

29. Novembre

Recupero della circolazione cerebrale e delle funzioni cellulari nel post-mortem

La morte odora di resurrezione

Eugenio Montale

Qualcosa dopo la morte, l'inesplorato dei continenti dalla cui frontiera non c'è viaggiatore che torni
Amleto



Sia gli studi sugli esseri umani che quelli sugli animali da esperimento hanno dimostrato che le riserve di ossigeno, l'attività elettrica globale e la coscienza vengono perse entro pochi secondi dall'interruzione del flusso sanguigno, mentre le riserve di glucosio e ATP vengono esaurite entro pochi minuti

Hoxworth JM et al. Cerebral metabolic profile, selective neuron loss, and survival of acute and chronic hyperglycemic rats following cardiac arrest and resuscitation. Brain Res. 1999 Mar 13;821(2):467-79.

A meno che la perfusione non venga ripristinata rapidamente, molteplici meccanismi deleteri portano a una depolarizzazione diffusa della membrana, alla perdita dell'omeostasi ionica, alla disfunzione mitocondriale e all'accumulo eccitotossico di glutammato

Stys PK et al Na(+)-Ca2+ exchanger mediates Ca2+ influx during anoxia in mammalian central nervous system white matter. Ann Neurol. 1991 Sep;30(3):375-80.

È stato ampiamente proposto che la convergenza di questi fattori avvii una cascata progressiva e in gran parte irreversibile di apoptosi, necrosi e danno assonale

Greer DM. Mechanisms of injury in hypoxic-ischemic encephalopathy: implications to therapy. Semin Neurol. 2006 Sep;26(4):373-9. doi: 10.1055/s-2006-948317. PMID: 16969737.

Tuttavia, diverse osservazioni hanno messo in dubbio l'inevitabilità della morte delle cellule neurali minuti, o addirittura ore, dopo la cessazione della perfusione cerebrale.

In primo luogo, campioni di tessuto con sufficiente vitalità per colture cellulari e di fette organotipiche nonché per registrazioni elettrofisiologiche sono state raccolte da cervelli umani e di altri mammiferi dopo la morte

Charpak S et al Cardiac arrest in rodents: maximal duration compatible with a recovery of neuronal activity. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Apr 14;95(8):4748-53.

In secondo luogo, il team di **Keri Barksdale** del *Department of Psychiatry and Behavioral Neurobiology dell'University of Alabama at Birmingham* ha chiaramente dimostrato che i mitocondri rimangono funzionali fino a 10 ore dopo la morte nel tessuto corticale cerebrale umano mantengono la capacità di produrre ATP, ma i tassi di produzione diminuiscono con intervalli post-mortem più lunghi. Inoltre i mitocondri cerebrali post-mortem umani mantengono le loro capacità di produzione di DeltaPsi(mem) e ATP dopo la crioconservazione.

Barksdale KA et al Mitochondrial viability in mouse and human postmortem brain. FASEB J. 2010 Sep;24(9):3590-9.

In terzo luogo, nei gatti e nei macachi, un'ora di ischemia globale completa può essere seguita da recupero neuronale, elettrofisiologico e metabolico dopo la riperfusione

Hossmann KA & Sato K. Recovery of neuronal function after prolonged cerebral ischemia. Science. 1970 Apr 17;168(3929):375-6.

Infine, è stato segnalato dai ricercatori del *Royal Devon and Exeter Hospital, Exeter*, di un recupero neurologico completo da asistolia prolungata nel caso di ipotermia

Hughes A et al. Full neurological recovery from profound (18.0 degrees C) acute accidental hypothermia: successful resuscitation using active invasive rewarming techniques. Emerg Med J. 2007 Jul;24(7):511-2.

Lo studio policentrico del **DEFUSE 3 investigators** ha riportato esiti favorevoli in pazienti fino a 16 ore dopo l'insulto ischemico

Albers GW et al Thrombectomy for Stroke at 6 to 16 Hours with Selection by Perfusion Imaging. N Engl J Med. 2018 Feb 22;378(8):708-718.

Questi dati suggeriscono che l'inizio e la durata della morte cellulare dopo anossia/ischemia potrebbero estendersi per un intervallo temporale più lungo di quanto si pensi attualmente, consentendo un intervento multiforme che potrebbe arrestare la progressione dei programmi cellulari dannosi avviati dall'insulto globale.



Un team di venti laboratori di neuroscienze coordinati da **Zvonimir Vrselja** del *Department of Neuroscience, Yale School of Medicine*, ha ipotizzato che, nelle condizioni appropriate, alcune funzioni molecolari e cellulari nel cervello intatto potrebbero conservare almeno una capacità parziale di ripristino *ex vivo* dopo un intervallo post-mortem prolungato (PMI).

Nel report

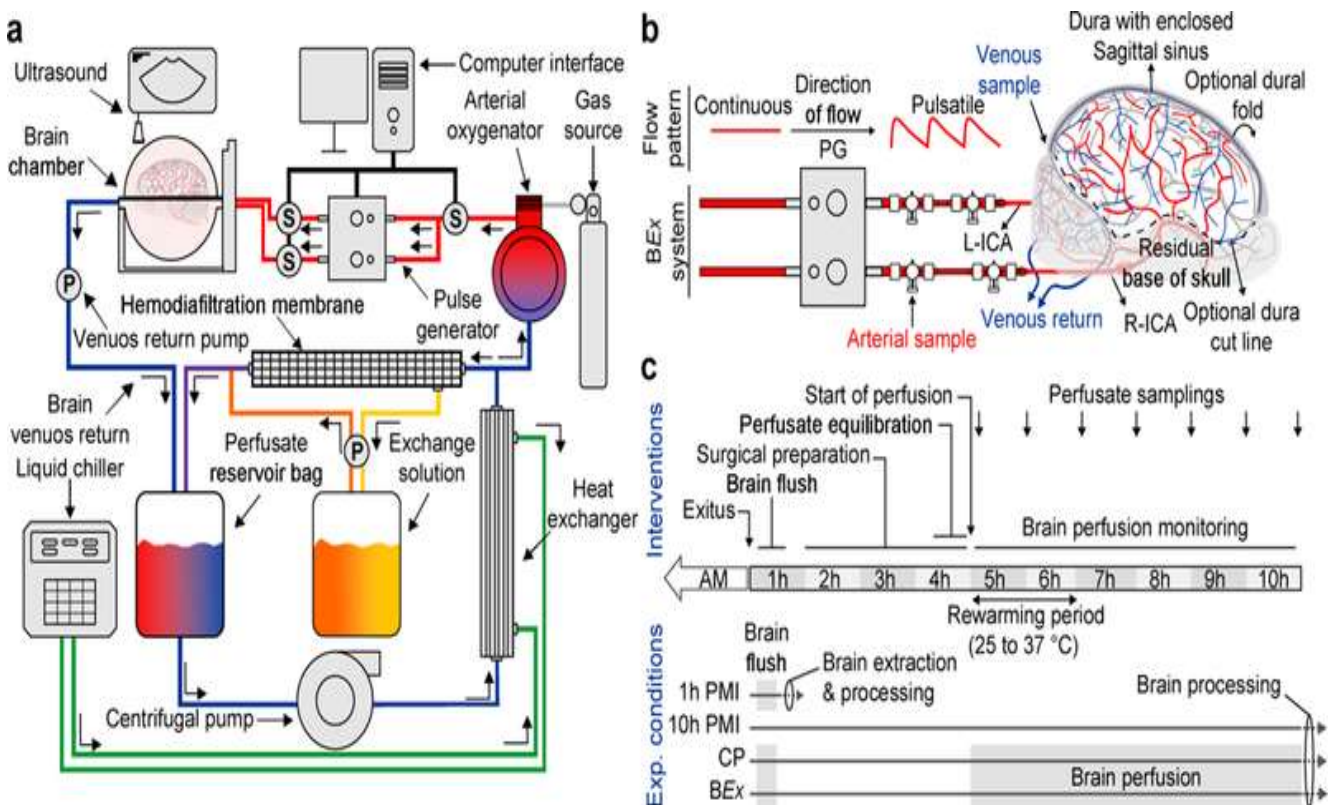
Vrselja Z et al

Restoration of brain circulation and cellular functions hours post-mortem.

Nature. 2019 Apr;568(7752):336-343.

Descrivono il ripristino e il mantenimento della microcircolazione e delle funzioni molecolari e cellulari del cervello suino intatto in condizioni normotermiche *ex vivo* fino a 4 ore post-mortem.

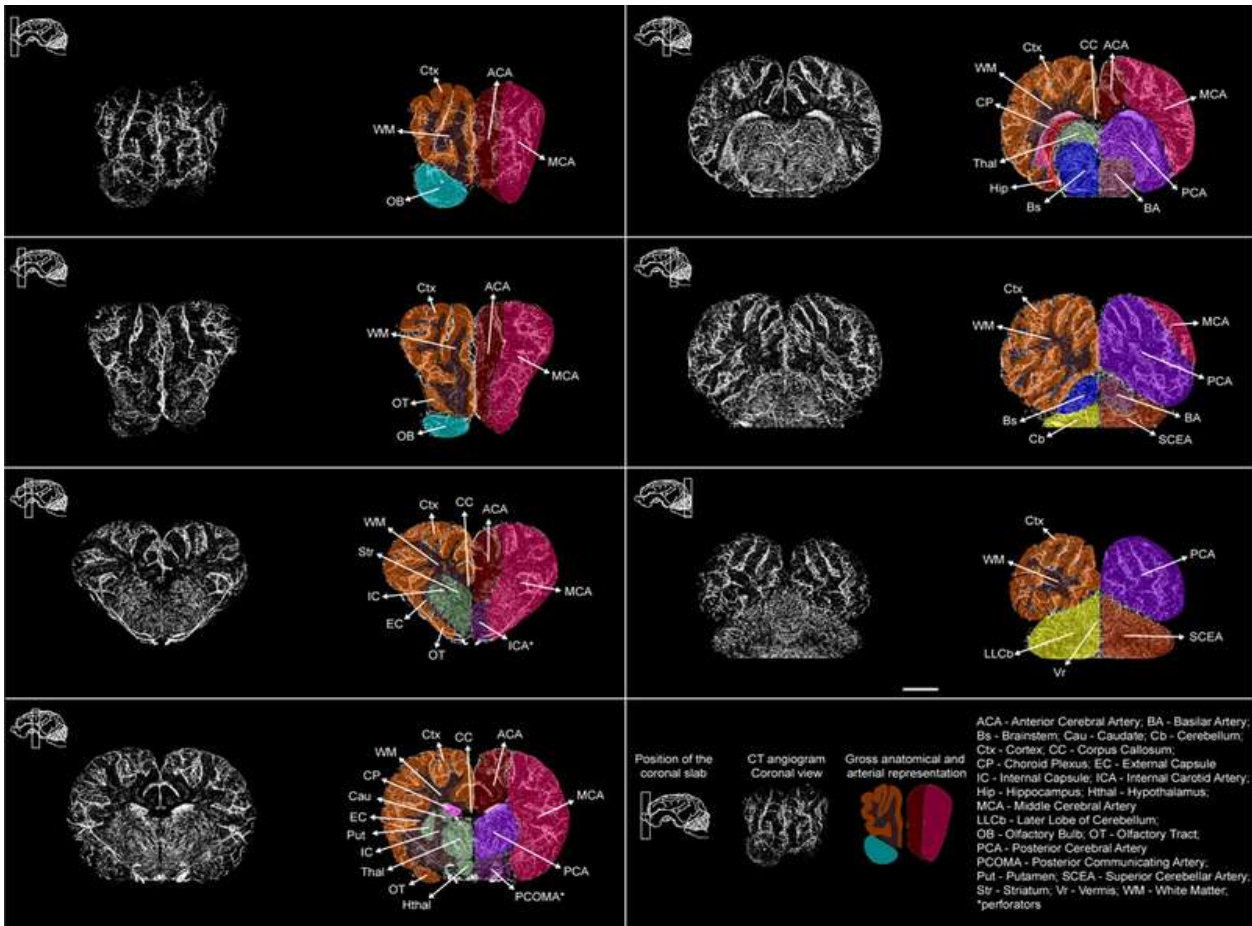
Attraverso **un sistema di perfusione pulsatile extracorporea** e un **perfusato acellulare, non coagulativo, ecogeno e citoprotettivo** basato sull'emoglobina che promuove il recupero dall'anossia, **è possibile ridurre il danno da riperfusione, prevenire l'edema e supportare metabolicamente i requisiti energetici del cervello.**



a, Schema semplificato del sistema di perfusione a circuito chiuso. S, Sensore; P, Pompa.

b, Collegamento del cervello suino al sistema di perfusione tramite le linee arteriose. Il generatore di impulsi trasforma il flusso continuo in perfusione pulsatile. Sono delineate le porte per il campionamento artero-venoso. In questa preparazione, la dura può essere tagliata con attenzione e alettata medialmente per accedere al cervello per la sperimentazione; si presta attenzione chirurgica per garantire che le vene a ponte corticali rimangano intatte. Arterie carotidi interne (ICA) destra (R) e sinistra (L); PG, Generatore di impulsi. **c**, Schema che illustra il flusso di lavoro e le condizioni sperimentali. AM, ante-mortem.

Utilizzando questo sistema, inoltre è possibile dimostrare la conservazione della citoarchitettura; l'attenuazione della morte cellulare; e il ripristino delle risposte infiammatorie dilatatorie vascolari e gliali, l'attività sinaptica spontanea, nonché il metabolismo cerebrale attivo in assenza di attività elettrocorticografica globale.



L'angiogramma micro-tomografia computerizzata (CTA) dimostra la pervietà dei principali vasi arteriosi e delle arteriole (sinistra). Le corrispondenti strutture anatomiche macroscopiche insieme alle aree di rifornimento arterioso sono state tracciate e mappate su ogni rendering micro-CTA (destra). La legenda fornisce abbreviazioni per strutture anatomiche e vasi vascolari. Barra di scala, 1 cm. I dati provengono da un rendering rappresentativo; l'esperimento è stato ripetuto in n=3 cervelli indipendenti con risultati simili.

Il lavoro riporta una esaustiva e precisa analisi ultrastrutturale: [assolutamente da vedere!](#)

Complessivamente questi risultati dimostrano che, in condizioni appropriate, il cervello isolato e intatto dei “grandi mammiferi” possiede una capacità, ancora sottovalutata, di ripristinare la microcircolazione e l'attività molecolare e cellulare dopo un prolungato intervallo post-mortem.

In conclusione, tra i pazienti con ictus ischemico acuto dovuto a occlusione di grandi vasi che avevano avuto risultati favorevoli all'imaging di perfusione, la terapia endovascolare da 6 a 16 ore dopo l'insorgenza dell'ictus, associata alla terapia medica standard, ha determinato una minore disabilità e un tasso più elevato di indipendenza funzionale a 3 mesi rispetto alla sola terapia medica standard.

Da BREVIARIUM :



E' POSSIBILE FOTOGRAFARE LA MORTE ?

La morte, il più atroce di tutti i mali, non esiste per noi.
Quando noi viviamo la morte non c'è,
quando c'è lei non ci siamo noi.

Epicuro

Purtroppo Epicuro non ci dice nulla sull'istante in cui noi ce ne andiamo e quello in cui la morte arriva. Ma quando arriva la morte? Quando il cuore non batte più... quando si perde la coscienza... quando l'ultima cellula smette di vivere... E quando se ne va la vita?

Può sembrare paradossale ma, a tutt'oggi, la scienza non è in grado di definire il momento esatto in cui una persona muore. Non possediamo una "fotografia" della morte" l'unica istantanea che la Leica 1 di Henri Cartier-Bresson il fotografo francese, considerato pioniere del foto-giornalismo, l'occhio del secolo non è riuscito a scattare, *la mannaia che coglie nell'eternità l'istante che l'ha abbagliata.*

Tuttavia quello che realmente manca non è il tentativo di cogliere l'istante prima che svanisca, piuttosto è il concetto di irreversibilità a rendere problematica la definizione di morte.

La cessazione del battito cardiaco in sé, non è un evento irreversibile. Cardiologi e cardiocirurghi ci hanno fatto vedere cuori che hanno ripreso a battere spontaneamente dentro un corpo, fuori da un corpo, perfino nel corpo di qualcun altro. Lo stesso si può dire per la morte cerebrale irreversibile. Ciò che era irreversibile venti anni fa può essere reversibile oggi.

I danni causati da un ictus cerebrale che negli anni quaranta portavano inevitabilmente a morte, negli anni ottanta erano diventati reversibili.

Dal 1996 i farmaci trombolitici hanno esteso la reversibilità di un ictus fino a tre ore dalla comparsa dei primi sintomi. Una risonanza magnetica prima del 1996 era considerata una presumibile "fotografia" della morte cerebrale; oggi quell'immagine non ha più lo stesso valore. Non possediamo ancora parametri strumentali precisi che ci consentano di definire il momento in cui la morte cerebrale diventa irreversibile.

La distinzione tra ciò che è vivo e ciò che è morto diventa ancora più problematica se la analizziamo a livello microscopico. La morte cellulare è un processo che dura almeno 24 ore e si può considerare concluso con la lisi della membrana plasmatica.

Eppure, quando dichiariamo avvenuta la morte cerebrale, le cellule del nostro corpo sono ancora vive e funzionanti. Le persone colpite da morte cerebrale, mantenute artificialmente in vita, sono in realtà "cadaveri con un cuore funzionante", un cuore che continua a fornire sangue ed ossigeno a tutte le cellule del corpo.

La morte cellulare ha inizio quando il miocardio cessa di battere ed i polmoni di respirare. Il sangue non viene più distribuito in tutto il corpo, e si raccoglie nella parte inferiore che si scurisce, mentre le parti superiori diventano sempre più pallide, i neuroni muoiono nel giro di qualche minuto (ma sarà poi vero ?)

Tuttavia le cellule muscolari resistono per diverse ore, la pelle e gli annessi cutanei per diversi giorni (al cadavere continua la crescita della barba), le ossa per settimane, le cartilagini per mesi. Non c'è niente di più vivo di un cadavere!

Le cellule sopravvissute passano rapidamente da un metabolismo aerobico ad uno anaerobico. L'accumulo progressivo di acido lattico apre la strada alla decomposizione, alla fermentazione butirrica ed infine alla putrefazione nera. In particolari condizioni ambientali questi processi possono durare un anno intero. Forse non dovremmo tentare di fotografare la morte, ma provare a filmare la morte. Se una fotografia è verità, il cinema è verità ventiquattro volte al secondo. In conclusione, non possediamo ancora una "fotografia della morte". Peccato! perché una fotografia non può mai mentire, ma i bugiardi possono fotografare...