

실험적 급성 국소 뇌허혈에 대한 Mannitol, Steroid, Phenytoin 및 Barbiturates의 병합치료 효과*

이화여자대학교 의과대학 신경외과학교실

신규만 · 박동빈 · 김성학

=ABSTRACT=

The Protective Effect of Mannitol, Steroid, Phenytoin and Barbiturates on
Experimental Acute Focal Cerebral Ischemia

Kyu Man Shin, Dong Been Park, Sung Hak Kim

Department of Neurosurgery, College of Medicine, Ewha Womans University

The authors have studied the therapeutic effect of the combinations of mannitol, methylprednisolone (MP), phenytoin and barbiturates on the acute focal cerebral ischemia (AFCI) in cats. The experimental animals were divided into three groups. Group I was the cats with the removal of the orbital contents without occlusion of MCA. Group II was that of 2-hour recirculation after AFCI following the occlusion of MCA for 3 hours. Group C was subdivided into four subgroups as Group III-a, Group III-b, Group III-c and Group III-d. Group III-a was that of treatment of combinations of mannitol and MP, Group III-b that of combinations of mannitol and phenytoin, Group III-c that of combinations of mannitol and barbiturates, and Group III-d that of combinations of mannitol, MP (60mg/kg) phenytoin and barbiturates. As the biochemical studies cytochrome oxidase activities (COA) and the concentrations of lipid peroxidation (LP) were determined, and as the pathohistologic studies the degree of the infarcted areas, hemispheric swellings and the comparative microscopic findings of the infarcted areas were studied.

In Group III-a and Group III-b no therapeutic effect on the AFCI was presented. In Group III-c the partial effect of brain protection were demonstrated only in LP and the degree of hemispheric swelling, but Group III-d provided nearly complete protection from ischemic damage.

These experimental data suggested that the medical measures of the combinations of mannitol, MP, phenytoin and barbiturates can make the AFCI fully reversible and would be applicable in the clinical field.

* 본 논문의 요지는 1987년도 신경외과 추계학술대회에서 발표하였음.

서 론

뇌는 특히 허혈에 민감하여 뇌혈류가 임계치 이하로 감소하면 뇌조직은 괴사상태로 빠지고 만다. 오늘날 신경외과학영역에서 미세수술 술기 및 신경마취등의 발달로 출혈성 뇌졸중 질환에 대한 치료는 많은 진전을 이루고 있으나 아직도 허혈성 뇌졸중 치료의 결과는 불망한 상태이다^{1,2)}.

색전제거술등의 외과적 치료방법이 허혈성 뇌질환에 응용되고 있으며 비가역적 뇌손상을 방지하기 위하여 허혈상태 발병 개시 6시간 이내에 혈관 문합술 또는 색전제거술이 이루어져야 한다고 보고되고 있다³⁾. 그러나 현재 외과적 치료성적은 만족할 만 하지 못하여, 급성적으로 발병한 증례에서 6시간 이내에 수술적 치료시행은 병원에서 수술중 발생한 환자인 경우외에는 실제 거의 불가능한 상태이므로 발병후 수술까지 내과적 치료로서 Golden-period⁴⁾를 연장시키려는 노력들이 경주되어 오고 있다.

허혈로 인한 뇌조직의 비가역적 손상은 단일과정이 아니고 일련의 단계적 과정 즉 ischemic-cascade로 진행하여 발생되므로 어떠한 단일약제만으로 뇌를 방어할 수는 없을 것으로 사료된다. 이에 저자는 뇌허혈상태로 인하여 발생하는 ischemic-cascade 단계별로 유효한 뇌 방어약제를 병합 투여함으로써 상승작용을 도모하여 뇌를 허혈상태로부터 방어 효과를 증명하기 위하여, 안와경위법으로 고양이의 좌측 중대뇌동맥을 3시간 동안 폐쇄후 2시간 재관류시킨 실험모형을 이용하여 급성 국소 뇌허혈상태를 유발시킨후 수산화 유리기(OH⁻) 포착 및 항 부족효과가 있는 Mannitol^{5,6)}, 혈액-뇌 관문 안정화 작용^{8,9)}이 있는 부신피질 steroid제재인 methylprednisolone (MP), 뇌대사율 억제¹⁰⁾ 유리기 제거 및 지방산의 과산화 억제¹¹⁻¹⁴⁾의 약리작용으로 국소 일과성 허혈에 가장 유효한 약제로 알려진 barbiturates 제재인⁸⁻⁹⁾ Pentobarbital과 세포막 내외의 양이온들의 평형을 유지시켜^{15,16)} 허혈 또는 저산소증으로 부터 뇌를 방어하는 phenytoin을 병합 투여한 후 뇌사립체의 활성도를 나타내는 cytochrome oxidase 활성치 및 세포막 손상의 척도인 Lipid Peroxidation 함량의 측정을 통한 생화학적 검사와

대뇌반구의 부종, 경색면적의 크기들과 경색부위의 광학현미경적 연구를 시행하여 이들의 결과를 분석, 비교, 검토하여 향후 뇌허혈성 뇌졸중 환자의 치료에 공헌하고자 본 실험을 계획하였다.

실험재료 및 방법

실험동물은 체중 3.0~4.0Kg의 성숙한 잡종 고양이가 72마리로 체중 Kg당 Ketamine hydrochloride 15mg을 근육주사하여 전신마취한 상태에서 실험대위에 고정후 기관절개부를 통하여 분당 30~40회로 호흡을 유지하였으며 고양이의 체온은 가열 패드를 이용하여 36.8℃로 유지시키면서 실험중 동맥혈내의 산소 및 이산화탄소 분압을 측정하면서 좌측 안검열을 약 0.5cm 절개하여 견인기로 상안검을 넓게 벌린 후 안와내용물을 제거하고 수술현미경하에서 전기 천공기를 이용하여 시신경공의 측상방에 약 5mm 크기의 골 절제술을 시행하여 뇌경막을 노출시켰다. 뇌지주막을 조심스럽게 박리하여 좌측 중대뇌동맥의 기시부를 5×1.75mm크기의 heifetz 협자로 협자술을 시행하여 혈류를 차단시켰다. 두개골 결손 및 뇌경막 절개부위는 gelfoam으로 덮었고 안와는 methyl-metacrylate dental cement로 봉합하였다. 좌측 안와적출후 시신경공 부위의 골절제술만을 시행한 것을 수술대조군(sham control)으로서 제 I군으로 하였으며, 3시간동안 중대뇌동맥 혈류를 폐쇄후 2시간 재관류시킨 것을 제II군에서 하였으며, 치료군(제III군)은 4개의 아군으로 나누었다. 체중 Kg당 2gm의 mannitol 및 30mg의 MP를 동맥 폐쇄전 30분부터 1시간 30분 간격으로 폐쇄 및 재관류 시키는 동안 병합 정주한 제III-a, mannitol은 제III-a군과 같은 방법으로 투여하여, 중대뇌동맥 폐쇄전 30분에 체중 Kg당 12mg의 phenytoin을 정주한 것을 제III-b군, 동맥폐쇄전 30분에 체중 Kg당 15mg pentobarbital 투여후 1시간 간격으로 4gm씩 추가하여 정주한 방법으로 mannitol과 병합 투여한것을 제III-c군, 그리고 mannitol, phenytoin 및 pentobarbital을 제III-a, III-b 및 III-c군들과 같은 방법으로 투여하고 MP는 체중 Kg당 60mg을 병합 투여한 것을 제III-d군으로 분류하였다(표 1, 2).

Table 1. Experimental group

	-1	0	1	2	3	4	5hrs
I (Sham Control)							
II			■	■	■	■	■
III-a			■	■	■	■	■
			M	S			
III-b			■	■	■	■	■
			M	P			
III-c			■	■	■	■	■
			M	B			
III-d			■	■	■	■	■
			M	S	P	B	

■ : Occlusion
 ■ : Recirculation
 ■ : Injection of drugs

1. 생화학적인 연구

36마리의 고양이의 두피를 완전 박리후 두개골에 액화질소를 분무하여 -70°C 로 급속냉각 고정시킨 후 뇌를 적출하여 -30°C 에 보관하였다.

1) Cytochrome Oxidase 활성치 측정

절제한 뇌조직은 균등기를 사용하여 Hess와 Pope¹⁷⁾의 방법으로 0.32mole sucrose용액으로 10% 균질용액을 만든후 냉동원침기로 6000g에서 10분간 원심분리하고 상층액은 9000g에서 20분간 원심분리하여 사립체로 분리하였다. 0.75% Sodium deoxycholate용액으로 현탁시켜 효소용액을 만들었다. 2.5mole reduced cytochrome-c가 되도록 0.05mole sodium phosphate buffer(DH 7.1)에 용해시킨 후 sodium hydrosulfate를 0.01mole이 되게 넣어준 후 3분간 흔들어 준다. 이 완충된 cytochrome-C 용액 0.65ml에 효소용액 0.06ml를 넣어 잘 섞은 후 분

광측정기(Perkin-Elmer)를 사용하여 550nm에서 3분간 주사하였다. 이때 oxidized cytochrome-C의 molar 흡광계수는 2.80×10^4 으로 하였다. Cytochrome Oxidase활성치의 단위는 $\mu\text{mole/mg protein/수}$ 로서 표시하였다.

2) Lipid Peroxidation 측정

사립체의 지질과잉산화를 위한 배양물질로 0.012 m mole Fe^{+++} , 2mole ADP, 0.3m mole NADPH, 0.1mole Tris Hcl Buffer(PH 7.5) 및 사립체의 분설을 넣어 37°C 에서 30분간 배양후 1ml를 취하여 TCA-TBA Hcl 시제 2ml를 첨가한 후 15분간 수욕 중에서 끓인다. 식힌후 10분간 3000RPM으로 원심 분리한다.

상층액을 취하여 지질과잉산화로 생성되는 Malonaldehyde양을 분광측정기(2000 Bauch and Lomb)를 사용하여 535nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 흡광계수는 1.56×10^6 으로 하였다.

2. 병리조직학적 연구

고양이 36마리의 대뇌정맥내에 2mole Potassium chloride 10cc를 급속히 주입하여 급사시킨 직후 2% triphenyl tetrazolium chloride (TTC) 용액을 양측 총격동맥내에 50cc씩 주입하였다.

두개골 절제후 대뇌를 적출하여 10% 완충된 formalin용액에 약 2주간 고정한 후 TTC용액에 염색되지 않은, 즉 경색부위의 면적과 부종으로 인한 대뇌반구의 중앙선 이동의 크기 및 각군의 경색부위의 광학적 현미경조건을 연구하였다.

1) 뇌경색 면적을

각 군마다 개체별로 시신경 교차부와 뇌 유두체 사이의 관상절편을 만들어서 TTC용액에 염색되지 않는 경색부위 면적을 조직표본 양면에서 각각 산출한 후 2등분하여 평균치를, 관상절편 양면의 전체면적을 2등분한 수치에 대하여 백분율을 구하여 비교 검토하였다.

2) 대뇌반구의 부종정도

대뇌반구 부종에 대한 관찰은 시신경교차부와 뇌 유두체 사이의 관상절편에서 중앙선의 우측 방향 이동의 정도를 mm단위로 측정하여, 각 군들의 성적을 비교 검토하였다.

Table 2. Experimental group

Group	No. of assays		Treatment
	Biochemistry	Pathology	
I (Sham control)	6	6	No MCA occlusion No Treatment
II	6	6	MCA occlusion for 3h +Recirculation for 2h
III-a	6	6	MCA occlusion for 3h +Recirculation for 2h + IV injection of Mannitol (2gm/kg) and Methylprednisolone (30mg/kg)
III-b	6	6	MCA occlusion for 3h +Recirculation for 2h + IV injection of Mannitol (2gm/kg) and Phenytoin (12mg/kg)
III-c	6	6	MCA occlusion for 3h +Recirculation for 2h + IV injection of Mannitol (2gm/kg) and Pentobarbital (15mg/kg, followed by 4mg/kg hourly)
III-d	6	6	MCA occlusion for 3h +Recirculation for 2h + IV injection of Mannitol (2gm/kg) Methylprednisolone (60mg/kg), Phenytoin (12mg/kg) and Pentobarbital (15mg/kg, followed by 4mg/kg hourly)

M : Mannitol S : steroid P : Phenytoin B : Barbiturate

3) 뇌경색부위의 광학현미경적 연구조건

경색부위에서 미세표본을 취하여 hematoxylin-eosin 염색후 광학현미경하에서 신경세포의 손상, 신경교종, 세포주위 및 혈관주위 부종, 울혈 그리고 경색발생의 정도를 5등급으로 나누어 관찰하였다.

실험 성적

1. 생화학적 연구

본 연구의 각 실험군, 수술대조군들의 cytochrome oxidase 활성 및 Lipid peroxidation 함량의 수치는

Table 3. Cytochrome oxidase

Group	Cytochrome oxidase (μ moles/mg protein/hr)
I (Sham Control)	36.09 \pm 4.01
II	19.33 \pm 1.49
III-a	21.20 \pm 2.56
III-b	20.01 \pm 4.17
III-c	21.84 \pm 4.57
III-d	36.99 \pm 6.33*

Each value represents mean \pm S.D.

* 0.010 > P > 0.001

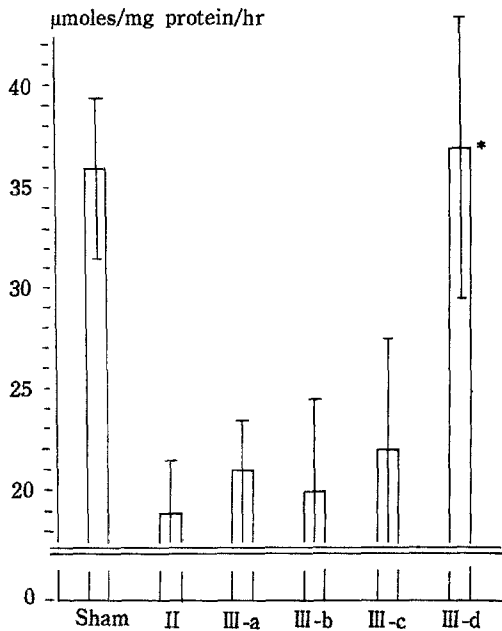


Fig. 1. Cytochrome oxidase.

각각 표 3, 그림 1과 표 4, 그림 2와 같다.

1) Cytochrome oxidase 활성도

실험대조군인 제 1군의 cytochrome oxidase 활성치는 36.09 \pm 4.01 μ moles/mg protein/hr였으며, 제 2군에서는 19.33 \pm 1.49 μ moles/mg protein/hr로 제 1군보다 46.44% 감소를 보였다. 제 III-a군의 cytochrome oxidase 활성치는 21.20 \pm 2.56 μ moles/mg protein/hr, 제 III-b군에서는 20.01 \pm 2.56 μ moles/mg protein/hr로 각각 제 II군보다 9.67%, 3.52% 그리고

Table 4. Lipid peroxidation

Group	Lipid Peroxide (n moles/mg protein/30 min)
I (Sham Control)	4.69 \pm 0.64
II	9.11 \pm 1.70
III-a	7.47 \pm 2.29
III-b	9.05 \pm 1.64
III-c	6.57 \pm 0.82*
III-d	6.52 \pm 1.14*

Each value represents mean \pm S.D.

* 0.050 > P > 0.020

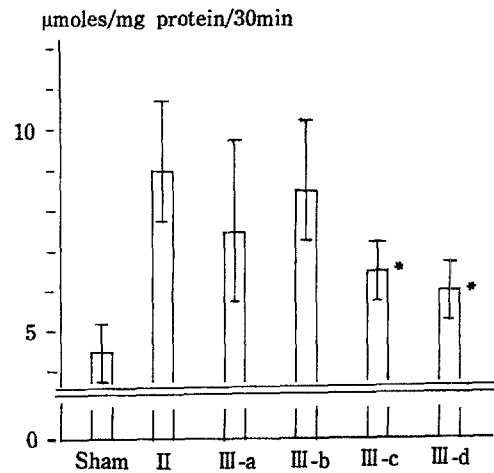


Fig. 2. Lipid peroxidation

Table 5. Degree of infarction detected by perfusion of 2% TTC solution

Group	Infarcted area/width of left hemisphere (%)
I (Sham Control)	0.00
II	68.95 \pm 14.81
III-a	53.29 \pm 5.03
III-b	57.19 \pm 13.81
III-c	44.01 \pm 11.85*
III-d	29.09 \pm 6.22*

Each value represents mean \pm S.D.

* 0.050 > P > 0.020

12.98% 증가하였으나 통계적 의의는 관찰되지 않았다. 제III-d군의 cytochrome oxidase 활성치는 $36.99 \pm 6.33 \mu\text{moles/mg protein/hr}$ 로 제II군보다 91.36% 매우 유의있게 증가하여 실험대조군치로 회복되었다.

2) Lipid peroxidation 함량

제I군의 lipid peroxidation 함량치는 $4.69 \pm 0.64 \text{ n moles/mg protein/30min}$ 였으며 제II군에서는 제I군보다 94.24% 증가된 $9.11 \pm 1.70 \text{ n moles/mg protein/30min}$ 였고 제III-a군 및 제III-b군에서는 각각 $7.47 \pm 2.29 \text{ n moles/mg protein/30min}$, $9.05 \pm 1.64 \text{ n moles/mg protein/30min}$ 로 제II군의 81.99%, 99.34%로 감소하였으나 통계적 의의는 없었다. 제III-c군과 제III-d군의 lipid Peroxidation 함량치는 각각 $6.57 \pm 0.82 \text{ n moles/mg Protein/30min}$, $6.52 \pm 1.14 \text{ n moles/mg Protein/30 min}$ 로 제II군보다 27.88%, 28.43% 유의있게 감소하였다.

2. 병리조직학적 연구

각 군별 뇌경색 면적과 대뇌반구 부종의 성적들은 각각 표 5, 그림 3과 표 6, 그림 4와 같다.

1) 뇌경색 면적을

제II군에서는 뇌경색 면적율은 $68.95 \pm 14.81\%$, 제III-a 및 제III-b군에는 각각 $53.29 \pm 5.03\%$, $57.19 \pm 13.81\%$ 로 제II군에 비해 각각 22.71%, 17.06%의 의없게 감소하였다. 제III-c 및 제III-d군에서는 제

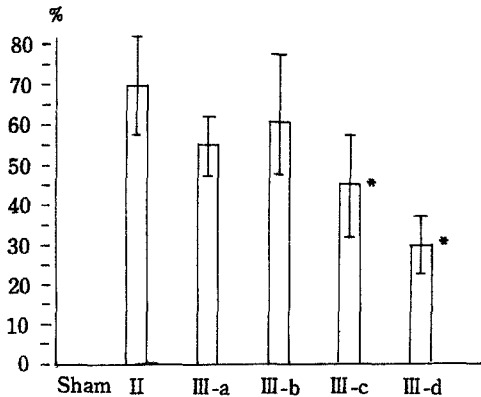


Fig. 3. Degree of infarction detected by perfusion of 2% TTC solution

Table 6. Degree of hemispheric swelling

Group	Midline Shift (mm)
I (Sham Control)	0.00
II	0.11 ± 0.02
III-a	0.09 ± 0.02
III-b	0.10 ± 0.03
III-c	$0.09 \pm 0.01^*$
III-d	$0.03 \pm 0.01^*$

Each value represents mean \pm S.D.

* $P < 0.001$

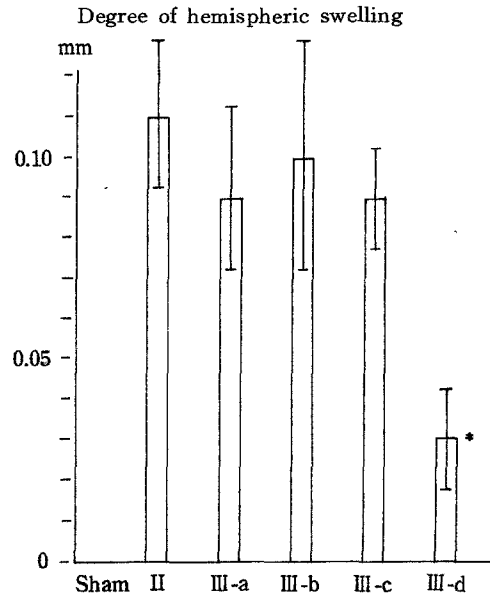


Fig. 4. Degree of hemispheric swelling

II보다 각각 36.17%, 57.81% 유의있게 감소하였다 (사진 1, 2).

2) 대뇌반구 부종정도

제II군에서는 뇌 관상절편의 중앙면이 $0.11 \pm 0.03 \text{ mm}$ 우방으로 이동하였으며 제III-a, 제III-b 및 제III-c군들에서는 각각 $0.09 \pm 0.02 \text{ mm}$, $0.10 \pm 0.03 \text{ mm}$ 그리고 $0.09 \pm 0.01 \text{ mm}$ 로서 통계적 의의는 관찰되지 않았으나 제III-d군에서는 $0.03 \pm 0.01 \text{ mm}$ 로서 제II군보다 72.73%나 매우 유의 있게 감소하였다.

Table 8. Microscopic findings

Group	Pathology	Neuronal damage(No.)					Gliosis (No.)					Infarct (No.)					
		Grade	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
I (Sham Control)			6				6					6					
II					2	4			3	3			2	3	1		
III-a				3	3			3	3			1	2	2	1		
III-b				1	4	1		4	1	1		1	3	2			
III-c				4	2			4	2			4	1	1			
III-d			1	4	1		1	5			2	2	1	1			

Grading of Pathology : - normal
 ± equivocal
 + mild
 ++ moderate
 +++ severe

총괄 및 고안

뇌허혈로 인하여 발생하는 허혈성 뇌부종은 초기에는 세포독성 부종, 말기에는 혈관인성 부종으로 발생한다¹⁸⁾. 즉 뇌의 주요 동맥이 폐쇄되면 세포막의 전달체의 기능 상실로 세포내 수분이 증가하고 허혈상태가 수시간 내지 수일동안 더 진행되면 혈-뇌관문이 파괴되어 혈관인성 부종으로 진전된다.

허혈후 30분에는 신경세포내의 공포화가 발생하고 모세혈관 주위의 성상세포들의 종창이 발생하여 뇌조직내 미세순환이 폐쇄되어 소위 No-flow현상¹⁹⁾이 발생된다.

Little등²⁰⁾은 허혈후 미세순환 폐쇄는 비가역적 손상이 발생한 후 늦게 발생된다고 보고하고 있으나 이는 모세혈관 협착 내피의 종창이 발생하는 허혈이 일차 시기동안에 발생하는 주요 변화이다.

Watanabe등²¹⁾²²⁾은 개의 뇌동맥을 폐쇄하여 시상부의 피사를 유발시킨 결과 허혈상태 1~3시간 후 신경세포는 축소되며 성상세포는 종창되며 이후 회돌기세포는 핵의 변화와 종창이 발생된다. 모세혈관의 혈관 주세포는 허혈 1시간후에 종창이 시작되어 3시간 후에는 모세혈관내에 수포가 발생된다고 하였다. 허혈상태 6~12시간 사이 신경세포들 및 신경교 세포들의 세포막은 파열되며 24시간 후에는 호중구들이 모세혈관들로 부터 허혈병변부

속으로 삼출된다²³⁾. 뇌동맥 30분간 폐쇄후 재관류 시키면 24시간 후에는 정상으로 회복되나 3시간 폐쇄후 1시간 재관류에는 경도의 출혈성 피사가 발생된다²³⁾.

저자들의 실험에서 중대뇌동맥 3시간 폐쇄 후 ; 시간 재관류 시킨 결과 광학현미경 조직소견상 고사, 모세혈관 주위의 울혈 그리고 신경세포 및 신경교세포의 손상조건이 관찰된 사실은 동물실험은 다르나 Watanabe등²¹⁾²²⁾의 실험결과와 일치된 소견을 보였다. Crowell과 Olsen⁴⁾ 그리고 Levithal등²⁾들은 개의 중대뇌동맥 폐쇄후 6시간 이내에 천측 두동맥과 중대뇌동맥 문합술을 통하여 양호한 결과를 얻었다. 그러나 Diatz등²⁵⁾은 혈관 폐쇄후 4시간 및 24시간후에 혈관재통 결과 불량한 결과를 보고한 바 있다. 즉 이상의 보고들은 혈-뇌관문이 손상되면 혈관재통후 오히려 출혈을 일으킴으로 실험동물의 종족 및 개체에 따라 다르나 중대뇌동맥 폐쇄후 3시간 이후 부터는 혈관인성 부종이 개시되는 것으로 사료된다.

허혈로 인한 뇌조직의 허혈성 부종 발생에 대한 생화학적 기전은 뇌혈류가 차단되면 일차적으로 phosphocreatine, adenosine triphosphate(ATS)등의 고-Energy가 고갈되며 이후 소위 ischemic-cascade로 불리는 일련의 대사장애가 2차적으로 발생된다. 세포막에 부착된 Na⁺K⁺-ATPase 활성은 저하로 세포내 Na⁺와 수분의 증가와 동시에 Ca²⁺

*농도가 증가되며 무기성 당원질 분해로 유산염이 증가되어 더욱 허혈성 손상을 가속시킨다. 산증이 허혈 개시 첫 30분에 관찰²⁶⁾되는 세포독성 부종이 병리적으로 인지되는 시간과 같은 것으로 미루어 생화학적 변화로 인한 병리적 손상 조건이 일치하는 것으로 사료된다.

세포내 Ca^{++} 의 증가는 phospholipase A_2 를 활성화하여 세포막으로 부터 유리지방산을 유리시켜²⁷⁾ prostaglandins, leukotrienes와 유리기들을 생산하여²⁸⁾ 종국에는 야기시킨다. 그러나 아직도 생화학적 기전이 명확히 밝혀있지 않으므로 급성 국소허혈로 인한 2차적인 ischemic-cascade가 언제까지 지속되는 지는 명확히 인지되어 있지 않다. 그러나 병리적 변화 소견들을 함께 종합하여 보면 허혈상태 후 3~24시간까지 지속되는 것으로 사료되며 허혈 3시간 후 부터는 혈관인성 부종이 동반되는 것으로 시사된다.

불완전 허혈상태시 측부순환과 잔존된 소량의 혈액소통으로 무기성 당원질 분해가 지속되어 산증이 더욱 증가되고²⁹⁾ 재관류후에도 Energy대사가 완전 허혈상태에서 보다 더 심히 장애되므로³⁰⁾³¹⁾.

1970년대로 Demopoulos등³²⁾은 허혈성 뇌손상의 주기전은 유리기에 의한 자가 산화적 지질과산화에 의한 것이라고 주장하였다. 그러나 최근 유리기 작용은 허혈상태 후기의 뇌손상에 더 중요한 영향을 미친다고 한다³³⁾. 그러나 아직도 허혈로 인한 뇌손상은 기전은 단일적으로 설명되어질 수는 없다.

이와 같이 허혈로 인한 뇌손상은 뇌허혈 자체의 병리, 생리의 복잡성과 Ischemic-cascade의 2차적인 일련의 경과와 연합되어 발생하므로 어떤 단일 약제로 뇌허혈로부터 뇌조직에 대한 방어는 불가능할 것으로 사료되어 저자들은 ischemic-cascade과정의 각 단계에 작용하는 뇌방어약제들을 병합투여 함으로서 허혈로부터 뇌조직을 보호하고자 본 실험을 수행하였다.

뇌방어약제들중 20% mannitol, 부신피질 Steroid제제인 methylprednisolone, phenytoin과 pentobarbital을 선택하였다.

Mannitol은 과삼투성 탈수, 과혈량 혈액희석³⁴⁾과 혈액점성을 감소시키며³⁷⁾ 수산기(OH^-) 유리기를 제거작용등³⁸⁾으로 뇌허혈부위의 미세순환 장애를 개선시킨다.

부신피질 Steroid 제제는 세포막과 lysosome막의 안정화에 의한 혈액-뇌관문의 유지³⁹⁾ 뇌척수액 생산³⁹⁾ 억제 및 국소혈류량 개선⁴⁰⁾의 기전으로 허혈상태로 부터 뇌를 방어하나 이 약제는 세포독성 부종 때 보다는 혈관인성 부종감소에 더 유효하다.

Mannitol 2 gm/kg, methylprednisolone 30mg을 중대뇌동맥 폐쇄 30분전부터 1시간 30분 간격으로 3시간 폐쇄후 2시간 간격으로 재관류 시간까지 투여한 제III-a군의 cytochrome oxidase활성도는 제II군 보다 96.7% 증가하였으나 실험대조군인 제I군은 58.74%에 불과하였다. 또 lipid peroxidation함량치는 제II군보다 18.01% 감소하였으나 제I군보다 59.28%나 증가되었다. 뇌경색면적은 제II군보다 22.71% 감소하였고 대뇌반구의 부종도 9.09% 감소하였다. 그러나 이상의 생화학적 및 병리소견의 호전도는 통계학상 의의는 관찰되지 않았다.

Mannitol은 주로 세포독성 부종 시기에 부종을 경감시켜 미세순환 장애를 개선하여 유효한 효과를 나타내는 약제이므로 비록 허혈 발생 전에 이 약제를 투여하여도 허혈발생 3시간 후에는 이미 혈관인성 부종 단계까지 진전되는 과정이므로 이 약제 효과의 의의가 관찰되지 않은 것으로 사료되며 더 우기 부신피질 Steroid 제제는 혈액-뇌관문을 안정화 시키므로 세포독성 부종 보다는 혈관인성 부종에 더 유효하다 하며 또 뇌종양, 뇌염증질환 및 뇌경색으로 인한 괴사에 대한 부종의 감소에 유효하다⁴¹⁾. 그러나 실제 허혈성 환자를 호전시키지 못한다는 임상보고들⁴²⁾을 종합하여 고려하면 이 약제는 이에 심한 뇌경색이 발생한 중기에 그 약효가 유효하지, 급성기에는 방어효과가 미약한 것으로 시사되었다. 비록 의의는 없었지만 lipid peroxidation함량이 제III-a군에서 제III-b군 보다 저하된 것은 miannitol이 Lipid Peroxidation반응 초기에 수산기 유리기를 제거하는 작용과 부신피질 제제의 다불포화 지방산의 과잉 산화작용을 감소하는 약리작용의 협동작용에 의한 것으로 사료된다.

Phenytoin은 세포막에 직접 영향을 미치거나¹⁵⁾ 또는 Na^+K^+ -pump에 작용하여⁴³⁾ 세포내에 Na^+ 및 K^+ 의 세포외 유출을 방지하여 세포를 안정화시키는 약리작용이 있다. 또 이와 같이 양이온의 평형을 유지하여 허혈로 인한 세포내 Ca^{++} 증가에

의한 유리지방산의 유리 증가를 억제시켜서 허혈 상태로 부터 뇌를 보호한다. 그러나 이러한 효과를 나타내기 위해서는 쓰이는 용량이 너무 과다하며 이 약제는 저산소증 상태에서의 신경조직에서 유효하지 정상적인 신경조직에서는 효과가 없다⁴⁴. mannitol과 phenytoin을 투여한 제III-b군에서 cytochrome oxidase 활성도는 제II군보다 3.52% 증가하였으나 제I군의 55.4%에 불과하며 Lipid peroxidation함량도 제I군보다 0.66%만이 감소하였으나 제I군보다는 92.96%나 증가하여 유의있는 효과가 관찰되지 못하였으며 대뇌반구의 부종 및 경색면적의 크기가 각각 9.09%, 17.06%의 유의없는 감소를 보였으며 광학적 현미경 소견상에서도 세포주위의 부종 및 울혈이 나타나 중등도의 신경세포 손상 소견을 보였다. 허혈상태로 뇌조직의 산소공급이 중단되면 뇌사상태의 산·인산화 작용이 즉시 중단되어 뇌의 고-Energy 화합물이 감소하여 세포막에 부착된 Na,K-ATPase 활성이 저하되어 세포내 부종이 발생하는 바 이나 본 실험에서는 3시간 동안 혈관폐쇄로 세포독성 부종에서 혈관인성 부종으로 전이되는 단계에서는 Na,K-ATPase 안정화 및 mannitol의 부종감소 즉 세포독성 부종의 치료 효과만으로 유효하게 허혈로 부터 뇌를 방어할 수 없었던 기전으로 풀이된다.

Barbiturates의 뇌허혈로 부터 주 방어기전은 뇌 대사율 감소와 뇌 Energy유지⁴⁵, 뇌혈류의 분포개선⁴⁵, 그리고 유리기제거와 지방산의 과산화작용의 억제¹¹이다. 실제 인체에 thiopental의 마취용량을 투여하면 뇌산소소모율은 52%, 뇌혈류량은 48% 감소한다⁴⁶. Michenfelder⁴⁷은 thiopental의 용량을 증가 투여하면 뇌전도의 활성도와 뇌산소소모량이 피질전기도가 잠복될 수 있음을 증명하였다. 그러나 그 이상의 농도의 thiopental을 투여하여도 뇌 대사율은 더 이상 저하되지 않기 때문에 barbiturates는 뇌산소소모량의 전기적 성분을 감소시켜 뇌 대사율은 저하시키므로 뇌대사의 타 분야에는 영향을 미치지 않는다고 사료된다. 그러므로 barbiturate는 전기활성이 완전히 소실된 완전 허혈상태하에서는 그 작용이 유효하지 못하며 전기 활성이 감소되어진 불완전 허혈상태에 작용이 유효한 것으로 추론할 수 있다.

Barbiturates는 국소 허혈상태동안 정상부위로

부터 허혈부위로 혈류를 즉 inverse steal시켜 즉 부순환까지 허혈부위로 전환시키므로 국소허혈동안 이약제는 매우 유익하고 더욱이 유리기 제거 및 유리지방산의 과산화작용 억제등의 상호작용으로 barbiturates는 현재까지 불완전 허혈에 대한 뇌방어 약제들중 가장 유효한 약제로 인정되고 있다⁴⁸.

Rockoff등⁴⁸은 수술중 주요 뇌혈관을 영구히 폐쇄한 4명의 환자들에게 barbiturates를 투여하였으나 4명 모두 다 사망하였으며 또 Selman등⁴⁹은 비비의 중대뇌동맥을 영구히 폐쇄시킨 후 barbiturates를 투여한 결과 barbiturates 투여없이 재관류시킨 비치료군의 성적보다 훨씬 불량하였다는 보도들은 barbiturates는 일차적인 국소 허혈상태로 부터 뇌를 방어하는 가장 유효한 약제임을 입증한 것으로 사료된다.

중대뇌동맥 폐쇄전 30분부터 1시간 30분 간격으로 mannitol을 2gm/kg투여와 동시에 동맥 폐쇄전 30분에 15mg/kg의 pentobarbital투여 후 1시간 간격으로 4mg/kg씩 첨가 정주한 제III-c군에서 cytochrome oxidase 활성치는 제II군보다 12.98%증가하여 제I군치의 60.52%로 근접하였으나 의의는 관찰되지 않았다. Lipid Peroxidation함량치는 제II군보다 27.88% 유의있는 감소를 보였다. 뇌경색 면적도 제II군의 그것에 비해 36.17% 유의있게 감소와 더불어 현미경 소견에서도 경도의 신경세포 손상을 보여 제III군의 a, b 아군들에 비해 이 군이 제일 유의있는 효과를 보였다. mannitol이 세포독성 부종을 감소시켜 허혈상태 뇌조직의 미세순환을 개선시키고 유리기가 발생하는 시기에 barbiturates의 유리기 제거, 유리지방산 과산화 방지 및 허혈부위로 혈류의 공급 증가로 Energy를 유지시켜 대사작용을 개선함에 의한 기전으로 풀이된다. 따라서 허혈성 부종으로 인한 뇌손상은 유리기 방출에 의한 자가산화적 지방과산화에 의한 것이라는 Demopoulos설³⁰을 뒷받침하였다.

Barbiturates만을 단독투여시 허혈후 2시간부터는 미세순환이 허혈상태가 되므로 이 약제 투여시간은 2~3시간내에 투여해야 한다⁵⁰. 단 허혈성 부종은 국소 허혈후 24~36시간에 최절정에 달한 후 점점 감소하여 96시간까지 지속됨으로^{51,52} barbiturates 투여기간은 4일간 지속하는 것이 바람직하다⁵³고 하나, 최근 혈관폐쇄기간 동안 이 약제를 투

여하여도 유효하다고 보고되고⁵⁴⁾있어 이에 대해서는 향후 더 연구가 요할 것으로 사료된다.

Mannitol, methylprednisolone, phenytoin 그리고 pentobarbital을 투여한 제III-d군에서 대뇌좌측반구의 Sylvian 및 ectosylvian 회돌외에는 경색이 관찰되지 않았으며 뇌경색면적은 제I보다 57.81% 의의있게 감소하였으며 뇌부종도 제II군보다 72.73% 의의있게 감소하였으며 현미경소견상 미미한 신경세포의 손상과 경도의 세포주위 및 혈관주위 종창만이 관찰되었다. Cytochrome oxidase 활성치는 제II군 보다 91.36% 의의있게 증가하여 실험대조군치로 회복하였으며 Lipid peroxidation 함량도 제II군보다 28.43% 매우 의의있게 감소하였다. mannitol은 허혈후 30분~2시간 사이 발생하는 미세순환을 개선시켜 phenytoin, MP, barbiturates의 조직내 유입을 증가시켜서 phenytoin은 Na^+K^+ -pump에 작용하여 양이온의 안정화를 유지하여 세포내 Na^+ 와 Ca^{2+} 의 증가를 억제시키고 MP는 혈액-뇌관문의 안정화를 유지시키고 동시에 부종을 경감시키고 그리고 barbiturates는 유리기 제거 및 유리지방산 과산화작용의 억제에 상승작용과 더불어 혈류분포의 개선으로 허혈부위에 혈류량을 증가시켜 Energy 대사유지 및 혐기성 대사를 개선하여 뇌조직의 세포막파괴와 뇌혈액관문 손상을 방지하여 허혈상태로 인한 비가역적 손상으로 부터 뇌를 방어하는 기전으로 풀이된다. 이군에서 MP 용량을 60mg/kg투여한 이유는 barbiturates와 phenytoin은 간의 미소체의 효소활성도를 증가시켜 부신피질 Steroid 대사를 촉진시켜 이 약제의 효과를 감소시키기 때문이었다. 그러나 cytochrome oxidase 활성치 증가 및 lipid peroxidation함량치의 감소 즉 생화학적 검사결과와 수치의 개선도와 병리조직소견의 호전도와의 상호관계들에 대하여는 본 실험만으로는 파악할 수 없어 향후 더 세부적이고 장기적인 실험을 통하여 추구해야 할 것으로 사료되며 cyclo-oxygenase를 억제하여 arachidonic acid로 부터 thromboxane A_2 생산을 억제시키는⁵⁵⁾ Indomethacin 제제, 또 lipooxygenase 억제제로 hydroperoxy acid(5 HPETE) 생산을 저하시켜 eicosanoid 합성 감소로 혈액-뇌관문의 내피세포의 Na^+K^+ -ATPase 활성을 억제시키고⁵⁶⁾, 세포막의 안정화를 도모하는 α -tocopherol⁵⁶⁾, Calcium 길항제

인 nimodipine⁵⁷⁾ 그리고 Naloxone⁵⁸⁾등의 약제들을 병합투여하여 뇌허혈로 부터 비가역적 뇌손상의 방어를 더욱 도모하고 이들 약제들의 상승작용의 기전들에 대해 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

허혈로 인한 뇌조직의 비가역적 손상은 단일과정이 아니고 일련의 단계적 과정 즉 ischemic-cascade로 진행하여 발생되므로 어떠한 단일약제만으로 뇌를 방어할 수는 없을 것으로 사료된다.

이에 저자들은 뇌허혈상태로 인하여 발생하는 ischemic-cascade 단계별로 유효한 뇌방어 약제를 병합 투여하므로써 상승작용을 도모하여 뇌를 허혈상태로 부터 방어효과를 증명하기 위하여 안와 경위법으로 고양이의 좌측 중대뇌동맥을 3시간동안 폐쇄후 2시간 재관류시킨 시험모형을 이용하여 급성 국소 뇌허혈상태를 유발시킨 후 수산기 유리기(OH) 포착 및 항부종효과가 있는 mannitol⁸⁹⁾, 혈액-뇌관문 안정화 작용⁸⁹⁾이 있는 부신피질 steroid 제제인 methylprednisolone(MP), 뇌대사율 억제¹⁰⁾, 유리기 제거 및 지방산의 과산화 억제¹¹⁻¹⁴⁾의 약리작용으로 국소 일과성허혈에 가장 유효한 약제로 알려진 Barbiturates 제제인⁸⁹⁾ Pentobarbital과 세포막 내외의 약이온들의 평형을 유지시켜¹⁵⁾¹⁶⁾ 허혈 또는 저산소증으로 부터 뇌를 방어하는 phenytoin을 병합 투여한 후 뇌사립체의 활성도를 나타내는 cytochrome oxidase 활성치 및 세포막 손상의 척도인 Lipid Peroxidation 함량의 측정을 통한 생화학적 검사와 대뇌반구의 부종, 경색면적 크기들과 경색부위의 광학현미경적 연구를 시행하여 이들의 결과를 분석, 비교, 검토하여 향후 뇌허혈성 뇌졸중 환자의 치료에 공헌하고자 본 실험을 수행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 생화학적 연구

1) Cytochrome oxidase 활성치 측정

실험대조군인 제I군의 cytochrome oxidase 활성치는 $36.09 \pm 4.01 \mu\text{mole/mg protein/hr}$ 였으며 제II군에서는 $19.33 \pm 1.49 \mu\text{moles/mg protein/hr}$ 로 제I군보다 46.44% 감소를 보였다. 제III-a군의 cyto-

chrome oxidase 활성치는 21.20 ± 2.56 μ moles/mg protein/hr, 제III-b군에서는 20.01 ± 4.17 μ moles/mg protein/hr, 그리고 제III-c군에서는 21.84 ± 4.57 μ moles/mg protein/hr로 각각 제II군보다 9.67%, 3.52% 그리고 12.98% 증가하였으나 통계적 의의는 관찰되지 않았다.

제III-d군의 cytochrome oxidase 활성치는 36.99 ± 6.33 μ moles/mg protein/hr로 제II군보다 91.36% 매우 의의있게 증가하여 실험대조군치로 회복되었다.

2) Lipid Peroxidation 함량

제1군의 lipid peroxidation 함량치는 4.69 ± 0.64 n moles/mg protein/30min 였으며, 제II군에서는 제I군보다 94.24% 증가된 9.11 ± 1.70 n moles/mg protein/30min 였고, 제III-c, a 군 및 제III-b군에서는 각각 7.47 ± 2.29 n moles/mg protein/30min, 9.05 ± 1.64 n moles/mg protein/30min로 제II군의 81.99%, 99.34%로 감소하였으나 통계적 의의는 없었다. 제III-c군과 제III-d군의 Lipid peroxidation 함량치는 각각 6.57 ± 0.82 n moles/mg protien/30min, 6.52 ± 1.14 n moles/mg protein/30min로 제II군보다 각각 27.88%, 28.43% 의의있게 감소하였다.

2. 병리조직학적 연구

1) 뇌경색 면적율

제II군에서는 뇌경색 면적율은 64.95 ± 14.81 %, 제III-a 및 제III-b군에서는 각각 53.29 ± 5.03 %, 57.19 ± 13.81 %로 제II군에 비해 각각 22.71%, 17.06% 의의있게 감소하였다. 제III-c 및 제III-d군에서는 제II군보다 각각 36.17%, 57.81% 의의있게 감소하였다.

2) 대뇌반구 부종정도

제II군에서는 뇌관상절편의 중앙면이 0.11 ± 0.03 mm 우방으로 이동하였으며, 제III-a, 제III-b 및 제III-c군들에서는 각각 0.09 ± 0.02 mm, 0.10 ± 0.03 mm 그리고 0.09 ± 0.01 mm 로서 통계적 의의는 관찰되지 않았으나, 제III-d군에서는 0.03 ± 0.01 mm로서 제II군보다 72.73%나 매우 의의있게 감소하였다.

3) 광학현미경적 소견

중대뇌동맥 3시간 폐쇄후 2시간 재관류시킨 제II군에서 신경세포손상, 신경교증, 경색과 모세혈관

및 세포주위의 부종이 심하였고 제III-a 및 제III-b군들에서는 제II군에 비해 다소 호전된 소견을 보였으며 제III-c군에서는 세포주위 및 모세혈관주위 부종은 심하나 신경세포 손상은 비교적 경하였으며 제III-d군에서는 신경세포 손상은 거의 없었으나 역시 정도의 세포 및 혈관주위 부종은 관찰되었다.

Mannitol은 허혈성 부종 조기 즉 세포독성 부종에 대하여 미세순환을 개선시켜 phenytoin, MP와 Barbiturates의 뇌조작내 유입을 증가시키고 phenytoin은 양이온의 안정화를 유지하며 MP는 혈액-뇌관문의 안정화를 유지시켜 또 Barbiturates는 유리기 제거 및 유리지방산 과산화 작용을 MP의 상승작용과 더불어 혈류의 분포개선으로 허혈부위에 혈류량을 증가시키는 기전에 의한 것으로 사료된다.

향후 본 실험결과를 토대로 임상에서 허혈성 뇌졸중 환자 또는 뇌혈관 일시 폐쇄를 요하는 뇌혈관 수술시 응용될 수 있도록 보다 더 장기적이고 세부적인 실험이 이루어져야 할 것으로 사료되는 바이다.

REFERENCES

- 1) Suzuki J : *Experimental and clinical study. Treatment of cerebral infarction. Wien, New York, Spprigger-Verlar 1987 ; 158*
- 2) Dujovny M, Osgood CP, Barrionuevo PJ, et al : *Middle cerebral artery microneurosurgical embolectomy. Surgery 80 : 336-399, 1976*
- 3) Sundt TM, Grant WC, Garcia HJ : *Restoration of middle cerebral artery flow in experimental infarction. J Neurosurg 1969 ; 31 : 311-322*
- 4) Crowell RM, Olsson Y : *Effect of extracranial vascular bypass graft on experimental acute stroke in dogs. J Neurosurg 1973 ; 38 : 26-31*
- 5) Lawner PM, Simeone FA : *Treatment of intraoperative middle cerebral occlusion with phenobarbital and extracranial-intracranial bypass. Case report. J Neurosurg 1979 ; 51 : 710-712*
- 6) Suzuki J, Yoshimoto T, Kodama N : *A new therapeutic method for acute brain infarction : revascularization following the administration of mannitol and perfluorochemicals-a preliminary report. Surg Neurol 1982 ; 17 : 325-332*

- 7) Wood JH : *Hypovolemic hemodilution : rheologic therapy for acute cerebral ischemia. Contemp neurosurg* 1982 ; 4 : 1-6
- 8) Spetzler RF, Nehls DG : *Cerebral protection against ischemia. Cerebral Blood Flow. Editor Wood JH, McGraw-Hill Book Co. 1987 ; 651-676*
- 9) Suzuki J : *Experimental and clinical study. Treatment of cerebral infarction. Wien, New York, Springer-verlar* 1987 ; 102-202
- 10) Kassell NF, Hitchon PW, Gerk MK, Sokoll MD, Hill TR : *Alterations in cerebral blood flow, oxygen metabolism, and electrical activity produced by high dose sodium thiopental, Neurosurgery* 1980 ; 7 : 598-603
- 11) Butterfield JD, McGraw CP : *Free radical pathology. Stroke* 1978 ; 9 : 443-445
- 12) Demopoulos HB : *Control of free radicals in biologic systems. Fed Proc* 1973 ; 32 : 1903-1908
- 13) Demopoulos HB : *The basis of free radical pathology. Fed Proc* 1973 ; 32 : 1859-1861
- 14) Demopoulos HB, Flamm ES, Scligman ML, Jorgensen E, Ransohoff J : *Antioxidant effects of barbiturates in model membranes undergoing free radical damage. Acta Neurol Scan* 1977 ; 56 : 152-153
- 15) Grane P, Swanson P : *Diphenylhydantoin and the cations and phosphates of electrically stimulated brain slices. Neurology* 1970 ; 20 : 1119-1123
- 16) Nehls DG, Gaines C, Crowell RW : *Effects of naloxone in the treatment of experimental stroke in awake monkeys. Stroke* 1983 ; 14 : 6
- 17) Hess HH, Pope A : *Ultramicrospectrophotometric determination of cytochrome oxidase for quantitative histochemistry. J Biol Chem* 1953 ; 204 : 295-306
- 18) Klatzo I : *Neuropathological aspects of brain edema (presidential address). J Neuropatbol Exp Neurol* 1967 ; 26 : 1-14
- 19) Ames AIII, Wright RI, Kowada MD, Thurston JM, Majno G : *Cerebral ischemia : II. The no-reflow phenomenon. Am J Patbol* 1968 ; 52 : 437-453
- 20) Little JR, Cook A, Cook SA, MacIntyre WJ : *Microcirculatory obstruction in focal cerebral ischemia : Albumin and erythrocyte transit. Stroke* 1981 ; 12 : 218-223
- 21) Watanabe T, Yoshimoto T, Tanaka S : *Ultrastructural observation of infarction changes of cerebral tissue in dog-I. Neuronal alterations. Neurol Med Chir. Tokyo, 1979 ; 19 : 279-285*
- 22) Watanabe T, Yoshimoto T, Koshu K : *Ultrastructural observation on the infarcted sequential changes in the cerebral tissue of dog-II. Changes in small vessels. Neurol Med Chir. Tokyo ; 19 : 811-816*
- 23) Suzuki J : *Experimental and clinical study. Treatment of cerebral infarction. Wien, New York, Spirnger-Verlag* 1987 ; 22-53
- 24) Levinthal R, Mosley JI, Brown WG, Stern WE : *Effect of STA-MCA anastomosis on the course of experimental acute MCA embolic occlusion. Stroke* 1979 ; 10 : 371-375
- 25) Diaz FG, Mastro AR, Ausman JI, Chou SN : *Acute cerebral revascularization after regional cerebral ischemia in the dog. Part II : Clinical pathological correlation. J Neurosurg* 1979 ; 51 : 644-653
- 26) Sundt TM, Michenfelder JD : *Focal transient cerebral ischemia in the squirrel monkey. Effect on brain adenosine triphosphate and lactate levels with electrocorticographic and pathologic correlation. Cire Res* 1972 ; 30 : 703-712
- 27) Siesjö BK : *Cell damage in the brain : A speculative synthesis. J Cereb Blood Flow Metab* 1981 ; 1 : 155-185
- 28) Chan PH, Fishman RA : *Brain edema : Induction in cortical slices by polyunsaturated fatty acids. Science* 1978 ; 201 : 3558-360
- 29) Kalimo H, Rehncrona S, Söderfeldt B, Olsson Y, Siesjö BK : *Brain lactic acidosis and ischemic cell damage : 2. Histopathology. J Cereb Blood Flow Metab* 1981 ; 1 : 313-327
- 30) Nordström CH, Siesjö BK : *Effects of phenobarbital in cerebral ischemia. part I : Cerebral energy metabolism during pronounced incomplete ischemia. Stroke* 1978 ; 9 : 327-335
- 31) Nordström CH, Rehncrona S, Siesjö BK : *Res-*

- titution of cerebral energy state, as well as of glycolytic metabolism and associated aminoacids after 30 min of complete ischemia in rats anesthetized with nitrous oxide or phenobarbital. J Neurochem 1978 ; 30 : 479-486*
- 32) Demopoulous HB, Milvy P, Kakari S : *Molecular aspect of membrane structure in cerebral edema. In : Reulen HJ, Schurmann K : Steroid and brain edema. Springer. Berlin Heidelberg. New York, 1972 ; 20-39*
 - 33) Hass WK : *The cerebral ischemic cascade. Neurol clin 1983 ; 1 : 345-353*
 - 34) Cantu RC, Ames AIII : *Experimental prevention of cerebral vasculature obstruction produced by ischemia. J Neurosurg 1969 ; 30 : 50-554*
 - 35) Levy K, Fenstel P, Severinghaus J, Hosobuchi Y : *Effect of naloxone on neurologic deficit and blood flow during focal cerebral ischemia in cats. Life Sci 1982 ; 31 : 2205-2208*
 - 36) Crowell RM, Olsson Y : *Impaired microvascular filling after focal cerebral ischemia in the monkey. Modification by treatment. Neurology 1972 ; 22 : 500-504*
 - 37) Buke AM, Quest DO, Chien S, Cerri C : *The effects of mannitol on blood viscosity. J Neurosurg 1981 ; 55 : 550-553*
 - 38) Dillard CJ, Kunert KJ, Tappel AL : *The effect of vitamin E, ascorbic acid and mannitol on alloxan-induced lipid peroxidation in rats. Arch Biochem Biophys 1971 ; 216 : 204-212*
 - 39) Suzuki J : *Experimental and clinical study. Treatment of cerebral infarction. Wien, New York, Springer-Verlag 1987 ; 89-101*
 - 40) Chan FH, Fishman RA : *Phospholipid degradation and the early release of polyunsaturated fatty acid in the resolution of brain edema. In : Go KG : Recent progress in the study and therapy of brain edema. Plenum. New York, London, 1984 ; 194-203*
 - 41) Patten BM, Mendell J, Bruun B, Curtin W, Carter S : *Double-blind study of the effects of dexamethasone on acute stroke. Neurology 1972 ; 22 : 377-383*
 - 42) Norris JW : *Steroid therapy in acute cerebral infarction. Arch Neurol 1976 ; 33 : 69-71*
 - 43) Escueta AV, Appel SH : *Brain synapses : A *in vitro* model for the study of seizures. Arch Intern med 1972 ; 129 : 333-344*
 - 44) Pincus JH, Grove I, Marino BB, Glaser GF : *Studies on the mechanism of action of diphenylhydantoin. Arch Neurol 1970 ; 22 : 566-571*
 - 45) Branston NM, Hope DT, Symon L : *Barbiturates in focal ischemia of primate cortex : Effects on blood flow distribution, evoked potential and extracellular potassium. Stroke 1979 ; 10 : 647-653*
 - 46) Pierce EC, Lambertsen CJ, Deutsch S, Chase PE, Linde HW, Dripps RD, Price HL : *Cerebral circulation.*
 - 47) Michenfelder JD : *The interdependency of cerebral functional and metabolic effects following massive doses of thiopental in the dog. Anesthesiology 1974 ; 41 : 231-236*
 - 48) Rockoff MA, Marshall LF, Shapiro HM : *High-dose barbiturate therapy in humans : A clinical review of 60 patients. Ann Neurol 1979 ; 6 : 194-199*
 - 49) Selman WR, Spetzler RF, Roessmann UR, Rosenblatt JI, Crumrine RC : *Barbiturate-induced coma therapy for focal cerebral ischemia. Effect after temporary and permanent MCA occlusion. J Neurosurg 1981 ; 55 : 220-226*
 - 50) Selman WR, Spetzler RF, Roski RA, Rocsmann U, Crumrine R, Macko R : *Barbiturate coma in focal cerebral ischemia. Relationship of protection to timing of therapy. J Neurosurg 1982 ; 56 : 685-690*
 - 51) O'Brien MD, Jordan MM, Waltz AG : *Ischemic cerebral edema and the blood-brain barrier. Distributions of pertechnetate, albumin, sodium, and antipyrine in brains of cats after occlusion of the middle cerebral artery. Arch Neurol 1974 ; 30 : 461-465*
 - 52) O'Brien MD, Waltz AG, Jordan MM : *Ischemic cerebral edema. Distribution of water in brains of cats after occlusion of the middle cerebral ar-*

- tery. *Arch Neurol* 1974 ; 30 : 456-460
- 53) Michenfelder JD, Milde JH, Sundt TM : *Cerebral protection by barbiturate anesthesia. Use after middle cerebral artery occlusion in java monkeys. Arch Neurol* 1976 ; 33 : 345-350
- 54) Nehls DG, Todd MM, Spetzler RF, Drummond JC, Thompson R, Johnson P : *A comparison of the protective effects of isoflurane and barbiturates in a primate model of temporary cerebral ischemia. Anesthesiology* 1987
- 55) Iannotti F, Crockard A, Ladds G, Symon L : *Are prostaglandins involved in experimental ischemic edema in gerbils. Stroke* 1981 ; 12 : 301-306
- 56) Sano K, Takao A, Akira T : *Acute aneurysm surgery. Wien. New York. Sprsnger-Verlag, 1987 ; 94-125*
- 57) Steen PA, Neberg LA, Milde JH, Michenfelder JD : *Nimopidine improves cerebral blood flow and neurologic recovery after complete global ischemia in the dog. J Cereb Blood flow Metab* 1983 ; 3 : 38-43
- 58) Zabramski JM : *Naloxone therapy during focal cerebral ischemia : Evaluation in a primate model. Stroke* 1984 ; 15 : 621-627