Učinak prekida komunikacije na različitim mjestima unutar likvorskoga sustava na tlak i volumen likvora

Jurjević, Ivana

Doctoral thesis / Disertacija

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:548108

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository



Središnja medicinska knjižnica

Jurjević, Ivana (2014) ***Učinak prekida komunikacije na različitim mjestima unutar likvorskoga sustava na tlak i volumen likvora.*** **Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

http://medlib.mef.hr/2178

University of Zagreb Medical School Repository
http://medlib.mef.hr/

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Ivana Jurjević

Učinak prekida komunikacije na različitim mjestima unutar likvorskoga sustava na tlak i volumen likvora

DISERTACIJA

Zagreb, 2014.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Ivana Jurjević

Učinak prekida komunikacije na različitim mjestima unutar likvorskoga sustava na tlak i volumen likvora

DISERTACIJA

Zagreb, 2014.

Disertacija je izrađena u Zavodu za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i na Hrvatskom institutu za istraživanje mozga u Zagrebu.

Mentor: prof.dr.sc. Marijan Klarica

Zahvaljujem svom mentoru, prof.dr.sc. Marijanu Klarici na pomoći u organizaciji istraživanja, savjetima, ideji i poticajnim raspravama tijekom izrade ovog rada.

Također zahaljujem svojim prijateljima i suradnicima, doc.dr.sc. Milanu Radošu na izradi slika, dr.sc. Sandri Nakić-Radoš i Mihaelu Kozini na pomoći oko statističke obrade podataka, te ing. med. dijagnostike Ljiljani Krznar na pomoći u izvođenju eksperimentalnog dijela doktorata.

Hvala i svim drugim suradnicima na Zavodu za farmakologiju i Hrvatskom institutu za istraživanje mozga na pomoći pri izradi ovog rada.

Mojoj obitelji hvala na strpljenju i podršci.

SADRŽAJ

1. UVOD I DOSADAŠNJE SPOZNAJE 1

1.1. Cerebrospinalna tekućina (likvor) 2

1.2. Klasični koncept fiziologije likvora 3

1.2.1. Sekrecija 5

1.2.2. Cirkulacija 6

1.2.3. Apsorpcija 6

1.3. Nova hipoteza fiziologije likvora 7

1.4. Intrakranijski tlak 8

1.5. Metode određivanja sekrecije likvora 14

1.6. Elastična svojstva dure mater 16

1.7. Razvoj volumetrije 17

2. OBRAZLOŽENJE TEME 19

3. MODELI I METODE 22

3.1. Novi model kraniospinalnog likvorskog sustava 23

3.1.1. Vrste pokusa 24

3.2. Snimanje na MR uređaju i volumetrijska analiza 25

3.3. Priprema umjetnog likvora 28

3.4. Eksperimentalni model mačke 28

3.4.1. Vrste pokusa 32

3.5. Eksperimentalni model kunića 34

3.5.1. Vrste pokusa 38

3.6. Statistička obrada 39

4. REZULTATI 40

4.1. MR volumetrija modela kod oduzimanja i dodavanja umjetnog likvora 40

4.2. Usporedba promjena tlaka umjetnog likvora na modelu i tlaka likvora kod mačaka u horizontalnom i uspravnom položaju 41

4.3. Promjene tlaka likvora u različitim dijelovima likvorskog sustava mačaka kod promjena položaja tijela prije i nakon blokade Sylvijevog akvedukta 42

4.4. Promjene tlaka likvora u različitim dijelovima likvorskog sustava mačaka kod promjena položaja tijela prije i nakon cervikalne stenoze 47

4.5. Promjene tlaka likvora u kraniju kod dodavanja i oduzimanja različitih volumena likvora 50

4.6. MRI volumetrija likvorskog sustava kunića prije i nakon dodavanja 2 ml likvora u cisternu magnu 54

5. RASPRAVA 56

5.1. Pouzdanost novog modela kraniospinalnog likvorskog sustava 59

5.2. Učinak prekida komunikacije na različitim mjestima unutar likvorskog sustava na tlak likvora 61

5.3. Učinak promjene volumena likvora na tlak likvora i MR volumetrija 65

6. ZAKLJUČCI **68**

7. SAŽETAK **70**

8. SUMMARY **71**

9. LITERATURA **72**

10. ŽIVOTOPIS **84**

Popis kratica i oznaka

KSS – kortikalni subarahnoidni prostor

LSS – lumbalni subarahnoidni prostor

LK – lateralna komora

KP – koroidni pleksus

CSF – engl. cerebrospinal fluid – cerebrospinalna tekućina

aCSF- engl. artificial cerebrospinal fluid – umjetni likvor

CPP – engl. cerebral perfusion pressure – moždani perfuzijski tlak

CBF – engl. cerebral blood flow – moždani protok krvi

ICP – engl. intracranial pressure – intrakranijski tlak

MAP – engl. mean arterial pressure - srednji arterijski tlak

MR - magnetska rezonanca

FOV read – engl. field of view read –polje snimanja

TR – engl. time repetition – vrijeme ponavljanja

TE - engl. time echo – vrijeme uzorkovanja

SEM – engl. standard error of the mean – standardna greška srednje vrijednosti

i.p. – intraperitonealna primjena

i.v.-intravenska primjena

1. UVOD I DOSADAŠNJE SPOZNAJE

Povišen intrakranijski tlak još uvijek je, unatoč stoljećima proučavanja, jedan od vodećih uzroka smrtnosti u ljudi. Iako su istraživanja na tom polju do danas neprekinuta i iscrpna, nije došlo do značajnijih pomaka u liječenju istog. Odavno se zna kako promjene položaja tijela dovode do promjene intrakranijskog tlaka. Također je odavno poznato da prekid komunikacije u likvorskom sustavu na različitim razinama može, na neki način, dovesti do razvoja proširenja moždanih komora, tj. hidrocefalusa. Međutim, još je uvijek nepoznato zašto se navedeno stanje češće događa i bez dokazane opstrukcije unutar tog sustava.

Proučavanje cerebrospinalnog sustava i tekućine, te intrakranijskog volumena i tlaka potječe još iz antičkog doba. Međutim, tadašnji su liječnici pretpostavljali da se postojanje likvorske tekućine oko mozga može pripisati postojanju bolesti, te da se ona u kraniju ne nalazi kod zdravih pojedinaca (1). Godine 1764. prvi je puta Cotugno točnije opisao navedenu tekućinu koja se prema njemu nalazila oko mozga i kralježničke moždine, te je bila povezana sa tekućinom koja se nalazi unutar moždanih komora (2). Magendie je 1825 g. potvrdio Cotugnove navode, a uz navedeno opisuje i povezanost gibanja likvora sa disanjem, te navodi da je likvor pod određenim tlakom (3). Zatim su 1875. god. Key i Retzius napravili seriju pokusa na kadaverima, u kojima su pod tlakom injicirali boju u subarahnoidni prostor, te zaključili da se većina boje iz likvora apsorbira u moždane venske sinuse putem arahnoidnih resica (4). Postupak lumbalne punkcije 1891. godine Quincke uvodi u praksu, te tako počinje detaljnije proučavanje sastava likvora (5-7). Dandy i suradnici su pak napravili u literaturi često spominjan pokus na jednom psu, kojem su odstranili koroidni pleksus iz jedne lateralne komore, te zatim napravili opstrukciju na razini oba Magendijeva otvora. Uočili su da je komora bez koroidnog pleksusa kolabirala, dok se druga, koja ga je i dalje imala, proširila. Iz

toga su zaključili kako su koroidni pleksusi glavna mjesta stvaranja likvora. Spomenuti pokus na jednom psu i do danas je ostao jedan od temelja klasične hipoteze o cerebrospinalnom likvoru (5). Postoje i mnogi drugi radovi novijeg datuma na kojima se navedena klasična hipoteza temelji. U nekima od njih proučavane su i promjene intrakranijskog tlaka tijekom promjena položaja tijela, no sve promjene (negativitet tlaka pri uspravnom položaju) koje se nisu uklapale u klasični koncept patofiziologije likvora opisivane su kao kratkotrajne i prolazne, ili kao patološke (8-28).

1.1. Cerebrospinalna tekućina (likvor)

Cerebrospinalna tekućina (likvor) je bistra, bezbojna tekućina koja ispunjava moždane komore, zatim kraniospinalni subarahnoidni prostor, te srednišnji spinalni kanal. Likvor je sastavom vrlo nalik krvnoj plazmi. Najvećim dijelom sastavljen je od vode (99%), a za razliku od plazme ima nešto manje proteina, glukoze i kalija, te nešto više klorida. Te ostale tvari volumenom čine 1% likvora (8). Do sada se smatralo da ukupni volumen likvora u cijelokupnom likvorskom sustavu iznosi oko 150 ml (4), no prema novijoj literaturi čini se kako ukupni volumen likvora u odraslih ljudi iznosi nešto više nego što je do sada bilo poznato, a to je između 200-250 mL (29).

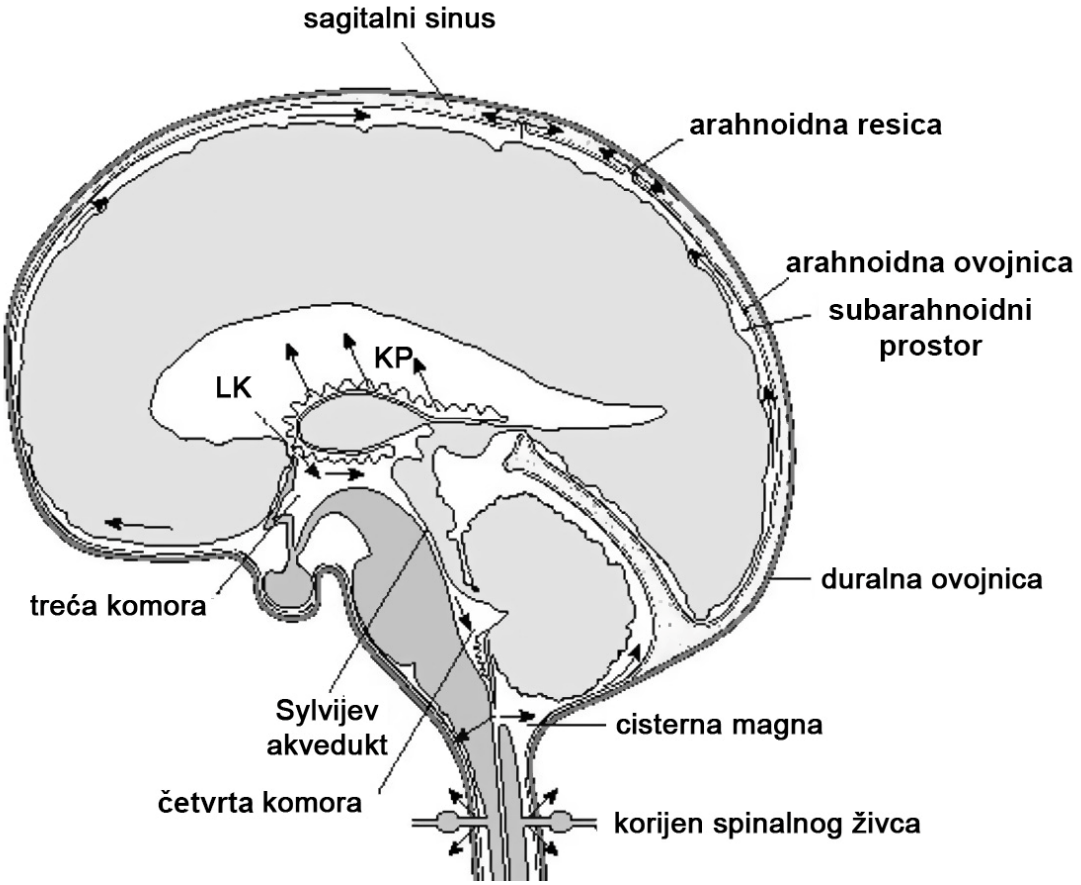
Likvor ima važnu ulogu u funkcioniranju središnjeg živčanog sustava. Kao prvo, masa mozga odrasle osobe, koja iznosi prosječno oko 1,5 kg na zraku, iznosi oko 50 g kada je mozak uronjen u likvor (postaje oko 30 puta manja) (9). Tako je inercijska sila kojom mozak udara u koštani oklop kranija unutar kojeg se nalazi tijekom raznih trauma glave i naglih pokreta tijela puno manja. Dakle, na ovaj način likvor značajno mehanički štiti mozak. Drugo, likvor omogućuje razrjeđivanje i odstranjivanje raznih produkata moždanog metabolizma koji

bi nakupljeni djelovali potencijalno štetno, pa likvor predstavlja „čistača“ mozga. Općenito se smatra kako je odlazak štetnih metabolita cirkulacijom likvora glavni put kojim te tvari napuštaju SŽS. I treće, općenito se vjeruje kako se cirkulacijom likvora prenose i određene korisne tvari kao što su primjerice hormoni hipotalamusa (8,10,14). Osim navedenog, vjeruje se i da je likvor važan u procesu razvoja mozga (30,31).

Posljednjih stotinjak godina razvijena je opće prihvaćena hipoteza fiziologije likvora (klasična hipoteza fiziologije likvora) s pomoću koje se tumači regulacija intrakranijskog tlaka, te na osnovu koje se objašnjava razvoj različitih patofizioloških stanja povezanih s likvorom (npr. hidrocefalus) i na kojoj je bazirana klinička praksa vezana za tretman takvih stanja.

1.2. Klasični koncept fiziologije likvora

Prema opće prihvaćenoj hipotezi, likvor nastaje većinom sekrecijom iz koroidnog spleta u lateralne moždane komore. Preostali dio secenira se iz stanica ependima koji oblaže stijenke komora. Zatim likvor, poput spore rijeke, jednosmjerno teče iz komora prema cisterni magni, pa iz nje dalje kroz subarahnoidni prostor. Tamo se preko arahnoidnih resica resorbira pasivno u duralne venske sinuse konveksiteta mozga, pod utjecajem razlike tlakova u likvorskom i venskom sustavu. Svi se ovi procesi (sekrecija, cirkulacija, apsorpcija) prema hipotezi događaju simultano. Naime, ako se likvor stvara isključivo na jednom dijelu likvorskog sustava (moždane komore), a apsorbira u drugom dijelu onda likvor mora i cirkulirati jednosmjerno od mjesta nastanka do mjesta apsorpcije. Dakle, brzina stvaranja likvora treba biti jednaka brzini apsorpcije likvora u normalnim fiziološkim uvjetima (Slika 1.1.).



Slika 1.1. Shema klasičnog koncepta sekrecije, jednosmjerne cirkulacije i apsorpcije cerebrospinalne tekućine. LK predstavlja lateralnu komoru, a KP koroidni pleksus.

1.2.1. Sekrecija

Klasični koncept patofiziologije cerebrospinalnog likvora polazi od pretpostavke da se proces sekrecije cerebrospinalne tekućine odvija najvećim dijelom (oko 70%) na razini koroidnih pleksusa, tj. spleta krvnih žila unutar ventrikularnog sustava, a ostatak preko ependima (oko 30%) (7,9,13). Krvne žile koroidnog pleksusa su histološki specifično građene, što znači da je endotel njihove stijenke fenestriran. U prvom dijelu sekrecijskog procesa tako se kroz navedene fenestre odvija ultrafiltracija plazme pod djelovanjem hidrostatskog tlaka koji postoji unutar kapilara. Zatim navedeni ultrafiltrat plazme prolazi kroz epitel na površini tih krvnih žila i ulazi u moždane komore. Navedeni drugi dio sekrecije kroz epitel odvija se kao aktivni metabolički proces, koji zapravo ultrafiltrat plazme pretvara u likvor. Taj aktivni proces zapravo je posljedica aktivnog transporta natrijevih iona putem natrijeve pumpe koja troši energiju, kroz epitelne stanice koroidnog pleksusa i ependima u likvor, suprotno kemijskom gradijentu, što posljedično pasivno slijedi i voda zbog nastalog osmotskog tlaka (32-36). Upravo zbog toga što se drugi dio sekrecije likvora smatra aktivnim procesom, pretpostavlja se da sekrecija likvora nije ovisna o postojećem intrakranijskom tlaku (37-41). Opće prihvaćenom metodom ventrikulo-cisternalne perfuzije dobivena je brzina sekrecije od 0,35 ml/min, što bi značilo da u toku jednog dana nastane oko 500 ml likvora (42). Kod mačaka, koje su bile eksperimentalne životinje u istraživanjima našeg laboratorija, ventrikulo-cisternalnom metodom je pokazano da prosječna brzina sekrecije iznosi oko 20-25 μL/min, tj. oko 29-36 mL dnevno (43,44).

1.2.2. Cirkulacija

Na temelju klasične hipoteze pretpostavlja se da likvor nakon sekrecije, poput spore rijeke, jednosmjerno teče sa mjesta stvaranja u lateralnim komorama, kroz inerventrikularne otvore (foramina Monroe) u treću komoru, zatim Sylvievim akveduktom u četvtru komoru, te iz nje kroz Magendijev središnji otvor i postranične Lushkine otvore u cisternu magnu. Pretpostavlja se kako najvećim dijelom likvor iz cisterne magne otječe u subarahnoidni prostor duž moždanog korteksa, a manjim dijelom (do sada nedefiniranim dijelom) i u spinalni subarahnoidni prostor, da bi se apsorbirao u duralne venske sinuse konveksiteta mozga (31). Naime, cijeli se ovaj proces cirkulacije likvora odvija ne samo potaknut kontinuiranim aktivnim procesom sekrecije, već i pod utjecajem gradijenta hidrostatskog tlaka koji postoji između likvorskog sustava i krvožilnih prostora venskih sinusa, zatim zbog djelovanja respiracije i srčane aktivnosti na širinu moždanih komora i subarahnoidnih prostora, te zbog pulzacija krvnih žila koroidnog pleksusa i pomicanja cilija ependima. Također, velik utjecaj na cirkulaciju likvora ima i promjena položaja tijela (7,31,45,46).

1.2.3. Apsorpcija

Prema navedenoj klasičnoj teoriji o cerebrospinalnom likvoru, isti se nakon pristizanja u subarahnoidni prostor apsorbira najvećim dijelom na području konveksiteta mozga u krv putem arahnoidnih resica koje su izbočene u venske sinuse. Pretpostavlja se da je apsorpcija, za razliku od sekrecije, pasivni proces koji se odvija kroz sloj mezotelijalnih stanica koje grade stijenku resice, a pod utjecajem razlike tlakova između krvi i likvora (osmotskog i hidrostatskog tlaka) (47,48). Istraživanja arahnoidnih resica pomoću elektronskog mikroskopa

pokazala su da se unutar mezotelijalnih stanica resica stvaraju vakuole koje omogućuju prijenos tekućine kroz stanicu (31,49,50,51). Također se pretpostavlja da količina apsorpcije likvora ovisi o intrakranijskom tlaku, tj. veća je što je veći tlak likvora, a prestaje kada intrakranijski tlak postane niži od 68 mmH_2O, tj. niži od tlaka unutar venskih sinusa (38,39). Osim navedenog, u literaturi su se opisivala i druga moguća mjesta apsorpcije likvora. Npr., Mot i Dandy su pretpostavljali apsorpciju svugdje u subarahnoidnom prostoru, kroz stijenke kapilara kao i u slučaju drugih tjelesnih tekućina (52,53). Brojna istraživanja na životinjama pokazala su mogućnost apsorpcije likvora putem perineuralnih prostora kao nastavaka subarahnoidnog prostora u limfne kapilare, a također i kroz otvore kribriformne ploče i nazalne limfne puteve u limfu (54-57). Neka istraživanja ukazala su i na apsorpciju likvora u tkivo mozga putem perivaskularnih prostora, resorpciju u koroidne pleksuse, resorpciju kroz arahnoidalne membrane (58-64).

1.3. Nova hipoteza fiziologije likvora

Novija istraživanja dovode u pitanje klasično shvaćanje fiziologije likvora (65,66). Naime, navedena metoda za određivanje količine seceniranog likvora, ventrikulo-cisternalna perfuzija, nema definirane čimbenike o kojima ovisi sam rezultat mjerenja, kao što su brzina i tlak perfuzije, veličina markera i njegova penetrantnost u tkivo. Također je najnovijim radiološkim metodama, kao što je magnetska rezonancija (MR), pokazano da likvor konstantno pulsira naprijed-nazad u ovisnosti i sinhrono sa radom srca, što dovodi u pitanje njegovu jednosmjernu cirkulaciju. Osim toga, i pokusi sa radioaktivnom vodom pokazali su da postoji slobodna izmjena vode između likvora i krvi u oba smjera duž cijelog kraniospinalnog prostora, što je u suprotnosti sa tvrdnjom da su duralni venski sinusi glavno mjesto apsorpcije likvora (67,75).

Zbog svega navedenog, te zbog rezultata najnovijih istraživanja na ovom polju (68-76), predlažemo novu hipotezu koja pretpostavlja da ne postoji sekrecija, jednosmjeno kretanje i apsorpcija likvora kako je predviđeno klasičnom hipotezom, već da je volumen likvora reguliran različitim hidrostatskim i osmotskim silama koje se javljaju između likvora, izvanstanične tekućine i krvi što protječe cerebralnim kapilarama, te da likvor prema istome može nastati i apsorbirati se bilo gdje unutar kraniospinalnog likvorskog sustava (77-79). Točnije, naša hipoteza pretpostavlja da se likvor neprekidno stvara i apsorbira se duž cijelog sustava zbog navedenih sila koje djeluju na filtraciju vode kroz stijenku arterijskih kapilara, kao i na reapsorpciju vode kroz stijenku venskih kapilara. Neravnoteža između navedenih sila i njihovog djelovanja prema tome bi dovela do promjene volumena likvora i na taj način i do promjene intrakranijskog tlaka. Vrlo važnu ulogu u održavanju homeostaze likvora ima i aktivni transport određenih tvari koje ne prolaze dobro kroz stijenke malih krvnih žila, te se duže vrijeme zadržavaju u likvoru i šire se u svim smjerovima duž likvorskog sustava zbog pulsacijskih pomaka i miješanja likvora uzrokovanih sistolom i dijastolom. Te tvari će, ovisno o koncentraciji, pratiti i voda, koja čini 99% ukupnog volumena likvora. Dakle, likvor se, prema navedenom, ne giba jednosmjerno, niti se secenira i apsorbira na pojedinim ranije određenim mjestima, već su navedena mjesta (koroidni pleksusi i venski sinusi konveksiteta) samo mali dio velike površine kapilarnog sustava u cijelom središnjem živčanom sustavu na kojima se navedeni procesi neprestano odvijaju (79).

1.4. Intrakranijski tlak

Pojam intrakranijskog tlaka označava tlak prisutan u kranijskom prostoru, tj. prostoru koji je sa tri strane čvrsto omeđen kostima lubanje, za koje je sa unutrašnje strane vezana

duralna ovojnica, dok je sa donje strane otvoren i spojen putem foramena magnuma sa spinalnim dijelom likvorskog sustava. Dakle, ovaj tlak odgovara tlaku likvora.

Dugi niz godina poznata je, i opće prihvaćena, Monroe-Kellijeva doktrina prema kojoj intrakranijski tlak, tj. tlak cerebrospinalne tekućine ovisi o interakciji triju volumena koji ispunjavaju kranij. To su volumeni krvi, moždanog parenhima, te likvora. Analizom MR snimki pokazano je da prosječan volumen mozga iznosi oko 1400 ml, krvi oko 75 ml, te likvora oko 150 ml (80). U normalnim uvjetima zbroj navedenih volumena je konstantan, tj. ako se koji od ta tri volumena poveća, morat će doći do kompenzatorne promjene, tj. smanjenja preostalih volumena. U suprotnome, povećao bi se intrakranijski tlak. S obzirom da je likvor u kraniju povezan sa spinalnim likvorom preko foramen magnuma, promjene tlaka likvora u jednom dijelu neprekinutog likvorskog sustava brzo se prenose na ostale dijelove. To omogućuje da se mjerna kanila može postaviti u bilo koji dio likvorskog sustava, a preko nje je moguće pratiti promjene tlaka likvora unutar čitavog sustava.

Prema istoj doktrini, promjene navedenih volumena u kraniju glavni su čimbenici koji određuju promjene intrakranijskog tlaka kod promjena položaja tijela. Te se promjene volumena, odnosno njihova „preraspodjela“, događaju pod utjecajem sile gravitacije i raznih autoregulacijskih mehanizama. Smatra se da pri uspravljanju tijela dolazi do smanjenja volumena krvi u gornjim dijelovima kraniospinalnog prostora, tj. do kolapsa vena, dok u donjim dijelovima dolazi do njihovog rastezanja. Uz navedeno, misli se da se pri uspravljanju likvor brzo, ali kratkotrajno pomiče iz kranija u spinalni sustav, što omogućava rastezljivost spinalne dure koja je samo djelomično vezana za koštani okvir. Ključan je podatak kratkotrajnost takve promjene tlaka, jer se pretpostavlja da likvorski tlak mora brzo ponovno postati pozitivan zbog njegovog neprekidnog stvaranja, cirkulacije i apsorpcije.

Tehnike za mjerenje intrakranijskog tlaka su različite, a sve moraju ispunjavati neke osnovne uvjete, kao što su: minimalan rizik nastanka infekcije, jednostavnost uporabe aparature, točnost i preciznost u mjerenju. U početku su se mjerenja likvorskog tlaka vršila pomoću igle postavljene u lumbalni likvorski prostor, ili u cisternu magnu. Na slobodan kraj igle okomito je postavljana plastična cjevčica u koju je, ovisno o tlaku, izlazio likvor i podizao se do određene razine, a prema toj razini (mjerena je visina u cm) zaključivalo se o likvorskom tlaku. Takva tehnika je, međutim, imala brojne nedostatke. Naime, nisu bili standardizirani bitni parametri mjerenja, kao npr. promjeri upotrebljavanih cjevčica, a osim toga sustav nije bio zatvoren, već je bio izložen djelovanju atmosferskog tlaka. I na kraju, ovakva tehnika mjerenja izlagala je pacijente riziku od infekcije. Bitan napredak postignut je kada su Guillaume i Janny (81) 1951. god. u praksu uveli pretvarač tlaka. On je tlak stupca vode pretvarao u električni signal, što se naziva „fluid-coupled system“. Međutim, tek je Niels Lundberg 1960. god. uspio ovakvo mjerenje promaknuti u „zlatni standard“ nakon što je objavio svoju monografiju dotadašnjih spoznaja o likvorskom tlaku (82). U njoj je opisao seriju od 143 pacijenta kojima je kontinuirano mjerio tlak likvora preko kanile postavljene u lateralnu komoru, a priključene na pretvarač tlaka. Ta je tehnika i danas „zlatni standard“ mjerenja likvorskog tlaka. Kod mjerenja je bitno odrediti referentnu točku za baždarenje pretvarača tlaka. Obično se kao nulta točka uzima visina foramena Monroe, tj. vanjski slušni otvor (83,84). Danas postoje i neki drugi načini mjerenja likvorskog tlaka, pri kojima se membrana pretvarača tlaka postavlja direktno na duru jer se pokazalo da epiduralni i likvorski tlak dobro koreliraju. To su takozvani „non-fluid coupled systems“. Prednost ovakve tehnike je ne otvaranje dure, što uvelike smanjuje rizik od komplikacija za pacijenta (85-87). Internacionalna jedinica za mjerenje likvorskog tlaka je Pascal (Pa), ali se osim nje još uvijek koriste i jedinice cmH_2O, te mmHg. Mi smo za naša istraživanja koristili cmH_2O da bi lakše uspoređivali anatomske veličine modela i životinja sa vrijednostima tlaka (1 kPa=7,5

mmHg=10,2 cmH_2O). Normalne vrijednosti likvorskog tlaka kod zdravih odraslih pojedinaca, mjerenog u bočnom ležećem položaju iznose između 6 i 20 cmH_2O (88), dok se kod djece ta vrijednost kreće između 2 i 10 cmH_2O. U velikom istraživanju koje je Magnaes proveo na zdravim i bolesnim pojedincima (18) promatrao je kako promjene položaja tijela i glave utječu na tlak likvora. Dok su ispitanici u horizontalnom položaju, tlak likvora je jednakih vrijednosti u svim dijelovima likvorskog sustava. Međutim, kod uspravljanja se takva situacija mijenja na način da likvorski tlak lumbalno raste do vrijednosti od oko +50 cm H_2O, dok tlak u lateralnoj komori pada na negativne vrijednosti, od oko -15 cm H_2O. Takve promjene pokušale su se objasniti utjecajem sile gravitacije na stupac tekućine, tj. likvora, i utjecajem kompenzatornih regulacijskih mehanizama kao što su vazokonstrikcija i vazodilatacija krvnih žila mozga (18-20). Magnaes je također u svom istraživanju uočio da se vrijednost od 0 cmH_20 likvorskog tlaka u uspravnom položaju nalazi u prosjeku negdje u razini trećeg cervikalnog kralješka, tj. između okcipitalne protuberancije i trećeg torakalnog kralješka. Zbog navedenih opaženih učinaka položaja tijela na tlak likvora uobičajeno je da se bolesnici sa povišenim intrakranijskim tlakom postavljaju u položaj sa glavom prema gore, pod kutem tijela od 30 stupnjeva (89-91).

Vrijednosti tlaka likvora ni u fiziološkim uvijetima nisu konstantne nego osciliraju jer ovise o radu srca i disanju. Pod utjecajem disanja javljaju se spore oscilacije amplitude između 2 i 5 mmHg, a sa radom srca sinhrone su brže oscilacije amplitude između 1 i 2 mmHg. Dakle, tlak likvora smanjuje se u dijastoli, i za vrijeme inspirija, dok se povećava u sistoli, i za vrijeme ekspirija (92). U svom radu Bering je našao kako su oscilacije tlaka posljedica pulsacija koroidnog pleksusa (93), ali danas se ipak vjeruje da su posljedica pulsacija krvnih žila Willisijevog kruga (92,94,95). Kod izrazitog pada, a i kod porasta likvorskog tlaka dolazi do porasta amplituda navedenih oscilacija, pa se preko njih može

zaključivati o kompenzacijskim mogućnostima likvorskog sustava. Osim navedenih, i svakodnevne aktivnosti kao što su kašljanje i kihanje, defekacija, podizanje tereta, a koje povećavaju intraabdominalni i intratorakalni tlak, uzrokuju pojavu kratkotrajnih oscilacija vrijednosti likvorskog tlaka visokih amplituda. Takve aktivnosti dovode do porasta centralnog venskog tlaka, što se preko jugularnog i epiduralnog venskog sustava prenosi na tlak likvora.

Kod povišenog tlaka likvora se, osim navedenih fizioloških oscilacija, nalaze i patološke. Prema Lundbergu (82), koji ih je opisao, nazivaju se A, B i C valovi. A- valovi („plateau waves“) javljaju se kada su kompenzacijski mehanizmi intrakranijskog prostora blizu iscrpljenja (82,88). Traju oko 5- 20 minuta i pokazuju vrlo visoke vrijednosti tlaka likvora, iznad 50 mmHg. Vjerojatno su posljedica vazodilatacije moždanih krvnih žila, te povećanja cerebralnog volumena krvi bez povećanja cerebralnog protoka krvi (10). B-valovi pojavljuju se frekvencijom jednom u toku 1-2 minute, u obliku kratkotrajne serije oštrih valova, a sinhrono sa fazama respiracije kod periodičkog disanja (10,88). Vjerojatno su pokazatelj promjena pCO_2 u krvi. C-valovi imaju manje amplitude od B-valova, frekvenciju od 4-8 puta u minuti, te se pojavljuju sinhrono s oscilacijama krvnog tlaka. Mogu se vidjeti i kod zdravih osoba (10,88).

Inače su mogućnosti kompenzacije likvorskog sustava relativno velike. To se može najbolje vidjeti u situacijama kao što su veliki ekspanzivni procesi koji se javljaju unutar kranija a mogu postojati i bez značajnijeg porasta intrakranijskog tlaka (9,10,88). Isto tako mogu se eksperimentalno izazvati slične situacije, npr. dodavanjima različitih volumena u kranij, ponovo bez većih promjena likvorskog tlaka. Takva činjenica pokušala se objasniti na slijedeće načine: povećanom resorpcijom likvora (9,88), te raspodjelom likvora iz kranijskog u spinalni prostor, zatim promjenom intrakranijskog volumena krvi putem vazokonstrikcije,

svojstvom elastičnosti spinalne dure (9,96), te također i svojstvom plastičnosti parenhima mozga (88).

Kompenzacijske mogućnosti likvorskog sustava opisuju se i vidljive su iz vrijednosti pojmova podatnost („compliance“), te nepodatnost („elastance“). Navedeni pojmovi proizlaze iz međuodnosa promjena intrakranijskog tlaka i volumena. Taj je odnos eksponencijalan. Podatnost opisuje odnos $\Delta V/\Delta P$, a to je omjer nekog volumena dodanog u kranij, te tim volumenom izazvane promjene intrakranijskog tlaka. Nepodatnost opisuje odnos $\Delta P/\Delta V$, a to je određena promjena intrakranijskog tlaka, te nekog volumena koji je izazvao takvu promjenu. Obje vrijednosti eksperimentalno se određuju dodavanjem određenog volumena u likvorski sustav, te nakon toga promatranjem kako se mijenja likvorski tlak. U kliničkoj praksi pak, postoje dva testa koji služe za mjerenje podatnosti, tj. nepodatnosti. Prvi test u praksu je uveo Miller (97), a njime se mjeri nepodatnost intrakranijskog prostora tako što se injicira 1 ml tekućine u lateralnu komoru ili subduralni prostor, te se mjeri porast likvorskog tlaka. Ovaj test naziva se VPR-test (eng. volume-pressure response test). Ako u ovakvom slučaju dođe do porasta likvorskog tlaka za više od 3 mmHg/ml, to pokazuje da su kompenzacijski mehanizmi na rubu iscrpljenja. Drugi test u praksu je uveo Marmarou (98), a njime se mjeri podatnost intrakranijskog prostora. Ovaj test naziva se PVI-test (eng. pressure-volume index test), a PVI se definira kao volumen tekućine koji je potrebno injicirati u likvorski sustav da bi se izazvalo deseterostruko povećanje intrakranijskog tlaka. U klinici se ipak izazivaju nešto manje promjene tlaka, a naknadno se pomoću poznatih formula izračunava vrijednost PVI. Kod odraslih, normalan PVI iznosi oko 25 ml dodane tekućine, dok je kod djece taj volumen 8 ml.

Često u bolesnika sa različitim bolestima kompenzacijski mehanizmi kranijskog prostora bivaju nadvladani, što dovodi do smanjenja cerebralnog perfuzijskog tlaka (razlika

između srednjeg arterijskog i likvorskog tlaka u kraniju) i posljedično do smrti moždanih stanica. Ona dalje pogoršava stanje te se zatvara začarani krug. Raznolike su metode liječenja, od konzervativnih (hiperventilacija, hiperosmolarne otopine) do kirurških (kranijektomija). Često su unatoč svim naporima navedene mjere neuspješne, što je posljedica nedovoljnog poznavanja fiziologije likvora i regulatornih mehanizama intrakranijskog tlaka. Zbog razvoja tehnologije danas postoje i nove metode kojima se može promatrati volumen likvora te njegovo kretanje, ili nedostatak istog.

1.5. Metode određivanja sekrecije likvora

Postoje različite metode određivanja sekrecije likvora. Najpoznatija i do danas najprihvaćenija je perfuzija likvorskih prostora (ventrikulo-cisternalna, ventrikulo-akveduktalna). Perfuzijsku metodu utemeljili su Heisey i Pappenheimer sa suradnicima 1962. godine (99), radeći pokuse na kozama. U svojim pokusima perfundirali su prostore od lateralnih ventrikla do cisterne magne umjetnim likvorom koji je sadržavao markersku molekulu. Određivanje sekrecije likvora temeljilo se na pretpostavci da se razrjeđenje test supstance tijekom prolaska kroz likvorski sustav može dogoditi jedino zbog stvaranja novog likvora, i da stupanj razrijeđenja ovisi o količini novostvorenog likvora. Sekrecija se određuje indirektno, izračunavanjem jednadžbom koja je slična jednadžbi za izračunavanje glomerularne filtracije u bubrezima (37). Pokus se izvodi tako da se jedna kanila uvede u lateralnu komoru, druga u cisternu magnu. Na ulaznu kanilu spoji se plastična cjevčica koja je povezana sa štrcaljkom, dok je štrcaljka pak priključena na perfuzijsku pumpu, te se na taj način određenom konstantnom brzinom perfundira lateralna komora umjetnim likvorom sa razrijeđenom testnom supstancom. Na izlaznu kanilu spojena je plastična cjevčica u koju se skuplja perfuzat. Hidrostatski tlak pod kojim se perfuzija vrši određuje se postavljanjem

izlazne cjevčice ispod ili iznad vanjskog slušnog otvora, koji predstavlja nultu vrijednost. Ova bi metoda međutim, da bi davala pouzdane rezultate, morala zadovoljavati određene kriterije, kao npr. da se test supstanca na svom putu kroz likvorski sustav ne smije apsorbirati u okolno tkivo, te se likvor mora doista isključivo stvarati u lateralnim komorama i apsorbirati u subarahnoidnom prostoru (100-104). Pappenheimer i suradnici navedenom serijom pokusa dobili su da se sekrecija likvora odvija prosječnom brzinom od 0,16 mL/min.

Osim navedene metode, za određivanje sekrecije likvora u našem laboratoriju korištena je i direktna ventrikulo-akveduktalna metoda (106), kao modifikacija metode Flexnera i Wintersa (105), kod koje se direktno u akvedukt kroz vermis eksperimentalne životinje uvodi plastična kanila, dok se prostor oko nje ispuni fibrinom i zatvori cijanoakrilatnim ljepilom. Druga kanila se uvodi u lateralnu komoru te se kroz nju vrši perfuzija. Pokusi su u našem laboratoriju rađeni na mačkama. Pretpostavka da sav likvor prolazi iz lateralnih komora kroz akvedukt prema subarahoidalnom prostoru kako pretpostavlja klasična hipoteza, značila bi da sav perfundirani umjetni likvor u lateralne komore mora izaći kroz izlaznu kanilu iz akvedukta. Rezultati su pokazali da, pri fiziološkom tlaku, bez perfuzije umjetnog likvora na vrhu izlazne kanile likvor pulsira, ali ne istječe, a pri perfuziji lateralnih komora konstantom brzinom nema razlike između brzine ulaznog i izlaznog perfuzata, tj. nema stvaranja novog likvora (75,106).

Od ostalih metoda koje se koriste pri određivanju sekrecije likvora postoje još i sakupljanje likvora sa površine koroidnog pleksusa (Rougemont) (107), mikropunkcija glavne vene koroidnog pleksusa (Welch) (60), radiografska metoda (108), manometrijska metoda (108), upotreba magnetske rezonance (110), ekstrakorporalna perfuzija koroidnog pleksusa (109), izolacija koroidnog pleksusa u komori (111), i sl. Ni jedna od navedenih metoda nije se do danas pokazala potpuno preciznom.

Prema klasičnom konceptu patofiziologije cerebrospinalnog likvora, određivanjem sekrecije likvora moglo bi se indirektno zaključiti i o ukupnom volumenu likvora u likvorskom sustavu. Mi smo, korištenjem volumetrijske metode, pokazali da sekrecija likvora i ukupni volumen likvora u sustavu ne koreliraju kao što bi se to prema klasičnom konceptu očekivalo (112-118).

1.6. Elastična svojstva dure mater

Dura mater, ili tvrda moždana ovojnica sa svih strana okružuje živčani sustav, te je zbog svojih svojstava (elastičnost koja proizlazi iz građe) bitna u slučajevima povišenog intrakranijskog tlaka, u smislu da donekle omogućuje njegovu kompenzaciju (119,120). Postoji bitna razlika između spinalne i kranijske dure. Prva je samo djelomično srasla za okolne kosti, a većim dijelom od njih je odvojena masnim tkivom spletovima krvnih žila. Kranijska dura za kosti kranija srasla je gotovo čitavom površinom, osim u području duplikatura venskih sinusa. Iz navedenog proizlazi kako je rastezanjem spinalne dure moguće promijeniti volumen likvorskog prostora koji ona okružuje, dok je volumen likvorskog prostora unutar kranija skoro nepromijenjiv.

Histološka građa spinalne dure također je specifična: građena je od kolagenih i elastičnih vlakana. Kolagena vlakna imaju longitudinalni smjer, dok tanja elastična vlakna mogu biti postavljena u svim smjerovima (22). Iz ovakve specifične građe proizlaze dva osnovna svojstva spinalne dure: plastičnost (omogućuje prilagodljivost kod promjena volumena unutar nje) te čvrstoća (važna za protekciju kralješničke moždine od oštećenja). U seriji pokusa na psima (22) nađeno je da je normalno spinalna dura gotovo potpuno rastegnuta u longitudinalnom smjeru, dok pri opterećenju dolazi do daljnjeg istezanja dure u dva stupnja. U prvom stupnju opterećenja masom do 50 grama modul elastičnosti spinalne dure iznosi $39,9x10^2$ N/cm^2, dok pri daljnjem opterećenju od 50 do 150 grama taj modul elastičnosti raste

na $46{,}3x10^2$ N/cm^2. Prema istraživanjima, kod manjeg opterećenja spinalna dura rasteže se zbog istezanja elastičnih, a pri većim opterećenjima zbog rastezanja kolagenih niti. Također treba napomenuti da su u normalnim uvjetima longitudinalna elastična vlakna već skoro potpuno istegnuta, dok se transverzalna vlakna mogu dodatno istegnuti. Upravo ta vlakna omogućuju da se kod dodatnog opterećenja spinalna dura širi u obujmu. Brojni pokusi na pacijentima pokazali su da spinalna duralna vreća može značajno mijenjati svoj volumen (24). Istraživanja su također pokazala kako je spinalna dura mnogo otpornija na opterećenje od spinalne medule koju okružuje, te ju tako štiti od oštećenja (119).

1.7. Razvoj volumetrije

Prve procjene volumena općenito, pa tako i volumena likvora, proizašle su iz anatomskih studija prije 50-ak godina. Do 1970-tih koristila su se razna linearna mjerenja koja često nisu korelirala sa promjenama volumena. 1978. godine počinju se razvijati moderne volumetrijske metode bazirane na CT snimanju (112), čiji rezultati nisu bili potpuno pouzdani zbog niske prostorne rezolucije tadašnjih CT uređaja, sa greškama u mjerenju i od 20-30%. Slične greške dobivale su se i metodom radionuklidne ventrikulografije. Osim navedenog, obje metode izlagale su pacijenta značajnom ionizirajućem zračenju. Krajem 1980-tih razvijaju se prve kvantitativne studije bazirane na MR snimanju (113). Na prijelazu stoljeća razvoj MR tehnologije i računalnih programa za analizu MR snimaka dovodi do razvoja polu-automatskih i automatskih algoritama za segmentaciju pojedinih dijelova živčanog sustava (114,115,116). Danas se u postupku volumetrije koriste ručni, poluautomatski i automatski način segmentacije anatomskih struktura, ovisno o tome koji dio živčanog sustava se istražuje te kolika je preciznost mjerenja potrebna. Svaka od navedenih metoda ima svoje prednosti, ali i nedostatke (118). Automatska obrada podataka oslanja se na

složene algoritme računalnih programa koji na osnovu intenziteta signala i njegovog prostornog smještaja mogu pouzdano odrediti o kojem se tkivu radi (npr. siva tvar, bijela tvar ili likvor). Velika prednost automatskih volumetrijskih metoda je brzina obrade podataka, no nedostatak je što se pojedine diskretne i manje neuroanatomske strukture ne mogu pouzdano segmentirati automatskim metodama. Osim toga, algoritmi koji su učinkoviti u automatskoj segmentaciji odraslog mozga ne mogu se primjenjivati u prvim godinama nakon rođenja kada su intenziteti signala zbog nedovršene mijelinizacije i većeg postotka vode u parenhmu značajno drugačiji. Također, razvoj automatskih algoritama za segmentaciju mozga je opsežan poduhvat koji uključuje stručnjake iz različitih područja, tako da su trenutno dostupni računalni programi pouzdano primjenjivi uglavnom na ljudskom mozgu, dok su nedostupni za većinu eksperimentalnih životinja.

Zbog nepostojanja navedenih programa za automatsku segmentaciju živčanog sustava kunića, volumetrijska analiza u ovom radu rađena je ručno (Slika 3.2.). Glavni nedostatak ručne segmentacije je u tome što se radi o metodi koja je vremenski vrlo dugotrajna, te je djelomično ovisna i o iskustvu te neuroanatomskom znanju onoga tko ju koristi. S druge strane, velika je prednost što se uz dobro poznavanje neuroanatomije mogu segmentirati strukture koje računalni programi još uvijek ne mogu pouzdano ograničiti. Volumetrijske metode obrade MR slika su već duže vrijeme prisutne u svijetu znanosti, a u posljednje vrijeme sve više svoje mjesto nalaze i u rutinskoj kliničkoj praksi. Stoga je za očekivati da će uz napredak neuroradioloških metoda snimanja i računalnih programa za obradu slika volumetrijske metode postati neizostavan dio kliničke prakse u skoroj budućnosti (117).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Tlak cerebrospinalne tekućine ili intrakranijski tlak ovisi o interakciji triju volumena koji ispunjavaju kraniospinalni prostor, a to su volumeni krvi, moždanog parenhima i likvora (Monroe-Kellijeva doktrina) (9,10). Stoga, danas je općenito prihvaćeno kako su promjene intrakranijskog volumena krvi i venskog tlaka glavni činioci koji određuju promjene likvorskog tlaka pri promjeni položaja tijela. Naime, pretpostavlja se da pod utjecajem sile gravitacije dolazi do preraspodjele venske krvi tako da se u gornjim dijelovima kraniospinalnog prostora značajno smanjuje volumen krvi (kolaps vena), a u donjim dijelovima dolazi do rastezanja vena kako je to opaženo i u drugim dijelovima tijela. Osim toga, pretpostavlja se kako pri uspravljanju tijela dolazi do brzog, ali kratkotrajnog pomicanja volumena likvora iz kranija u spinalni sustav (17-21), što je moguće zbog rastezljivosti spinalne dure (22). Time se objašnjava značajan pad likvorskog tlaka u kraniju pri uspravljanju tijela (21), za koji se smatra kako traje vrlo kratko. Naime, tlak likvora mora postati pozitivan zbog stalnog stvaranja, cirkulacije i apsorpcije likvora, procesa koji se neprestalno odvijaju, prema opće prihvaćenoj hipotezi fiziologije likvora (9,10,23).

Iz navedenog objašnjenja uzroka promjena tlaka likvora kod promjene položaja tijela, čini se kako unutar kranija istodobno dolazi do naglog, manjeg smanjenja volumena likvora (zbog kraniospinalnog pomaka) i volumena krvi (zbog preraspodjele krvi), što se ne bi smjelo dogoditi iz više razloga. Naime, kranijski prostor omeđuju čvrsto spojene kosti i on je ispunjen određenim volumenima mozga, krvi i likvora. Naglo smanjenje volumena krvi i likvora trebalo bi dovesti do promjene perfuzije mozgovine, poremećaja svijesti i nestabilnosti pri uspravljanju tijela. Osim toga, smanjenje navedenih volumena se zbog biofizičkih svojstava kranijskog prostora mora nečim nadoknaditi (prostor ne može ostati dijelom prazan), tj. trebalo bi doći do brzog povećanja volumena mozga.

Prema našoj hipotezi prilikom uspravljanja tijela ne dolazi do promjena volumena ni krvi ni likvora unutar kranija nego da su opažene promjene tlaka likvora posljedica specifičnog anatomskog ustrojstva kraniijskog i spinalnog prostora. Naime, smatrali smo kako važna razlika između kranijskog i spinalnog prostora leži u načinu na koji je tvrda moždana ovojnica (dura mater) vezana uz koštane dijelove koji ju okružuju, što onda u jednom dijelu kranio-spinalnog sustava omogućava promjenu intraduralnog volumena, a u drugom ne. Tako je u kraniju dura mater gotovo cijelom svojom površinom vezana uz kost (izuzetak su duplikature dure – venski sinusi) tako da je kranijski intraduralni volumen fiksan, tj. ne može se niti smanjiti niti povećati. Suprotno tome, spinalna dura je samo mjestimice vezana uz kost i od kosti je odvojena masnim tkivom i venskim pleksusima koji ispunjavaju epiduralni prostor, te stoga spinalni intraduralni volumen može mijenjati svoju veličinu (22,24).

Kako bismo provjerili našu hipotezu, u našim ranijim istraživanjima izradili smo novi model kraniospinalnog sustava koji imitira ključne biofizičke osobine kranijalnog i spinalnog intraduralnog prostora u eksperimentalnih životinja, a promjene tlaka i preraspodjele volumena tekućine unutar njega usporedili smo s onima opaženim u kraniospinalnom sustavu mačaka. U dosadašnjim istraživanjima pokazali smo da pri uspravnom položaju dolazi do pojave negativnog tlaka u kraniju koji ostaje na takvim vrijednostima sve dok je model, odnosno mačka, u takvom položaju. Ta promjena tlaka dogodila se bez promjene volumena u „kranijskom“ dijelu modela, a imala je istu vrijednost u modelu i u životinjama, što ukazuje kako do pojave negativnog tlaka dolazi bez promjene volumena tekućine unutar kranija.

Kako bi dodatno testirali našu hipotezu u ovom radu ćemo mjeriti likvorski tlak u komorama i kortikalnom subarahnoidnom prostoru na istoj hidrostatskoj razini. Prema našoj hipotezi očekuje se isti tlak likvora u komorama i u subarahnoidnom prostoru u uspravnom položaju ako su kanile postavljene u te prostore na jednaku udaljenost od cisterne magne tj.

od foramena magnuma. Promjene u tim prostorima trebale bi biti jednake bez obzira u kojem je položaju životinja.

Nadalje, prema našoj hišpotezi, prekid komunikacije između kranija i spinalnog dijela (npr. cervikalna stenoza) trebala bi dovesti do toga da je u kraniju stalno pozitivan tlak bez obzira na položaj tijela. Opstrukcija Sylvijevog akvedukta trebala bi dovesti kod uspravljanja životinje do pojave negativnog tlaka u kortikalnom subarahnoidnom prostoru, te do pozitivnijeg tlaka unutar izoliranih komora. Na taj način mogao bi se razviti gradijent tlaka između komora i subarahnoidnog prostora kod uspravnog položaja tijela koji bi potencijalno mogao dovesti do širenja komora.

Prema našoj hipotezi likvorski tlak u kraniju trebao bi ovisiti o ukupnom kranio-spinalnom volumenu likvora, pa ćemo na animalnim modelima izmjeriti ukupni volumen likvora u kontrolnim uvjetima i nakon dodavanja umjetnog likvora.

Očekujemo kako će rezultati ove disertacije dodatno poduprijeti novopredloženu hipotezu o patofiziologiji cerebrospinalnog likvora prema kojoj likvor nastaje i nestaje svugdje unutar tkiva CNS-a prema gradijentima osmotskog i hidrostatskog tlaka na razini kapilara. Čini se da tlak i sudbinu slobodnog likvora unutar kranijskog i spinalnog prostora određuje Zakon o mehanici fluida, i da je negativni (subatmosferski) tlak likvora pri uspravnom položaju tijela fiziološko stanje. Zato bi rezultati ovog istraživanja trebali doprinjeti sveukupnom razumijevanju evolucije ljudske vrste, kao i daljnjim mogućnostima liječenja povišenog intrakranijskog tlaka.

3. MODELI I METODE

Naša istraživanja proveli smo na eksperimentalnim životinjama, ukupno 13 mačaka i 16 kunića (albino New Zealand), te na umjetnom modelu kraniospinalnog likvorskog sustava. Mačke su kao eksperimentalne životinje za ovakav tip pokusa pogodne zbog svoje veličine, te razvijenosti živčanog sustava, a također dobro podnose anesteziju i operativni zahvat. Mačke se kao eksperimentalne životinje moraju krajnje racionalno koristiti, te smo stoga u daljnjim istraživanjima kao eksperimentalne životinje koristili i kuniće (dosta su osjetljiviji od mačaka na postupak anestezije i operativni zahvat), koji su također svojim živčanim sustavom i anatomskim dimenzijama pogodni za pojedine tipove eksperimenata. Također je na životinjama i na modelu učinjena volumetrijska analiza likvorskog sustava na temelju T2 snimaka magnetske rezonance.

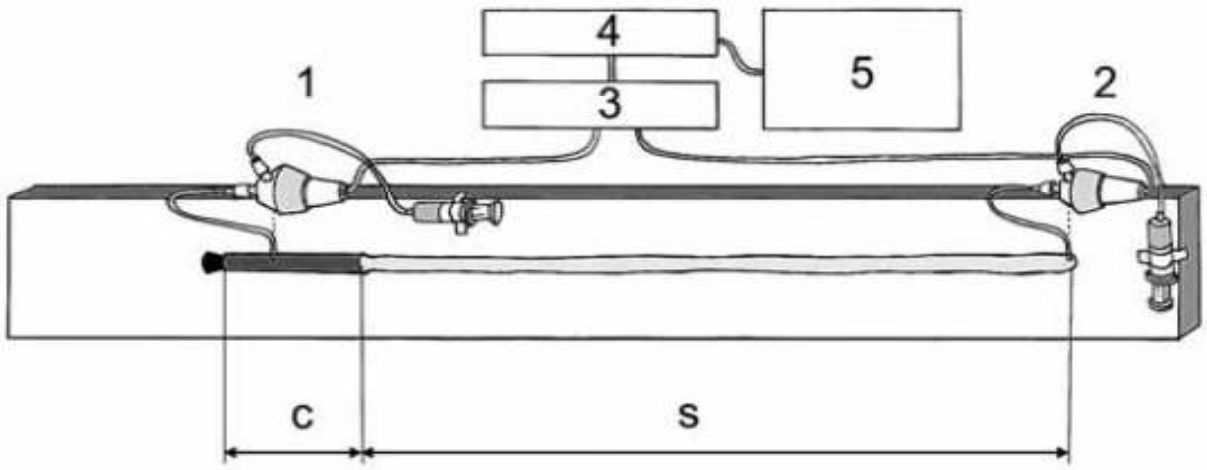
Životinje su nabavljene iz zakonom odobrenog uzgoja za eksperimentalne svrhe, te od privatnih osoba (vlasnika) prije donošenja novih odredbi Zakona o dobrobiti životinja prema kojima se za eksperimente smiju koristiti samo životinje koje su uzgojene u tu svrhu. Sve životinje prethodno pokusima provele su 4 tjedna u karanteni. Posebna pažnja bila je posvećena što humanijem postupanju i poduzete su sve mjere da se maksimalno smanji moguća patnja. Radi se o akutnim pokusima (tzv. nepovratni pokusi) u kojima su životinje cijelo vrijeme pokusa bile u općoj anesteziji (životinje nisu osjetile bol veću od uboda igle). Po završetku pokusa životinje su bile žrtvovane povećanom dozom anestetika.

Ovo istraživanje je dio istraživanja koje se provodi u okviru projekta „Patofiziologija cerebrospinalnog likvora i intrakranijskog tlaka“ koji ima dozvolu Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva klasa (UP/I 322-01/07-01/79 Ur.broj: 525-6-07-2 Lj.Z. od 30. ožujka 2007.) i pozitivno mišljenje Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (broj: 04-4154-2005). Izrada ove doktorske disertacije odobrena je od

Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu rješenjem broj: 04-76/2009-761 dana 15.12.2009.

3.1. Novi model kraniospinalnog likvorskog sustava

Za ovo istraživanje izradili smo novi model koji oponaša svojstva kraniospinalnog likvorskog sustava eksperimentalnih životinja (mačaka) koji je u "kranijskom" dijelu izrađen od komada čvrste plastične cijevi (ne može mjenjati svoj volumen), dok "spinalni" dio čini dugi uski gumeni balon koji može mijenjati svoj volumen. "Kranijski" dio je dug 6 cm što predstavlja prosječnu duljinu lubanje mačke od najudaljenijeg frontalnog dijela do foramena magnuma, dok je "spinalni" dio dug 31 cm što je prosječna udaljenost od foramena magnuma do lumbalnog prostora gdje se uobičajeno na mačkama mjeri lumbalni likvorski tlak. Na modelu su postavljene kanile za mjerenje tlaka u "kranijski" i "spinalni" dio. Nakon što smo model ispunili umjetnim likvorom i iz njega izbacili zrak, pričvrstili smo model na ravnu drvenu ploču zajedno sa pretvaračima tlaka.



Slika 3.1. Shema novog modela kraniospinalnog likvorskog sustava. Model se sastoji od **c**-„kranijskog“ dijela, te **s**- „spinalnog „ dijela. Broj **1** označava pretvarač tlaka spojen sa mjernom kanilom uvedenom u „kranijski“ dio modela, broj **2** označava pretvarač tlaka spojen sa mjernom kanilom uvedenom u „spinalni“ dio modela. Cijeli model fiksiran je za drvenu ploču zajedno sa pretvaračima tlaka, tako da im se odnosi nikad ne mijenjaju, a isprekidane linije pokazuju da su membrane pretvarača tlaka u istoj razini sa mjernim kanilama. **3**-QUAD Bridge, **4**-PowerLab/800, **5**-računalo.

3.1.1. Vrste pokusa

Tlak umjetnog likvora smo mjerili na kranijskom dijelu modela (4 cm od otvora), te u spinalnom dijelu na samom dnu koje je bilo 31 cm udaljeno od čvrstog kranijskog dijela (vidi Sliku 3.1.). Model smo postavljali u položaje u kojim smo mjerili tlakove likvora u

eksperimentalnih životinja (vidi niže). U posebnoj seriji pokusa na novom modelu smo nakon dodavanja i oduzimanja određenog volumena umjetnog likvora napravili MR snimanje modela, te je volumetrijskom analizom određeno da li se, i u kojem dijelu modela, metodom volumetrije mogu uočiti promjene volumena umjetnog likvora (testiranje osjetljivosti metode MR volumetrije). Rezultate smo usporedili sa onima dobivenima na istovjetnim pokusima učinjenim na kunićima.

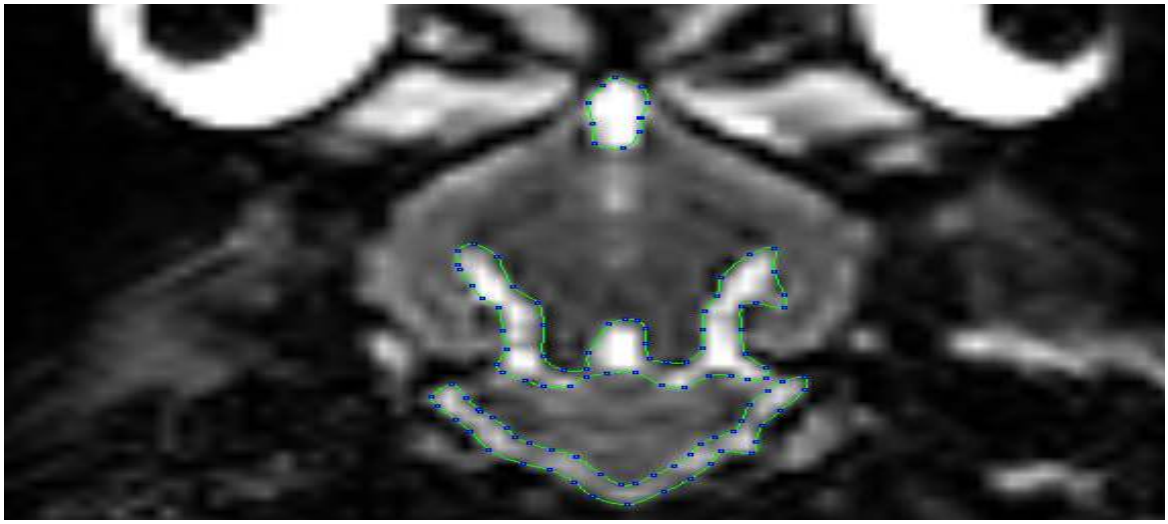
3.2 Snimanje na MR uređaju i volumetrijska analiza

Sva MR snimanja na modelu kraniospinalnog sustava te na eksperimentalnim životinjama su učinjena na 3T MR uređaju korištenjem zavojnice za kralježnicu (Magnetom TrioTim, Siemens, Njemačka) Na Poliklinici Neuron pri Hrvatskom institutu za istraživanje mozga. Kod MR snimanja modela i eksperimentalnih životinja koristili smo sekvence koje imaju zadovoljavajuću prostornu rezoluciju te dobar kontrast između likvora i okolnog tkiva, odnosno umjetnog likvora i rubova modela. Kao najpogodnija sekvenca za ovu namjenu pokazala se T2 SPACE (Sampling Perfection with Application optimized Contrasts using different flip angle Evolution) sekvenca koja ima odličnu prostornu rezoluciju i prihvatljivo vrijeme trajanja. Kod snimanja modela kraniospinalnog sustava koristili smo sagitalnu T2 SPACE sekvencu sa slijedećim parametrima (TR= 3200 ms, TE= 672 ms, veličina voksela= 1x1x0,5mm, vrijeme snimanja=0:56 min, FOV=400 x 306 mm). Za snimanje eksperimentalnih životinja (kunića) koristili smo također sagitalnu T2 SPACE sekvencu (TR= 1500 ms, TE= 222 ms, veličina voksela= 0,8x0,8x 1 mm, vrijeme snimanja 5:02 min, FOV = 250x250 mm). Da bi se prikazao cijeli kraniospinalni sustav kunića, opisana sekvenca

je korištena najprije za snimanje kranijalne, a potom kaudalne polovice kraniospinalnog sustava.

Nakon snimanja modela i eksperimentalnih životinja, volumetrijska analiza MR presjeka učinjena je korištenjem računalnog programa Analyze 8.1 (Mayo Clinic, Sjedinjene Američke Države). Na snimkama su ručnom segmentacijom određene granice likvorskog sustava u kranijalnom i spinalnom dijelu, nakon čega je učinjen izračun pripadajućih volumena (vidi Sliku 3.2.).

A)



B)



Slika 3.2. Prikaz volumetrijske analize kranijskog (A) i spinalnog dijela (B) likvorskog sustava kod kunića. Na slikama se vidi segmentacija likvora u kranijskom i spinalnom prostoru. Volumen u kranijskom prostoru izračunavao se izravno segmentacijom likvorskog prostora, dok se volumen likvora u spinalnom prostoru izračunavao oduzimanjem volumena medule spinalis (površina označena brojem 2) od ukupnog volumena spinalnog kanala (površina označena brojem 1).

3.3. Priprema umjetnog likvora

Umjetni likvor je pripremljen prema naputcima Merlisa i suradnika (121). U jednoj litri prokuhane destilirane vode otopi se: 8,1 g NaCl; 0,25 g KCl; 0,14 g CaCl; 0,11 g $MgCl_2$; 1,76 g $NaHCO_3$; 0,07 g NaH_2PO_4; 0,13 g urea; 0,61 g glukoze. pH otopine se podesi na 7,3 – 7,4 dodavanjem 0,1 M otopine HCl ili NaOH [157]. Čuvanjem u hladnjaku otopina se može koristiti dva tjedna.

3.4. Eksperimentalni model mačke

U našim pokusima koristili smo mačke oba spola, različite starosti, te tjelesne težine između 2,4 i 4,6 kg. Mačke smo anestezirali kloralozom (α-chloralose, Fluka) apliciranom intraperitonealno u dozi od 100 mg/kg. Ovaj anestetik se pokazao najboljim za istraživanja likvorskog tlaka jer u tijeku više sati trajanja eksperimenta ne dovodi do oscilacija niti likvorskog niti krvnog tlaka. Priprema anestetika podrazumijeva otapanje 500 mg kloraloze u 25 ml destilirane vode uz miješanje i grijanje do bistre otopine. Nakon uvođenja mačke u dovoljno duboku anesteziju (otprilike nakon sat vremena) pristupi se operativnom zahvatu. Najprije uvedemo kanilu u venu saphenu. Potom se pristupa operativnom zahvatu kojim uvodimo još kanile u lumbalni i u kortikalni subarahnoidni prostor, te u lateralne komore. Kanila se u lumbalni subarahnoidni prostor uvodi na razini trećeg lumbalnog kralješka. Operativni postupak je slijedeći: mačka se postavi potrbuške, te se u sagitanoj ravnini učini rez na koži i potkožnom mišićnom tkivu od razine drugog do četvrtog lumbalnog kralješka. Rastvaračem se mišićna vlakna razmaknu i tako fiksiraju da bi se razotkrio spinalni nastavak trećeg lumbalnog kralješka. Zatim se visokofrekventnom bušilicom za kost učini maleni otvor u lukovima kralješka, no vrlo oprezno da nebi došlo do oštećenja prileže će dure. Tada se,

koristeći kliješta, napravi laminektomija, te se aspiratorom ukloni masno tkivo iz prileţećeg epiduralnog prostora, i prikaže se dura. Nju se nježno odigne koristeći medicinsku pincetu, te se diskretno zareže škaricama. Kroz učinjen mali rez uvodi se plastična kanila ispunjena umjetnim likvorom koja je bila 0,5 mm u promjeru. Duru oko lumbalno uvedene kanile zalijepimo ljepilom (Super Attack glue), a potom zubnim cementom (ProBase Cold, Polymer+Monomer, Ivoclar) začepimo koštani defekt da bi onemogućili likvoreju. Naime, izuzetno je važno spriječiti moguće curenje likvora u epiduralni lumbalni prostor pri okretanju životinje jer bi to mijenjalo vrijednost tlaka likvora i tako izravno utjecalo na rezultat. Položaj kanile testira se tako što se njen slobodan kraj podiže i spušta, a ovisno o tome opservira se promjena razine umjetnog likvora u kanili. Osim toga, dodavanjem umjetnog likvora u kanilu može se vidjeti kako on neometano ulazi kroz kanilu u likvorski sustav.

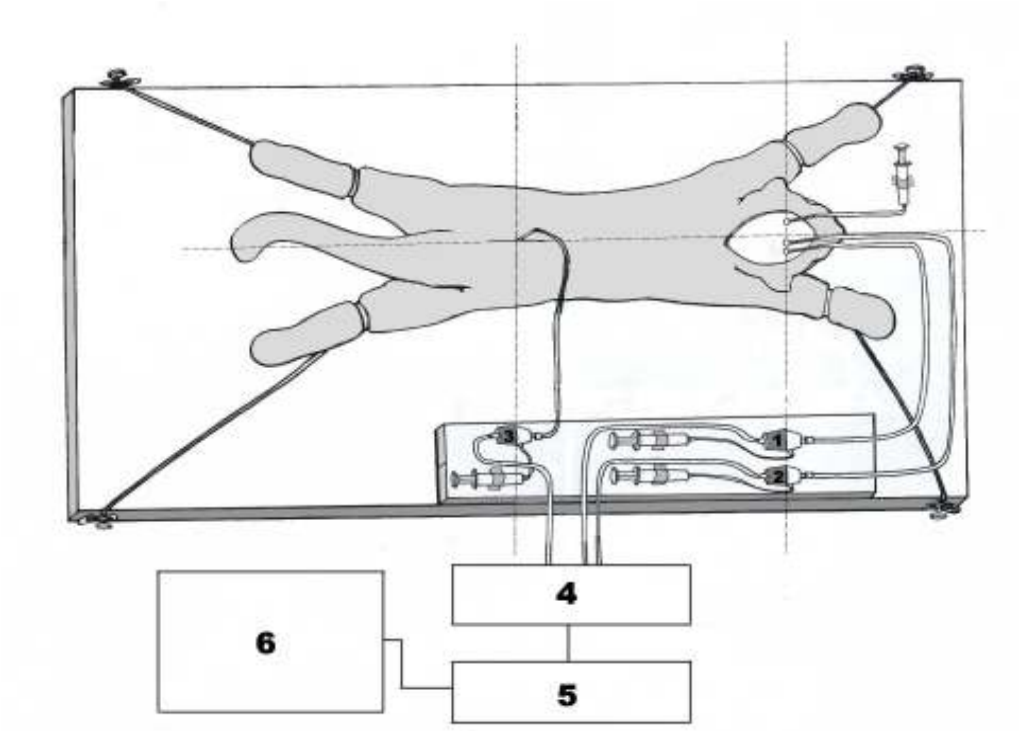
Također treba napomenuti da je u slučaju nedostatne anestezije pojedinim životinjama, nakon uvođenja kanile u venu saphenu, kroz istu primijenjivano još dodatnih 0,2-0,3 ml otopine tiopentona, brzodjelujućeg anestetika, čija se otopina pripremala otapanjem 500 mg tiopentona u 8,3 ml fiziološke otopine.

Nakon uvođenja lumbalne kanile mačku postavimo u stereotaksijski aparat (D. Kopf, USA). Mačka se u stereotaksijski aparat fiksira tako da se ušni nastavci aparata prvo uvode u oba vanjska slušna otvora te se fiksiraju, a zatim se prednji nastavci aparata fiksiraju u području donjeg ruba orbita, te u području gornje čeljusti. Tako se postiže tzv. sfinga položaj mačke u stereotaksijskom aparatu.

Zatim slijedi operativni postupak: u medijalnoj liniji u koži i potkožnom tkivu kranija učini se rez od lukova orbita do okcipitalne kosti. Mišići ispod kože razmaknu se oštrom žlicom, te se prikažu kosti kranija. Na koordinatama A 15, L 2,5 lijevo i desno od medijalne linije, koje se odrede stereotaksijski, učini se otvor u kosti kranija visokofrekventnom

bušilicom. Potom se na stereotaksijski aparat pričvrsti mikromanipulator sa mjernom kanilom, na koju je pričvršćena plastična cjevčica sa umjetnim likvorom. Mikromanipulatorom se spušta kanila na dubinu 10-12 mm ispod razine dure. Te su koordinate pogodne jer je na toj visini kanila u lateralnoj komori u najudaljenijem mogućem položaju od cisterne magne (cca 4 cm), a komore su još dovoljno široke za postavljanje kanile. Možemo pretpostaviti da smo u lateralnoj komori kada umjetni likvor u cjevčici kod njenog podizanja počne utjecati u likvorski sustav. Nakon postavljanja u lateralnu komoru slobodni kraj plastične cjevčice spaja se na pretvarač tlaka povezan s računalom (vidi Sliku 3.3.). U slučaju dobro postavljene mjerne kanile na zaslonu računala odmah se mogu uočiti pulsacije tlaka likvora. Otvor na duri ponovo se zatvara ljepilom, a potom se i otvor u kosti zatvara zubnim cementom, koji ujedno i fiksira mjernu kanilu u navedenom položaju.

Potom uvedemo kanilu u kortikalni subarahnoidni prostor na istoj udaljenosti od cisterne magne kao i kanilu u lateralnu komoru. Također se na već opisan način u parijetalnoj kosti s druge strane medijalne linije učini otvor bušilicom, no kanila se oprezno, rukom, uvodi ispod površine dure u kortikalni subarahnoidni prostor. Otvor na duri zalijepi se ljepilom, a onaj u kosti ispuni se zubnim cementom kako je već opisano. Izbaždarimo zatim pretvarače tlaka (Model P23, Pressure Transducer, Gold Electronics, USA) prema interaurikularnoj liniji (kako je to uobičajeno) i spojimo ih na mjerne kanile.



Slika 3.3. Shema eksperimentalnog modela mačke. Životinja je fiksirana na ravnu ploču, kao i pretvarači tlaka i mjerne kanile. **1** – pretvarač tlaka spojen sa mjernom kanilom u lateranoj komori, **2** – pretvarač tlaka spojen sa mjernom kanilom u kortikalnom subarahnoidnom prostoru, **3** – pretvarač tlaka spojen sa mjernom kanilom u lumbalnom subarahnoidnom prostoru. **4** – Quad Bridge, **5** – PowerLab/800, AD Instruments, Castle Hill, NSW, Australia, **6** – računalo.

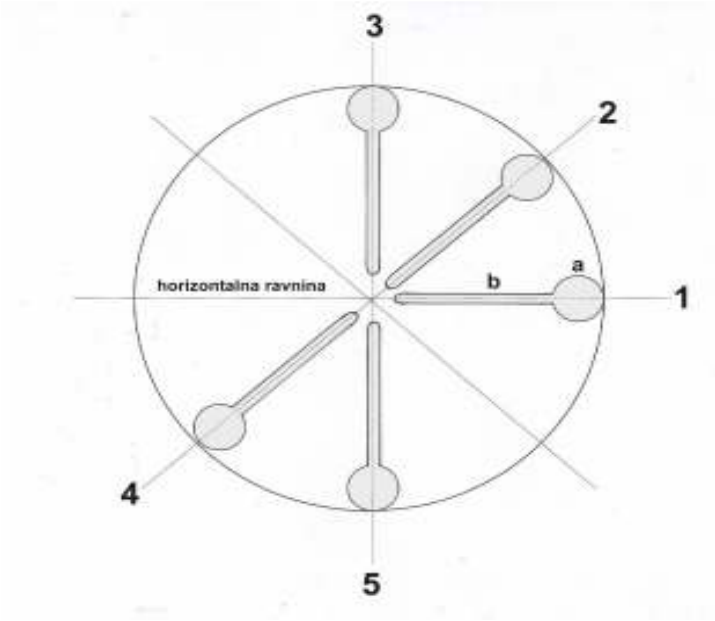
3.4.1. Vrste pokusa

U prvoj vrsti pokusa na mačkama mjerenje tlaka u komorama, lumbalnom i kortikalnom subarahnoidnom prostoru učinjeno je u različitim položajima tijela životinje (horizontala - 0º, glava prema gore - 45º, uspravni položaj - glava prema gore 90º, glava prema dolje - 225º, te glava prema dolje 270º; vidi Sliku 3.4.). Za ta mjerenja mačku smo iz stereotaksijskog aparata prebacili na široku drvenu dasku te joj u potrbušnom položaju fiksirali ekstremitete i glavu uzicom za dasku kako se ne bi pomicala pri okretanju, tj. pri promjeni položaja tijela. Na istu dasku fiksirali smo i pretvarače tlaka te tako onemogućili promjene odnosa između pretvarača tlaka, tj. njihovih mjernih membrana i mjernih kanila pri promjenama položaja tijela životinje. Te pretvarače smo fiksirali na visini interaurikularne linije potrbuške postavljene mačke (2,5 cm od horizontalne površine daske), tako da je pretvarač tlaka za mjerenje tlaka u lateralnoj komori bio postavljen u liniji ulaza mjerne kanile u komoru, a pretvarač tlaka za mjerenje tlaka lumbalno bio je fiksiran u razini linije ulaska mjerne kanile u lumbalni likvorski prostor. Tako smo postigli da pri promjeni položaja daske i tijela pretvarači tlaka budu udaljeni jedan od drugog prema stvarnoj hidrostatskoj razlici, tj. međusobnoj udaljenosti komora, kortikalnog i lumbalnog subarahnoidnog prostora - svih mjesta na kojima smo mjerili tlak likvora. Time smo željeli provjeriti kako visina glave u odnosu na tijelo utječe na likvorski tlak mjeren u komorama i kortikalnom subarahnoidnom prostoru, i da li tlak likvora ovisi o udaljenosti mjerne kanile od cisterne magne. Ova vrsta pokusa ujedno je bila i kontrolna prethodnoj seriji pokusa sa blokadom Sylvijevog akvedukta, te seriji pokusa sa postavljenom cervikalnom stenozom.

U drugoj vrsti pokusa smo na anesteziranim mačkama nakon okcipitalne kranijektomije napravili tunel u vermisu malog mozga do pred ulaz u Sylvijev akvedukt. Kroz tunel smo pažljivo rukom, da bi uzrokovali što manje oštećenje okolnog tkiva, uveli tanku

plastičnu cjevčicu širine akvedukta, i s pomoću kapi ljepila (cijanoakrilatno ljepilo, Super Attack glue) kanilu pričvrstili uz moždano tkivo kako bismo potpuno blokirali akvedukt. Nakon rekonstrukcije kosti i hermetičkog zatvaranja rane uveli smo kanile u lateralnu komoru i kortikalni subarahnoidni prostor (vidi ranije), te mjerili promjene tlaka likvora pri različitim položajima tijela. Time smo uočili razvoj gradijenta tlaka između komora i subarahnoidnog prostora samo u uspravnom položaju, a ne i u horizontalnom i položaju glavom prema dolje.

U trećoj vrsti pokusa na anesteziranim mačkama napravili smo otvor na drugom vratnom kralješku (C_2) istom operativnom tehnikom kao i pri uvođenju lumbalne subkortikalne mjerne kanile, te u epiduralni prostor postavili plastični poluprsten (10 mm dužine i 2 mm širine) kojim smo prekinuli komunikaciju između kranijskog i spinalnog subarahnoidnog prostora. Također smo otvor na C_2 hermetički zatvorili zubnim cementom. Tlakove smo mjerili u komorama i lumbalnom subarahnoidnom prostoru u različitim položajima tijela. Time smo željeli uočiti hoće li u ovom slučaju u kraniju biti stalno pozitivan tlak.



Slika 3.4. Shematski prikaz promjena položaja tijela u kojima su izvođena mjerenja likvorskih tlakova. **a** – kranijski prostor, **b** – spinalni prostor. Tlak likvora mjeren je u lumbalnom i kortikalnom subarahnoidnom prostoru te u lateralnim ventriklima eksperimentalnih životinja u **1** – horizontalnom položaju - 0˚, **2** – glava prema gore – 45˚, **3** – glava prema gore – 90˚, **4** – glava prema dolje – 225˚, te **5** – glava prema dolje – 270˚.

3.5. Eksperimentalni model kunića

Kao eksperimentalne životinje koristili smo i kuniće oba spola, različite starosti, te tjelesne težine od 2,4 do 4,2 kg. Životinje smo anestezirali uretanom (25% otopina) u dozi od 2g/kg, intravenskom (2/3 doze) i intraperitonealnom (1/3 doze) primjenom. Intravenski dio anestetika primijenili smo putem kanile uvedene u ušnu venu kunića. Nakon otprilike 30 minuta životinja je bila u dovoljno dubokoj anesteziji. U slučaju da to nije bilo dovoljno,

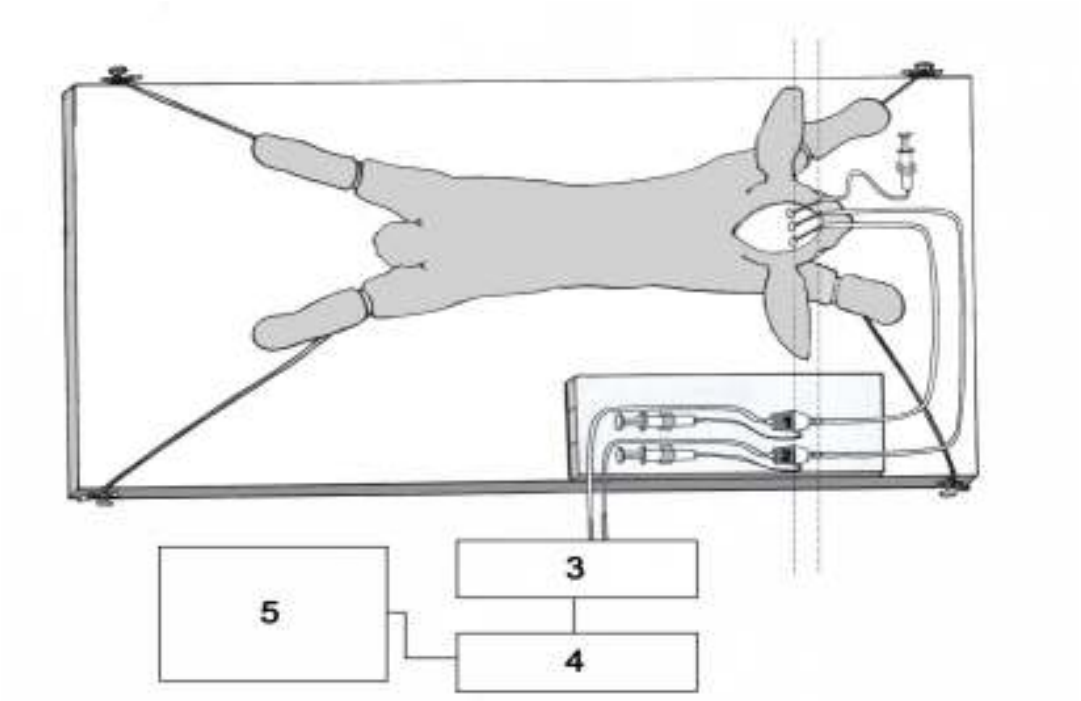
pojedinim životinjama dodavale su se još dodatne male količine istog anestetika intravenski i intraperitonealno (do najviše 5 ml i.v.i 5 ml i.p. otopine uretana).

Nakon postizanja odgovarajuće dubine anestezije životinju smo postavi u stereotaksijski uređaj tako da smo ušne nastavke stereotaksijskog aparata postavili u blizinu vanjskih slušnih otvora životnje i fiksirali ih na zigomatične nastavke. Zatim smo u prednji nastavak fiksirali sjekutiće kunića, a trećim nastavkom učvrstili kranij. Tako je postignut tzv. sfinga položaj kunića u stereotaksijskom aparatu.

Zatim se pristupilo operativnom zahvatu: u medijalnoj liniji na kraniju je učinjen rez kože i potkožnog tkiva skalpelom, od razine orbitalnih lukova do okcipitalne kosti. Prileže ći mišićni sloj razmakne se oštrom žlicom, te se pristupi kostima kranija. Na parijetalnim kostima zatim se stereotaksijski odrede koordinate 5 mm posteriorno od koronarnog šava, te 5 mm lateralno od sagitalnog šava s lijeve i desne strane. Na označenim koordinatama se visokofrekventnom bušilicom učini mali otvor u kosti, pazeći da se ne ošteti prileže ća dura. Zatim se u stereotaksijski aparat pričvrsti mikromanipulator sa pričvršćenom mjernom kanilom. Na nju se nastavlja plastična cjevčica ispunjena umjetnim likvorom. Pomoću stereotaksijskog aparata kanila se mikromanipulatorom spusti na dubinu od 5 do 7 mm ispod razine dure te tako uvede u lateralnu komoru. Taj je prostor kod kunića nešto uži nego kod mačke, zapravo u normalnim uvjetima virtualan, tako da je potrebno mjernu kanilu oprezno i polako spuštati prema dolje, sve dok se ne uoči kako umjetni likvor kod podizanja plastične cjevčice ne utječe u likvorski prostor. Nakon uvedene kanile slobodni kraj plastične cjevčice spaja se na pretvarač tlaka povezan s računalom. Ako je kanila dobro postavljena na ekranu računala odmah se mogu uočiti pulzacije tlaka likvora. Otvor na duri zatvara se ljepilom (Super Attack Glue, Loctice), te se i otvor u kosti hermetički zatvara zubnim akrilatom (ProBase Cold, Polymere+Monomere, Ivoclar), čime se hermetički zatvara dura i spriječava

utjecaj atmosferskog tlaka na tlak likvora (također se i fiksira mjerna kanila u željenom položaju).

Na istoj udaljenosti od cisterne magne smo postavili i kanilu u kortikalni subarahnoidni prostor. Na ranije opisan način na istim koordinatama sa suprotne strane medijalne linije učini se drugi otvor u kosti, te se kanila oprezno rukom uvodi ispod dure u kortikalni subarahnoidni prostor. Zatvaranje otvora dure i kosti, kao i spajanje na pretvarače tlaka i računalo istovjetno je prethodno opisanom (vidi Sliku 3.5.). Nakon završetka operativnog dijela pratili smo promjene tlakova pri oduzimanju i dodavanju po 1 ml umjetnog likvora u cisternu magnu. Iglu pričvršćenu na injekcijsku špricu uvodili smo polako rukom u područje neposredno ispod okcipitalne protuberancije. Kroz nju smo oduzimali likvor ili dodavali određene volumene umjetnog likvora, te pratili promjene tlaka likvora u lateralnoj komori i kortikalnom subarahnoidnom prostoru.



Slika 3.5. Shema eksperimentalnog modela kunića. **1** - pretvarač tlaka spojen na mjernu kanilu u lateralnoj komori, **2** - pretvarač tlaka spojen na mjernu kanilu u kortikalnom subarahnoidnom prostoru, **3** - Quad Bridge, **4** - PowerLab/800, AD Instruments, Castle Hill, NSW, Australia, **5** - računalo.

3.5.1. Vrste pokusa

U prvoj vrsti pokusa na kunićima, nakon kontrolnog mjerenja tlaka iz cisterne magne kunića izvadili smo 1 ml likvora, te zatim mjerili kako se mijenja tlak likvora u lateralnim komorama (LK) u vremenskom intervalu od 10 minuta od oduzimanja. Na taj način testiramo je li taj volumen oduzetog likvora dovoljan da bi se uočile promjene u tlaku likvora u lateralnom ventriklu životinje. Uz to će se ispitati koliko je vremenski potrebno da bi se promjene uočile, te koliko traju.

U drugoj vrsti pokusa na kunićima u cisternu magnu kunića u horizontalnom položaju dodali smo 1 ml umjetnog likvora, te također mjerili promjene tlaka likvora u lateralnoj komori u periodu od 10 minuta nakon aplikacije. Time će se ispitati da li ćemo uspjeti izazvati promjene tlaka likvora u lateralnoj komori navedenim volumenom, kao i koliko promjene traju do normalizacije vrijednosti tlaka, te tako indirektno promotriti i kompenzacijske mogućnosti likvorskog sustava.

U trećoj vrsti pokusa na u cisternu magnu kunića dodali smo 2 ml umjetnog likvora te promatrali promjene tlaka likvora u lateralnoj komori. Tako se testira hoće li promjene tlaka likvora u lateralnoj komori biti izraženije, i da li će duže trajati, tj. hoće li kompenzacija veće količine tekućine od strane likvorskog sustava sada biti sporija.

U četvrtoj vrsti pokusa ispitivali smo kako se mijenjaju vrijednosti tlaka likvora u lateralnoj komori nakon oduzimanja 2 ml likvora iz cisterne magne i kakva je vremenska dinamika tih promjena u usporedbi s ekperimentima gdje smo izazivali manje volumske promjene.

3.6. Statistička obrada

Izmjereni tlakovi i volumeni tekućine i likvora prikazani su kao srednje vrijednosti ± standardna pogreška srednje vrijednosti. Statistički značajna razlika u vrijednostima određena je s pomoću Student t-testa i analize varijance (ANOVA). Statistička obrada dobivenih rezultata izrađena je pomoću kompjuterskog programa Statistica 7.1 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). $P<0,05$ smatrana je statistički značajnom razlikom.

Prema analizama snage istraživanja (engl. *power analysis*), utvrđeno je da je za statistički zadovoljavajuću snagu testa od 0,9 (90%) dovoljan uzorak od n=3. U slučaju n=5 po pojedinoj skupini, snaga statističkog testa biti će maksimalna, odnosno 1 (100%).

4. REZULTATI

4.1. MR volumetrija modela kod oduzimanja i dodavanja umjetnog likvora

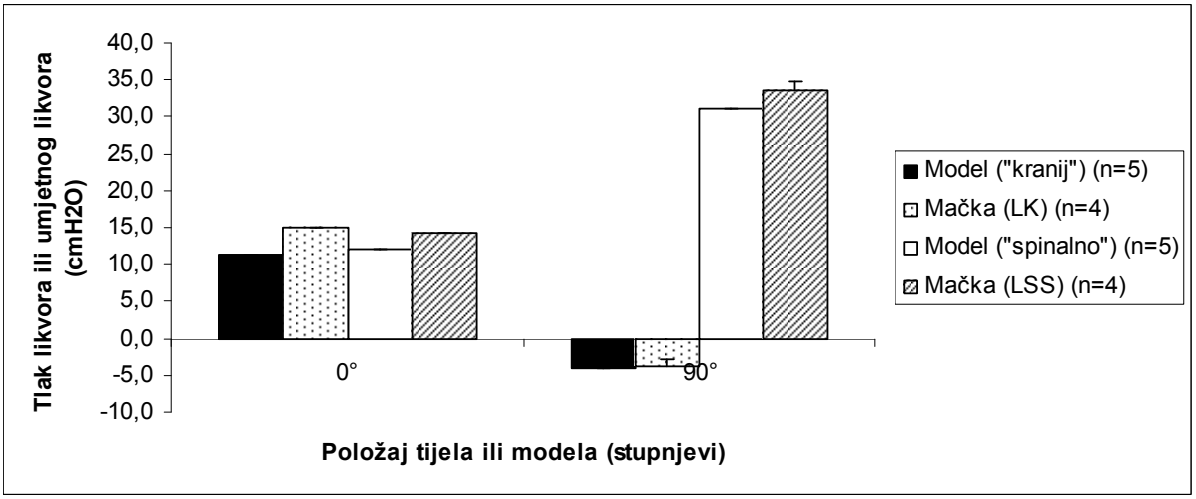
Na novom modelu kraniospinalnog likvorskog sustava odredili smo ukupni volumen umjetnog likvora s pomoću MR volumetrije. Dodavali smo i oduzimali po 2 ml umjetnog likvora iz „kranijskog“ dijela modela. Rezultati su prikazani u Tablici 4.1. Vidljivo je da je greška mjerenja iznosila prosječno 0,1 ml. Promjene volumena tekućine unutar modela izazvane oduzimanjem ili dodavanjem umjetnog likvora bile su samo unutar „spinalnog“ dijela modela.

Tablica 4.1. *Prikaz promjene volumena (ml) umjetnog likvora u kraniospinalnom prostoru našeg modela cerebrospinalnog likvorskog sustava (ukupni volumen). Mjerenje je provedeno metodom volumetrije na temelju MR snimaka, i to u kontrolnim uvjetima, nakon oduzimanja 2 ml likvora iz „kranijskog“ dijela modela, zatim nakon oduzimanja još 2 ml, i naposlijetku nakon dodavanja 4 ml u „kranijski“ dio.*

	kontrola	-2 ml	-2 ml	+ 4 ml
ukupni volumen (ml)	12,2	10,1	8,0	11,9

4.2. Usporedba promjena tlaka umjetnog likvora na modelu i tlaka likvora kod mačaka u horizontalnom i uspravnom položaju

Ovim pokusima (n=5) na našem novom modelu kraniospinalnog likvorskog sustava promatrali smo promjene tlaka u „kranijskom“ i u „spinalnom dijelu modela pri promjeni položaja modela iz horizontalnog u vertikalni sa „kranijskim“ dijelom prema gore, i to usporedili sa onima dobivenim u pokusima na skupini od 4 kontrolne mačke (n=4) (Slika 4.1.).



Slika 4.1. Promjena tlakova umjetnog likvora u „kranijskom“ (■) i u „spinalnom“ (□) dijelu modela kraniospinalnog likvorskog sustava (n=5), kao i promjene tlakova likvora u lateralnim komorama (LK, ⊡) te u lumbalnom subarahnoidnom prostoru (LSS, ▨) mačaka (n=4) u horizontalnom položaju (0˚), te u vertikalnom položaju s glavom prema gore (90˚). Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti ± standardne pogreške srednje vrijednosti.

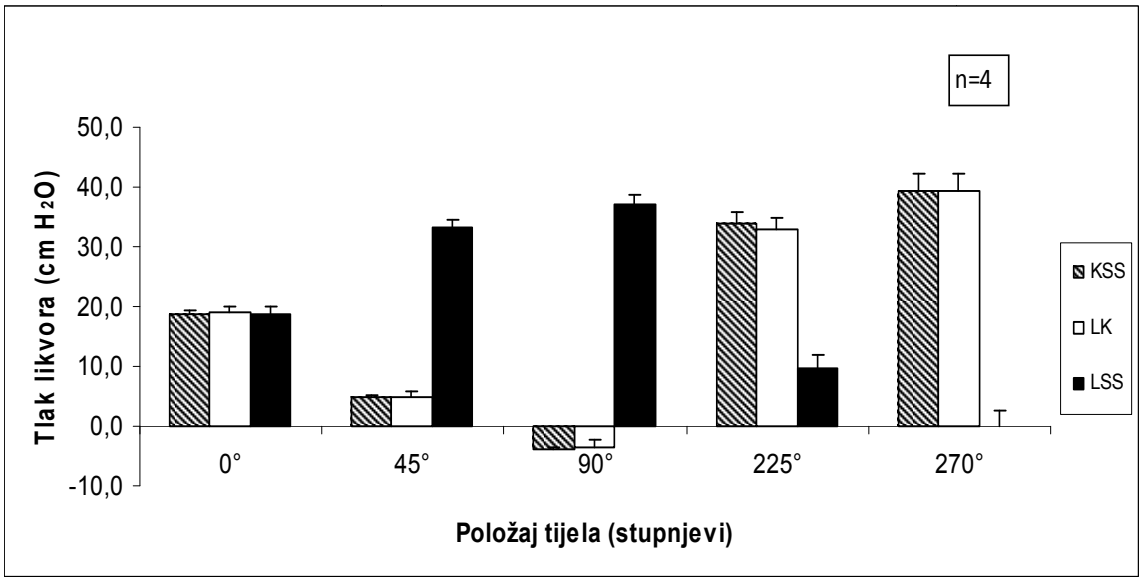
U horizontalnom položaju (0˚) tlak umjetnog likvora u „kranijskom“ (11,3 ± 0,1 cm H_2O) i „spinalnom“ (12,1 ± 0,1 cm H_2O) dijelu modela je podjednak, dok je kod uspravljanja modela u okomiti položaj (90˚) došlo do pada tlaka u „kranijskom“ dijelu na -4,1 ± 0,1 cm H_2O i porasta tlaka u „spinalnom“ dijelu na 31,0 ± 0,1 cm H_2O. Slične promjene opažene su i na anesteziranim mačkama. Naime, u horizontalnom položaju kod mačaka tlakovi u lateralnoj komori (15,1 ± 1,2 cm H_2O) i lumbalnom subarahnoidnom prostoru (14,2 ± 1,3 cm H_2O) bili su podjednaki, dok je kod uspravljanja tijela i glave okomito prema gore došlo do pada tlaka u komori na -3,9 ± 0,2 cm H_2O i porasta tlaka likvora u lumbalnom subarahnoidnom prostoru na 33,5 ± 1,1 cm H_2O. Može se uočiti (Slika 4.1.) kako se promjene tlaka tekućine i likvora na modelu i na mački statistički ne razlikuju.

4.3. Promjene tlaka likvora u različitim dijelovima likvorskog sustava mačaka kod promjena položaja tijela prije i nakon blokade Sylvijevog akvedukta

a) Promjene tlaka likvora sa otvorenim Sylvijevim akveduktom

U slijedećoj seriji pokusa pratili smo kod mačaka promjene tlaka likvora u lateralnoj komori (LK), u kortikalnom (KSS) i lumbalnom (LSS) subarahnoidnom prostoru u horizontalnom položaju (0˚), u položaju glava prema gore-45 ˚, u vertikalnom položaju, tj. glava prema gore -90˚, zatim u položaju glava prema dolje -225 ˚, i u položaju glava prema dolje-270˚. Na Slici 4.2. vidi se kako su tlakovi likvora u horizontali podjednaki (LK= 18,9 ± 1,0 cm H_2O; KSS = 18,7 ± 0,6 cm H_2O; LSS =18,8 ± 1,3 cm H_2O) i ne razlikuju se statistički. U položaju glava prema gore -45˚ tlak likvora lumbalno postepeno raste i iznosi 33,1 ± 1,4 cm

H_2O, a zatim u vertikalnom položaju, tj. na 90˚ doseže +37,1 ±1,6 cm H_2O , dok je tlak u kraniju postepeno padao i iznosi u položaju od 45˚ u LK 4,7 ± 1,2 cm H_2O, te u KSS 4,8 ± 0,5 cm H_2O , dok u položaju od 90˚ pada na negativne vrijednosti i iznosi u LK -3,4 ± 1,3 cm H_2O, te u KSS -3,9 ± 0,4 cm H_2O. Izmjereni tlakovi u kraniju se ni u jednom položaju međusobno značajno ne razlikuju, a mjereni su na istoj hidrostatskoj razini. U položaju glava prema dolje-225˚ tlak lumbalno pada i iznosi 9,6 ± 2,2 cm H_2O, a u položaju glava prema dolje-270˚ iznosio je 0,1 ± 2,4 cm H_2O, dok je tlak likvora u kraniju postepeno rastao i iznosio u položaju glava prema dolje-225˚ u LK 33,0 ± 2,2 cm H_2O, te u KSS 34,0 ±1,9 cm H_2O, dok je u položaju glava prema dolje-270˚ iznosio u LK 39,4 ± 3,0 cm H_2O, te u KSS 39,5 ± 2,7 cm H_2O. Ni u ovim položajima se tlakovi u LK i KSS međusobno statistički ne razlikuju.

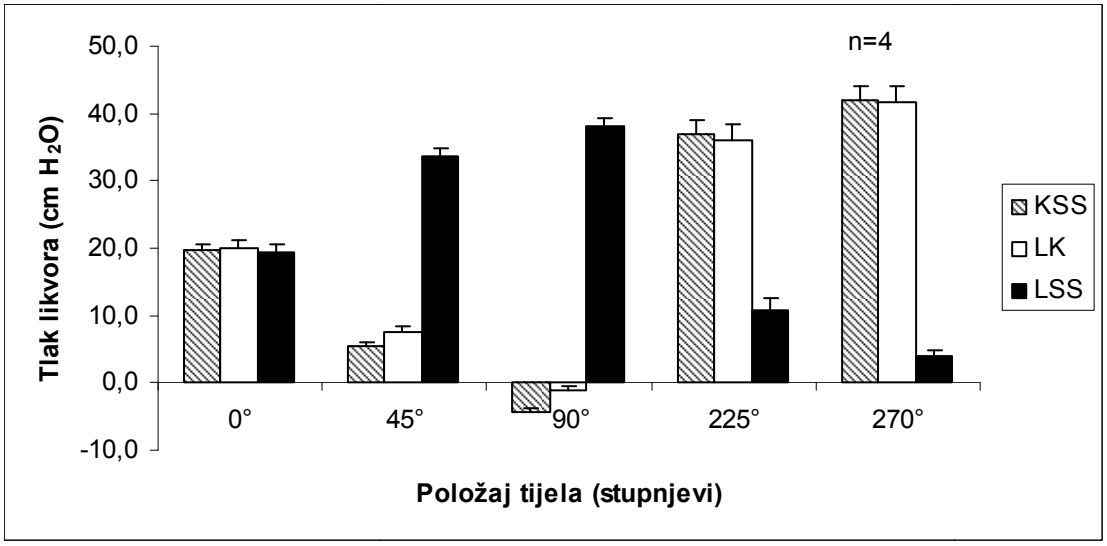


Slika 4.2. Promjene tlaka likvora (cm H_2O) u lateralnoj komori (LK, □), u kortikalnom (KSS, ▨) i lumbalnom (LSS, ■) subarahnoidnom prostoru u horizontalnom položaju (0˚), u položaju glava prema gore-45˚, zatim u položaju glava prema gore-90˚, u položaju glava prema dolje-225˚, te u položaju glava prema dolje-270˚ kod četiri mačke (n=4) s otvorenim Sylvijevim akveduktom (kontrolne životinje). Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti.

b) Promjene tlaka likvora nakon blokade Sylvijevog akvedukta

U ovoj seriji pokusa postavljena je blokada na razini akvedukta kod mačaka uvođenjem u akvedukt plastične cjevčice koja mu širinom odgovara. Nakon blokade akvedukta učinjena su mjerenja tlaka likvora na isti način kao u prethodnoj seriji pokusa, tj. u lateralnoj komori (LK), u kortikalnom (KSS) i lumbalnom (LSS) subarahnoidnom prostoru u horizontalnom položaju (0˚), te u položaju glava prema gore-45˚, u položaju glava prema gore-90˚, zatim u položaju glava prema dolje -225˚, te u položaju glava prema dolje-270˚. Na Slici 4.3 ponovo se može vidjeti kako su tlakovi likvora u horizontali podjednaki (LK= +19,9

± 1,2 cm H_2O; KSS = 19,7 ± 1,0 cm H_2O; LSS = 19,5 ± 1,2 cm H_2O) i bez statistički značajne razlike (p=0,91). Međutim, u uspravnom položaju tlakovi likvora u LK i u KSS više nisu podjednako negativni, tj. tlak likvora u LK je sada pozitivniji od onog u KSS i iznosi u položaju glava prema gore-45˚ +7,5 ± 0,8 cm H_2O, a u položaju glava prema gore-90˚ je -1,2 ± 0,7 cm H_2O, dok tlak likvora u KSS ostaje podjednako nizak kao kod otvorenog akvedukta i na 45˚ iznosi 5,3 ± 0,6 cm H_2O , dok na 90˚ iznosi -4,4 ± 0,5 cm H_2O. Dakle, pri vertikalizaciji životinje, tj. u položaju glava prema gore-90˚dolazi do pojave statistički značajne razlike likvorskog tlaka između LK i KSS (p=0,01). Istovremeno, tlak likvora u LSS ponovno raste na pozitivne vrijednosti i na 45˚ iznosi +33,6 ± 1,4 cm H_2O, a na 90˚ je +38,2 ± 1,1 cm H_2O. U položaju mačke glava prema dolje-225˚ tlak lumbalno pada i iznosi +10,9 ± 1,6 cm H_2O, a na 270˚ je iznosio +3,9 ± 1,0 cm H_2O, dok tlak likvora u LK i KSS ponovno raste na podjednako pozitivne vrijednosti, i u LK na 225˚ je +35,9 ± 2,6 cm H_2O, a na 270˚ je +41,7 ± 2,4 cm H_2O, te u KSS na 225˚ iznosi +37,0 ± 2,0 cm H_2O, a na 270˚ je +42,0 ± 2,2 cm H_2O.

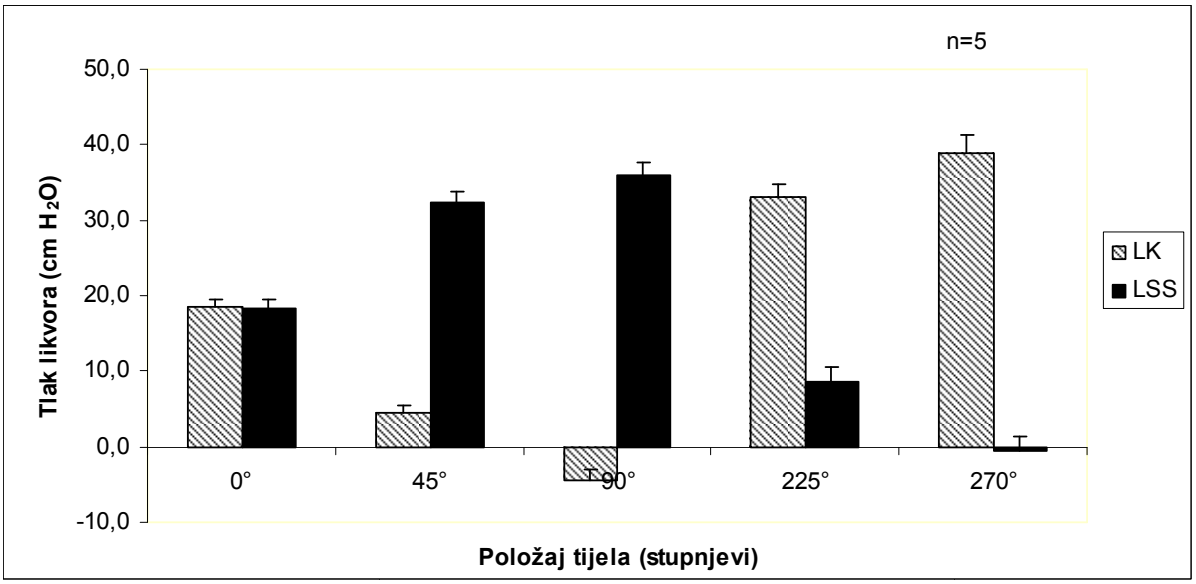


Slika 4.3. Promjene tlaka likvora (cm H_2O) u lateralnoj komori (LK, □), u kortikalnom (KSS, ▨) i lumbalnom (LSS, ■) subarahnoidnom prostoru u horizontalnom položaju (0˚), u položaju glava prema gore-45˚, zatim u položaju glava prema gore-90˚, u položaju glava prema dolje-225˚, te u položaju glava prema dolje-270˚ kod četiri mačke (n=4) s opstrukcijom Sylvijevog akvedukta. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti.

4.4. Promjene tlaka likvora u različitim dijelovima likvorskog sustava mačaka kod promjena položaja tijela prije i nakon cervikalne stenoze

a) Promjene tlaka likvora prije cervikalne stenoze

Na mačkama smo ponovno kontrolno pratili promjene tlaka likvora u lateralnoj komori (LK) te u lumbalnom subarahnoidnom prostoru (LSS) pri promjenama položaja tijela, tj. u horizontalnom položaju (0˚), u položaju glava prema gore-45 ˚, u položaju glava prema gore -90˚, zatim u položaju glava prema dolje -225 ˚, i u položaju glava prema dolje-270˚. Na Slici 4.4. ponovno se može vidjeti kako su tlakovi u LK i u LSS u horizontalnom položaju podjednaki (u LK +18,5 ± 1,0 cm H_2O i u LSS +18,4 ± 1,1 cm H_2O) i ne razlikuju se statistički, dok u položaju glava prema gore tlak lumbalno postepeno raste i na 45˚ iznosi +32,4 ± 1,3 cm H_2O, dok u uspravnom položaju, tj. na 90˚ iznosi +36,0 ±1,6 cm H_2O, a tlak u kraniju, tj. u LK istovremeno pada do negativnih vrijednosti i na 45˚ je +4,4 ± 1,0 cm H_2O, a na 90˚ je -4,4, ± 1,4 cm H_2O. U položaju mačke glava prema dolje tlak u LSS postepeno postaje negativan i na 225˚ iznosi +8,7 ± 1,9 cm H_2O, a na 270˚ je -0,7 ± 2,0 cm H_2O, dok tlak u LK raste i na 225˚ iznosi +33,1 ± 1,6 cm H_2O, dok na 270˚ iznosi +38,9 ± 2,9 cm H_2O .

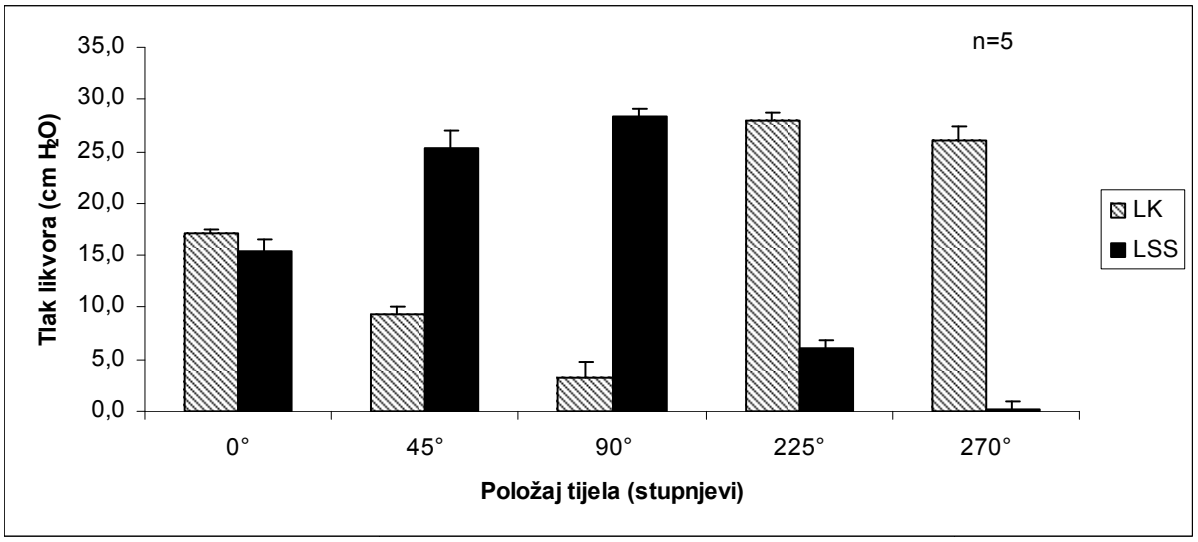


Slika 4.4. Promjene tlaka likvora (cm H_2O) u lateralnoj komori (LK, ▨) i lumbalnom (LSS, ■) subarahnoidnom prostoru u horizontalnom položaju (0˚), u položaju glava prema gore-45˚, zatim u položaju glava prema gore-90˚, u položaju glava prema dolje-225˚, te u položaju glava prema dolje-270˚ kod pet mačaka (n=5) bez cervikalne stenoze (kontrolne životinje). Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti.

b) Promjene tlaka likvora nakon cervikalne stenoze

U slijedećoj seriji pokusa, na mačkama smo postavili cervikalnu stenozu (vidi Modeli i metode), te ponovno mjerili tlak likvora u komorama (LK) i lumbalnom subarahnoidnom prostoru (LSS) u različitim položajima tijela: u horizontalnom položaju (0˚), u položaju glava prema gore-45 ˚, u položaju glava prema gore -90˚, zatim u položaju glava prema dolje -225˚, i u položaju glava prema dolje-270˚. Na Slici 4.5 može se vidjeti kako su u horizontalnom položaju tlakovi u LK i u LSS ponovno podjednaki (u LK +17,2 ± 0,4 cm H_2O i u LSS +15,5 ± 1,0 cm H_2O) i među njima nema statistički značajne razlike (p=0,239), dok u položaju glava

prema gore tlak u LK sada ostaje pozitivan i na 45˚ iznosi +9,2 ± 0,9 cm H_2O, i na 90˚ iznosi +3,3 ± 1,4 cm H_2O , a tlak u LSS ponovno raste prema još pozitivnijim vrijednostima i na 45˚ +25,4 ± 1,6 cm H_2O, a na 90˚ iznosi +28,3 ± 0,8 cm H_2O. Dakle, u odnosu na mjerenja učinjena na kontrolnim životinjama bez cervikalne stenoze u istim položajima, tlak u LK se statistički značajno razlikuje nakon postavljanja cervikalne stenoze (u položaju glava prema gore-45˚ p=0,0075, dok je u položaju glava prema gore-90˚ p=0,0054). U položaju mačke glava prema dolje tlak likvora u LK raste i na 225˚ iznosi +27,9 ± 1,8 cm H_2O, a na 270˚ je +26,1 ± 1,2 cm H_2O, dok tlak likvora u LSS pada i na 225˚ iznosi +6,1 ± 0,8 cm H_2O, a na 270˚ je +0,1 ± 0,8 cm H_2O.



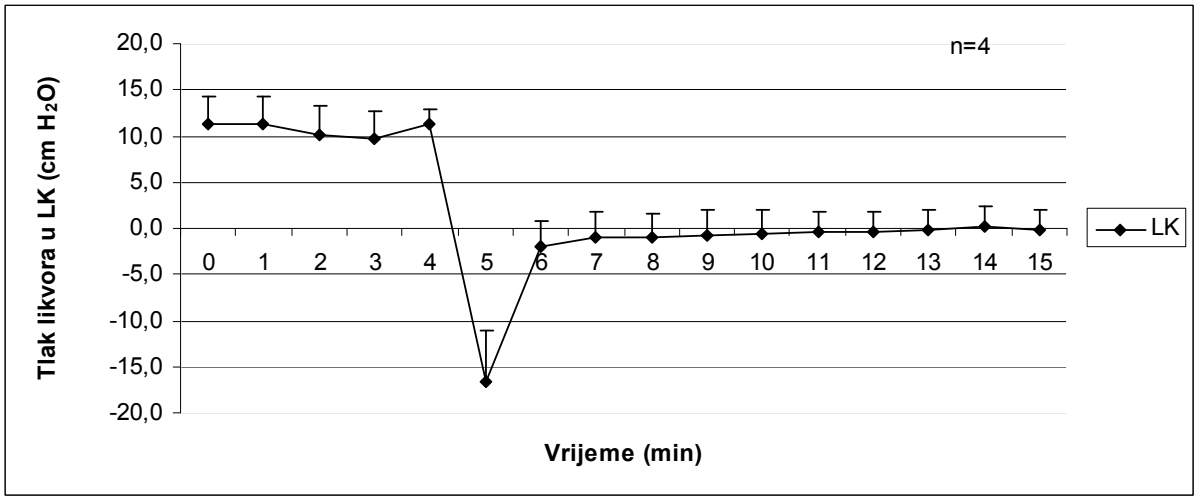
Slika 4.5. Promjene tlaka likvora (cm H_2O) u lateralnoj komori (LK, ▨) i lumbalnom (LSS, ■) subarahnoidnom prostoru u horizontalnom položaju (0˚), u položaju glava prema gore-45˚, zatim u položaju glava prema gore-90˚, u položaju glava prema dolje-225˚, te u položaju glava prema dolje-270˚ kod pet mačaka (n=5) sa cervikalnom stenozom. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti.

Iz predočenih rezultata može se također uočiti kako na izmjereni likvorski tlak u LSS utječe stupac likvora u kraniju, koji odgovara udaljenosti od cisterne magne do mjesta mjerenja u LK, što kod mačaka, kako je već navedeno, iznosi oko 6 cm. Tako je tlak u LSS prije cervikalne stenoze mjeren kod životinje u položaju glava prema gore-90˚ iznosio +36,0 ± 1,6 cm H_2O, dok je u istom ploţaju nakon postavljanja cervikalne stenoze iznosio +28,3 ± 0,8 cm H_2O, tj. razlika između dviju vrijednosti gotovo u potpunosti odgovara navedenoj udaljenosti od 6 cm.

4.5. Promjene tlaka likvora u kraniju kod dodavanja i oduzimanja različitih volumena likvora

a) Promjene tlaka likvora nakon oduzimanja 1 ml likvora iz cisterne magne

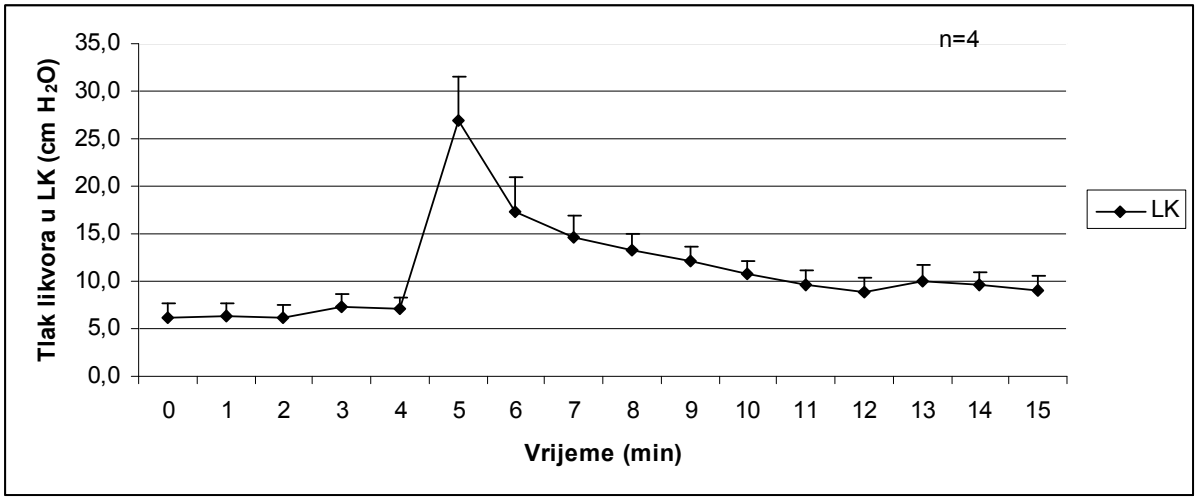
U ovoj seriji pokusa, iz cisterne magne kunića izvadili smo 1 ml likvora, te zatim mjerili kako se mijenja tlak likvora u lateralnim komorama (LK) u vremenskom intervalu od 10 minuta od oduzimanja. Na Slici 4.6 može se vidjeti kako se tlak likvora u LK nakon izvlačenja 1 ml likvora iz CM spušta u kratkom vremenskom intervalu od jedne minute sa normalnih vrijednosti u horizontalnom položaju (+10,7 ± 2,0 cm H_2O) na negativne vrijednosti (-9,1 ± 6,0 cm H_2O), te se zatim vrlo brzo vraća na pozitivne vrijednosti (+0,5 ± 2,4 cm H_2O).



Slika 4.6. Promjene tlaka likvora (cm H_2O) u lateralnoj komori (LK) u toku 10 minuta nakon oduzimanja 1 ml likvora iz cisterne magne. Točke predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije standardnu pogrešku srednje vrijednosti kod 4 kunića (n=4).

b) Promjene tlaka likvora nakon dodavanja 1 ml likvora u cisternu magnu

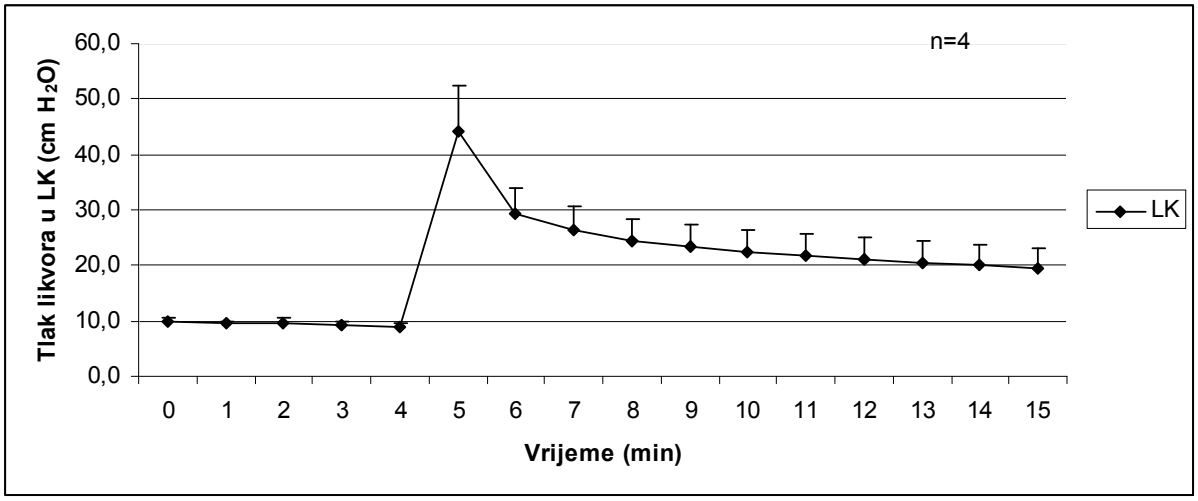
U ovim pokusima, u cisternu magnu kunića u horizontalnom položaju dodali smo 1 ml umjetnog likvora, te također mjerili promjene tlaka likvora u lateralnoj komori u periodu od 10 minuta nakon aplikacije. Na Slici 4.7 vidljivo je kako se tlak likvora u lateralnoj komori naglo podiže na vrijednosti nekoliko puta veće od kontrolnog tlaka (+27,0 ± 4,7 cm H_2O), te se zatim u kratkom vremenskom periodu od nekoliko minuta vraćaju na početne vrijednosti (+8,8 ± 1,6 cm H_2O).



Slika 4.7. Promjene tlaka likvora (cm H_2O) u lateralnoj komori (LK) u toku 10 minuta nakon dodavanja 1 ml umjetnog likvora u obliku bolusa u cisternu magnu. Točke predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije standardnu pogrešku srednje vrijednosti kod 4 kunića (n=4).

c) Promjene tlaka likvora nakon dodavanja 2 ml likvora u cisternu magnu

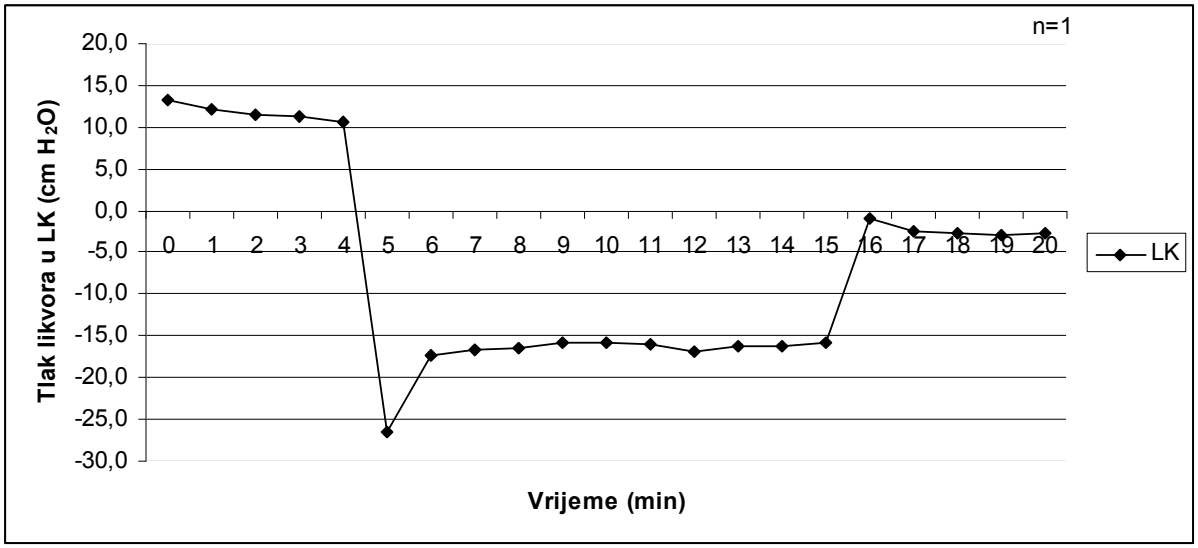
U navedenim pokusima, u cisternu magnu kunića dodali smo 2 ml umjetnog likvora, te promatrali promjene tlaka likvora u lateralnoj komori. Na Slici 4.8 može se još jednom vidjeti kako se tlak livora povisi na vrijednosti nekoliko puta veće od početnih (+44,3 ± 8,0 cm H_2O), i to u kratkom razdoblju od jedne minute. Vrijednosti na koje tlak u komori poraste nešto su veće od onih kod dodavanja 1 ml likvora. Također se može vidjeti kako se ponovo vrijednosti tlaka u narednih nekoliko minuta vraćaju prema početnim vrijednostima (+19,3 ± 3,8 cm H_2O).



Slika 4.8. Promjene tlaka likvora (cm H_2O) u lateralnoj komori (LK) u toku 10 minuta nakon dodavanja 2 ml umjetnog likvora u obliku bolusa u cisternu magnu. Točke predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije standardnu pogrešku srednje vrijednosti kod 4 kunića (n=4).

d) Promjene tlaka likvora nakon oduzimanja 2 ml likvora iz cisterne magne

Ovom vrstom pokusa, na jednom kuniću prikazano je kako se mijenjaju vrijednosti tlaka likvora u lateralnoj komori nakon oduzimanja 2 ml likvora iz cisterne magne. I ovdje se na Slici 4.9. može vidjeti kako se tlak likvora u lateralnoj komori spušta na negativne vrijednosti istu minutu nakon oduzimanja iz cisterne magne (-26,6 cm H_2O), te se zatim postepeno u toku slijedećih nekoliko minuta vraća na početne vrijednosti (-0,9 cm H_2O). U ovom pokusu vrijednosti tlaka neposredno nakon oduzimanja likvora nešto su negativnije u odnosu na oduzimanje 1 ml iz cisterne magne.

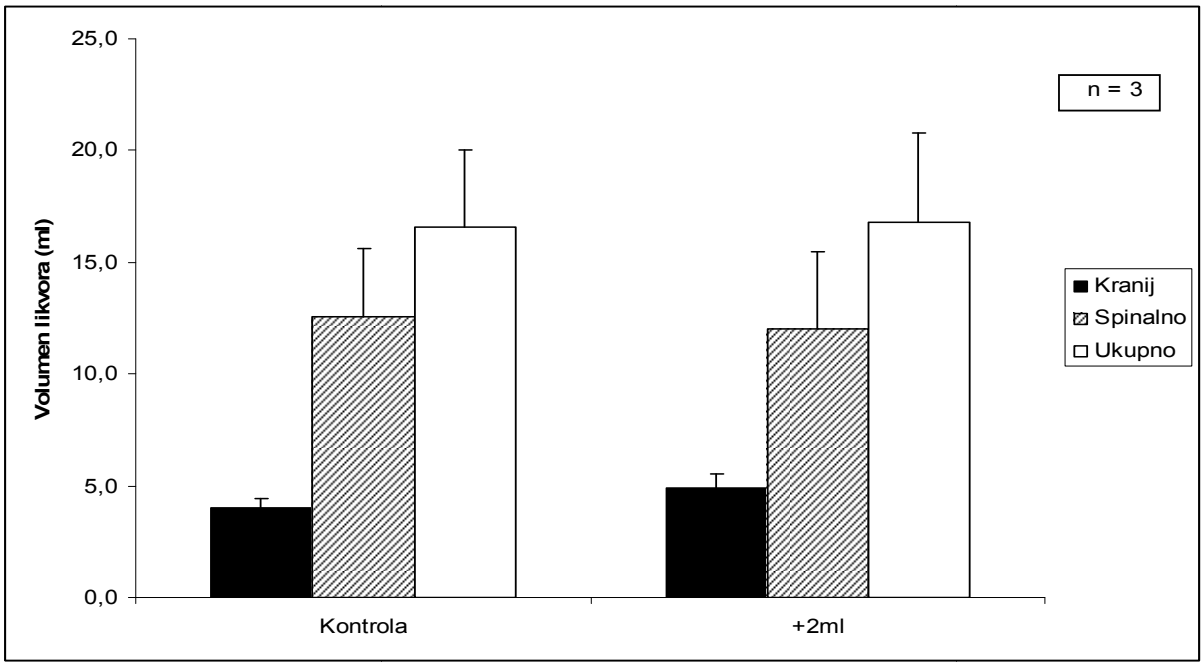


Slika 4.9. Promjene tlaka likvora (cm H_2O) u lateralnoj komori (LK) u toku 15 minuta nakon oduzimanja 2 ml likvora iz cisterne magne kod 1 kunića (n=1).

4.6. MRI volumetrija likvorskog sustava kunića prije i nakon dodavanja 2 ml likvora u cisternu magnu

U navedenim pokusima na anesteziranim kunićima smo na magnetskoj rezonanci snimali kuniće prije i poslije dodavanja likvora u cisternu magnu. Na dobivenim MR presjecima smo nakon toga volumetrijskim metodama mjerili ukupni volumen likvora u kraniospinalnom sustavu, te potom zasebno volumene kranijskog i spinalnog likvora.

Rezutati su prikazani na Slici 4.10. Može se vidjeti kako se volumen izmjerenog likvora u ukupnom kraniospinalnom likvorskom sustavu, te u njegovom kranijskom i spinalnom dijelu pojedinačno nije puno promijenio nakon dodavanja 2 ml umjetnog likvora u cisternu magnu, te se također može primijetiti da je omjer kranijskog i spinalnog volumena likvora oko 25% : 75% i da taj omjer i nakon dodavanja umjetnog likvora u sustav ostaje konstantan.



Slika 4.10. Prikaz rezultata volumetrijske analize likvora (ml) u cijelokupnom kraniospinalnom likvorskom sustavu (□) , te u njegovom kranijskom (■) i spinalnom dijelu (▨) kod 3 kunića (n=3), u kontrolnim uvjetima, te nakon dodavanja 2 ml u cisternu magnu (CM). Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti.

5. RASPRAVA

U našem laboratoriju ranije smo uočili kako pri uspravljanju tijela eksperimentalnih životinja dolazi do pojave subatmosferskog intrakranijskog tlaka i kako ta pojava nije tranzitorna (kao što se to općenito vjeruje), nego može imati dugo trajanje (122). U uvodnom dijelu ove disertacije već je spomenuto kako klasični koncept fiziologije cerebrospinalnog likvora podrazumijeva neprekinutu sekreciju likvora, većinom u lateralnim komorama, zatim jednosmjernu cirkulaciju kroz likvorski sustav, te apsorpciju u duralne venske sinuse konveksiteta. Pojava negativnog ili subatmosferskog tlaka u kraniju (poglavito ako nije tranzitornog karaktera) ne može se uklopiti u taj opće prihvaćeni tradicionalni koncept fiziologije likvora.

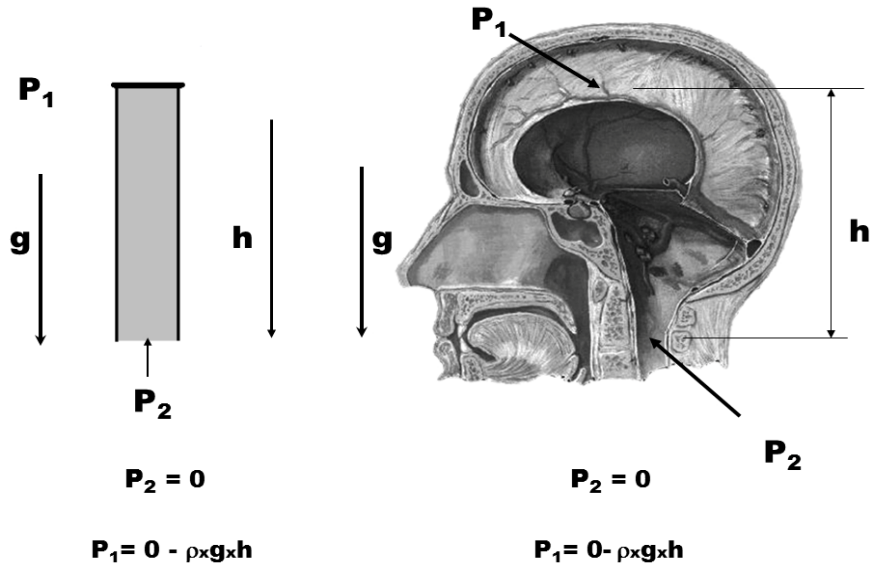
Na osnovu tih ranijih rezultata postavljena je nova hipoteza (122) prema kojoj se promjene tlaka i volumena likvora u kraniju moraju odvijati u skladu sa Zakonom o mehanici fluida. Naime, na Slici 5.1. (shematski prikaz naše hipoteze) se vidi kako bi sudbina likvora u kraniju trebala biti kao i sudbina fluida unutar cjevčice krutih stijenki s otvorom na dnu (kao u našem modelu, vidi Materijal i metode) na koju utječe gravitacija. U ovom položaju tekućina iz cjevčice neće istjecati jer u njoj vlada hidrostatski tlak negativniji od atmosferskog, koji veličinom odgovara visini stupca tekućine u navedenoj cjevčici. Tada se tlak fluida izračunava prema formuli $P = 0 – \rho \times g \times h$ (vidi Slika 5.1.). Kao što se vidi na Slici 4.1., tlak likvora u kraniju kontrolnih mačaka i tlak fluida (umjetnog likvora) u „kranijskom„ dijelu modela (cjevčica s otvorom na dnu) se statistički ne razlikuju. Osim toga, vrijednost tlaka je oko – 4 cm H_2O, što odgovara udaljenosti (h = 4 cm) točke mjerenja tlaka od otvora na dnu cjevčice odnosno od foramena magnuma (kako u modelu tako i u mačaka). Dakle, promjena tlaka tekućine u kraniju kontrolnih mačaka je u skladu s našim ranijim opažanjima (25, 122, 125) i u skladu s postavljenom hipotezom.

Prema našoj hipotezi (122), očekivali smo i da tlak mjeren na dnu „spinalnog“ dijela našeg modela, kao i u lumbalnom dijelu likvorskog sustava mačaka u uspravnom položaju, bude pozitivan i iznosi onoliko koliko iznosi udaljenost od mjerne kanile do gornjeg kraja „spinalnog“ dijela modela, odnosno do foramena magnuma u životinja. U spinalnom dijelu (koji je izložen utjecaju atmosferskog tlaka) tlak fluida se izračunava prema formuli $P = 0 + \rho \times g \times h$. Naši kontrolni rezultati pokazali su da taj tlak iznosi oko +31 cm H_2O u modelu (h modela = 31 cm), tj. oko +33 cm H_2O u mačaka (h mačaka = 33 cm) (Slika 4.1.), što je potpuno u skladu s očekivanjima na osnovu naše nove hipoteze.

Budući da unutar cjevčice koja predstavlja „kranijski“ dio našeg modela likvora ne dolazi do promjene volumena tekućine tijekom promjene položaja, opaženi rezultati jasno pokazuju da može doći do značajne promjene tlaka unutar kranija bez promjene volumena tekućina (krvi ili likvora) unutar njega. Čini se kako je intrakranijski volumen konstantan u bilo kojem položaju tijela, što je ujedno i evolucijski bitno te je vjerojatno omogućilo uspravljanje i hod na dvije noge uz konstantno optimalnu perfuziju mozga krvlju. Naime, ako krvni tlak ostaje isti, a intrakranijski normalno pada na negativne vrijednosti, onda je za očekivati da je perfuzijski tlak mozga bolji u uspravnom položaju nego što se to ranije mislilo (kad se smatralo kako je intrakranijski tlak stalno pozitivan).

Dakle, rezultati ovih naših kontrolnih pokusa nisu u skladu sa klasičnim konceptom patofiziologije likvora, jer prema Zakonu o mehanici fluida tekućina ne može teći sa mjesta nižeg tlaka (u životinja u uspravnom položaju u lateralnim komorama oko -4 cm H_2O) prema mjestu višeg tlaka (u uspravnom položaju u cisterni magni oko 0 cm H_2O). Osim toga, u uspravnom položaju je i tlak likvora u lumbalnom dijelu bio oko +30 cm H_2O (Slika 4.1.). Postavlja se pitanje kako likvor može teći od tlaka 0 cm H_2O u cervikalnoj regiji prema + 30 cm H_2O u lumbalnoj regiji. Dakle, dok je tijelo u uspravnom položaju ne postoji gradijent

hidrostatskog tlaka likvora, kako u kraniju tako ni unutar spinalnog dijela, koji bi omogućio gibanje likvora u skladu s klasičnim konceptom fiziologije likvora (od moždanih komora do kortikalnog i uzduž spinalnog subarahnoidnog prostora).



Slika 5.1. Usporedba promjene tlaka tekućine unutar plastične cjevčice te unutar kranijskog prostora, tj. pojava negativnog tlaka u uspravnom položaju, bez promjene volumena tekućine unutar cjevčice ili kranija. I plastična cjevčica i kranij sa tri strane omeđeni su čvrstim stijenkama i ne mogu mijenjati volumen, a sa donje strane su otvoreni. Tlak tekućine na gornjem kraju cjevčice negativan je i odgovara visini stupca tekućine u njoj ($P_1 = 0 – \rho$ x g x h). Prema Zakonu mehanike fluida, negativni tlak se pojavljuje bez promjene volumena tekućine (123, 124). Isti princip može se primijeniti i za tekućinu u intrakranijskom prostoru, pa tako negativni hidrostatski tlak cerebrospinalne tekućine unutar kranija ne ovisi o volumenu već o udaljenosti između točke mjerenja i foramena magnuma (h).

5.1. Pouzdanost novog modela kraniospinalnog likvorskog sustava

Do sada poznati umjetni modeli kraniospinalnog likvorskog sustava bili su građeni vrlo različito od samog likvorskog sustava eksperimentalnih životinja. Obično su se sastojali od staklenih cijevi čvrstih zidova, koje su bile građene na isti način cijelom dužinom modela, te su bili ili zatvoreni sa svih strana ili otvoreni na jednom kraju (9). Na takvim modelima predviđane su promjene tlakova kod promjena položaja tijela ljudi i životinja. U našem radu model likvorskog sustava napravljen je tako da je svojim dimenzijama u cijelosti oponašao dimenzije kraniospinalnog likvorskog sustava mačaka, tj. sastoji se od „kranijskog“ dijela dužine 6 cm, što je bila prosječna udaljenost od frontalnih sinusa do cisterne magne mačaka, te od „spinalnog“ dijela dužine 31 cm, što je odgovaralo prosječnoj udaljenosti od cisterne magne do razine L3 kralješka mačaka, na kojoj je bila postavljena mjerna kanila. Osim dimenzijama, našim modelom pokušali smo oponašati i fizikalna svojstva kranijskog i spinalnog dijela likvorskog sustava životnja. Zato je „kranijski“ dio našeg modela bio građen od plastične cjevčice rigidnih zidova, sa tri strane zatvorene i otvorene na dnu, na koju se sa otvorene strane nadovezivao duguljasti gumeni balon koji je mogao mijenjati svoj volumen. Poznato je da se spinalni intraduralni volumen može znatno mijenjati, dok kranijski nema to svojstvo (21, 22, 24, 120). Takva razlika posljedica je činjenice da je dura u kraniju čvrsto vezana za okolne kosti lubanje, dok je spinalno samo mjestimično vezana za kosti kralješaka, a većinom ju od kosti odvajaju epiduralni venski pleksusi i masno tkivo. Promjene volumena krvi u venskim pleksusima u različitim fiziološkim stanjima u organizmu uzrokuju promjene intraduralnog spinalnog volumena (21, 24).

Spinalna dura kod eksperimentalnih životinja (i ljudi) građena je od dvije vrste vlakana: elastičnih i kolagenih, te je gotovo maksimalno rastegnuta u uzdužnom smjeru pomoću kolagenih, no može se na svakoj razini rastezati u poprečnom smjeru zbog elastičnih

vlakana. Također je poznato da se dura kod životinja (ovdje pasa) rasteže u dvije faze, te ima dva modula elastičnosti (Y1 = 3,99 x 10^5 N/m^2; Y2 = 4,6x 10^7 N/m^2) (22, 120). Pri manjim opterećenjima rasteže se prvenstveno rastezanjem elastičnih vlakana poprečno, a pri većim opterećenjima rastezanjem kolagenih vlakana uzdužno. U našim ranijim istraživanjima (pripremni pokusi za ovu disertaciju) pokazalo se kako naš model likvorskog sustava u „spinalnom“ dijelu također ima dva modula elastičnosti (Y1 = 1,417 x 10^6 N/m^2; Y2 = 0,458 x10^6 N/m^2), istog reda veličine kao i moduli kod većih eksperimentalnih životinja (125). Zbog tih biofizičkih karakteristika naš model vjerno odražava promjene tlaka tekućine pri promjenama položaja tijela anesteziranih eksperimentalnih životinja (Slika 4.1.)

Na osnovu naše hipoteze za očekivati je kako će oduzimanje ili dodavanje volumena tekućine unutar sustava imati značajan utjecaj na tlak tekućine. Stoga smo u našim istraživanjima na novom modelu kraniospinalnog likvorskog sustava napravili seriju dodavanja i oduzimanja umjetnog likvora u sustav, te snimili model s pomoću magnetske rezonance uz volumetrijska mjerenja. Prema našim rezultatima volumetrijske analize (Tablica 4.1.) vidljivo je kako je tehnika volumetrije jako pouzdana jer su rezultati volumetrijskih mjerenja gotovo u potpunosti odgovarali volumenima dodanog, odnosno oduzetog umjetnog likvora u model (najveća greška očitavanja volumetrije je bila na razini 100 μl).

Kod snimanja modela kraniospinalnog sustava volumetrijska analiza vrlo precizno detektira promjene koje su izazvane dodavanjem ili oduzimanjem umjetnog likvora. To je bilo i očekivano s obzirom da je zbog pravilnog geometrijskog oblika modela relativno lako napraviti preciznu ručnu segmentaciju kranijskog i spinalnog dijela sustava te potom i volumetrijski izračun. Kod eksperimentalnih životinja naprotiv, volumetrijski podaci ne pokazuju jasan porast ili pad ovisno o provedenoj proceduri dodavanja ili oduzimanja likvora. Nekoliko je mogućih objašnjenja za ovakve rezultate. Najprije, ručna segmentacija likvorskog kranijskog i spinalnog sustava kod eksperimentalne životinje mnogo je kompleksnija nego

kod modela kraniospinalnog sustava, te su stoga i greške mjerenja vjerojatnije. Također, kod eksperimentalnih životinja postoje procesi sekrecije i apsorpcije likvora koji izravno utječu na izmjerene volumene. Iako su korištene MR sekvence birane tako da pruže što bolju prostornu rezoluciju u što kraćem vremenu snimanja, ipak je njihovo trajanje od oko 2x5 minuta dovoljno dugo da se stanje u likvorskom sustavu nakon dodavanja ili oduzimanja likvora promijeni zbog ranije spomenutih kompenzacijskih procesa apsorpcije i sekrecije likvora.

5.2. Učinak prekida komunikacije na različitim mjestima unutar likvorskog sustava na tlak likvora

Ako je naša hipoteza dobro postavljena, onda bi prekidi u komunikaciji unutar likvorskog sustava doveli do prekida hidrostatskog stupca likvora, i time do drugačijih promjena tlaka pri promjeni položaja tijela. Stoga smo u našim pokusima na eksperimentalnim životinjama (mačkama) promatrali promjene tlaka likvora pri promjenama položaja tijela u kontrolnim uvjetima (bez prekida komunikacije), te pri blokadi likvorskog sustava na razini akvedukta i nakon blokade u području cervikalnog segmenta.

U kontrolnim uvjetima, kao što je već spomenuto, tlak je u horizontalnom položaju bio u svim dijelovima likvorskog sustava (kranijski i spinalno) podjednak. Pri uspravljanju životinje u položaj glava prema gore (90˚), tlak u kraniju padao je na negativne vrijednosti (oko – 4 cmH_2O), iznosio je onoliko kolika je bila udaljenost mjerne kanile od foramen magnuma, te je ostao takav cijelo vrijeme mjerenja u ovom položaju (Slike 4.1. i 4.2.). Također treba napomenuti da su mjerne kanile u kraniju bile postavljene u lateralnu komoru, te u kortikalni subarahnoidni sustav otprilike na istoj udaljenosti od foramena magnuma

(podjednaka hidrostatska razina u uspravnom položaju – vidi Sliku 3.3.). Tlakovi mjereni u ove dvije kanile i u uspravnom položaju bili su podjednaki i negativni (Slika 4.2.).

Poznato je da prema Zakonu o mehanici fluida tekućina ne može teći između točaka na kojima vladaju tlakovi istih vrijednosti. Stoga je za očekivati kako likvor ne može teći iz komora prema kortikalnom i spinalnom subarahnoidnom prostoru u horizontalnom položaju, budući da između tih položaja ne postoji hidrostatski gradijent koji bi omogućio gibanje likvora u tom smjeru (Slika 4.2.). Osim toga, likvor ne može teći niti iz komora prema kortikalnom subarahnoidnom prostoru ni kad je tijelo u uspravnom položaju iz istih razloga.

U položaju glava prema dolje (270º), u kraniju su izmjerene podjednake i pozitivne vrijednosti tlaka u komori i u kortikalnom subarahnoidnom prostoru (oko 40 cm H_2O), što je sada odgovaralo visini ukupnog stupca tekućine, tj. udaljenosti od lumbalnog prostora do cisterne magne (35-37 cm) + stupcu tekućine od cisterne magne do kranijskih kanila (oko 4 cm). Prema spomenutom Zakonu, ni u ovom slučaju likvor ne bi mogao teći sa mjesta nižeg tlaka prema mjestu s višim tlakom, tj. od cisterne magne prema kortikalnom subarahnoidnom prostoru. Dakle, iz analiza promjene tlakova u svim opisanim položajima vidimo kako nastali hidrostatski gradijenti ne omogućuju cirkulaciju likvora u skladu s općeprihvaćenom hipotezom jednosmjerne cirkulacije likvora iz komora prema kortikalnom i spinalnom subarahnoidnom prostoru.

U slučaju blokade likvorskog sustava na razini Sylvijevog akvedukta dolazi do promjene uvjeta koji vladaju u kranijskom prostoru, točnije u onom dijelu prije same blokade (u lateralnim komorama). U horizontalnom položaju i u slučaju blokade akvedukta tlakovi likvora u LK, KSS i LSS su podjednaki. No, pri uspravnom položaju sa glavom prema gore (90˚) dolazi do promjene vrijednosti tlaka u lateralnoj komori prema pozitivnijim vrijednostima (tlak raste s kontrolnih -3,4 ± 1,3 na -1,2 ± 0,7 cm H_2O) , dok su vrijednosti tlaka likvora u KSS ostale negativne i veličine slične kao u prethodnom slučaju (prije

blokade -3,9 ± 0,4, a nakon blokade -4,4 ± 0,5 cm H_2O) (Slike 4.2. i 4.3.). Na taj način u uspravnom položaju pri blokadi akvedukta stvara se gradijent tlaka između lateralnih komora i kortikalnog subarahnoidnog prostora (2-3 cm H_2O). Ovakav gradijent tlaka (iako mali), ukoliko potraje neko vrijeme, može biti uzrok širenja komora i početak razvoja hidrocefalusa (dok je tijelo u uspravnom položaju). Tlakovi likvora u LSS nisu se razlikovali prije i nakon blokade akvedukta, što je i za očekivati s obzirom da nije došlo do prekida komunikacije između kranijskog i spinalnog subarahnoidnog prostora.

U položaju tijela glava prema dolje tlakovi likvora u LK, KSS i LSS su bili podjednaki kao u normalnim uvjetima (Slike 4.2. i 4.3.). U našim ranijim istraživanjima s blokadom akvedukta kanilom (25) uočeno je kako blokada akvedukta dok je tijelo u horizontali sama po sebi ne dovodi do promjena tlaka likvora niti do stvaranja gradijenta tlaka tijekom više sati. To je bilo u suprotnosti s općeprihvaćenom hipotezom o sekreciji likvora jer je bilo za očekivati kako bi blokada trebala dovesti do nakupljanja „novoseceniranog“ likvora ispred zapreke. Osim toga, u spomenutom radu (25) uočeno je kako se gradijent tlaka odmah stvarao pri infuziji umjetnog likvora u izolirane komore (imitacija sekrecije). U slučaju infuzije u subarahnoidni prostor nije došlo do stvaranja gradijenta tlaka između KSS i LK bez obzira na blokadu akvedukta. Čini se kako u slučaju porasta tlaka u LSS i KSS dolazi do izravnog prijenosa porasta tlaka preko mozgovine u izolirane LK (budući da se tlak, prema Zakonu o mehanici fluida, istotobno prenosi na sve dijelove prostora unutar čvrstih stijenki kao što je kranij). Dakle, ti raniji rezultati u potpunosti se podudaraju s opaženim rezultatim prikazanim na Slikama 4.2. i 4.3. Tlak likvora iz kortikalnog prostora u položajima glava prema dolje se odlično prenosio u izolirane LK preko tkiva (dolazi do porasta tlaka na mozgovinu istodobno iz svih smjerova preko velike površine na malu površinu komora u sredini mozgovine) tako da nije nastao gradijent tlaka. Ovi rezultati su u skladu s rezultatima tlaka likvora mjerenih na dva mjesta kod bolesnika s komunicirajućim i nekomunicirajućim

hidrocefalusom kod kojih također nije uočeno kako promjene položaja tijela stvaraju neke gradijente tlakova u slučaju prekida komunikacije između komora i ostatka likvorskog sustava (126).

U slučaju blokade likvorskog sustava na cervikalnoj razini tlakovi su u horizontali ponovo podjednaki (Slike 4.4. i 4.5.) i unutar kontrolnih vrijednosti. Dakle, postavljanje stenoze samo po sebi ne dovodi do značajnih promjena tlaka likvora kako unutar komora tako ni u LSS. U položaju tijela sa glavom prema gore (90º), tlak u lateralnoj komori više ne pada na negativne vrijednosti već ostaje pozitivan (+3,3 ± 1,4 cm H_2O) (Slika 4.5.). Dakle, pri uspravljanju tijela u slučaju prekida komunikacije između KSS i LSS, unutar kranija će tlak biti pozitivan. Taj rezultat je također u skladu s našom novom hipotezom jer unutar cjevčice koja ima dno i sa svih strana je zatvorena (kao i kranij u našem modelu s cervikalnom stenozom) tlak fluida treba biti pozitivan, a vrijednost u skladu s anatomskim dimenzijama cjevčice. Naime, tada se tlak fluida u cjevčici izračunava prema formuli $P = 0 + \rho \times g \times h$ (123, 124). Budući da je udaljenost kanile (h) u LK oko 4 cm od foramena magnuma, onda se očekuje i rezultat u skladu s našom hipotezom (kad je cjevčica zatvorena) oko +4 cm H_2O (Slika 4.5.).

Likvorski tlak u lumbalnom prostoru pri uspravljanju tijela raste na pozitivne vrijednosti, no sada oko +30 cm H_2O (u normalnim uvjetima bio je oko +36 cm H_2O), vjerojatno stoga što je sada hidrostatska visina stupca tekućine iznad mjernog mjesta manja za stupac tekućine u kraniju i početnom dijelu cervikalnog subarahnoidnog prostora, koji je odvojen cervikalnom blokadom. Takvi rezultati su u skladu s ranijim opažanjima Magnesa koji je mjerio tlak lumbalno pri promjenama položaja tijela (iz ležećeg u sjedeći) u osoba s procesima u cervikalnom dijelu kralježnice (18).

U položaju glava prema dolje tlak u lateralnoj komori ponovno postaje pozitivan i sve više raste kako se tijelo postavlja u položaj na 270 º. Čini se kako pod višim tlakom dolazi

do djelomičnog proboja stenoze i prijenosa stupca hidrostatskog tlaka iz spinalnog subarahnoidnog prostora u kranijski (bez stenoze u položaju 270 º tlak u LK je bio +38,9 cm H_2O, a nakon stenoze je +26,1 cm H_2O) kako je to opisao i Magnes u svojim radovima.

Ovi rezultati ukazuju kako su uvjeti perfuzije mozga u slučaju stenoze cervikalnog subarahnoidnog prostora bitno slabiji nego u kontrolnih (zdravih) životinja koje imaju normalnu kraniospinalnu komunikaciju. Ti rezultati ukazuju na moguće patofiziološke mehanizme razvoja glavobolje, intrakranijske hipertenzije i hidrocefalusa kod patoloških procesa koji se javljaju u cervikalnom prostoru (cervikalni tumori, arahnoidne ciste i sl). Naime, prema opće prihvaćenoj hipotezi likvora takvi procesi ne bi smjeli bitno utjecati na procese u kraniju budući da su oni izvan hipotetski zamišljene cirkulacije likvora (tj. izvan kranijskog prostora).

5.3. Učinak promjene volumena likvora na tlak likvora i MR volumetrija

U seriji pokusa učinjenih na kunićima uočeno je da tlak likvora u mirovanju u horizontalnom položaju iznosi oko 10 cm H_2O, što je značajno manje nego u mačaka (vidi Slike 4.2. i 4.6.). U slučaju dodavanja i 1 ml i 2 ml umjetnog likvora u cisternu magnu tlak u lateralnoj komori naglo bi porastao (Slika 4.7. i 4.8.) . U slučaju dodavanja 1 ml likvora tlak je porastao na oko 25 cm H_2O (Slika 4.7.), dok je u slučaju dodavanja većeg volumena likvora ta promjena bila nešto jače izražena, oko 45 cm H_2O (Slika 4.8). U oba slučaja u vremenskom periodu mjerenja od oko 10 minuta tlakovi su se vratili prema početnim vrijednostima. I u slučaju oduzimanja 1 ml i 2 ml likvora iz cisterne magne opservirali smo slične rezultate: vrlo brzu promjenu, tj. nagli pad likvorskog tlaka u lateralnoj komori na negativne vrijednosti (Slika 4.6.). Također su promjene bile kratkotrajne tj. u nekoliko minuta vrijednosti su se vraćale prema kontroli. Dakle, likvorski sustav ima izuzetno veliku

sposobnost kompenzacije promjena volumena unutar kranija, sa vrlo brzom normalizacijom intrakranijskog tlaka. Čini se kako kod dodavanja volumena tekućine zbog porasta tlaka dolazi do brze apsorpcije tekućine u kapilarnu mrežu mozgovine i spinalne moždine.

U zadnjoj seriji pokusa na kunićima je nakon dodavanja 2 ml umjetnog likvora u cisternu magnu metodom MR volumetrije pokušano odrediti u kojem dijelu likvorskog sustava dolazi do promjene volumena kako bismo saznali koji dio likvorskog sustava ima značajnu kompenzatornu ulogu. Volumetrijski smo određivali ukupan volumen likvora u cijelom kraniospinalnom prostoru kunića, te pojedinačno u kranijskom i spinalnom dijelu. Rezultati koje smo dobili pokazuju gotovo jednake vrijednosti prije i nakon dodavanja 2 ml likvora: ukupno oko 16,5 ml, u kraniju oko 4,5 ml, te spinalno oko 12 ml likvora (Slika 4.10.). Može se uočiti kako je omjer kranijskog naspram spinalnom volumenu likvora ostao konstantan, tj. volumen spinalno bio je oko 3 puta veći od kranijskog volumena.

U udžbenicima se navodi kako je ukupni volumen likvora kod ljudi oko 150 ml (9). MR volumetrija ukazuje kako je volumen likvora u kraniju 100-120 ml, a volumen likvora u lumbalnoj vreći 30-50 ml (80, 112-118). No, novija studija spinalne MR ukazuje kako je volumen likvora ukupno spinalno oko 100 ml (127), dakle, znantno veći od volumena same lumbalne vreće. To otvara pitanje omjera volumena likvora u kranijskom i spinalnom prostoru, tj. pitanje značenja spinalnog intraduralnog prostora u kompenzaciji porasta intrakranijskog tlaka. Do sada u literaturi nalazimo podatke kako je spinalni prostor odgovoran za 30% (98, 112) i oko 80% (128) kompenzacije povišenog tlaka u kraniju. Naši podaci s kunića ukazuju kako je veći volumen likvora u spinalnom dijelu, što bi nadalje ukazivalo da bi kompenzacijska uloga tog prostora u povišenju intrakranijskog tlaka bila kod kunića veća nego kod ljudi.

Postavlja se pitanje zašto nismo uočili porast volumena likvora nakon dodavanja 2 ml umjetnog likvora u CM. Teoretski gledano, moguća su dva odgovora. Moguće je kako dodani

volumen umjetnog likvora nije dovoljno velik da bi izazvao promjenu vidljivu na snimkama magnetske rezonance, tj. moguće je da se navedeni volumen ravnomjerno i brzo rasporedi unutar likvorskog sustava. S druge strane, moguće je da se dodani volumen prebrzo apsorbira pod porastom tlaka nakon dodavanja u CM, te da se zbog toga jasno ne uoči porast volumena. Naime, MR snimanja trajala su više od 5 minuta, a kao što je već spomenuto, promjene tlaka koje se događaju u likvorskom sustavu su vrlo brze, te je moguće kako je vremensko trajanje metode snimanja ograničavajući faktor. Možda bi bilo moguće vizualizirati manje promjene volumena likvora unutar likvorskog sustava na MR aparatima veće snage (npr. 7T), ili u slučaju pronalaska prikladnije sekvence, vrlo kratkog trajanja.

Čini se kako se promjene likvorskog tlaka pri promjenama položaja tijela unutar kraniospinalnog sustava poglavito ponašaju u skladu sa Zakonom o mehanici fluida, a ne kako se to predviđa na osnovu tradiocionalne hipoteze o sekreciji, jednosmjernoj cirkulaciji i apsorpciji likvora. Dobiveni rezultati ove disertacije ukazuju kako treba preispitati klasičnu hipotezu sekrecije, jednosmjerne cirkulacije i apsorpcije likvora. Naime, dok je tijelo u uspravnom položaju, nije moguće da likvor cirkulira iz lateralnih komora gdje je tlak negativan prema cisterni magni gdje tlak ima više hidrostatske vrijednosti, odnosno da se cirkulacija likvora odvija iz područja nižeg tlaka prema području višeg tlaka.

Rezultati ove disertacije su u skladu s novim konceptom fiziologije likvora koji se ukratko može sažeti u mikrocirkulatornoj hipotezi (77-79). Prema toj hipotezi (proizašloj iz našeg laboratorija), hidrostatske i osmotske sile na razini kapilara mozga i spinalne moždine reguliraju promet vode između krvi i intersticija, dok intersticijska tekućina i likvor funkcioniraju kao povezana cjelina.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju svih rezultata izloženih u ovoj doktorskoj disertaciji mogli bismo zaključiti slijedeće:

1) Novi model kraniospinalnog likvorskog sustava ima kranijski dio nepromjenjivog volumena i spinalni dio koji može mijenjati svoj volumen. Promjene tlaka fluida u takvom modelu vjerno odražavaju promjene tlaka likvora u kraniju i spinalno kod eksperimentalnih životinja čije biofizičke i anatomske karakteristike likvorskog sustava oponaša. Stoga ovaj model može poslužiti u daljnjim istraživanjima kraniospinalnog likvorskog sustava. Kako unutar kranijskog dijela modela nisu moguće promjene volumena fluida, onda opaženi rezultati s modela i životinja ukazuju kako su moguće značajne promjene tlaka u kraniju bez promjene volumena tekućina unutar njega.

2) Promjene tlaka likvora u kranijskom i spinalnom dijelu likvorskog sustava kod promjena položaja tijela kontrolnih eksperimentalnih životinja (bez prekida u komunikaciji unutar likvorskog sustava) jasno ukazuju da je tlak u kraniju negativan (subatmosferski) dok je životinja u vertikalnom položaju. Opaženi hidrostatski gradijent unutar likvorskog sustava (negativni tlak u kraniju, tlak oko 0 cm H_2O u CM, te oko + 30 cm H_2O u lumbalnom prostoru) ukazuje kako likvor ne može cirkulirati u skladu s opće prihvaćenom hipotezom iz moždanih komora prema kranijskom i spinalnom subarahnoidnom prostoru dok je tijelo u uspravnom položaju. Analiza hidrostatskih gradijenata u drugim položajima (horizontala, glava prema dolje) također ukazuje kako nije moguća cirkulacija likvora u skladu s opće prihvaćenom tradicionalnom hipotezom fiziologije likvora.

3) Na istoj hidrostatskoj razini u lateralnim komorama i u kortikalnom subarahnoidnom prostoru tlak likvora je jednak u svim testiranim položajima, te ne postoji gradijent hidrostatskog tlaka koji omogućava cirkulaciju likvora unutar kranijskog likvorskog prostora.

4) Kod blokade Sylvijevog akvedukta samo u uspravnom položaju javlja se mali gradijent tlaka između komora i kortikalnog subarahnoidnog prostora. U horizontalnom položaju i položaju glava prema dolje takav gradijent ne postoji. Sve to ukazuje kako ne postoji neto formiranje (sekrecija) likvora unutar komora.

5) U slučaju prekida kraniospinalne komunikacije izazvane cervikalnom stenozom kod uspravljanja tijela životinja u kraniju se javlja pozitivan tlak likvora. Čini se kako je perfuzija mozga u tom slučaju znatno slabija (manji cerebralni perfuzijski tlak) nego kad postoji normalna likvorska kraniospinalna komunikacija.

6) U slučaju promjene volumena tekućine u likvorskom sustavu eksperimentalnih životinja dolazi do brzih promjena tlaka likvora koje traju desetak minuta, što govori u prilog velikom kapacitetu kraniospinalnog likvorskog sustava u održavanju normalnog intrakranijskog tlaka. To ukazuje kako i intrakranijski tlak ovisi o ukupnom voumenu likvora unutar kraniospinalnog prostora.

7. SAŽETAK

U ovom radu testirali smo novu hipotezu dinamike likvora prema kojoj tlak likvora ne ovisi o sekreciji, jednosmjernoj cirkulaciji i apsorpciji likvora, nego je tlak likvora posljedica biofizičkih karakteristika kranijskog i spinalnog prostora prema Zakonu o mehanici fluida. Promjene tlaka i volumena likvora pri različitim položajima tijela opažene na novom modelu likvorskog sustava koji se sastoji od kranijskog dijela s nepromjenjivim volumenom i spinalnog s promjenjivim volumenom, usporedili smo s onima opaženim na anesteziranim mačkama i kunićima u kontrolnim uvjetima, te nakon izazivanja cervikalne stenoze i blokade Sylvijevog akvedukta. U uspravnom položaju, u kontrolnih životinja dolazi do pojave subatmosferskog tlaka u kraniju, što je u skladu sa Zakonom o mehanici fluida, a u suprotnosti s opće prihvaćenom hipotezom dinamike likvora. To ukazuje na znatno bolju perfuziju mozga u uspravnom položaju nego što se to ranije vjerovalo (važna evolucijska prilagodba). Analiza hidrostatskih gradijenata tlaka unutar kraniospinalnog likvorskog sustava u svim testiranim položajima tijela ukazuje na nemogućnost cirkulacije likvora jednosmjerno iz komora u kortikalni i spinalni subarahnoidni prostor. Kod otežane kraniospinalne komunikacije (cervikalna stenoza, blokada akvedukta) unutar komora tlak likvora postaje pozitivniji. Opaženi rezultati su u skladu s novom mikrocirkulatornom hipotezom fiziologije likvora prema kojoj su volumen i tlak likvora regulirani osmotskim i hidrostatskim silama na razini kapilara mozga i kralježnične moždine.

8. SUMMARY

In this disertation, we have tested a new hypothesis about CSF dynamics, according to which CSF pressure does not depend on CSF secretion, unidirectional circulation and absorption, but it is a consequence of biophysical characteristics of cranial and spinal space, according to the law of fluid mechanics. CSF pressure and volume changes, observed in different „body“ positions of the new CSF system model, which consists of the cranial part with unchangeable volume, and the spinal part with a volume that can be changed, were compared with the observations obtained from anaesthetized cats and rabbits in control conditions, as well as after producing cervical stenosis and aqueduct of Sylvius blockade. In an upright position, in control animals an appearance of subatmospheric pressure inside the cranium occures, which is in accordance with the law of fluid mechanics, and in opposition with the generally accepted hypothesis about CSF dynamics. This implies that a much better brain perfusion exists in an upright body position than it was previously believed (an important evolutionary adjustment). A performed analysis of hydrostatic pressure gradients inside the craniospinal CSF space in all of the tested body positions indicates that CSF circulation in an unidirectional manner from the ventricles into the cortical and spinal subarachnoidal space is impossible. In the case of impaired craniospinal communication (cervical stenosis, aqueductal blockade), the pressure inside the ventricles becomes more positive. The observed results are in accordance with the new microcirculatory hypothesis of CSF physiology, according to which CSF pressure and volume are regulated by osmotic and hydrostatic forces at the brain and spinal cord capillary level.

9. LITERATURA

1. Bailey P. Introduction U: Lups S, Haan AMFH (ed.) The Cerebrospinal Fluid. Elsevier Pub Co, Amsterdam; 1954. 11-15
2. Bowsher D. Cerebrospinal fluid dynamycs in Health and Disease. Springfield: Charles C. Tomas; 1960.
3. Weed LH. Meninges and cerebrospinal fluid. J Anat 1938; 72: 181-215
4. Millen JW, Woolam DH. The Anatomy of Cerebrospinal Fluid. Oxford University Press, London; 1962.
5. Dandy WE. Experimental hydrocephalus. Ann Surg 1919; 70: 129-142.
6. Cushing H. Studies on the Cerebro-Spinal Fluid: I. Introduction. J Med Res, 1914; 31(1): 1-19.
7. O'Connell JE. Cerebrospinal fluid mechanics. Proc Roy Soc Med, 1970; 63(5): 507-518.
8. Davson H. The physiology of the cerebrospinal fluid. Churcill-Livingstone: London; 1968.
9. Davson H, Welch K, Segal MB. The physiology and Pathophysiology of the cerebrospinal fluid. Churchill Livingstone: Edinbourg; 1987.
10. Fishman AR. Cerebrospinal fluid in Diseases of the Nervous System. WB Saunders Co: Philadelphia, 1980.
11. Di Chiro G. Movement of the cerebrospinal fluid in human beings. Nature 1964; 204: 290-291.
12. Di Chiro G. Observation on the circulation of the cerebrospinal fluid. Acta Radiol Diagn 1966; 5: 988-1002.

13. McComb JG. Recent research into nature of cerebrospinal fluid formation and absorption. J Neurosurg 1983; 59: 369-383.
14. McComb JG. Physiology of Cerebrospinal Fluid Circulation. U: Hoffman HJ, Epstein F (ed.). Disorders of the Developing Nervous System: Diagnosis and Treatment. Boston, Blackwell Sci Publ 1986; 483.503.
15. Welch K. The principles of physiology of the cerebrospinal fluid in relation to hydrocephalus including normal pressure hydrocephalus. U: Friedlander WJ (ed.) Current Reviews. Advances in Neurology 13: New York, Raven Press, 1975; 247-332.
16. Katzman R, Pappius HM. Brain Electrolytes and Fluid Metabolism. Williams and Wilkins, Baltimore, 1970.
17. Chapman PH, Cosman ER, Arnold MA. The relationship between ventricular fluid pressure and body position in normal subjects and subjects with shunts: a telemetric study. Neurosurgery 1990; 26: 181-189.
18. Magnaes B. Body position and cerebrospinal fluid pressure. Part 1: Clinical studies on the effect of rapid postural changes. J Neurosurg 1976; 44: 687-697.
19. Magnaes B. Body position and cerebrospinal fluid pressure. Part 2: Clinical studies on orthostatic pressure and the hydrostatic indifferent point. J Neurosurg 1976; 44: 698-705.
20. Magnaes B. Movement of cerebrospinal fluid within the craniospinal space when sitting up and lying down. Surg Neurol 1978; 10: 45-49.
21. Alperin N, Hushek SG, Lee SH, Sivaramakrishman A, Lichtor T. MRI study of cerebral blood dynamics in upright posture: the effect of posture on intracranial compliance and pressure. Acta Neurochir (Wien) 2005; 95: 177-181.
22. Tunturi RA. Elasticity of the spinal cord dura in dog. J Neurosurg 1977; 47: 391-396.

23. Johanson CE, Duncan JA, Klinge PM, Brinker T, Stopa EG, Silveberg GD. Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: new chalenges in health and disease. Crebrospinal Fluid Res 2008; 5: 10
24. Martins AN, Wiley JK, Myers PW. Dynamics of the cerebrospinal fluid and spinal dura mater. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1972; 35: 468-473.
25. Klarica M, Orešković D, Božić B, Vukić M, Butković V, Bulat M. New experimental model of acute aqueductal blockade in cats: effects on cerebrospinal fluid pressure and the size of brain ventricles. Neuroscience 2009; 158: 1397-1405.
26. Milhorat TH. Hydrocephalus and the cerebrospinal fluid. Williams and Wilkins, Baltimore, 1972.
27. Milhorat TH. The third circulation revisited. J Neurosurg 1975; 42: 628-645.
28. Millhorat TH. Cerebrospinal fluid and the brain edemas. New York, Neuroscience Society 1987.
29. Lemieux L et al. Automatic Segmentation of the Brain and Intracranial Cerebrospinal Fluid in *T*1-Weighted Volume MRI Scans of the Head, and Its Application to Serial Cerebral and Intracranial Volumetry. Magn Reson Med 2003; 49: 872-884.
30. Brown PD et al. Molecular mechanisms of cerebrospinal fluid production. Neuroscience 2004; 129(4): 957-970.
31. Brodbelt A , Stoodley M. CSF pahways: a review. Br J Neurosurg 2007; 21(5): 510-520.
32. Segal WH, Pollay M. The secretion of cerebrospinal fluid. Exp Eye Res (Suppl) 1977; 25: 128-147.
33. Pollay M, Hisey B, Reynolds E. Choroid Plexus Na+/K+ activated Adenosine Triphosphatase and cerebrospinal fluid formation. Neurosurgery 1985; 17: 768-772.

34. Sweet WH, Browneli GL, Scholl JA. The formation, flow and absorption of cerebrospinal fluid;newer concepts based on studies with isotopes. Res Publ Ass Nerv Ment Dis 1954; 34: 101-159.

35. Bering EA Jr. Water exchange of central nervous system and cerebrospinal fluid. J Neurosurg 1952; 9: 275-278.

36. Schurr PH, Polkey PH. Hydrocephalus. Oxford University Press, Oxford, 1993.

37. Heisey SR, Held D, Pappenheimer JR. Bulk flow and diffusion in the cerebrospinal fluid system of the goat. Am J Physiol 1962; 203:775-781.

38. Rubin RC et al. The production of cerebrospinal fluid in man and its modification by acetazolamide. J Neurosurg 1966; 25(4): 430-436.

39. Cutler RW et al. Formation and absorption of cerebrospinal fluid in man. Brain 1968; 91(4): 707-720.

40. Sklar FH, Long DM. Recirculatory spinal subarchnoid perfusion in dogs: a method for determining CSF dynamics under non-steady state conditions. Neurosurgery 1977; 1(1): 48-56.

41. Sklar FH et al. Effects of pressure on cerebrospinal fluid formation:nonsteady-state measurements in dogs. Am J Physiol 1980; 239(3): 277-284.

42. Pollay M. Formation of cerebrospinal fluid. J Neurosurg 1975; 42: 665-673.

43. Levinger IH, Edery N. Casts of the cat cerebroventricular system. Brain Res 1968; 1: 294-304.

44. Wald A, Hochwald GM, Malhan C. The effects of ventricular fluid osmolality on bulk flow of nascent fluid into the cerebral ventricles in cats. Exp Brain Res 1976; 25(2): 157-167.

45. Bering EA Jr. Choroid plexus and arterial pulsation of cerebrospinal fluid; demonstration of the choroid plexuses as a cerebrospinal fluid pump. AMA Arch Neurol Psychiatry 1955; 73(2): 165-172.
46. O'Connell JEA. The vascular factor in intracranial pressure and the maintenance of the cerebrospinal fluid circulation. Brain 1943; 66: 204-208.
47. Weed LH. Forces concerned in the absorption of the cerebrospinal fluid. Am J Physiol 1935; 114: 40.45.
48. Weed LH. Studies on Cerebro-Spinal Fluid. No III: The pathways of escape from the Subarachnoid Spaces with particular reference to the Arachnoid Villi. J Med Res 1914; 31(1): 51-91.
49. Welch K, Friedman V. The cerebrospinal fluid valves. Brain 1960; 83: 454-469.
50. Gomez DG,Potts GD, Deonarie V, Reilly KF. Effect of pressure gradient changes on themorphology of arachnoid villi and granulations of the monkey. Lab Invest 1975; 28: 648-657.
51. Tripathi RC. The functional morphology of the outflow systems of ocular and cerebrospinal fluids. Exp Eye Res (Suppl) 1977; 25: 65-116.
52. Mott FW. The Oliver-Sharpey Lectures on the cerebrospinal fluid. Lecture I: The physiology of the cerebrospinal fluid. Lancet 1910; 2: 1-8.
53. Dandy WE. Where is cerebrospinal fluid absorbed? JAMA 1929; 92: 2012-2014.
54. Brierley JB, Field EJ. The connections of the cerebrospinal space with the lymphatic system.J Anat 1948; 82:153-166.
55. Bradbury MWB. Lymphatics and central nervous system. Trends in Neurosci 1981; 4: 100-101.
56. Bradbury MWB, Cole DF. The role of the lymphatic system in drainage of the cerebrospinal fluid and aqueous humour. J Physiol (Lond)1980; 299: 353-365.

57. Jackson RT, Tigges J, Arnold W. Subarachnoid space of the CNS, nasal mucosa and lymphatic system. Arch Otolaryngol 1979; 105: 180-184.
58. Wislocki GB, Putnam TJ. Absorption from the ventricles in experimeltally produced internal hydrocephalus. Am J Anat 1921; 29: 313-320.
59. Hopkins LN, Baky L, Kinkel WR. Demonstration of transventricular CSF absorption by computerized tomography. Acta Neurochir 1877; 39: 151-157.
60. Welch K, Sadler K. Permeability of the choroid plexus of the rabbit to several solutes. Am J Physiol 1966; 210: 652-660.
61. Sahar A. The effect of pressure on the production of the cerebrospinal fluid by the choroid plexus. J Neurol Sci 1982; 16: 49-58.
62. Hashimoto PH, Gotow T, Ichimura T, Arikuni T. Are the arachnoid villi really main drainage route for the cerebrospinal fluid into the blood stream?An electron microscope study. Okajimas Folia Anat Jpn 1982; 58: 819-835.
63. Hashimoto PH, Gotow T, Ichimura T, Nakatani T, Takasu N, Kodaka R, Smmitani S, Fukuda T. Visualisation of the cerebrospinal fluid drainage into the Galen's vein. Arach Histol Jpn 1985; 48: 173-181.
64. Hashimoto PH. Tracer in cisternal cerebrospinal fluid is soon detected in choroid plexus capillaries. Brain Res 1988; 440: 148-152.
65. Bulat M. Dynamics and statics of cerebrospinal fluid: the classical and a new hypothesis. U:Avezaat CJJ, van Eijndhoven JHM, Maas AIR, Tans JTJ (eds.) Intracranial Pressure VIII. Springer Verlag, Berlin, 1993, pp. 726-730.
66. Bulat M. Cerebrospinal fluid and brain: basic contraversies and new vistas. Periodicum Biologorum 1996; 98: 11-16.
67. Orešković D, Whitton PS, Lupret V. Effect of intracranial pressure on cerebrospinal fluid formation in isolated brain ventricles Neuroscience 1991; 41: 773-777.

68. Klarica M, Orešković D, Kalousek M, Hat J, Miše B, Bulat M. Intracranial pressure response to application of hyperosmolal sucrose into cerebrospinal fluid by the microvolume exchange method in dogs. Neurologia Croatica 1994; 43 (3): 147-154.

69. Klarica M, Gmajnički B, Orešković D, Bulat M. Osmotic force of the CSF and intracranial pressure in health and disease. In: Avezaat CJJ, van Eijndhoven JHM, Maas AIR, Tans JTJ (eds.) Intracranial Pressure VIII. Springer-Verlag, Berlin, 1993, pp. 735-737.

70. Klarica M, Orešković D, Miše B, Kalousek M, Bulat M. Osmolality in regulation of cerebrospinal fluid pressure and volume. Zagreb: First Congress of Croatian Neurosurgical Society 1996; pp. 46.

71. Enzmann DR, Pelc NJ. Normal flow patterns of intracranial and spinal cerebrospinal fluid defined with phase-contrast cine MR imaging. Radiology 1991; 178: 467-474.

72. Miše B, Klarica M, Seiwerth S, Bulat M. Experimental hydrocephalus and hydromyelia: a new insight in mechanism of their development. Acta Neurochirurgica-Wien 1996; 138: 862-869.

73. Miše B, Klarica M, Bulat M. Effect of aqueductal stenosis on development of hydrocephalus in cats. Periodicum Biologorum 1996; 98 (1): 33-36.

74. Vladić A, Strkić N, Jurčić D, Zmajević M, Klarica M, Bulat M. Homeostatic role of the active transport in elimination of [^{3}H] benzylpenicillin out of the cerebrospinal fluid system. Life Sciences 2000; 67 (19): 2375-2385.

75. Oreskovic D, Klarica M, Vukic M. Does the secretion and circulation of the cerebrospinal fluid really exist? Med Hypotheses. 2001; 56(5):622-4.

76. Orešković D, Klarica M, Lupret V, Vukić M. The character of the cerebrospinal fluid production. Neurosci Res Comm 2000; 26 (2): 69-76.

77. Orešković D, Klarica M. The formation of cerebrospinal fluid: nearly a hundred years of interpretations and misinterpretations. Brain Res Rev 2010; 64(2): 241-262.
78. Orešković D, Klarica M. Development of hydrocephalus and classical hypothesis of cerebrospinal fluid hydrodynamics: facts and illusions. Prog Neurobiol 2011; 94(3): 238-258.
79. Bulat M, Klarica M. Recent insights into a new hydrodynamics of the cerebrospinal fluid. Brain Res Rev 2011; 65(2): 99-112.
80. Condon B, Patterson J, Wyper D. Use of magnetic resonance imaging to measure intracranial cerebrospinal fluid volume. Lancet 1986; 1: 1355-1357.
81. Guillaume J, Janny P. Manometrie intracranienne continue: Interet de la methode et premiers resultats. Rev Neurol (Paris) 1951; 84: 131-142.
82. Lundberg N. Continuous recording and control of ventricular fluid pressure in neurosurgical practice. Acta Psychiatr Scand (Suppl) 1960; (suppl 149): 1-193.
83. Greenberg MS. Handbook of neurosurgery; 1997.
84. Klarica M. Fiziologija cerebrospinalnog likvora i intrakranijski tlak, Temelji neuroznanosti, Judas M and Kostovic I, I, Editor, 1997; MD: Zagreb, 334-342.
85. Bunegin L, Albin MS, Rauschhuber R. Intracranial pressure measurement from the anterior fontanelle utilizing a pneumoelectric switch. Neurosurg 1987; 20: 726-731.
86. Overweg-Plandsoen WCG, de Jong DA, Houlo PW. Anterior fontanelle pressure values in normal young children of various ages.U: Eighth International Symposium on Intracranial Pressure. Rotterdam 1991; Abstract: 20.
87. Crutchfield JS, Narayan RK, Robertson SC, Lloyd HM. Evaluation of a fiberoptic intracranial pressure monitor. J Neurosurg 1990; 72: 482-487.
88. North B, Reilly P. Raised Intracranial Pressure. Heinemann Medical Books, Oxford 1990.

89. Kenning JA, Touant SM, Saunders RL. Upright patient positioning in the management of intracranial hypertension. Surg Neurol 1981; 15: 148-152.

90. Rosner MJ, Coley IB. Cerebral perfusion pressure, intracranial pressure and head elevation. J Neurosurg 1986; 65: 636-641.

91. Feldman Z. Changes in cerebral hemodynamics with head elevation in head-injured patients. U: Avezaat CJJ, Eijndhoven JHM, MaasAR, Tans JTJ (eds.) Intracranial pressure VIII, Berlin, Springer-Verlag 1993; 429-432.

92. Dunbar HS, Guthrie TC, Karpell B. A study of the cerebrospinal fluid pulse wave. Arch Neurol 1996; 14: 624-630.

93. Bering EA. Circulation of the cerebrospinal fluid. Demonstration of the choroid plexus as the generator force for flow of fluid and ventricular enlargement. J Neurosurg 1962; 19:405-413.

94. Laitinen L. Origin of the arterial pulsations of cerebrospinal fluid. Acta Neurol Scand 1968; 44: 168-176.

95. Du Bonlay G, O'Connell J, Currie J, Bostick T, Verity P. Further investigations on pulsatile movements in the cerebrospinal fluid pathways. Acta Radiol Diag 1972; 13: 496-523.

96. Magnaes B. Body Position and Cerebrospinal Fluid Pressure. U: Wood HJ, ur:Neurobiology of Cerebrospinal Fluid 2. New York-London: Plenum Press 1983; 629-642.

97. Miller JD, Garibi J, Picard JD. Induced changes of cerebrospinal fluid volume. Effect during continuous monitoring of ventricular fluid pressure. Arch Neurol 1973; 28: 265-269.

98. Marmarou A, Schulman K, LaMorgese J. Compartmental analysis of compliance and outflow resistance of the cerebrospinal fluid system. J Neurosurg 1975; 43: 523-534.

99. Pappenheimer JR, Heisey SR, Jordan EF, Downer J. Perfusion of the cerebral ventricular system in unanasthetized goats. Am J Physiol 1962; 203: 763-774.

100. Orešković D et al. Evaluation of ventriculo-cisternal perfusion model as a method to study cerebrospinal fluid formation. Croat Med J 2003; 44(2): 161-164.

101. Marakovic J et al. Potential error in ventriculocisternal perfusion method for determination of cerebrospinal fluid formation rate in cats. Coll Antropol 2011; 35 Suppl 1:73-77.

102. Curran RE et al. Cerebrospinal fluid production rates determined by simultaneous albumin and inulin perfusion. Exp Neurol 1970; 29(3): 546-553.

103. Vladic A, Klarica M, Bulat M. Dynamics of distribution of 3H-inulin between the cerebrospinal fluid compartments. Brain Res 2009; 1248: 127-135.

104. Martins AN, Newby N, Doyle TF. Sources of error in measuring cerebrospinal fluid formation by ventriculocisternal perfusion. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1977; 40(7): 645-650.

105. Flexner LB, Winters H. The rate of formation of cerebrospinal fluid in etherized cats. Am J Physiol 1932; 101: 697-710.

106. Orešković D, Klarica M, Vukić M. The formation and circulation of cerebrospinal fluid inside the cat brain ventricles: a fact or an illusion? Neurosci Lett 2002; 327(2): 103-106.

107. Rougemont JD, Ames A, Nesbitt FB, Hofmann HF. Fluid formed by choroid plexus. J Neurophysiol 1960; 23: 485-495.

108. Potts DG, Bergland RM. Roentgenologic studies of cerebrospinal fluid formation in the dog. Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med 1969; 105(4): 756-762.

109. Polley M et al. Extracorporeal perfusion of choroid plexus. J Appl Physiol 1972; 32(5): 612- 617.

110. Bradley WG Jr, Kortman KE, Burgoyne B. Flowing cerebrospinal fluid in normal and hydrocephalic states: appearance on MR images. Radiology 1986; 159(3): 611-616.

111. Miner LC, Reed DJ. Composition of fluid obtained from choroid plexus tissue isolated in a chamber in situ. J Physiol 1972; 227(1): 127-139.

112. Marmarou A et al. A Nonlinear Analysis of the Cerebrospinal fluid system and Intracranial pressure Dynamics. J Neurosurger 1978; 48: 332-344.

113. Teasdale GM, Grant B et al: Intracranial CSF Volumes: Natural variations and Physiological Changes Measured by MRI. Acta Neurochir, Suppl. 1988; 42: 230-235.

114. Kohn MI et al. Analysis of Brain and Cerebrospinal Fluid Volumes with MRI Imaging. Part I. Methods, Reliability and Validation. Radiology 1991; 178: 115-122.

115. Tsunoda A et al. A quantitative index of Intracranial Cerebrospinal Fluid Distribution in Normal Pressure Hydrocephalus Using an MRI- based Processing Technique. Neuroradiol 2000; 42: 424-429.

116. Ashburner J et al. Voxel-based morphometry-the methods. Neuroimage 2000; 11: 805-821.

117. Giorgio A, De Stefano N. Clinical use of brain volumetry. J Magn Reson Imaging 2013; 37(1): 1-14.

118. Ishii K, Soma T, Kono AK, Sasaki H, Miyamoto N, Fukuda T, Murase K. Automatic volumetric measurement of segmented brain structures on magnetic resonance imaging. Radiat Med 2006; 24(6):422-30.

119. Krmpotić-Nemanić J. Anatomija čovjeka. Jumena, Zagreb 1982.

120. Tunturi AR. Elasticity of the spinal cord, pia and denticulate ligament in the dog. J Neurosurg 1978; 48: 975-979.

121. Merlis JK. The effect of changes in the calcium content of the cerebrospinal fluid on spinal reflex activity in the dog. Am J Physiol 1940; 131: 67-72.

122. Klarica M, Radoš M, Erceg G, Petošić A, Jurjević I, Orešković D. The influence of body position on cerebrospinal fluid pressure gradient and movement in cats with normal and impaired craniospinal communication. PLoS One. 2014; Apr 18;9(4):e95229.

123. Landau LD, Lifshitz EM. Course of Theoretical Physics; Volume 6, 2nd Eng. ed. Oxford: Pergamon 1987; 552 p.

124. Fox RW, Pritchard PJ, McDonald AT. Introduction to Fluid Mechanics; 7th ed. Hoboken: Wiley 2009; 752 p.

125. Jurjević I, Rados M, Oresković J, Prijić R, Tvrdeić A, Klarica M. Physical characteristics in the new model of the cerebrospinal fluid system. Coll Antropol. 2011 Jan;35 Suppl 1:51-6.

126. Stephensen H, Tisell M, Wikkelsö C. There is no transmantle pressure gradient in communicating or noncommunicating hydrocephalus. Neurosurgery. 2002 Apr;50(4):763-71; discussion 771-3..

127. Edsbagge M, Starck G, Zetterberg H, Ziegelitz D, Wikkelso C. Spinal cerebrospinal fluid volume in healthy elderly individuals. Clin Anat. 2011 Sep;24(6):733-40.

128. Löfgren J, Zwetnow NN. Cranial and spinal components of the cerebrospinal fluid pressure-volume curve. Acta Neurol Scand. 1973;49(5):575-85.

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 14. studenog 1982. god. u Karlovcu. Osnovnu školu završila sam u Zaprešiću s odličnim uspjehom, a potom sam pohađala X. opću gimnaziju u Zagrebu, koju sam također završila sa odličnim uspjehom. Završila sam i osnovnu glazbenu školu te sviram klavir. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala sam 2000. godine, te sam na istom diplomirala 2007.god., sa prosjekom ocjena 4,3. Nakon studija odradila sam jednogodišnji pripravnički staž za doktore medicine u KBC Zagreb, bolnica Rebro, te položila državni ispit 2008. god. Od 2007.god. radila sam kao znanstveni novak na Zavodu za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na projektu „Patofiziologija cerebrospinalnog likvora i intrakranijskog tlaka“, pod vodstvom glavnog istraživača i mentora, prof.dr.sc. Marijana Klarice. U svom radu sudjelovala sam u vođenju nastave na Katedri za farmakologiju u punoj satnici za znanstvene novake, te sam za svoj rad sa studentima od istih visoko ocijenjena. Također sam sudjelovala i u nastavi na engleskom jeziku. 2009. god. izabrana sam na mjesto asistenta na Katedri za farmakologiju Medicinskog fakulteta u Zagrebu. U svrhu usavršavanja odslušala sam poslijediplomski tečaj I kategorije pod nazivom “Umijeće medicinske nastave“.

Započela sam specijalizaciju iz neurologije na Klinici za neurologiju KBC Zagreb 2011. god., gdje radim i danas. Upisala sam Doktorski poslijediplomski studij Biomedicina i zdravstvo pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2008. god., te sam položila sve ispite 2011. god.

Aktivni sam član Hrvatskog društva farmakologa te Hrvatskog društva za neuroznanost. Autor sam i koautor ukupno 9 znanstvenih radova objavljenih u domaćim i međunarodnim indeksiranim časopisima, te sam sudjelovala u prevođenju udžbenika za studente medicine „Temeljna i klinička farmakologija“ (urednici B.G. Katzung i sur.).

Sudjelovala sam u brojnim znanstvenim skupovima unutar Hrvatske (3. Hrvatski kongres neuroznanosti, Zadar, 2009., Dileme u neurologiji, Šibenik, 2012., 2nd Croatian Congress on Movement Disorders, Croatia 2011., Dystonia training school, Croatia 2012.), te izvan Hrvatske (14th International Conference on Intracranial Pressure and Brain Monitoring, Tubingen 2010., 14th European Congress of Neurosurgery, Rome 2012., Dystonia training school, London 2013).

Aktivno se služim engleskim i njemačkim, a pasivno i španjolskim jezikom.