

PIOTR LENARTOWICZ

## WPŁYW SOLI AMONOWYCH NA ELEKTROKORTIKOGRAM I KOROWE POTENCJAŁY BEZPOŚREDNIO WYWOŁANE

Z Zakładu Fizjologii P. A. N. w Warszawie  
Kierownik: prof. dr *Fr. Czubalski*

Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy amoniak wprowadzany z zewnątrz do ustroju pod postacią soli amonowych, wywiera jakieś charakterystyczne, swoiste działanie na bioelektryczną aktywność kory mózgowej. Szereg doniesień klinicznych świadczy o tym, że podwyższony poziom amoniaku we krwi, występujący np. w przebiegu śpiączki wątrobowej, może być odpowiedzialny za pewne zaburzenia ze strony ośrodkowego układu nerwowego. Wprowadzanie do ustroju soli amonowych prowadzi do stanów analogicznych ze śpiączką (*Morfori, Eiseman i Clark, Warren*).

Tkanka mózgowa produkuje stosunkowo duże ilości amoniaku, pochodzenie jego jest jednak dotąd niezbadane (*Vrba, Folberg, Kanturek*). Metabolizm amoniaku jest związany z podstawowym mechanizmem energetycznym w komórce, z cyklem *Krebsa* (*Clark i Eiseman*), oraz z przemianą kwasów glutaminowego i asparaginowego. Badania *Prawdicza-Neminskiego* i innych badaczy radzieckich (*Władimirow*) podkreślają fizjologiczną rolę amoniaku w układzie nerwowym.

*Benitez, Pscheidt i Stone* podawali u psów pod oponę twardą chlerek amonu, obserwując zmniejszenie amplitudy i częstotliwości rytmu EEG po wprowadzeniu 2 molarnych roztworów tej soli. *Poser* opisał swoisty jego zdaniem typ EEG, występujący przy hiperamonemii u ludzi, polegający na pojawianiu się trójfazowych fal. *Cohn i Ulshafer* [5] badali elektroencefalogram, elektrokardiogram oraz tętnicze ciśnienie krwi u samiec szczurów po dożylnym podaniu węglanu amonu. Po wstrzyknięciu około 100 mg/kg wagi w ciągu pół minuty, obserwowali wygaszenie EEG do linii izoelektrycznej. Zmiany te ustępowały po 10 minutach.

W moich doświadczeniach podawałem sole amonowe trzema drogami. Miejscowo — na korę, do krążenia mózgowego, oraz dożylnie. Badałem

elektrokortikogram (EEG), poziom napięcia stałego kory (*steady potential* — *SP*) i powierzchniowy korowy potencjał bezpośrednio wywołany (*direct evoked potential* — *EP*).

#### METODYKA

Praca została wykonana na 36 dorosłych kotach, wagi 2,0—4,4 kg. Na 14 kotach doświadczenia wykonano przy użyciu narkozy heksobarbitalowej. Heksobarbital podawano przez cewnik do żyły udowej, metodą kroplówki w roztworze 1% w płynie Ringera. U pozostałych kotów wstrzykiwano podskórnio i domięśniowo Nembutal. Początkowa dawka wynosiła 40—60 mg/kg wagi. Po 5—8 godzinach trwania doświadczenia wstrzykiwano ok. 30 mg Nembutalu.

Po miejscowym znieczuleniu punktów ucisku 1% nowokainą, głowę zwierzęcia zakładano do aparatu stereotaktycznego. Jeżeli zamierzano podawać badane substancje do krążenia mózgowego, zakładano cewnik do *a. lingualis*, pod prąd, w kierunku *a. carotis ext.* lub do *v. coli superficialis*, lub oba równocześnie. Przez cewniki podawano heparynę w ogólnej dawce ok. 500 j. m. na kg. Zewnętrzne końce cewników zakończone igłą punkcyjną z mandrynem przesywano na karku zwierzęcia.

Przecinano skórę na grzbiecie czaszki, przyszywano brzegi rany do pierścienia metalowego umocowanego na aparacie stereotaktycznym. Trepanowano mały otwór nad zatoką czołową. Wprowadzano do środka odizolowany koniec drutu srebrnego, który służył jako elektroda obojętna. Otwór zalepiano szczelnie woskiem. Po szerokim wytrepanowaniu kości pokrywy czaszki, umieszczano zwierzę w klatce Faradaya. Do wnętrza rany wkładano pętlę z rurki szklanej, przez którą przepływała woda ogrzewana przez ultratermostat. Przeźreń między uniesionymi brzegami skóry wypełniano płynem Ringera, również ogrzewanym przez ultratermostat. Pod warstwą płynu przecinano oponę twardą w okolicy płata ciemieniowego. Na powierzchni *g. suprasylvius med.* ustawiano parę elektrod drażniących oraz elektrodę odbierającą.

Elektrody drażniące były wykonane z drutu srebrnego o przekroju 0,1 mm, izolowanego na całej długości, za wyjątkiem powierzchni przekroju, którą elektrolitycznie pokrywano chlorkiem srebra. Korę drażniono stimulatorem elektronowym, impulsami prostokątnymi, czas trwania impulsu 0,5 m/sek. częstotliwość 0,1—0,8 c/sek. W celu zmniejszenia artefaktu bodźca oraz zakłóceń sieci używano łącza radiowego krótkofalowego (*Schmitt*). Elektrody zwinięte w sprężynkę przeciskano delikatnie do kory w odległości ok. 2 mm jedna od drugiej.

Elektroda odbierająca typu „pore electrode” (*Marshall*) [12] spoczywała na kory w odległości od 3 do 15 mm od elektrod drażniących. Wszystkie elektrody umocowane w prostym półmikromanipulatorze przesuwano względem siebie tak długo, dopóki nie znaleziono pozycji dającej minimalny artefakt. Na powierzchnię rany naklewano warstwę parafiny płynnej.

Ryc. 1 przedstawia schemat aparatury rejestrującej. Elektrokortikogram rejestrowano na zmianę z potencjałami wywołanymi. Używano przedwzmacniacza 1440 i oscylografu dwukanalowego 1049 Mk III firmy Cossor. Ekran fotografowano na mikrofilmie pozytywowym „Foton” przy użyciu kamery fotograficznej Cossor 1428. Moment podawania badanych substancji zaznaczano przy użyciu prostego urządzenia wykonanego z żarówki od urestroskopu, baterijki 4,5 V i przerywacza. Żaróweczkę umieszczano przy ekranie oscylografu.

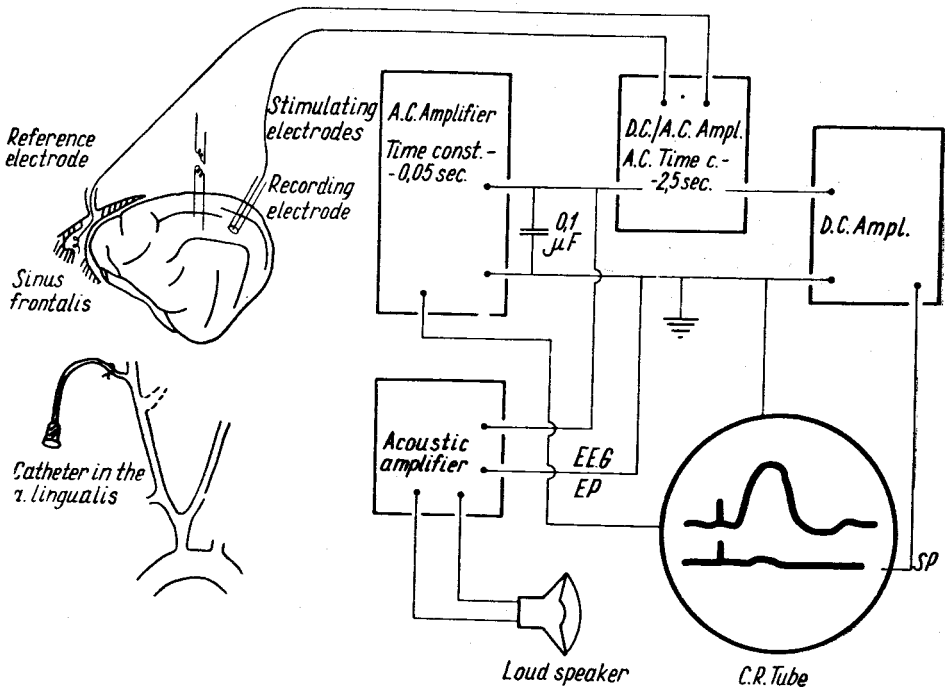
Termometrem umieszczonym w odbytncy mierzono zwierzęciu temperaturę w odstępach mniej więcej półgodzinnych. W razie potrzeby zwierzę owijano ligniną i okładano butelkami z ciepłą wodą.

Roztwory badanych soli przygotowywano zachowując izotonię (uzupełnienie NaCl), oraz przyjmując następujące współczynniki na stopień jonizacji [8]:

Dla soli typu  $R^+R^-$  np. NaCl,  $NH_4Cl$  . . . . . 0,86

Dla soli typu  $(R^+)_2R^-$  np.  $(NH_4)_2SO_4$  . . . . . 0,72

Dotętniczo roztwory podawano w objętości 0,3—0,5 ml; martwa przestrzeń cewnika była mniejsza niż 0,1 ml.



Ryc. 1. Schemat aparatury rejestrującej oraz szkic rozmieszczenia elektrod drażniących i odbierających. Rysunek naczyń na szyi u kota obrazuje sposób podawania badanych substancji do krążenia mózgowego.

Fig. 1. The registration apparatus and the distribution of the exciting and receiving electrodes shown diagrammatically. The vessels outlined on the cat's neck show the mode of introducing the drugs into the cerebral circulation.

Aby upewnić się, że cewnik tętniczny łączy się z *a. carotis ext.* przed końcem doświadczenia wstrzykiwano przez ten cewnik ok. 1 ml tuszu. W ciągu 1 sek. półkula mózgowa po stronie wstrzyknięcia stawała się na chwilę czarna, po czym odzyskiwała swoje różowe zabarwienie.

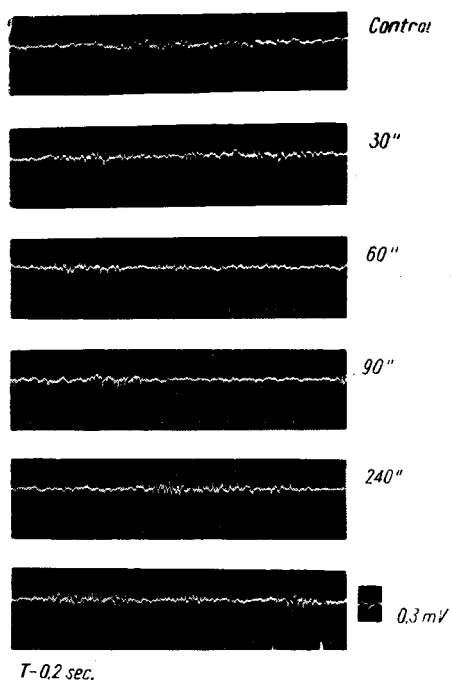
## WYNIKI

Przebadano następujące sole amonowe: chlorek, węglan, siarczan, fosforan jednozasadowy, rodanek, szczawian, winian amonu oraz sole sodowe: chlorek, węglan, siarczan, fosforan jednozasadowy, szczawian, rodanek, winian sodu.

## I. Zmiany bioelektryczne po miejscowym podaniu soli amonowych na korę półkul mózgowych

### Elektrokortikogram.

U kota w narkozie barbiturowej występuje stały i charakterystyczny obraz EEG. Na tle fal o małej amplitudzie i dużej częstotliwości, pojawiają się w dosyć regularnych odstępach czasu zespoły fal o dużej amplitudzie. Fale te, których czas trwania wynosi od 30 do 50 msek., przybierają na



*Ryc. 2.* Zmiany EEG po miejscowym podaniu na korę izotonicznego roztworu chlorku amonu. Po 30 sek. zmniejszenie amplitudy wrzecion, wyraźny zespół dodatnich fal. Po 60 sek. dalsze zmniejszenie wrzecion. Po 90 sek. wrzeciono odwrócone. Po 4 i 6 min. obraz EEG jak przed podaniem. Na tej i na następnych rycinach ujemna zmiana potencjału ku górze.

*Fig. 2.* Changes in the EEG pattern after direct application to the cortex of an isotonic ammonium chloride solution. After 30 sec. the spindle amplitude is depressed and conspicuous series of positive waves appear. After 60 sec. the spindle amplitude is further reduced. After 90 seconds the spindle is reserved. After four to six minutes the original pattern is restored. In this and the subsequent figures negativity is upward.

swej wysokości na początku zespołu, po czym znowu maleją (*waxing and waning*). Cały zespół, określany w literaturze jako wrzeciono barbiturowe, liczy zwykle kilkanaście i więcej fal. Przy jednobiegunowej rejestracji mają one przeważnie kierunek ujemny; fale dodatnie występują pojedynczo.

Kilka kropeł (0,1 ml) 50 mM roztworu chlorku amonu podanego na korę w pobliżu elektrod, powodowało następujące zmiany. W ciągu pół minuty amplituda wrzecion ulegała znacznej redukcji, przy niezmienionym rytmie podstawowym. Następnie często pojawiały się wrzeciona o dodatnim

kierunku fal (ryc. 2). Zmiany te cofały się w ciągu 3—5 minut. Pozostałe sole amonowe w stężeniach odpowiednio większych, w zależności od stopnia jonizacji, powodowały zupełnie podobny efekt. Miejscowe podawanie płynu Ringera, oraz soli sodowych w stężeniach odpowiadających izotonicznemu roztworowi NaCl nie powodowały uchwytnych zmian w obrazie EEG.

#### *Potencjały bezpośrednio wywołane.*

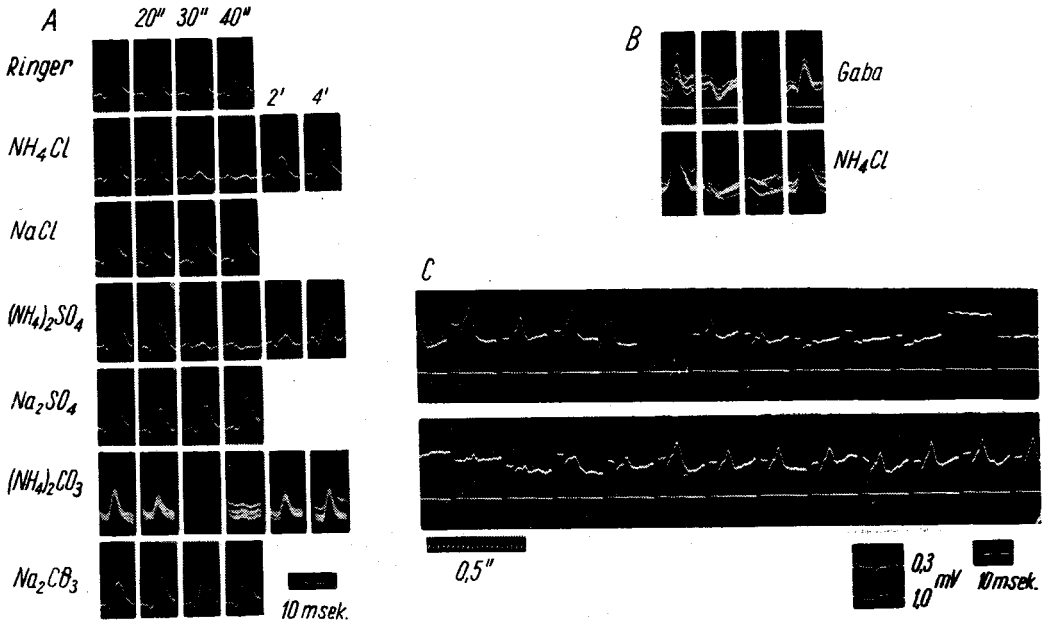
Podrażnienie kory mózgowej impulsem prostokątnym, powoduje powstanie w najbliższym sąsiedztwie odpowiedzi elektrycznej w postaci fali o amplitudzie zależnej od siły drażnienia, czasie trwania 15—20 msek, szybkości rozprzestrzeniania się ok. 2 msek (*Adrian*). Przy rejestracji elektrodą powierzchniową jednobiegunową fala ta daje się wykryć w odległości kilkunastu mm od punktu drażnienia i ma ujemny kierunek potencjału.

Po upływie kilku do kilkunastu sekund od chwili podania soli amonowej pojawia się spadek amplitudy EP, a następnie jego całkowite zniknięcie (ryc. 3 A i C). Przy małych stężeniach soli amonowych (50 mM chlorku amonu), już w drugiej minucie od chwili podania potencjały pojawiały się z powrotem. Przy większych stężeniach zmniejszenie lub całkowite zniknięcie potencjałów wywołanych utrzymywało się przez kilka, a nawet kilkanaście minut. Często powrót do normy uzyskiwano drogą kilkakrotnego przepłukiwania kory płynem Ringera. Przy małych dawkach potencjał wywołany zniknął na kilka sekund, po czym na jego miejscu pojawiała się fala o stosunkowo małej amplitudzie i przeciwnym potencjale (dodatnim). Fala ta była analogiczna do dodatniego potencjału wywołanego, pojawiającego się po podaniu na korę kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (ryc. 3 B). Izotoniczne roztwory soli sodowych nie powodowały zmian w potencjałach wywołanych (ryc. 3 A).

#### *Potencjał stały kory.*

Najbardziej typową nieswoistą zmianą pojawiającą się w korze pod wpływem rozmaitych czynników mechanicznych, elektrycznych, termicznych i chemicznych, jest tzw. „*spreading depression*” (depresja rozprzestrzeniająca się) *Leao* [10]. Również pod wpływem chlorku amonu *Leao* i *Ferreira* [11], obserwowali pojawianie się tej reakcji. Wg *Marshalla*, jedynym pewnym kryterium pozwalającym wykluczyć „*spreading depression*” jest brak elektroujemnej fali depolaryzacji kory, fali o amplitudzie 5—12 mV. Fali tej towarzyszy głęboka depresja bioelektrycznej aktywności

ności tkanki nerwowej. O ile przy użyciu KCl wywoływano „spreading depression” w sposób typowy, o tyle sole amonowe w stężeniach nie większych niż izotoniczne, reakcji tej nie wywoływały. Ryc. 3 C obrazuje prze-



Ryc. 3. A. Zmiany w EP po miejscowym podaniu soli amonowych na korę. Wszystkie roztwory 100 mM. Pierwszy rząd pionowy — kontrola przed podaniem, następne rzędy po 20, 30, 40, 120 i 240 sek. od chwili podania. Pierwszy rząd poziomy — pł. Ringera następne od góry: NH<sub>4</sub>Cl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

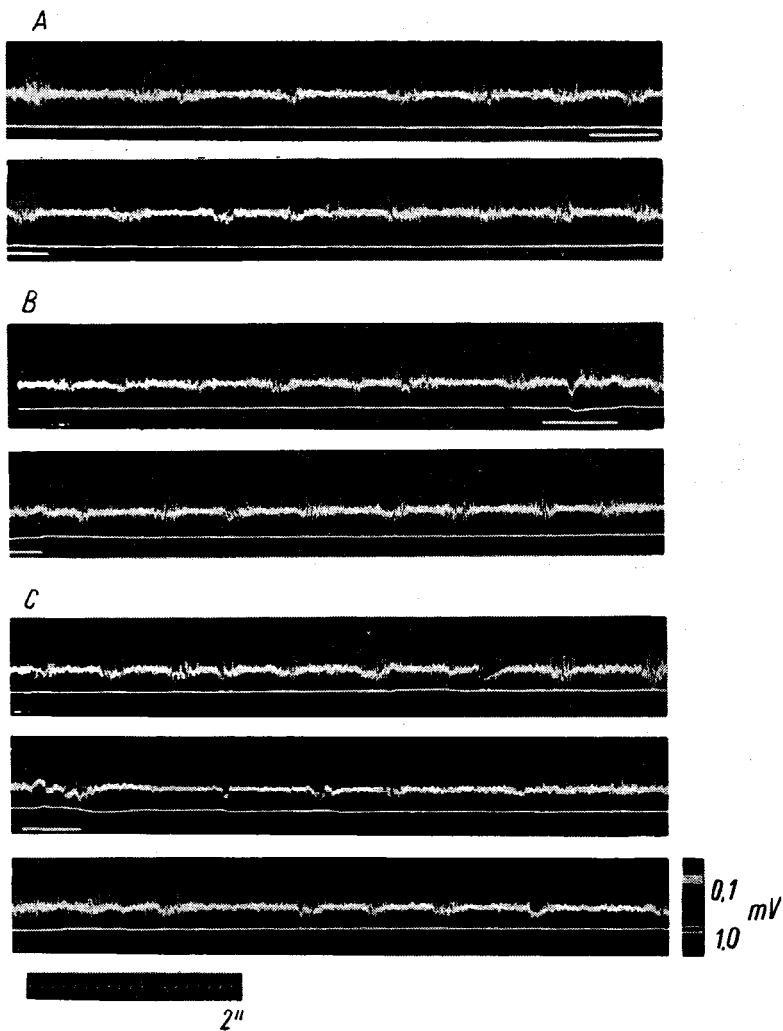
B. Porównanie zmian w EP po podaniu kwasu gamma-aminomasłowego (górny rząd) i po podaniu NH<sub>4</sub>Cl (dolny rząd). Od lewej — kontrola przed podaniem, 1 min. po podaniu, 2 min. po podaniu, po płukaniu w 5 minutę.

C. Ciągły zapis EP i zmiany po miejscowym podaniu na korę 0,3 ml 50 mM NH<sub>4</sub>Cl. Artefakt wskazuje moment podania roztworu. Zmniejszenie potencjałów około 10 sek., zniknięcie całkowite pod koniec 1 min. Powrót do normy bez płukania w trzeciej min. Dolny kanał zapis SP. Biała pozioma kreseczka pod A i C odpowiada 10 msek. Ta skala czasu odnosi się również do B.

Fig. 3. A. EP changes after direct application to the cortex of 100 mM solutions of ammonium salts. First column — control before application; subsequent columns — 20, 30, 40, 120 and 240 sec. after administration. Uppermost line — Ringer's solution; subsequent lines down NH<sub>4</sub>Cl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

B. EP changes as after gamma-aminobutyric acid and NH<sub>4</sub>Cl (upper and lower lines resp.). From the left — control before application, 1 min. after administration, 2 min. after administration, and after rinsing in the fifth min.

C. Continuous EP record and changes after local application directly to the cortex of 0,3 ml. of 50 mM NH<sub>4</sub>Cl. The artefact marks the moment of solution application. EP is diminished after about 10 sec. and totally suppressed at the end of one minute. The original pattern is restored in the third second without rinsing. Lower channel — steady potential record. The white dash below A and C corresponds to 10 msec. The same time scale applies to B.



Ryc. 4. Zmiany EEG po podaniu soli amonowych do krążenia mózgowego. A. podano 0,5 pl. Ringera. Moment podania zaznaczony białą kresczką u spodu krzywej. Górny kanał EEG. Dolny kanał SP. Na tej i poniższych krzywych poszczególne rzędy zachodzą na siebie.

B. Podano 0,5 ml izotonicznego roztworu NaCNS.

C. Podano 0,5 ml izotonicznego roztworu  $\text{NH}_4\text{CNS}$ . Wygładzenie krzywej EEG, przejściowy brak wrzecion. Po upływie 40 sek. pierwsze wrzeciono; amplituda i kształt normalny rytm podstawowy w dalszym ciągu zmniejszony. Po 60 sek. nasilenie amplitudy i częstotliwości rytmu podstawowego.

Fig. 4. EEG changes following injection of ammonium salt into the cerebral circulation.

A. Injection of 0,5 ml. of Ringer's solution. The white dash below the curve marks the moment of administration. Upper channel — EEG; lower channel — steady potential. In this and the curves below the successive lines overlap a little.

B. Injection of 0,5 ml. of an isotonic NaCNS solution.

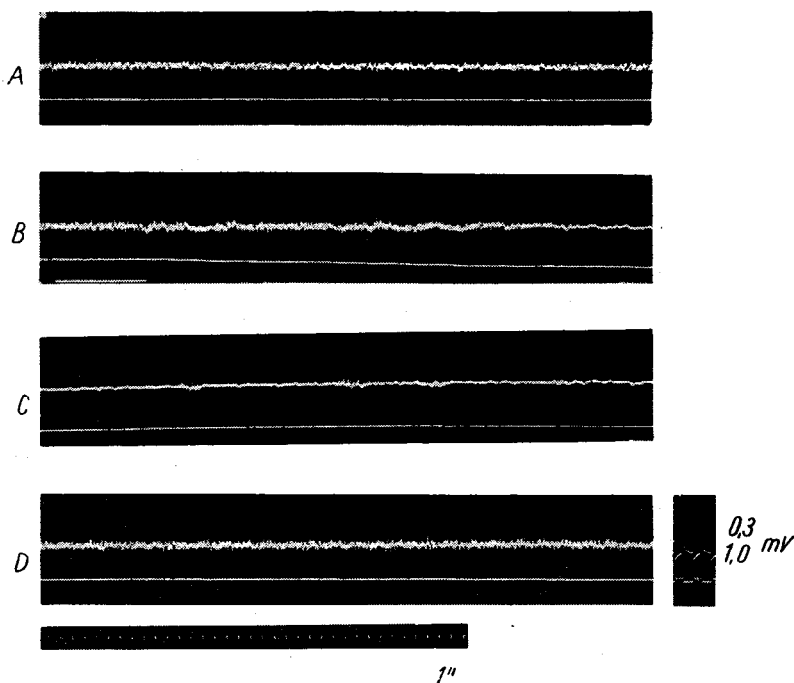
C. Injection of 0,5 ml. of an isotonic  $\text{NH}_4\text{CNS}$  solution. Smoothing of the EEG curve and temporary absence of spindles. After 40 sec. the spindles begin to reappear; amplitude and shape normal, the basic rhythm remains reduced. After 60 sec. the basic rhythm amplitude and frequency increase.

bieg zmian w potencjałach wywołanych przy równoczesnej rejestracji potencjału stałego kory. Jak widać z krzywej, mimo wybitnych zmian w potencjałach wywołanych nie rejestrowano zmian w potencjale stałym kory.

## II. Zmiany bioelektryczne po podaniu soli amonowych do krążenia mózgowego

### Elektrokortikogram.

U kotów w głębokiej narkozie wykazujących wyraźne wrzeciona w EEG, podanie do *a. lingualis* 0,3 ml izotonicznego roztworu soli amonowej w ciągu ok. 10 sekund od chwili wstrzyknięcia następowało zmniejszenie



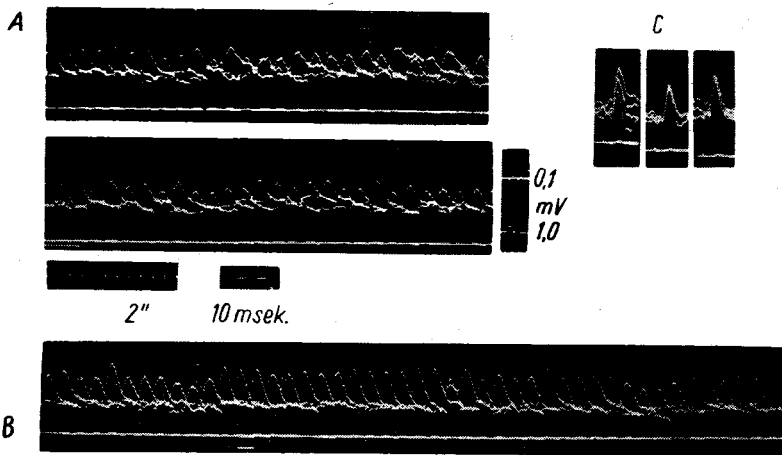
Ryc. 5. Doświadczenie podobne jak na ryc. 4, u kota w płytkiej narkozie. Wyjściowe EEG nie zawiera wrzecion. W b. podano 0,2 ml izotonicznego roztworu  $\text{NH}_4\text{Cl}$  do tętnicy językowej. Przesunięcie potencjału stałego — SP w kierunku dodatnim. Wygładzenie EEG. W c. na tle zmniejszonej amplitudy rytmu podstawowego pojawiło się kilka wrzecion. Między c. i d. przerwa ok. 3 min.

Fig. 5. Experiments similar as in 4 but on a cat under superficial anaesthesia. The initial EEG shows no spindles. In b., 0,2 ml. of an isotonic solution of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  was injected into lingual artery. A positive shift in the steady potential. EEG is smoothed. In c., several spindles may be seen against the background of a reduced basic rhythm amplitude. Interval between c and d. roughly three minutes.



amplitudy rytmu podstawowego (ryc. 4). Równocześnie następowała przerwa w pojawianiu się wrzeciona. W drugiej minucie po podaniu, wrzeciona pojawiały się z powrotem, od razu w normalnej amplitudzie. Nieco później następował powrót rytmu podstawowego do formy wyjściowej. W tym okresie amplituda i częstotliwość rytmu podstawowego była najczęściej wzmożona, co szczególnie wyraźnie rejestrował głośnik. W czasie wzmożonego rytmu podstawowego następowało zmniejszenie amplitudy wrzecion. Po 3—4 minutach obraz EEG powracał do formy wyjściowej.

U kotów w płytkiej narkozie, gdzie wrzeciona mogły wcale nie występować, lub występowały rzadko, przebieg zmian po dotętnicznym wstrzyknięciu był nieco inny. Również następowało zmniejszenie rytmu o dużej częstotliwości. W końcu pierwszej, lub na początku drugiej minuty wrzeciona pojawiały się po przerwie, ale w formie bardziej zsynchronizowanej. Częstość pojawiania była większa, amplituda mogła być również zwiększona, natomiast ilość fal we wrzecionach mniejsza, a kształt całego ze-



Ryc. 6. Zmiany w EP po podaniu soli amonowych do a. lingualis.

A. Podano 0,3 ml izotonicznego roztworu szczawianu sodu.

B. Podano 0,3 ml. izotonicznego roztworu szczawianu amonu. Wyrównanie serii EP na okres ok. 20 sek.

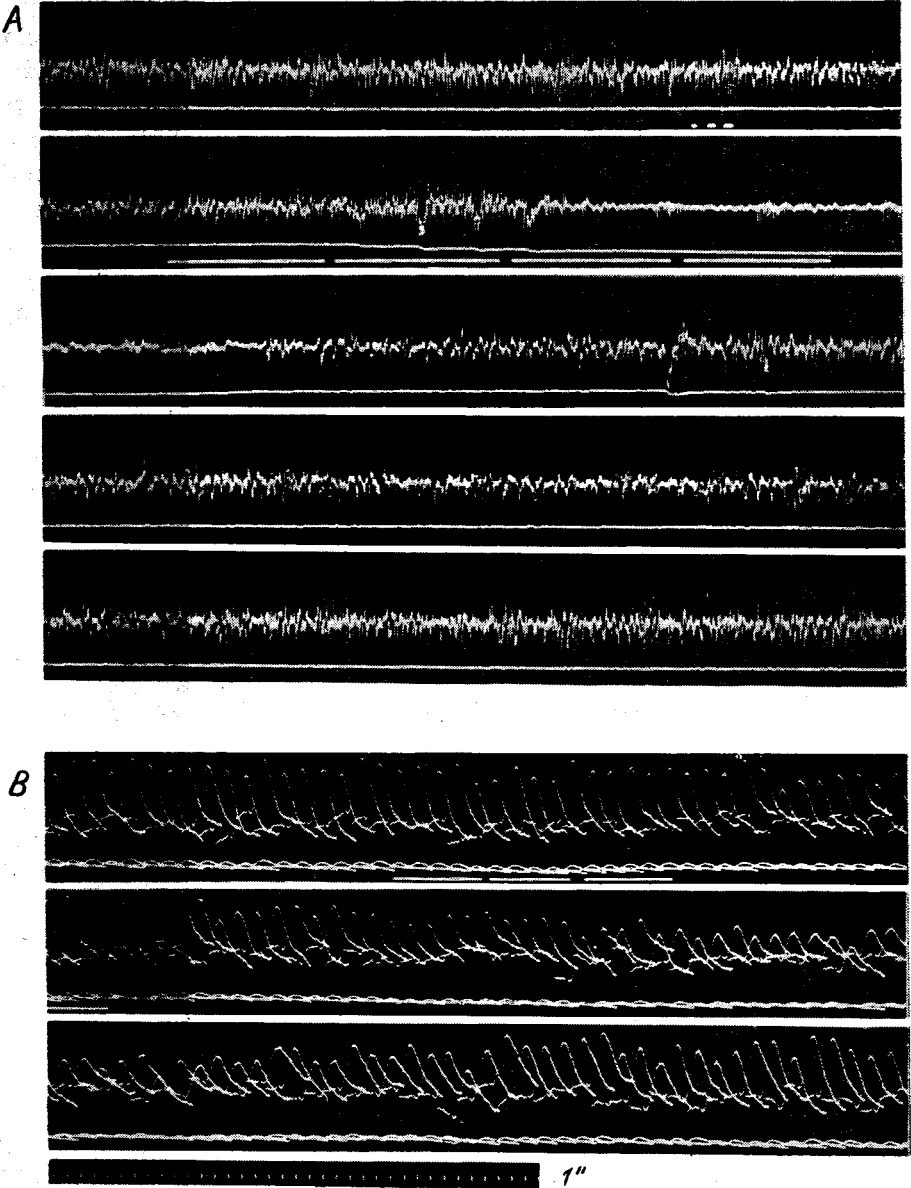
C. Każdy z trzech zapisów składa się z 4 kolejnych EP zapisanych na stojącej taśmie filmowej. Kontrola przed podaniem, po podaniu do a. lingualis winianu amonu. Wyraźna stabilizacja potencjałów. Trzeci zapis w 2 min. po podaniu. Przesunięcie SP (dolny kanał) w kierunku dodatnim.

Fig. 6. EP changes after injection of ammonium salts into the lingual artery.

A. Isotonic solution of sodium oxalate, 0.3 ml.

B. Isotonic solution of ammonium oxalate 0.3 ml.

C. Each of the three records consists of four consecutive EP's traced on a stationary film. Control before injection and after injection of ammonium tartrate. Distinct stabilization of potentials. Third record made in the second minute after injection. Positive SP shift, lower channel.



*Ryc. 7.* Zmiany w EEG i EP po dożylnym podaniu soli amonowych. A. Pierwszy rząd EEG przed podaniem, wrzecziona barbiturowe w nieregularnych odstępach. W drugim rzędzie podano 8 ml izotonicznego roztworu siarczanu amonu. Po każdym wstrzykniętych 2 ml przerwa w sygnale pod spodem krzywej. W połowie wstrzykiwania wzmożenie rytmu podstawowego, następnie zmniejszenie amplitudy i wygładzenie. Zespoły wrzecion składają się z fal dodatnich o zmniejszonej amplitudzie. W trzecim rzędzie na tle wygładzonego, zmniejszonego rytmu podstawowego pojawia się normalne ujemne wrzeczono. W czwartym rzędzie częstotliwość pojawiania się wrzecion nieco zwiększona. Przesunięcie SP — dodatnie. B. EP po dożylnym podaniu 6 ml

społu bardziej regularny. W tym okresie rytm podstawowy był zwykle wygładzony. Jeżeli EEG wyjściowe wrzecion w ogóle nie wykazywało, to po podaniu soli amonowych pojawiały się one w wyraźnej formie (ryc. 5). W ciągu kilku minut znikaly one z powrotem, a rytm podstawowy powracał do amplitudy wyjściowej.

#### *Potencjały bezpośrednio wywołane.*

Dotętnicze podawanie soli amonowych nie powodowało uchwytnych zmian w amplitudzie i kształcie potencjałów wywołanych. Jedyną uchwytą zmianą było wyrównanie serii EP, co wynikało, jak sądzę, z wygładzenia spontanicznej aktywności bioelektrycznej kory, oraz ze zniknięcia wrzecion (ryc. 6).

#### *Potencjał stały.*

Sole amonowe w odróżnieniu od pł. Ringera i soli sodowych, powodowały po podaniu dotętnicznym przesunięcie potencjału stałego kory w kierunku dodatnim. Wielkość tego przesunięcia była rzędu kilku mV (ryc. 4 i 5). Nie zauważono jednak równoległości między nasileniem zmian w elektrokortikogramie, a wielkością tego przesunięcia.

### *III. Zmiany bioelektryczne po podaniu soli amonowych do krążenia ogólnego (dożylnie)*

#### *Elektrokortikogram.*

Dożylnie wstrzykiwano izotoniczne roztwory chlorku, węglanu, siarczanu i fosforanu jednozasadowego amonu w ilości ok. 2 ml na kg wagi zwierzęcia. Równocześnie przebadano wpływ iniekcji tych samych ilości izotonicznych roztworów odpowiednich soli sodowych oraz płynu Ringera.

Po dożylnym podaniu soli amonowych (ryc. 7) następowało już po pierwszych mililitrach chwilowe wzmoczenie rytmu podstawowego. Mimo

---

siarczanu amonu. Zmniejszenie amplitudy EP. Przesunięcie nieznaczne SP w kierunku dodatnim. Uwaga! Skala czasu dla części A wynosi 0,5 sek., a dla części B — 1 sek. Fig. 7. EEG and EP changes after intravenous injection of ammonium salts.

A. First line — EEG before the injection, barbiturate spindles irregularly spaced. In the second line. 8 ml. of an isotonic ammonium sulphate solution was given. The sections of the signal below the curve correspond each to a 2 ml. portion. By the time about half of the dosis was injected the basic rhythm became increased, and then its amplitude became diminished and smoothed. Spindle groups consisted of positive waves with diminished amplitude. In the third line a normal negative spindle appeared against the background of a diminished and smoothed basic rhythm. In the third line the spindles became more frequent. Positive shift in SP.

B. EP after intravenous injection of 6 ml. of ammonium sulphate EP amplitude diminished. Slight positive shift in SP. Note! time marking is 0.5 sec. for A and 1 sec. for B.

że amplituda wyładowań na oscylografie nie ulegała zwiększeniu, to jednak zmiany akustyczne w głośniku mogły świadczyć o wzmożonym natężeniu zmian elektrycznych. Pod koniec wstrzykiwania, tj. po ok. 30 sek., rytm podstawowy ulegał zmniejszeniu i wygładzeniu, wrzeczona natomiast albo w ogóle nie występowała, albo pod postacią fal dodatnich. W późniejszym okresie wrzeczona pojawiały się na chwilę w całej okazałości, po czym na kilkadziesiąt sek. znowu ulegały zmniejszeniu. Podobnie jak przy wstrzyknięciach dotętnicznych występował okres nasilenia wrzeczion; w okresie tym częstość i amplituda wrzeczion była wzmożona, ilość fal w zespołach zwykle zmniejszona. W ciągu 5 do 7 minut obraz EEG wracał do formy wyjściowej.

#### *Potencjały bezpośrednio wywołane.*

Przy dożylnym podawaniu soli amonowych zmiany były raczej dyskretne i polegały na niewielkim zmniejszeniu amplitudy potencjałów (ryc. 7 B).

#### *Potencjał stały.*

Dożylne podanie soli amonowych powodowało zwykle zmiany w poziomie SP, ale były one raz dodatnie, czasami znowu ujemne i nie wykazywały zbieżności ze zmianami EEG.

### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Opisane wyżej zmiany wydają się być związane z działaniem samego jonu  $\text{NH}_4^+$ . Czynnikiem pH nie wydaje się odgrywać roli w opisanych zjawiskach, jakkolwiek rola pH jest z naciskiem podkreślana przez *Warrena* i *Nathana* [28], którzy twierdzą na podstawie doświadczeń na myszach, że toksyczność soli amonowych jest proporcjonalna do pH tych soli. *Stabenau*, *Warren* i *Rall*, wyrażają pogląd, że przenikanie amoniaku do tkanki mózgowej jest uzależnione od gradientu pH między krwią a mózgiem.

Doświadczenia kontrolne wykluczają działanie reszt kwasowych.

Przy każdym z trzech sposobów podawania ujawniały się w bioelektrycznej aktywności kory elementy, które ogólnie można by określić jako depresję tej aktywności. Zjawisko „*spreading depression*” wydaje się nie odgrywać roli, jak świadczą doświadczenia z rejestracją potencjału stałego kory. Doświadczenia *Van Harrevelde* na królikach wykazują, że 100 mM roztwory chlorku amonu nie wywołują „*spreading depression*” po podaniu miejscowym na korę. Stosując roztwory 200 mM autor ten w niektórych preparatach obserwował pojawianie się aktywności konwulsyjnej w EEG. Powstaje pytanie czy efekty depresyjne są wynikiem bezpośredniego działania amoniaku na tkankę nerwową, czy też działa on

na naczynia i w ten pośredni sposób wpływa na czynność elektryczną mózgu. Wyniki doświadczeń z podawaniem soli amonowych do krążenia wskazują, że o ile jedna forma aktywności jest przytłumiona (rytm podstawowy), o tyle wrzeczona mogą ulec wzmoczeniu, natomiast potencjały wywołane pozostają bez zmian. Trzeba by więc przyjąć wybiórcze działanie na pewne obszary naczyniowe mózgu. Naczyniowego wpływu amoniaku wykluczyć się nie da, zwłaszcza że *Schieve* i *Wilson* stwierdzili zwężenie naczyń i wzrost oporu naczyniowego w następstwie podania amoniaku do krążenia mózgowego. Wybiórcze działanie na pewne strefy naczyniowe nie jest również wykluczone w związku z obserwacjami *Sokoloffa* nad krążeniem w różnych okolicach mózgu.

Poza naczyniowym możliwe jest blokujące działanie amoniaku na cykl *Krebsa* poprzez związanie kwasu  $\alpha$ -ketoglutazarowego (*Clark* i *Eiseman*). Badania *Tordy* wskazują wreszcie na możliwość blokowania przez amoniak cholinacetylazę, co prowadzić może do znacznego zmniejszenia acetylocholino w tkance mózgowej. Szczególne znaczenie posiadają badania *Ulshafera* na szczurach, u których po wstrzyknięciu węglanu amonu stwierdził zmniejszenie poziomu acetylocholino w mózgu. Autor ten tłumaczy opisany fakt działaniem amoniaku na przemianę kwasu glutaminowego w glutaminę.

Pojawianie się dodatnich potencjałów wywołanych i dodatnich fal w EEG po miejscowym podaniu soli amonowych nasuwa przypuszczenie, że synapsy hamujące są bardziej odporne na działanie amoniaku niż synapsy pobudzające. Interpretacja ta oparta jest o teorię *Purpury* i *Grundfesta* co do genezy potencjałów wywołanych. Depresja lub odwrócenie wrzeczion w okresie, gdy potencjały korowe są niezmienione (wstrzyknięcia dożylnie i dotętnicze) nasuwa wrażenie, że wrzeczona barbiturowe, zjawisko analogiczne lub nawet identyczne z odpowiedzią rekrutacyjną (*recruiting response*) *Dempseya* i *Morrisona* powstaje w innych strukturach korowych niż potencjały wywołane.

Nasilenie wrzeczion barbiturowych, występujące po podaniu soli amonowych do krążenia, można określić jako hipersynchronizację i wyraz pogłębienia snu, być może na skutek działania amoniaku na międzymózgowie i śródmózgowie.

Dawki używane przez mnie były mniejsze niż te, które stosowali autorzy wymienieni na wstępie. Mimo to jest mało prawdopodobne, aby w sytuacjach fizjologicznych następowały stany dające się porównać np. z dotętnicznym wstrzyknięciem soli amonowej. Należy jednak pamiętać, że przy drgawkach epileptycznych, przy elektrycznych czy chemicznych wstrząsach leczniczych poziom amoniaku we krwi może wzrastać bardzo gwałtownie, osiągając w ciągu kilku minut stężenie kilkudziesiąt razy większe niż w normie. U ludzi po intensywnym wysiłku poziom amoniaku we krwi

może wzrosnąć do 3  $\gamma$ /ml (*Schwarz, Lawrence, Roberts*), tzn. kilkaset procent, ponieważ norma wynosi 0,5—1,0  $\gamma$ /ml.

Doświadczenia moje nie potwierdziły, jak sądzę, teorii wysuwanej przez *Junga i Caspersa*, wg których zmiany w EEG i EP (zmniejszenie i odwrócenie) byłyby skutkiem przesunięcia potencjału polaryzacji kory. Przesunięcie to wyprzedzało lub podążało za zmianami w EEG i EP, zdarzało się, że te same efekty pojawiały się równocześnie z różnymi co do kierunku przesunięciami potencjału stałego, wreszcie przy tym samym poziomie potencjału stałego występowały w EEG obok siebie zespoły wrzecion dodatnich i ujemnych.

#### WNIOSKI

1. Podawanie soli amonowych miejscowo na korę półkul mózgowych oraz do krążenia mózgowego i ogólnego u kota w narkozie barbiturowej, powoduje depresję aktywności elektrycznej kory oraz efekt charakteryzujący pogłębianie się snu narkotycznego.

2. Zmiany te wydają się być zależne od wprowadzenia jonu amonowego, niezależnie od pH i od reszty kwasowej soli amonowej.

3. Wspomniane efekty mogą być skutkiem działania amoniaku na metabolizm podstawowy tkanki nerwowej, na syntezę acetylocholino, nie można jednak wykluczyć możliwości pośredniego działania amoniaku na naczynia mózgowe.

4. Odwracanie biegunowości wrzecion i potencjałów bezpośrednio wywołanych, w interpretacji opartej na doświadczeniach i teorii *Purpury i Grundfesta*, może przemawiać za większą odpornością synaps hamujących powierzchniowych warstw kory na depresyjne działanie amoniaku.

5. Rozbieżności między wpływem wstrzyknięć amoniaku na wrzeciona barbiturowe i potencjały bezpośrednio wywołane mogą stanowić przesłankę świadczącą o lokalizacji obydwu zjawisk w odrębnych strukturach korowych.

6. W opisanych doświadczeniach nie stwierdzono korelacji między poziomem napięcia stałego kory, a zmianami w EEG i potencjałach bezpośrednio wywołanych.

#### II. Ленартович

### ВЛИЯНИЕ АМОНОВЫХ СОЛЕЙ НА ЭЛЕКТРОКОРТИКОГРАММУ И КОРТИКАЛЬНЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ НЕПОСРЕДСТВЕННЫМ РАЗДРАЖЕНИЕМ

#### Содержание

У 36 кошек под барбитуровым наркозом подавались различные амонные соли: на поверхность мозга, в мозговое кровообращение и внутривенно. Исследовалась электрокортикограмма области *g. suprasylvius med.*, непосредственно вызванные потенциалы и постоянный потенциал коры в той самой области.

Локальное подавание солей уменьшало спонтанную и вызванную-биоэлектрическую активность коры. Изменение полярности барбитуровых веретен и вызванных

потенциалов, которое наблюдалось в этих опытах, интерпретировалось как эффект большей устойчивости тормозящих синапс в поверхностных слоях коры. При внутриартериальном введении, в зависимости от степени наркоза, наблюдались несколько другие эффекты. В общем они заключались во временном заторможении спонтанной активности коры при одновременном отсутствии изменений в вызванных потенциалах. У животных в неглубоком наркозе в более позднем периоде временно появлялись очень резко выраженные и синхронизированные барбитуровые веретена. Внутривенные впрыскивания приводили к уменьшению амплитуды основного ритма с исчезновением либо обратным перемещением барбитуровых веретен. В позднем периоде также наблюдались явления гиперсинхронизации. Вызванные потенциалы после внутривенного введения солей незначительно уменьшались. Постоянный потенциал коры передвигался в положительную сторону после внутриартериальных инъекций; после внутривенных изменений отличались разносторонним направлением. Контрольные введения натриевых солей не отличались какими-либо заметными изменениями в исследуемых явлениях.

В дискуссии исключается явление „spreading depression“ и влияние pH и кислотных остатков, а учитывается что отмеченные изменения были обусловлены введением аммониевого иона. Приводится депрессивное влияние аммиака, учитывая возможность воздействия со стороны сосудов, влияния на основной метаболизм и ацетилхолиновый синтез. Гиперсинхронизация электро-энцефалографической картины интерпретируется как эффект воздействия аммиака на промежуточный и средний мозг.

На основании изменений потенциалов, вызванных непосредственно, при внутриартериальном и внутривенном введении аммониевых солей выдвинуто предположение, что локализация этих потенциалов возможна также в других кортикальных структурах, кроме тех, которые вызывают барбитуровые веретена.

*P. Lenartowicz*

## THE EFFECT OF AMMONIUM SALTS ON THE ELECTROCORTICOGRAM AND CORTICAL DIRECT EVOKED POTENTIALS

### *Summary*

Various ammonium salts were applied to the cortex surface and injected into the cerebral circulation and intravenously in experiments on 36 cats under barbiturate anaesthesia. Electro corticograms from the G. suprasylvius med. and cortical direct evoked and steady potentials of that region were studied. The reversed polarity of the barbiturate spindles and evoked potentials observed in the experiments are interpreted as a manifestation of greater resistance of the inhibitory synapses in the superficial cortex layers to ammonia. The effects of intraarterial administration were somewhat different and dependent on the depth of the anaesthesia; on the whole they consisted of temporary extinction of the cortex spontaneous activity with no changes in the evoked potentials. In animals under superficial anaesthesia there later temporarily appeared pronounced and synchronized barbiturate spindles. Intravenous injections depressed the basic rhythm amplitude and suppressed the barbiturate spindles or reversed their polarity. In the later period also changes of the type of hypersynchrony were observed. Evoked potentials were somewhat diminished after intravenous injections. After intraarterial injections there was a positive shift in the cortex steady potential; after intravenous injections the shifts were erratic. Control injections of sodium salts caused no perceptible changes in the phenomena investigated.

In the discussion the phenomenon of „spreading depression” and the effects of pH and acid radicals are discounted and the changes observed are as attributed to the introduction of the ammonium ion. The depressive action of ammonia is discussed taking into account its possible effects on vessels, basal metabolism and acetylcholine synthesis. Hypersynchrony is interpreted as a manifestation of the influence of ammonia on the diencephalon and mesencephalon.

Since direct evoked potentials react differently to intraarterial and intravenous injections of ammonium salts, the suggestion is made that they derive from cortical structures other than those responsible for barbiturate spindles.

#### PIŚMIENNICTWO

1. *Adrian E. D.*: J. *Physiol.*, 1936, 88, 127.
2. *Benitez D., Pscheidt G. R., Stone W. E.*: *Am. J. Physiol.*, 1954, 176, 488.
3. *Caspers H.*: *Pflügers Arch.*, 1959, 269, 157.
4. *Clark G. M., Eiseman B.*: *N. Engl. J. Med.*, 1958, 259, 178.
5. *Cohn R., Ulshafer T. R.*: *Nature*, 1958, 182, 1735.
6. *Dempsey E. W., Morrisson R. S.*: *Amer. J. Physiol.* 1941 42 B. 135, 281.
7. *Eiseman B., Clark G. M.*: *Surgery*, 1958, 43, 476.
8. *Hodgman Ch. D. (Ed.)*: *Handbook of Chemistry and Physics Chem. Rubber Publ. Co. 37 Ed. 1955—56, str. 1639.*
9. *Jung R.*: *Klin. Wschr.*, 1958, 36, 1153.
10. *Leao A. A. P.*: *J. Neurophysiol.*, 1944, 7, 359.
11. *Leao A. A. P., Ferreira H. M.*: *Anals acad. brasil. cienc.*, 1954, 26, 17.
12. *Marshall W. H., Bernard G. L., Landefeld M., Adkins F. J., Witkin L. B.*: *EEG a. Clin. Neurophysiol.*, 1952, 4, 375.
13. *Marshall W. H.*: *Physiol. Revs.*, 1959, 39, 239.
14. *Morfori P.*: *Arch. Exp. Path. u. Pharmak.*, 1894, 33, 71.
15. *Poser Ch. M.*: *EEG a. Clin. Neurophysiol.*
16. *Prawdicz-Neminskij W. W.*: *Elektrocerebrografia i elektromiografia ...Leningrad 1958.*
17. *Purpura D. P., Girado M., Smith T. G., Callan D. A., Grundfest H.*: *J. Neurochem.*, 1959, 3, 238.
18. *Schieve J. F., Wilson W. P.*: *J. Clin. Invest.*, 1953, 32, 33.
19. *Schmitt O. H., Dubbert D. R.*: *Rev. Sci. Instrum.*, 1949, 20, 170.
20. *Schwarz A. E., Lawrence W. Jr., Roberts K. E.*: *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.*, 1958, 98, 548.
21. *Sokoloff L.*: *New Research Techniques of Neuroanatomy, Ch. O. Thomas Publ. Springfield, 1957, 51.*
22. *Stabenau J. R., Warren K. S., Rall D. P.*: *J. Clin. Invest.* 1959, 38, 373.
23. *Torda C.*: *J. Pharmacol. a. Exp. Ther.*, 1953, 107, 197.
24. *Ulshafer T. R.*: *J. Lab. a. Clin. Med.*, 1958, 52, 718.
25. *Van Harreveld A.*: *J. Neurochem.*, 1959, 3, 300.
26. *Vrba R., Folberg J., Kanturek V.*: *J. Neurochem.*, 1958, 2, 187.
27. *Warren K. S.*: *J. Clin. Invest.*, 1958, 37, 497.
28. *Warren K. S., Nathan P. S.*: *J. Clin. Invest.*, 1958, 37, 1724.
29. *Władimirow G. E.*: *Fizjoł. Žurn. S. S. S. R.*, 1953, 39, 3.

Otrzymano: 20. 9. 1960.

Adres autora: Zakład Fizjologii P. A. N. Warszawa 36, ul. Chełmska 27/37.