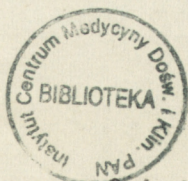


POLSKA AKADEMIA NAUK  
CENTRUM MEDYCYNY DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ  
Zespół Neuropatologii

Danuta Maślińska

WPŁYW ASFIKSJI ŚRÓDMACICZNEJ NA MÓZG SZCZURA



LS 12 (dublet)

Warszawa 1973

# S P I S T R E Ś C I

	str.
WSTEP . . . . .	3
CZYNNIKI TKANKOWE KSZTAŁTUJĄCE OBRAZ USZKODZEŃ	
MÓZGOWYCH . . . . .	5
1. Ogólne cechy wrażliwości podłoża . . . . .	5
2. Rozwój odczynowości tkanki mózgowej . . . . .	6
3. Tolerancja niedoborów tlenowych . . . . .	7
4. Rozwój układu naczyniowego . . . . .	8
5. Pojęcie "okresu krytycznego" . . . . .	10
ASFIKSJA - ZŁOŻONE ZABURZENIE GAZOWE . . . . .	12
1. Hipoksja . . . . .	12
2. Hiperkapnia . . . . .	14
UZASADNIENIE PODJĘTYCH BADAŃ . . . . .	16
BEZPOŚREDNI CEL PRACY I PLAN PROWADZONYCH BADAŃ . . . . .	17
MATERIAŁ I METODY . . . . .	18
WYNIKI . . . . .	29
OMÓWIENIE . . . . .	42
WNIOSKI . . . . .	54
PIŚMIENNICTWO . . . . .	55

## WSTEP

Uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego w okresie okołoporodowym wywołują szereg ciężkich zaburzeń neurologicznych. Występują one w postaci trzech głównych zespołów klinicznych: padaczki, dziecięcego porażenia mózgowego i upośledzenia umysłowego (Brand, Bignami 1969, Bailey 1958, Towbin 1969, Schwartz 1961).

W ostatnich latach wyodrębniono czwartą postać uszkodzenia układu nerwowego pod nazwą zespołu minimalnych zaburzeń mózgowych (Syndrome of Minimal Brain Dysfunction) (Clements 1966, Conners 1967).

Charakteryzują go dyskretne rozsiiane objawy neurologiczne, którym towarzyszą niewielkie zaburzenia psychiczne (Rosen 1969). Dyskutowany jest ostatnio związek tego zespołu z trudnościami wychowawczymi i społecznymi wśród dzieci i młodzieży (Conners 1967). Istotne znaczenie ma w tej sytuacji prowadzenie wieloplanowych badań nad sprecyzowaniem charakteru podłoża opisanych zaburzeń neuropsychicznych.

Uważa się, że niewielkie uszkodzenia mózgu powstające w życiu płodowym pod wpływem asfiksji mogą ujawniać się w formie zespołu minimalnych zaburzeń mózgowych (Towbin 1971). W związku z tym nabierają znaczenia badania doświadczalne nad następstwami asfiksji dla dojrzewającego mózgu. Z dotychczas opublikowanych prac wynika, że kształtowanie się zmian w mózgu zależy przede wszystkim od wrażliwości podłoża (Lampert 1961, Scholz 1963), dla której istotne znaczenie ma dojrzałość układu

nerwowego w chwili zadziałania uszkodzenia (Eicke 1956, Dąbska 1967), a ponadto od siły działającego bodźca i czasu jego trwania (Myers 1968, 1969<sup>a, b</sup>).

## CZYNNIKI TKANKOWE KSZTAŁTUJĄCE OBRAZ USZKODZEŃ MÓZGOWYCH

### 1. Ogólne cechy wrażliwości podłoża

Pierwszą próbą tłumaczenia wybiórczej wrażliwości pewnych okolic mózgu na działanie czynników szkodliwych była teoria patoklizy wysunięta przez Vogt'ów w roku 1922. Współcześni autorzy wiążą to zjawisko z intensywnością i charakterem przemian metabolicznych danej struktury oraz ze stanem układu naczyniowo-krażeniowego ustroju (Elliot, Heller 1957, Scholz 1963, Ridge 1967a,b). Okolice o najbardziej nasilonym metabolizmie ulegają zwykle najcięższym uszkodzeniom. Nie bez znaczenia pozostaje również spektrum enzymatyczne, charakterystyczne dla danej struktury. Według Lamperta (1961) obecność w niej wysokiej aktywności enzymów biorących udział w beztlenowej przemianie glukozy, zabezpiecza w pewnym stopniu przed wpływami hipoksji. Ogólny stan układu krążenia (Brierley 1966, Brockman, Jude 1960, Lampert 1961, Linderberg 1959) i wtórne uszkodzenia ścian naczyń mózgowych (Ames i wsp. 1968, Koweda i wsp. 1968) wpływają w znacznym stopniu na obraz morfologiczny zmian po niedotlenieniu. Zaburzenia hemodynamiczne powstające na pograniczu unaczynienia głównych pni tętniczych warunkują często lokalizację uszkodzeń w określonych rejonach mózgu (Zülch 1954, Stefanko i wsp. 1965). Zagrożone pod tym względem obszary mózgu znajdują się na pograniczu unaczynienia tętnicy środkowej mózgu z tętnicą przednią i tylną mózgu oraz z tętnicą naczyniówkową (Zülch 1955, Zülch, Behrend 1961), a w mózdzku

między unaczynieniem tętnicy górnej i dolnej tylnej (Lindenberg 1963, Adams i wsp. 1966). Nie znaleziono natomiast dostatecznych dowodów na współzależność między zagęszczeniem sieci naczyń włosowatych, a wrażliwością zaopatrywanego przez nie podłoża (Lierse 1963). Ogólnie biorąc łatwiej dochodzi do uszkodzeń w obrębie istoty szarej niż białej mózgu (Meyer 1963, Blackwood 1963).

Do najbardziej czułych na niedotlenienie formacji szarych u człowieka należą: kora mózgu w warstwie III, pole  $H_1$  rogu Ammona, struktury zwojów podstawy (prążkowie, gałka biała, wzgórze) i komórki Purkinjego w korze mózdzku (Meyer 1963).

## 2. Rozwój odczynowości tkanki mózgowej

W niedojrzałym układzie nerwowym odczynowość podłoża jest zmienna w czasie (Jacob 1959). Fakt ten w sposób zasadniczy rzutuje na topografię i obraz morfologiczny odczynu tkankowego kształtującego się stopniowo w procesie dojrzewania (Brierley 1966, Jilek i wsp. 1964).

Im wcześniejszy jest moment działania urazu tym mniej zróżnicowana jest reakcja tkanki i tym bardziej niezależna od charakteru tego urazu (Hallervorden, Meyer 1956). Nieodwracalne uszkodzenie danej okolicy mózgu we wczesnym okresie rozwoju prowadzi do jej zaniku. Martwica tkanki mózgowej z szybkim wchłanianiem produktów rozpadu a bez odczynów właściwych mózgowi dojrzałemu jest charakterystycznym objawem tego okresu. Obraz wady powstający w wyniku postępującego procesu rozwojowego

polega na braku struktur, które miały rozwinąć się z komórek uszkodzonego obszaru (embriopatia) (Otto 1961, Pia 1963, Seitelberger 1960).

U człowieka pierwsze przejawy reakcji obronnej obserwowano pod koniec drugiego miesiąca życia płodowego i miały one charakter reakcji histiocytarnej oraz okołonaczyniowego odczynu erytroblastycznego (Eicke 1956, Zollinger 1945). Dopiero między szóstym a siódmym miesiącem spotyka się u płodu zmiany morfologiczne, które można porównać z podobnymi u dorosłych. Uszkodzenie mózgu powstające w późniejszym okresie rozwoju prowadzi do fetopatii, która łączy obraz uszkodzenia i procesu odczynowo-reparacyjnego niektórych formacji z niezaburzonym rozwojem struktur sąsiednich (Hallervorden 1956, Eicke 1956).

### 3. Tolerancja niedoborów tlenowych

Konieczność dopływu tlenu do rozwijającego się zarodka przejawia się od pierwszych chwil po zapłodnieniu (Ostrowski, Krassowski 1969).

Płody i noworodki różnych gatunków wykazują jednak wyraźną tolerancję na niedobory tego gazu w swoim środowisku. Wiąże się to z niewielkim zapotrzebowaniem energetycznym niedojrzałego organizmu, również jego układu nerwowego, który charakteryzuje się małym stopniem zróżnicowania morfologicznego i funkcjonalnego (Thurston, Mc Dougal 1969). Niskoenergetyczna przemiana glikolityczna może przez dłuższy czas pokrywać wymagania tej tkanki w sytuacji zagrożenia. W początkowym

okresie rozwoju zużycie tlenu ograniczone jest niską aktywnością określonych enzymów. Charakterystyczną cechą dojrzewania metabolicznego jest wcześniejsze pojawianie się w ustroju enzymów związanych swą czynnością z budową jego struktury a znacznie później tych, które dotyczą funkcji danej tkanki (Seiler 1969).

Badania *in vitro* dowodzą, że zużycie tlenu przez skrawki tkanki mózgowej noworodków szczurzych stanowi zaledwie 60% tej wartości jaka charakteryzuje osobniki dorosłe (Seiler 1969, Vahvelainen, Oja 1969).

U trzydniowego szczura tylko 36% glukozy spala się z udziałem tlenu natomiast 45% w łańcuchu przemian glikolizy beztlenowej (Mandel i wsp. 1957). Tym tłumaczy się wyjątkową wrażliwość młodych osobników na inhibitory tej dominującej drogi metabolicznej (Himwich i wsp. 1942). Wraz z rozwojem spada intensywność przemiany glikolizy beztlenowej. Zjawisko to jest równoległe do narastania przemiany tlenowej glukozy w danej strukturze (Seiler 1969).

#### 4. Rozwój układu naczyniowego mózgu

Niewielkie zapotrzebowanie tlenowe mózgu płodowego znajduje swój wyraz w stanie sieci naczyniowej tego narządu (Eayrs 1954, Craigie 1955, 1961).

Rozwój jej i lokalizacja oraz dojrzewanie elementów ścian naczyniowych są równoległe do rozwoju morfologicznego i czynnościowego danej struktury. Dynamika rozwoju sieci naczyniowej



zależy od gatunku badanego zwierzęcia i tempa rozwoju jego mózgu.

Początek formowania się unaczynienia w mózgu człowieka przypada na okres gdy długość jego zarodka wynosi zaledwie 8-13 mm. Rozwój unaczynienia pólkul mózgowych nasila się od trzeciego miesiąca życia płodowego i jest najżywszy w warstwie IV kory wzrokowej (Lierse 1963, Niemineva, Tervila 1953).

U szczura w momencie porodu sieć naczyniowa kory jest jeszcze bardzo uboga (Eayrs 1954). W ciągu pierwszych pięciu dni życia postęp rozwoju unaczynienia struktur jego mózgu jest nieznaczny, dopiero w następnym dniach zachodzi przyspieszenie tego procesu. Między 10 a 21 dniem życia następuje gwałtowny rozwój naczyń w obrębie większości struktur, za wyjątkiem kory. Unaczynienie kory dojrzewa u szczura znacznie później niż u innych zwierząt (np. świnki morskiej). Dzieje się tak ze względu na wolniejsze pojawianie się szeregu funkcji u tego zwierzęcia (Craigie 1955, 1961).

Według badań Craigie'a topografia unaczynienia mózgow dorosłych osobników różnych gatunków wykazuje minimalne tylko odchylenia.

Zachodzi natomiast odwrotny stosunek między wielkością mózgu i gęstością jego sieci naczyniowej - zjawisko związane z intensywniejszym tempem przemian metabolicznych ustroju małych zwierząt (Horstmann 1959).

## 5. Pojęcie "okresu krytycznego"

Szybko różnicujące się struktury komórkowe i intensywnie mielinizujące się drogi nerwowe są najbardziej podatne na uszkodzenie (Davison, Dobbing 1966). Procesy te dla każdej struktury mózgu przebiegają w określonym czasie rozwoju. Obowiązuje ogólna zasada, że struktury filogenetycznie najstarsze, najwcześniej uzyskują swą dojrzałość. Okres rozwoju, w którym dochodzi do zbieżności czasowej dojrzewania wielu struktur mózgowych nosi nazwę "okresu krytycznego" (Flexner 1952).

Czas jego występowania uwarunkowany jest tempem dojrzewania mózgu danego gatunku zwierząt. U świnki morskiej okres krytyczny przypada na drugą połowę ciąży, u szczura rozciąga się na drugi i trzeci tydzień życia osobniczego (Mc Ilvain 1955).

Wybitna tolerancja niedoborów tlenowych charakterystyczna dla młodej niezróżnicowanej tkanki mózgowej przekształca się w tym czasie w szybko narastającą nadwrażliwość (Seiler 1969).

Zużycie tlenu gwałtownie wzrasta i idzie w parze z szybkim narastaniem ilości mitochondriów w komórkach, formowaniem się tigroidu i wypustek oraz z procesem mielinizacji w istocie białej (Schonbach i wsp. 1968). Kształtuje się jednocześnie obraz przestrzeni międzykomórkowych (Sumi 1969) i skład wodno-elektrolitowy tkanki (Wender, Hierowski 1960). Wraz z tymi zmianami pojawia się regularna aktywność bioelektryczna tkanki mózgowej (Woodward i wsp. 1969).

Podział procesu rozwojowego na cztery etapy zaproponowany przez Mc Ilvain'a (1955) stworzył dogodną płaszczyznę do porównywania zmian zachodzących w mózgach różnych gatunków. Uwzględnił on morfologiczne, funkcjonalne i chemiczne aspekty rozwoju tego narządu. Podobny podział przedstawili Koch i Koch (cyt. za Seiler 1969). Zgodnie z nim I etap rozwoju u świnki morskiej obejmuje 3/4 okresu jej życia płodowego. U szczura trwa do porodu, a jak wykazują badania ostatnich lat<sup>jeszcze,</sup> doś<sup>ć</sup> długo po porodzie (Altman 1969, Bass i wsp. 1969a,b).

Etap II i III są "okresem krytycznym" rozwoju mózgu, który u szczura trwa do 25 dnia życia, u świnki morskiej do momentu porodu, a u człowieka do końca czwartego miesiąca życia (Rappoport i wsp. 1969).

Etap IV jest okresem uzyskiwania pełnej dojrzałości morfologicznej, biochemicznej i funkcjonalnej (Rappoport i wsp. 1969).

Badania autoradiograficzne i izotopowe dowodzą, że procesy rozwojowe nie wygasają całkowicie i proliferacja komórek nerwowych i glejowych w mózgach niektórych gatunków zwierząt, między innymi szczura trwa praktycznie przez większość życia (Altman 1966, 1969, 1972a, 1972b, Altman, Das 1965, 1965, 1966; Bass i wsp. 1969).

## ASFIKSJA - ZŁOŻONE ZABURZENIE GAZOWE

Asfiksja jest jedną z najczęstszych przyczyn uszkodzeń mózgu w życiu śródciażowym i w okresie porodu (Bailey 1958, Nyka 1973). Fizjologiczne pojmowanie słowa "asfiksja" nie pokrywa się z jego znaczeniem etymologicznym (Saling 1968). Powszechnie jednak słowem tym określa się złożone zaburzenie gazowe, na które składa się niedobór tlenu (hipoksja) i wzrost ponad normę ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla (hiperkapnia) (Walawski 1969).

### Hipoksja

Mózg jest tkanką najbardziej wrażliwą na niedostateczny dopływ tlenu. Wiąże się to z dużymi wymaganiami energetycznymi oraz brakiem endogennych zapasów związków wysokoenergetycznych, które zabezpieczałyby go przed zaburzeniami metabolicznymi (Mc Dougal i wsp. 1968, Lowry i wsp. 1964, Lolley, Samson 1962).

W warunkach prawidłowych pełny metabolizm glukozy poprzez cykl glikolityczny, cykl kwasów trójkarboksylowych i łańcuch oddechowy jest źródłem powstawania wiązań fosforowych magazynujących energię (Tschirgi 1960).

W sytuacjach niedoborów tlenowych droga przemian glukozy kończy się w zakresie cyklu Ebdena-Mayerhoffa, gdzie zysk energetyczny jest niewielki (Albaum i wsp. 1953, Cohen 1966, Thurston, Mc Dougal 1969).

Uruchomione zostają konkurencyjne drogi przemian tego cukru prowadząc do wzrostu stężenia kwasu mlekowego (Lowry i wsp. 1964, Cohen i wsp. 1964), wzrostu syntezy aminokwasów na drodze transaminacji substratów cyklu Krebsa (Atkinson, Spetor 1964, Tews i wsp. 1963), wzrostu aktywności enzymów cyklu Leloir'a i do wzmożonej syntezy glikogenu. Gromadzenie się glikogenu obserwowano w komórkach glejowych po niedotlenieniu (Mossakowski i wsp. 1968, Rivera i wsp. 1969). Występuje również wzrost aktywności enzymów cyklu pentozowego towarzyszący spadkowi aktywności enzymów oddechowych w obrębie pobudzonego i odczynowego gleju astrocytarnego (Domańska-Janik 1972).

Nie udało się ustalić co jest rozrusznikiem zaburzeń metabolicznych w hipoksji. Szereg teorii usiłuje rozwikłać ten problem. Jedną z nich sugeruje, że momentem tym jest rozkojarzenie funkcji oddechowej mitochondriów na skutek blokowania procesów oksydatywnej fosforylacji np. przez gromadzące się wolne kwasy tłuszczowe (Cohen 1962, Cohen, Hartman 1964, Bazan, Cummings 1969, Ozawa i wsp. 1966, Bazan 1970). Za potwierdzenie tego rozumowania można uznać zmiany morfologiczne powstające w mitochondriach po niedotlenieniu (pęcznienie, fragmentacja grzebieni) (Hills 1964, Bakay, Lee 1967).

Inna teoria za pierwotną przyczynę zmian w niedotlenieniu uważa zaburzenie procesów syntezy białka, które ma prowadzić do wyczerpywania się białek enzymatycznych i przejawiać się spadkiem aktywności szeregu enzymów (Mc Donald, Spector 1963, Spector 1965).

Wreszcie uszkodzenie błon biologicznych obserwowane przez Nowikoff'a (1967) ma prowadzić do uwalniania się katabolicznych enzymów lizozomalnych i samotrąwienia białka komórkowego.

### Hiperkapnia

Oddziaływanie dwutlenku węgla na tkankę mózgową zależy od wartości ciśnienia parcjalnego tego gazu w ustroju i czasu jego działania. Niskie stężenia  $\text{CO}_2$  w powietrzu oddechowym wywołują spadek pobudliwości kory i obniżenie jej wrażliwości na leki padaczkorodne i elektrowstrząsy (Wollman, Dripps 1970).

Stężenie powyżej 20%  $\text{CO}_2$  w powietrzu oddechowym pobudza ośrodki podkorowe wysyłające włókna projekcyjne do kory, więc chociaż bezpośredni wpływ na korę jest depresyjny wypadkowa działania przejawia się pobudzeniem kory w postaci gotowości do reakcji drgawkowej (Wollman, Dripps 1970).

Stężenie 30%  $\text{CO}_2$  prowadzi do wybitnej depresji ośrodków korowych i podkorowych (Schindler 1971).

Anestetyczne właściwości  $\text{CO}_2$  ujawniają się przy stężeniach 40% w powietrzu oddechowym. Stężenie 50% powoduje śmierć (Schindler 1971, Wollman, Dripps 1970).

Hiperkapnia może wywierać na metabolizm mózgowy wpływ bezpośredni oraz poprzez układ krążenia.

Oddziaływanie bezpośrednie przejawia się w postaci ostrej i przewlekłej.

Ostra hiperkapnia (15-45 min) prowadzi do zakwaszenia ustroju i spadku wartości pH we krwi, płynie mózgowo-rdzeniowym i środowisku wewnątrzkomórkowym mózgu. Biochemicznie postać ta charakteryzuje się spadkiem stężenia mleczanów, pyrogronianów, alfa-ketoglutaranów, glutaminianów i fosfokreatyny we wnętrzu komórki. Stosunek mleczanów do pyrogronianów ma przy tym wartości wysokie (Messeter, Siesjö 1971a).

W hiperkapni przewlekłej (3-72 godz) wartości pH są niemal prawidłowe (Messeter, Siesjö 1970, 1971b). Stężenie kwasów organicznych w środowisku wewnątrzkomórkowym wzrasta za wyjątkiem kwasu glutaminowego. Stężenie fosfokreatyny pozostaje przy niskich wartościach. Stosunek stężeń mleczanów do pyrogronianów jest prawidłowy (Messeter, Siesjö 1971a).

Pośredni efekt działania dwutlenku węgla na mózg odbywa się poprzez układ naczyniowy. Mechanizm tego działania nie został w pełni wyjaśniony. Wiadomym jest, że wzrost przepływu mózgowego w hiperkapni odbywa się na drodze rozszerzenia światła naczyń mózgowych, przy zachowaniu prawidłowego przepływu włóściwego (Prosenz i wsp. 1971, Wasserman, Patterson 1961, Ackerman i wsp. 1971). Regulacja naczyniowa odbywa się prawdopodobnie poprzez wpływ CO<sub>2</sub> na ścianę arterioli mózgowych (Severinghaus, Larssen 1967 ; Cunningham i wsp. 1966)

## UZASADNIENIE PODJĘTYCH BADAŃ

Wpływ asfiksji na niedojrzały układ nerwowy badany był wielokrotnie. Do najczęściej spotykanych modeli wywoływania asfiksji śródciażowej należą:

1. Obniżanie ciśnienia atmosferycznego (Ingalls i wsp. 1952);
2. Podwiązanie naczyń zaopatrujących łożyska w krew (Bailey, Windle 1959);
3. Chirurgiczne odklejenie łożyska (Ranck, Windle 1959);
4. Podwiązanie sznura pępowinowego z pozostawianiem płodu w izolacji od powietrza atmosferycznego (Windle 1961);
5. Umieszczanie zwierząt w komorach przepływowych o różnym składzie powietrza oddechowego (Glauser 1966, Morava, Han 1968);
6. Podawanie związków chemicznych wywołujących: a) obniżenie poziomu ciśnienia krwi, b) nasilenie akcji skurczowej macicy (Bondareff i wsp. 1970).

W bogatym piśmiennictwie dotyczącym asfiksji zwrócono głównie uwagę na ciężkie, trwałe jej następstwa dla tkanki mózgowej. Mało jak dotychczas miejsca poświęcono badaniom wpływu umiarkowanej asfiksji na mózg płodu a publikowane wyniki mają charakter doniesień często przypadkowych i fragmentarycznych. Dokładna analiza powyższych zjawisk możliwa jest przy użyciu odpowiednio dobranych modeli doświadczalnych.



## BEZPOŚREDNI CEL PRACY I PLAN PROWADZONYCH BADAŃ

Wyodrębnienie zespołu minimalnych zaburzeń mózgowych zwróciło uwagę na celowość prześledzenia wpływu asfiksji na mózg płodu w okresie jego stosunkowo dużej tolerancji na niedobory tlenowe. Postanowiono przebadać wpływ ewentualnych zaburzeń na rozwój i kształtowanie się wybranych struktur: kory mózgu i mózdzku.

Podjęto przebadanie:

- A. Wpływu wielokrotnej asfiksji przebytej przez samice ciężarne w 18, 19 i 20 dniu ciąży na dojrzewanie struktur mózgowych ich potomstwa.
- B. Wpływu jednorazowej asfiksji płodów na dojrzewanie ich tkanki mózgowej.

W obu grupach doświadczalnych materiał badano trzema metodami. Przeprowadzono:

1. Badania chemiluminescencyjne - oznaczanie katalitycznej aktywności homogenatów mózgowych w procesie emisji fal elektromagnetycznych oksydoredukcyjnej reakcji modelowej.
2. Morfologiczne badania struktur mózgowych w kolejnych dniach rozwoju.
3. Histochemiczne badania aktywności fosfatazy kwaśnej oraz wybranych enzymów oksydoredukcyjnych:
  - dehydrogenazy mleczanowej
  - dehydrogenazy bursztynianowej
  - oksydazy cytochromowej.

## MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na samicach ciężarnych - szczurach białych rasy Wistar o wadze ciała w 18 dniu ciąży od 340 do 420 g.

Asfiksję wywoływano w dwóch układach doświadczalnych:

### I. Asfiksja wielokrotna

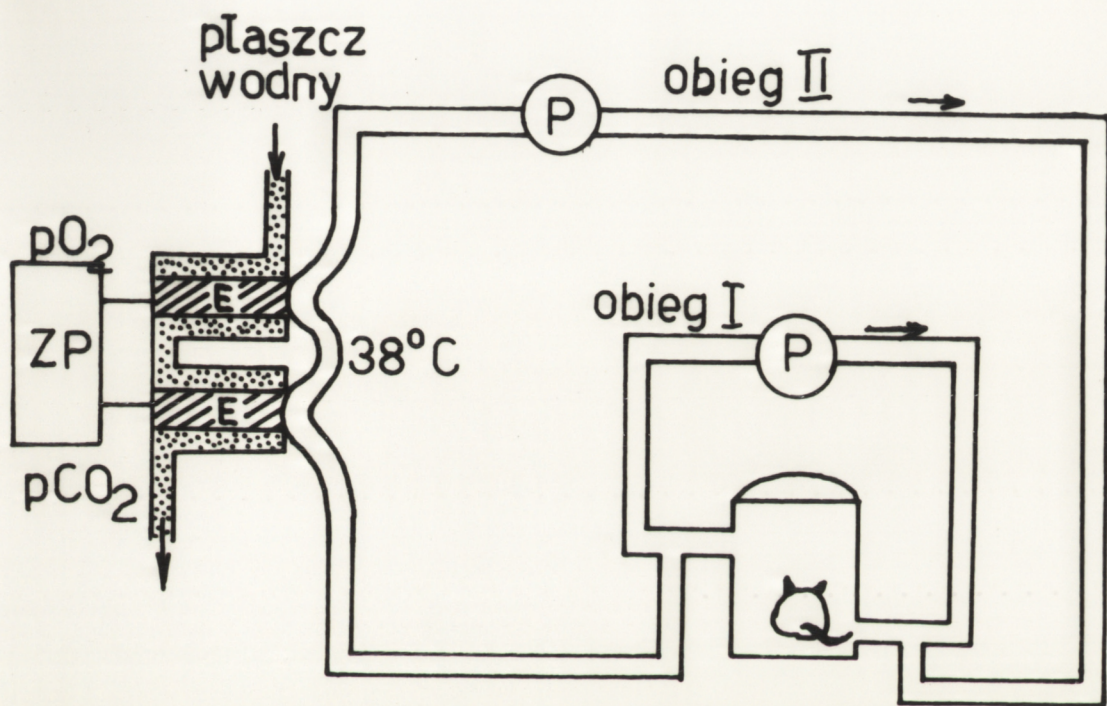
Samice ciężarne w 18, 19 i 20 dniu ciąży zamykano w szczelnej komorze szklanej o pojemności 800 ml i przetrzymywano do momentu wystąpienia bezdechu. Po 5 sekundach od ostatniego ruchu oddechowego zwierzęta wyjmowano. Palpacyjnie stwierdzano zwykle zachowaną jeszcze akcję serca.

Sztuczne oddychanie i udrożnienie górnych dróg oddechowych powodowało powrót samoistnego oddechu, a po kilku minutach następowała pełna normalizacja czynności oddechowych.

Przez następne 2-3 godziny samice wykazywały mniejszą ruchliwość w stosunku do zwierząt kontrolnych.

a) Analiza składu gazowego powietrza komory doświadczalnej dokonana została na aparacie Astrupa z użyciem pompy o zamkniętym, podwójnym wymuszonym obiegu. Schemat tego układu ilustruje ryc. 1.

Do pomiarów ciśnienia parcjalnego tlenu ( $p_{O_2}$ ) użyto elektrody tlenowej Clarka, wartości ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla ( $p_{CO_2}$ ) określano przy pomocy nomogramu - według metody Astrupa (Astrup 1960).



p - pompy gazowe  
E - elektrody  
ZP - zestaw pomiarowy

Ryc. 1. Schemat układu doświadczalnego do pomiaru składu gazowego powietrza zawartego w komorze w czasie wywoływania asfiksji samiec ciężarnych. Układ o wymuszonym obiegu powietrza z zastosowaniem przepływowej pompy gazowej.

Przeprowadzono siedem doświadczeń na samicach ciężarnych. Ciśnienie parcjalne tlenu i dwutlenku węgla oznaczano w odstępach 5 minutowych do momentu wystąpienia u zwierząt bezdechu. Czas przebywania samic w komorze wynosił 45-65 minut. Typowy przebieg zmian składu powietrza zawartego w komorze przedstawia ryc. 2.

Bezdech występował w warunkach gdy ciśnienie parcjalne tlenu  $p_{O_2}$  spadało do 23-41 mm Hg a ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla  $p_{CO_2}$  wzrastało do 117-132 mm Hg.

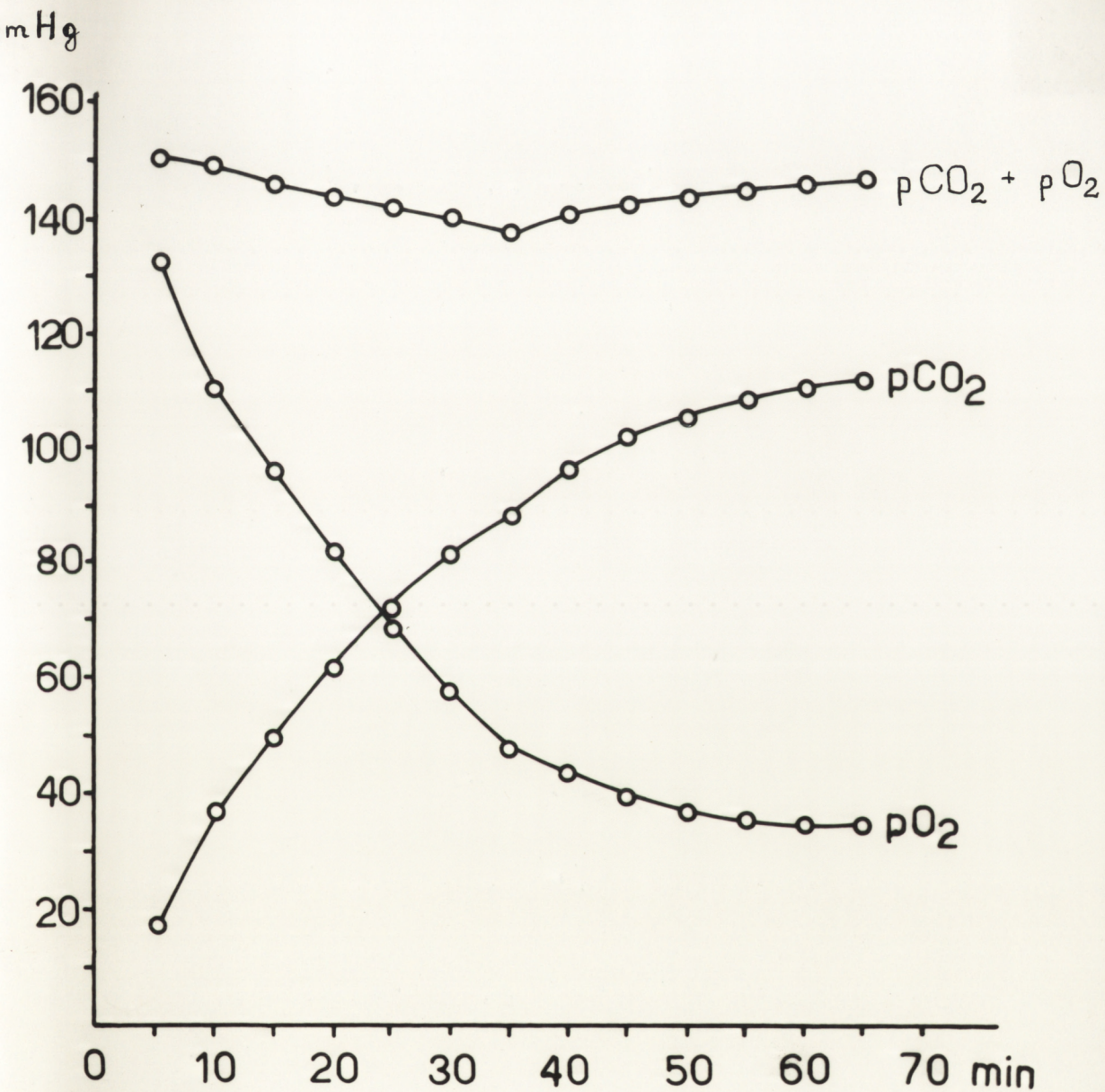
b) Jako wykładnik nasilenia asfiksji przyjęto wartości pH krwi, które oznaczano w mikroaparacie Astrupa według metody Astrupa (1960).

Do badań użyto 20 samic ciężarnych. U 10 wywoływano asfiksję przez zamknięcie w komorze według wyżej opisanej metody, a pozostałe 10 samic stanowiło grupę kontrolną.

Krew do analizy pobierano z serca samic natychmiast po wyjęciu zwierzęcia z komory w stanie bezdechu, a w grupie kontrolnej po krótkotrwałej narkozie eterowej.

Krew wprowadzano do strzykawek typu Luer, przepłukanych heparyną. Próbkę krwi zabezpieczono przed dostępem powietrza przechowywano w temp.  $+4^{\circ}C$  do momentu wykonania oznaczeń.

U płodów krew pobierano z serca po poprzecznym nacięciu mięśnia sercowego, bezpośrednio do 100  $\mu l$  standardowych rurek kapilarnych. Czas zabiegu nie przekraczał 2 minut.



Ryc. 2. Przebieg zmian w składzie powietrza zawartego w komorze doświadczalnej podczas wywoływania asfiksji u samicy Nr 4.

## II. Asfiksja jednorazowa płodów

Doświadczenie wykonywano w 19 dniu życia śródmacicznego. Samicę ciężarną usypiano eterem. Otwierano jamę brzuszną wzdłuż kresy białej z zachowaniem warunków jałowości. Zakładano zaciski na naczynia maciczne zaopatrujące łożyska w krew. Po upływie 60 minut zaciski usuwano, zamykano jamę brzuszną szwem ciągłym, zakładano opatrunek. Pozostawiano samicę w warunkach standardowych do wystąpienia porodu.

a) Badania wartości pH krwi w tej części pracy przeprowadzono na 20 samicach ciężarnych, w tym 7 kontrolnych. Zwierzęta kontrolne poddawano 60 minutowej narkozie i pozorowanemu zabiegowi operacyjnemu. Próbkę krwi od samic i płodów pobierano pod koniec trwania doświadczenia, metodą jak przy stosowaniu asfiksji wielokrotnej.

### 1) Metoda chemiluminescencyjna

Zasada metody polega na wzmacnianiu emisji fal elektromagnetycznych, powstających w przebiegu wybranej reakcji modelowej przez dodanie do środowiska tej reakcji homogenatu tkankowego zawierającego enzymy oksydoredukcyjne (Grabiec i wsp. 1968, 1969). Intensywność emisji wzrasta proporcjonalnie do aktywności enzymów oksydoredukcyjnych użytego homogenatu (Halicka i wsp. 1969, Halicka-Ambroziak 1972, Halicka 1972, Halicka-Ambroziak 1972).

Do badań użyto aparatury w zestawie:

- fotopowielacz
- zasilacz wysokonapięciowy PZS-5A
- przelicznik elektronowy PEL-5A

Zestaw zasilany był prądem zmiennym z sieci (50 okr./sek), przy napięciu 220 V, stabilizowanym wstępnie przez stabilizator lampowy. Czulość spektralna fotokatody wynosiła 300-600 m $\mu$ . Fotopowielacz pracujący przy napięciu 1000V wzmacniał chwilowy fotoprąd powstający w wyniku emisji fal elektromagnetycznych. Dyskryminacja licznika elektronowego wynosiła 5. Czas jednego pomiaru = 30 sek. Reakcja chemiczna, podczas której dochodziło do emisji rejestrowanych fal elektromagnetycznych zachodziła w środowisku o składzie:

- |                          |          |
|--------------------------|----------|
| - Pyrogalol 1%           | - 0,2 ml |
| - woda utleniona 1%      | - 0,2 ml |
| - bufor fosforan. pH 7,4 | - 1 ml   |

Pomiar rozpoczynano wstępnym oznaczeniem emisji fal reakcji modelowej (3 pomiary w czasie 1,5 min). Następnie dodawano 0,1 ml homogenatu tkanki mózgowej i notowano emisję fal elektromagnetycznych przez 5 minut w 10 pomiarach. Uzyskane wartości przeliczano na 1 mg suchej masy tkanki.

Dla scharakteryzowania katalitycznych właściwości użytych homogenatów prześledzono wpływ cjanku potasu na przebieg pomiarów. Roztwór cjanku potasu dodawano do środowiska reakcji uzyskując stężenie końcowe  $10^{-3}$ M, hamujące w 80-90% oddychanie tkankowe (Baldwin 1958).

Badania wykonano na 73 samicach ciężarnych. U 29 zwierząt wywoływano asfiksję w zamkniętej komorze (wg met. I), a u 26

samic przez założenie zacisków na naczyniach macicznych (wg met. II). Pozostałe zwierzęta wchodziły w skład 4 grup kontrolnych.

Badania homogenatów tkanki mózgowej płodów wykonywano w 0, 2, 4, 6, 8, 12 i 24 godziny od zakończenia doświadczenia. Po porodzie oznaczenia przeprowadzano w 3, 7, 9, 15 i 20 dniu życia.

Dla wyjaśnienia, jaki wpływ na uzyskane wyniki wywiera krew pozostająca w układzie naczyniowym mózgu wykonano dodatkowo pomiary chemiluminescencyjne na grupie zwierząt perfundowanych przyżyciowo roztworem soli fizjologicznej według techniki Cammermeyer'a (1960) w modyfikacji Sumi (1969). Użyto 6 zwierząt siedmiodniowych, 3 po przebytej asfiksji w życiu płodowym (met. I) oraz 3 kontrolne.

Przygotowanie materiału:

Zwierzęta zabijano przez dekapitację. Mózg po wyjęciu z czaszki ważono i homogenizowano w szklanym homogenizatorze typu Elvehjema-Pottera w środowisku wodnym przy temp. 0°C, przez 1 minutę. Przyjęto stały stosunek: 100 mg tkanki na 0,5 ml wody destylowanej. Od momentu dekapitacji do wykonania pomiaru upływało około 10 minut, w czasie których utrzymywano tkankę w temp. 0°C.

## 2. Badania histopatologiczne

Badania histopatologiczne przeprowadzano na 350 młodych szczurach w 3, 5, 7, 9, 15, 20 i 30 dniu ich życia.



140 zwierząt pochodziło od samic, u których wywoływano asfiksję podczas ostatnich dni ciąży. 140 innych zwierząt należało do miotów, w których asfiksję wywoływano przez zaciśnięcie naczyń macicznych. 70 zwierząt stanowiło grupę kontrolną.

U połowy zwierząt z każdej grupy mózgi utrwalano przez perfuzję 10% roztworem formaliny w roztworze soli fizjologicznej według techniki Cammermeyer'a (1960). Pozostałe mózgi utrwalano przez zanurzenie w 10% roztworze wodnym formaliny.

Przy przeprowadzaniu perfuzji na najmłodszych zwierzętach (3-15 dnia życia) posługiwano się techniką Cammermeyer'a (1960) modyfikacją Sumi (1969). Zwierzęta w narkozie eterowej układano na grzbiecie i unieruchamiano przez przywiązanie kończyn. Otwierano klatkę piersiową i po odsłonięciu serca wprowadzano igłę do lewej komory (grubość igły dobierano stosownie do wieku perfundowanego zwierzęcia). Igła połączona była zestandardowym zestawem perfuzyjnym. Po nacięciu mięśnia przedsionka prawego rozpoczynano perfuzję. Płyn utrwalający spływał z wysokości 70-75 cm przez okres 10 minut. Ogólna ilość zużytego każdorazowo płynu wynosiła 50-100 ml. Wskaźnikami prawidłowo przebiegającej perfuzji były: wypływ czystego płynu perfuzyjnego z otworu w prawym przedsionku, oraz zmiana zabarwienia wątroby na kolor żółto-różowy. Po zakończonej perfuzji zakładano kleszczyki naczyniowe na otwory w mięśniu sercowym zapobiegając wypływowi płynu. Przykrywano zwierzę mokrą ligniną i po 3-4 godzinach wyjmowano mózg z czaszki i umieszczano w 10% roztworze wodnym formaliny.

Utrwalone mózgi zatapiano w parafinie i krojono na skrawki grubości 10  $\mu$  w płaszczyźnie czołowej. Seryjnie krajano mózgi zwierząt 2 i 5 dniowych, a od starszych szczurów pobierano skrawki przez początek zwojów podstawy, przednie, środkowe i tylne wzgórze oraz 1-3 skrawki przez śródmózgowie, mózdzek i pień. Wszystkie preparaty barwiono fioletem krezyłu, hematoksyliną-eozyną, a niektóre dodatkowo metodą Holzera.

### 3. Badania histoenzymatyczne

Badanie histoenzymatyczne przeprowadzono na 280 młodych szczurach w 3, 5, 7, 9, 15, 20 i 30 dniu życia.

W każdej z badanych grup użyto 105 zwierząt. 70 zwierząt należało do dwóch grup kontrolnych.

Szczury dekapitowano, mózgi zamrażano w suchym lodzie i krojono w kriostacie typu "Pearse" w temp.  $-20^{\circ}\text{C}$  na skrawki grubości 14  $\mu$ . Przekroje w płaszczyźnie czołowej wykonywano na analogicznych poziomach jak przy badaniach morfologicznych.

Badano aktywność następujących enzymów: dehydrogenazy bursztynianowej (SDH), dehydrogenazy mleczanowej (LDH), oksydazy cytochromowej (CYO) i fosfatazy kwaśnej (AcP).

Odczyny histochemiczne na aktywność dehydrogenaz oparto na metodach podanych przez Hessa i wsp. (1958) oraz Novikoff'a (1963). Środowisko inkubacyjne do badania aktywności dehydrogenazy mleczanowej składało się z następujących roztworów: 0,1 M buforu fosforanowego o pH 7,4, soli tetrazolowej (NBT) 1 mg/ml, 0,05 M chlorku magnezu ( $\text{MgCl}_2$ ), 0,1 M cjanku sodu ( $\text{NaCN}$ ), 0,6 M mleczanu sodu oraz dwunukleotyd nikotynamido-

-adeninowy (NAD) w ilości 4 mg/10 ml płynu inkubacyjnego.

Płyn inkubacyjny do badania aktywności dehydrogenazy bursztynianowej zawierał roztwory: 0,1 M buforu fosforanowego o pH 7,4, soli tetrazolowej (NBT) 1 mg/ml, 0,004 M chlorku wapnia ( $\text{CaCl}_2$ ), 0,004 M chlorku glinu ( $\text{AlCl}_3$ ) oraz substrat - bursztynian sodu w ilości 40 mg/3 ml płynu inkubacyjnego.

Do płynów inkubacyjnych dodawano menadionu w stężeniu końcowym  $4 \times 10^{-3}$  M według Hashimoto i wsp. (1964).

Czas inkubacji dla dehydrogenaz wynosił 45 minut.

Aktywność fosfatazy kwaśnej określano według metody Burstone w modyfikacji Barka (1965).

Płyn inkubacyjny o pH 5 zawierał: roztwór pararosaniliny w 2 N roztworze kwasu solnego, 4% roztwór wodny azotanu sodu, roztwór podstawowy buforu Michealis'a oraz roztwór fosforanu naftolu AS-B1 10 mg/ml dwuetyloformamidu. Czas inkubacji trwał 60 minut.

Dla kontroli powyższych metod używano płynu inkubacyjnego pozbawionego substratu.

Aktywność oksydazy cytochromowej badano według metody Burstone'a (1962). Używano płynu inkubacyjnego o składzie: p-aminodwufenylamina, p-metoksy-p-aminodwufenylamina, etanol 95%, woda destylowana, roztwór 0,2 M buforu TRIS-HCl o pH 7,4.

Czas inkubacji trwał 45 minut.

Skrawki kontrolne inkubowano wstępnie w 0,1 M roztworze azydku sodu.

Dla wszystkich enzymów temperatura inkubacji wynosiła 37°C

Stosowane skróty:

SDH	- dehydrogenaza bursztynianowa /E.C.1.3.99.1/
LDH	- dehydrogenaza mleczanowa /E.C.1.1.1.27/
NAD	- dwunukleotyd nikotynamido-adeninowy
AcP	- fosfataza kwaśna /E.C.3.1.3.2/
CYO	- oksydaza cytochromowa /E.C.1.9.3.1/

Użyte odczynniki:

1. Bursztynian sodu prod. Sigma
2. Mleczan sodu " Sigma
3. dwunukleotyd nikotynamido-adeninowy prod. Sigma
4. fosforan naftolu AS-B1 prod. Sigma
5. p-aminodwufenylamina " "
6. p-metoksy-p-aminodwufenylamina prod. Sigma
7. dwuetyloformamid
8. Pozostałe odczynniki pochodziły z PPH - Gliwice.

## WYNIKI

Śmiertelność samic w trakcie wywoływania asfiksji metodą I wynosiła 24,2%. W czasie zabiegu operacyjnego (metoda II asfiksji) lub w pierwszej dobie po nim zginęło 9% zwierząt.

Przebyta asfiksja, bądź zabieg operacyjny nie wpływały na czas trwania ciąży. Samice rodziły o czasie w 21-22 dniu ciąży. Liczba noworodków w miotach wahała się od 7 do 16. Dla ujednoczenia grup i zmniejszenia różnic w odżywieniu, przy matce pozostawiano 7 noworodków. Nadliczbowe zwierzęta w miocie oddawano na wychowanie matkom zastępczym.

Obserwowano zjawisko pożerania własnych noworodków przez samice. W miotach kontrolnych występowało ono sporadycznie, natomiast w miotach po przebytej asfiksji dotyczyło 18,5% nowonarodzonych zwierząt. Ogółem śmiertelność noworodków w miotach doświadczalnych wynosiła w pierwszym tygodniu życia 23,5%, w miotach kontrolnych 3%. Waga ciał noworodków w miotach kontrolnych wahała się od 4,2 g - 5,4 g. W miotach doświadczalnych wynosiła 3,9 - 5,2 g.

Waga mózgów badanych noworodków zarówno z miotów doświadczalnych jak kontrolnych zawarta była w granicach 0,226-0,211 g. Noworodki po przebytej asfiksji nie różniły się od kontrolnych wyglądem zewnętrznym, uciepleniem skóry i żywotnością. Obserwowano natomiast opóźnienie w otwieraniu się szpar powiekowych u tych zwierząt (17-19 dzień życia) w porównaniu z kontrolą (14 dzień życia).

## Badania pH krwi

pH krwi pobranej od samic w grupie kontrolnej po krótkotrwałej narkozie eterowej wynosiło 7,35 - 7,45, a krwi płodowej 7,26 - 7,31.

Krew samic w stanie asfiksji (użycie I metody asfiksji) wykazywała pH 7,10 - 6,88, natomiast krew pobrana w tych warunkach od płodów miała pH 7,05 - 6,61.

W grupach doświadczalnych, w których asfiksję wywoływano według metody II, pH krwi płodowej wynosiło od 7,00 do wartości poniżej 6,60.

W grupie kontrolnej z pozorowanym zabiegiem operacyjnym (60 minutowa narkoza i laparatomia) wartości pH krwi wynosiły odpowiednio: u samic 7,30 - 7,48, u płodów 7,23 - 7,35.

W y n i k i b a d a ń c h e m i l u m i n e s c e n c y j n y c h przedstawiają tabele 1, 2, 3, 4 oraz ryc. 3.

Uzyskane wyniki wskazują na istnienie różnic w katalitycznym oddziaływaniu homogenatów mózgowych po przebytej asfiksji w porównaniu do homogenatów tkanki mózgowej zwierząt kontrolnych.

A. Badania wykonane na 60 płodach od samic poddanych asfiksji według metody I wykazują mniejszą liczbę rejestrowanych impulsów niż u płodów kontrolnych w tym samym dniu życia śródmacicznego. Różnice te są istotne statystycznie w 0, 2, 4, 6 i 8 godzinie po wyjęciu samic z komory, a po 12 godzinach zbliżają się do wartości kontrolnych (tabela 1).

- B. Homogenaty mózgowo 70 płodów po przebytej asfiksji według metody II wykazywały różnice istotne statystycznie w odniesieniu do kontroli w ciągu pierwszych 8 godzin po zdjęciu zacisków z naczyń macicznych. Powrót do wartości kontrolnych następował po 12 godzinach.
- C. Tabela 3 jest zestawieniem wyników uzyskanych po wykonaniu oznaczeń na młodych szczurach w ciągu trzech pierwszych tygodni ich życia. Są to zwierzęta od samic poddanych asfiksji (met. I) w ostatnich dniach ciąży oraz z miotów, które przeszły asfiksję w życiu płodowym według metody II. W 3 i 7 dniu po urodzeniu obserwuje się istotne statystycznie różnice w ilości rejestrowanych impulsów u zwierząt doświadczalnych w porównaniu do wartości kontrolnych badanych w analogicznych dniach życia. Zmniejszenie ilości impulsów w 9 i 15 dniu po urodzeniu nie jest istotne statystycznie, a w 20 dniu życia następuje powrót do wartości kontrolnych.
- D. Perfuzja wykonana u zwierząt 7-dniowych wywołała osłabienie właściwości katalitycznych (3 kontrolne i 3 po asfiksji wg met. I) oddziaływania homogenatów mózgowych na przebieg reakcji modelowej. Różnica między zwierzętami kontrolnymi a doświadczalnymi została zachowana. Obserwowano mniejszą ilość rejestrowanych impulsów w zestawieniu z wartościami uzyskanymi od zwierząt nieperfundowanych w tym samym dniu życia (tabela 3 i 4).

E. Wpływ cjanku potasu na przebieg reakcji katalitycznej.

Dodanie 0,15 ml cjanku potasu i uzyskanie końcowego stężenia  $10^{-3}M$  znosiło katalityczne właściwości homogenatów mózgowych. Ilość impulsów obniżała się do poziomu charakterystycznego dla czystej reakcji modelowej (ryc. 3).



Tabela 1

Asfikcja samic ciężarnych. Średnie ilości impulsów rejestrowanych po dodaniu do reakcji modelowej homogenatów tkanki mózgowej płodów (po przeliczeniu na 1 mg suchej masy tkanki)

Czas badania	0 godz	2 godz	4 godz	6 godz	8 godz	12 godz
Kontrola płody	115.700 ± 39.200					
Asfikcja płody (met.I)	67.400 ± 43.800 p < 0,01	79.400 ± 62.300 p < 0,01	76.800 ± 50.100 p < 0,01	83.200 ± 77.000 p < 0,01	96.600 ± 71.000 p < 0,05	114.500 ± 59.400 p > 0,05

Tabela 2

Średnie ilości impulsów rejestrowanych po dodaniu do reakcji modelowej  
homogenatów tkanki mózgowej płodów (po przeliczeniu na 1 mg suchej masy tkanki)  
II metoda asfiksji

Czas badania	0 godz	2 godz	4 godz	6 godz	8 godz	12 godz	24 godz
Kontrola płody	107.000 ± 41.600						
Asfiksja płody (met.II)	65.700 ±38.300 p < 0,01	68.700 ±36.500 p < 0,01	80.500 ±64.500 p < 0,01	80.100 ±65.700 p < 0,01	90.700 ±59.200 p < 0,05	106.700 ± 76.000 p > 0,05	102.500 ± 51.500 p > 0,05

Tabela 3

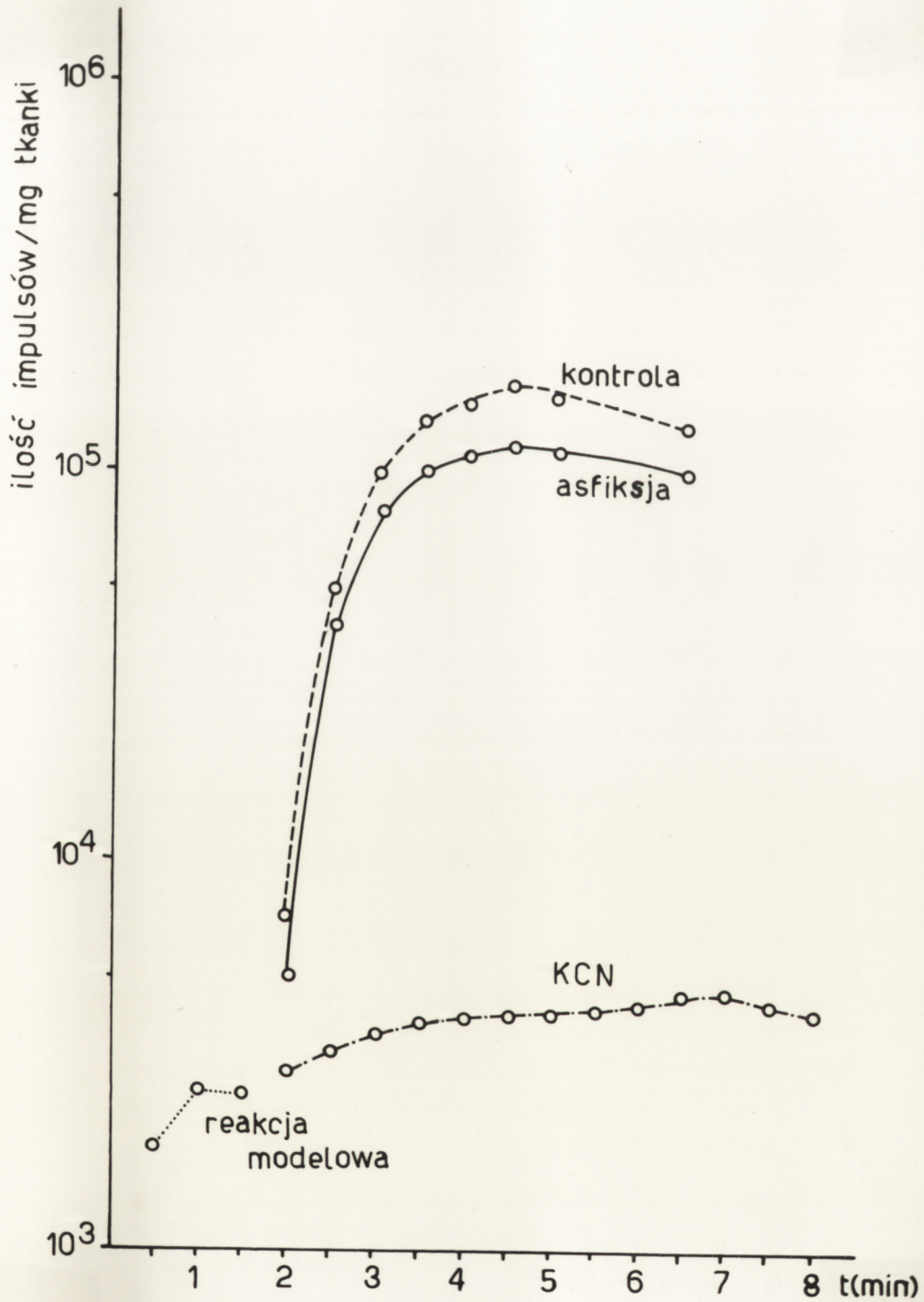
Średnie ilości impulsów rejestrowane po dodaniu do reakcji modelowej homogenatów tkanki mózgowej zwierząt w podanych dniach rozwoju (po przeliczeniu na 1 mg suchej masy tkanki)

Dni życia	3	7	9	15	20
Kontrola	129.000 ± 51.300	156.000 ± 78.700	298.200 ± 190.000	351.700 ± 181.500	269.500 ± 138.200
Asfiksja (met.I)	92.600 ± 72.500 p < 0,01	115.800 ± 93.600 p < 0,01	270.100 ± 160.800	312.600 ± 193.500	260.000 ± 153.000
Asfiksja (met.II)	85.800 ± 64.600 P < 0,01	125.500 ± 87.200 P < 0,05	276.600 ± 181.600	317.000 ± 189.500	289.800 ± 116.000

Tabela 4

Ilość impulsów rejestrowana po dodaniu do reakcji modelowej homogenatów tkanki mózgowej zwierząt perfundowanych przyżyciowo roztworem soli fizjologicznej (po przeliczeniu na 1 mg suchej masy tkanki)

Szczury 7-my dzień życia	1 szczur	2 szczur	3 szczur
kontrola	124.900	135.000	139.000
asfiksja (met. I)	99.800	93.500	107.600



Ryc. 3. Wykres ilustrujący aktywowanie reakcji modelowej przez homogenaty tkanki mózgowej oraz blokowanie właściwości katalitycznych tych homogenatów przez roztwór KCN 10<sup>-3</sup>M.

W y n i k i   b a d a ń   m o r f o l o g i c z n y c h.  
Przy interpretacji topografii struktur mózgowych w uzyskanych preparatach posłużono się atlasami Zeman, Innes (1963), Ariens, Kappers i wsp. (1939) oraz König, Klippel (1963).

Odchylenia morfologiczne od stanu prawidłowego obserwowano w 73% badanych mózgów.

Najczęściej obserwowano zmniejszenie liczby komórek nerwowych dające obraz przerzedzeń utkania komórkowego struktur korowych. Dotyczyło to przede wszystkim górnych warstw kory półkul mózgowych (neocortex) w tym głównie warstw II i III. Stopień ich nasilenia był indywidualnie bardzo zmienny (ryc. 4 - 7).

W grupie zwierząt po asfiksji wywołanej według metody I przerzedzenia komórkowe występowały dodatkowo w V warstwie kory. Opisane obrazy spotykano najczęściej w zakresie kory czuciowej w skrawkach pobranych na poziomie przednich zwojów podstawy. Interpretacji pól korowych dokonywano w oparciu o prace Krieg'a (1945).

W kilku przypadkach przerzedzeniom korowym towarzyszyły objawy uszkodzenia komórek nerwowych tych okolic oraz obrazy rozpadu struktur jądrowych w postaci kariorexis w obrębie przykomorowych skupisk macierzy.

W mózgach pobranych od zwierząt w pierwszym tygodniu życia świeże wynaczynienia występowały w obrębie spoidła wielkiego i kory amonalnej - na pograniczu pól  $H_1$  i  $H_2$  (ryc. 8).

Przerzedzenia komórkowe w korze amonalnej występowały sporadycznie i dotyczyły głównie ~~amonalnych~~ komórek nerwowych na pograniczu pola  $H_1$  i subiculum (ryc. 9).

W korze mózdku obserwowano zmniejszenie populacji komórek Purkinjego wyraźnie widoczne w głębi rowków. W sąsiedztwie tych przerzedzeń komórki Purkinjego były często jasne, rozpadające się, lub ciemne i obkurczone (ryc. 10 - 11).

Dojrzewanie warstw korowych mózdku następowało z opóźnieniem kilku dni w stosunku do kontroli i przejawiało się późniejszym formowaniem jednowarstwowego układu komórek Purkinjego na zewnątrz od warstwy ziarnistej wewnętrznej oraz późniejszym zanikaniem warstwy rozrodczej Obersteiner'a (ryc. 12 - 13).

## W y n i k i   b a d a ń   h i s t o c h e m i c z n y c h

### 1. Kora mózgu (neocortex)

W preparatach od zwierząt kontrolnych słabszą aktywność dehydrogenaz (LDH i SDH) w pierwszych dniach życia zaobserwowano w górnej połowie kory oraz w obrębie dużych komórek piramidowych warstwy V. W miarę dojrzewania aktywność tego enzymu skupiała się w cytoplazmie komórek nerwowych warstw IV i V, oraz w neuropilu warstw II i III. Gwałtowny wzrost aktywności enzymów oksydoredukcyjnych (SDH, LDH, CYO) w korze mózgu szczura następował między 8 a 10 dniem życia.

Aktywność fosfatazy kwaśnej obserwowano początkowo w dużych komórkach piramidowych warstwy V kory mózgu oraz w

dużych komórkach nerwowych leżących na pograniczu kory i istoty białej. W miarę rozwoju stwierdzano jej obecność w większości komórek nerwowych kory.

U zwierząt po przebytej asfiksji aktywność badanych dehydrogenaz była ogólnie niższa na całym przekroju kory w pierwszym tygodniu życia. W następnych dniach rozwoju szybko narastająca aktywność w neuropilu warstw II i III utrudniała śledzenie aktywności enzymatycznych w miejscach przerzedzeń komórkowych. Nie stwierdzano nigdy ogniskowych ubytków aktywności. Natomiast aktywność fosfatazy kwaśnej w komórkach sąsiadujących z miejscami przerzedzeń była przeważnie obniżona (ryc. 14).

## 2. Kora amonalna

Aktywność enzymów oksydoredukcyjnych występowała w korze Ammona u zwierząt kontrolnych już od pierwszych dni życia i narastała stopniowo w następnych dniach życia. W 15 dniu osiągała poziom i rozmieszczenie topograficzne właściwe dla kory zwierzęcia dorosłego. Najwyższą aktywność obserwowano w polu  $H_2$ . Dendryty komórek piramidowych tego pola wykazywały wysoką aktywność oksydazy cytochromowej i dehydrogenazy bursztynianowej.

W mózgach zwierząt po przebytej asfiksji stwierdzono mniejszą aktywność wszystkich badanych enzymów. Najwyraźniejszy był spadek aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w polu  $H_1$ . Obejmował on całe to pole lub niektóre jego fragmenty (ryc. 15 - 17). Niższa aktywność fosfatazy kwaśnej w tych



miejscach miała charakter odczynu lekko dyfuzyjnego (ryc. 18, 19).

### 3. Kora mózdzku

U zwierząt kontrolnych aktywność badanych enzymów w pierwszych dniach życia ograniczała się do komórek Purkinje go. Aktywność dehydrogenaz pojawiała się następnie w dendrytach tych komórek. W 15 dniu życia aktywność obejmowała dolną połowę warstwy molekularnej, a około 20 dnia stwierdzało się ją na całej szerokości tej warstwy.

Podobnie w warstwie ziarnistej aktywność enzymów oksydoredukcyjnych pojawiała się 9 dnia życia, a narastała gwałtownie 15 dnia. Aktywność oksydazy cytochromowej naśladowała zachowanie się aktywności dehydrogenazy bursztynianowej. U zwierząt w pierwszym tygodniu życia wyraźna aktywność fosfatazy kwaśnej w wielu jądrach pnia i śródmózgowia kontrastowała ze słabą aktywnością komórek Purkinjego w mózdzku. W czasie rozwoju aktywność tego enzymu narastała szczególnie w jądrach i w niektórych rejonach istoty białej mózdzku.

W grupach zwierząt po przebytej asfiksji obserwowano opóźnienie tempa dojrzewania enzymatycznego poszczególnych warstw kory mózdzku (ryc. 20 - 23). Wypadnięcia aktywności występowały w miejscach przerzedzeń komórek Purkinjego (ryc. 24 - 26). Sąsiednie komórki wykazywały spadek aktywności enzymów tlenowych i podwyższony, dyfuzyjny odczyn na fosfatazę kwaśną (ryc. 27).

## OMÓWIENIE

W ostatnich latach, jak wspomniano na wstępie w niniejszej pracy szczególne zainteresowanie budzi wpływ umiarkowanej asfiksji na rozwój mózgu i jego uszkodzenia. Obserwacje dotyczące niewielkich zmian powstających wówczas w ośrodkowym układzie nerwowym są nieliczne (Hicks i wsp. 1962), a mają duże znaczenie w badaniu przyczyn występowania objawów klinicznych składających się na obraz zespołu minimalnych zaburzeń mózgowych. Prace Meier'a , Bunch'a (1950), <sup>Scheidler'a (1953)</sup> Meier'a, Menzel'a (1955) nad behaviorystycznymi zmianami u szczurów, które przebyły anoksję w życiu płodowym wykazały, że zwierzęta te posiadają mniejszą sprawność umysłową. Pod wpływem tych danych postanowiono skoncentrować badania na strukturach biorących czynny udział w wyższych czynnościach nerwowych u tego zwierzęcia (Jackson, Strong 1969; Segal, Olds 1972; Stevens, Cowey 1973).

Badania przeprowadzono na szczurach, które okazały się zwierzętami najbardziej odpowiednimi do tego celu, ze względu na dynamikę rozwoju układu nerwowego (Berry, Rogers 1965; Hicks, D'Amato 1968; Bass i wsp. 1969). Asfiksję wywoływano w ostatnich dniach (18, 19, 20) życia płodowego szczura. Na ten okres przypada intensywne namnażanie się neuroblastów w ogniskach macierzy okołokomorowej i ich migracja do miejsc przeznaczenia w korze (Berry, Eayrs 1963; Hicks, D'Amato 1968). Badania autoradiograficzne Berry'ego i Rogers'a (1965) usta-

liły ścisłą zależność czasową między wędrówką neuroblastów do poszczególnych warstw kory mózgu szczura. Zgodnie z uzyskanymi danymi, 16 i 17 dzień ciąży jest okresem przesuwania się tych komórek, które później utworzą warstwę VI i V kory. W 18 dniu wędrują komórki dla warstwy IV, a w 19, 20 i 21 dniu populacja komórek dla uformowania warstw II i III. Podobne wyniki uzyskali Angevine i Sidman (1961) dla mózgu myszy.

W podjętych badaniach zastosowano dwie metody wywoływania asfiksji, aby ustalić jakie znaczenie może mieć różny mechanizm powstawania tego zaburzenia dla obrazu zmian morfologicznych w mózgu. Pierwszą z użytych metod wywoływano asfiksję samicy ciężarnej przez zamknięcie w hermetycznej, bezodpływowej komorze. Identyczną metodę stosowali De Souza i Dabbing (1972) dla wywołania przedłużonej asfiksji u szczurów, u których obserwowali następnie zaburzenia wodno-elektrolitowe w mózgu. Przeprowadzona przez nas analiza składu gazowego powietrza znajdującego się w komorze podczas trwania doświadczenia wykazała, że działanie na ustrój wybitnego spadku zawartości tlenu ( $pO_2$  23-41 mm Hg) i wysokiego ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla (117-132 mm Hg) prowadzi do ciężkich zaburzeń oddechowych kończących się śmiercią zwierzęcia. Zjawisko to kontrastuje wyraźnie z danymi literatury dotyczącymi wpływu poszczególnych składowych asfiksji na zwierzęta doświadczalne. Wynika z nich, że nawet bardzo niskie ciśnienie parcjalne tlenu w powietrzu oddechowym wywołuje u szczura jedynie krótkotrwałe zaburzenia biochemiczne i

histochemiczne (Ibrahim i wsp. 1970). Według danych Wollmana i Drippsa (1970) śmierć z powodu zwiększonego stężenia dwutlenku węgla następuje dopiero przy 50% zawartości tego gazu w powietrzu oddechowym.

Skojarzony wpływ niedoboru tlenu i nadmiaru dwutlenku węgla - czyli asfiksja okazuje się szczególnym zagrożeniem dla ustroju i przewyższa swą szkodliwością proste niedobory tlenowe nawet dużego stopnia. Fakt ten znajdował już potwierdzenie w pracach doświadczalnych (Goldberg i wsp. 1961; Bakey, Bendixon 1963; Cutler, Bardow 1966; Bakay, Lee 1968), nie mniej należy podkreślić jego znaczenie dla płodu, który w warunkach patologii ciąży ma do czynienia najczęściej z tym typem zaburzenia (Saling 1968; Nyka 1973).

Wywołując asfiksję u samic ciężarnych unikano stosowania narkozy i unieruchomienia, aby wywołać możliwie najbardziej naturalną reakcję ustroju tych zwierząt na warunki doświadczenia.

Na podstawie przeprowadzonych badań pilotowych stwierdzono, że samice uśpione padają znacznie wcześniej, prawdopodobnie na skutek nakładania się depresyjnego działania narkozy i wysokich stężeń dwutlenku węgla na czynności ośrodka oddechowego. Potwierdzeniem tego spostrzeżenia jest fakt, że zwierzęta użyte przez De Souza i Dabbinga (1972), mimo dwukrotnie większej pojemności komory padały wcześniej niż w opisanych doświadczeniach.

Dzięki zastosowanym warunkom udało się wywołać u samic

ciężarnych długotrwałe zaburzenie, które dawało prawdopodobieństwo uszkodzenia płodu.

Druga metoda wywoływania asfiksji polegała na ominięciu ustroju samicy i zamknięciu krążenia w naczyniach macicznych przez nałożenie zacisków. Metodę tę stosowali na świnkach morskich Windle i wsp. (1958) i stwierdzali ciężkie uszkodzenia mózgu u tych zwierząt.

Wyniki uzyskiwane w obecnej pracy u zwierząt z tak wywołaną asfiksją porównywano z grupą kontrolną, na której przeprowadzono pozorowany zabieg chirurgiczny (narkoza 60 minut i laparatomia).

Wskaźnikiem przebytej przez płody i samice asfiksji były wartości pH krwi pobieranej natychmiast po zakończonym doświadczeniu.

Przeprowadzenie oznaczeń pełnego zestawu parametrów krwi ( $pCO_2$ ,  $pO_2$ , wskaźniki buforowania krwi) na płodach szczurów było niemożliwe ze względu na bardzo niewielką ilość krwi jaką można było uzyskać do badania. Windle (1940) podaje, że całkowita ilość krwi płodu pod koniec ciąży stanowi około 10% jego wagi wraz z łożyskiem. W naszym materiale doświadczalnym waga płodu szczura wynosiła 2,6 - 3,6 g, a waga wraz z łożyskiem 3,3 - 4,5 g. Z prostego wyliczenia wynika, że całkowita ilość krwi u płodu powinna wynosić od 0,2 - 0,3 ml. Praktycznie nie udawało się pobrać więcej niż 0,1 ml krwi płodowej. Taka ilość krwi umożliwiła wyłącznie pomiar pH. Od samic wyjętych z komory jedyną możliwą drogą szybkiego

pobrania krwi było nakłucie serca, ponieważ na obwodzie ciśnienie krwi było bardzo niskie. Takie pobranie nie gwarantowało otrzymania zawsze jednakowego rodzaju krwi (tętnicznej lub żyłnej). W związku z tym oznaczanie pH w otrzymanych próbkach krwi wydawało się parametrem najbardziej obiektywnym i powtarzalnym. Otrzymane w ten sposób wartości wykazują, że płody od samic po trzykrotnej asfiksji śródciażowej, jak i płody poddane asfiksji przez podwiązanie naczyń macicznych miały wyraźne obniżenie pH krwi. Wahalo się ono od 7,05 - 6,61 w pierwszej metodzie asfiksji do poniżej 6,6 w metodzie II. Tak niskie wartości pH obserwował Myers i wsp. (1969a) u małą przy doświadczalnym wywoływaniu asfiksji. U zwierząt tych ten duży spadek pH krwi wiązał się z ciężkimi i rozległymi uszkodzeniami mózgu.

Skutki działania asfiksji na mózg badano przy użyciu trzech metod.

Metody chemiluminescencji użyto jako szybkiego testu, ogólnie informującego o stanie tkanki mózgowej po działaniu na nią asfiksji. Chemiluminescencja, zjawisko powszechnie występujące w przyrodzie i właściwe wszystkim żywym komórkom (Sławiński 1967) towarzyszy procesom utleniania biologicznego. Natężenie jej i skład widmowy mogą informować o sprawności energetyki organizmu, stopniu wykorzystania energii biosubstratu, uszkodzeniu określonych funkcji lub struktur komórki (Goedheer, Vegt 1962; Bellamy, Tweet 1963; Żuravlev 1965).

Wstępne opublikowane poprzednio badania (Maślińska, Honowska 1977) i obecnie otrzymane wyniki wskazują na bezpośredni i odległy wpływ

asfiksji na zachowanie się homogenatów mózgowych w układzie reakcji modelowej.

Bez względu na sposób wywoływania asfiksji stwierdzono jej bezpośredni wpływ na tkankę mózgową płodów w pierwszych 8 godzinach po doświadczeniu oraz utrzymywanie się tych zaburzeń u noworodka w pierwszych dniach adaptacji do nowych warunków samodzielnego życia.

Zniesienie katalitycznych właściwości homogenatów tkanki mózgowej po dodaniu do reagującego środowiska roztworu cjanu potasu w stężeniu blokującym oddychanie tkankowe pozwoliło przyjąć, że czynnikami nasilającymi intensywność promieniowania elektromagnetycznego były enzymy związane z tlenową przemianą w mózgu.

Przeprowadzenie oznaczeń z tkanką mózgową perfundowaną nie dało odpowiedzi, jaki wpływ na wartości pomiarów może mieć krew pozostająca w układzie naczyniowym mózgu po dekapi-tacji. Spadek ilości impulsów rejestrowanych przy wykonywaniu oznaczeń z homogenatami perfundowanych mózgow mógl być wynikiem usunięcia resztek krwi z układu naczyniowego tego narządu można go jednak także wiązać z niewielkiego stopnia hipoksją w czasie 10-minutowej perfuzji. Niezależnie od przeprowadzonej perfuzji zachowana była różnica wyników między mózgami doświadczalnymi a kontrolnymi. Oznaczenia te wskazały na bezpośrednie oddziaływanie asfiksji na tkankę nerwową, a nie tylko na krew zawartą w naczyniach mózgowych.

Niedojrzałość mózgu szczura w momencie działania asfiksji

oraz fakt, że nie podlega on wówczas procesom mielinizacji stwarza dogodne warunki do śledzenia wpływu tego zaburzenia na młode komórki nerwowe formujące struktury korowe (Berry, Rogers 1965; Bass i wsp. 1969<sup>a,b</sup>). Z badań histopatologicznych wynika, że działanie asfiksji doprowadziło przede wszystkim do zmniejszenia populacji komórek, zwłaszcza w górnych warstwach kory II i III. Zestawiając moment działania asfiksji z okresem namnażania i migracji neuroblastów można przypuszczać, że do przerzedzeń komórkowych w tych warstwach doszło wskutek zahamowania proliferacji w ogniskach macierzy lub wskutek zahamowania wędrówki komórek na miejsce przeznaczenia. Oba procesy wymagają dopływu energii i mogą ulec zaburzeniu w wyniku działania asfiksji (Barańska 1969). Uszkodzenia komórek które osiągnęły już miejsce przeznaczenia w paśmie kory były w stosunku do przerzedzeń niewielkie. W obrębie kory amonalnej bardzo rzadko spotykano ubytki komórek nerwowych, które osiągają w tej strukturze swoje stałe miejsce pobytu bardzo wcześnie w życiu płodowym. Uszkodzenie i rozpad neuronów w tej okolicy były również niewielkie. Wynikało to prawdopodobnie ze stosunkowo niskiej aktywności metabolicznej komórek w korze amonalnej w czasie działania asfiksji. Komórki Purkinjego w korze mózdzku były stosunkowo dojrzałe w momencie, gdy poddano je skojarzonemu działaniu hipoksji i hiperkapni. Wynikiem są obrazy ubytków tych komórek stwierdzone w korze mózdzku młodych szczurów oraz objawy różnego stopnia ich uszkodzenia.



Wyniki badań histoenzymatycznych łączą się w logiczną całość z obserwacjami morfologicznymi. Najmniej ewidentne różnice w nasileniu aktywności enzymatycznej między grupą kontrolną a poddaną doświadczeniu stwierdzono w korze mózgu (neocortex) mimo wyraźnych przerzedzeń populacji komórek nerwowych.

Fakt tej rozbieżności można jednak tłumaczyć szybkim narastaniem aktywności w neuropilu warstwy II i III oraz faktem narastania aktywności badanych dehydrogenaz w komórkach glejowych przerzedzonych warstw. Ponadto niewielkie przerzedzenia mogą być kompensowane metabolicznie przez komórki zdrowe.

W odniesieniu do kory amonalnej należy przypomnieć, że jej rozwój metaboliczny następuje szybko po porodzie. Mimo braku rozległych zmian morfologicznych u zwierząt po asfiksji stwierdzono w tej okolicy wyraźne odchylenia w zachowaniu się badanych enzymów oksydoredukcyjnych. Zjawiska te wskazywały, że w aktywności enzymatycznej kory amonalnej wystąpiło opóźnienie narastania aktywności enzymów związanych z tlenową przemianą w polu  $H_1$ , co być może wiąże się z opóźnieniem dojrzewania komórek tego pola w wyniku przebytej asfiksji.

Zachowanie się aktywności fosfatazy kwaśnej wskazuje również na niedojrzałość jej reakcji; dyfuzyjny słaby odczyn jest charakterystyczny dla wczesnych etapów rozwojowych niektórych enzymów (Janata i wsp. 1967).

Na zmiany enzymatyczne stwierdzone w korze amonalnej

mogły wpłynąć również zaburzenia migracji komórek z ognisk macierzy (Altman, Anderson 1972). Badania izotopowe przeprowadzone przez Altmana (1966, 1965) wykazały bowiem, że mimo wczesnego ukształtowania tej struktury, uzupełniająca wędrówka małych neuronów do kory amonalnej szczura trwa przez szereg dni po porodzie.

Badania aktywności enzymów oksydoredukcyjnych i fosfatazy kwaśnej w korze mózdzku zwierząt kontrolnych wykazywały ścisłą współzależność dojrzewania histoenzymatycznego od postępu rozwoju morfologicznego tej struktury. Aktywność badanych enzymów obserwowano już w pierwszych dniach życia, głównie w komórkach Purkinjego i wraz z kształtowaniem się ich dendrytów występowało rozszerzanie się tej aktywności na warstwę molekularną. Równocześnie namnażanie się komórek w warstwie macierzystej Obersteiner'a i ich wędrówka do miejsc przeznaczenia kształtowały warstwową strukturę kory. Dane czasowe stwierdzone w przebadanym materiale u zwierząt kontrolnych są zgodne z doniesieniami Friede'go (1959, 1966), Altman'a (1972), Das'a, Kreutzberg'a (1967), O'Leary i wsp. (1971), Tewori'ego, Bourne (1963).

W grupach zwierząt po przebytej asfiksji opóźnienie dojrzewania enzymatycznego poszczególnych warstw kory mózdzku należy wiązać z wypadaniem aktywności metabolicznej zanikłych i chorych komórek Purkinjego oraz z ogólnym opóźnieniem rozwoju kory mózdzku, wyrażającym się dłuższym utrzymywaniem się czynności warstwy ziarnistej zewnętrznej (Del Cerro, Snider 1972).

Należy podkreślić, że komórki Purkinjego należą do struktur szczególnie wrażliwych na niedobory tlenowe (Meyer 1963; Blackwood 1963). Spadek aktywności enzymów oksydoredukcyjnych i wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej w tych komórkach w zestawieniu z opisywanym obrazem morfologicznym wydaje się być przekonującym dowodem działania asfiksji na mózg płodu.

Niezależnie od stosowanej metody wywoływania asfiksji zwierzęta wykazywały prawie identyczne zaburzenia morfologiczne i histoenzymatyczne. Wiąże się to prawdopodobnie z ograniczonymi możliwościami odpowiedzi tkankowej na działanie bodźca szkodliwego. i potwierdza wnioski nasuwające się z analizy dotychczasowych badań, że przy wywoływaniu tego samego zaburzenia gazowego rodzaj stosowanej techniki ma znaczenie mniej istotne.

Przeprowadzone przez nas badania są kontynuacją prac Hicks'a i wsp. (1962), którzy badali zmiany morfologiczne i biochemiczne powstające w mózgu młodego szczura w okresie niewielkiej jego wrażliwości na niedobory tlenowe.

Zestawienie wyników trzech użytych metod badania mózgow płodów i noworodków szczurzych po zastosowanej transłożyskowo asfiksji wskazuje, że ten czynnik uszkodzający wpłynął na obniżenie metabolizmu tkanki nerwowej, co doprowadziło do zaburzeń w migracji neuroblastów do struktur korowych, opóźnienia dojrzewania histoenzymatycznego i morfologicznego tych formacji oraz do dyskretnych, nieodwracalnych uszkodzeń

neuronów. W sumie powstał obraz opóźnienia rozwoju i niewielkiego uszkodzenia mózgowego. Wydaje się, że powyższe zmiany mogą być podłożem zaburzeń stwierdzanych w pracach behawiorystycznych przez Meier'a , Bunch'a (1950), Meierá, Menzel'a (1955) i innych, którzy obserwowali, że szczury po przebytej asfiksji śródmaciczej są mniej sprawne ruchowo i umysłowo.

Z całokształtu niniejszej pracy wynika jednak, że mózg płodu szczura jest wyjątkowo odpornym na działanie asfiksji. Zjawisko to stoi w jaskrawym kontraście z badaniami przeprowadzonymi na innych gatunkach zwierząt (Myers 1969<sup>a,b</sup>, Bailey 1959), a tłumaczyć je można niedojrzałością struktur mózgowych szczura w momencie porodu, z czym wiąże się także odmienna niż u innych gatunków lokalizacja opisywanych zmian (Bass i wsp. 1969).

Na osobne omówienie zasługuje spostrzeżenie, że zmiany morfologiczne występowały tylko u 73% badanych zwierząt. Niejednakowe reagowanie płodów w miotach szczurzych na czynniki uszkadzające było obserwowane między innymi przez Morava i Han (1968), a znalazło również potwierdzenie w pracach naszego zespołu nad przechodzeniem przez łożysko czynników infekcyjnych (Dąbska i wsp. 1973, Wilmowska 1973) oraz toksycznych (Bryłko 1973). Morava i Han (1968) próbowali tłumaczyć te odmierne reakcje różnym stopniem dojrzałości morfologicznej i metabolicznej poszczególnych płodów oraz niejednakową budową samych łożysk.

Wspomnieć też należy, że użyte w tej pracy metody wywoływania asfiksji mogą nasuwać przypuszczenie występowania obok zaburzeń czasowej wymiany gazowej między matką a płodem, również i trwałych zaburzeń hemodynamicznych w krążeniu łożyskowym. Odpowiedź na tę wątpliwość znaleziono w pracy Aoba i wsp. (1972), którzy stosując na szczurach metodę zamykania krążenia macicznego przez podwiązanie naczyń badali wielogodzinny wpływ tego stanu na funkcję metaboliczną i funkcjonalną łożyska. Stwierdzili oni, że dopiero po 4 godzinach utrzymywania podwiązek na naczyniach macicznych występują niewielkie zaburzenia w funkcjach metabolicznych łożyska.

## WNIOSKI

1. Zarówno wielokrotna asfiksja ciężarnych samic szczura, jak bezpośrednia transłożyskowa asfiksja płodów wpływa uszkadzająco na dojrzewający układ nerwowy płodu.
2. Technika stosowanej asfiksji ma znaczenie drugorzędne dla kształtowania się obrazu uszkodzeń.
3. Mózgi płodów po przebytej asfiksji wykazują ~~zmniejszenie~~ zmniejszenie zdolności katalitycznych w przebiegu oksydoredukcyjnej reakcji modelowej.
4. Morfologicznym wyrazem przebytej asfiksji jest przerzedzenie populacji komórek nerwowych w korze półkul mózgu i mózdzku związane z zaburzeniem fazy migracji i uszkodzenie neuronów w warstwach o szybszej dynamice wzrostowej.
5. Przebyta przez płody asfiksja wywołuje opóźnienie w dojrzewaniu enzymatycznym struktur korowych, szczególnie wyraźnie w korze mózdzku, oraz spadek aktywności enzymatycznej w okolicach uszkodzonych.
6. Noworodki po przebytej w życiu płodowym asfiksji wykazują obniżenie zdolności przystosowania do nowych warunków środowiskowych.
7. Zespół obserwowanych zmian pozwala przypuszczać, że obciążone nim osobniki mogą wykazywać zaburzenia sprawności układu nerwowego.

PIŚMIENNICTWO

- Ackerman R.H., Zilkha E., Bull J.W.D., Du Boulay G.H., Marshall J., Russell R.W.R., Symon L.: The relationship of the CO<sub>2</sub> reactivity of cerebral vessels to blood pressure and mean resting blood flow. *Neurology* 1973, 23, 21-26.
- Adams J.H., Brierley J.B., Connor R.C.R., Treip C.S.: The effects of systemic hypotension upon human brain. *Brain* 1966, 89, 235-268.
- Albaum H.G., Noell W.K., Chinn H.J.: Chemical changes in rabbit brain during anoxia. *Am. J. Physiol.*, 1953, 174, 408-416.
- Altman J.: Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. II. A longitudinal investigation of kinetic, migration and transformation of cells incorporation tritiated thymidine in infant rats with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions. *J. comp. Neurol.*, 1966, 128, 431-474.
- Altman J.: Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. III. Dating the time of production and onset of differentiation of cerebellar microneurons in rats. *J. comp. Neurol.*, 1969a, 136, 269-294.

Altman J.: Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. I. The external germinal layer and the transitional molecular layer. J. comp. Neurol., 1972a, 145, 353-398.

Altman J.: Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. II. Phases in the maturation of Purkinje cells and of the molecular layer. J. comp. Neurol., 1972b, 145, 399-464.

Altman J.: Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. III. Maturation of the components of the granular layer. J. comp. Neurol., 1972c, 145, 465-514.

Altman J., Anderson W.J.: Experimental reorganization of the cerebellar cortex. I. Morphological effects of elimination of all microneurons with prolonged X irradiation started at birth. J. comp. Neurol., 1972, 146, 355-405.

Altman J., Das G.D.: Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. J. comp. Neurol., 1965, 124, 319-336.

Altman J., Das G.D.: Postnatal origin of microneurons in the rat brain. Nature Lond. 1965, 207, 953-956.

Altman J., Das G.D.: Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. I. A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in neonate rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions. J. comp. Neurol., 1966, 126, 337-390.



- Ames A.III., Wright R.L., Kowada M., Thurston J.M., Majno G.:  
Cerebral ischaemia: II. The no-reflow phenomenon. Am. J.  
Path., 1968, 52, 437-453.
- Angevine J.B., Sidman R.L.: Autoradiographic study of cell  
migration during histogenesis of cerebral cortex in the  
mouse. Nature, Lond., 1961, 192, 766-768.
- Aoba H., Aita K., Nakagawa K., Takahashi K., Hirano M.,  
Yoshizaki H.: The effect of circulatory disturbance on  
placental alkaline phosphatase in rats. Tohoku J. exp.  
Med., 1972, 108, 19-23.
- Astrup P.K., Jørgensen K., Andersen O.S., Engel K.: The  
acide-base metabolism. Lancet, 1960, 7133, 1035-1039.
- Atkinson J.N.C., Spector R.C.: Metabolism of glucose in  
anoxie - ischemie rat brain. Br. J. exp. Path., 1964,  
45, 393-397.
- Bailey C.J.: Interrelationship of asphyxia neonatorum,  
cerebral palsy and mental retardation: Present status  
of the problem. In: Neurological and Psychological  
Deficits of Asphyxia Neonatorum, Springfield - Ill.  
Charles C Thomas - Publ., 1958, 5-30.
- Bailey C.J., Windle W.F.: Neurological, Psychological and  
neurohistological defects following asphyxia neonatorum  
in the guinea pig. Exp. Neurol., 1959, 1, 467-482.

- Bakay L., Bendixen H.H.: Central nervous system vulnerability in hypoxaemic states; Isotope uptake studies. In: Selective vulnerability of the brain in hypoxaemia. Eds. J.P.Schade, W.H.Mc Manemey, Oxford, Blackwell Sci. Publ. 1963, 68-78.
- Bakay L., Lee J.C.: Electron microscopy of cat brain after hypoventilation. J. Neuropathol., 1967, 26, 169-170.
- Bakay L., Lee J.C.: The effect of acute hypoxia and hypercapnia on the ultrastructure of the central nervous system. Brain 1968, 91, 697-706.
- Baldwin E.: Biochemia dynamiczna. Warszawa, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 1958.
- Barańska W.: Ultrastruktura jądra komórkowego. W: Ćwiczenia z cytofizjologii. Red. K.Ostrowski, Warszawa, Wyd. A.M. 1969, I, 26-62.
- Barka T., Anderson P.J.: Histochemistry: Theory, Practice and Bibliography. N.York, Evanston and London, Hoeber Medical Division, Harper, Row, Publishers, Inc. 1965, 244-247.
- Bass N.H., Martin H., Netsky G., Young E.: Microchemical studies of postnatal development in rat cerebrum. I. Migration and differentiation of cells. Neurology 1969a, 19, 258-268.
- Bass N.H., Netsky M.G., Young E.: Microchemical studies of postnatal development in rat cerebrum. II. Formation of myelin. Neurology 1969b, 19, 405-414.

- Bazan N.G.; Effects of ischemia and electroconvulsive shock on free fatty acids pool in the brain. *Biochim. biophys. Acta* 1970, 218, 1-10.
- Bazan N.G., Cummings M.: The turnover of brain fatty acids following decapitation or convulsions. In: *Second International Meeting of the Society for Neurochemistry*. Ed. R.Paoletti, R.Fumagalli, C.Calli. Milano 1969, 83-84.
- Bellamy W.D., Tweet A.G.: Thermochemiluminescence of chlorophyll-carotene mixtures. *Nature, Lond.*, 1963, 197, 482-484.
- Berry M., Eayrs J.T.: Histogenesis of the cerebral cortex. *Nature, Lond.*, 1963, 197, 984-985.
- Berry M., Rogers A.W.: The migration of neuroblast in developing cerebral cortex. *J. Anat.*, 1965, 99, 691-709.
- Blackwood W.: Vascular disease of the central nervous system. In: *Greenfield's Neuropathology*. Eds: W.Blackwood, W.H. Mc Menemey, A.Meyer, R.M.Norman, D.S.Russell. London, E.Arnold 1963, 71-137.
- Bondoreff W., Myers R.E., Brann A.W.: Brain swelling and extracellular space changes in term fetuses subjected to prolonged partial asphyxia. *Exp. Neurol.*, 1970, 28, 167-178.
- Brand M.M., Bignami A.: The effects of chronic hypoxia on the neonatal and infantile brain. *Brain* 1969, 92, 233-254.

- Brierley J.B.: The influence of brain swelling, age and hypotension upon the pattern of cerebral damage in hypoxia. In: Proc. Fifth Int. Congress of Neuropathology. Ed. F.Luthy, A.Bishoff, Amsterdam 1966, Excerpta Med. Fund., 2.
- Brockman S.K., Jude J.R.: Tolerance of dog brain to total arrest of circulation. Bull Johns Hopkins Hosp., 1960, 106, 74-80.
- Bryłko J.: Wpływ Phenobarbitonu podawanego królicom ciężarnym na ośrodkowy układ nerwowy płodów. Praca doktorska. Warszawa 1973, Instytut Matki i Dziecka.
- Burstone M.S.: Enzyme Histochemistry, New York, London, Academic Press, 1962, 462-463.
- Cammermeyer J.: A critique of neuronal hyperchromatosis. J. Neuropath., 1960, 19, 141-142.
- Clements S.D.: Minimal brain dysfunction in children, NINDB monograph 3; Public Health Service Publication, 1966, 1415.
- Cohen M.M.: The effect of anoxia on the chemistry and morphology cerebral cortex slices "in vitro". J. Neurochem., 1962, 9, 337-340.
- Cohen M.M., Hartman J.F.: In: Morphological and Biochemical Correlates of Neural Activity. Ed. M.M.Cohen, R.S.Snider, N.York 1964, Chapt. 4.

- Cohen J.P.: The effects of decreased oxygen tension on cerebral circulation, metabolism and function. In: International Symposium on the Cardiovascular and Respiratory Effects of Hypoxia. Ed. J.D.Hatcher, D.B. Jennings, Basel, N.York, S.Karger 1966, 81-104.
- Cohen J.P., Wollman H., Alexander S.C., Chase P.E., Smith T.C., Melman E., Behar M.G., Procs H.L.: Cerebral circulation, carbohydrate utilization and the electroencephalogram of conscious man during hypoxia. Federation Proc. 1964, 23, 521.
- Conners C.K.: The syndrome of minimal brain dysfunction: Psychological aspects. *Pediat. Clins. N. Am.*, 1967, 14, 749-766.
- Craigie E.H.: Vascular patterns of the developing nervous system. In: *Biochemistry of the developing nervous system*. Ed. H.Waelsch, N.York, Academic Press, 1955, 28-51.
- Craigie E.H.: Vascularity in the visual centres of the brain of the rat. *Plzeň. lek. Sb.*, 1961, Suppl. 3, 95-104.
- Cunningham D.J.C., Pekrsen E.S., Pickering T.G., Sleight P.: The effects of hypoxia, hypercapnia and asphyxia on the baroreceptor - cardiac reflex at rest and during exercise in man. *Acta physiol. scand.*, 1972, 86, 456-465.
- Cutler R.W.P., Barlow C.F.: The effect of hypercapnia on brain permability to protein. *Arch. Neurol.*, 1966, 14, 54-63.

- Das G.D., Kreutzberg G.W.: Postnatal differentiation of the granule cells in the hippocampus and cerebellum: a histochemical study. *Histochemie*, 1967, 10, 246-260.
- Davison A.N., Dabbing J.: Myelination as a vulnerable period in brain development. *Br. Med. Bull.*, 1966, 22, 40-44.
- Dąbska M.: Martwice a zapalenia w mózgach płodów i noworodków. *Neuropatol. pol.*, 1967, 5, 1-34.
- Dąbska M., Ferens Z., Taytsch Z.: The infection by Coxackie B3 virus in mouse during pregnancy. *Neuropatol. pol.* 1973, (w druku).
- Del Cerro M.P., Snider R.S.: Studies on the developing cerebellum. II. The ultrastructure of the external granular layer. *J. comp. Neurol.*, 1972, 144, 131-164.
- De Souza S.W., Dobbing J.: Some effects of acute anoxia and prolonged asphyxia on rat brain. *Exp. Neurol.*, 1972, 37, 340-346.
- Domańska-Janik K.: Doświadczalne niedotlenienie a niektóre zagadnienia tlenowego metabolizmu glukozy w ośrodkowym układzie nerwowym. *Neuropatol. pol.* 1972, 10, 17-45.
- Eayrs J.T.: The vascularity of the cerebral cortex in normal and cretinous rats. *J. Anat. (Lond.)*, 1954, 88, 164-174.
- Eicke W.J.: Infektiose Embriopathien. *Nervenarzt.*, 1956, 27, 469-470.

- Elliot K.A.C., Heller J.H.: Metabolism of the nervous and glia. In: Metabolism of the Nervous System. Ed. D.Richter, London, Pergamon Press, 1957, 286.
- Flexner L.B.: The development of the cerebral cortex: A cytological, functional and biochemical approach. Harvey Lect., 1952, 17, 156-179.
- Friede R.L.: Histochemical investigations on succinic dehydrogenase in the central nervous system. I. The postnatal development of rat brain. J. Neurochem. 1959, 4, 101-110.
- Friede R.L.: Topographic Brain Chemistry. N.York and London, Academic Press, 1966.
- Glauser E.M.: Chronic exposure of young rats to hypoxia and hypercapnia. Archs. envir. Hlth., 1966, 13, 597-600.
- Goedheer J.C., Vegt G.R.: Chemiluminescence of chlorophyll and bacteriochlorophyll<sub>min</sub> relation to redox reactions. Nature, Lond., 1962, 193, 875-876.
- Goldberg M.A., Barlow C.F., Roth L.J.: The effects of carbon dioxide on the entry and accumulation of drugs in the central nervous system. J. Pharmac. exp. Ther., 1961, 131, 308-318.
- Grabiec S., Bogdański K., Marczukajtis A.: Variability of chemiluminescence intensity of grain tissues in rye of various periods of storage durations. Bull. Acad. Pol. Sci. (Biol.) 1968, 16, 761-763.

- Grabiec S., Guttowa A., Malzahn E., Michajłow W.: Investigations on the oxidation - reduction activity in embryos and coracidia of *Triaenophorus nodulosus* (Pall) by the chemiluminescence method. Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. biol., 1969, 17, 609-612.
- Halicka D., Romanowski W., Grabiec S.: Chemiluminescencja homogenatów mięśni czerwonych i białych w procesach utleniania. XI Zjazd Polskiego Tow. Fizjol. Szczecin, 1969, Streszcz. ref. komunik. 83.
- Halicka-Ambroziak A.H.: Spoczynkowy i wysiłkowy metabolizm mięśni "białych" i "czerwonych" w świetle badań oddychania tkankowego. Warszawa 1972, Instytut Nauk Biologicznych A.W.F.
- Hallervorden J., Meyer J.E.: Cerebrale Kinderlähmung. In: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie Berlin, Springer 1956. XIII/4, 194-282.
- Hess R., Scarpelli D.G., Pearse A.G.E.: The cytochemical localization of oxidative enzymes. II. Pyridine nucleotide - linked dehydrogenases. J. biophys. biochem. Cytol., 1958, 4, 753-760.
- Hicks S.P., Cavanaugh M.C., O'Brien E.D.: Effect of anoxia on the developing cerebral cortex in the rat. Am. J. Pathol., 1962, 40, 615-635.
- Hicks S.P., D'Amato C.J.: Cell migrations to the isocortex in the rat. Anat. Rec., 1968, 160, 619-634.



Hills C.P.; The ultrastructure of anoxic - ischemic lesions in the cerebral cortex of the adult rat brain. Guy's Hosp. Rep. 1964, 113, 333-348.

Himwich H.E., Bernstein A.O., Herrlich H., Chesler A., Fazekas J.F.: Mechanisms for the maintenance of life in the newborn during anoxia. Am. J. Physiol. 1942, 135, 387-391.

Horstmann E.: Abstand und Durchmesser der Kapillaren im Zentralnervensystem verschiedener Wirbeltierklassen. In: Structure and function of cerebral cortex. Eds. D.B.Tower, J.P.Schade, Amsterdam Elsevier, 1959, 59-63.

Hoshimoto T., Kałuza J.S., Burstone M.S.: The effect of menadione and phenazine methosulfate on the tetrazolium reduction system under histochemical conditions. J. Histochem. Cytochem. 1964, 12, 797-804.

Ibrahim M.Z.M., Pascoe E., Alam S., Michel J.: Glycogen and phosphorylase activity in rat brain during recovery from several forms of hypoxia. Am. J. Path. 1970, 60, 403-415.

Ingalls T.H., Curley F.J., Prindle R.A.: Medical progress. Experimental production of nongenital anomalies timing and degree of anoxia as factors causing fetal deaths and congenital anomalies in the mouse. New Engl. J. Med. 1952, 247, 758-768.

Jackson W.J., Strong P.N.: Differential effects of hippocampal lesions upon sequential tasks and maze learning by the rat. J. Comp. physiol. Psychol., 1969, 68, 442-450.

- Jacob H.: Considerations statistiques et évolutives sur les malformations du système nerveux central. In: Malformations congénitales du cerveau. Masson Paris 1959, 107-120.
- Janata V., Fischer J., Jilek L., Malik V.: The diffusion of lactate, succinate and glutamate dehydrogenase from cryostat sections of the brain of rats into the incubating medium during ontogeny. Acta Histochem., 1967, 26, 28-35.
- Jilek L., Fischer J., Krulich L., Trojan S.: The reaction of the brain to stagnant hypoxia and anoxia during ontogeny. Prog. Brain Res., 1964, 9, 113-131.
- Kappers Ariens C.U., Huber G.C., Crosby E.C.: The comparative anatomy of the nervous system of vertebrates, including man. N.York Hafner Publ. Co., 1960.
- Koweda M., Ames A.III., Majno G., Wright R.L.: Cerebral ischaemia. I. An improved experimental method for study cardiocascular effects and demonstration of early vascular lesion in the rabbit. J. Neurosurg. 1968, 28, 150-157.
- König J.F.R., Klippel R.A.: The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore, Williams and Wilkins Company, 1963.
- Krieg W.J.S.: Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. A. Topography of the cortical areas. J. comp. Neurol., 1946, 84, 221-275.

- Lampert P.: The selective vulnerability of the brain to anoxia. *Can. med. Ass. J.*, 1961, 84, 1172-1176.
- Lierse W.: Die Kapillardichte im Wirbeltiergehirn. *Acta anat.*, 1963, 54, 1-31.
- Lindenberg R.: The pathology of the arterial border zone of the brain. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1959, 18, 348-349.
- Lindenberg R.: Patterns of CNS vulnerability in acute hypoxaemia, including anaesthesia accidents. In: *Selective vulnerability of the brain in hypoxaemia*. Eds. W.H. Mc Menemey, J.P.Schade, Oxford Blackwell Sci. Publ. 1963, 189-209.
- Lolley R.N., Samson F.E., Jr.: Cerebral high - energy compounds: Changes in anoxia. *Am. J. Physiol.*, 1962, 202, 77-79.
- Lowry O.H., Passonneau J.V., Hasselberger F.X., Schulz D.W.: Effect of ischemia on known substrates and cofactors of the glycolytic pathway in brain. *J. biol. Chem.*, 1964, 239, 18-30.
- Mandel P., Bieth R., Weill J.D.: General metabolism of the rat brain during post-natal development. In: *Metabolism of the nervous system*. Ed. D.Richter, Oxford, Pergamon Press, 1957, 291-296.
- Maślińska D., Honowska M.: Metabolizm oksydoredukcyjny w mózgach szczurów po niedotlenieniu transłożyskowym (badania chemiluminescencyjne). *Neuropatol. pol.* 1973, t.XI, nr 2.

- McDonald M., Spector R.G.: The influence of anoxia on respiratory enzymes in rat brain. *Br. J. exp. Pathol.* 1963, 44, 1-15.
- McDougal D.B., Jr., Holowach J., Howe M.C.: The effects of anoxia upon energy source and selected metabolic intermediates in the brains of frog, fish and turtle. *J. Neurochem.*, 1968, 15, 577-588.
- McIlwain H.: *Biochemistry and the central nervous system.* London, J. and A. Churchill, 1955.
- Meier G.W., Bunch M.E.: The effects of natal anoxia upon learning and memory at maturity. *J. comp. physiol. Psychol.*, 1950, 43, 436-441.
- Meier G.W., Menzel E.W.: Prenatal oxygen deprivation and subsequent specific behavior dysfunction. *Science* 1955, 122, 419-420.
- Messeter K., Siesjö B.K.: Regulation of intracellular pH in the rat brain in chronic hypercapnia. *Acta physiol. Scand.*, 1970, 79, 136-138.
- Messeter K., Siesjö B.K.: The effect of acute and chronic hypercapnia upon the lactate, pyruvate, ketoglutarate, glutamate and phosphocreatine contents of the rat brain. *Acta physiol. Scand.* 1971a, 83, 344-351.
- Messeter K., Siesjö B.K.: Regulation of the CSF pH in acute and sustained respiratory acidosis. *Acta physiol. Scand.* 1971b, 83, 21-30.

- Meyer A.: Anoxias, intoxications and metabolic disorders.  
In: Neuropathology. Ed. J.G.Greenfield et al. London,  
E.Arnold, 1963, 235-287.
- Morawa A.P., Han S.S.: Studies on hypoxia. I. Gross and  
Histologic influences of maternal anoxia upon the  
developing rat fetus. Arch. oral. Biol. 1968, 13,  
745-754.
- Mossakowski M.J., Long D.M., Meyers R.E., DeCuret R.H.,  
Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal  
asphyxia. J. Neuropath. exp. Neurol., 1968, 27, 500-523.
- Myers R.E.: The clinical and pathological effects of  
asphyxiation in the fetal rhesus monkey. In: Diagnosis  
and treatment of fetal disorders. Ed. K.Adamsons. N.York  
Springer-Verlag, 1968, 226-249.
- Myers R.E.: Atrophic cortical sclerosis associated with status  
marmoratus in a perinatally damaged monkey. Neurology  
1969b, 19, 1177-1188.
- Myers R.E., Beard Rl, Adamsons K.: Brain swelling in the  
newborn rhesus monkey following prolonged partial  
asphyxia. Neurology 1969a, 19, 1012-1018.
- Niemineva K., Tervilä L.: On the capillary bed of the human  
fetal cerebellar hemispheres. Acta Anat. 1953, 19,  
204-209.

- Novikoff A.B.: Electron transport enzymes: Biochemical and tetrazolium staining studies. In: Histochemistry and Cytochemistry. Proc. First int. Congr. Paris 1960. Ed. R.Wegmann, Paris, Pergamon Press, Oxford, London, N.York, 1963, 465-481.
- Novikoff A.B.: Lysosomes in nerve cells. In: The Neuron. Ed. Hyden H., Elsevier Pub. Comp. 1967, 343-353.
- Nyka W.: Uszkodzenia układu nerwowego noworodków na skutek niedotlenienia. Praca doktorska. Warszawa 1973, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.
- O'Leary J.J., Inukai J., Smith J.M.: Histogenesis of the cerebellar climbing fiber in the rat. J. comp. Neurol. 1971, 142, 377-392.
- Ostrowski K., Krassowski T.: Metabolizm jaja podczas bruzdkowania. W: Embriologia ogólna. Warszawa PZWL, 1969, 166-167
- Otto H.: Der heutige Stand unserer Kenntnisse über Entstehung und Verkommen menschlichen Missbildungen. Med. Klinik. 1961, 56, 377-380.
- Ozawa K., Seta K., Takeda H., And K., Kanda M., Ara K.C.: On the isolation of mitochondria with respiratory control from rat brain. J. Biochem., 1966, 59, 501-510.
- Pia H.W.: Etiologie und Pathogenese der infantilen Hemiplegia. Dt. Z. Nervheilk., 1963, 185, 357-380.

- Prosenz P., Reinmuth O.M., Scheinberg P.: Experimental evidence of a different mode of action of hypercapnia and hypoxia on cerebral vassels. *Eur. Neurol.*, 1971/72, 6, 119-122.
- Ranck J.B., Jr., Windle W.F.: Brain damage in the monkey, *Macaca mulatta*, by asphyxia neonatorum. *Exp. Neurol.* 1959, 1, 130-154.
- Rappoport D.A., Fritz R.R., Yamagami S.; Development. In: *Handbook of Neurochemistry*. Ed. A.Lajtha, N.York, Plenum Press 1969, v.5B, 439-479.
- Ridge J.W.: The distribution of cytochrome oxidase activity in brain of rabbit. *Biochem. J.* 1967a, 102, 612-617.
- Ridge J.W.: Resting and stimulated respiration in vitro in the central nervous system. *Biochem. J.* 1967b, 105, 831-836.
- Rivera A., Jr., Braun A.W., Jr., Miller J.R., Myers R.E.: Brain glicogen content of monkey newborns and juveniles recovering from asphyxia and circulatory arrest respectively. In: *Second International Meeting of the Interat. Soc. for Neurochem.* Ed. R.Paoletti, R.Fumagalli, C.Galli Milano 1969, 342-343.
- Rosen E.J.: Behavioral and emotional disturbances associated with cerebral dysfunction. *Appl. Ther.* 1969, 11, 531-543.
- Saling E.: *Foetal and neonatal hypoxia in relation to clinical obstetric practice*. Berlin, E.Arnold. 1968.

Scheidler C.H.: The effects of prenatal anoxia on learning in white rats. Doctoral dissertation 1953. Cyt. za: Bailey C.J. Interrelationship of asphyxia neonatorum, cerebral palsy, and mental retardation: Present Status of the Problem, Washington University, St.Louis, 1953, 5-30. In: Neurological and Psychological Deficits of asphyxia Neonatorum. Ed. Windle W.F. Charles c Thomas.

Schindler U., Betz E., Pfeiffer H., Strohm M.: Cortical metabolites during constant high CO<sub>2</sub> concentrations and their changes during pH variation. Eur. Neurol., 1971/72, 6, 83-87.

Scholz W.: Topistic lesions. In: Selective vulnerability of the brain in hypoxaemia. Ed: J.P.Schade, W.H.Mc Menemey, Oxford, Blackwell Sci. Publ. 1963, 257-267.

Schonbach J., Hu K.H., Friede R.L.: Cellular and chemical changes during myelination. Histologic, autoradiographic, histochemical and biochemical data on myelination in the pyramidal tract and corpus callosum of rat. J.comp. Neurol. 1968, 134, 21-37.

Schwartz P.: Birth injuries of the newborn: Morphology, Pathogenesis, Clinical Pathology and Prevention. N.York, Hafner Publishing Co., 1961.

Segal M., Olds J.: Behavior of units in hippocampal circuit of the rat during learning. J. Neurophysiol. 1972, 35, 680-687.

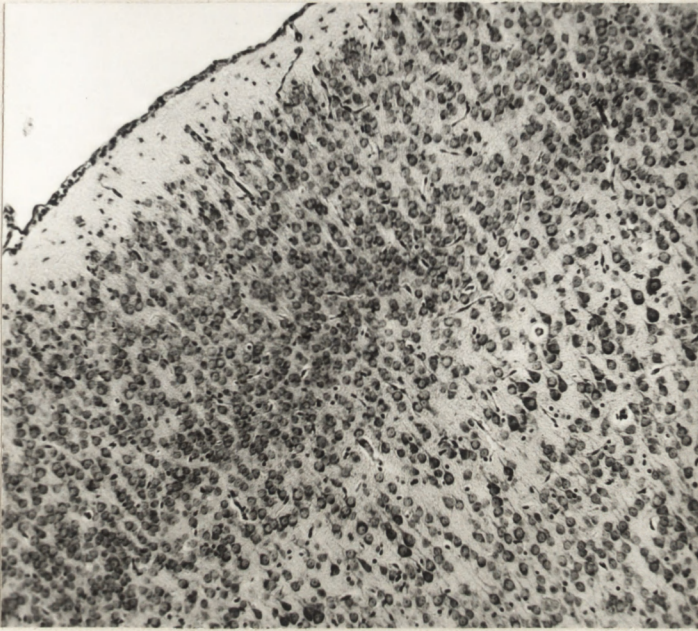


- Seiler N.: Enzymes. In: Handbook of Neurochemistry. Ed. A.Lajtha, N.York Plenum Press 1969, 1, 325-355.
- Seitelberger F.: Folgen praenatalen infectionen. Bibl. Microbiol. Suppl. ad. Pathol. Microbiol. 1960, 129-136.
- Severinghaus J.S., Lassen N.A.: Step hypocapnia to separate arterial from tissue  $PCO_2$  in the regulation of cerebral blood flow. Circulation Res. 1967, 20, 272-279.
- Sławiński J.: Chemiluminescencja w biologii. Post. Biochem. 1967, 13, 191-216.
- Spector R.G.: Enzyme chemistry of anoxie brain injury. In: Neurochemistry. Ed. C.W.M. Adams, Amsterdam, Elsevier, 1965, 551-553.
- Stefanko S., Iwanowski L., Rafałowska J., Sobkiewicz M.:  
W sprawie zaburzeń krążenia w obszarze "ostatniej łączki" w obrębie wzgórza. Neurol. Neurochir. Psychiat. Pol., 1965, 15, 25-30.
- Stevens R., Cowey A.: Effects of dorsal and ventral hippocampal lesions on spontaneous alternation, learned alternation and probability learning in rats. Brain Res. 1973, 52, 203-224.
- Sumi S.M.: The extracellular space in the developing rat brain: its variation with changes in osmolarity of the fixative, method of fixation and maturation. J. Ultrastruct. Res., 1969, 29, 398-425.

- Tewori H.B., Bourne G.H.: Histochemical studies on the distribution of alkaline and acial phosphatases and 5-nucleotidase in the cerebellum of rat. *J. Anat.*, 1963, 97, 65-72.
- Tews J.K., Carter S.H., Rea P.D., Stone W.P.: Free aminoacids and related compounds in dog brain: post - mortem and anoxie changes, effects of ammonium chloride infusion, and levels during seizures induced by picrotoxin and by penthylenetetrazol. *J. Neurochem.*, 1963, 10, 641-653.
- Thursten J.H., McDougal D.B., Jr.: Effect of ischemia on metabolism of the brain of the newborn mouse. *Am. J. Pathol.*, 1969, 216-218.
- Towbin A.: Mental retardation due to germinal matrix infarction. *Science* 1969, 164, 156-161.
- Towbin A.: Organic causes of minimal brain dysfunction. Perinatal origin of minimal cerebral lesions. *J. Am. Med. Assoc.*, 1971, 217, 1207-1214.
- Tschirgi R.D.: Chemical environment of the central nervous system. Podrozdział: Glucose and brain function. In: *Handbook of Physiology*. Ed. J. Field, Washington, Am. Physi. Soc. 1960, vol. 3, 1883-1884.
- Vahvelainen M.L., Oja S.S.: The uptake and incorporation into protein of <sup>3</sup>H tyrosine by slices prepared from developing rat brain cortex. *Brain Res.*, 1969, 13, 227-233.

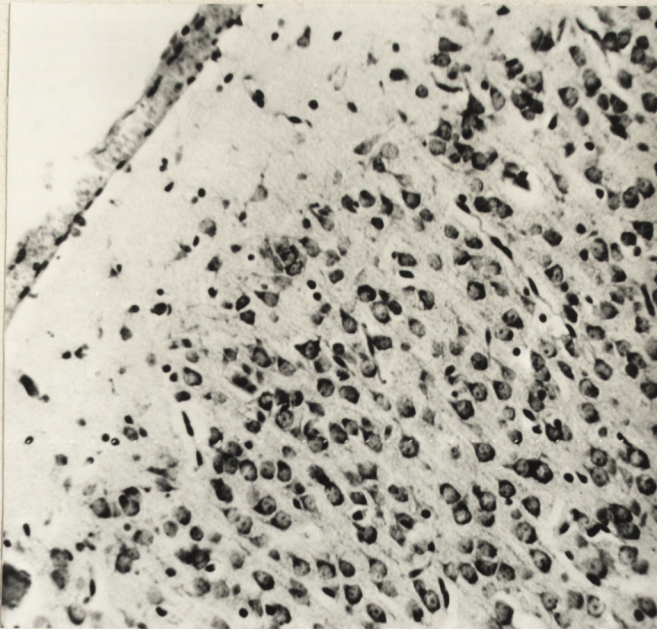
- Vogt C., Vogt O.: Erkrankungen der Grosshirnrinde im Lichte der Topistik, Pathoklise und Pathoarchitektonik. J. Psychol., Neurol., 1922, 28, 1-171.
- Walawski J.: Patofizjologia Ogólna i Narządowa. Warszawa PZWL 1969, 462-463.
- Wasserman A.J., Patterson J.L.: The cerebral vascular response to reduction in arteriolar carbon dioxide tension. J. Clin. Invest., 1961, 40, 1297-1301.
- Wender M., Hierowski M.: The concentration of electrolytes in the developing nervous system with special reference to the period of myelination. J. Neurochem., 1960, 5, 105-110.
- Wilmowska H., Wpływ posocznicy gronkowcowej na ośrodkowy układ nerwowy królików w wybranych okresach rozwoju. Praca doktorska. W przygotowaniu do druku. Warszawa 1973, Instytut Matki i Dziecka.
- Windle W.F.: The fetal circulation. In: Physiology of the Fetus Origin and Extent of Function in Prenatal Life. Ed. Windle W.F. Philadelphia and London, Saunders W.B. Comp., 1940, 29-48.
- Windle W.F.: Brain damage in the Guinea Pig after asphyxia neonatorum. In: Neurological and psychological Deficits of Asphyxia Neonatorum. Ed. W.F.Windle, Springfield. Ill. Charles C Thomas, 1958, 31-44.
- Windle W.F.: Anoxia and Asphyxia: Experiments in fetal and neonatal monkeys. In: Disorders of the Developing Nervous System. Eds. W.S.Fields and M.M.Desmond, Springfield, Ill Charles C Thomas, 1961, Chapt. 7, 144-155.

- Wollman H., Dripps R.D.: The therapeutic gases. In: The pharmacological basis of therapeutics. Ed. L.S.Goodman and A.Gilman. London-Toronto, The Macmillan Company, 1970, 908-929.
- Woodward D.J., Barry J., Hoffer, Lowell W.: Lapham - Postnatal development of electrical and enzyme histochemical activity in Purkinje cells, *Exp. Neurol.* 1969, 23, 120-139.
- Zeman W., Innes J.R.M.: Craigie's Neuroanatomy of the rat, N.York-London, Academic Press, 1963.
- Zollinger H.: Foetale Entzündung und heterotope Blutbildung. *Schweiz. Z. allg. Path. Bact.*, 1945, 8, 311-331.
- Zülch K.J.: Mangelderohblutung an der Grenzzone zweier Gefäßgebiete als Ursache bisher ungeklärter Rückenmarkschädigungen. *Dt. Z. Nerv Heilk.*, 1954, 172, 81-101.
- Zülch K.J., Behrend R.Ch.: The pathogenesis and topography of anoxia, hypoxia and ischemia of the brain in man. In: Cerebral anoxia and electroencephalogram. Ed. H.Gastant, J.S.Meyer, Ch.C.Thomas, Springfield Ill., 1961, 144-163.
- Zülch K.J.: On circulatory disturbances in bårdeline - zones of cerebral and spinal vessels. *Proceedings of the II Inter. Congress of Neurology. Excerpta Med. Abstracts*, London 1955, 8, 894-895.
- Žuravlev A.I.: Problemy bioluminescencji. *Ž. Obšv. Biol.*, 1965, 26, 129-137.



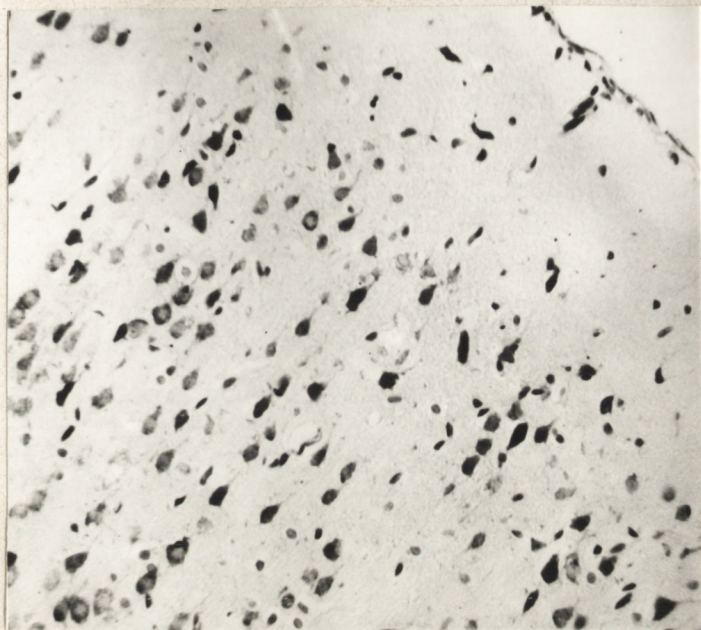
Ryc. 4.

Prawidłowe utkanie komórkowe  
kory mózgu w 9 dniu życia.  
Fiolet krezyłu. Pow. 100 x.



Ryc. 5.

Prawidłowa budowa kory -  
układ komórek nerwowych  
w II i III warstwie w  
9 dniu życia.  
Fiolet krezyłu. Pow. 200 x.



Ryc. 6.

Pola przerzedzeń komórkowych  
w II i III warstwie kory.  
Rozsiane uszkodzenia komórkowe.  
9 dzień życia. Asfiksja met. I.  
Fiolet krezyłu. Pow. 200 x.



Ryc. 7.

Miejsca przerzedzeń komórkowych  
w III warstwie kory. Uszkodzenia  
komórek nerwowych. 15 dzień  
życia. Asfiksja met. II.  
Fiolet krezyłu. Pow. 60 x.



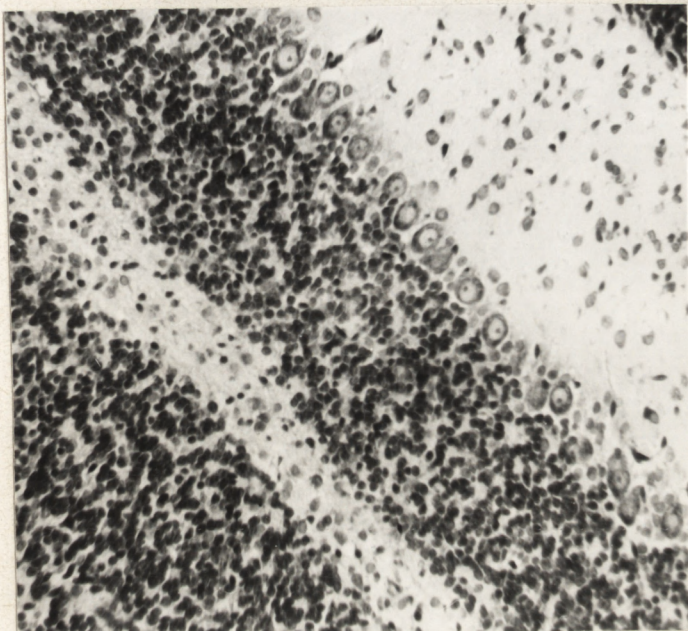
Ryc. 8.

Świeże wynaczynienia krwi do kory amonalnej na pograniczu pola  $H_1$  i  $H_2$ . 7 dzień życia. Asfiksja met. II. Fiolet krezyłu. Pow. 100 x.



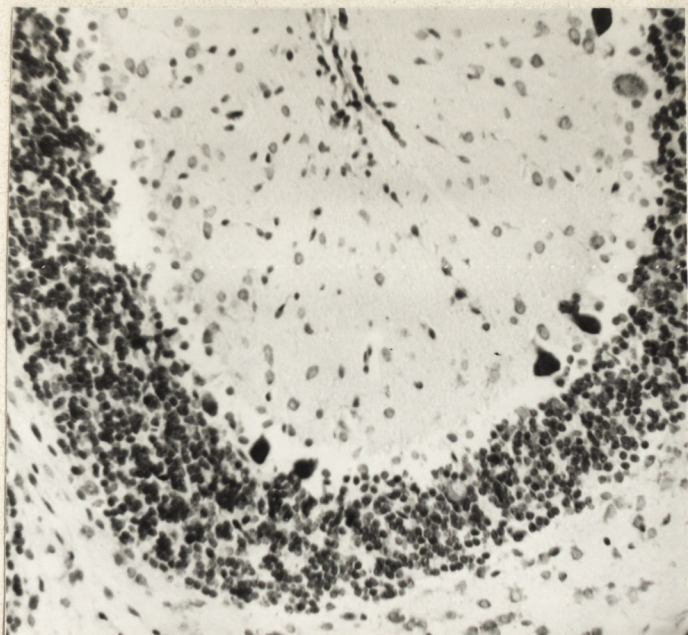
Ryc. 9.

Przerzedzenie komórkowe w korze amonalnej na pograniczu  $H_1$  i subiculum. 15 dzień życia. Asfiksja met. I. Fiolet krezyłu. Pow. 100 x.



Ryc. 10.

Prawidłowe utkanie komórkowe  
kory mózdzku w 15 dniu życia.  
Fiolet krezyłu. Pow. 200 x.



Ryc. 11.

Przerzedzenie komórek Purkinjego,  
pozostałe ciemne, obkurczone.  
15 dzień życia. Asfiksja met.I.  
Fiolet krezyłu. Pow. 200 x.

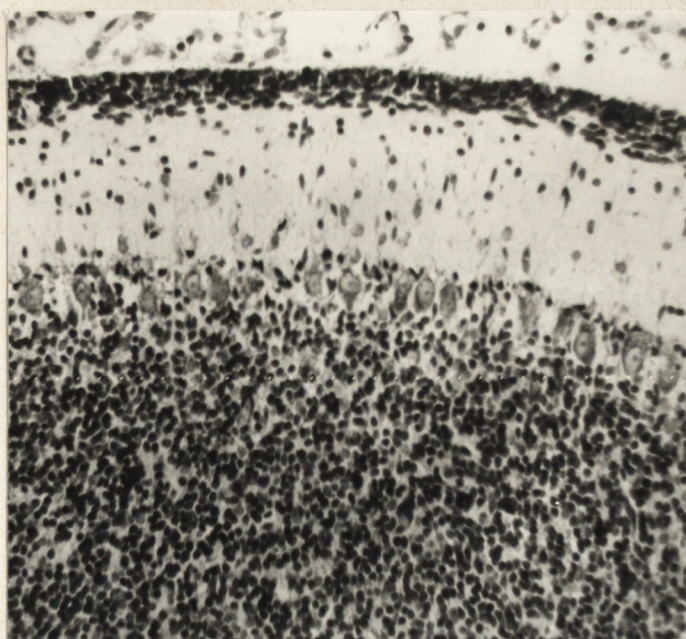




Ryc. 12.

Prawidłowy obraz warstwy  
Obersteiner'a w korze mózdzku.  
20 dzień życia.

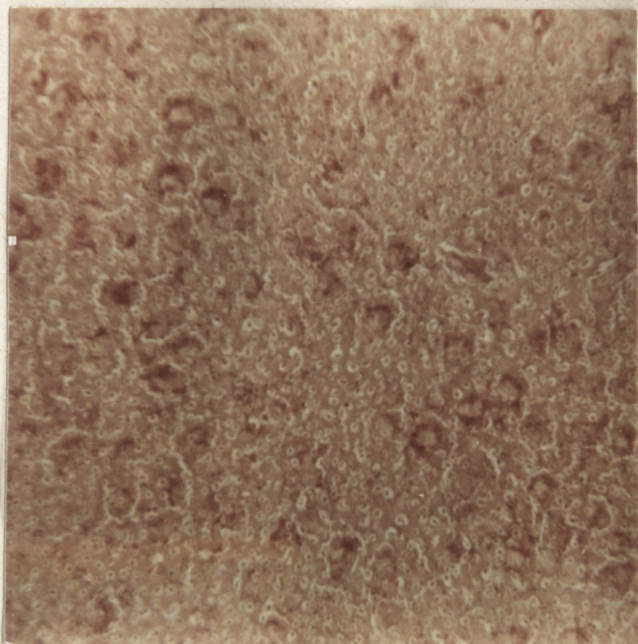
Fiolet krezyłu. Pow. 200 x



Ryc. 13.

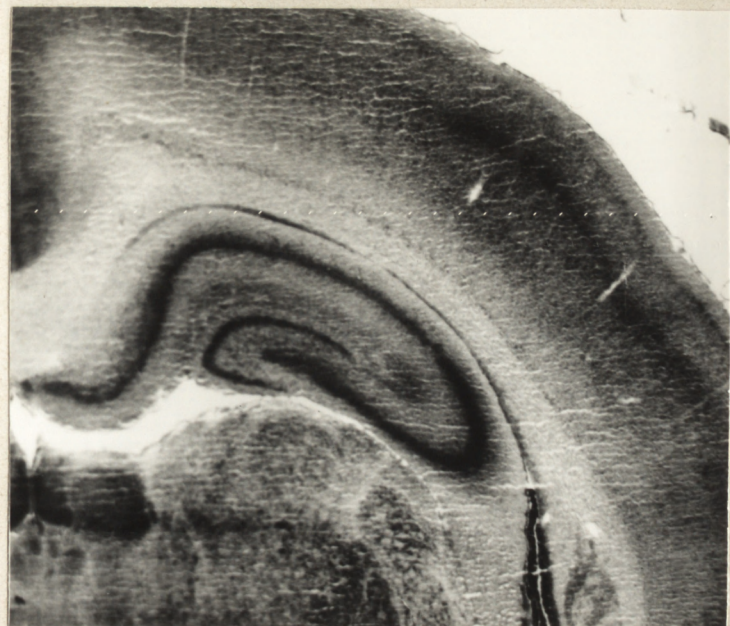
Przetwala warstwa Obersteiner'a  
w korze mózdzku w 20 dniu życia.  
Asfiksja met. II.

Fiolet krezyłu. Pow. 200 x.



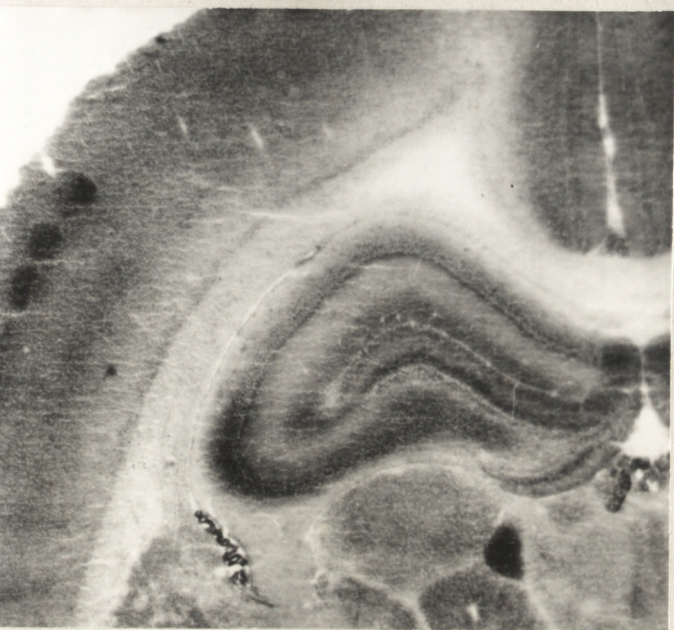
Ryc. 14.

Słaba aktywność fosfatazy  
kwaśnej (AcP) w sąsiedztwie  
pól przerzedzeń w warstwie III  
kory mózgu. 15 dzień życia.  
Asfiksja met. II.  
Pow. 200 x.



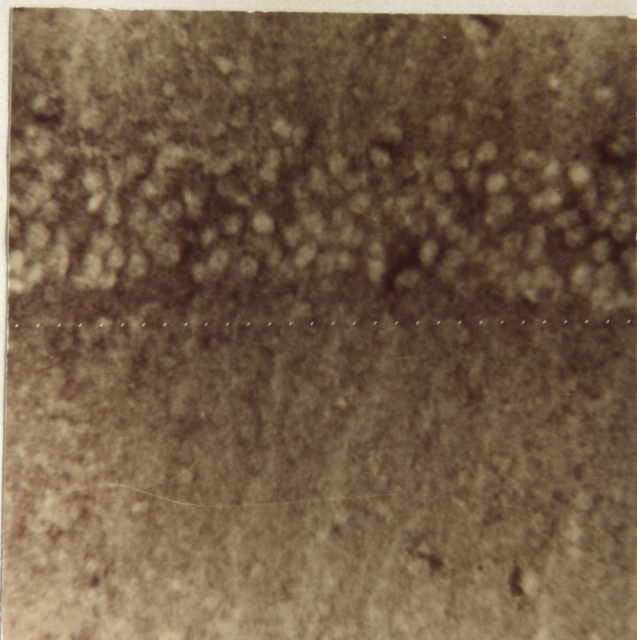
Ryc. 15.

Prawidłowe rozmieszczenie  
aktywności dehydrogenazy  
bursztynianowej (SDH) w  
poszczególnych polach kory  
amonalnej (H<sub>1</sub> - H<sub>3</sub>).  
15 dzień życia.  
Pow. lupowe.



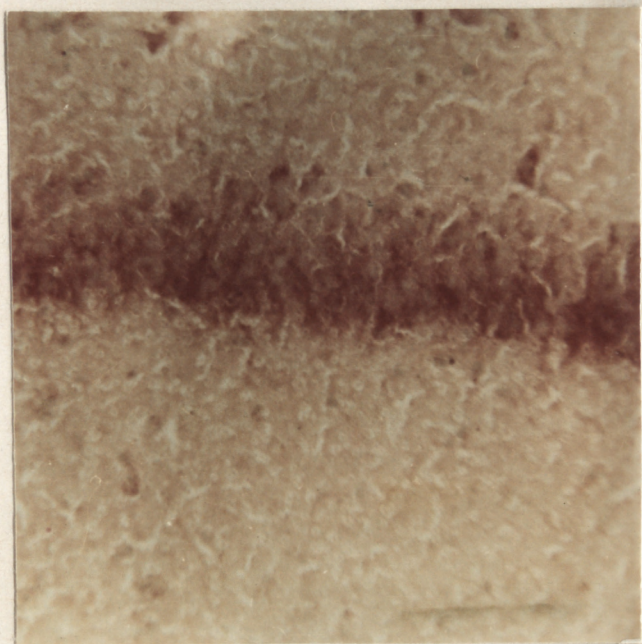
Ryc. 16.

Niska aktywność dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) w polu H<sub>1</sub> kory amonalnej. 15 dzień życia. Asfiksja met. II. Pow. lupowe.



Ryc. 17.

Fragment pola H<sub>1</sub> kory amonalnej - niska aktywność dehydrogenazy bursztynianowej (SDH). 15 dzień życia. Asfiksja met. II. Pow. 200 x.



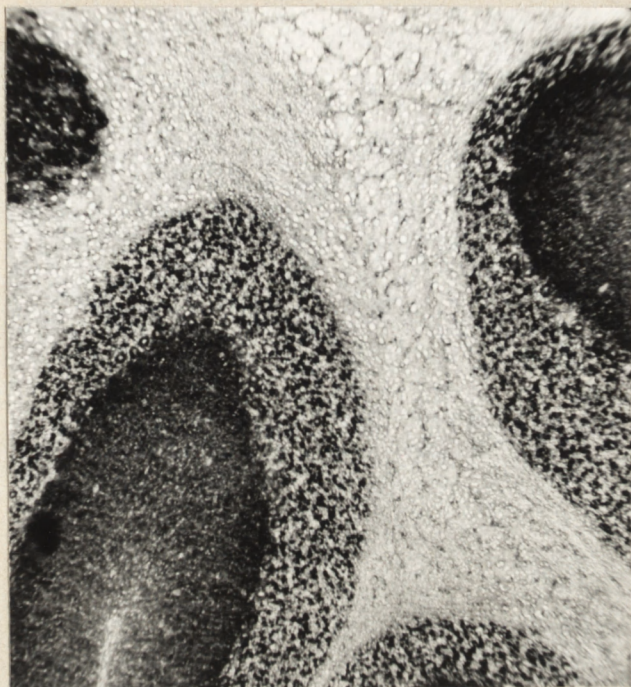
Ryc. 18.

Prawidłowa aktywność fosfatazy  
kwaśnej (AcP) w polu  $H_1$  kory  
adrenalnej. 15 dzień życia.  
Pow. 200 x.



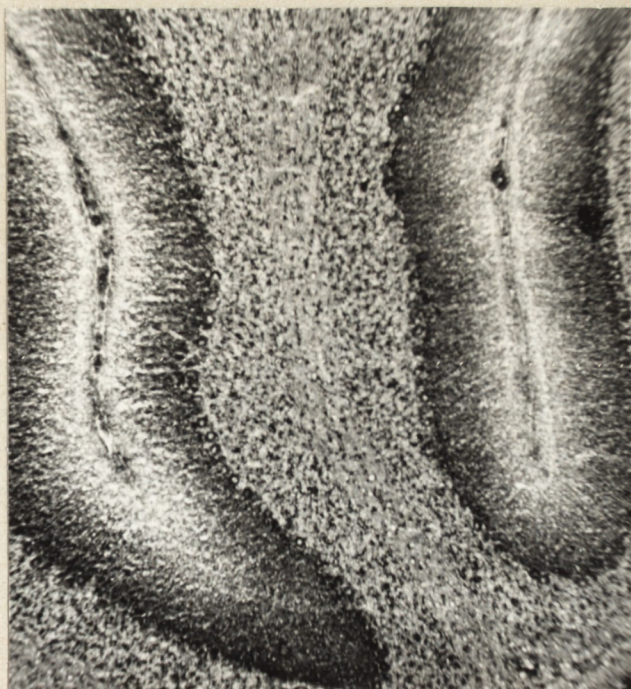
Ryc. 19.

Słaba aktywność fosfatazy  
kwaśnej (AcP), odczyn lekko  
dyfuzyjny w polu  $H_1$  kory  
adrenalnej. 15 dzień życia.  
Asfiksja met. I.  
Pow. 200 x.



Ryc. 20.

Prawidłowa aktywność dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) w korze mózdzku. Cała warstwa molekularna wykazuje aktywność tego enzymu. 20 dzień życia. Pow. 60 x.



Ryc. 21.

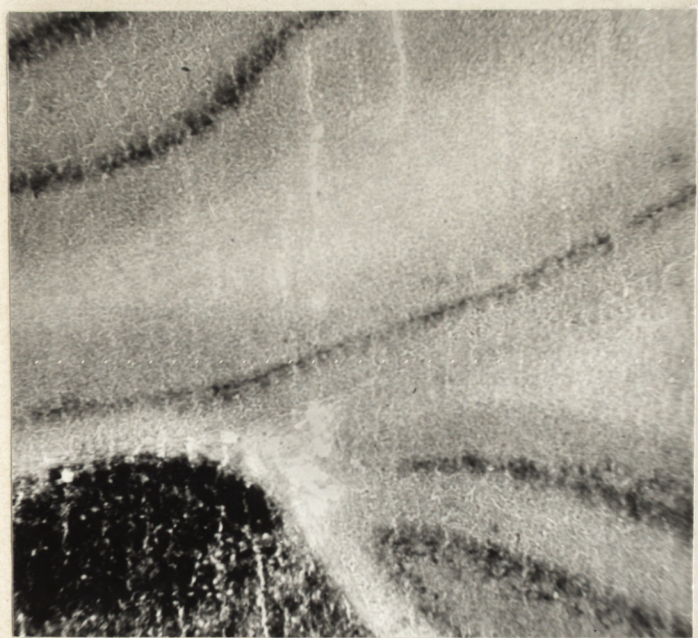
Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) obecna tylko w 2/3 szerokości warstwy molekularnej kory mózdzku. 20 dzień życia. Asfiksja met.I. Pow. 60 x.



Ryc. 22.

Prawidłowa aktywność oksydazy cytochromowej (CYO) w korze mózdzku. 9 dzień życia.

Pow. 60 x.

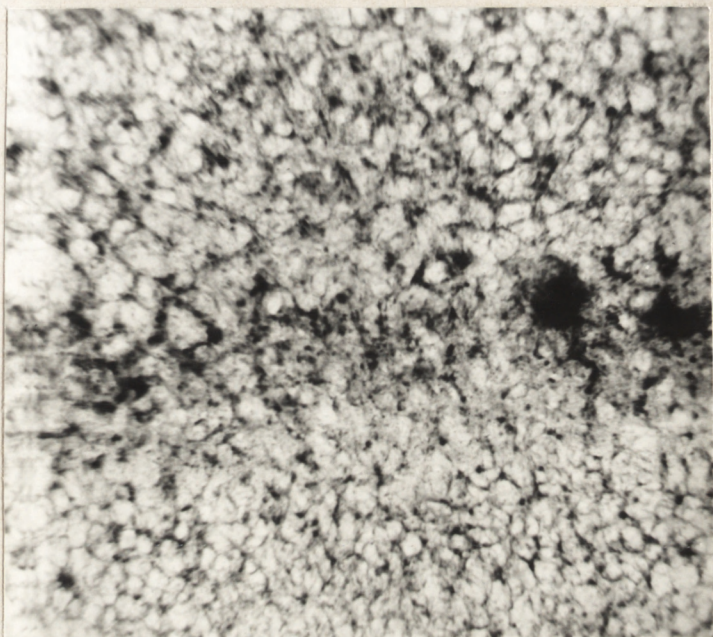


Ryc. 23.

Niska aktywność oksydazy cytochromowej (CYO) w korze mózdzku. 9 dzień życia.

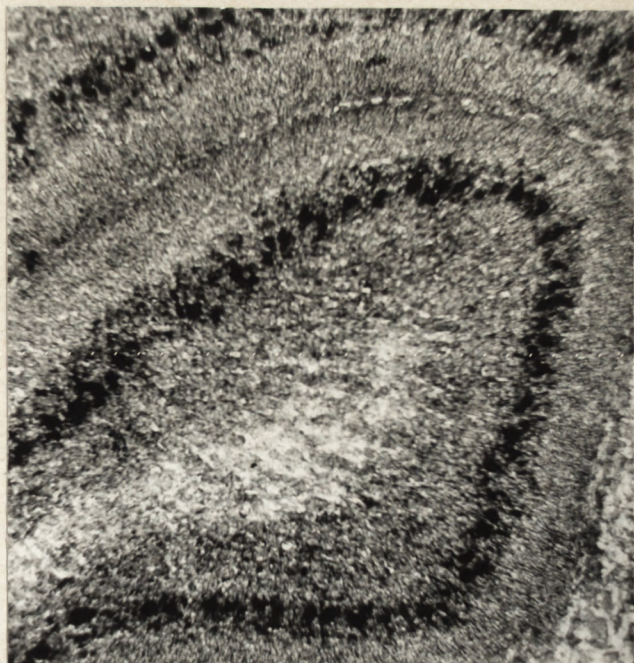
Asfiksja met.II.

Pow. 60 x.



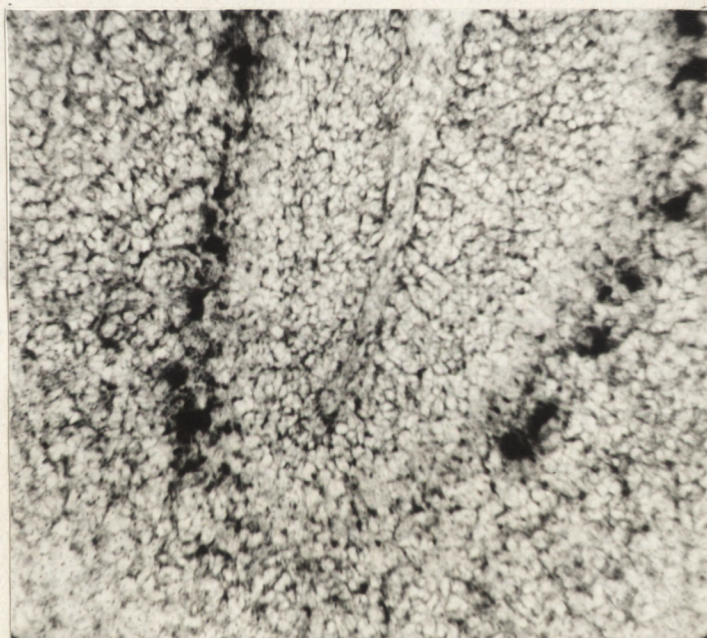
Ryc. 24.

Wypadanie aktywności (SDH)  
w uszkodzonych komórkach  
Purkinjego. 7 dzień życia.  
Asfiksja met. I.  
Pow. 400 x.



Ryc. 25.

Prawidłowa aktywność dehydro-  
genazy mleczanowej (LDH) w  
korze mózdzku. 7 dzień życia.  
Pow. 200 x.



Ryc. 26.

Zanik aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w miejscu wypadnięcia komórek Purkinjego. 7 dzień życia. Asfiksja met. II. Pow. 200 x.