostraron diferencias significativas con respecto a su control antes de la isquemia (fig. 7).

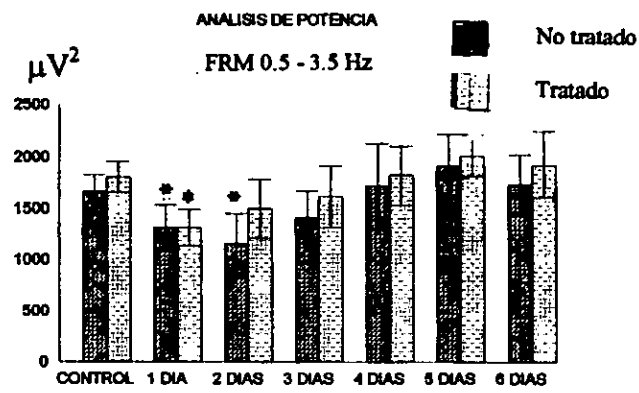
El análisis de potencia del electroencefalograma de la SGP, mostró en la banda menor de 3.5 Hz, valores de potencia significativamente menores al control preisquemia, en ambos grupos durante el primer día postisquemia, y en el grupo no tratado los días 2 y 3 postisquemia; en tanto que en estos días en el grupo tratado los valores de potencia fueron significativamente mayores que su propio control y que los correspondientes a los mismos días en el grupo no tratado. En los días 4,5 y 6 los valores de potencia de la banda menor de 3.5 Hz, en los grupos I y II, no difirieron entre sí, ni con respecto a sus valores de control preisquemia. Los valores de potencia de la banda de 4-7 Hz, no mostró diferencias significativas entre sí, ni con respecto a sus valores control preisquemia, durante los seis días posteriores al período de isquemia-anoxia. Los valores de potencia para la banda de 13-32 Hz en la SGP, en ambos grupos de animales se redujeron significativamente con respecto a su control preisquemia en los días 1,2, 4, y 6 después del episodio de isquemia (fig. 8).

Los valores promedio que corresponden a la frecuencia/seg de la AMN de la FRM, HIP y SGP, después del episodio de isquemia y durante las 6 horas siguientes en los grupos I y II, se ilustran en la figura 9. La AMN de todas las

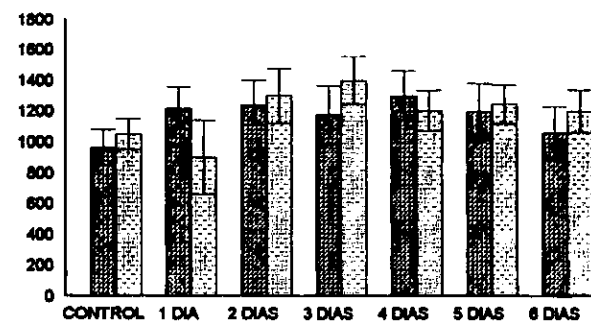


* $p < 0.05$, prueba de Duncan en comparación con los valores del control previos al período de isquemia-anoxia.

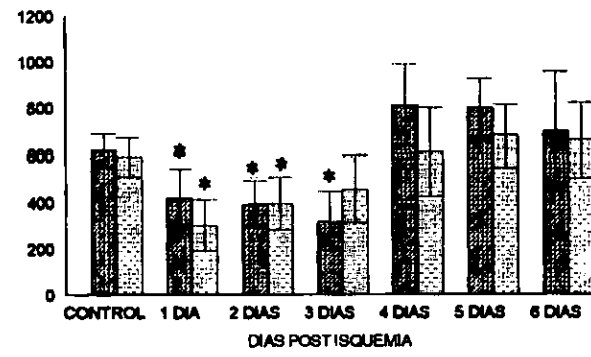
Figura 5. - Valores ($\bar{X} \pm D.E.$) de la potencia en μV^2 (ordenadas) de las bandas de EEG (0.5 - 3.5 Hz; 4 - 7 Hz y 13 - 32 Hz) de la corteza parieto-occipital, antes (control) y hasta seis días después (abscisas), de un período de isquemia-anoxia, en los animales no tratados y tratados. Se puede notar en la banda de 0.5 - 3.5 Hz, el aumento de la potencia en los primeros tres días después de la isquemia en ambos grupos de animales y la normalización de sus valores en los días 4, 5 y 6; la reducción significativa de la potencia en la banda de 4 - 7 Hz en los días siguientes a la isquemia; así como el aumento de la potencia en la banda de 13-32 Hz en el primer día postisquemia y la reducción significativa en los días 5 y 6 en ambos grupos de animales.



FRM 4 - 7 Hz

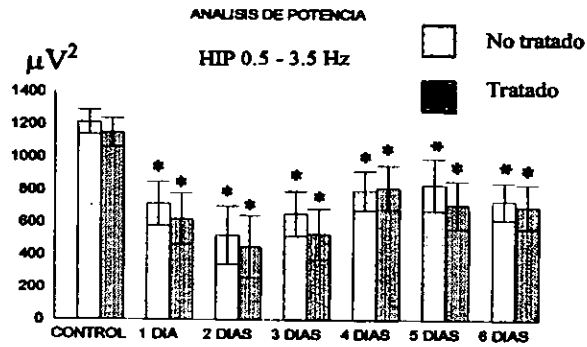


FRM 13-32 Hz

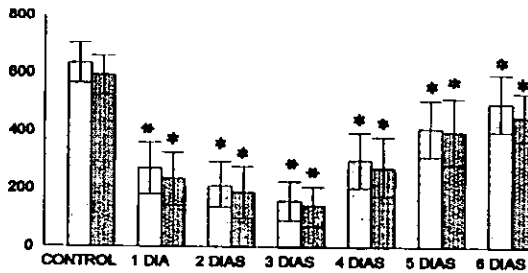


* $p < 0.05$, prueba de Duncan en comparación con los valores del control previos al período de isquemia-anoxia.

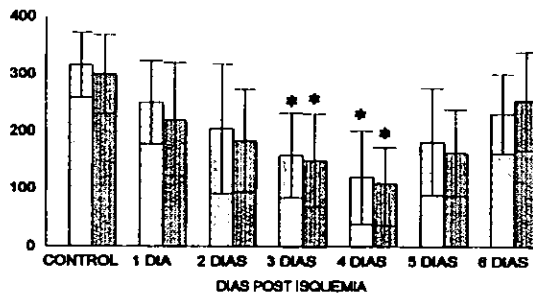
Figura 6. - Valores ($\bar{X} \pm D.E.$) de la potencia en μV^2 (ordenadas) de las bandas de EEG (0.5 - 3.5 Hz; 4 - 7 Hz y 13 - 32 Hz) de la FRM, antes (control) y hasta seis días después (abscisas), de un período de isquemia-anoxia, en los animales no tratados y tratados con naloxona. Se puede notar en la banda de 0.5 - 3.5 Hz, la reducción significativa de la potencia en los días 1 y 2, después de la isquemia-anoxia en ambos grupos de animales y la normalización de sus valores en los días siguientes; así como la reducción significativa de la potencia en la banda de 13 - 32 Hz, durante los días 1, 2 y 3 en los animales no tratados y tratados.



HIP 4 - 7 Hz

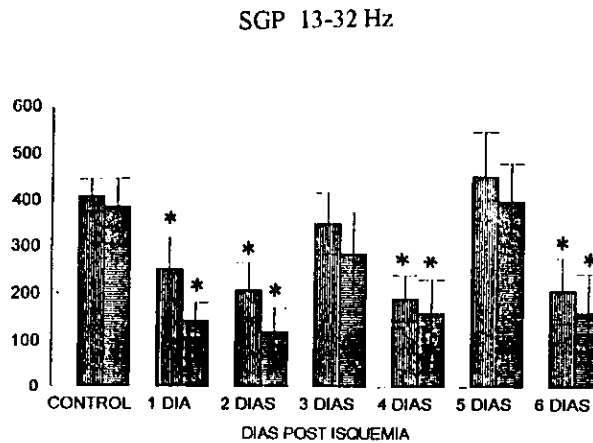
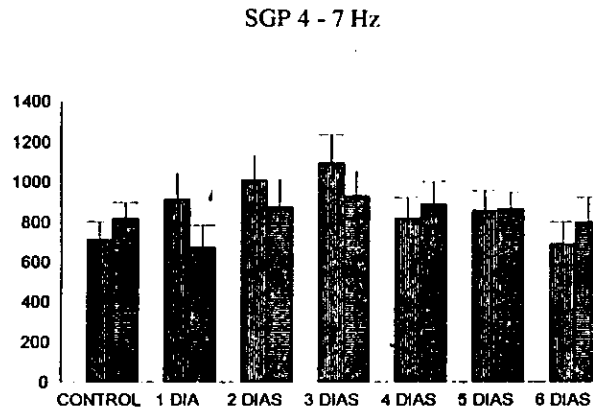
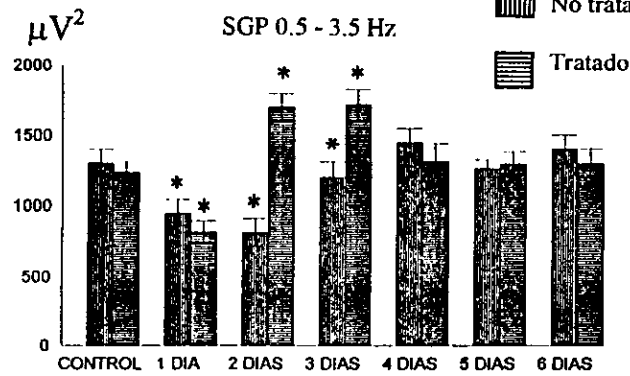


HIP 13-32 Hz



* $p < 0.05$, prueba de Duncan en comparación con los valores del control previos al período de isquemia-anoxia.

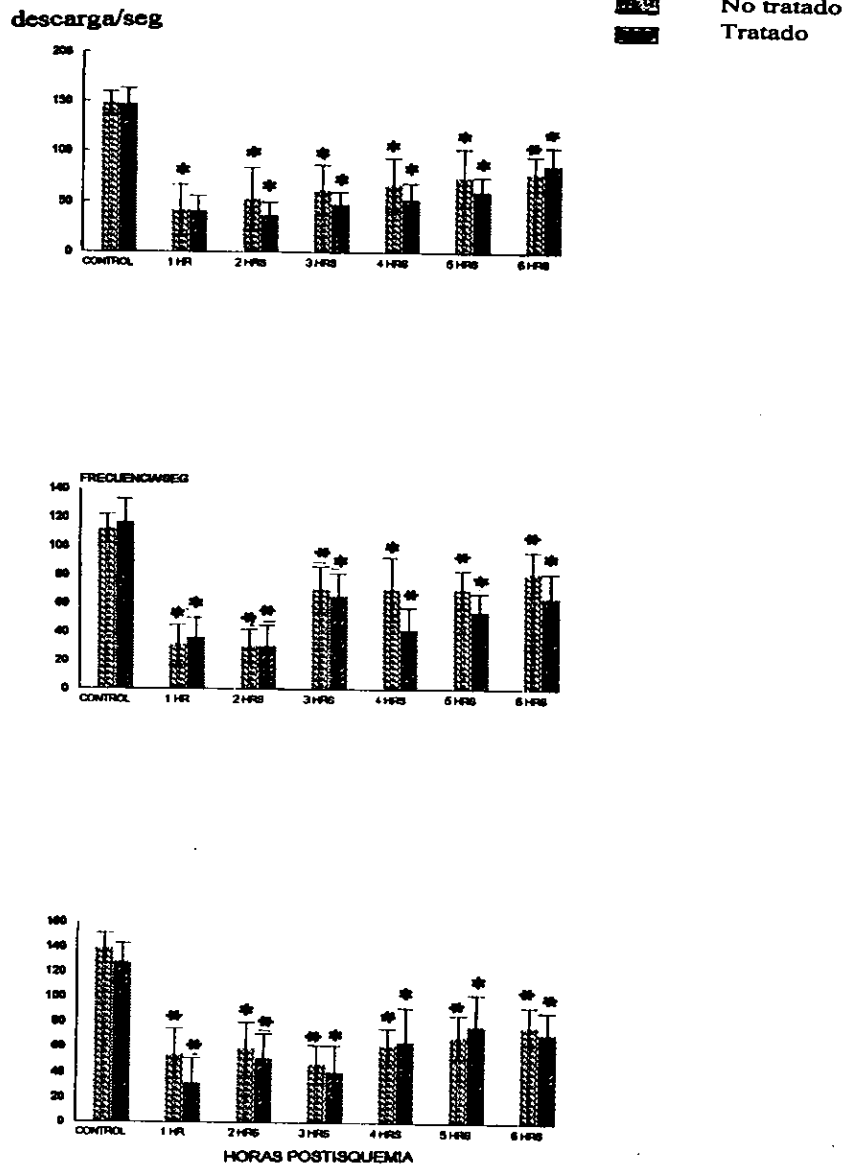
Figura 7. - Valores ($\bar{X} \pm D.E.$) de la potencia en μV^2 (ordenadas) de las bandas de EEG (0.5 - 3.5 Hz; 4 - 7 Hz y 13 - 32 Hz) del HIP, antes (control) y hasta seis días después (abscisas), de un período de isquemia-anoxia, en los animales no tratados y tratados con naloxona. Note en ambos grupos de animales los días siguientes al experimento, la reducción significativa de las potencias, sin recuperación en las bandas de 0.5 - 3.5 Hz; 4 - 7 Hz; así como reducción significativa de la potencia en la banda de 13 - 32 Hz, durante los días 3 y 4 postisquemia en los animales no tratados y tratados.



* $p < 0.05$, prueba de Duncan en comparación con los valores del control previos al período de isquemia-anoxia.

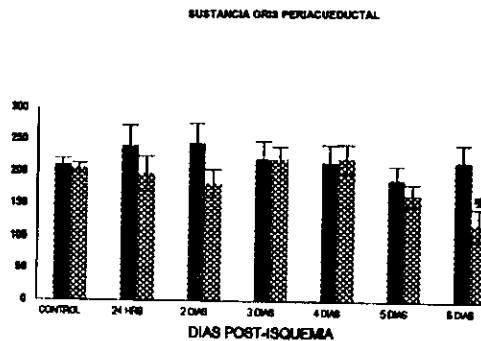
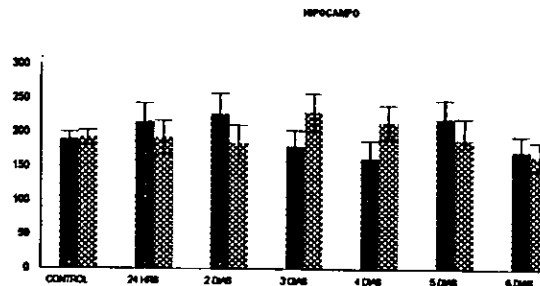
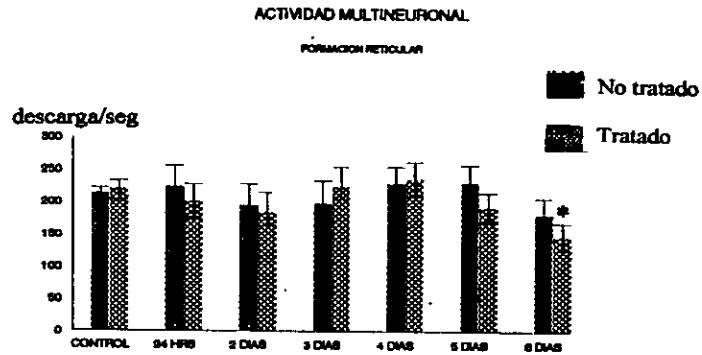
Figura 8. - Valores ($\bar{X} \pm D.E.$) de la potencia en μV^2 (ordenadas) de las bandas de EEG (0.5 - 3.5 Hz; 4 - 7 Hz y 13 - 32 Hz) de la SGP, antes (control) y hasta seis días después (abscisas), de un período de isquemia-anoxia, en los animales no tratados y tratados con naloxona. Note en el primer día en ambos grupos la reducción significativa de la potencia, en la banda de 0.5 - 3.5 Hz; así como reducción en el grupo no tratado, y aumento significativo de la potencia en el grupo tratado, en los días 2 y 3. En cambio hubo una recuperación con respecto a sus valores de control en los días 4, 5 y 6 de la misma banda. En la banda de 13 - 32 Hz, puede notarse la reducción significativa de la potencia en ambos grupos, con respecto a su control los días siguientes a la isquemia, a excepción de los días 3 y 5, donde no se observan diferencias con respecto a los valores de control.

ACTIVIDAD MULTINEURONAL



* p<0.05, prueba de Duncan en comparación con los valores del control previos al período de isquemia noxia.

Figura 9.- Valores ($\bar{X} \pm D.E.$) de la descarga/seg de la AMN, que muestran el efecto de la isquemia-anoxia en los grupos de animales sin tratamiento y tratados con naloxona, durante las seis horas siguientes al episodio de isquemia. Note la reducción significativa de los valores promedio de la frecuencia de descarga en las estructuras subcorticales registradas, con respecto a los valores de sus controles en ambos grupos.



* $p < 0.05$, prueba de Duncan en comparación con los valores del control previos al período de isquemia-anoxia.

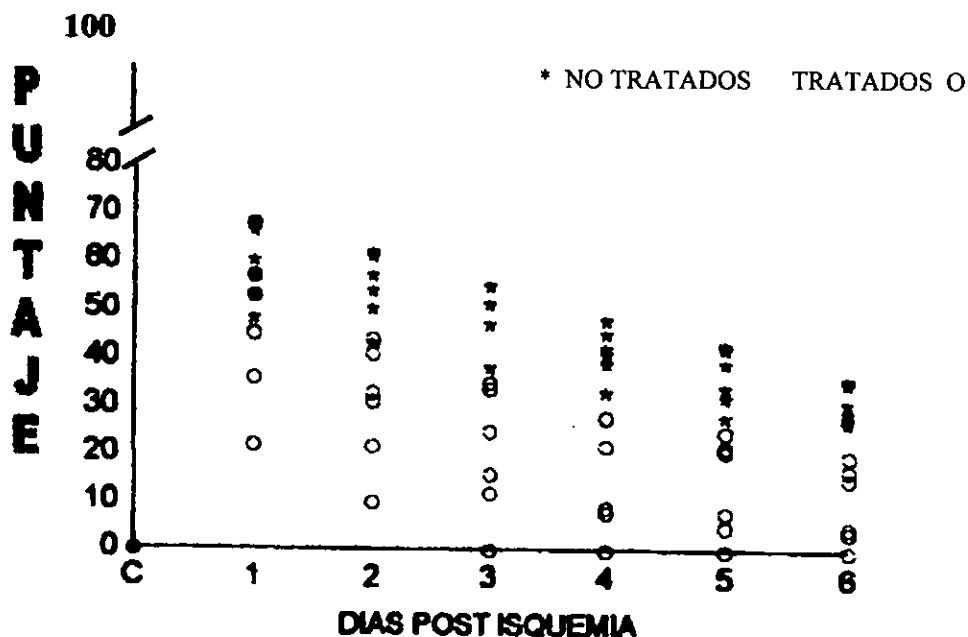
Figura 10.- Valores ($\bar{X} \pm D.E.$) de frecuencia de descarga de la AMN, que muestran el efecto de la isquemia-anoxia en los grupos de animales sin tratamiento y tratados con naloxona, durante los seis días siguientes al episodio de isquemia. En las ordenadas la frecuencia y en las abscisas los días siguientes a isquemia. Note en el sexto día de registro la diferencia significativa de la AMN en la FRM y SGP, en los animales tratados con naloxona, respecto a sus valores de control y a los valores obtenidos en los animales del grupo no tratado.

estructuras registradas, se redujo significativamente durante las primeras seis horas postisquemia. Esta reducción fue mayor durante las dos primeras horas, sin alcanzar la recuperación de los valores de control, en las siguientes horas de registro. No, se observaron diferencias significativas en los valores promedio de la AMN entre los grupos I y II.

No se observaron diferencias significativas en la descarga multineuronal de la FRM, HIP y SGP, en los cinco días siguientes al episodio de isquemia durante la situación de alerta, en los grupos I y II (fig. 10). En cambio, el día sexto en la FRM y SGP, se apreció una reducción significativa de la AMN en los animales del grupo II.

La evaluación de la deficiencia neurológica utilizando la escala de Todd, en los animales del grupo I, muestra la alteración producida 24 h, 2,3,4,5 y 6 días después del paro cardiorrespiratorio, valores que se muestran en la figura 11, donde pueden apreciarse puntajes significativamente mayores, con respecto a los puntajes obtenidos en los animales del grupo II.

ANALISIS CONDUCTUAL



* $P < 0.05$ prueba de U de Mann - Whitney, en comparación con los valores obtenidos entre los dos grupos.

Figura 11.- Puntajes de la deficiencia neurológica observada en ambos grupos de animales antes (C) y 1-6 días después de un episodio de isquemia-anoxia cerebral global aguda. Note la disminución paulatina del daño neurológico en el transcurso del tiempo en ambos grupos de animales y la mejor recuperación en los puntajes de los animales tratados con 2 mg/kg de naloxona en comparación con los valores de los animales no tratados, pero sometidos a las mismas maniobras experimentales.

DISCUSION

Para investigar los efectos de la naloxona, sobre las consecuencias de un período de isquemia-anoxia cerebral global aguda en las características de la actividad eléctrica cerebral (EEG y AMN) sobre diferentes estructuras nerviosas; así como la evaluación del estado conductual, en el presente trabajo experimental, se utilizó un modelo de isquemia-anoxia cerebral global aguda en el gato, en el que se provocó la isquemia-anoxia cerebral mediante la suspensión de la actividad cardíaca y de la ventilación pulmonar durante 15 min y, un período adicional de 2-4 min de maniobras para la reanimación. Este modelo experimental y otros similares, han sido utilizados en otros estudios (Molinari, 1976; Wauquier, 1987; Karpiak et al., 1989; Tataeishi et al., 1989, 1991). En estos modelos, al igual que en el presente estudio se han controlado y tomado en cuenta variables del medio interno, cuyas modificaciones pueden influir sobre la presencia y magnitud del daño cerebral provocado por la isquemia-anoxia.

El aumento o disminución de la acidosis se ha considerado que juega un papel importante en la progresión del daño celular post-isquemia. Sin embargo, determinaciones del pH en el transcurso del tiempo postisquemia no se ha valorado. En este estudio, se midieron los cambios de pH sanguíneo para controlar este factor. Así, la disminución del pH, los primeros 30 minutos a partir de las maniobras de animación cardiorrespiratoria, con respecto a los valores encontrados en las determinaciones control, en los gatos de los grupos I y II son similares a los reportados por otros autores después de la isquemia-anoxia (Chopp, 1988; Tataeishi, et al., 1989, 1991). Esta disminución del pH en el modelo experimental se ha atribuido a la conversión anaeróbica de la glucosa en ácido láctico (Ljunggren, et al., 1974; Wagner et al., 1994; Itoh et al., 1998), y al incremento de la concentración de este compuesto después del episodio de isquemia-anoxia (Rehncrona et al., 1985; Sappey et al., 1995).

El incremento anormal de la PaCO₂ en los gatos del grupo I y II, en los primeros minutos después de la isquemia-anoxia, también coinciden con los datos reportados utilizando el mismo modelo experimental (Tataeishi et al., 1989, 1991) y en otros modelos de isquemia (Ljunggren et al., 1974; Wagner et al., 1994), en los que, lo mismo que en el presente estudio se efectuó el control de esta variable, cuyo valor se mantuvo dentro de límites normales desde la primera y hasta 6 h post-isquemia.

El incremento permanente de la PaO₂, tanto en los animales del grupo I; como en los animales del grupo II, se ha atribuido en el modelo al aumento en la FiO₂, que antes del paro cardiorrespiratorio fue 40 % y a partir del procedimiento de reanimación se mantuvo durante 6 h en 100 % (Tataeishi, et al., 1989, 1991).

La hipotensión es un importante factor en la evolución del daño cerebral isquémico, ya que después de un episodio de isquemia, el flujo sanguíneo es proporcional a la presión de perfusión y pequeñas reducciones en la presión arterial pueden aumentar la severidad del daño (Waltz, 1985; Hossman, 1993). En el presente estudio, la PAM en los grupos I y II, se mantuvo entre 90 y 110 mm de Hg durante las 6 h siguientes a la isquemia-anoxia, lo que descarta la posibilidad del daño por hipotensión.

Se sabe que varios de los fenómenos fisiopatológicos inducidos por la isquemia que pueden dar lugar al daño y a las alteraciones funcionales del sistema nervioso central, ocurren durante las horas siguientes al episodio de isquemia. En consecuencia la administración de fármacos con posibles efectos neuroprotectores, durante el período inmediato post-isquemia, pueden poner en evidencia su efecto neuroprotector, cuando su mecanismo de acción es capaz de contrarrestar uno ó varios de los fenómenos fisiopatológicos que tienen lugar durante dicho período. En el presente estudio, el efecto de la naloxona durante el período agudo sobre el electroencefalograma de la corteza parieto-occipital y de

las estructuras subcorticales señaladas en el grupo tratado con naloxona , mostró durante las primeras horas post-isquemia, una mayor cantidad de componentes de ondas rápidas y una cantidad menor de ondas lentas en comparación con el grupo I. Se conoce que las ondas lentas de 0.5 - 4 Hz usualmente se consideran un indicador de lesión cerebral (Sainio et al., 1983; Van Huffelen, et al 1984), por lo que nuestros hallazgos son consistentes, en el sentido de que, fármacos que reducen la deficiencia neurológica postisquemia, también reducen las alteraciones que se presentan en el EEG por efecto de un episodio de esta naturaleza (Todd et al., 1982; Gisvold et al., 1984; Cervantes et al., 1989). Sin embargo, trabajos realizados en el hipocampo antes y después de la isquemia, han demostrado que las ondas theta, aparecen sobre la estructura con tan solo 4.3 segundos , después de ocluir la carotida y desaparecen a los 34.2 segundos después de suspender la oclusión en gatos (Kasaba et al., 1990). Al respecto se sugiere que la integración sináptica que se produce para dar origen a las bandas de 4 - 7 Hz, es más sensitiva que las repercusiones de la lesión en la membrana después de isquemia y que esta sensibilidad indica la disminución de la transmisión sináptica, como un mecanismo de defensa para disminuir el daño que se produce por la deficiencia de oxígeno (Howard et al., 1998). En este sentido, los efectos de la naloxona sobre las alteraciones de la actividad eléctrica cerebral después de la isquemia-anoxia, durante el período agudo en nuestro experimento, parece ser más notorio en el análisis espectral efectuado sobre la CP, donde es evidente la presencia de esta banda a las 2, 4 y 6 horas en los animales tratados con naloxona, respecto a los animales sin tratamiento (Fig. 1). En cambio, el hipocampo en los animales tratados y no tratados, aparece sin diferencia en las modificaciones causadas por la isquemia en esta misma banda (Fig 3). Esta situación, se puede asociar con la cantidad de células que mueren, resisten y se mantienen con lesión después de la isquemia-anoxia en esta estructura. Cabe recordar que el hipocampo es una de las

estructuras más sensibles y con tan solo un minuto de exposición a la isquemia presenta muerte celular, principalmente en la zona CA1 (Schmidt-Kastner et al., 1990).

En modelos de isquemia global, el efecto neuroprotector de la naloxona se ha atribuido a su habilidad para aumentar la recuperación metabólica, asociada con reducción en la liberación de glutamato y de su acción excitotóxica (Faden et al., 1990; Graham et al., 1993), y estabilización de la membrana neuronal (Furui et al., 1990), aunque el mecanismo mediante el cual se logra la disminución de las alteraciones postisquemia aún no está bien definido (Araki et al., 1993). Sin embargo, también se ha reportado la ausencia del efecto neuroprotector de la naloxona en modelos de isquemia cerebral global (Gaines et al., 1984) y en isquemia focal (Hubbard et al., 1983; Kobayashi et al., 1992). En este caso se ha sugerido que el sistema opioide no es reelevante en la fisiopatología conducente al daño por isquemia cerebral global, o bien que las dosis utilizadas fueron insuficientes para producir los efectos deseados. En el presente estudio, el efecto neuroprotector de naloxona se ha obtenido utilizando dosis de naloxona superiores a las utilizadas en los estudios donde no se encontró evidencia del efecto neuroprotector de la naloxona. A este respecto, debe señalarse que la administración de antagonistas opioides más potentes que naloxona ha dado lugar al efecto neuroprotector en modelos de isquemia cerebral global (Faden et al., 1990; Graham et al., 1993) y en modelos de isquemia focal (Andrews et al., 1982).

Las características de los cambios de la actividad eléctrica cerebral (AMN) observada durante el período crónico en los días siguientes al episodio de isquemia no corresponden con los resultados de la evaluación neurológica. En efecto, mientras que las alteraciones neurológicas en el grupo tratado fueron significativamente menores que en el grupo no tratado, no se observaron en estos grupos, diferencias de la descarga neuronal de la FRM, HIP o la SGP, atribuibles

al tratamiento con naloxona. Cabe la posibilidad de que la evaluación de la descarga/seg de actividad eléctrica cerebral no sea suficientemente sensible a los cambios que pueden poner en evidencia el efecto neuroprotector de un fármaco. En cambio, durante este mismo período se ha demostrado que los efectos de la isquemia se traducen por reducción significativa del ritmo theta superficial y profundo en ratas después de 20 minutos (Monmaur et al., 1986, 1990), persistiendo el efecto hasta 5 meses después. En nuestros datos, este efecto se manifiesta en la reducción de la potencia de la banda de 4 - 7 Hz sobre la CP (fig 5) e HIP (fig 7), reducción que persistió hasta 6 días después de la isquemia-anoxia, quizá como una manifestación del daño que se ocasiona en el circuito generador del ritmo theta presentado en el hipocampo; mismo que involucra estructuras sensibles a la isquemia como el septum medial y a la formación reticular (Vertes et al., 1993)

Los resultados de la evaluación neurológica durante el período crónico en el presente estudio sugieren la existencia de un efecto neuroprotector de la naloxona, en contra del daño provocado por la isquemia que se traduce en una disminución de las alteraciones funcionales inmediatas del sistema nervioso central. En efecto, los puntajes de la deficiencia neurológica obtenidos diariamente los 6 días siguientes al episodio de isquemia mediante la escala de Todd (Todd et al., 1982), fueron significativamente menores en el grupo tratado con naloxona, en comparación con el grupo no tratado. En los animales no tratados, los puntajes de deficiencia neurológica, fueron similares en magnitud y curso temporal progresivamente decrecientes que los reportados en otros estudios con el mismo modelo en gatos (Tataeishi, et al., 1989, 1991), en cambio en los animales tratados con naloxona, se obtuvieron resultados semejantes a los obtenidos en otros animales tratados con el mismo fármaco. En este sentido, se han reportado evidencias que sustentan el efecto neuroprotector de la naloxona en modelos de

isquemia cerebral en animales de experimentación (Baskin et al., 1981; Levy et al., 1982; Faden et al., 1982; Zabramski et al., 1984; Faden et al., 1990; Kanai et al., 1994) y en tratamiento de isquemia cerebral en humanos (Baskin y Hosobuchi, 1981; Jabaily y Davis, 1984). Dicho efecto se ha atribuido entre otros al bloqueo de la liberación de opioides endógenos liberados durante la isquemia, los cuales pueden contribuir a los mecanismos del daño post-isquemia (Baskin et al., 1986; Faden, 1983; Faden, 1986; Fried y Nowak, 1987; Koc et al., 1994; Ting et al., 1996; Browning et al., 1997).

La falta de correspondencia entre los resultados de la evaluación neurológica y los resultados de la evaluación de la actividad eléctrica cerebral (EEG y AMN), en estructuras cerebrales específicas, puede ser atribuido a que estas estructuras no están involucradas en la integración de las funciones neurológicas evaluados en la escala de Todd, y que estas funciones pueden depender principalmente de estructuras cerebrales en las que no se evaluaron cambios de la actividad eléctrica ni antes ni después de la isquemia-anoxia cerebral global aguda.

Los resultados sugieren, que la naloxona pudiera solo revertir algunos de los mecanismos que lesionan las células nerviosas, en el período inmediato a la isquemia-anoxia cerebral. Debe considerarse que el daño neuropatológico que se produce postisquemia-anoxia, no es dependiente de un solo mecanismo, sino de varios de ellos que se desencadenan simultáneamente.

CONCLUSION

Si se considera que las estructuras sobre las que se trabajó (Cz, FRM, HIP y SGP), son de las más sensibles a la disminución de O₂ y que la naloxona modificó algunas de las características electroencefalográficas durante el período agudo y crónico después de las maniobras de resucitación postisquemia; así como la evaluación neurológica, estos cambios nos indican que efectivamente la naloxona tiene un efecto como antagonista de receptores a opiodes, confirmando que el aumento de concentración de opiodes endógenos post-isquemia contribuye a la lesión cerebral.

Podemos concluir, que la naloxona administrada mediante infusión continua a la concentración de 2 mg/kg/h, durante las 6 h siguientes al episodio de isquemia, influyó sobre los mecanismos de daño cerebral producido por la isquemia-anoxia cerebral global aguda de 15-19 min en el gato, provocando la disminución de las deficiencias neurológicas, con algunas modificaciones en las alteraciones que se producen sobre el análisis de la actividad eléctrica cerebral (AMN y EEG) en las horas y días siguientes al proceso patológico que se presenta después de la isquemia.

BIBLIOGRAFIA

- Abramson, N.S., Safar, P., Detre, K.F. (1985): Neurologic recovery after cardiac arrest: Effect of duration of ischemia. *Crit. Care. Med.*, 13: 930-931.
- Andrews, T.B., McIntosh, K., Gonzalez, F.M. Weinstein, R.P. and Faden, I.A. (1988): Levels of endogenous opioids and effects of an opiate antagonist during regional cerebral ischemia in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* Vol. 247, 3: 1248-1254.
- Araki, T., Kato, H. and Kogure, K. (1989): Selective neuronal vulnerability following transient cerebral ischemia in the gerbil: Distribution and time course. *Acta Neurol. Scand.*, 80: 548-553.
- Araki, T., Murakami, F., Kanai, Y., Kato, H., and Kogure, K. (1993): Naloxone receptor binding in gerbil striatum and hippocampus following transient cerebral ischemia. *Neurochem. Int.* Vol. 23, 4: 319-325.
- Akins, P.T., Liu, P.K., Hsu, C.Y. (1996): Immediate early gene expression in response to cerebral ischemia. Friend or foe?. *Stroke*. Vol. 27, 9: 1682-1687.
- Baskin, D.S., Hosobuchi, Y. (1981): Naloxone reversal of ischaemic neurological deficit in man. *Lancet*, 2:272-275.
- Baskin, D., Hosobuchi, Y. and Grevel, C.J. (1986): Treatment of experimental stroke with opiate antagonists (Effects on neurological function, Infarct size, and survival). *J. Neurosurg.*, 64: 99-103.
- Brierly, J.B., Meldrum, B.S., Brown, A.W. (1973): The threshold of neuropathology of cerebral " anoxic-ischemic" cell change. *Arch. Neurol.*, 29: 367-364.
- Browning, J.L., Heizer, M.L., Widmayer, M.A., Baskin, D.S. (1997): Effects of halothane, alpha-chlorase, and pCO₂ on injury volume and CSF beta-endorphin levels in focal cerebral ischemia. *Mol.Chem.Neuropathol.* Vol. 31, 1: 29-42.
- Buchwald, J.H., Holstein, S.B., and Weber, D.S. (1973): Multiple unit recording technique, interpretation and experimental application. pp. 201-242. En: thompson, R.F., Petterson, M.M. (Eds.). *Bioelectric recording techniques*. vol.1A Academic Press, New york.
- Buzsaki, T.F., Freund, T.F., Bayardo, F. and Somogyi, P. (1989): Ischemia-induced changes in the electrical activity of the hippocampus. *Exp. Brain Res.*, 78: 268-278.
- Cervantes, M., Ruelas, R., Sánchez, R., Alvarez-Resendiz, G. (1989): Brain injury following cardiorespiratory arrest in cats. *Bol. Est. Med. Biol., México.*, 37: 17-27.

Cervantes, M., Chávez-Carrillo, I., Antonio-Ocampo, A. (1990): Modificaciones de la descarga multineuronal de diversas estructuras cerebrales como consecuencia de isquemia-anoxia cerebral global aguda. XXXIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Guadalajara, Jal., México.

Contreras-Gómez, A. (1994): Analisis electrográfico del sueño en gatos sometidos a isquemia-anoxia cerebral global aguda. Tesis, IIB, UNAM. México, D.F.

Chin, J.H., Buckholts, T.M., De Lorenzo, R.J. (1985): Calmodulin and protein phosphorylation: implications in brain ischemia. pp. 169-184. En: Kogure, K., Hossmann, K.A., Siesjo, B.K., Welsh, F.A. (Eds.). Molecular mechanisms of ischemic brain damage. Progress in brain research. Vol. 63. Elsevier Science Publ. Co., New York.

Crain, J. B., and Victor, N.J. (1988): Selective neuronal cell death after transient forebrain ischemia in the mongolian gerbil. pp. 35-47. En: Somjen, G. (Eds.). Mechanisms of cerebral hypoxia and stroke. Plenum Press, New York.

Choi, D.W. (1988): Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage. T.I.N.S., 11: 465-469.

Chopp, M., Welch, K.M.A., Tidwell, C.D., and Helpert, J.A. (1988): Global cerebral ischemia and intracellular pH during hyperglycemia and hypoglycemia in cats. Stroke, 19: 1383-1387.

Daniel, W.W. (1991): BIOESTADISTICA (base para el análisis de las ciencias de la salud). Ed. Limusa, 3a. edición. México, D.F.

Dearden, N.M. (1985): Ischaemic Brain. Lancet, 2: 225-229.

Della-Bella, D., Casacci, F. And Sassi, A. (1978): Opiate receptors: Different ligand affinity in various brain regions. Adv. Biochem. Psychopharmacol. 18: 271-277.

Du, C., Hu, R., Csernansky, C.A., Hsu, C.Y., Choi, D.W. (1996): Very delayed infarction after mild focal cerebral ischemia: a role for apoptosis?. J. Cereb. Blood Flow Metab. Vol. 16, 2: 195-201.

Earnest, M.P., Yarnel, P.R., Merrill, S.L., Knap, G.L. (1980): Long term survival and neurological status after resuscitation from out-of-hospital cardiac arrest. Neurology (N Y), 30: 1298-1302.

Eisenberg, M.S., Copas, M.K., Alstrom, A. (1980): Management of out-of-hospital cardiac arrest: failure of basic emergence medical technician services. J.A.M.A., 243: 1049-1051.

Faden, A.I., Jacobs, P.T. and Holaday, W.J. (1981): Opiate antagonist improves neurologic recovery after spinal injury. *Science*. 211: 493-494.

Faden, I.A., Jacobs, P.T. and Holaday, W.J. (1982): Comparison of early and late naloxone treatment in experimental spinal injury. *Neurology*, 32: 677-681.

Faden, I.A. (1983): Neuropeptides and stroke: current status and potential application. *Stroke*, 14:169-172.

Faden, A.I. (1986): Neuropeptides and central nervous system injury: Clinical implications. *Arch. Neurol.*43: 501-504.

Faden, I.A., Shirane, R., Chang, L., James, L.T., Lemke, M. and Weinstein, R.P. (1990): Opiate-receptor antagonist improves metabolic recovery and limits neurochemical alterations associated with reperfusion after global brain ischemia in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* Vol. 255, 2: 451-458.

Fallis, J.R., Fisher, M. and Lobo, A.R. (1984): A double blind trial of naloxone in the treatment of acute stroke. *Stroke*. Vol.15, 4: 627-629.

Fried, L.R., Ma and Nowak S.T. (1987): Opioid peptide levels in gerbil brain after transient ischemia: lasting depletion of hippocampal dynorphin. *Stroke*. 18: 765-770.

Furui, T., Tanaka, I., Iwata, K. (1990): Alterations in Na⁺-K⁺-ATPase activity and β -endorphin content in acute ischemic brain with and without naloxone treatment. *J. Neurosurg.* Vol. 72, 3: 458-462.

Gaines, C., Nehls, D.G., Suess, D.M., Waggener, J.D. and Crowell, R.M. (1984): Effect of naloxone on experimental stroke in awake monkeys. *Neurosurgery*. 14: 308-314.

Gisvold, S.E., Safar, P., Hendrickx, H.L., Rad, G., Moosy, J., Alexander, H. (1984): Thiopental treatment after global brain ischemia in pigtailed monkeys. *Anesthesiology*, 60: 88-96.

Graham, D.I. (1985): The pathology of brain ischemia and possibilities for therapeutic intervention. *Br. J. Anaesth.*, 57: 13-17.

Graham, H.S., Shimizu, H., Newman, A., Weinstein, P., Faden, I.A. (1993): Opioid receptor antagonist nalfeme stereospecifically inhibits glutamate release during global cerebral ischemia. *Brain Res.* 632: 346-350.

Granger, C.V., Greer, D.S., Liset, E., Coulombe, R., O'Brien, E. (1978): Measurements of outcomes of care for stroke patients. *Stroke*, 6: 224-228.

Griffiths, T., Evans, M.V., Meldrum, B.S. (1982): Intracellular sites of early calcium accumulation in the rat hippocampus during status epilepticus. *Neurosc. Lett.*, 30:329-334.

Guzmán-Flores, C., Alcaráz, M., Fernández, Guardiola, A. (1958): Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol. Inst. Est. Med. Biol., M.x.*, 16 : 29-31.

Hall, D.E., Andrus, K.P. and Yonkers, A.P. (1993): Brain hydroxyl radical generation in acute experimental head injury. *J. Neurochem.*, 60: 588-594.

Heiss, W.D., Rosner, G. (1983): Functional recovery of cortical neurones as related to degrees and duration of ischemia. *Ann. Neurol.*, 14: 294-301.

Heuser, D., Guggenberger, H. (1985): Ionic changes in brain ischaemia and alterations produced by drugs. *Br. J. Anaesth.*, 57: 23-33

Hoff, J.T. (1986): Cerebral protection. *Neurosurg.*, 65: 579-571.

Hoffman, W.E., Prekeses, C. (1989): Benzodiazepines and antagonists: Effects on ischemia. *J. Neurosurg. Anesthesiol.* 1:272-277.

Hosobuchi, Y., Baskin, S.D. (1982): Reversal of induced ischemic neurologic deficit in gerbils by the opiate antagonist naloxone. *Science*, 215: 69-71.

Hossmann, K.-A. (1993): Ischemia-mediated neuronal injury. *Resuscitation*, 26: 225-235.

Hossmann, K.A. (1985): Post-ischemic resuscitation in the brain: selective vulnerability versus global resistance. p.p. 3-17. En : Kogure, K., Hossmann, K.A., Siesjo, B.K., Welsh, F.A. (Eds.). *Molecular mechanisms of ischemic brain damage. Progress in brain research*, vol. 63. Elsevier science Publ. CO., New York.

Hossmann, K.A., Kleihues, P. (1973): Reversibility of ischemic brain damage. *Arch. Neurol.*, 29: 375-384.

Howard, E.M., Gao, T.M., Pulsinelli, W.A., Xu, Z.C. (1998): Electrophysiological changes of CA3 neurons and dentate granule cells following transient forebrain ischemia. *Brain Res. Vol. 798*, 1-2: 109-118.

Hubbard, J.L. and Sundt, T.M. (1983): Failure of naloxone to effect focal incomplete cerebral ischemia and collateral blood flow in cats. *J. Neurosurg.* 59: 237-244.

Inuzuka, T., Tamura, A., Sato, S., Kirino, T. Yanagisawa, K., Toyoshima, I. and Miyatake, T. (1990): Changes in the concentrations of cerebral proteins following occlusion of the middle cerebral artery in rats. *Stroke*, 21: 917-922.

Ito, V., Spatz, M., Walker, J.T., Klatz, I. (1975): Experimental cerebral ischemia in mongolian gerbils. *Acta Neuropathol. (Berl.)*, 32: 209-223.

Itoh, Y., Uematsu, D., Araki, N., Muramatsu, K., Watanabe, S., Fukuuchi, Y., (1998): Fluorometric measurement of intracellular pH in vivo in feline cerebral cortex during ischemia and reperfusion. *Keio J. Med.* Vol. 47, 1: 37-41.

Jabaily, J., and Davis, N.J. (1984): Naloxone administration to patients with acute stroke. *Stroke* Vol. 15, 1: 36-39.

Kanai, Y., Araki, T., Kato, H. and Kogure, K. (1994): Effect of pentobarbital on postischemic MK-801, muscimol, and naloxone bindings in the gerbil brain. *Brain Res.*, 657: 51-58.

Kaplan, J., Dimlich, R.V.M., Biros, M.H., Hedges, J. (1987): Mechanisms of ischemic cerebral injury. *Resuscitation*, 15: 149-169.

Karpiak, S.E., Tagliavia, A., and Wakade, C.G. (1989): Animal models for the study of drugs in ischemic stroke. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 29: 403-414.

Kasaba, T., Saito, Y., Sakura, S., Kosaba, Y. (1990): The effects of thiamylal, ketamine and nifedipine on the hippocampal theta waves produced by cerebral ischemia in cats. *Masui*. Vol. 39, 7: 870-876.

Katayama, Y, Tamura, T., P. Becker, D., and Tsubokawa, T. (1991): Calcium-dependent component of massive increase in extracellular potassium during cerebral ischemia as demonstrated by microdialysis in vivo. *Brain Res.* 567: 57-63.

Katsura, M., Ino, T., and Kuriyama, K. (1991): Changes in content of neuroactive aminoacids and acetylcholine in the rat hippocampus following transient forebrain ischemia. *Neurochem.* 21: 243-249.

Kawai, N., Keep, R.F., Betz, A.L. (1997): Hyperglycemia and the vascular effects of cerebral ischemia. *Stroke*. Vol. 28, 1; 149-154.

Khachaturian, H., Lewis, E.M., Schäfer, K-H.M. and Watson, J.S. (1985). Anatomy of the CNS opioid systems. *Trends. Neurosci.* 11:111-119.

Kirino, T. (1982): Delayed neuronal in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res.* 239: 57-69.

Kirino, T., Tamura, A., Sano, K. (1985): Selective vulnerability of the hippocampus to ischemia reversible and irreversible types of ischemic cell damage.p.p. 39-58. En : Kogure, K., Hossman, K.A., Siesjo, B.K., Welsh, F.A.(Eds.). *Molecular mechanisms of ischemic brain damage.Molecular mechanisms of ischemic brain damage. Progress in brain research Vol. 63. Elsevier Science Publ. Co., New York.*

Kirschenbaum, B., and Pulsinelli, W.A. (1990): Post hoc phosphorylation of proteins derived from ischemic rat hippocampus, striatum and neocortex. *Brain Res.* 512: 21-29.

Kitagawa, K., Matsumoto, M., Oda, T., Niinobe, M., Hata, R., Handa, N., Fukunaga, R., Isaka, Y., Kimura, K., Maeda, H., Mikoshiba, K. and Kamada, T. (1990): Free radical generation during brief period of cerebral ischemia may trigger delayed neuronal death.*Neuroscience.* 35:551-558.

Kobayashi, H., Ide, H. Hayashi, M. (1992): Effect of naloxone on focal cerebral ischemia in cats. *Neurochirurgia.* Vol. 35, 3: 69-73.

Koc, R.K., Akdemir, H., Kandemir, O., Pasaoglu, H., Okten, I.S. Pasaoglu, A. (1994): The therapeutic value of naloxone and mannitol in experimental focal cerebral ischemia. Neurological outcome, histopathological findings, and tissue concentrations of Na⁺, K⁺ and water. *Res. Exp. Med.(Berl).* Vol. 194, 5: 277-285.

Kochs, E.M.D., E. Hoffman, W., Ph.D., Werner, Ch., M.D., Thomas, Ch., M.D., F. Albretch, R., y Schulteam, E.J., M.D. (1992): The effects of propofol on brain electrical activity, neurologic outcome, and neuronal damage following incomplete ischemia in rats.*Anesthesiology* 76:245-252.

Kogure, K., Tanaka, J., Araki, T. (1988): The mechanism of ischemia-induced brain cell injury.*Neurochem.Pathol.*, 9:145-170.

Koreh, K., Seligman, M.L., Flamm, E.S., Demopoulos, H.B. (1981): Lipid antioxidant properties of naloxone in vitro.*Biochem. Biophys. Res.* 102: 187-190.

Kotila, M., Waltimo, O., Miemi, M.L., Laaksonen, R., Lempinen, M. (1984): The profile of recovery from stroke and factors influencing outcome .*stroke*, 15: 1039--1044.

Krause, G.S., White, B.C., Aust, S.D., Nayini, N.R., Kumar, K. (1988): Brain cell death following ischemia and reperfusion: A proposed biochemical sequence. *Crit. Care Med.*, 16: 714-726.

Kuroiwa, T., Bonnekoh, P., and Hossman, K-A. (1991): Therapeutic window of halothane anesthesia for reversal of delayed neuronal injury in gerbils: relationship to postischemic motor hyperactivity. *Brain Res.* 563:33-38.

Levy, R., Feustel, P., Severinghaus and Hosobuchi, Y. (1982): Effect of naloxone on neurologic deficit and cortical blood flow during focal cerebral ischemia in cats. *Life Sci.*, 31: 2205-2208.

Ljunggren, B.K., Norberg, K., and Siesjo B.K. (1974): Influence of tissue acidosis upon restitution of brain energy metabolism following total ischemia. *Brain Res.* 77: 173-186.

Ma, Q.P. and Shan, J.S. (1991): Naloxone blocks the release of opioid peptides in periaqueductal gray and N. accumbens induced by intra-amygdaloid injection of morphine. *Peptides*, 12: 1235-1238.

Mabe, H., Nagai, H., Takagi, T., Umemura, S., Ohno, M., (1986): Effect of nimodipine on cerebral functional and metabolic recovery following ischemia in the rat brain. *Stroke*, 17: 501-505.

Matsumoto, K., LO, E.H., Pierce, A.R., Halpern, E.F., Newcomb, R. (1996): Secondary elevation of extracellular neurotransmitter amino acids in the reperfusion phase following focal cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 16, 1: 114-124.

Meldrum, B.S. (1981): Metabolic effects of prolonged epileptic seizures and the causation of epileptic brain damage. pp. 175-187. En: Rose, F.C., (Eds.). *Metabolic disorders of the nervous system.* Pitman, london.

Meldrum, B., Evans, M., Griffiths, I., Simon, R. (1985): Ischaemic brain damage. The role of excitatory activity of the calcium entry. *Br. J. Anaesth.*, 57: 44-46.

McCulloch, J., Ozyurt, E., Park, C.K., Nehls, D.G., Teasdale, G.M., Graham, D.I. (1993): Glutamate receptor antagonists in experimental focal cerebral ischaemia. *Acta Neurochir. Suppl (Wien)*. 57: 73-79.

Molinari, G.F., y Laurent, J.P. (1976): A classification of experimental models of brain ischemia. *Stroke*, 7: 14-17.

Moller, M., Holm, B., Sindrup, E., Nielsen, B.L. (1978): Electroencephalographic prediction of anoxic brain damage after resuscitation from cardiac arrest in patient with acute myocardial infarction. *Acta Med. Scan.*, 203: 31-37.

Monmaur, P., Thomson, M.A. (1986): temporal changes in hippocampal theta activity following twenty minutes of forebrain ischemia in the chronic rat. *Brain Res.* 378: 262-273.

Monmaur, P., Allix, M., Schoevaert-Brossault, D., Houcine, O., Plotkine, M., Willig, F. (1990): Effects of transient cerebral ischemia on the hippocampal dentate theta (theta) profile in the acute rat: a study 4 - 5 months following. *Brain Res.* Vol. 508, 1: 124-134.

Myerburg, R.J., Conde, C.A., Sung, R.J. (1980): Clinical electrophysiologic, and hemodynamic profile of patients resuscitated from prehospital cardiac arrest. *Am. J. Cardiol.*, 68: 268-576.

Neiss, W.D. (1983): Flow thresholds of functional and morphological damage of brain tissue. *Stroke*, 14: 329-331.

Nemoto, E.M., Bleyaert, A.L., Stezoski, S.W., Moosy, J., Rad, G.R., Safar, P. (1977): Global brain ischemia: a reproducible monkey model. *Stroke*, 8: 558-564.

Nemoto, E.M. (1978): Pathogenesis of cerebral ischemia-anoxia. *Crit. Care. Med.*, 6: 203-214.

Nemoto, E.M., Erdman, W., Strong, E., Rad, G.R., Moosy J. (1979): Regional brain PO₂ after global ischemia in monkeys: evidence for regional differences in critical perfusion pressures. *Stroke*, 10: 44-51.

Nishimura, J., Endo, Y. and Kimura, F. (1992): Increases in cerebral blood flow in rat hippocampus after medial septal injection of naloxone. *Stroke*, 23: 1325-1330.

Olinger, O.P.CH., Adams, P.H., Brott, G.T., Biller, J., Barsan, G.W., Toffol, J.G., Eberle, W.R. and Marler R.J. (1990): High-dose intravenous naloxone for the treatment of acute ischemic stroke. *Stroke*, 21:721-725.

Paschen, W., Mies, G. and Hossmann, K.-A. (1992): Threshold relationship between cerebral blood flow, glucose utilization, and energy metabolites during development of stroke in gerbils.

Pert, B.C. and Snyder, H.S. (1973). Opiate receptors: Demonstration in nervous tissue. *Science*, 179: 1011-1014.

Phillis, J.W., Smith-Barbour, M., Perkins, L.M., O'Regan, M.H. (1994): Characterization of glutamate, aspartate, and GABA release from ischemic rat cerebral cortex. *Brain Res. Bull.* Vol. 34, 5: 457-466.

Plum, F. (1983): What cause infarction in ischemic brain? *Neurology (N Y)*. 33:222-233.

Pulsinelli, W.A., Brierley, J.B., Plum, F. (1982): Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. *Ann. Neurol.*, 11: 491-498.

Pulsinelli, W.A. (1985): Selective neuronal vulnerability: morphological and molecular characteristics. pp. 29-37. En: Kogure, K., Hossmann, K.A., Siesjo, B.k., Welsh, F.A.(Eds.). *Molecular mechanisms of ischemic brain damage. Progress in Brain research*, Vol 63. Elsevier Science Publ. Co., New York.

Pulsinelli, W. (1996): Excitotoxic damage in global ischemia. *Adv. Neurol.* 71: 61-67.

Raichle, M.E., (1983): The pathophysiology of brain ischemia. *Ann. Neurol.*, 13:2-10.

Rehncrona, S., Rosen, I. and Smith, M-L. (1985): Effect of different degrees of brain ischemia and tissue lactic acidosis on the short-term recovery of neurophysiologic and metabolic variables. *Exp. Neurol.* 87: 458-473.

Ridenour, R.T., M.D., S. Warner, D., M.D., M. Todd, Michael, M.D., X., and Gionet, T., M.D. (1992): Comparative effects of propofol and halothane on outcome from temporary middle cerebral artery occlusion in the rat. *Anaesthesiology* 76: 807-812.

Safar, P. (1978): Introduction : On the evolution of brain resuscitation . *Crit. Care. Med.*, 6: 199-202.

Safar, P. (1982): Reanimatology : The science of resuscitation. *Crit. Care. Med.*, 10: 134-136.

Safar, P. (1984): Recent advances in cardiopulmonary-cerebral resuscitation : a review. *Ann. Emerg. Med.*, 13:856-861.

Sainio, K., Stenberg, D., Keskimaki, I., Muuronen, A. and Kaste, M. (1983): Visual and spectral EEG analysis in the evaluation of the outcome in patients with ischemic brain infarction. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 56: 117-124.

Santos, M.S., Moreno, A.J., Carvalho, A.P. (1996): Relationships between ATP depletion, membrane potential, and the release of neurotransmitters in rat nerve

terminals. An in vitro study under conditions that mimic anoxia, hypoglycemia, and ischemia. *Stroke*. Vol. 27, 5: 941-950.

Sappey-Marini, D., Chileuitt, L., Weiner, M.W., Faden, A.I., Weinstein, P.R. (1995): Hypoglycemia prevents increase in lactic acidosis during reperfusion after temporary cerebral ischemia in rats. *NMR Biomed*. Vol. 8, 4: 171-178.

Sawynok, J., Pinsky, C. and LaBella, S.F. (1979): On the specificity of naloxone as an opiate antagonist. *Life Sci.*, 25: 1621-1632.

Scheffler, W.C. (1981): *Bioestadística*. Fondo Educativo Interamericano, S.A., México.

Schlaepfer, W.W., Zimmerman, V.J.P. (1985): Mechanisms underlying neuronal response to ischemic injury. Calcium activated proteolysis of neurofilaments. pp. 185-196. En: Kogure, K., Hossman, K.A., Siesjo, B.K., Welsh, F.A. (Eds.). *Molecular mechanisms of ischemic brain damage*. Progress in brain research, Vol. 63. Elsevier Science Publ. Co., New York.

Schmidt-Kastner, R., Grosse, O.B. and Hossman, K.-A. (1990): Pattern of neuronal vulnerability in the cat hippocampus after one hour of global cerebral ischemia. *Acta Neuropath.* 79:444-455.

Shimizu, H., Grahan, S.H., Chang, L.H., Mintorovitch, J., James, T.L., Faden, A.I. Relationship between extracellular neurotransmitter amino acids and energy metabolism during cerebral ischemia in rats monitored by micro dialysis and in vivo magnetic resonance spectroscopy. *Brain Res*. Vol. 605, 1: 33-42.

Siegel, S. (1956): *Non parametric statistics for behavioral sciences*. McGraw Hill Co., New York.

Siesjo, B.K., Wieloch, T. (1985): Cerebral metabolism in ischaemia: neurochemical basis for therapy. *Br. J. Anaest.*, 57:47-62.

Siesjo, B.K. (1988): Calcium, ischemia and death of brain cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 522:638-661.

Simon, R.P., Griffiths, T., Evans, M.C., Swan, J.H., Meldrum, B.S. (1984): Calcium overload in selective vulnerable neurones of the hippocampus during and after ischemia: an electron microscopic study in the rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 4:350-361.

Simkins, C.O., Alailima, S.T., Tate, E.A. (1986): Inhibition by naloxone of neutrophil superoxide release: A potentially useful antiinflammatory effect. *Circ. Shock* 20: 181-191.

Skarphedinsson, J.O. and Thorén P. (1988): Endorphin mechanisms are responsible for the beneficial effects of opioid antagonists on cerebral function during relative cerebral ischaemia in rats. *Acta Physiol. Scand.* 132: 281-288.

Snyder, P.S., Niemer, W.T. (1961): A stereotaxic atlas of cat brain. University of Chicago Press, Chicago, Il.

Snyder, B.D., Ramirez-Lasepas, M, Lippert, D.M. (1977): Neurological status and prognosis after cardiopulmonary arrest. I. a retrospective study. *Neurology*, 27:807-811.

Squire, L.R., Zola, S.M. (1996): Ischemic brain damage and memory impairment: a commentary. *Hippocampus*. Vol. 6, 5: 546-552.

Steen, P.A., Gisvold, S.E., Midle, J.H., Newberg, L.A., Scheithauer, B.W., Lanier, W.L., Michenfelder, J.D. (1985) : Nimodipine improves outcome when given after complete cerebral ischemia in primates. *Anesthesiology*, 62: 406-414.

Suzuky, R., Yamaguchi, T., L.I., C.L., Klatzo, I. (1983): The effects of 5- minute ischemia in mongolian gerbils. II. Changes of spontaneous neuronal activity in cerebral cortex and CA1 sector of hippocampus. *Acta Neuropathol. (Berl.)*, 60: 217-222.

Suzuky, R., Yamaguchi, T., Inaba, Y., Wagner, H. G. (1985): Microphysiology of selective vulnerable neurones. pp. 59-68. En: Kogure, K., Hossmann, K.A., Siejo, B.K., Welsh, F.A. (Eds.). *Molecular Mechanisms of ischemic brain damage*. Progress in brain research, Vol. 63. Elsevier Science Publ. Co., New York.

Stokes, B.T., Hollinden, G. Fox, P. (1984): Improvement in injury induced hippocalcia by high-dose naloxone intervention. *Brain Res.*, 290: 187-190.

Tataeishi, A., Scheller, M.S., Dreemond, J.C., Zornow, M.H., Grafe, M.R., Fleisher, J.E., Shapiro, H.M. (1991): Failure of nimodipine to improve neurological outcome after eighteen minutes of cardiac arrest in the cat. *Resuscitation*. 21: 191-206.

Tataeishi, A., Fleisher, J.E., Dreemond, J.C., Scheller, M.S., Zornow, M.H., Grafe, M.R., Shapiro, H.M. (1989): Nimodipine does not improve neurological outcome after 14 min of cardiac arrest in cats. *Stroke*. 20: 1044-1050.

Tempel, A. and Zukin, R.S. (1987): Neuroanatomical patterns of the μ , δ and κ opioid receptors of rat brain as determined by quantitative in vitro autoradiography. *Proc Natn Acad. Sci. U.S.A.* 84: 4308-4312.

Thaminy, S., Reymann, J.M., Heresbach, N., Allain, H., Lechat, P., Bentué-Ferrer, D. (1997): Is chlormethiazole neuroprotective in experimental global cerebral ischemia? A microdialysis and behavioral study. *Pharmacol. Biochem Behav.* Vol 56, 4: 737-745

Thomson, M.A., Pellet-Gonaret, M.H., Willig, F., M'Harzi, M. and Monmaur, P. (1988): Effects of unilateral cerebral ischemia on the hippocampal theta depth profile in the ether-anaesthetized mongolian gerbil. *Exp. Neurol.* 99: 225-233.

Ting, P., Xu, S., Krumins, S. (1994): Endogenous opioid system activity following temporary focal cerebral ischemia. *Acta Neurochirg Suppl (Wien).* 60: 253-256.

Todd, M.M., Chadwick, H.S., Shapiro, H.M., Dunlop, B.J., Marshall, L.F. Dueck, R. (1982) : The neurologic effects of thiopental following experimental cardiac arrest in cats. *Anesthesiology*, 57: 76-87.

Tominaga, T., Kure, S., Narisawa, K., and Yoshimoto, T. (1993): Endonuclease activation following focal ischemic injury in the rat brain. *Brain Res.* 608:21-26.

Tsubokawa, H., Oguro, K., Robinson, H.P.C., Masuzawa, T., Kirinos, T. and Kawai, N. (1992): Abnormal Ca⁺⁺ homeostasis before cell death revealed by whole cell recording of ischemic CA1 hippocampal neurons. *Neuroscience.* 49:807-817.

Turcani, P., Gotoh, F., Ishihara, K. (1986): Dual effect of naloxone on blood platelet aggregation and cerebral blood flow in gerbils. *Thromb. Res.*, 44: 817-828.

Turner, D.M., Kassell, N.F., Sasaki, T., Comair, Y.G., Beck, D.O., Boarini, D.J. (1984): High dose naloxone produces cerebral vasodilatation. *Neurosurgery*, 15:630-634.

Van Huffelen, A.C., Poortvliet, D.C.J. and Van Der Wulp, C.J.M. (1984). Quantitative EEG in cerebral ischemia. pp. 3-28. En: Pfuerscheller, G., Jonkman, E.H., Lopez Da Silva, F.H. (Eds.). *Brain ischemia: Quantitative EEG and imaging techniques.* Progress in Brain Res. Vol. 62. Elsevier Science Publ. Co., New York.

Vertes, R.P., Colom, L.V., Fortin, W.J., Bland, B.H. (1993): Brainstem sites for the carbachol elicitation of the hippocampal theta rhythm in the rat. *Exp. Brain Res.* Vol. 96, 3: 419-429.

Wagner, S.R. 4th, Lanier, W.L. (1994): Metabolism of glucose, glycogen, and high-energy phosphates during complete cerebral ischemia. A comparison of normoglycemic, chronically hyperglycemic diabetic, and acutely hyperglycemic nondiabetic rats. *Anesthesiology*, Vol. 81, 6: 1516-1526.

Waltz, A.G.(1985): Effect of blood pressure on blood flow in ischemic and in non-ischemic cerebral cortex. *Neurology*, 18: 458-473.

Warner, D.S. (1989): Volatile anesthetics and the ischemic brain. *J.Neurosurg. Anesthesiol.*, 1: 290-294.

Wauquier, A., Edmonds, H.L., Clincke, G.H.C. (1987): Cerebral resuscitation: pathophysiology and therapy. *Neurosci. Biohav. Rev.*, 11: 287-306.

Wauquier, A., Ashion, D., Clinke, H.C. (1988): Brain ischemia as a target for Ca^{++} entry blockers. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 522: 478-490.

Welsh, F.A. (1985) : Role of vascular factors in regional ischemic injury. pp. 19-27. En: Kogure, K., Hossman, K.A., Siesjo, B.K., Welsh, F.A. (Eds.). *Molecular mechanisms of ischemic brain damage. Progress in brain research*, Vol. 63. Elsevier Science Publ. Co., New York.

Wengenack, T.M., Curran, G.L., Poduslo, J.F. (1997): Postischemic, systemic administration of polyamine-modified superoxide dismutase reduces hippocampal CA1 neurodegeneration in rat global cerebral ischemia. *Brain Res.* Vol. 754, 2: 46-54.

Wexler, B.C. (1984): Naloxone ameliorates the pathophysiologic changes which lead to and attend an acute stroke in stroke prone/SHR. *Stroke* 15: 630-634.

White, B.C., Aust, S.D., Arfors, K.E., Aronson, L.D. (1984): Brain injury in ischemic-anoxia: Hypothesis extension. A tale of two ions? *Ann. Emerg. Med.*, 13: 862-867.

Wieloch, T., (1985): Neurochemical correlates of selective neuronal vulnerability. pp. 69-85. En: Kogure, K., Hossman, K.A., Siesjo, B.K., Welsh, F.A. (Eds.). *Molecular mechanisms of ischemic brain damage. Progress in brain research*, Vol. 63. Elsevier Science Publ. Co., New York.

White, C.B., Tribhuvan, C.R., Vander Laan, J.A., DeGarcia, J.D., Krause, S.A. and Grossman, I.L. (1992): Brain mitochondrial DNA is not damaged by prolonged cardiac arrest or reperfusion. *J. Neurochem.* 58: 1716-1722.

Winegar, C.P., Henderson, O., White, B.C., Jackson, R.E., O'hara, T., Krause, G.S., Vigor, D.N., Kontry, R., Wilson, W., Shelby-Lane, C. (1983) : Early amelioration of neurological deficit by lidoflazine after fifteen minutes of cardiopulmonary arrest in dogs. *Ann. Emerg. Med.*, 12: 471-477.

Winters, W.D., Mori, K., Spooner, C.E., and Kado, R.T. (1967): Correlation of reticular and cochlear multiple unit activity with evoked responses during wakefulness and sleep. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 23:539-545.

Yotis, A., Vigouret, J.M. (1982): Modifications de la neurotransmission dans l'infarctus cerebral. *Agressologie*, 23: 9-12.

Zabramski, M.J., Spetzler, F.R., Selman, R.W., Roessman, R.U., Hershey, A.L., Crumrine, C.R. and Macko, B.A.R. (1984): Naloxone therapy during focal cerebral ischemia evaluation in a primate model *Stroke*, Vol. 15, 4: 621-627.

A P E N D I C E

ARTICULOS GENERADOS EN TORNO AL TRABAJO DESARROLLADO

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Original Article

Effects of Propofol on Alterations of Multineuronal Activity of Limbic and Mesencephalic Structures and Neurological Deficit Elicited by Acute Global Cerebral Ischemia

MIGUEL CERVANTES,* RODRIGO RUELAS,** IRENE CHAVEZ-CARRILLO,***
ARTURO CONTRERAS-GOMEZ,** and ABDIEL ANTONIO-OCAMPO****

* *Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, Instituto Mexicano del Seguro Social, Delegación Michoacán. Morelia, Michoacán, México.*

** *Unidad de Investigación Médica en Farmacología, Hospital de Cardiología "Dr. Luis Méndez", Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.*

*** *Departamento de Anestesiología e Inhaloterapia, Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda", Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.*

**** *Jefatura de Enseñanza e Investigación, Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda", Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.*

Received for publication February 13, 1995; accepted May 29, 1995 (95/15).

Abstract

The increment of GABAergic inhibitory activity, the reduction of metabolic rate and oxygen consumption induced by propofol on the neuronal components of brain structures, and its antioxidant potential have supported the possible beneficial effects of this drug against brain damage elicited by cerebral ischemia. Multineuronal activity (MUA) and EEG from mesencephalic reticular formation, hippocampus, and amygdala, and EEG from the parieto-occipital cortex were recorded and analyzed during vehicle or propofol, 0.25 mg/kg/min iv, administered during a 6 h period following a 10 min cardiorespiratory arrest and 2-4 min of reanimation in two groups of cats under neuromuscular blockade and assisted ventilation. This was continued daily during alertness for 8 days after cardiorespiratory arrest along with determining daily neurological deficit scores. Mean MUA frequency, progressively increasing in subcortical structures of untreated cats during the hours

following cardiorespiratory arrest, was significantly lower in propofol treated cats. A significant reduction of MUA in the hippocampus was then observed in the untreated but not in the propofol treated cats, and in amygdala in both treated and untreated cats. Alterations of MUA were not observed in the mesencephalic reticular formation during alertness on the days after cardiorespiratory arrest. Significantly lower neurological deficit scores were recorded in propofol treated than in untreated cats the days after cardiorespiratory arrest. It can be concluded that propofol is capable of reducing both brain electrical activity alterations in specific brain structures, and neurological deficit elicited by complete global cerebral ischemia in cats. Inhibition of MUA from limbic and mesencephalic brain structures induced by propofol early after global cerebral ischemia could be related to these effects. (*Arch Med Res* 1995; 26:385)

KEY WORDS: Global cerebral ischemia; Propofol; Multineuronal activity; Neurological deficit; Cats.

Correspondence to: Dr. Miguel Cervantes, Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, Instituto Mexicano del Seguro Social, Delegación Michoacán. Av. Madero Poniente 1200, Col. Centro, CP 58000, Morelia, Michoacán, México. Tel: (43) 12-1652 ext. 165; Fax: (43) 12-2192

Introduction

Experimental evidence concerning the effects of anesthetic drugs on outcome from cerebral ischemia has been a matter of interest because these drugs may be

appropriately used as anesthetic agents for patients undergoing surgical procedures during which cerebral ischemia could occur (1-2). It is known that cerebral ischemia leads to immediate (minutes to hours) and delayed (hours to days) functional and structural derangement of neurons as a consequence of pathophysiological phenomena which start during both ischemia and reperfusion (3). Among these, several metabolic alterations, including those leading to abnormal calcium homeostasis in neurons, can result in lipid peroxidation and disruption of the molecular structure of neuronal membranes and irreversible neuronal damage. In addition, insufficient blood and oxygen supply to specific brain structures during reperfusion as a consequence of local post-ischemic hypoperfusion could account for neuronal damage (3-8). Further, an increase of amino acid excitatory, and lack of or reduction of GABAergic inhibitory synaptic neurotransmission have been proposed as a part of pathophysiological mechanisms elicited by cerebral ischemia and contributing to the damage of neuronal components in specific brain structures (9-13).

It has been shown that barbiturates and anesthetic steroids may attenuate some alterations elicited by cerebral ischemia in experimental animals (1,14-21). These drugs are thought to act against ischemic injury by inhibiting metabolic neuronal activity thus decreasing cerebral metabolic rate and oxygen consumption, by stabilizing neuronal membranes, ameliorating edema, or scavenging free radicals (18-19,22-23). However, the increase of GABAergic inhibitory neurotransmission induced by barbiturates or anesthetic steroids could be involved in these effects against brain damage elicited by cerebral ischemia (24-28) since enhancement of post-ischemic GABAergic neurotransmission in experimental animals may reduce the ischemic damage on neuronal components in several brain structures (29-31).

Some experimental data have shown that the pharmacological effects of the intravenous anesthetic propofol (2,6-diisopropylphenol) (32) resemble EEG and metabolic changes elicited in the brain by barbiturates or anesthetic steroids (33-35). Enhancement of GABAergic neurotransmission (36-39), and a potential antioxidant effect of propofol (40) have also been reported. Hence, propofol has been proposed to have effects against alterations elicited by cerebral ischemia, in a similar manner as barbiturates or anesthetic steroids (41-42). However, controversial experimental data have been obtained on the effects of propofol on brain alterations elicited by cerebral ischemia. Higher cerebral blood flow, better correction of extracellular fluid acidosis and hyperkalaemia, and improvement of calcium ion alterations were observed following propofol administration in cats exposed to incomplete cerebral ischemia due to a period of profound hypotension, though propofol had no effect on neuropathological alterations in this

experimental model of cerebral ischemia (41). Nevertheless, propofol improved the neurological outcome and decreased the neuronal damage resulting from incomplete cerebral ischemia induced by hypotension in rats (42), but it had no effects on infarct volume or on neurological deficit elicited by transient focal cerebral ischemia due to middle cerebral artery occlusion (43).

On the other hand, electrophysiological studies concerning neuronal firing, synaptic responses, and excitability of neurons in hippocampus and cerebral cortex following ischemia (44-46) have shown functional alterations in the neuronal components of these structures possibly related to abnormally increased excitability accounting for delayed neuronal death elicited by cerebral ischemia. However, activity of neuronal populations of either hippocampus or other less vulnerable brain structures has not been extensively analyzed early after cerebral ischemia. This activity could be an indicator of the net local neuronal functioning in specific brain structures (47), and its alterations may be related to pathophysiological events affecting the neurons after ischemia.

The present study was designed to gain information on the alterations of the neuronal discharge induced by global ischemia in some limbic and mesencephalic brain structures, their modifications by propofol administration, and the effects of this drug on the neurological outcome following a cardiorespiratory arrest period in cats.

Materials and Methods

The experimental protocol was approved by our Biomedical Research Review Board. Sixteen adult male cats (2.5 to 3 kg) were used. Bipolar cortical and subcortical electrodes were chronically implanted under pentobarbital (35 mg/kg iv) anesthesia. Cortical electrodes were stainless steel needles placed in the skull over the parieto-occipital cortices (POCx), and a reference electrode was inserted in the frontal sinus. Subcortical electrodes were made of insulated nichrome wire (60 μ m in diameter) cemented inside a 25 gauge stainless steel tubing insulated with epoxy resin and with a small recording surface left exposed at the tip of the barrel. They were stereotaxically placed (48) in the mesencephalic reticular formation (MRF), dorsal hippocampus (HIPP) and basolateral amygdala (AMG). Electrodes were attached to an amphenol connector which was fixed on the skull by acrylic cement.

Fourteen days after electrode implantation, control polygraphic (Grass Model 7 Polygraph) and magnetic tape (Ampex PR 500 recorder) recordings of the electroencephalogram (EEG) from the parieto-occipital cortices, and EEG and multineuronal activity (MUA) from the subcortical structures were obtained from each cat during the alert-quiet behavioral condition. The basic

technique for simultaneous recording of EEG and MUA has been described elsewhere (47,49-50). Each cat was placed in a soundproof chamber (110 x 70 x 60 cm) with a one-way window, and a multiple cable was plugged to the amphenol connector of the cat and to the input of the polygraph. Neuronal spikes of a chosen height, usually exceeding in amplitude two thirds of the whole MUA recordings were selected, by means of a voltage gate circuit, from the total multineuronal activity recorded from each subcortical structure. The selected spikes fed a staircase generator circuit which scaled one step when receiving each spike until reaching its reset level when 20 spikes were admitted. The output of the stair-step generator circuit drove a polygraph pen deflection system so that staircases in the polygraph records were a measure of MUA from subcortical structures. Magnetic tape recordings of EEG and MUA were also obtained for further analysis. The same selection level of multiunit activity was used for each cat under the different experimental conditions. The day in which EEG and MUA recordings were taken, a neurological evaluation was performed on each cat by two observers examining the neurologic phenomena described for this purpose by Todd et al. (15) in order to obtain a neurologic deficit score in which the normal neurological condition scored 0 points and the most severe neurologic deficit scored 100 points.

One day after the control electrographic recordings and the neurological evaluation were achieved, each cat was anesthetized with 4% halothane in oxygen into a Plexiglass box. Pancuronium bromide, 0.3 mg/kg, was administered iv through a sterile venous catheter placed in a hind leg, endotracheal intubation was performed and assisted ventilation with 1.5% halothane in oxygen (Bird Mark VIII ventilator) was begun in order to maintain PaCO₂ between 30 - 35 mmHg.

After skin infiltration with 1 ml of 2% lidocaine, a small incision (1 cm) was made in the neck and in the groin. A sterile catheter was inserted in the right auricle through the jugular vein in order to guide the tip of a wire (0.75 mm in diameter) protruding 2 mm beyond the distal end of the atrial catheter towards the atrium, and its place was confirmed by cavitory electrocardiogram. Another sterile catheter was inserted into the right femoral artery to continuously measure the mean arterial pressure (MAP). After surgery was completed, the neck and groin wounds were sutured and covered. Neuromuscular blockade (pancuronium bromide, 0.5 mg/kg/h iv) was maintained through this whole experimental phase including the pre-arrest period, the cardiorespiratory arrest (CRA), the cardiopulmonary resuscitation, and an 8 h recovery period, which will be further described.

Electrocardiogram (ECG) (lead II) was continuously monitored through subcutaneous needle electrodes. Esophageal temperature was kept at 37.0 to 37.5°C by heating lamps. EEG from parieto-occipital cortices, and

EEG and MUA from subcortical structures were also continuously recorded.

The inspired halothane was decreased to 0.5% and the cat was left undisturbed for 30 min before the cardiorespiratory arrest. Samples (1 ml) of arterial blood were drawn 30 min and 15 min before the cardiorespiratory arrest to determine pH, PaO₂, PaCO₂, bicarbonate base excess (pH-Blood-Gas CIBA Corning 2381), and glucose (CIBA Corning 238) in order to ensure that their values were within physiological ranges immediately before the cardiorespiratory arrest, which was performed as described by Todd et al. (15).

Halothane administration was interrupted and one minute later ventricular fibrillation was induced in each cat by passing alternating current (60 Hz, 20 V, 2 - 5 sec) from the auricular tip of the wire inserted through the jugular venous catheter to a subcutaneous electrode placed at the apex. It immediately resulted in a sudden decrease of MAP to less than 10 mmHg. Mechanical ventilation was stopped and the tracheal cannula was occluded. Five minutes after the beginning of the cardiac arrest, the auricular wire was removed. Cardiac arrest and interruption of mechanical ventilation were maintained for 10 min. Cardiopulmonary resuscitation was initiated at the end of this period as follows: mechanical ventilation with FiO₂ 100%; external cardiac massage to maintain systolic blood pressure at 90 mmHg and diastolic blood pressure at 50 mmHg; administration of sodium bicarbonate, 1.0 mEq/kg iv, and epinephrine hydrochloride 15 µg/kg iv. Defibrillation (Mennen Cardiopak Model 936) by a 25 J DC shock applied between two chest paddles placed on the shaved lateral chest walls was first attempted 2 min after starting cardiopulmonary resuscitation. If unsuccessful, additional sodium bicarbonate, 1 mEq/kg, and epinephrine hydrochloride, 15 mg/kg iv, were given and defibrillation was repeated until successful, when MAP over 90 mmHg was reached and maintained. Immediately after defibrillation, atropine sulfate, 0.05 mg/kg iv, and lidocaine hydrochloride, 1 mg/kg iv, were administered to assist stabilization of cardiac sinus rhythm. Cardiopulmonary resuscitation within a period no longer than 4 min was a necessary condition for the animals to be included in the study.

The cats were randomly allotted to two groups: beginning 15 min after the end of cardiopulmonary resuscitation continuous iv administration of either the solvent for propofol (untreated group, n = 8) or propofol, 0.25 mg/kg/min (treated group, n = 8) was accomplished for a period of 6 h.

Assisted ventilation was adjusted to FiO₂ 100% for 4 h and FiO₂ 40% afterwards; pH, PaO₂, PaCO₂, bicarbonate base excess were measured after resuscitation as follows: at 15 min intervals for 1 h, and at 1 h intervals from the second to the sixth hour following CRA. Alterations of their pre-arrest values were promptly corrected through

the administration of sodium bicarbonate or ventilation adjustment. Values of PaCO_2 , 30-35 mmHg and pH 7.30-7.35 were maintained until reversal of neuromuscular blockade. Dopamine hydrochloride was administered as required to maintain MAP between 90-100 mmHg until 6 h after CRA. At this time the cats were allowed to recover from neuromuscular blockade until normal spontaneous respiratory activity was reassumed. Neostigmine methylsulfate, 0.06 mg/kg iv was administered to reverse neuromuscular blockade and atropine sulfate, 0.04 mg/kg iv to prevent bradycardia. The arterial and auricular cannulas were removed under halothane anesthesia and the cats were extubated. After extubation, each cat was placed in the same soundproof cage used for recording of brain electrical activity and behavioral observation, at a temperature of 25°C and with additional O_2 (5 l/min) support until 24 h after resuscitation. Milk, water and tuna fish paste were provided daily after CRA and the cats were allowed to eat *ad libitum*. If needed, 50 ml/kg/day maintenance fluid were injected subcutaneously.

Cortical EEG and EEG and MUA from subcortical structures were continuously recorded for 6 h after CRA under neuromuscular blockade and assisted ventilation. Further recordings of brain electrical activity and neurological evaluations were performed daily during alertness until the eighth day following the ischemia-anoxia episode. Neurological evaluations were done in a blind manner; points were assigned to each neurologic alteration as described by Todd et al. (15) (0 points, normal; 100 points, the most severe neurological deficit).

The number of EEG waves/sec recorded from the parieto-occipital cortex was measured at each sec for 128 sec periods in the different experimental conditions (Nicolet 1170 Electric Signal Processor); the number of seconds in which the EEG was composed by 1-3 Hz, 4-7 Hz, 8-12 Hz, and >12 Hz was expressed as a percentage of the total time of analysis (128 sec) corresponding to the different experimental conditions.

Analysis of variance and Duncan tests were used for statistical comparison among mean values of MUA obtained at different times during the immediate 6 h, and the 8-day period following the ischemia-anoxia episode and their control pre-arrest mean values, in the untreated and the treated group. Unpaired t test was used for statistical comparison of the mean values of MUA at different times from CRA, between the untreated and the treated group. Proportions of the number of seconds within 128 sec recording periods taken under different experimental conditions in which cortical EEG had frequencies of 1-3 Hz, 4-7 Hz, 8-12 Hz, and >12 Hz were statistically compared by means of the χ^2 test. The Mann-Whitney U test was used to compare the neurological deficit scores between the untreated and the treated group. Analysis of variance and Duncan tests were used to compare pH, blood gases and bicarbonate

values under the different experimental conditions (51-52).

The cats were killed with an overdose of pentobarbital on the eighth day following CRA and their brains were perfused with 4% buffered formaldehyde. Proper placement of the subcortical electrodes was determined histologically (53).

Results

Values of body weight (mean \pm SD; 2.73 \pm 0.13 kg, 2.81 \pm 0.15 kg) and duration of halothane anesthesia (83 \pm 15 min, 75 \pm 12 min) were not significantly different between the untreated and the treated groups. Blood gases, pH, base excess, glucose and MAP were within physiological ranges in all cats immediately before CRA. Significant differences were not found between the untreated and the treated group (pH 7.39 \pm 0.02 vs. 7.38 \pm 0.03; base excess +1.5 \pm 0.03 vs. +1.0 \pm 0.04 mEq/l; PaCO_2 34 \pm 3 vs. 36 \pm 5 mmHg; PaO_2 80 \pm 6 vs. 82 \pm 8 mmHg). Passing of alternating current immediately resulted in ventricular fibrillation and non-pulsatile blood pressure below 10 mmHg. One (12 cats) or two (4 cats) DC shocks were necessary during resuscitation to induce cardiac sinus rhythm. Resuscitation time (168 \pm 43 vs. 172 \pm 51 sec) and total dose of drugs used during this experimental phase did not significantly differ between groups.

A transient but significant decrease in pH and base excess values and a significant increase in PaCO_2 values were found 5 min after the end of the resuscitation in both the untreated group (pH 7.23 \pm 0.05; base excess -10.2 \pm 3.0 mEq/l; PaCO_2 56 \pm 14 mmHg) and the treated group (pH 7.20 \pm 0.06; base excess -11.3 \pm 2.0 mEq/l; PaCO_2 61 \pm 4 mmHg). Mean values of these blood components obtained in the subsequent determinations from 30 min to 6 h after CRA were not significantly different from those obtained before CRA, though FiO_2 100% resulted in PaO_2 values between 270 \pm 91 to 330 \pm 88 mmHg in the untreated group and between 252 \pm 88 to 337 \pm 110 mmHg in the treated group as time elapsed along the 6 h period following CRA. There were no significant differences in these values when comparisons were made at 1 h intervals after CRA between the untreated and treated groups. In both groups, plasma glucose concentrations significantly increased after resuscitation and remained elevated during the 6 h post-arrest period; however, significant differences were not found between the untreated and the treated group along the 6 h post-arrest period (untreated 165 \pm 25 vs. treated 173 \pm 20 mg/dl, 1 h after CRA; untreated 157 \pm 20 vs. treated 161 \pm 12 mg/dl, 6 h after CRA). Values of MAP were between 115 \pm 18 to 102 \pm 9 mmHg in the untreated group and between 118 \pm 15 to 103 \pm 12 mmHg in the treated group from the end of the resuscitation procedures until reversal of neuromuscular blockade 6 h later.

However, dopamine hydrochloride administration, 2.3 to 3.8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ iv in a volume no greater than 5 ml/h starting 150 - 178 min after CRA was required to maintain these MAP values while propofol was administered in all cats of the treated group; similarly, two out of eight cats in the untreated group required dopamine hydrochloride administration, 1.8 or 3.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ iv, starting 90 or 105 min after CRA, for 85 or 115 min, respectively, within the 6 h period following CRA. Significant differences in MAP values between the untreated and treated groups were not found during the 6 h period after CRA.

Figure 1 illustrates EEG and MUA changes that occurred in the parieto-occipital cortex and the subcortical structures along the immediate 6 h period following CRA in the untreated and treated cats under neuromuscular blockade and assisted ventilation. EEG from these brain structures became isoelectric both in untreated and treated cats within 2 min. Recovery of background EEG activity begun between 22 to 35 min or 34 to 54 min after the end of CRA in untreated and treated cats, respectively. However, in untreated cats, delta-like slow wave activity, intermittent bursts of 6 - 15 Hz EEG activity and isolated spikes appeared and persisted for 4

- 5 h. They then progressively faded into continuous background EEG activity with abundant delta-like slow waves. The numbers of seconds in which the frequencies of EEG waves in POCx were 0 - 3 Hz, 4 - 7 Hz, 8 - 12 Hz, and >12 Hz were significantly different from the control value ($p < 0.01$) during the 6 h period following CRA in the untreated group, as a consequence of a reduction of 8 - 12 Hz EEG activity and the concomitant increment of 0 - 3 Hz and 4 - 7 Hz slow waves mainly observed in the EEG recordings of the untreated group. Administration of propofol resulted in intermittent bursts of high amplitude 4 - 8 Hz EEG activity, and high amplitude 1 - 3 Hz diffuse slow waves which progressively appeared both in POCx and subcortical structures as recovery of background EEG activity took place under the continuous iv administration of propofol after cerebral ischemia in treated cats. These EEG activities frequently faded into a burst suppression EEG pattern between the third to the sixth hour after the cerebral ischemia episode. The number of seconds in which EEG slow waves were present in EEG recordings taken from POCx in the untreated group during quiet alertness were still significantly higher for 3 days following CRA than their pre-arrest controls, while the occurrence of the various

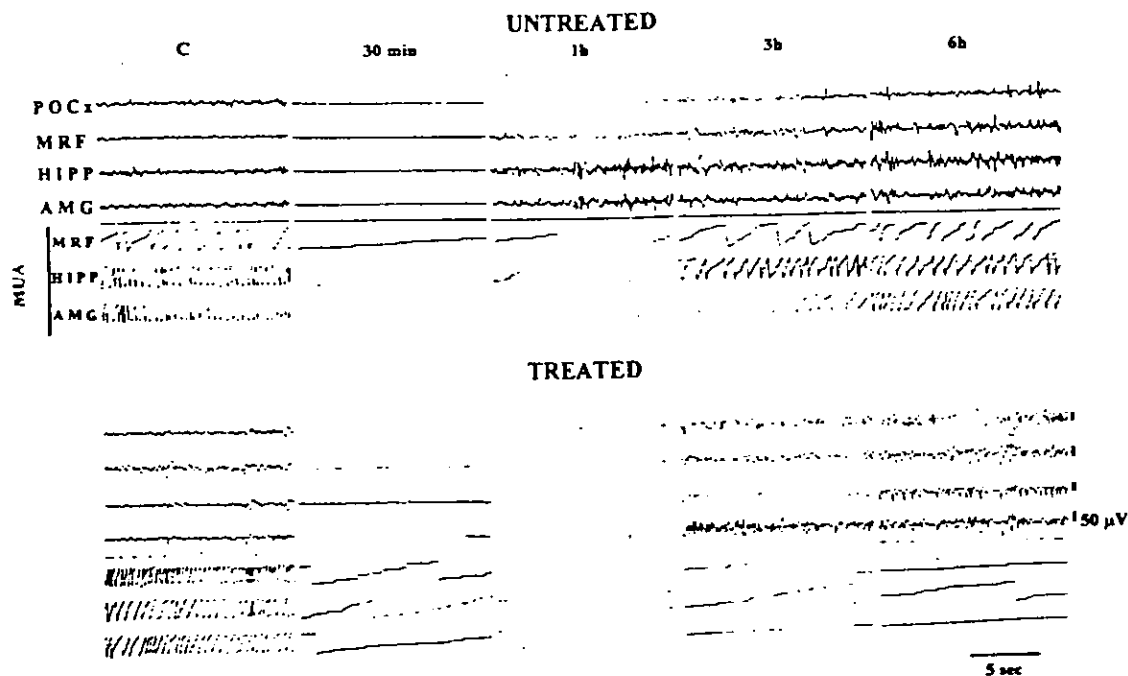


Figure 1. EEG recordings from the parieto-occipital cortex (POCx) and EEG and multineuronal activity (MUA) recordings from mesencephalic reticular formation (MRF), hippocampus (HIPP), and amygdala (AMG) obtained before (C) and at different intervals within the 6 h period following cardiorespiratory arrest (CRA) in an untreated and a propofol treated cat. MUA is illustrated by the output of stair step generator circuits fed with MUA from subcortical structures. Note in the untreated cat the inhibition of MUA immediately after CRA but its progressive increase as time elapsed, and the clear persistent reduction of the otherwise increasing MUA in the propofol treated cat. Abundant slow waves and spikes can be observed in the EEG both in POCx and subcortical structures in the untreated cat the hours after CRA, while synchronic slow EEG activity was induced by propofol, mainly in POCx and MRF, in the treated cat.

EEG frequencies did not show significant differences between the day before and the days following CRA in the treated group.

MUA from subcortical structures disappeared within 3 min after the beginning of CRA and reappeared 12 to 27 min or 16 to 34 min after its end in untreated and treated cats, respectively. However, a progressive recovery of MUA from subcortical structures occurred throughout the hours following CRA in the untreated cats, though 6 h later MUA was still lower than during the pre-arrest control condition. Administration of propofol resulted in a reduction of MUA from subcortical structures in treated cats, as compared to untreated cats during the hours following CRA.

Figure 2 shows the magnitude (as percentages of the mean control pre-arrest values) and the temporal course of changes in the mean frequency of MUA recorded from the different brain subcortical structures in the

hours and the days following CRA. In the untreated group, a progressive increase of the mean frequency values of MUA was observed through the 6 h after CRA until 85% of their control pre-arrest values at the sixth hour in MRF and AMG, while the progressive increase of these values in HIPP attained 65% of the control pre-arrest value 3 h after CRA and did not increase further. Values from the treated group were significantly lower than those from the untreated group during the 6 h period following CRA in MRF, HIPP and AMG. On the other hand, multiunit activity in hippocampus (days 1 to 8) and amygdala (days 1 to 5) of the untreated group, but not in MRF, showed mean frequency values significantly lower than their pre-arrest controls during quiet alertness the days following CRA. By contrast, the mean frequency values of MUA recorded in the propofol treated group in the days following CRA did not significantly differ from their pre-arrest controls in MRF (days 2 to 8), HIPP

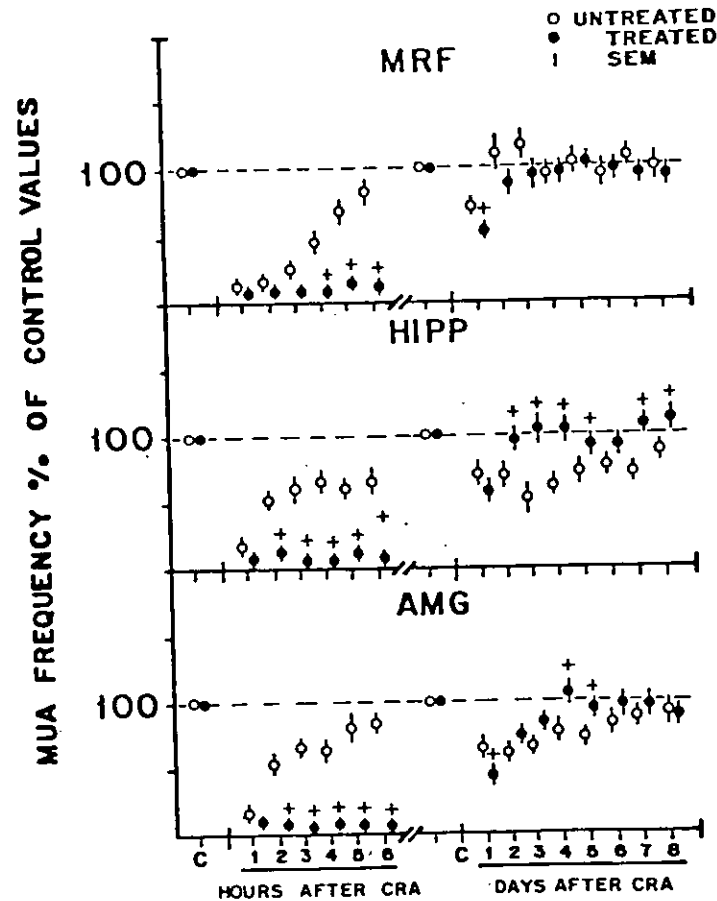


Figure 2. Mean frequency values of multineuronal activity (MUA) expressed as percentage of the mean control pre-arrest values, obtained from different subcortical structures in the untreated and the propofol treated group before (C) and at different intervals (hours and days) after the cardiorespiratory arrest (CRA). Note the significant reduction of mean MUA frequency in the propofol treated group, in the mesencephalic reticular formation (MRF), hippocampus (HIPP) and amygdala (AMG), within the 6 h immediately following CRA. Note that the mean MUA frequency in the untreated group was significantly lower as compared with the propofol treated group, in HIPP (days 2 to 8) and AMG (days 4 and 5) the days following CRA. No differences in mean MUA frequency between both groups were observed in MRF the days following CRA.

(days 2 to 8), and AMG (days 4 to 8). Mean frequency values of MUA in HIPP were significantly lower in the untreated than in the treated group on days 2 to 8 following CRA and in AMG on days 4 to 5, but were significantly higher in the untreated than in the treated group in MRF and in AMG on day 1 after CRA.

Neurological deficit scores (Figure 3) ranged from 28 to 54 on the first day post-arrest in the untreated cats and from 6 to 26 in the propofol treated ones. A clear tendency to a reduction of neurological deficit scores as time elapsed was noted in both untreated and treated cats, showing neurological deficit scores of 12 to 17 and from 3 to 9, respectively, on the eighth day post-arrest; however, the treated group showed neurological deficit scores significantly lower than those of the untreated group from the first until the eighth day after CRA. High neurological deficit scores in the untreated cats resulted from persistence of abnormal pupil size and light reflex, lack or diminution of both facial pain perception, flexor reflex to pain, and orienting reflex to loud clap, and lack of placing, on the days following CRA.

Discussion

The present experimental work shows evidence on the suppression and temporal course of recovery of MUA from several subcortical brain structures exposed to 12 - 14 min (CRA plus resuscitation) of global cerebral ischemia. Among these phenomena, recovery of MUA throughout the 6 h period immediately following CRA occurred both in brain structures known to be highly vulnerable to ischemia (HIPP) as well as in brain structures less vulnerable to ischemia (FRM, AMG) (9,54-58); nevertheless, mean values of MUA frequency did not attain their pre-arrest control values at the end of this period in untreated cats.

Two main possibilities have been proposed to occur in the neuronal components of brain structures as a result of ischemia: either their functional recovery, or their irreversible damage after minutes to hours (acute neuronal damage) or after hours to days (delayed neuronal damage) following the cerebral ischemia episode (7). Since changes in MUA could be a representation of the functioning of neuronal populations in specific brain structures (47), the progressive increase of MUA recorded in the untreated cats following cerebral ischemia could be associated with a functional recovery of the neuronal components of the different brain subcortical structures after blood perfusion and oxygenation were reestablished in the brain, although these neurons had been exposed to pathophysiological phenomena able to induce cellular processes which can result in acute or delayed neuronal damage. Thus, it seems that in MRF a functional recovery of their neuronal components promptly occurred and remained since, after the early progressive recovery of MUA throughout the 6 h immediately following the

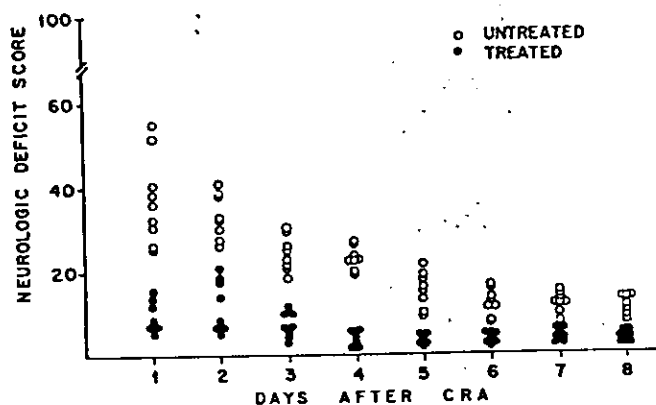


Figure 3. Neurologic deficit scores over 8 days after cardiorespiratory arrest (CRA) in the different cats of the untreated and the propofol treated group. Note the higher neurological deficit scores in untreated cats even though the values tended to diminish both in untreated and in treated cats as time elapsed.

cerebral ischemia episode, this activity became similar to control values during the quiet alertness condition on the days following this episode in untreated cats; hence, a possible effect of propofol against MUA alterations elicited by cerebral ischemia cannot be expected to occur in this brain structure. In contrast, in the same cats MUA was significantly reduced in HIPP and AMG the days following the ischemia episode under the quiet alertness condition, suggesting that functioning of these brain structures was affected by cerebral ischemia on the following days, possibly by reducing the number of neuronal components accounting for MUA or by inhibiting their firing rate (47). Both death of neurons and reduction of the firing rate, due to functional derangement of the remaining spontaneously firing neurons have been observed in the hippocampus of Mongolian gerbils the days following ischemia (44-46). Further, the interruption of the progressive increase of mean MUA values in HIPP from the third to the sixth hour after CRA in untreated cats could reflect an early functional derangement in this structure.

Our experimental results show that propofol may differentially reduce functional alterations elicited by acute global cerebral ischemia in specific brain structures since treated cats had significantly less EEG abnormalities than untreated cats, and similar MUA values in HIPP to their pre-arrest controls on the days following cerebral ischemia under the quiet alertness condition, while a reduction of MUA was observed in this brain structure in untreated cats; however, the alterations of MUA elicited by 12 - 14 min of acute global cerebral ischemia in AMG were not clearly modified by propofol treatment. Thus, the progressive recovery of their mean MUA values, which occurred on the days following CRA, was better in the treated group only at days 4 and 5 after CRA. Whether similar or different mechanisms from those

leading to functional alterations in HIPP may account for functional derangement in other brain structures following ischemia and for the effects of drugs against these ischemia-induced alterations remains to be investigated.

In addition, the effects of propofol improving functional conditions of specific brain structures after the global cerebral ischemia episode observed in the present study are supported by the significantly lower neurological deficit scores observed in treated than in untreated cats. A main effect of propofol administration early after complete global cerebral ischemia, in the present study, was a clear inhibition of neuronal firing in mesencephalic and limbic structures during the hours immediately following the ischemic episode. Thus, it could be proposed that this inhibition of MUA in treated cats, instead of the progressive increase of MUA in untreated cats, and the reduction of ischemia-induced alterations in brain electrical activity and neurological deficit in the following days are related phenomena.

It has been suggested that neuronal firing itself may be detrimental for cellular survival after a period of ischemic insult, even if it is not necessarily accompanied by energy failure, and that a relationship between barbiturate protective effects on ischemic brain and suppression of neuronal excitability may take place (19). Hence, the inhibition of neuronal firing induced by propofol could be associated with cellular conditions opposite to those leading to functional and structural derangement of neurons as a consequence of cerebral ischemia.

It is known that neuronal activity directly determines metabolic rate, and that inhibition of neuronal firing leads to a reduction of neuronal metabolic rate and oxygen consumption and a concomitant diminution of metabolic and oxygen demands (59). Some effects of volatile anesthetics, barbiturates, anesthetic steroids, as well as propofol, against brain alterations elicited by cerebral ischemia, have been attributed to a reduction of metabolic and oxygen demand associated with drug-induced inhibition of neuronal activity in brain cerebral structures (1-2,14-21). However, the relevance of the reduction of cerebral metabolic rate and oxygen consumption for the effects of anesthetic drugs against alterations elicited by cerebral ischemia when they were administered immediately after ischemia has been recently questioned (60).

Thus, other possible mechanisms coexisting with inhibition of neuronal activity could be involved in the effects of propofol on cerebral ischemia. An increase of GABAergic inhibitory synaptic activity can be involved in the effects of propofol against brain alterations elicited by cerebral ischemia since propofol enhances GABAergic inhibitory neurotransmission (36-39) and a reduction of the ischemic damage on neuronal components of several brain structures, including the hippocampus, has been observed when this condition was induced by different drugs in experimental animals (24-31). The effects of

propofol by inhibiting transmembrane calcium currents through T-type and L-type voltage-gated calcium channels (61) could account for its effects against alterations elicited by cerebral ischemia. It is known that calcium entry to neurons after ischemia may contribute to calcium overload into neurons during both ischemia and reperfusion, and that this abnormally increased intracellular calcium is a key pathophysiological phenomenon leading to cellular alterations resulting in immediate or delayed functional and structural derangement of neurons (3-8). Further, the inhibition of neuronal firing induced by propofol may be associated with a diminution of release of excitatory amino acid transmitters, mainly glutamate, by reducing calcium entry through voltage-gated calcium channels, including N-type calcium channels which have an important role in neurotransmission (62). This effect may be relevant in brain structures shown to be highly vulnerable to ischemia, as the hippocampus, in which excitatory properties of glutamate result in postsynaptic depolarization and further calcium entry into neurons to be irreversibly damaged (58). The antioxidant properties of propofol (40) allow the possibility that a free radical scavenging activity account for its effects against alterations elicited by cerebral ischemia in the present study, since enhanced release of various free radicals caused by the reoxygenation of previously ischemic tissue results in important derangement of neuronal components of brain structures.

In the present study a carefully controlled model of acute global cerebral ischemia induced by cardiorespiratory arrest in cats was used to investigate the effects of propofol on brain functioning through the analysis of changes in the brain electrical activity alterations and neurological deficit provoked by such experimental condition. This cardiac arrest model is relevant in simulating the clinical situation of complete cerebral ischemia during cardiac arrest (63). Special attention was paid to the adequate control of blood PaCO_2 , pH, glucose, body temperature and MAP, before and during 6 h following CRA, in view of their possible influence on cerebral damage after ischemia (64-70). Thus cardiac arrest and interruption of the pulmonary ventilation were performed when blood PaCO_2 , pH, glucose, body temperature and MAP were within physiological ranges, and they were repeatedly or continuously recorded and measured for 6 h after CRA in a manner that their variations were promptly perceived and corrected. It is then possible to assume that transient alterations in these parameters did not exert a differential influence on pathophysiological mechanisms leading to cerebral alterations elicited by the ischemic episode in untreated or treated cats in the present study.

In particular, MAP was carefully controlled both in untreated and in treated cats by continuous administration of dopamine as required during periods of variable duration in two untreated and all treated cats. In these

cats a clear tendency to hypotension was observed during the propofol administration.

An increase in metabolic neuronal alterations, worsening of histologic lesions and impairment of neurological recovery following cerebral ischemia have been impeded to hyperglycemia (66-70), as a consequence of tissue lactic acidosis which results from abnormal anaerobic glycolysis during both ischemic and post-ischemic periods. Thus, further neuronal damage due to ischemia may be triggered in hyperglycemic subjects when exhaustion of hydrogen ion buffering within glial cells occurred although severe hyperglycemia and an ischemic period longer than that used in the present study are required for spreading of the ischemic lesions. Ischemia of short duration and moderate hyperglycemia, as in the present study, could lead to faster evolution of neuronal damage in the highly vulnerable brain structures and possibly to additional damage on neuronal components, including GABAergic neurons, or other less vulnerable cerebral regions such as cingulate cortex, thalamic nuclei and substantia nigra pars reticulata. Also, lactic acidosis may increase the ischemic brain damage by favoring an increment of neuronal excitability which results in burst firing of neurons (44-46) and epileptoid activity in highly vulnerable brain structures, possibly through disruption of membrane ionic exchange mechanisms and reduction of neuronal GABAergic inhibitory neurotransmission (70). We do not have evidence concerning the possible influence of hyperglycemia, which was observed in all experimental animals after CRA, on the magnitude of brain alterations elicited by acute global cerebral ischemia in the present study. However, it seemed to not have a differential, if any, influence on the outcome of untreated or treated cats since significant differences in the amounts of plasma glucose were not found between these groups following cerebral ischemia. Some experimental data have shown that improvement of neurological outcome and decrease of neuronal damage induced by propofol are not dependent on plasma glucose (42).

The effects of propofol against brain electrical activity alterations in specific cerebral structures, and neurological deficit elicited by complete global cerebral ischemia in cats have been shown in the present study. Inhibition of MUA by propofol in limbic, mesencephalic and possibly other brain structures early after global cerebral ischemia could be related to these effects.

References

1. Karlsson BR, Steen PA. Barbiturates for global and focal ischemia. *J Neurosurg Anesthesiol* 1989; 1:278.
2. Warner DS. Volatile anesthetics and the ischemic brain. *J Neurosurg Anesthesiol* 1989; 1:290.
3. Krause GS, White BC, Aust SD, Nayini NR, Kumar K. Brain cell death following ischemia and reperfusion: a proposed biochemical sequence. *Crit Care Med* 1988; 16:714.
4. Raichle ME. The pathophysiology of brain ischemia. *Ann Neurol* 1983; 13:2.
5. Graham DI. The pathology of brain ischemia and possibilities for therapeutic interventions. *Br J Anaesth* 1985; 57:3.
6. Kaplan J, Dimlich RVM, Biros MH, Hedges J. Mechanism of ischemic cerebral injury. *Resuscitation* 1987; 15:149.
7. Kogure K, Tanaka J, Araki T. The mechanism of ischemia-induced brain cell injury. *Neurochem Pathol* 1988; 9:145.
8. Siesjö BK. Calcium, ischemia and death of brain cells. *Ann NY Acad Sci* 1988; 522:638.
9. Pulsinelli WA. Selective neuronal vulnerability: morphological and molecular characteristics. In Kogure K, Hossman KA, Siesjö BK, Welsh FA, Eds. *Molecular Mechanisms of Ischemic Brain Damage*. Progress in Brain Research. Vol. 63. New York: Elsevier, 1985:29.
10. Rothman SM, Olney JW. Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol* 1986; 19:105.
11. Crain BJ, Nadler JV. Selective neuronal death after transient forebrain ischemia in the mongolian gerbil. In Somgen G, Ed. *Mechanisms of Cerebral Hypoxia and Stroke*. New York: Plenum Press, 1988:35.
12. Sternau LL, Lust WD, Ricci AJ, Ratcheson R. Role for γ -aminobutyric acid in selective vulnerability in gerbils. *Stroke* 1989; 20:281.
13. Johansen FF, Chistensen T, Jensen MS, Valente E, Jensen CV, Nathan T, Lambert DC, Diemer NH. Inhibition in postischemic rat hippocampus: GABA receptors, GABA release, and inhibitory postsynaptic potentials. *Exp Brain Res* 1991; 84:529.
14. Bleyaert AL, Nemoto EM, Safar P, Stezoski W, Mickell JJ, Moosy J, Rao GR. Thiopental amelioration of brain damage after global ischemia in monkeys. *Anesthesiology* 1978; 49:390.
15. Todd MM, Chadwick HS, Shapiro HM, Dunlop BJ, Marshall LF, Dueck R. The neurologic effects of thiopental following experimental cardiac arrest in cats. *Anesthesiology* 1982; 57:76.
16. Gisvold SE, Safar P, Hendricks HL, Rao G, Moosy J, Alexander H. Thiopental treatment after global brain ischemia in pigtailed monkeys. *Anesthesiology* 1984; 60:88.
17. Hallmayer J, Hossman KA, Mies G. Low dose of barbiturates for prevention of hippocampal lesions after brief ischemic episodes. *Acta Neuropathol (Berlin)* 1985; 68:27.
18. Shapiro HM. Barbiturates in brain ischaemia. *Br J Anaesth* 1985; 57:82.
19. Kirino T, Tamura A, Sano K. A reversible type of neuronal injury following ischemia in the gerbil hippocampus. *Stroke* 1986; 17:455.
20. Cervantes M, Ruelas R, Sanchez R, Alvarez-Resendiz G. Brain injury following cardiorespiratory arrest in cats. Effects of alphaxalone-alphadolone. *Bol Estud Med Biol Mex* 1989; 37:17.
21. Kuroiwa T, Bonnekoh P, Hossman KA. Therapeutic window of CA1 neuronal damage defined by an ultrashort-acting barbiturate after brain ischemia in gerbils. *Stroke* 1990; 21:1489.
22. Smith DS, Rehncrona S, Siesjö BK. Barbiturates as protective agents in brain ischemia and as free radical scavengers *in vitro*. *Acta Physiol Scand (Suppl)* 1980; 492:129.
23. Spetzler RF, Hadley MN. Protection against cerebral ischemia: the role of barbiturates. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1989; 1:212.
24. Schultz DW, MacDonald RL. Barbiturate enhancement of GABA-mediated inhibition and activation of chloride ion conductance: correlation with anticonvulsant and anesthetic actions. *Brain Res* 1981; 209:177.

25. Barker JL, Harrison NL, Lange GD, Owen DG. Potentiation of gamma-aminobutyric-acid-activated chloride conductance by a steroid anesthetic in cultured rat spinal neurones. *J Physiol* 1987; 386:485.
26. Keane PE, Biziere K. The effects of general anesthetics on gabaergic synaptic transmission. *Life Sci* 1987; 41:1437.
27. Kirkness EF, Turner AJ. The stimulatory effects of secobarbital and pregnanolone on the GABA_A receptor can be blocked selectively. *Eur J Pharmacol* 1988; 150:385.
28. Turner DM, Ranson MRW, Yang JS-J, Olsen RW. Steroid anesthetics and naturally occurring analogs modulate the γ -aminobutyric acid receptor complex at a site distinct from barbiturates. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 248:960.
29. Saji M, Reis DJ. Delayed transneuronal death of substantia nigra neurons prevented by γ -aminobutyric acid agonist. *Science* 1987; 235:66.
30. Johansen FF, Diemer NH. Enhancement of GABA neurotransmission after cerebral ischemia in the rat reduces loss of hippocampal CA1 pyramidal cells. *Acta Neurol Scand* 1991; 84:1.
31. Shuaib A, Tjaz S, Hasan S, Kalra J. Gamma-vinyl GABA prevents hippocampal and substantia nigra reticulata damage in repetitive transient forebrain ischemia. *Brain Res* 1992; 590:13.
32. Sebel PS, Lowdon JD. Propofol: a new intravenous anesthetic. *Anesthesiology* 1989; 71:260.
33. Davis DW, Hawkins RA, Mans AM, Hibbard LS, Biebuyck JF. Regional cerebral glucose utilization during althesin anesthesia. *Anesthesiology* 1984; 61:362.
34. Damm M, ori C, Pizzolato G, Ricchieri GL, Pellegrini A, Giron GP, Battistin L. The effects of propofol anesthesia on local cerebral glucose utilization in the rat. *Anesthesiology* 1990; 73:449.
35. Reddy RV, Moorthy SS, Matúce T, Dierdorf SF, Deitch RD, Jr. An electroencephalographic comparison of effects of propofol and methohexital. *Electroencephal Clin Neurophysiol* 1992; 83:162.
36. Collins GGS. Effects of the anaesthetic 2,6-diisopropylphenol on synaptic transmission in the rat olfactory cortex slice. *Br J Pharmacol* 1988; 95:939.
37. Concas A, Santoro G, Mascia MP, Serra M, Sanna E, Biggio G. The general anesthetic propofol enhances the function of γ -aminobutyric acid-coupled chloride channel in the rat cerebral cortex. *J Neurochem* 1990; 55:2135.
38. Concas A, Santoro G, Serra M, Sanna E, Biggio G. Neurochemical action of the general anesthetic propofol on the chloride ion channel coupled with GABA_A receptors. *Brain Res* 1991; 542:225.
39. Concas A, Santoro G, Mascia MP, Serra M, Sanna E, Biggio G. The action of the general anesthetic propofol on GABA_A receptors. In Biggio G, Concas A, Costa E, Eds. *GABAergic Synaptic Transmission*. New York: Raven Press, 1992:349.
40. Murphy PG, Myers DS, Davies MJ, Webster NR, Jones JG. The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol). *Br J Anaesth* 1992; 68:613.
41. Weir DL, Goodchild CS, Graham DI. Propofol: effects on indices of cerebral ischemia. *J Neurosurg Anesthesiol* 1989; 1:284.
42. Kochs E, Hoffman WE, Werner C, Thomas C, Albrecht RF, Esch JS. The effects of propofol on brain electrical activity, neurologic outcome, and neuronal damage following incomplete ischemia in rats. *Anesthesiology* 1992; 76:245.
43. Ridenour TR, Warner DS, Todd MM, Gionet TX. Comparative effects of propofol and halothane on outcome from temporary middle cerebral artery occlusion in the rat. *Anesthesiology* 1992; 76:807.
44. Suzuki R, Yamaguchi T, Inaba Y, Wagner HG. Microphysiology of selectively vulnerable neurons. In Kogure K, Hossmann KA, Siesjö BK, Welsh FA, Eds. *Molecular Mechanisms of Ischemic Brain Damage*. Progress in Brain Research. Vol. 63. New York: Elsevier, 1985:59.
45. Chang HS, Sasaki T, Kassell NF. Hippocampal unit activity after transient cerebral ischemia in rats. *Stroke* 1989; 20:1051.
46. Tsubokawa H, Oguro K, Robinson HPC, Masuzawa T, Kirino T, Kawai N. Abnormal Ca²⁺ homeostasis before cell death revealed by whole cell recording of ischemic CA1 hippocampal neurons. *Neuroscience* 1992; 49:807.
47. Buchwald JS, Holstein SB, Weber DS. Multiple unit recording technique, interpretation and experimental application. In Thompson RF, Patterson MM, Eds. *Bioelectric Recording Techniques*, Vol. 1A. New York: Academic Press, 1973:201.
48. Snyder PS, Niemer WT. A stereotaxic atlas of the cat brain. Chicago, IL: University of Chicago Press, 1961.
49. Cervantes M, De la Torre L, Beyer C. Analysis of various factors involved in EEG synchronization during milk drinking in the cat. *Brain Res* 1975; 91:89.
50. Kubli-Garfias C, Cervantes M, Beyer C. Changes in multiunit activity and EEG induced by the administration of natural progestins to flaxedil immobilized cats. *Brain Res* 1976; 114:71.
51. Siegel S. *Non Parametric Statistics for the Behavioral Sciences*. New York: McGraw-Hill, 1956.
52. Downie MM, Heath RW. *Basic Statistical Methods*. New York: Harper and Row, 1983.
53. Guzmán-Flores C, Alcaraz M, Fernández-Guardiola A. Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol Inst Estud Med Biol Méx* 1958; 16:29.
54. Brierley JB, Meldrum BS, Brown AW. The threshold and neuropathology of cerebral "anoxic-ischemic" cell change. *Arch Neurol* 1973; 29:367.
55. Smith ML, Auer RN, Siesjö BK. The density and distribution of ischemic brain injury in the rat following 2-10 min of forebrain ischemia. *Acta Neuropathol (Berlin)* 1984; 64:319.
56. Hossmann KA. Post-ischemic resuscitation of the brain: selective vulnerability versus global resistance. In Kogure K, Hossmann KA, Siesjö BK, Welsh FA, Eds. *Molecular Mechanisms of Ischemic Brain Damage*. Progress in Brain Research. Vol. 63. New York: Elsevier, 1985:3.
57. Araki T, Kato H, Kogure K. Selective neuronal vulnerability following transient cerebral ischemia in the gerbil: distribution and time course. *Acta Neurol Scand* 1989; 80:548.
58. Schmidt-Kastner R, Freund TF. Selective vulnerability in the hippocampus in brain ischemia. *Neuroscience* 1991; 40:599.
59. Selman WR, Lamanna JC, Ratcheson RA, Lust WD. Metabolic correlates of focal ischemia. In Bazan NG, Braquet P, Ginsberg MD, Eds. *Neurochemical Correlates of Cerebral Ischemia*. Advances in Neurochemistry. Vol. 7. New York: Plenum Press, 1992:9.
60. Todd MM, Warner DS. A comfortable hypothesis reevaluated. Cerebral metabolic depression and brain protection during ischemia. *Anesthesiology* 1992; 76:161.
61. Olcese R, Usai C, Maesrone E, Nobile M. The general anesthetic propofol inhibits transmembrane calcium current in chick sensory neurons. *Anesth Analg* 1994; 78:955.
62. Tsien RW, Lipscombe D, Madison DV, Bley KR, Fox AP. Multiple types of neuronal calcium channels and their selective

- modulation. *Trends Neurosci* 1988; 11:431.
63. Tateishi A, Fleischer JE, Drummond JC, Scheller MS, Zornow MH, Grafe MR, Shapiro HM. Nimodipine does not improve neurologic outcome after 14 minutes of cardiac arrest in cats. *Stroke* 1989; 20:1044.
 64. Symon L. Regional cerebrovascular responses to acute ischaemia in normocapnia O₂- and hypercapnia: an experimental study in baboons. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 1970; 33:756.
 65. Hope DT, Branston SM, Symon L. Restoration of neurological function with induced hypertension in acute experimental cerebral ischemia. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 1978; 41:186.
 66. Siemkowicz E. Hyperglycemia in the reperfusion period hampers recovery from cerebral ischemia. *Arch Neurol Scand* 1981; 64:207.
 67. Rehncrona S, Rosen I, Smith M-L. Effect of different degrees of brain ischemia and tissue lactic acidosis on the short-term recovery of neurophysiologic and metabolic variables. *Exp Neurol* 1985; 87:458.
 68. Chopp M, Welch KMA, Tidwell CD, Helpem JA. Global cerebral ischemia and intracellular pH during hyperglycemia and hypoglycemia in cats. *Stroke* 1988; 19:1383.
 69. LeBlanc MH, Huang M, Vig V, Patel D, Smith EE. Glucose affects the severity of hypoxic-ischemic brain injury in newborn pigs. *Stroke* 1993; 24:1055.
 70. Siesjö BK, Katsura K, Møllergård P, Ekholm A, Lundgren J, Smith ML. Acidosis-related brain damage. In Kogure K, Hossmann KA, Siesjö BK, Eds. *Neurobiology of Ischemic Brain Damage*. Progress in Brain Research. Vol. 96. New York: Elsevier, 1993:23.

Original Article

Effects of Diazepam on Fentanyl-Induced Epileptoid EEG Activity and Increase of Multineuronal Firing in Limbic and Mesencephalic Brain Structures

MIGUEL CERVANTES,* ABDIEL ANTONIO-OCAMPO,** RODRIGO RUELAS,***
ARTURO CONTRERAS-GOMEZ,*** and IRENE CHAVEZ-CARRILLO****

* *Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, Instituto Mexicano del Seguro Social, Delegación Regional en Michoacán, Morelia, Michoacán, México*

** *Jefatura de Enseñanza e Investigación, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.*

*** *Unidad de Investigación Médica en Farmacología, Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.*

**** *Departamento de Anestesiología e Inhaloterapia, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.*

Received for publication March 13, 1996; accepted May 28, 1996 (96/184).

Abstract

Electroencephalographic and clinical signs of epileptoid activity have been associated with the administration of fentanyl during surgery in patients. These phenomena have been in turn related to changes in metabolic rate, oxygen consumption, and blood flow in specific brain structures both in humans and experimental animals. However, direct evidence showing changes in neuronal firing in specific brain regions during fentanyl-induced epileptoid activity has not been reported. Eight adult male cats with chronically implanted bipolar electrodes in the mesencephalic reticular formation, hippocampus, amygdala, and parieto-occipital cortex were included in the study. Different treatments, i.e., vehicle-fentanyl or diazepam-fentanyl, were administered to the experimental animals at 7-day intervals under neuromuscular blockade and assisted ventilation. Electroencephalographic (EEG) seizures, grouped and isolated spikes, and significant increases of multineuronal activity (MUA) were elicited by

fentanyl, 50 µg/kg iv, in these brain structures. Both EEG and MUA changes reached their maximal values within 6 min of fentanyl administration, and then diminished as time elapsed. Diazepam, 100, 200, or 400 µg/kg, but not 50 µg/kg iv, significantly reduced or prevented the fentanyl-induced epileptoid EEG activity and MUA increases. The present results show that both fentanyl-induced epileptoid EEG activity as well as the concomitant increase in MUA of brain subcortical structures are part of the same epileptogenic phenomenon, mainly generated at limbic structures. In addition, the effects of diazepam against both epileptoid EEG activity and increase of MUA of brain subcortical structures support the use of benzodiazepines as premedicants for fentanyl anesthesia in order to prevent or to reduce epileptoid phenomena that can result from opioid administration during the anesthetic procedures. (*Arch Med Res* 1996; 27:495)

KEY WORDS: Diazepam; Fentanyl-induced epileptoid EEG activity; Subcortical multineuronal firing; Cats.

Correspondence to:

Miguel Cervantes, MD, PhD, Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, Instituto Mexicano del Seguro Social, Delegación Regional en Michoacán, Aptdo. Postal 7-70, CP 58261, Morelia, Michoacán, México. Tel/Fax 91 (43) 24 16 10.

Introduction

High-dose fentanyl-oxygen anesthesia has been frequently used for patients undergoing either cardiovascular surgery or neurosurgery because this anesthetic technique offers some advantages including greater hemodynamic stability during surgical procedures and a better

recovery after surgery (1-10).

However, electroencephalographic and clinical signs of epileptoid activity have been associated with the administration of fentanyl in patients (11-16), as well as in experimental animals (17-21). These studies have shown that fentanyl-induced seizures are in turn associated with changes in metabolic rate, oxygen consumption, and blood flow in specific brain structures, as well as increase of intracranial pressure which could be undesirable phenomena during surgical procedures. Nevertheless, direct evidence showing changes of neuronal firing in specific brain regions during fentanyl-induced seizures has not been reported.

Several studies have shown that limbic structures play a paramount role in the generation of epileptoid activity induced by fentanyl as well as by other opioid compounds (18,22-24). A disinhibition process resulting from a loss of the inhibitory neurotransmission of GABAergic neurons involved in the regulation of excitability of non GABAergic neurons of limbic structures, as has been observed in pyramidal cells of the hippocampus, seems to be involved in opioid-induced epileptoid activity (15,24-25). Further, it has been proposed that this effect could be mediated through both opiate (μ) and non-opiate (GABA) receptor mechanisms (15,18,26).

Detriment of the inhibitory influence of GABAergic neurons on neuronal circuits of brain structures capable of generating epileptoid activity has been considered as a relevant pathophysiological mechanism underlying epileptoid phenomena (24-27). Thus, several drugs proven to increase GABAergic neurotransmission in brain structures involved in epileptoid activity may induce anticonvulsant effects (28-31). In particular, it is known that diazepam, as well as other benzodiazepines, have specific binding sites at α subunit of GABA_A receptors, and they influence the activity of GABA-receptor operated Cl⁻ channels, leading to an enhancement of GABAergic neurotransmission, which accounts for their anticonvulsant and other pharmacological effects (32-34).

Diazepam and fentanyl administrations are frequently associated during anesthetic procedures (35-36). Thus, interactions of these drugs on the epileptoid phenomena that can be elicited by fentanyl could be relevant in view of the effects of diazepam on GABAergic neurotransmission. The present study has been designed to investigate both the electroencephalographic phenomena and the changes in multineuronal discharge associated with epileptoid activity elicited by fentanyl in several brain structures in cats, as well as the effects of diazepam on these electrographic phenomena.

Materials and Methods

The experimental protocol was approved by our Research Review Board. Eight adult male cats (3.0 to 3.5

kg) were used. Bipolar cortical and subcortical electrodes were chronically implanted under pentobarbital (35 mg/kg) anesthesia. Cortical electrodes were stainless steel needles placed in the skull over the parieto-occipital cortex (POCx); and a reference electrode was inserted in the frontal sinus. Subcortical electrodes were made of insulated nichrome wire (60 μ in diameter) cemented inside a 25 gauge stainless steel tubing insulated with epoxy resin and with a small recording surface left exposed at the tip of the barrel. They were stereotaxically placed (37) in the mesencephalic reticular formation (MRF), dorsal hippocampus (HIP), and basolateral amygdala (AMG). Electrodes were attached to an amphenol connector which was fixed on the skull by acrylic cement.

Fourteen days after electrode implantation, each cat was placed inside a plexiglass box, and 4% halothane in oxygen was supplied until it became anesthetized. Then, each cat was placed on a soft rubber pillow on a table for surgery. Endotracheal intubation was performed, pancuronium bromide, 0.3 mg/kg iv, was administered through a sterile venous catheter placed in a hindleg, the inspired halothane was decreased to 1.5% and assisted ventilation (Bird Mark VIII ventilator) was begun with FiO₂ 21%, 2 cm H₂O positive end expiratory pressure (PEEP), and respiratory frequency sufficient to maintain PaCO₂ between 30 - 35 mmHg. After skin infiltration with 1 ml of 2% lidocaine in the groin, a sterile catheter was inserted into a femoral artery to continuously measure the mean arterial pressure (MAP). Neuromuscular blockade (pancuronium bromide, 0.5 mg/kg/h) and assisted ventilation were maintained throughout the entire experiment. Esophageal temperature was kept at 37.0 to 37.5°C by heating lamps. Halothane administration was interrupted, and 15 min later control polygraphic (Grass Model 7 Polygraph) and magnetic tape (Ampex PR 500 recorder) recordings of the electroencephalogram (EEG) from the parieto-occipital cortex, and EEG and multineuronal activity (MUA) from the subcortical structures were obtained. The basic technique for simultaneous recording of EEG and MUA has been described elsewhere (38-40). A multiple cable was plugged into both the amphenol connector on the skull of each cat and to the input of the polygraph. Neuronal spikes of a chosen height, usually exceeding in amplitude two thirds of the whole MUA recordings, were selected by means of a voltage gate circuit from the total multineuronal activity recorded from each subcortical structure; the selected spikes fed a staircase generator circuit which scaled one step when receiving each spike until reaching its reset level when 20 spikes were admitted. The output of these stair-step generator circuits drove polygraph pen deflection systems so that staircases in the polygraph records were a measure of MUA from subcortical structures. Magnetic tape recordings of EEG and MUA were also obtained for further analysis. The same selection

level of MUA was used for each cat under the different experimental conditions.

Thirty minutes after halothane administration was interrupted, a dose of diazepam hydrochloride, 50, 100, 200, or 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iv in a volume of 3 ml, or the same volume of the vehicle of diazepam (ethanol 10%, benzyl alcohol 1.5%, propylene glycol 40% in water) was slowly administered (2 min), and 7 min later fentanyl citrate, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iv in a volume of 3 ml, was administered in bolus.

EEG and MUA were continuously recorded during each experimental session, both before and during administration of drugs or vehicle, and afterwards until recovery of brain electrical activity from drug effects. Samples (1 ml) of arterial blood were drawn 15 min before and at 15, 30, and 60 min after drug administration to determine pH, PaO_2 , PaCO_2 , bicarbonate as base excess (pH-Blood-Gas CIBA Corning 2381), and glucose (CIBA Corning 238) in order to ensure that their values were within physiological ranges immediately before and at the various intervals after drug administration. At the end of each experimental session the cats were allowed to recover from neuromuscular blockade until normal spontaneous respiratory activity was re-assumed. Neostigmine methylsulfate 0.06 mg/kg iv was administered to reverse neuromuscular blockade and atropine sulfate 0.04 mg/kg iv to prevent bradycardia.

The arterial cannula was removed under halothane anesthesia and the cats were extubated.

All cats were submitted to five experimental sessions at 7-day intervals in order to receive, at random, in each session one of the four different doses of diazepam or vehicle before fentanyl administration. The number of neuronal spikes chosen from the whole MUA were counted every 1 sec during 3 min periods by means of pulse counters (General Radio Co. Mod. 1191), and their mean values were calculated for each 3 min period before and at different times from fentanyl administration. The number of isolated spikes in the EEG and the number and duration of EEG seizures (41) were measured during 3 min periods at different times of fentanyl administration.

Mean MUA values under the different experimental conditions were expressed as percentage values with reference to the control mean MUA value (100%). Analysis of variance (Friedman) and Wilcoxon tests were used for statistical comparisons among these values of MUA. The Mann-Whitney U test was used to compare the number of spikes and the total duration of EEG seizures under the different treatments. Analysis of variance and Duncan test were used to compare pH, blood gases, bicarbonate, and glucose values under the different experimental conditions (42-43).

The cats were sacrificed with an overdose of pentobar-

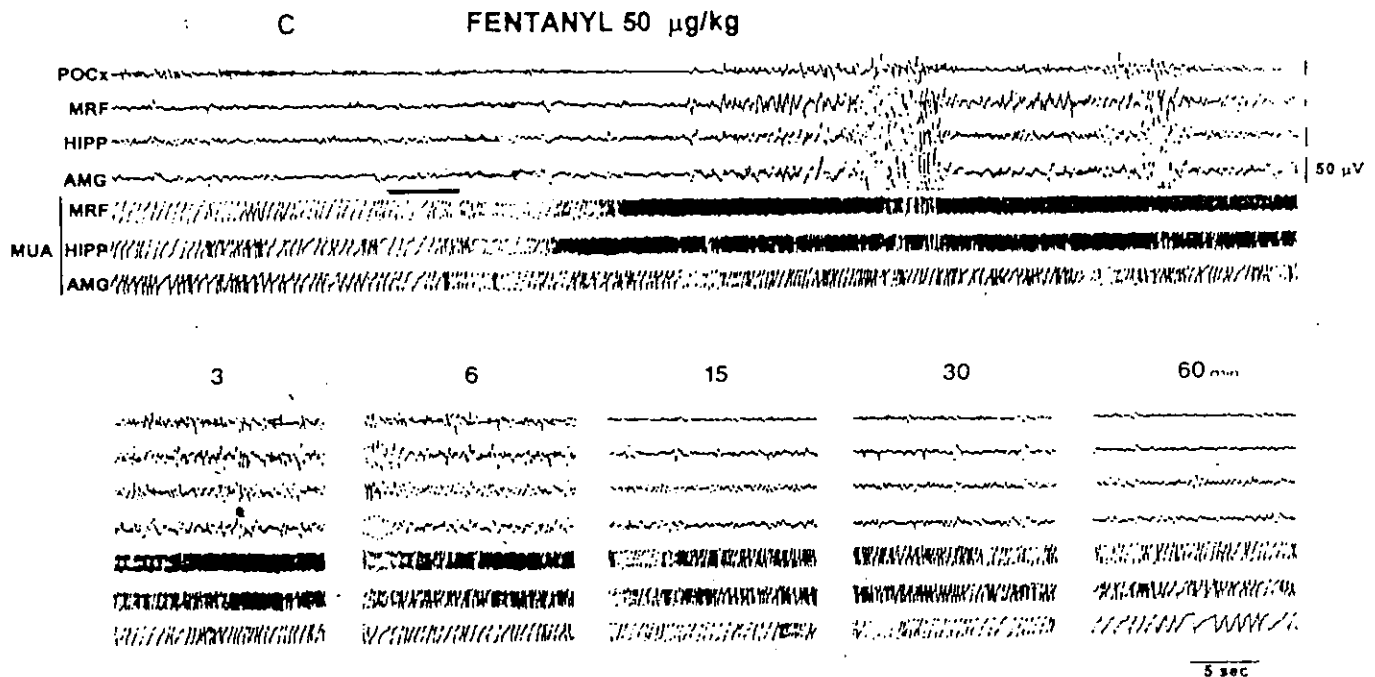


Figure 1. EEG recordings from the parieto-occipital cortex (POCx), and EEG and multineuronal activity (MUA) recordings from mesencephalic reticular formation (MRF), hippocampus (HIPP), and amygdala (AMG) obtained before (C) and at different intervals from the administration of fentanyl, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iv. MUA is illustrated by the output of staircase generator circuits fed with MUA from subcortical structures. Note EEG signs of self-sustained epileptoid activity shortly after fentanyl administration, and trains of spikes and isolated spikes afterwards; as well as the associated increment of MUA in subcortical structures, mainly in HIPP and MRF, which initially appeared in HIPP, reached a maximum within 6 min after fentanyl administration, and progressively diminished as time elapsed.

bital after they received the complete series of treatments, and their brains were perfused with 4% buffered formaldehyde. Proper placement of the subcortical electrodes was determined histologically (44).

Results

Blood gases, pH, base excess, glucose, and MAP were within physiological ranges in all cats immediately before treatments and significant differences were not found between cats under the different treatments (mean \pm SD; pH 7.36 ± 0.03 ; base excess $+1.5 \pm 0.04$ Eq/l; PaCO₂ 36 ± 5 mmHg; PaO₂ 80 ± 8 mmHg). Mean values of these blood components obtained in the subsequent determinations from 15 min to 60 min after drug administration were not significantly different from those obtained before drug administration, and there were no significant differences between cats under the different treatments. Similarly, glucose concentrations in plasma were within physiological ranges before drug administration (94 ± 11 mg/dl) and did not significantly differ from these values after drug administration.

Administration of fentanyl, 50 μ g/kg iv in bolus, after administration of vehicle of diazepam, immediately elicited in all cats a sudden and significant increase of MUA in MRF, HIPP and AMG which occurred in HIPP shortly before that in MRF and AMG, and preceded by 5 to 10 sec the appearance of EEG seizures both in POCx and subcortical structures (Figure 1). The maximal increase of MUA was observed within 3 to 6 min immediately following fentanyl administration, when it attained about twofold (AMG) or threefold (MRF, HIPP) of the mean values of MUA frequency (number of neuronal discharges in MUA/sec) obtained before drug administration (Figure 2); then, MUA progressively decreased so that 60 min after fentanyl administration the values of mean MUA frequency in these subcortical structures were not significantly different from their control values observed before fentanyl administration.

EEG seizures which appeared during short periods immediately following fentanyl administration were not observed after 6 min from fentanyl administration though groups of spikes or isolated spikes still were present at 15 min from fentanyl administration but not later (Figure 1, Table 1).

A significant reduction of MUA was observed in MRF and HIPP under the effects of diazepam, 100, 200, or 400 μ g/kg, during the minutes preceding fentanyl administration. Diazepam 100, 200, or 400 μ g/kg, significantly reduced (MRF) or prevented (HIPP, AMG) the increase of MUA otherwise elicited by fentanyl administration, 50 μ g/kg, in bolus (Figures 3 and 4).

The mean MUA values observed at different times after fentanyl administration when cats previously received diazepam, 100, 200, or 400 μ g/kg, were significantly lower than those observed when cats received the

vehicle of diazepam before fentanyl administration. Further, under these diazepam treatments the mean MUA values were similar to their controls 30 min (MRF) or 15 min (HIPP, AMG) after fentanyl administration (Figure 2).

Table 1 illustrates the total duration of EEG seizures, and the number of spikes measured during 3 min periods at 3, 6 and 15 min after fentanyl administration. It can be observed that any dose of diazepam significantly reduced or prevented these electrographic signs of fentanyl-induced epileptoid EEG activity.

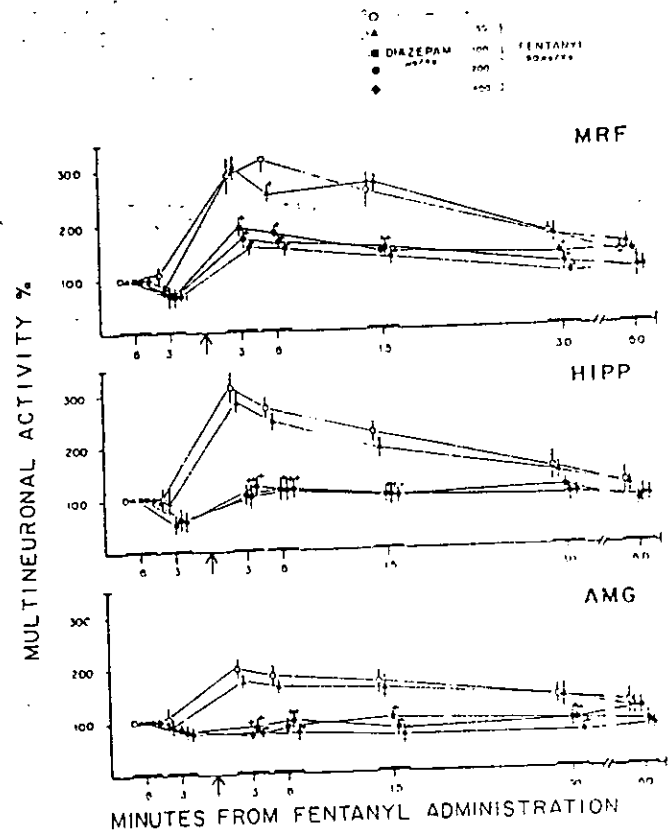


Figure 2. Mean frequency values of multilineuronal activity (MUA), expressed as percentage of the mean MUA values recorded immediately before drug administration (100%), obtained from subcortical structures at different intervals from fentanyl administration (arrow), when it was preceded by different doses of diazepam or vehicle. Note a fentanyl-induced significant increase of MUA, which reached maximal values [two (AMG) or three (MRF, HIPP) times higher than before drug administration] three and six min after fentanyl administration, when vehicle or diazepam, 50 μ g/kg iv, was administered before fentanyl; then progressively decreased so that 60 min after fentanyl administration mean MUA frequency values in subcortical structures were not significantly different from these values before drug administration. Diazepam administration, 100, 200 or 400 μ g/kg iv, prevented or significantly reduced the fentanyl-induced increase of MUA.

Table 1

Values (mean, range) of Total Duration of Crisis of Self-Sustained Epileptoid EEG Activity (C) and Number of Spikes (S) in 3-Min Periods at Different Times of Fentanyl Administration

DIAZEPAM FENTANYL		VEHICLE 50 µg/kg	50 µg/kg 50 µg/kg	100 µg/kg 50 µg/kg	200 µg/kg 50 µg/kg	400 µg/kg 50 µg/kg
POCx						
3 min	C	53, 42-61	17, 12-23	-	-	-
	S	35, 18-44	15, 9-19	17, 13-24	5, 2-8	5, 2-7
6 min	C	5, 2-8	-	-	-	-
	S	41, 31-49	7, 3-12	10, 8-14	5, 3-7	-
15 min	C	-	-	-	-	-
	S	8, 4-13	-	-	-	-
MRF						
3 min	C	55, 40-72	11, 8-14	6, 4-9	-	-
	S	33, 26-39	7, 4-12	20, 11-32	4, 2-6	3, 2-4
6 min	C	15, 9-22	-	-	-	-
	S	43, 34-51	5, 3-7	15, 9-21	-	4, 2-7
15 min	C	11, 8-15	-	-	-	-
	S	-	-	-	-	-
HIPP						
3 min	C	49, 34-61	14, 8-21	15, 12-18	-	-
	S	29, 21-37	5, 2-9	11, 7-15	7, 4-12	4, 2-7
6 min	C	16, 8-26	-	-	-	-
	S	47, 36-61	8, 3-12	16, 12-19	2, 1-3	-
15 min	C	-	-	-	-	-
	S	11, 8-16	-	-	-	-
AMG						
3 min	C	47, 33-62	11, 8-16	-	-	-
	S	30, 19-41	8, 3-13	8, 6-11	-	5, 3-8
6 min	C	15, 12-19	6, 4-9	9, 7-13	-	-
	S	38, 27-50	3, 2-5	-	-	-
15 min	C	-	-	-	-	-
	S	6, 3-9	-	-	-	-

Note: Mean values of both total duration of crisis and number of spikes under diazepam-fentanyl treatment were significantly lower ($p < 0.05$) than under vehicle-fentanyl treatment.

Discussion

The results of the present study show that administration of fentanyl, 50 µg/kg iv in bolus, elicited a significant increase of MUA in several subcortical structures which was associated with EEG signs of epileptoid activity in cats. Both the increase of MUA and the EEG epileptoid activity reached their maximal values within the 6 min immediately following fentanyl administration, and decreased as time elapsed, until recovery at about 60 min after fentanyl administration.

These results agree with previous data showing a proconvulsant effect of fentanyl, since this drug may elicit epileptoid EEG activity in patients (11-16), as well as in

experimental animals (17-21); besides, activation of preexisting epileptic lesions has been reported after its administration (45-46).

A relationship between epileptoid EEG activity and the timing and amount of the fentanyl administered during induction and early maintenance of opioid anesthesia has been reported in humans (16), in which four subsequent doses of fentanyl, 25 µg/kg iv, were administered at 3 min intervals. Thus, abundant isolated and grouped spikes which appeared on the EEG were related to blood opioid concentrations resulting from the administration of the first and the second doses. These signs of epileptoid EEG activity declined when the blood opioid concentrations were further

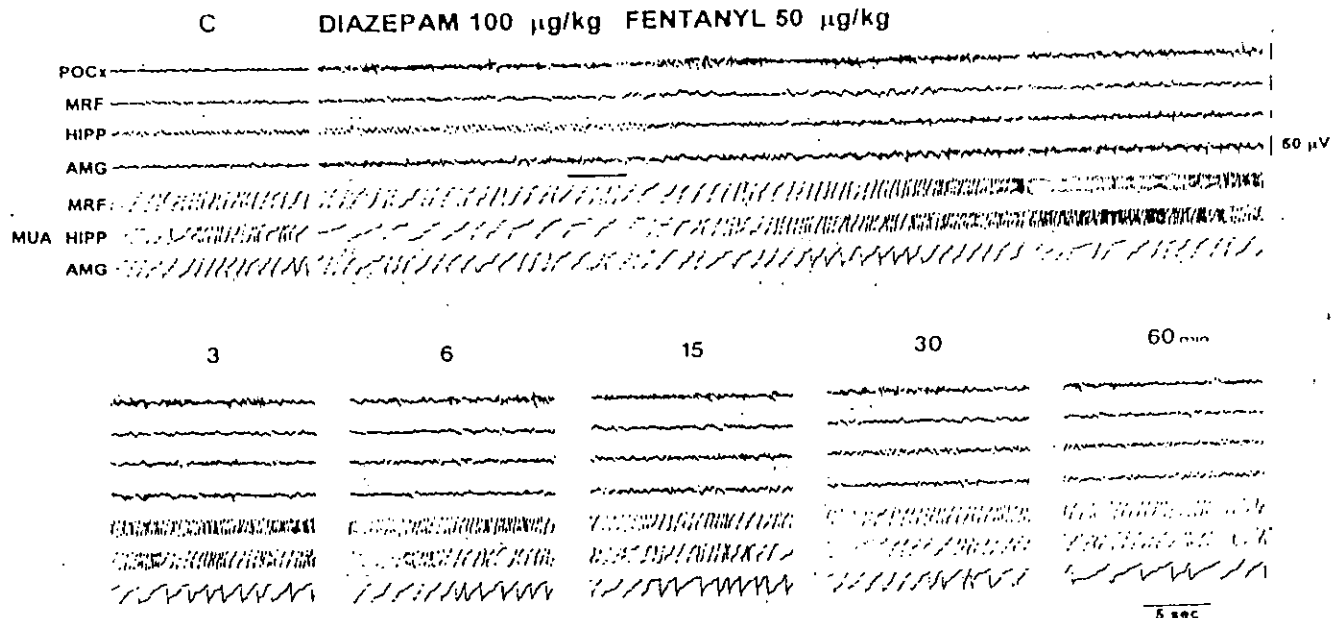


Figure 3. EEG recordings from the parieto-occipital cortex (POCx), and EEG and multineuronal activity (MUA) recordings from mesencephalic reticular formation (MRF), hippocampus (HIPP), and amygdala (AMG) obtained before (C) and at different intervals from the administration of diazepam, 100 µg/kg iv, and 6 min later fentanyl, 50 µg/kg iv. MUA is illustrated by the output of stair step generator circuits fed with MUA from subcortical structures. Note the absence of EEG signs of epileptoid activity; as well as the reduction of the fentanyl-induced increase of MUA in subcortical structures, mainly in AMG.

increased following the third and the fourth doses.

It is possible that this biphasic effect of fentanyl leads to differences among individuals in the presence and magnitude of epileptoid EEG and motor activity according to its doses and administration procedures. It is known that abnormal motor activity resembling epileptic convulsions may occur in absence of cortical seizure activity on simultaneous EEG recording (14,48), and in contrast, seizure-like movements were not observed during studies in patients treated with high doses of fentanyl or its analogs (15). Hence, experimental studies of brain electrical activity of depth structures may provide evidence on neural phenomena associated with fentanyl induced epileptoid activity, even if subcortical seizures could not be detected by surface EEG leads (15).

A relevant finding in the present study was the noticeable increase of MUA elicited by fentanyl in limbic and mesencephalic structures at the same time than EEG signs of epileptoid activity appeared in both cortical and subcortical EEG recordings. Besides, the shorter latency and higher magnitude of this MUA increase in the hippocampus than in the other subcortical structures, are in agreement with previous findings (24-25) showing the important participation of this structure in the mechanism of epileptoid activity elicited by fentanyl.

The involvement of the μ opioid receptor in the mechanisms of the pro-convulsant effects of both endogenous and exogenous opioids has been proposed (15,24,47) on the basis of pharmacological studies showing that epi-

leptoid activity elicited by opioid compounds is mainly dependent on their μ agonist properties. Thus, epileptoid activity induced by fentanyl may be due to a μ receptor mediated hyperpolarization of GABAergic neurons, which in turn results in inhibition of GABAergic neurotransmission in neuronal circuits which are a part of limbic and mesencephalic structures (15-16, 24-25). These phenomena can lead to augmented excitability, increase of neuronal firing of non GABAergic neurons (i.e., pyramidal cells of the hippocampus) and epileptoid activity.

The significant increase of MUA observed in HIPP, AMG, and MRF immediately following fentanyl administration may be a result of this disinhibition phenomenon involved in the fentanyl induced epileptoid activity. Additionally, the increase of local blood flow, oxygen consumption, and metabolic rate observed in several brain structures, including cerebral cortex, hippocampus, substantia nigra, and MRF, following fentanyl administration (17-21) in experimental animals, may be related to this increment of neuronal activity elicited by this opioid compound.

It seems possible that the increment of efficiency of GABAergic neurotransmission, which can be expected as a consequence of the actions of diazepam on GABA_A receptors (32-34), could lead to reestablishment of the inhibitory influence of GABAergic neurons on neuronal circuits of limbic and mesencephalic structures; thus reducing or suppressing both the increase of MUA and the EEG signs of epileptoid activity in subcortical structures.

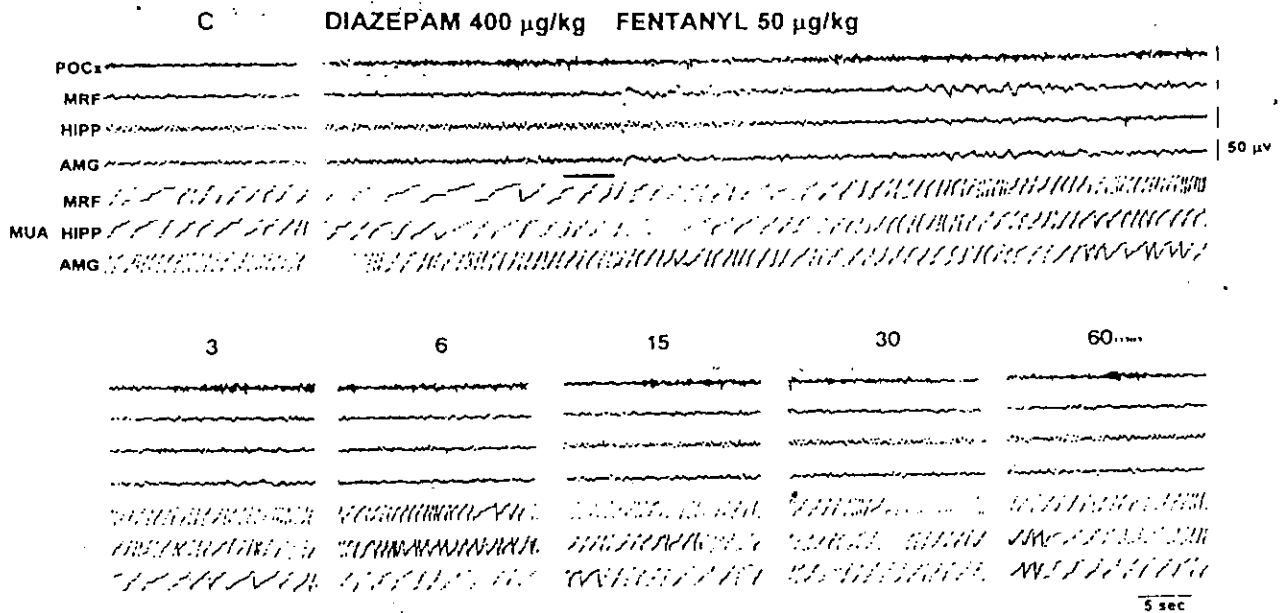


Figure 4. EEG recordings from the parieto-occipital cortex (POCx), and EEG and multineuronal activity (MUA) recordings from mesencephalic reticular formation (MRF), hippocampus (HIPP), and amygdala (AMG) obtained before (C) and at different intervals from the administration of diazepam, 400 µg/kg iv, and 6 min later fentanyl, 50 µg/kg iv. MUA is illustrated by the output of stair step generator circuits fed with MUA from subcortical structures. Note that diazepam prevented the fentanyl-induced increase of MUA in subcortical structures, as well as determined the absence of EEG signs of epileptoid activity.

as well as in cortical EEG elicited by fentanyl in the present study. An abrupt attenuation or suppression of fentanyl induced epileptiform EEG activity in humans has been observed shortly after midazolam iv administration, when this drug was administered 3 min after the opioid (16). These effects have been also explained as due to potentiating actions of midazolam on GABAergic neurotransmission, which is a relevant mechanism for the anticonvulsant effects of these benzodiazepines (49).

The present experimental results are consistent with the presence of subcortically generated epileptiform activity, elicited by fentanyl administration. This is associated with increase of multineuronal firing in limbic and mesencephalic structures at the same time that spikes and electric seizures appeared both in the EEG of these subcortical structures as well as in cortical EEG; indicating that these changes in brain electrical activity seem to be part of the same epileptogenic mechanism, mainly generated at limbic structures. Hence, this is not necessarily related to motor seizure phenomena. In addition, the effects of diazepam in reducing or preventing both these epileptoid EEG activity, and the increase of MUA, support the use of benzodiazepines as premedicants for fentanyl anesthesia, in view of the possibility that unperceived epileptoid phenomena can result from opioid administration during the anesthetic procedures.

References

1. Stanley TH, Philbin DM, Coggins CH. Fentanyl-oxygen anesthesia for coronary artery surgery: cardiovascular and antidiuretic hormone responses. *Can Anaesth Soc J* 1979; 26:168.
2. Hilgenberg JC. Intraoperative awareness during high-dose fentanyl-oxygen anesthesia. *Anesthesiology* 1981; 54:341.
3. Waller JL, Hugh CC Jr, Nagle DM, Craver JM. Hemodynamic changes during fentanyl-oxygen anesthesia for aortocoronary bypass operation. *Anesthesiology* 1981; 55:212.
4. Sebel PS, Bovill JG, Bockhorst RAA, Rog N. Cardiovascular effects of high-dose fentanyl anaesthesia. *Acta Anaesth Scand* 1982; 26:308.
5. Shupak RC, Harp JR, Stevenson-Smith W, Rossi D, Buchheit WA. High-dose fentanyl for neuroanesthesia. *Anesthesiology* 1983; 58:579.
6. Murkin JM, Moldenhauer CC, Hugh CC Jr. High-dose fentanyl for rapid induction in patients with coronary artery diseases. *Can Anaesth Soc J* 1985; 32:320.
7. Shupak RC, Harp JR. Comparison between high-dose surfentanyl-oxygen and high-dose fentanyl for neuroanaesthesia. *Br J Anaesth* 1985; 57:375.
8. Thomson IR, Bergstrom RG, Rosenbloom M, Mcatherall RC. Premedication and high-dose fentanyl anesthesia for myocardial revascularization: a comparison of lorazepam versus morphine-scopolamine. *Anesthesiology* 1988; 68:194.
9. Young WL, Prohovnik I, Correl JW, Ornstein E, Matteo RS, Ostapkovich N. Cerebral blood flow and metabolism in patients undergoing anesthesia for carotid endarterectomy. A comparison of isoflurane, halothane and fentanyl. *Anesth Analg* 1989; 68:712.

10. Bailey PL, Stanley TH. Narcotic intravenous anaesthetics. In Miller RD, Ed. *Anesthesia*, 3rd ed. New York: Churchill Livingstone, 1990:281.
11. Rao TLK, Mummaneni N, El-Etr AA. Convulsions: an unusual response to intravenous fentanyl administration. *Anesth Analg* 1982; 61:1020.
12. Goroszeniuk T, Albin M, Jones RM. Generalized grand mal seizure after recovery from uncomplicated fentanyl-clomidate anesthesia. *Anesth Analg* 1986; 65:979.
13. Flores-Soria ER, Perez-Tamayo L, Cervantes-Alfaro M, Sánchez-Martínez R, Alvarez-Reséndiz GE. Efectos del dehidrobenzoperidol y del clorhidrato de diazepam sobre la actividad epileptoide de fentanil en humanos. *Rev Mex Anest* 1987; 10:71.
14. Kats RI, Eide TR, Hartman A, Poppers PJ. Two instances of seizure-like activity in the same patient associated with two different narcotics. *Anesth Analg* 1988; 67:289.
15. Modica PA, Tempelhoff R, White PF. Pro- and anticonvulsant effects of anesthetics (part I). *Anesth Analg* 1990; 70:303.
16. Kearsé LA Jr, Koski G, Husain MV, Philbin DM, McPeck K. Epileptiform activity during opioid anesthesia. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1993; 87:374.
17. Freeman J, Ingvar DH. Effects of fentanyl on cerebral cortical blood flow and EEG in the cat. *Acta Anaesthesiol Scand* 1967; 11:381.
18. Carlsson C, Smith DS, Keykhah M, Englebach I, Harp JR. The effects of high-dose fentanyl on cerebral circulation and metabolism in rats. *Anesthesiology* 1982; 57:375.
19. Maekawa T, Tommasino C, Shapiro HM. Local cerebral blood flow with fentanyl-induced seizures. *J Cereb Blood Flow Metab* 1984; 4:88.
20. Tommasino C, Maekawa T, Shapiro HM. Fentanyl-induced seizures activate subcortical brain metabolism. *Anesthesiology* 1984; 60:283.
21. Safo Y, Young ML, Smith DS, Greenberg J, Carlsson C, Reivich M, Keykhah M, Harp JR. Effects of fentanyl on local cerebral blood flow in the rat. *Acta Anaesthesiol Scand* 1985; 29:594.
22. Urca G, Frenk H, Liebskind JC. Morphine and enkephalin: analgesic and epileptic properties. *Science* 1977; 197:83.
23. Frenk H, McCarty B, Liebskind JC. Different brain areas mediate the analgesic and epileptic properties of enkephalin. *Science* 1978; 200:335.
24. Siggins GR, Henriksen SJ, Chavkin C, Gruol D. Opioid peptides and epileptogenesis in the limbic system, cellular mechanisms. *Adv Neurol* 1986; 44:501.
25. Zieglgänsberger W, French ED, Siggins GR, Bloom FE. Opioid peptides may excite hippocampal pyramidal neurons by inhibiting adjacent inhibitory interneurons. *Science* 1979; 205:415.
26. Wertz MA, MacDonald RL. Opiate alkaloids antagonize postsynaptic glycine and GABA responses. Correlation with convulsant action. *Brain Res* 1982; 236:107.
27. Gale K. Mechanisms of seizure control mediated by γ -aminobutyric acid: role of the substantia nigra. *Fed Proc* 1985; 44:2414.
28. Geller HM, Hoffer BJ, Taylor DA. Electrophysiological actions of benzodiazepines. *Fed Proc* 1980; 39:3016.
29. MacDonald RL, McLean MJ. Anticonvulsant drugs: mechanism of action. In Delgado-Escueta AV, Ward AA Jr, Woodbury DM, Porter RJ, Eds. *Advances in Neurology*, Vol. 44. New York: Raven Press, 1986:713.
30. Lloyd KG, Morselli PII. Psychopharmacology of GABAergic drugs. In Meltzer HY, Ed. *Psychopharmacology. The Third Generation of Progress*. New York: Raven Press, 1987:183.
31. Susuki SS, Smith GK. Spontaneous EEG spikes in the normal hippocampus. V. Effects of ether, urethane, pentobarbital, atropine, diazepam and bicuculline. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1988; 70:84.
32. Enna SJ, Möhler H. γ -aminobutyric acid (GABA) receptors and their association with benzodiazepine recognition sites. In Meltzer HY, Ed. *Psychopharmacology. The Third Generation of Progress*. New York: Raven Press, 1987:265.
33. Borman J. Electrophysiology of GABA_A and GABA_B receptor subtypes. *Trends Neurosci* 1988; 11:112.
34. Giusti P, Romco E, Auta J, Guidotti A. Structural variety of GABA_A receptors and specificity of benzodiazepines pharmacological profiles. In Biggio G, Concas A, Costa E, Eds. *GABAergic Synaptic Transmission*. New York: Raven Press, 1992:163.
35. Herr GP, Conner JT, Katz RL, Dorey F, L'Armand J, Schehl D. Diazepam and droperidol as iv premedicants. *Br J Anaesth* 1979; 51:537.
36. Aromaa U, Kottila K, Tammisto T. The role of diazepam and fentanyl in the production of balanced anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand* 1980; 24:36.
37. Snyder PS, Niemer WT, Eds. *A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain*. Chicago: University of Chicago Press, 1961.
38. Buchwald JS, Holstein SB, Weber DS. Multiple unit recording technique, interpretation and experimental application. In Thompson RF, Patterson MM, Eds. *Bioelectric Recording Techniques*, Vol 1A. New York: Academic Press, 1973:201.
39. Cervantes M, De La Torre L, Beyer C. Analysis of various factors involved in EEG synchronization during milk drinking in the cat. *Brain Res* 1975; 91:89.
40. Kubli-Garfias C, Cervantes M, Beyer C. Changes in multiunit activity and EEG induced by the administration of natural progestins to flaxedil immobilized cats. *Brain Res* 1976; 114:71.
41. Kugler J. *Electroencephalography in the Hospital and General Consulting Practice*. New York: Elsevier, 1964.
42. Siegel S. *Non Parametric Statistics for the Behavioral Sciences*. New York: McGraw Hill, 1956.
43. Downie NM, Heath RW. *Basic Statistical Methods*. New York: Harper & Row, 1983.
44. Guzmán-Flores C, Alcaraz M, Fernandez-Guardiola A. Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol Estud Med Biol Mex* 1958; 16:29.
45. Sprung J, Schedewie HK. Apparent focal motor seizure with a Jacksonian march induced by fentanyl. A case report and review of the literature. *J Clin Anesth* 1992; 4:139.
46. Tempelhoff R, Modica PA, Bernardo KL, Edwards I. Fentanyl-induced electrocorticographic seizures in patients with complex partial epilepsy. *J Neurosurg* 1992; 77:201.
47. Olson GA, Olson RD, Kastin AJ. Endogenous opiates: 1993. *Peptides* 1994; 15:1513.
48. Scott JC, Samquist FH. Seizure like movements during a fentanyl infusion with absence of seizure activity in simultaneous EEG recording. *Anesthesiology* 1985; 62:812.
49. Rall TW, Schleifer LS. Drugs effective in therapy of epilepsy. In Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, Ed. *Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York: Pergamon Press, 1990:436.

Efecto del Oxígeno sobre el funcionamiento Cerebral

*Arturo Contreras-Gómez **

Los seres vivos en general, para realizar sus funciones vitales, requieren de una fuente de Energía convenientemente adaptada a su sistema biológico. Una revisión somera de nuestras acciones cotidianas, puede demostrarnos que, efectivamente esta energía, la podemos obtener de los alimentos que consumimos. Sin embargo, esta fuente de energía es efímera, ya que la consumimos gradualmente en el transcurso del tiempo y dependiendo siempre de las funciones que se realicen en ciclos de 24 h.

Un análisis más a fondo, puede demostrarnos que la fuente orgánica de la que se obtiene energía, es una molécula que conocemos como Glucosa; misma que se obtiene de los carbohidratos que consumimos en la dieta ó de aquellos que almacenamos como fuente de reserva (1).

La descomposición de carbohidratos, hasta obtener energía y como productos de deshecho el bióxido de carbono y el agua, requiere necesariamente del aporte continuo de oxígeno.

En los organismos superiores como el nuestro, todo el sistema energético es químico, lo cual quiere decir que todo nuestro sistema biológico genera, transporta y consume energía mediante reacciones químicas que utilizan como último aceptor de electrones al Oxígeno.

En un sistema biológico, se hace necesario hablar un poco del trifosfato de adenosina o adenosin

trifosfato (ATP); la cual es una molécula que se define como <<rica en energía>>. Esto hace suponer que gracias a ella se obtiene energía. Sin embargo, lo único que hace el ATP, es transferir un grupo fosforilo PO_3H_2 a otras moléculas, lo cual se logra después de haber sucedido una gran cantidad de reacciones, cada una de las cuales es dependiente de diferentes procesos enzimáticos, de tal forma que, de acuerdo a la concentración que tengamos de ATP, será la capacidad que se tenga para realizar trabajo. Entendido lo anterior, como la capacidad para ejecutar funciones metabólicas que permitan un equilibrio tendientes a la supervivencia de los organismos, pero que requieren la presencia de Oxígeno para poder efectuarse.

En nuestro organismo, el suministro de oxígeno para el funcionamiento de todas las células corporales, depende del Sistema Sanguíneo; en el cual la sangre facilita el transporte e intercambio de este elemento en su forma gaseosa, mediante sus eritrocitos (células rojas); mismas que contienen una proteína conocida como hemoglobina, la cual puede combinarse con el oxígeno, mediante una reacción reversible que permite el tránsito de este elemento de todas las estructuras anatómicas de nuestro cuerpo (Esta misma reacción de la hemoglobina

3

*Doctorado en Ciencias Fisiológicas. UNAM-CCH

con el oxígeno puede efectuarse con el monóxido de carbono, solo que 200 veces más fuerte).

De acuerdo a los planteamientos anteriores, es posible disminuir la afluencia del suministro de oxígeno, con solo disminuir el flujo sanguíneo causando lo que se conoce como Hipoxia, ó detener totalmente dicho suministro bloqueando o deteniendo el flujo sanguíneo general produciendo lo que se conoce como anoxia (ausencia de oxígeno). La detención del flujo sanguíneo se le denomina isquemia. La isquemia, puede ser Focal.- cuando se trata de una región localizada en cualquier parte de nuestro cuerpo o Global.- cuando en todo el organismo no existe el suministro sanguíneo.

- 4 Asi, una de las formas de estudiar experimentalmente el efecto de la privación de oxígeno sobre el metabolismo general en organismos superiores, ha sido la detención súbita del suministro sanguíneo, ya sea localizado o Global en animales de experimentación, tales como los gerbils, ratas, perros, gatos y monos, mediante la cauterización, ligamiento o "Clampeo" de arterias, contusión generalizada o de cerebro, así como la detención del órgano cardiaco y respiratorio entre otras (2,3,4,5,6,7,8,9). Sin embargo, datos relevantes han sido obtenidos mediante el estudio postmortem de pacientes que, en situación intrahospitalaria han fa-



llecido después de haber sufrido algún tipo de accidente cardiovascular, incluido entre ellos el paro cardiorrespiratorio (10,11,12,13).

Este tipo de estudios han permitido analizar y caracterizar una serie de eventos que acontecen intracelular y extracelularmente, permitiendo el análisis de los mecanismos fisiopatológicos del daño cerebral que ocurre particularmente en células de conglomerados neuronales después de eventos de isquemia-anoxia, que de manera particular implican la deficiencia del suministro de oxígeno en los diferentes circuitos de integración de la información extra sensorial.

El conocimiento de las carac-

terísticas, del daño producido por la deficiencia de oxígeno y la investigación de procedimientos tendientes a evitar o reducir el daño algunas veces irreversible de los componentes celulares del sistema nervioso central en tales condiciones, ha sido motivo de especial interés en los últimos años. Particularmente, considero que esto se debe en gran parte al avance de procedimientos que permiten efectivamente la reanimación de pacientes que han sufrido episodios de isquemia-anoxia global y a la evidencia acerca de la capacidad del Sistema Nervioso Central, para soportar bajo ciertas condiciones las consecuencias de la isquemia-anoxia durante períodos relativamente prolongados, sin

sufrir daño incompatible con la vida, aunque dando lugar a secuelas neurológicas de diferente naturaleza y magnitud (14,15,16,17,18,19).

Estudios histológicos, en diferentes estructuras animales y de pacientes a los que se les ha efectuado el análisis correspondiente, han permitido identificar un conjunto de trastornos homeostáticos que ocurren en estructuras particularmente sensibles y que hacen evidente la importancia del oxígeno en los procesos vitales para el buen funcionamiento de los seres vivos. Intracelularmente, estos fenómenos fisiopatológicos consisten en: alteraciones de los procesos metabólicos neuronales y del metabolismo cerebral global; modificación del flujo de iones a través de la membrana neuronal y de las células gliales; lipoperoxidación de los componentes de la membrana celular y de las membranas de los organelos intracelulares; activación de nucleasas que pueden provocar ruptura de los ácidos nucleicos, así como de otras enzimas que pueden conducir a la autólisis celular; alteraciones de la liberación de los neurotransmisores y de la transmisión sináptica en los componentes neuronales de diferentes estructuras cerebrales (20,21,22,23). Extracelularmente, estas alteraciones consisten de: edema intersticial, aumento del tono del músculo liso vascular, que da lugar al fenómeno de hipoperfusión post isquemia; aumento de la viscosidad sanguínea que favorece el fenómeno de "no reflujo"; además de presentarse una sobreexcitación en la actividad neuronal sobre el trazo electroencefalográfico, similar a la que se presenta durante la actividad epileptoide (24,25,26).

La interacción de los diversos fenómenos fisiopatológicos provocados por la deficiencia de oxígeno es compleja, y sus consecuencias sobre la integridad anatomofuncional en diversos estudios, indican que la magnitud del daño cerebral, depende principalmente de las alteraciones que ocurren en el período inmediato siguiente (minutos a horas), dependiente del tiempo de exposición a el evento de isquemia-anoxia cerebral global o focal. Sin embargo, también se ha demostrado daño neuronal adicional

debido a fenómenos fisiopatológicos que pueden ocurrir después de 24 h a partir de la disminución o suspensión del aporte de oxígeno (27,28).

Aunque, existen indicadores que permiten valorar la integridad del funcionamiento cerebral, tal como el electroencefalograma (EEG), que como un parámetro grueso nos indica mediante sus diferentes componentes, los diferentes estados conductuales con características específicas para cada uno originando ondas exclusivas para los diferentes estadios ó como la actividad multineuronal (AMN), que podemos medir de acuerdo a los potenciales de acción de mayor voltaje, seleccionados a partir de un conjunto de conglomerados neuronales y de acuerdo a las diferentes técnicas de registro.

A pesar de la importancia de la actividad eléctrica cerebral, que refleja el estado de funcionamiento general del S.N.C., pocos estudios han utilizado estos indicadores para valorar el funcionamiento cerebral y las diferentes condiciones de actividad nerviosa para los estados conductuales en el ciclo sueño-vigilia (2,29,30). A este respecto, estudios realizados sobre animales de experimentación, implantados con electrodos a permanencia (31) en estructuras cerebrales específicas, tal como la formación reticular mesencefálica (FRM), Hipocampo (HIP) y septum medial (SM), nos ha permitido evidenciar el efecto de la falta de oxígeno sobre la frecuencia de descarga de la AMN, durante los estados conductuales de alerta (A), sueño de ondas lentas y sueño paradójico (SP); así también su efecto sobre los porcentajes del tiempo total de sueño en ciclos de 24 h.

De esta manera, utilizando un modelo experimental, en el cual el suministro de oxígeno es suspendido por detención de la actividad cardíaca (15) durante 10 min y maniobras de resucitación hasta de 4 min y seguimiento del curso de las alteraciones hasta 30 días después de este evento, han permitido demostrar, que la falta de oxígeno produce alteraciones sobre la frecuencia de la AMN en las diferentes estructuras cerebrales registradas; así como sobre los porcentajes

en el estado conductual de A, SOL y SP durante el ciclo sueño-vigilia.

Las anomalías encontradas sobre la AMN y los porcentajes de A, SOL y SP se correlacionaron con las alteraciones que se encontraron sobre el estado conductual en la valoración neurológica antes y después de la ausencia en el suministro de oxígeno durante el período crónico y durante el período agudo con signos electroencefalográficos de lesión cerebral. Estas alteraciones persistieron hasta 15 días después de la ausencia en el suministro de oxígeno por efecto de la isquemia-anoxia (3).

Las evidencias encontradas, sugieren que la falta de suministro de oxígeno mediante el torrente sanguíneo en el sistema nervioso central, da lugar a alteraciones permanentes sobre el funcionamiento neuronal de estructuras cerebrales involucradas en los mecanismos de integración del estado de alerta y sueño, especialmente sobre estructuras nerviosas sensibles a eventos de esta naturaleza. Sin embargo, más estudios al respecto son necesarios.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.-Paschen, W., Mies, G. and Hossmann, K.-A. (1992): Threshold relationship between cerebral blood flow, glucose utilization, and energy metabolites during development of stroke in gerbils. *Exp. Neurol.*, 117: 325-333.
- 2.-Cervantes, M., Ruelas, R., Sánchez, R., Alvarez-Resendiz, G. (1989): Brain injury following cardiorespiratory arrest in cats. *Bol. Est. Med. Biol., México.*, 37:

17-27.

- 3.-Contreras-Gómez A. (1994) Analisis electrográfico del sueño en gatos sometidos a isquemia-anoxia cerebral global aguda. Tesis, IIB, UNAM, México, D.F.
- 4.-Gisvold, S.E., Safar, P., Hendrick, H.L., Rad, G., Moosy, J., Alexander, H. (1984): Thiopental treatment after global brain ischemia in pigtailed monkeys. *Anesthesiology*, 60: 88-96.
- 5.-Granger, C.V., Greer, D.S., Usel, E., Coulombe, R., O'Brien, E. (1978): Measurements of outcomes of care for stroke patients. *Stroke*, 6: 224-228.
- 6.-Hayes, L.R., Galinat, J.B., Kulkarni, P. and Becker, P.D. (1983): Effects of naloxone on systemic and cerebral responses to experimental concussive brain injury in cats. *J. Neurosurg.*, 58: 720-728.
- 7.-Ito, V., Spatz, M., Walker, J.T., Klatz, I. (1975): Experimental cerebral ischemia in mongolian gerbils. *Acta Neuropathol. (Berl.)*, 32: 209-223.
- 8.-Kanai, Y., Araki, T., Kato, H. and Kogure, K. (1994): Effect of pentobarbital on postischemic MK-801, muscimol, and naloxone bindings in the gerbil brain. *Brain Res.*, 657: 51-58.
- 9.-Nishimura, I., Endo, Y. and Kimura, F. (1992): Increases in cerebral blood flow in rat hippocampus after medial septal injection of naloxone. *Stroke*, 23: 1325-1330.
- 10.-Myerburg, R.J., Conde, C.A., Sung, R.J. (1980): Clinical electrophysiologic, and hemodynamic profile of patients resuscitated from prehospital cardiac arrest. *Am. J. Cardiol.*, 68: 568-576.
- 11.-Abramson, N.S., Safar, P., Deter, K.F. (1985): Neurologic recovery after cardiac arrest: Effect of duration of ischemia. *Crit. Care Med.*, 13: 930-931.
- 12.-Eames, M.P., Yamal, P.R., Memi, S.L., Knap, G.L. (1980): Long term survival and neurological status after resuscitation from out-of-hospital cardiac arrest. *Neurology (NY)*, 30: 1298-1302.
- 13.-Eisenberg, M.S., Copas, M.K., Alstrom, A. (1980): Management of out-of-hospital cardiac arrest: failure of basic emergency medical technician services. *JAMA*, 243: 1049-1051.
- 14.-Kaplan, J., Dimlich, R.V.M., Biros, M.H., Hedges, J. (1987): Mechanisms of ischemic cerebral injury. *Resuscitation*, 15: 49-69.
- 15.-Todd, M.M., Chadwick, H.S., Shapiro, H.M., Dunlop, B.J., Marshall, L.F., Dueck, R. (1982): The neurologic effects of thiopental following experimental cardiac arrest in cats. *Anesthesiology*, 57: 76-87.
- 16.-Kotila, M., Waltimo, O., Miemi, M.L., Laaksonen, R., Lempiinen, M. (1984): The profile of recovery from stroke and factors influencing outcome. *stroke*, 15: 1039-1044.
- 17.-Safar, P. (1978): Introduction: On the evolution of brain resuscitation. *Crit. Care Med.*, 6: 199-202.
- 18.-Safar, P. (1982): Reanimatology: The science of resuscitation. *Crit. Care Med.*, 10: 134-136.
- 19.-Safar, P. (1984): Recent advances in cardiopulmonary-cerebral resuscitation: a review. *Ann. Emerg. Med.*, 13: 856-861.

- 20.-Hall, D.E., Andrus, K.P. and Yonkers, A. P. (1993): Brain hydroxyl radical generation in acute experimental head injury. *J. Neurochem.*, 60: 588-594.
- 21.-Kitagawa, K., Matsumoto, M., Oda, T., Niinobe, M., Hata, R., Handa, N., Fukunaga, R., Isaka, Y., Kimura, K., Maeda, H., Mikoshiba, K. y Kamada, T. (1990): Free radical generation during brief period of cerebral ischemia may trigger delayed neuronal death. *Neuroscience* 35: 551-558.
- 22.-Pulsinelli, W.A., Brierley, J.B., Plum, F. (1982): Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. *Ann. Neurol.*, 11: 491-498.
- 23.-Inuzuka, T., Tamura, A., Shato, S., Kinno, T., Yanagisawa, K., Toyoshima, I. and Miyatake, T. (1990): Changes in the concentrations of cerebral proteins following occlusion of the middle cerebral artery in rats. *stroke*, 21: 917-922.
- 24.-Kogure, K., Tanaka, J., Araki, T. (1988): The mechanism of ischemia-induced brain cell injury. *Neurochem. Pathol.*, 9: 145-170.
- 25.-Krause, G.S., White, B.C., Aust, S.D., Nayini, N.R., Kumar, K. (1988): Brain cell death following ischemia and reperfusion: A proposed biochemical sequence. *Crit. Care Med.*, 16: 714-726.
- 26.-Snyder, B.D., Ramirez-Lasepas, M., Lippert, D.M. (1977): Neurological status and prognosis after cardiopulmonary arrest. I. a retrospective study. *Neurology*, 27: 807-811.
- 27.-Heiss, W.D., Rosner, G. (1983): Functional recovery of cortical neurones as related to degrees and duration of ischemia. *Ann. Neurol.*, 14: 294-301.
- 28.-Hossmann, K.-A. (1983): Ischemia-mediated neuronal injury. *Resuscitation*, 26: 225-235.
- 29.-Suzuki, R., Yamaguchi, T., Li, C.L., Klatz, I. (1983): The effects of 5-minute ischemia in mongolian gerbils. II. Changes of spontaneous neuronal activity in cerebral cortex and CA1 sector of hippocampus. *Acta Neuropathol. (Berl.)*, 60: 217-222.
- 30.-Winters, W.D., Mori, K., Spooner, C.E., y Kado, R.T. (1987): Correlation of reticular and cochlear multiple unit activity with evoked responses during wakefulness and sleep. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 23: 539-545.
- 31.-Guzmán-Flores, C., Alcaráz, M., Fernández, Guardiola, A. (1958): Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol. Inst. Est. Med. Biol., Méx.*, 16: 29-31.