

Aus dem Pathologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf  
(Direktor: Prof. Dr. med. H. MEESSEN)

## **Das morphologische Bild der Nervenzellen bei Ischämie und unter zusätzlicher Einwirkung von Kaliumcitrat nach Untersuchungen am Kaninchengehirn\***

Von

**D. PAPADIMITRIOU**

Mit 5 Textabbildungen in 16 Einzeldarstellungen

*(Eingegangen am 30. August 1960)*

Nach Untersuchungen von LÖHR, MEESSEN und POCHE am Hundeherzen sind die Zellen des Herzmuskels, welche 40 min nach einem Herzstillstand durch Injektion von Kaliumcitrat in die Coronararterien entnommen werden, ebenso gut erhalten wie aus dem schlagenden Herzen entnommenes frisch fixiertes Gewebe. Angeregt durch diese Befunde haben wir gezeigt, daß auch am Gehirn der Ratte nach Injektion von Kaliumcitrat in den Gehirnkreislauf bis zum Herzstillstand die normalen Zellstrukturen histologisch besser erhalten sind als bei Kontrollen. Diese strukturerhaltende Wirkung von Kaliumcitrat ist auch noch sichtbar, wenn die Gehirne zwischen Kaliumcitrat-Injektion und Formalin-Fixierung 2 Std bei 37° aufbewahrt werden.

Diese histologisch faßbare Wirkung des Kaliumcitrat soll über eine starke Hemmung des Tätigkeitsstoffwechsels und der autolytischen Vorgänge zustande kommen (PAPADIMITRIOU). Am Herzen ist eine solche Stoffwechselhemmung auch gefunden worden, wenn es durch Kaliumcitrat (JESSEPH u. Mitarb.) oder auch durch Kaliumchlorid (BING) zum Stillstand gebracht worden war. Sowohl am Herzen wie auch am Gehirn ist diese Stoffwechselhemmung vermutlich verursacht durch eine starke Veränderung in der Zusammensetzung der extracellulären Flüssigkeit, nämlich eine Steigerung der Kalium-Konzentration und eine Abnahme des ionisierten Calcium durch Komplexbildung mit Citrat. Von beiden Veränderungen ist bekannt, daß sie an erregbaren Strukturen die Ruhe- und Aktionspotentiale herabsetzen (SHANES).

In der vorliegenden Arbeit benutzten wir am Kaninchen die gleiche Kaliumcitrat-Konzentration wie in den früheren Rattenversuchen und prüften an Hand des Elektroencephalogrammes (EEG), ob Kaliumcitratperfusion unter diesen Bedingungen lähmend wirkte. Zum Vergleich untersuchten wir die lähmende Wirkung einer einfachen Ischämie von der Dauer der Kaliumcitratperfusion. Um den Grad der Lähmungen zu messen, bestimmten wir die Erholungslatenz (OPITZ u. Mitarb.), d. h. die Zeit nach Ende der Perfusion bzw. der Ischämie bei normaler Durchblutung bis zum ersten Wiederauftreten von elektrischer Hirnaktivität. Da es nach Kaliumcitratperfusion während kurzdauernder Unterbrechung des Hirnkreislaufes zu einer starken Verlängerung der Erholungs-

---

\* Die Ergebnisse wurden auf der Tagung der Arbeitsgemeinschaft der Rheinisch-Westfälischen Pathologen am 23. 1. 60 in Essen im Auszug vorgetragen.

latenz, verglichen mit einfacher Ischämie, kam, haben wir eine entsprechend lange Erholungslatenz auch durch reine Ischämie erzeugt. Sowohl in den Kaliumcitrat-Versuchen, als auch in den Versuchen, in welchen die Ischämie so ausgedehnt wurde, daß die Erholungslatenz der Kaliumcitrat-Versuche etwa entsprach, wurden die Gehirne in situ für eine gleich lange Zeit wieder durchblutet, anschließend entnommen, in Formalin fixiert und morphologisch untersucht. Auf diese Weise sollte festgestellt werden, ob auch bei unseren jetzigen Versuchen die früher gefundene strukturstabilisierende Kaliumcitrat-Wirkung vorhanden war.

### Methodik<sup>1</sup>

Für die Versuche verwandten wir 9 Kaninchen, männliche und weibliche, im Gewicht zwischen 3,0 und 4,1 kg, die in flacher Narkose mit Evipan-Natrium (Anfangsdosis 50 mg/kg, bei weiterem Bedarf jeweils 25 mg/kg) operiert wurden. Zunächst wurden beide Aa. carotides comm. und Vv. jugulares freigelegt und angeschlungen. Die Tiere wurden über eine Trachealkanüle künstlich beatmet. Beide Aa. vertebrales haben wir nahe ihrem Abgang aus dem Aa. axillares unterbunden. Wirbelsäule und Rückenmark wurden zwischen C<sub>3</sub> und C<sub>4</sub> durchtrennt; die dabei auftretenden Blutungen konnten mit Plastilin gestillt werden. Caudal von der Trennstelle umschloß eine feste Ligatur den Hals unter Ausschluß der freigelegten Gefäße und der Lufttröhre. Das EEG registrierten wir mit einem Schwarzer-Elektroencephalographen<sup>2</sup> beiderseits parietal bipolar. Nach Durchtrennung von Wirbelsäule und Rückenmark war zur Aufrechterhaltung des Blutdruckes, der mit einem Kondensatormanometer in einer A. femoralis kontrolliert wurde, eine Dauerinfusion von Noradrenalin (2–8 µg/kg und min intravenös) erforderlich. Der arterielle Mitteldruck unterschritt dabei nie 60 mm Hg. Nur an so präparierten Kaninchen erlöschten nach Abklemmung der Aa. carotides die in EEG registrierten Gehirnpotentiale; wurden die Wirbelsäule und das Rückenmark nicht durchtrennt, so reichte die Blutversorgung auf diesem Wege auch nach Abklemmung der Aa. carotides noch aus, so daß das EEG unverändert erhalten blieb.

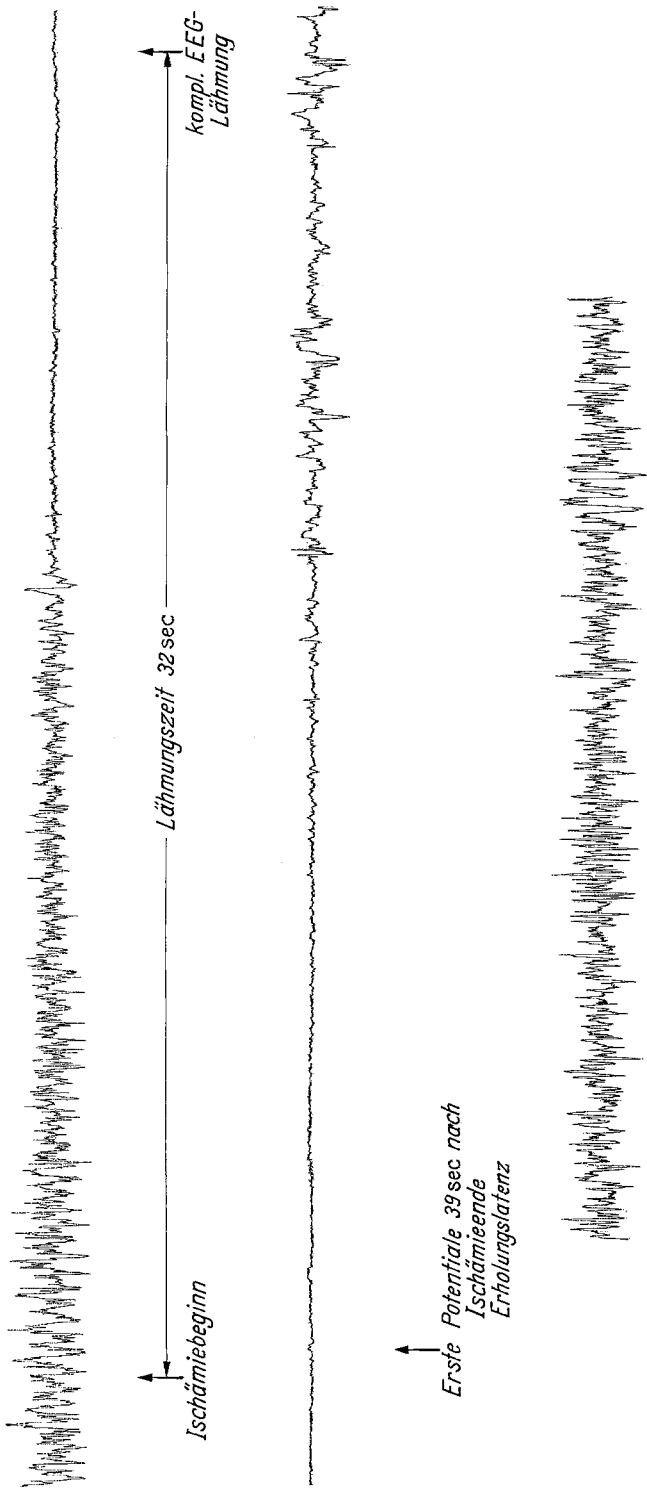
In den Versuchen mit Kaliumcitrat wurden sofort nach Abklemmen beider Aa. carott. und Vv. jugulares 20 ml einer 5%igen Kaliumcitratlösung ( $K_3(C_6H_5O_7) + H_2O$ ) in eine A. carot. hirnwärts injiziert; gleichzeitig wurde eine V. jugul. oberhalb der Abklemmung durch Scherenschlag eröffnet. Am Ende der Perfusion strömte aus der eröffneten V. jugul. blutfreie Kaliumcitratlösung. Nach Unterbrechung des Hirnkreislaufes während 100 sec wurden beide Aa. carotides freigegeben, die nicht eröffnete V. jugul. erst dann, wenn aus der eröffneten wieder reines Blut ausfloß; danach wurde die eröffnete Vene abgeklemmt.

Das EEG wurde jeweils von 2 min vor der Unterbrechung des Hirnkreislaufes bis zur Erholung bzw. 35–40 min lang (bei Ischämie von 10 min Dauer und nach Perfusion mit Kaliumcitrat) fortlaufend registriert. Bei der Beurteilung der Lähmungszeit (von Beginn der Kreislaufunterbrechung bis zum Verschwinden der EEG-Potentiale) und der Erholungslatenz (Zeit nach Wiederherstellung der arteriellen Blutzufuhr bis zum ersten Wiederauftreten von EEG-Potentialen) richteten wir uns nach den Kriterien von OPRITZ u. Mitarb. Die Wirkung einer Ischämie von 70 und 100 sec Dauer wurde beim selben Tier unter Umständen mehrfach im Abstand von mindestens 15 min, die Wirkung von Kaliumcitrat oder einer Ischämie von 10 min Dauer einmal am Versuchsende untersucht.

Nach Einwirkung von Kaliumcitrat oder nach einer Ischämie von 10 min Dauer wurden die Tiere 35–40 min nach Wiederherstellung der arteriellen Blutzufuhr (Manifestationszeit) getötet. Fünf Minuten nach Ende des Versuches war das Gehirn herauspräpariert, wurde in 10%igem Formalin in toto eingelegt und 12 Std später durch Frontalschnitte in 5 gleichdicke Teile zerlegt. Diese wurden dann für weitere 24 Std in 10%igem Formalin fixiert. Die Gehirnböcke wurden in Paraffin eingebettet und aus jedem Block in Stufen 18–20 µ

<sup>1</sup> Für die Hilfe bei der Operation und Abnahme des Elektroencephalogramms, sowie für die Beurteilung und Wertung der Kurven bin ich Herrn Priv.-Doz. Dr. OBERDORF vom Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie (Direktor: Prof. Dr. F. HAHN) zu großem Dank verpflichtet.

<sup>2</sup> Für die Überlassung des Gerätes bin ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft zu Dank verpflichtet.



EEG 4min nach Ischämieende  
Abb. 1. EEG bei Unterbrechung des Hirnkreislaufes für 100 sec

dicke Frontalschnitte angefertigt. Die Präparate wurden mit Hämatoxylin-Eosin, Kresylviolett und mit Luxolblau gefärbt; außerdem machten wir die Gallocyanin-Chromalaun-Färbung nach EINARSON, die Bestsche Glykogenfärbung, die Sudan-Schwarz- und die PAS-Reaktion.

### Befunde

I. EEG-Befunde nach reiner Ischämie und nach Perfusion mit Kaliumcitrat und Ischämie.

Wie aus der beigefügten Tabelle 1 sowie aus Abb. 1 hervorgeht, verschwinden im EEG bei Unterbrechung des Hirnkreislaufes die Zeichen elektrischer Hirntätigkeit in kurzer Zeit völlig (Lähmungszeit nach OPITZ u. Mitarb.). Wir haben die von uns gefundenen Lähmungszeiten bei Ischämien von 70, 100 und 600 sec Dauer zusammen in die Tabelle aufgenommen. Aus 24 Ischämieversuchen an 9 Tieren ergab sich eine mittlere Lähmungszeit von 37,5 sec.

Die Erholungslatenz, d. h. die Zeit nach Wiederfreigabe des Hirnkreislaufes bis zum ersten Sichtbarwerden erneuter EEG-Aktivität, ist in hohem Maße abhängig von der Dauer der Ischämie. Bei einer Ischämiedauer von 70 sec, die wir an 6 Tieren 10mal prüften, dauerte die Erholungslatenz 11–34, im Mittel 16 sec. Diese mit unserer Versuchsanordnung gewonnenen Werte zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Werten, die OPITZ u. KREUTZER nach Ischämien durch Aufblasen einer Halsmanschette am Kaninchen erhielten. Die Erholungslatenz betrug bei ihnen nach Ischämie von 70 sec im Mittel 15,2 sec. Bei einer Ischämie von 100 sec Dauer (Abb. 1), die wir in 5 Versuchen 11mal prüften, betrug die Erholungslatenz im Mittel 27,8 sec. Der niedrigste Wert lag bei 21, der höchste bei 39 sec.

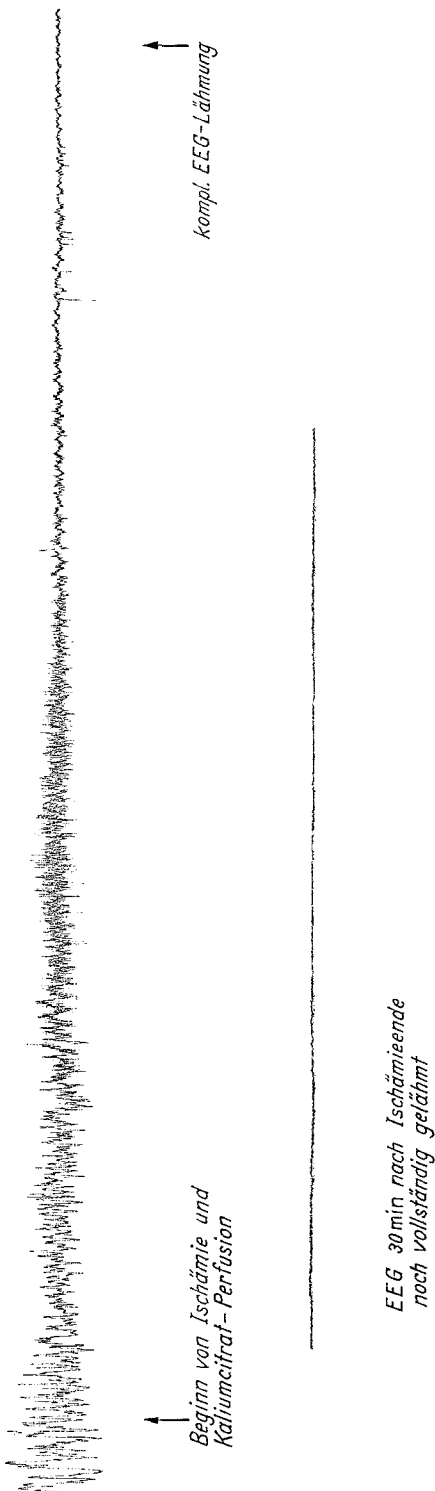


Abb. 2. EEG bei Unterbrechung des Hirnkreislaufes für 100 sec und Perfusion von 20 ml 5 % iger Kaliumcitratlösung über eine A. carotis communis

Bei unseren Perfusionen mit Kaliumcitrat, die jeweils den Hirnkreislauf für 100 sec unterbrechen (in 5 Versuchen 5mal, Versuche 1, 3, 4, 8 und 9), konnte immer eine starke Verlängerung der Erholungslatenz festgestellt werden (s. Tabelle 1 und Abb. 2); in 3 der 5 Versuche wurde die von uns gewählte Manifestationszeit von 35—40 min überschritten; EEG-Potentiale traten dann nicht wieder auf.

Tabelle 1

Versuchs-Nr.	Erholungslatenzen in sec bei				
	Lähmungszeiten bei Ischämie sec	Ischämie 70 sec	Ischämie 100 sec	Kaliumcitrat-perfusion innerhalb 100 sec	Ischämie 10 min
1	41 42 42 31 34	12 14	27 27 23	900 (15 min) <sup>1</sup>	
2	39 42 32 30	18 13	31 32		
3	37 42 32 36	19	21 39 36	1800 (30 min) <sup>1</sup>	
4	27	34		2400 (40 min) <sup>1</sup>	
5	26 43 40 42 35	16 13	22 22		1800 (30 min) <sup>1</sup>
6	42				1200 (20 min) <sup>1</sup>
7	39				1200 (20 min) <sup>1</sup>
8	44		26	160 <sup>1</sup>	
9	38 43	11 12		2400 (40 min) <sup>1</sup>	
$m =$	37,5	16,2	27,8		

<sup>1</sup> Während der Manifestationszeit keine Normalisierung der Hirnpotentiale.

Die Perfusion mit Kaliumcitrat in der verwendeten Konzentration verstärkt also die Wirkung einer reinen Ischämie erheblich. Eine etwa gleich lange Erholungslatenz konnten wir durch reine Ischämie erzielen, wenn der Gehirnkreislauf 10 min lang unterbrochen wurde. In den 3 Versuchen dieser Art fanden wir eine Erholungslatenz von 20 und 30 min. Während der gewählten Manifestationszeit von 35—40 min kam es nicht mehr zu einer Normalisierung der Hirnpotentiale. Ischämien von länger als 10 min Dauer haben wir nicht untersucht, da bekannt ist, daß nach Ischämie von 8—9 min Dauer die Versuchstiere in kurzer Zeit sterben (WEINBERGER u. Mitarb.). In den Versuchen entspricht also der Grad der

EEG-Lähmung durch Kaliumcitrat dem einer schweren Ischämie mit tödlichem Ausgang.

II. Morphologische Befunde nach reiner Ischämie und nach Perfusion mit Kaliumcitrat und Ischämie.

Bei den Experimenten mit reiner Ischämie wurden die Gehirne der Versuche 5, 6 und 7 histologisch geprüft. Der makroskopische Gehirnbefund war auch hier unauffällig.

Nach einer temporären Ischämie des Kaninchengehirns von 10 min und einer Manifestationszeit von über 35—40 min nach Wiederherstellung des Kreislaufes sind die meisten Nervenzellen eindeutig geschädigt, jedoch nicht gleichmäßig betroffen, so daß eine gewisse Abstufung der Veränderungen zu erkennen ist. In der Rinde sind am stärksten die 2., insbesondere aber die 3. und 5. Schicht betroffen. Das Ammonshorn, die Ganglia geniculata, das Zwischenhirn, die Purkinje-Zellen und Zellen der Medulla oblongata sind ebenfalls beteiligt. Innerhalb eines Kerngebietes scheinen die Nervenzellen nicht gleich vulnerabel zu sein. Die mittleren „motorischen“ Zellen der *Formatio reticularis* sind z. B. stärker verändert als die großen Zellformen. Die schwerste Veränderung besteht in einer vollkommenen Tigrolyse; die Nisslsubstanz ist in eine „staubförmige“ bis homogene, den ganzen Zellkörper füllende Masse umgewandelt. Innerhalb eines vulnerablen Griseums, z. B. am Ammonshorn, zeigen weniger geschädigte Zellen an Stelle der Nisslschollen grobe und feinste Körnchen, die sich mit Kresylviolett dunkel darstellen lassen. Der Zellkörper ist im allgemeinen voluminöser und gleichmäßig dunkler als normal angefärbt. Die Auflösung der Nisslsubstanz erfaßt auch die Dendriten, die an ihrem Ausgangspunkt dicker, in ihrem weiteren Verlauf dünner als normal erscheinen. In einzelnen Nervenzellen aus den Stammganglien oder auch aus dem N. Schwalbe, N. Tr. solitarii haben wir auch intracelluläre Vacuolen beobachtet. Der Zellkern hat meist noch eine normale Größe; eine leichte Hyperchromatose des Kernes kommt vor.

Bei den Experimenten mit Kaliumcitrat wurden die Gehirne der Versuche 3, 4, 8 und 9 bearbeitet. Makroskopisch konnte an diesen Gehirnen keine Besonderheit beobachtet werden. Die histologische Untersuchung der Gehirne aus den Versuchen 3, 4 und 9 ergab folgende übereinstimmenden Befunde:

Die Nervenzellen sämtlicher Grisea und verschiedene Zellarten zeigen eine gut erhaltene Gestalt und ein völlig normales „Äquivalentbild“. Der Kern ist meist kugelig, die Kernmembran dünn und gut gespannt. In dem zarten Chromatingerüst liegt ein gut abgegrenztes, manchmal mit einer Vacuole versehenes Kernkörperchen. Die Nisslschollen des Cytoplasmas zeigen regelrechte Größe, Anordnung und Färbbarkeit. In den Abb. 3 und 4 sind die Befunde aus der Rinde, aus dem Ammonshorn, von den Purkinje-Zellen des Kleinhirns und von „motorischen“ Zellen der *Formatio reticularis* des Rautenhirns zusammengestellt. Nur einige „karyochrome“ Zellen und einige Purkinje-Zellen weichen von dem typischen Bild etwas ab. Das Cytoplasma ist bei diesen Zellen etwas zusammengezogen, so daß zwischen ihm und der dem umgebenden Gewebe anhaftenden Zellmembran eine kleine Spalte erscheint, so daß an eine endocelluläre Ödembildung gedacht werden könnte. Die Markscheiden lassen im Luxolblaupräparat keine Quellung oder Auflösung erkennen. Auch die Gliazellen weichen im Kresylviolettpräparat nicht von der normalen Struktur ab. Die Gefäße sind

überall von regelrechter Struktur und Breite und zeigen keine auffallende Füllung mit Blut.

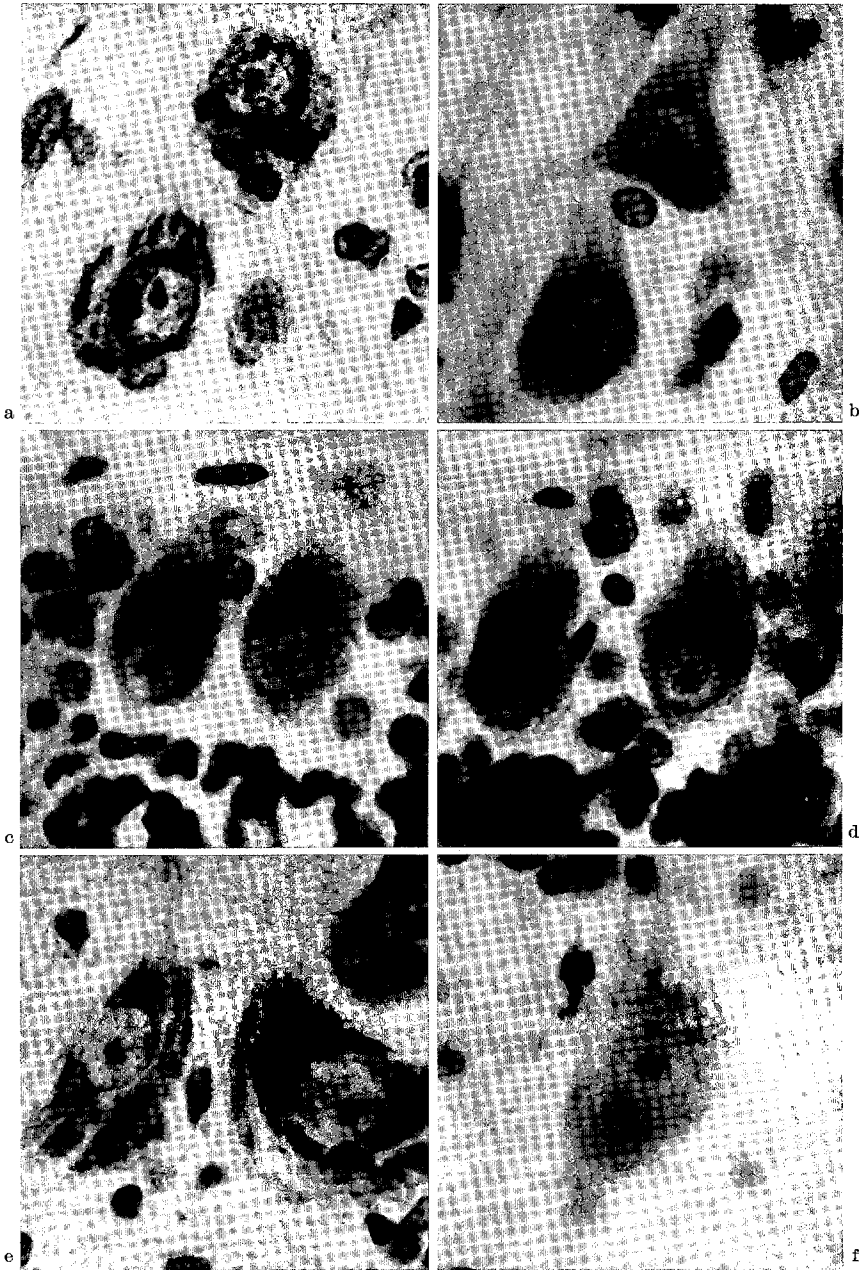


Abb. 3. a Gut erhaltene Pyramidenzellen aus der Area praecentralis des mit Kaliumcitrat perfundierten Gehirnes des Versuches 3. b Veränderte Pyramidenzellen der gleichen Region nach Ischämie aus Versuch 5. c Unveränderte Purkinje-Zellen nach Injektion von Kaliumcitrat aus dem Versuch 4. d Auflösung der Nissl-Schollen von Purkinje-Zellen nach Ischämie aus dem Versuch 6. e Guterhaltene motorische Nervenzellen der Formatio reticularis der Medulla oblongata nach Kaliumcitrat aus dem Versuch 9. f Veränderte Nervenzellen der gleichen Region nach Ischämie aus dem Versuch 7.

Kresylviolett 825  $\times$

Die Präparate aus Versuch 8 weichen von den oben beschriebenen Befunden etwas ab. Zwar sind alle Grisea gut erhalten, die Nissl-Substanz ist jedoch etwas

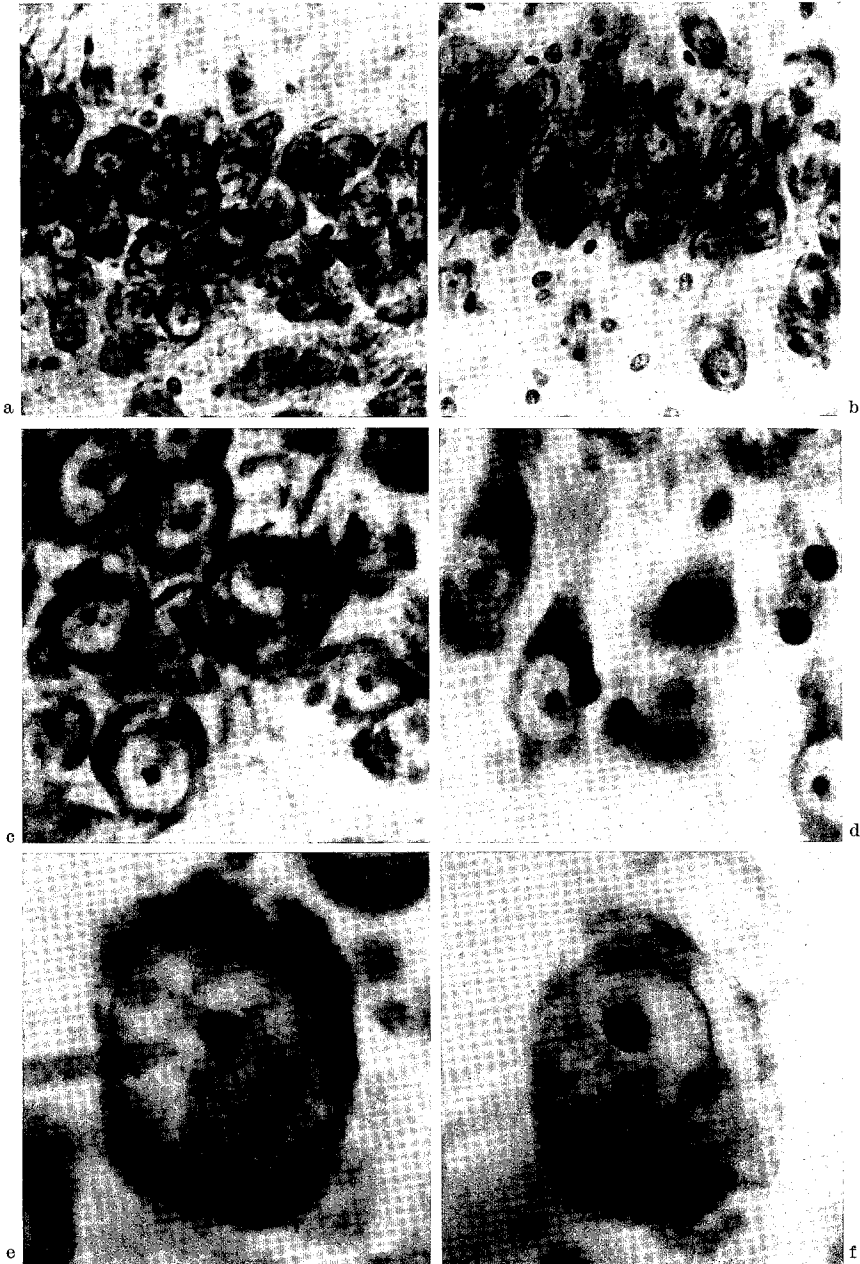


Abb. 4a—f. Nervenzellen des Ammonshorn nach Kaliumcitrat (a, c, e) aus Versuch 4; Auflösung der Nissl-Schollen der Nervenzellen des Ammonshorn nach Ischämie (b, d, f) aus Versuch 6. Kresylviolett

unschärfer begrenzt. Viele Zellen, z. B. „Pyramidenzellen“ und „Purkinjezellen“, sind auch etwas voluminöser als in den Präparaten der Gehirne 3, 4 und 9.



Die Befunde nach reiner Ischämie sind in den Abb. 3 und 4 denen nach Infusion von Kaliumcitrat und gleichlanger Ischämie und gleicher Manifestationszeit aus den entsprechenden Gehirnstellen und Formen gegenübergestellt. Im Luxolblaupräparat ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den Tieren, die mit Kaliumcitrat perfundiert oder Kontrollen, die üblicherweise in Formalin fixiert waren. Auch die gliösen Elemente des Gehirns waren unauffällig; eine

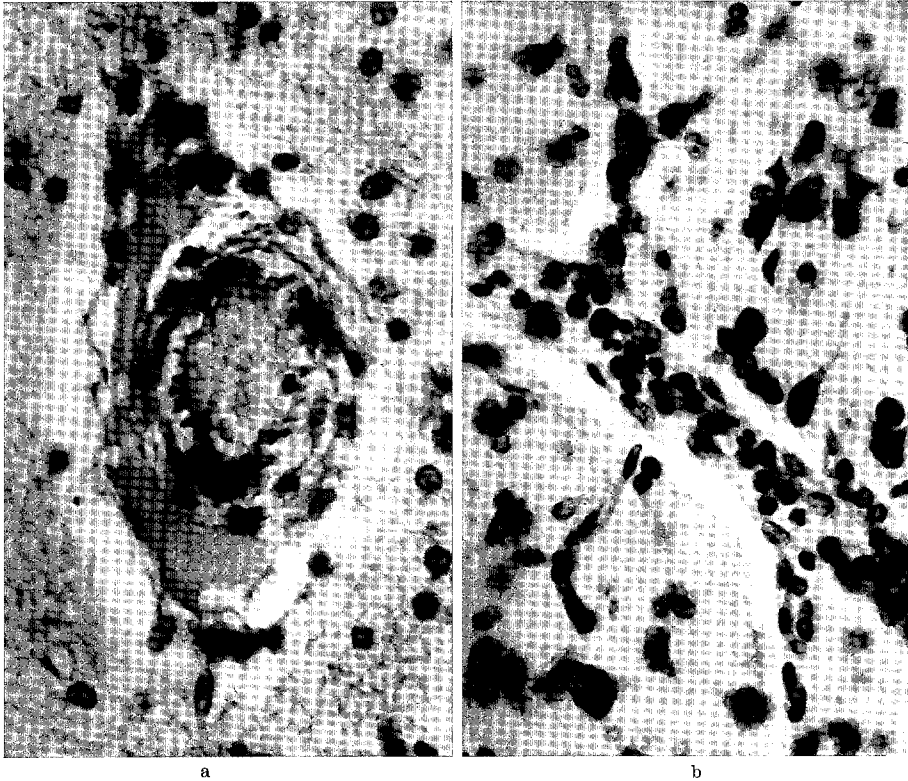


Abb. 5. a Plasmareiches perivaskuläres Ödem um eine Arteriole nach Ischämie aus Versuch 7.  
b Stark dilatierte Capillare mit vielen Leukocyten nach Ischämie aus Versuch 3. Kresylviolett

Schädigung der Glia war nicht festzustellen. Die Gefäße waren bei allen 3 Gehirnen stark dilatiert und mit Blut überfüllt (Abb. 5). Sie enthielten oft viele Lymphocyten und gelapptkernige Leukocyten. Die Gefäße waren oft von eiweißreichem Ödem umflossen; Leukocyten waren aber nicht ausgetreten. In der Nachbarschaft der von Plasma umgebenen Gefäße erscheint das Gewebe aufgelockert, auch hat man den Eindruck, daß in diesen Bezirken die Zellveränderungen besonders intensiv sind.

#### Erörterung der Befunde

Unsere Versuche haben gezeigt, daß durch eine Perfusion des Kaninchenhirns mit 5%iger Kaliumcitratlösung die Wirkung einer Ischämie entsprechender Dauer auf die Erholungslatenz erheblich verstärkt wird. Kaliumcitrat wirkt also zusätzlich lähmend. Über die Ursachen und den Mechanismus dieser Wirkung erlauben unsere Versuche keine endgültigen Aussagen. Es ist jedoch wahrschein-

lich, daß die Kaliumcitratlähmung einerseits auf einer Erhöhung der extracellulären Kaliumkonzentration beruht, die z. B. an der neuromuskulären Übertragung (OVERTON, LOCKE, FLECKENSTEIN u. Mitarb.) und am Skelettmuskel (FLECKENSTEIN u. HERTEL) eine Abnahme der Erregbarkeit verursacht, andererseits durch Entionisierung von Calcium und anderer Ionen, die durch Citrat herbeigeführt sein dürfte.

Als Folge der an der Erholungslatenz faßbaren Lähmung kommt es wahrscheinlich zu einer starken Abnahme des Sauerstoffverbrauches auch des Gehirns; am Herzen ist von BING bei Stillstand durch Kaliumchlorid und von JESSEPH u. Mitarb. bei Stillstand durch Kaliumcitrat eine starke Abnahme des  $O_2$ -Verbrauches festgestellt worden.

Der Grad der EEG-Lähmung durch Kaliumcitrat entspricht in unserem Versuch etwa dem einer reinen Ischämie von 10 min Dauer. Eine solche Ischämie führt nach den Erfahrungen anderer Autoren (WEINBERGER u. Mitarb.; GÄNSHIRT, DRANSFELD u. ZYLKA) schnell zum Tode der Versuchstiere. Es ist jedoch möglich, daß der verlängerten Erholungslatenz nach Perfusion mit Kaliumcitrat nicht so unbedingt zum Absterben der Nervenzellen führt wie eine reine Ischämie von 10 min Dauer. Am Herzen erlaubt die Lähmung mit Kaliumchlorid oder -citrat trotz der langen Unterbrechung der Blutversorgung eine Wiederbelebung. Ob am Zentralnervensystem Wiederbelebungen in entsprechender Weise erreicht werden können, ist noch ungeklärt.

Die von uns beobachteten morphologischen Veränderungen könnten den Initialstadien der elektiven Parenchymnekrosen und der „akuten Zellerkrankung“ NISSLS entsprechen. SPIELMEYER hat 1921 die Charakteristika dieser Zellschädigung eingehend beschrieben. Es kommt zur Schwellung der Zellkörper und zur Auflösung oder körnigen Umwandlung der Nissl-Substanz und Färbung der ungefärbten Bahnen. Der Kern kann ein wenig an Größe verlieren, zeigt aber unter Umständen stärkere Färbbarkeit. Die „Kernkappen“ verschwinden und die Kernkontur kommt deutlicher hervor. Nach unseren histologischen Befunden und auch nach den Ergebnissen der Elektroencephalographie glauben wir aber, daß die Veränderungen über die einfache akute Schwellung hinaus gehen, und als Frühstadium der „schweren Zellerkrankung“ NISSLS und SPIELMEYERS anzusehen sind. Obwohl die „akute Schwellung“ und das Frühstadium einer „schweren Zellerkrankung“ morphologisch nicht immer leicht zu unterscheiden sind, so sind sie ihrer Natur nach doch insofern verschieden, als die erste meist reversibel, die letzte aber irreversibel ist. Der Grad der Veränderungen und der Schädigung einer Ganglienzelle hängt, wenn sie durch  $O_2$ -Mangel hervorgerufen ist, von dem Grad und der Dauer der Ischämie ab. Da nach unserer Versuchsanordnung nach Abklemmung der Carotiden keine Restdurchblutung am Gehirn mehr möglich war, so bestimmte die Zeit allein den Grad der Schädigung. In diesem Zusammenhang dürften die Ergebnisse früherer Arbeiten angeführt werden. GASTAUT u. Mitarb. haben nach Abdrosselung der A. pulmonalis über 7 min bei der Katze erst nach 7—8 Std wieder Hirnpotentiale auftreten gesehen. In gleicher Weise und an denselben Tieren hatten schon früher WEINBERGER u. Mitarb. Ischämiezeiten von 3—9 min erzeugt. Die Tiere überlebten unter günstigen Bedingungen die Versuche 1—6 Wochen. Eine Ischämie von nur 3 min reichte aus, um bei genügend langer Manifestationszeit ischämische Ganglienzellschädigungen zu

erzeugen. Nach einer Ischämie von 8—9 min Dauer gingen die meisten Tiere innerhalb kurzer Zeit zugrunde. GÄNSHIRT nimmt als höchste Wiederbelebungszeit für das Warmblütergehirn 4—5 min an. Vergleichen wir diese Erfahrungen mit den von uns angewandten Ischämiezeigen, so müssen wir die beobachteten Veränderungen der Nervenzellen als frühe Stadien der „schweren Zellerkrankung“ deuten. In den von uns untersuchten Gehirnen haben wir aber keine klassischen „ischämischen“ Veränderungen beobachten können. Die von uns angewandten Zeiten von Ischämie und Manifestation reichten nur aus, um erste Schädigungen morphologisch erfaßbar werden zu lassen.

Die von uns gesehenen Veränderungen können wir nicht als agonale Vorgänge auffassen. Es ist zwar bekannt, daß das morphologische Bild der Nervenzellen von dem prämortalen Zustand des Versuchstieres abhängt (LINDENBERG), die Ausgangslage war aber bei unseren Tieren nach den elektroencephalographischen Befunden unauffällig. Die Hirnpotentiale verschwanden durchschnittlich nach 37 sec wie bei einem plötzlichen Tode, und das Gehirn erholte sich nicht wieder. Schließlich ergab die Untersuchung von Gehirnen nach Ischämie ohne Manifestationszeit keine Veränderungen. Nach JACOB können beim Menschen in Fällen von schweren Ischämien der Gehirne durch Strangulation, wenn der Tod relativ langsam erfolgte, starke ischämische Veränderungen beobachtet werden, wie wir sie sahen. MEYER und BLUME sowie WEINBERGER u. Mitarb. nehmen an, daß für das Zustandekommen ähnlicher Veränderungen eine Manifestationszeit von mindestens 2 Std notwendig ist. BLASIUS und ZIMMERMANN konnten die ersten Veränderungen an den Vorderhornanglienzellen nach einer Ischämie von 5 min und Manifestationszeit von 4 Std beobachten. Aus unseren Befunden geht aber hervor, daß eine totale Ischämie von 10 min Dauer mit einer anschließenden Manifestationszeit von 35—40 min am Kaninchengehirn morphologisch faßbare, mit Wahrscheinlichkeit irreversible hypoxische Veränderungen erzeugt.

Wie aus den morphologischen Befunden hervorgeht sehen die Nervenzellen nach Perfusion mit Kaliumcitrat und nach einer beträchtlichen Manifestationszeit wie Zellen aus, die unter günstigsten Bedingungen intravital fixiert oder lebend entnommen und sofort fixiert worden sind.

Wir glauben daraus schließen zu dürfen, daß durch die Einwirkung von Kaliumcitrat die sonst deutlichen postmortalen agonalen Veränderungen und auch eventuell schon einsetzende postmortale autolytische Veränderungen gehemmt werden. In Übereinstimmung mit den früheren morphologischen Befunden wird die die Struktur stabilisierende Wirkung von Kaliumcitrat bestätigt.

### Zusammenfassung

Am Kaninchen wurde in leichter Evipan-Narkose die EEG-Erholungslatenz nach totaler Ischämie von 100 sec Dauer und nach Perfusion mit 5%iger Kaliumcitratlösung ( $K_3(C_6H_5O_7) + H_2O$ ) ebenfalls während 100 sec bestimmt. Die Erholungslatenz nach Ischämie lag im Mittel bei 27,8 sec (11 Versuche). Nach Kaliumcitrat-Perfusion war sie wesentlich, nämlich bis zu 40 min verlängert. Eine ähnlich lange Erholungslatenz trat nach Ischämie erst dann auf, wenn sie auf 600 sec ausgedehnt wurde.

Sowohl in den Versuchen mit Kaliumcitratperfusion wie auch mit einer Ischämiedauer von 600 sec wurden die Gehirne übereinstimmend 35—40 min

nach Wiederherstellung der Blutzufuhr entnommen und lichtmikroskopisch untersucht. Dabei ergab sich, daß Kaliumcitratperfusion eine Stabilisierung der Strukturen der Nervenzellen herbeiführt. Ischämie von 600 sec Dauer bewirkt dagegen deutliche Veränderungen, die den Frühstadien der „schweren Zellerkrankung“ NISSLS entsprechen.

### Summary

The EEG recovery time was determined on the rabbit slightly anesthetized with evipan following total ischemia lasting for 100 seconds and following perfusion with 5% calcium citrate solution ( $K_3(C_6H_5O_7)$ ) likewise determined after 100 seconds. Average recovery time following ischemia was 27,8 seconds (11 attempts), while with the calcium citrate perfusion the recovery time was significantly prolonged, namely to 40 minutes. A similarly long recovery period was noted following ischemic episodes extended to 600 seconds.

Brains removed 35—40 minutes after return of normal blood supply following the calcium citrate perfusion and 600 seconds ischemic state experiments were examined by light microscopy. The results were as follows: whereas the calcium citrate perfusion induced a stabilization of the structure of the nerve cells, the 600 seconds ischemic state resulted in obvious changes which corresponded to the early stages of the "severe cell disease" of NISSL.

### Literatur

- BING, R. J.: Neue Erkenntnisse auf dem Gebiete des Herzmuskelstoffwechsels. In H. HAUSS u. H. LOSSE, Struktur und Stoffwechsel des Herzmuskels. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- BLASIUS, W., u. H. ZIMMERMANN: Physiologie und Histochemie der Ganglienzelle unter Ischämiebedingungen. Acta histochem. (Jena) **5**, 283 (1958).
- BÜCHNER, F.: Die Hypoxydosen. In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. IV/2, S. 569. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.
- FLECKENSTEIN, A., u. H. HERTEL: Über die Zustandsänderungen des kontraktile Systems in Abhängigkeit vom extrazellulären Kalium und Natrium. Pflügers Arch. ges. Physiol. **250**, 577 (1947).
- H. HILLE u. W. E. ADAM: Aufhebung der Kontrakturwirkung depolarisierender Katelektrotonika durch Repolarisation im Anelektrotonus. Pflügers Arch. ges. Physiol. **253**, 264 (1951).
- E. WAGNER u. K. GÖGGEL: Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit der Muskelänge vom Membranpotential. Pflügers Arch. ges. Physiol. **253**, 38 (1950).
- GÄNSHIRT, H., L. DRANSFELD u. W. ZYLKA: Das Hirnpotentialbild und der Erholungsrückstand am Warmblütergehirn nach kompletter Ischämie. Arch. Psychiat. Nervenkr. **189**, 109 (1952).
- GASTAUT, H., R. NAQUET, H. REGIS u. G. SALOMON: Sur les effets électrographiques d'une anoxie cérébrale de longue durée. C.R. Soc. Biol. (Paris) **152**, 1251 (1959).
- JACOB, H.: Strangulation. In Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie von Henke-Lubarsch, Bd. XIII/1, S. 2. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.
- JESSEPH, J. F., R. W. HERRON, L. C. WINTERSCHIED, R. R. VETTER and K. A. MERENDINO: Studies in carbohydrate metabolism of the isolated dog heart while beating and during induced arrest. In: Extracorporeal Circulation. Springfield: Ch. Thomas 1958.
- LINDENBERG, R.: Morphotropic and morphostatic necrobiosis. Investigation of nerve cells of the brain. Amer. J. Path. **32**, 1147 (1956).
- LOCKE, F. S.: The action of potassium and sodium on the indirect excitability of muscle. Brit. J. Physiol. **32**, 22 (1905).
- LÖHR, B.: Induzierter Herzstillstand bei intrakardialen Eingriffen mit künstlichem Kreislauf. Thoraxchirurgie **7**, 123 (1959).

- LÖHR, B., H. MEESSEN, u. R. POCHE: Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Herzmuskels vom Hund bei experimentellem Herzstillstand durch Kaliumcitrat und Anoxie. Arch. Kreisl.-Forsch. **33**, 108 (1960).
- MEESSEN, H.: Die submikroskopische Morphologie des Herzmuskels. In H. HAUSS u. H. LOSSE, Struktur und Stoffwechsel des Herzmuskels. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- OPITZ, E.: Der Zellstoffwechsel in seiner Beziehung zur Zellstruktur. Verh. dtsch. Ges. Path. **33**, 18 (1949).
- , u. F. KREUTZER: Über das Verhalten des Kaninchengehirns gegenüber Ischämie und Anoxie, bei Höhenpassung unter EEG-Kontrolle. Pflügers Arch. ges. Physiol. **260**, 480 (1955).
- , u. W. THORN: Überlebenszeit und Erholungszeit des Warmblütergehirns unter dem Einfluß der Höhenpassung. Pflügers Arch. ges. Physiol. **251**, 369 (1949).
- OVERTON, E.: Studien über die Wirkung der Alkali- und Erdalkalisalze auf Skelettmuskeln und Nerven. Pflügers Arch. ges. Physiol. **105**, 176 (1904).
- PAPADIMITRIOU, D.: Morphologische Untersuchungen am Zentralnervensystem über die stabilisierende Wirkung von Kaliumcitrat. Beitr. path. Anat. **120**, 371 (1959).
- SHANES, A. M.: Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells. Part I. The resting cell and its alteration factors. Pharmacol. Rev. **10**, 59 (1958). — Part. II. The action potential and excitation. Pharmacol. Rev. **10**, 165 (1958).
- SPIELMEYER, W.: Histopathologie des Nervensystems. Berlin: Springer 1922.
- WEINBERGER, L., M. GIBBON and J. GIBBON: Temporary arrest of the circulation to the central nervous system. I. Physiological effects Arch. Neurol. Psychiat. (Chicago) **43**, 615. — II. Pathological effects Arch. Neurol. Psychiat. (Chicago) **43**, 961—986 (1940).

Dr. D. PAPADIMITRIOU, Pathologisches Institut der Medizinischen Akademie  
Düsseldorf, Moorenstraße 5