

JAN KORTHALS, MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI, M. ŚMIAŁEK

OBRAZ HISTOLOGICZNY I ULTRASTRUKTURALNY
OSTREJ DOŚWIADCZALNEJ ENCEFALOPATII
TLENKOWĘGLOWEJ *Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Kierownik: prof. dr M. J. Mossakowski

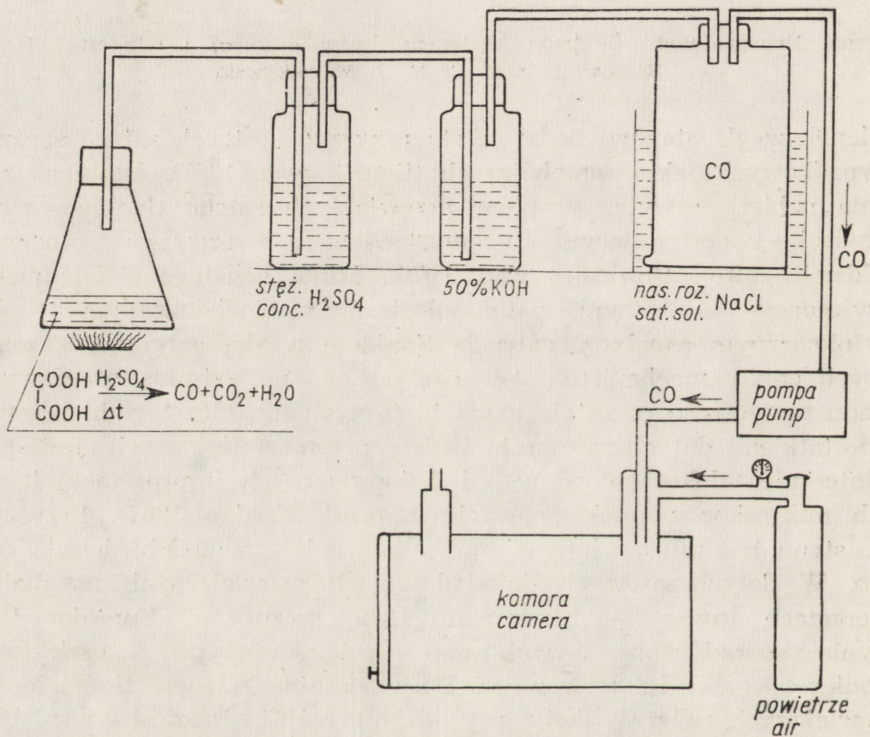
Tlenek węgla stanowi nadal częstą przyczynę ostrych zatruc zarówno przypadkowych jak i samobójczych (Bour i wsp. 1967). Istotnego znaczenia nabiera również problem przewlekłych zatruc tlenkiem węgla w związku z postępującym uprzemysłowieniem i rozwojem motoryzacji (Goldsmith 1970, Preziosi i wsp. 1970). Mimo bogatego piśmiennictwa poświęconego klinicznemu, patofizjologicznemu, biochemicznemu i patomorfologicznemu aspektom zatrucia tlenkiem węgla, cały szereg zasadniczych ogniw mechanizmu patogenetycznego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego pozostaje nadal niejasnych lub nieznanymi. Istotnym niedostatkami dotychczasowych badań patomorfologicznych jest brak dostatecznie udokumentowanych i jednoznacznych interpretacyjnie danych mikroskopowo-elektronowych (Lapresl, Fardau 1967). Przyczyną tego stanu jest między innymi brak odpowiedniego modelu doświadczalnego. W dotychczasowych doświadczeniach prowadzonych na małych zwierzętach (myszy — Strassmann 1949, szczury — Lumsden 1950) jedynie sporadycznie wywoływano drobne nietypowe uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego. Doświadczalne zatrucenie tlenkiem węgla większych zwierząt (koty, psy — Meyer 1928, Preziosi i wsp. 1970) prowadziło wprawdzie w części przypadków do powstawania charakterystycznych dla encefalopatii tlenkowęgłowej zmian w strukturach szarych i w istocie białej mózgu, jednakże ze względu na ich nieregularne występowanie oraz niestałą lokalizację i związane z tym trudności pobrania odpowiednich wycinków tkankowych, nie można było przeprowadzić na tych modelach doświadczalnych systematycznych badań mikroskopowo-elektronowych.

* Praca częściowo subsydiowana z umowy polsko-amerykańskiej PL 480, Grant Public Health Service USA, Agreement 05-004-1.

Celem niniejszej pracy było uzyskanie powtarzalnego modelu doświadczalnej encefalopatii tlenkowęgłowej i przedstawienie jego ogólnej charakterystyki histologicznej i mikroskopowo-elektronowej.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono na szczurach białych rasy Wistar, obu płci. Zwierzęta doświadczalne umieszczano w 60-litrowej komorze, przez którą przepuszczano mieszaninę powietrza i tlenku węgla. Tlenek węgla otrzymywano z rozkładu kwasu szczawowego, w sposób przedstawiony na schemacie 1.



Schemat 1. Generacja tlenku węgla oraz układ modelu doświadczalnego.

Diagram 1. Carbon monoxide generation and the system of the experimental model.

W poszukiwaniu modelu doświadczalnego badania przeprowadzono w 5 grupach, przedstawionych w tabeli 1, różniących się między sobą czasem zatrucia i jego stopniem, wyrażającym się procentową zawartością hemoglobiny tlenkowęgłowej we krwi zwierząt i ich stanem klinicznym. Stopień zatrucia regulowano za pomocą zmiany zawartości tlenku węgla w mieszaninie gazowej przepuszczanej przez komorę.

Tabela 1. Grupy doświadczalne — charakterystyka ogólna

Table 1. Experimental groups — general characteristics

Grupa doświadcz. Experim. group	Zawartość CO w powietrzu CO content in air	Czas zatrutowania Intoxication time	Stopień zatrucia Intoxication time		Czas przeżycia po zatruciu Survival time following intoxication	Zmiany morfologiczne (liczba zwierząt) Morphological changes (number of animals)
			Zawartość HbCO we krwi HbCO content in blood	Czas trwania śpiączki Duration of comatous state		
I	1%	15—30 min	25—65%	0	0 i 14 dni 0 and 14 days	0*/16**
II	0,1%	24 godz. hrs	25%	—	„	0/14
III	0,25%	24 godz. hrs	50%	—	„	1/4
IV	1% zmniejszająca się 1%decreasing	1,5 godz. hr	65—80%	15 min	2—120 godz. hrs	0/16
V						
1-razowe zatrucie single intoxication						8/29
3-krotne zatrucie 3-time intoxication	1% zmniejszająca się	1,5 godz. hr	65—80%	40 min	24 i 120 godz. 24 and 120 hrs	6/9
7-krotne zatrucie 7-time intoxication	1%decreasing					6/6

*) Liczba zwierząt z uszkodzeniami mózgu
Number of animals with brain lesions

**) Liczba zwierząt badanych
Number of examined animals

Zwierzęta grupy I przetrzymywano w mieszaninie gazowej zawierającej 1% tlenu węgla; były one usuwane z komory po upływie 15–30 min., przy wystąpieniu pierwszych objawów śpiączki, zwykle po osiągnięciu poziomu 65% HbCO we krwi.

Zwierzęta grupy II i III zatrutowano przy użyciu mieszaniny gazowej o stałej zawartości CO, wynoszącej odpowiednio 0,1 i 0,25% przez okres 24 godzin. Poziom HbCO we krwi osiągał przy tym maksymalne wartości 25% i 50%.

Zwierzęta grupy IV i V zatrutowano w mieszaninie gazowej, zawierającej początkowo 1% tlenu węgla. Po wystąpieniu pierwszych objawów śpiączki pojawiającej się zazwyczaj przy 65% zawartości HbCO we krwi, stężenie w mieszaninie gazowej zmniejszono i następnie regulowano w sposób umożliwiający przeżycie zwierząt w stanie śpiączki przez okres 15 min. (grupa IV) i 40 min. (grupa V). Następnie dopływ gazu zamknięto, zostawiając nadal przepływ powietrza, co prowadziło do zmniejszenia stężenia CO w mieszaninie gazowej. W mieszaninie o zmniejszającym się stężeniu czadu przetrzymywano zwierzęta do pełnych 90 min. od początku doświadczenia. W tym czasie poziom HbCO we krwi wynosił u większości zwierząt około 50%. Zwierzęta grupy V poddawano jedno-, trzy- i siedmiokrotnemu zatruciu w odstępach 24-godzinnych.

Poziom karboksyhemoglobiny we krwi określono u większości (62) zwierząt z różnym stopniem zatrucia wg metody Witeheada i Worthingtona (1961). Ponieważ określono stężeniu hemoglobiny tlenkowej we krwi odpowiadał charakterystyczny zespół kliniczny, u części zwierząt w ocenie stopnia zatrucia kierowano się obrazem klinicznym. Badano zwierzęta w wieku 3 miesięcy, z wyjątkiem grupy IV, którą stanowiły szczury 6-tygodniowe.

W grupie I i II badania ograniczono do histologicznej i histochemicznej oceny mózgu zwierząt. W grupie III, IV i V przeprowadzono pełny cykl badań, obejmujący ocenę histologiczną, histochemiczną (oznaczanie glikogenu) i mikroskopowo-elektronową.

Badania histologiczne i histochemiczne przeprowadzono na mózgach 5 zwierząt kontrolnych i 94 doświadczalnych, uśmiercanych w uspieniu eterowym poprzez dosercową perfuzję 10% roztworem formaliny w 0,9% chlorku sodu, przygotowanym wg sposobu Cammermeyera (1961) lub 4% roztworem aldehydu glutarowego w buforze fosforanowym Milloniga o pH 7,3, stosowanym w przypadku, jeśli mózgi zwierząt przeznaczone były równocześnie do badań mikroskopowo-elektronowych. Perfuzję wykonywano przez 30 min. przy ciśnieniu początkowym 110 mm Hg. W dwie godziny po zakończeniu perfuzji wyjmowano mózgi z jamy czaszki, dzielono je na bloki w płaszczyznach czołowych, na wysokości skrzyżowania nerwów wzrokowych i środkowej części wzgórza

oraz przez mózdzek z pniem mózgu. Bloki tkanki rutynowo przeprowadzano do parafiny, skrawano na mikrotomie na skrawki grubości 10 μ . Skrawki barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem kręzylu i wg metody Heidenhaina na osłonki mielinowe. Glikogen oznaczano w skrawkach przy pomocy odczynu PAS, z równoczesnym blokowaniem dimedonem wg Bulmera (1959). Swoistość reakcji kontrolowano przez trawienie diastazą.

Do badań mikroskopowo-elektronowych użyto 4 szczury kontrolne i po 2 szczury z grupy III i IV oraz 18 szczurów z grupy V (po 6 z każdej podgrupy). Pobierano wycinki tkanki z kory okolicy ciemniowej i ośrodków półowalnych obu półkul mózgu, z rogu Amona i z płata spoidła wielkiego. Wycinki tkanki utrwalono dodatkowo w 1% roztworze czterotlenku osmu przez 1 godzinę, odwadniano w etanolu o wzrastającym stężeniu i zatapiano w Eponie 812. Materiał skrawano na ultramikrotomie f-my Reichert. Półcienkie skrawki o grubości 1 μ barwiono błękitem toluidyny i oglądano w mikroskopie świetlnym. Ultracienkie skrawki kontrastowano octanem uranylu i cytrynianem ołowiu i oglądano w mikroskopie elektronowym JEM-7A.

WYNIKI

Obserwacje kliniczne

Obraz kliniczny szczurów zmieniał się w zależności od poziomu hemoglobiny tlenkowej we krwi. Przy 25% HbCo poza obniżoną ruchliwością szczury nie wykazywały odchyień od stanu prawidłowego. Zmniejszenie ruchliwości pogłębiało się i pojawiały się zaburzenia statyki zwierząt przy poziomie około 50% hemoglobiny tlenkowej. Przy przekroczeniu 65% HbCO zwierzęta stawały się zupełnie wiotkie, zanikały odruchy, częstość oddechów spadała do 40/min. W miarę dalszego wzrostu HbCO liczba oddechów spadała do 20—40/min. Przy zawartości 80% HbCO we krwi zwierzęta padały.

Po wyjęciu z komory wszystkie szczury z grupy I i IV oraz część z grupy V przybierały prawidłową postawę i zwykłą ruchliwość po 5—10 min. Tylko u części zwierząt z grupy V przez kilka godzin po zatruciu obserwowano zmniejszenie ruchliwości, zaburzenia statyki i drżenia.

Obserwacje morfologiczne

Grupa kontrolna. W barwieniach przeglądowych i w badaniu mikroskopowo-elektronowym stwierdzono cechy dobrego utrwalenia tkanki nerwowej. W barwieniu PAS-dimedon skąpe ziarniste złoży

glikogenu występowały jedynie w splocie naczyńiówkowym, komórkach wyściółki komór, w warstwie podwyściółkowej i podoponowej oraz przy pojedynczych naczyniach warstwy drobinowej kory mózgu. Obecne były również w warstwie zwojowej kory mózdzku, gromadząc się wokół jąder astrogleju i dokoła komórek Purkinjego, oraz w neuropilu szarych struktur pnia mózgu, szczególnie w pobliżu komory IV i w jądrze brzuszonym nerwu VIII. Znaczne złogi glikogenu występowały w komórkach śródmózgowego jądra nerwu V.

Grupa I—III. U zwierząt grupy I i II nie stwierdzono histologicznych uszkodzeń mózgu. W grupie III, u dwu szczurów uspijonych bezpośrednio po wyjęciu z komory doświadczalnej w obrazie mikroskopowo-elektronowym było widoczne obrzmienie mitochondriów w niektórych komórkach nerwowych i oligodendrocytach. Ponadto u jednego z nich w mikroskopie świetlnym stwierdzono zmiany tigrolityczne w części komórek piramidowych odcinka h_2 rogu Amona.

Grupa IV. U szczurów tej grupy obraz histologiczny mózgu nie odbiegał w zasadzie od normy, natomiast zarówno w mikroskopie świetlnym jak i elektronowym stwierdzono wybitne zwiększenie złogów glikogenowych. Występowały one szczególnie obficie w rogu Amona (ryc. 8), w korze mózgu, prążkowie (ryc. 9), w warstwie komórek Purkinjego kory mózdzku oraz w szarych strukturach pnia. Najobfitsze złogi glikogenowe występowały w okresie od 4—12 godz. po zatruciu. W półkulach mózgu już po 24 godzinach spostrzegano jedynie nieznaczne złogi, a w późniejszych okresach ich obraz histochemiczny nie odbiegał od spostrzeganego w materiale kontrolnym. W pniu mózgu i w mózdzku spadek zawartości glikogenu był wyraźnie wolniejszy, a jego nieprawidłowe złogi można było spotkać jeszcze w 5 dni po zatruciu. Szczegółowy opis obrazu histochemicznego i mikroskopowo-elektronowego wraz z wynikami badań biochemicznych tej grupy zwierząt przedstawiono w pracy Śmiałka i wsp. (1973).

Grupa V. Przedmiotem szerokiej analizy morfologicznej były zwierzęta grupy V. Nieodwracalne uszkodzenia tkankowe stwierdzono u około 1/4 zwierząt z jednorazowym zatruciem, u 2/3 z trzykrotnym i u wszystkich z zatruciem siedmiokrotnym. Na łączną liczbę 20 szczurów, u których stwierdzono nieodwracalne zmiany w mózgu, u 15 było widoczne uszkodzenie kory zawoju hipokampa (tabela 2). Najczęściej zmiany występowały w jego części czołowej, położonej nad wzgórzem a tu przede wszystkim w odcinku h_2 i w płycie końcowej h_{4-5} rogu Amona (ryc. 1). W żadnym przypadku nie stwierdzono zmian w *fascia dentata*. Rzadziej niż w hipokampie występowały zmiany w *neocortex*, głównie w dolnych i górnych warstwach kory (ryc. 3) i w prążkowie

(ryc. 4). Dwóm przypadkom nieznacznego uszkodzenia galki bladej towarzyszyły zmiany w prążkowie i w innych strukturach. Najczęściej bowiem stwierdzano równoczesne uszkodzenie kilku struktur. W pojedynczych przypadkach, w których zmiany były ograniczone wybiórczo do jednej struktury, dotyczyły one bądź rogu Amona, bądź też istoty białej.

Zmiany spostrzegane w formacjach szarych miały charakter zwyrodnień neuronalnych o typie schorzenia ischemicznego, przewlekłego, lub ciężkiego, bądź też zaniku komórek nerwowych o cechach tzw. martwicy selektywnej. W pojedynczych tylko przypadkach towarzyszyło im rozrzedzenie utkania podłoża. Zmianom neuronalnym towarzyszył zazwyczaj wyraźny odczyn astrocytarno-mikroglejowy, szczególnie wyraźny u zwierząt, które usypiano po 5 dniach od zatrucia (ryc. 2, 4). U szczurów z 3- i 7-krotnym zatruciem obok wczesnych bezodczynowych ognisk martwicy selektywnej, występowały uszkodzenia z towarzyszącym odczynem glejowym.

W istocie białej uszkodzeniu ulegał najczęściej płat spoidła wielkiego mózgu i ośrodki półowalne w okolicy ciemieniowej (ryc. 5). Przy bardziej nasilonych uszkodzeniach rozległa demielinizacja obejmowała prawie całą istotę białą okolic ciemieniowych i potylicznych, a ponadto drobne ogniska demielinizacyjne występowały w strzępku hipokampa, drogach wzrokowych (ryc. 5) i w istocie białej mózdzku. Wokół naczyń stwierdzano zwykle zachowaną strukturę istoty białej (ryc. 7). Czasami spotykano obraz plackowatej demielinizacji (ryc. 6). Uszkodzenie istoty białej często łączyło się z obecnymi w niej cechami obrzęku, jednakże spotykano również liczne obszary demielinizacji bez znamion obrzęku. W przypadkach z 5-dniowym przeżyciem spostrzegano objawy rozplemu oligodendrogleju.

U zwierząt z jedno- i trzykrotnym zatruciem, u których w barwieniach przeglądowych nie stwierdzono uszkodzeń tkankowych w mózgu, obraz histochemiczny mózgu przedstawiał się jak u szczurów w grupie IV w odpowiednich okresach czasu tj. w 24 godziny i w 5 dni po zatruciu. U zwierząt wszystkich podgrup, w których mózgowiach stwierdzono nieodwracalne uszkodzenia tkankowe, po upływie 24 godzin od ostatniego zatrucia występowały również obfite złogi glikogenowe. Gromadziły się one wyłącznie w strukturach szarych nie objętych procesem martwicy i miały charakter ziarnistości luźno rozsianych w neuropilu, zagęszczających się dookoła naczyń, jąder astrogleju, rzadziej na zewnątrz komórek nerwowych. Niekiedy wypełniały ciało i wypustki astrocytów. Szczególnie obfite złogi glikogenu gromadziły się w sąsiedztwie struktur wykazujących zmiany o charakterze martwicy niepełnej,

i tak np. przy zaniku neuronów w polu h_2 rogu Amona, obfite ziarnistości wielocukru występowały w pozostałych jego odcinkach, a niekiedy również i w warstwie drobinowej *fascia dentata* (ryc. 13). Nierzadko między ogniskami martwicy, a obszarem z widocznymi złogami glikogenowymi stwierdzano przejściowy pas tkanki, który w obrazie histochemicznym charakteryzował się brakiem ziarnistości glikogenu, a w obrazie histologicznym tigralitycznymi zmianami neuronów.

W mózdku, który poza dwoma przypadkami, nie wykazywał nieodwracalnych zmian tkankowych, złogi glikogenu znajdowano głównie w warstwie zwojowej kory (ryc. 10), rzadziej w warstwie drobinowej i w jądrach głębokich. W pojedynczych przypadkach, zwłaszcza po kilkakrotnym zatruciu, ziarnistości wielocukru gromadziły się również w perikariach komórek Purkinjego (ryc. 11). W pniu mózgu obfite złogi glikogenu stwierdzano w tych strukturach, w których występowały one u zwierząt kontrolnych, z tym jednak że u szczurów doświadczalnych były one znacznie obfitsze. Były one również widoczne w pojedynczych neuronach jąder nerwów czaszkowych (ryc. 12).

W 5 dniu po ostatnim zatruciu złogi glikogenu w półkulach mózgu występowały jedynie w otoczeniu ognisk martwicy. Utrzymywały się one nadal w strukturach pnia mózgu, z tym jednak, że były znacznie mniej obfite niż w 24 godziny po zatruciu.

W obrazie mikroskopowo-elektronowym formacji szarych półkul mózgu, w 24 godziny po jednokrotnym lub kilkakrotnym zatruciu można

Tabelv 2. Topografia uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego

Table 2. Topography of the central nervous system lesions

Struktura Structure	Liczba zwierząt Number of animals
Róg Amona Ammon's horn	15
Istota biała mózgu Cerebral white matter	11
Kora mózgu Cerebral cortex	8
Prążkowie Striatum	7
Gałka błada Pallidum	2
Móździek Cerebellum	2
Wzgórze Thalamus	1

było wyróżnić trzy stopnie uszkodzenia tkanki nerwowej. Najłżejsze zmiany charakteryzowały się jedynie obecnością obfitych ziaren glikogenowych w cytoplazmie astrocytów głównie w ich wypustkach przynaczyniowych. Przy bardziej zaawansowanym uszkodzeniu tkanki nerwowej były widoczne zmiany w komórkach nerwowych, wykazujące zwykle znaczną rozpiętość nasilenia: od obrzęku pojedynczych mitochondriów w części perikarialnej lub wypustkach neuronu (ryc. 14) do obrzmienia wszystkich mitochondriów, występującego łącznie z zagęszczeniem cytoplazmy i obrzmieniem siatki śródplazmatycznej (ryc. 15). Zmianom w neuronach towarzyszyło zwykle zwiększenie ilości ziaren glikogenu w otaczających je astrocytach.

W najcięższym stopniu uszkodzenia stwierdzano zmiany martwicze komórek nerwowych, cechujące się całkowitą destrukcją ich cytoplazmy (ryc. 19). Zmianom tym towarzyszyło niekiedy rozluźnienie otaczających je struktur. W obszarach tych również nie stwierdzano ziarnistości glikogenu ani w perikariach, ani w wypustkach astrocytów. W otoczeniu martwiczo zmienionych neuronów spotykano różne formy zwyrodniałych wypustek nerwowych, charakteryzujących się najczęściej zagęszczeniem ich cytoplazmy (ryc. 16). W części wypustek stwierdzano zagęszczenie mitochondriów i ciał gęstych (ryc. 17).. Niekiedy wypustki wypełnione były licznymi rozgałęzionymi tworami tubularnymi (ryc. 18).

Najcięższe zmiany mikroskopowo-elektronowe przeważały w mózgach zwierząt kilkakrotnie zatrutowanych, jakkolwiek występowały one również u zwierząt z jednokrotnym zatruciem.

W 5 dni po ostatnim zatruciu do zmian opisanych powyżej dołączało się występowanie komórek o ultrastrukturalnych cechach makrofagów oraz licznych postaci gleju odczynowego, zwłaszcza astrocytów włókienkowych, przy czym nieprawidłowe ziarnistości glikogenu występowały zarówno w astrocytach protoplazmatycznych jak i włókienkowych (ryc. 19, 20). W obu postaciach astrogleju występowały również liczne ciała lipidowe.

W obrazie mikroskopowo-elektronowym istoty białej u części zwierząt spotykano znaczne poszerzenie przestrzeni międzykomórkowych (ryc. 21, 22). Widoczne było również obrzmienie cytoplazmy astrocytów (ryc. 22) przy prawie niezmienionej strukturze mitochondriów, podczas gdy mitochondria gleju skąpowypustkowego, wykazywały znacznego stopnia obrzmienie (ryc. 22), a w niektórych uszkodzonych mitochondriach spostrzegano struktury mielinopodobne. W wypustkach nerwowych również było widoczne obrzmienie pojedynczych mitochondriów (ryc. 23) lub zwiększenie ich liczby i ciałek gęstych. W części wypustek stwierdzano zagęszczenie cytoplazmy aksonu (ryc. 24), względnie ziarnisty rozpad

włókierek i tubuli. Przy bardziej nasilonych zmianach w aksonie dochodziło również do uszkodzenia osłonek mielinowych (ryc. 24). Często jednak stwierdzano uszkodzenie osłonki mielinowej przy nieznacznych jedynie zmianach wypustek osiowych. Spostrzegano poszerzenie odległości między blaszkami mielinowymi, rozszczepienie blaszek mielinowych lub przerwanie ich ciągłości (ryc. 25, 26, 27). Resztki osłonek mielinowych zupełnie zdeorganizowanych, względnie z zachowanym jeszcze okresowym układem blaszek znajdowano zarówno w przestrzeni międzykomórkowej jak i w makrofagach. Niekiedy w cytoplazmie makrofagów były widoczne struktury mielinopodobne, wykazujące mniejszą gęstość elektronową niż normalne osłonki mielinowe (ryc. 28).

Często spostrzegano również obrazy rozbudowanej znacznie zewnętrznej wypustki cytoplazmatycznej osłonki mielinowej, zawierającej liczne organelle w postaci tubul, mitochondriów lub pęcherzyków (ryc. 30, 32). Niekiedy przerośnięta wypustka otaczała całkowicie osłonkę mielinową o znacznej gęstości (ryc. 32). Czasami stwierdzano bezpośrednią łączność między ostatnią blaszką mieliny a cytoplazmą oligodendrocytu (ryc. 31). Spotykano również drobne aksony otoczone całkowicie przez cytoplazmę komórki skąpowypustkowej (ryc. 29). Stwierdzono ponadto, że z ciała oligodendrocytu biorą początek zarówno wypustki o normalnej gęstości cytoplazmy, jak i wypustki z cytoplazmą wykazującą niską gęstość elektronową (ryc. 33).

W mniej uszkodzonych obszarach istoty białej obserwowano pomnożenie ilości oligodendrocytów, a w niektórych przerost cytoplazmy. Proliferacja oligodendrogleju i obrazy sugerujące mielinizację wypustek osiowych były widoczne już po 24 godzinach u zwierząt z 3- i 7-krotnym zatruciem. Najwyraźniejsze były jednak u szczurów z 5-dniowym przeżyciem po doświadczeniu.

OMÓWIENIE

Przeprowadzone badania wykazały, że dla uzyskania nieodwracalnych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego o typie encefalopatii tlenkowej niezbędne jest zachowanie określonych warunków doświadczalnych, dotyczących zarówno stopnia zatrucia jak i czasu jego trwania. Strukturalne uszkodzenia tkanki nerwowej obserwowano jedynie u tych zwierząt, u których „śpiączkowy” poziom hemoglobiny tlenkowej wynoszący od 65%—80% HbCO utrzymywano przez okres 40 min. Kilkakrotne powtórzenie tego samego zatrucia w 24-godzinnych odstępach zwiększało częstość i nasilenie uszkodzeń tkankowych. Przechowywanie zwierząt w tych samych warunkach, przy skróconym do 15 min. okresie śpiączki, prowadząc do głębokich zaburzeń metabolicz-

nych (Albrecht 1973, Śmiałek i wsp. 1973, Szumańska 1973) nie wywoływało zmian morfologicznych w układzie nerwowym.

Badanie histologiczne mózgow szczerów zatrutych tlenkiem węgla wykazało typową i powtarzalną lokalizację i charakter uszkodzeń tkankowych. Najczęściej dotyczyły one rogu Amona i istoty białej, rzadziej występowały w *neocortex* i w skorupie; zmiany w gałce bladej należały do wyjątków. Stwierdzone w naszym materiale umiejscowienie uszkodzeń było podobne do opisywanego u zwierząt doświadczalnych przez innych autorów (Meyer 1928, Romanowa 1959, Preziosi i wsp. 1970). Zbliżone było również do lokalizacji zmian w przypadkach zatruc CO u ludzi (Lapresle, Fardau 1967, Brucher 1967).

Zasadnicze różnice pomiędzy wynikami poszczególnych autorów, w tym również naszymi, dotyczyły częstości występowania uszkodzeń w gałce bladej. Meyer (1928) stwierdzał często zmiany w gałce bladej u psów i kotów, natomiast nie spostrzegał ich u królików i świnek morskich, co mogło wskazywać na gatunkowe różnice w reagowaniu na zatruciu CO. Z drugiej jednak strony Preziosi i wsp. (1970) w doświadczeniach na psach nie stwierdzili w ogóle uszkodzeń gałki bladej, a w materiale doświadczalnym Romanowej (1959) obecne były wyłącznie w jednym przypadku. Wydaje się, że różnice wyników badań, prowadzonych na tym samym gatunku zwierząt przez różnych autorów, odnieść należy do odmiennych warunków doświadczalnych. Często stwierdzone uszkodzenie gałki bladej w materiale ludzkim w porównaniu z naszym materiałem doświadczalnym wydaje się być właściwością uwarunkowaną różnicami gatunkowymi, jakkolwiek należy również uwzględnić zasadnicze różnice warunków zatrucia.

Wyniki badań mikroskopowo-elektronowych naszego materiału różnią się znacznie od spostrzeżeń Miyagishi i Suwa (1969) w doświadczalnym zatruciu tlenkiem węgla szczerów. Miyagishi i Suwa (1969) stwierdzali jedynie nieznaczne uszkodzenia tkanki nerwowej. Zasadnicze różnice między spostrzeżeniami wyżej wymienionych autorów i naszymi dotyczą obrazu mikroskopowo-elektronowego formacji szarych mózgu. Wydaje się, że na odmiennosc wyników badań mogły wpłynąć różnice warunków doświadczalnych, miejsca i sposobu pobierania materiału do badań oraz techniki utrwalania. Miyagishi i Suwa (1969) przetrzymywali zwierzęta w mieszaninie o niższej zawartości tlenu węgla i doprowadzali je do stanu śpiączkowego trwającego tylko przez 15 min. Z naszych spostrzeżeń wynika, że jest to okres niewystarczający do uzyskania nieodwracalnych uszkodzeń tkanki nerwowej. Pobierany przez nich materiał do badań obejmował jedynie okolicę ciemieniową, a więc formacje *neocortex*, która jak wynika z naszych obserwacji nie stanowi miejsca najczęstszych i najcięższych uszkodzeń tkankowych. Stwierdzone w na-

szym materiale ultrastrukturalne zmiany w komórkach nerwowych, z dominującym uszkodzeniem mitochondriów odpowiadają obrazom patologicznie zmienionych neuronów opisywanych w niedotlenieniu prostym przez Hagera (1963), w niedotlenieniu z hyperkapnią przez Bakaya i Lee (1968) oraz w doświadczalnym zespole anoksyjno-ischemicznym (Brown, Brierley 1972). Przypominają one nieco również wczesne zmiany stwierdzone w przewlekłym niedotlenieniu (Yu i wsp. 1972). Podobnie zbliżone do obrazów opisanych przez powyższych autorów były zmiany dotyczące astro- i oligodendrogleju. Charakterystyczna była obecność astrocytarnych złogów glikogenu, opisywanych uprzednio w różnych typach niedotlenienia (Mossakowski i wsp. 1968, Ibrahim i wsp. 1970, Mossakowski i wsp. 1973). Złogi glikogenowe stwierdzano zarówno u zwierząt, u których nie obserwowano poza tym żadnych strukturalnych uszkodzeń w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i u tych, u których występowały różnego nasilenia zmiany tkankowe, z tym tylko, że w tym ostatnim przypadku były ograniczone do nie uszkodzonych obszarów mózgu.

Zmiany w istocie białej, polegające na uszkodzeniu osłonek mieliny współprzebiegającym ze zmianami patologicznymi we włóknach osiowych lub występującym niezależnie od nich były zbliżone do obrazów opisanych przez Miyagashi i Suwa (1969), wykazując jednak znacznie większe nasilenie. Od obrazów opisanych przez wyżej wymienionych autorów różniły się obecnością niestałego i na ogół nieuogólnionego poszerzenia przestrzeni międzykomórkowych oraz obecnością i zróżnicowaniem nieprawidłowości ultrastrukturalnych astro- i oligodendrocytów.

Zgodnie z powszechnie panującą opinią zasadniczy mechanizm szkodliwego działania tlenu węgla wiąże się z jego wysokim powinowactwem do hemoglobiny, wielokrotnie przewyższającym powinowactwo tlenu. Zastąpienie tlenu w związku z hemoglobiną przez tlenek węgla prowadzi do niedotlenienia typu hipoksyjnego. Samo jednak zjawisko hipoksji nie tłumaczy wybiórczej lokalizacji uszkodzeń mózgu. Dla jej wyjaśnienia niezbędne jest przyjęcie udziału dodatkowych czynników patogenetycznych, wśród których na plan pierwszy wysuwają się ogólnoustrojowe zaburzenia hemodynamiczne, towarzyszące zatruciu tlenkiem węgla prowadzące do zastoju i niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego. Zarówno obserwacje u ludzi jak i badania doświadczalne (Romanowa 1959, Bour i wsp. 1967, Preziosi i wsp. 1970) wskazują, że w zatruciu tlenkiem węgla dochodzi często do znacznego uszkodzenia mięśnia sercowego, zwłaszcza komory prawej. Obserwuje się spadek tętniczego ciśnienia krwi i wzrost żylnego. Według Lindenberga (1963)

i Preziosi i wsp. (1970) zaburzenia w krążeniu żylnym w mózgu sprzyjają uszkodzeniu istoty białej. Ogólnoustrojowe zaburzenia hemodynamiczne prowadzą do umiejscowienia zmian w pogranicznych strefach unaczynienia mózgu, do których należą najczęściej w naszym materiale uszkodzone okolice czołowe zawoju hipokampa (Korthals 1969), ośrodek półowalny okolicy ciemieniowej mózgu (Lindenberg 1963) i płat spoidła wielkiego (Levine 1967). Należy przy tym zwrócić uwagę na podkreślany przez Kowada i wsp. (1968) fakt, że zaburzenia niedokrwienne mózgu mogą prowadzić do zastoju naczyniowego trwającego przez dłuższy okres czasu nawet po ustaniu działania czynnika szkodliwego i unormowaniu się ogólnoustrojowego ciśnienia krwi.

Szereg autorów podkreśla rolę zakrzepów naczyniowych w patogenezie uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego w zatruciu tlenkiem węgla (Courville 1957, Pentschew 1958, Meyer 1963). W naszym materiale nie stwierdziliśmy ich obecności, co oczywiście nie wyklucza możliwości ich występowania. Przetrwający zastój żylny może bowiem sprzyjać ich powstawaniu. Stanowiłyby one jednak zjawisko wtórne w stosunku do zaburzeń hemodynamicznych. Przeciwno ich istotnej roli w patogenezie uszkodzeń tkanki nerwowej, przemawiają często obserwowane obrazy prawidłowo zachowanej struktury tkanki wokół naczyń wśród uszkodzonej istoty białej (Brucher 1967). To samo zjawisko obserwowaliśmy w naszym materiale.

Hipoksemia i zaburzenia hemodynamiczne mogą oddziaływać uszkadzająco na drodze bezpośredniej poprzez niedotlenienie i niedokrwienie tkanki, lub pośrednio poprzez jej obrzęk. Uszkodzeniom bariery krew-mózg i obrzękowi przypisywano szczególną rolę w patogenezie zmian demielinizacyjnych w istocie białej, zwłaszcza w przypadkach remisyjnej leukoencefalopatii tlenkowej (Jacob i wsp. 1958, 1962, Osetowska 1964). Nasze obserwacje na materiale doświadczalnym nie wskazują na zasadniczą rolę obrzęku w złożonym patomechanizmie uszkodzeń tkanki nerwowej w zatruciu CO. W istocie szarej stwierdziliśmy jedynie nieznaczące cechy obrzęku, a w istocie białej objawy ciężkiego uszkodzenia osłonek mielinowych występowały w obszarach nie wykazujących całkowicie zmian obrzękowych. Badania mikroskopowo-elektronowe Hirano i wsp. (1968) i Lamperta (1968) wykazały, że w przypadkach obrzęku mózgu z gromadzeniem się płynu w przestrzeniach międzykomórkowych, nie stwierdza się zasadniczych zmian w strukturze osłonek mielinowych. Podobnie Adams (1965) w oparciu o zróżnicowanie odczynów histochemicznych w przypadkach obrzęku mózgu i w demielinizacji skłonny jest nie przypisywać obrzękowi istotnej roli w rozwoju demielinizacyjnych uszkodzeń istoty białej.

Zdaniem Schwedenberga (1959) i szeregu innych autorów przyczyną

! styl!

demielinizacji może być bezpośrednio toksyczne działanie tlenu węgla rozpuszczonego w płynie obrzękowym. Brak jest jednak dotąd niewątpliwych danych potwierdzających tę teoretyczną możliwość w warunkach *in vivo*, mimo stwierdzenia niewątpliwego uszkadzającego działania CO na tkankę nerwową i glejową *in vitro* (Hoppe-Kurowska 1973, Korthals i wsp. 1973). W naszym materiale zwracał uwagę bogaty obraz mikroskopowo-elektronowych zmian w istocie białej, a w szczególności zróżnicowanie reakcji astro- i oligodendrogleju, polegające na obecności bardzo znacznego obrzmienia cytoplazmy astrocytów przy stosunkowo niezmięnionej ultrastrukturze mitochondriów, podczas gdy w oligodendrogleju przeważały uszkodzenia mitochondriów. Jednakże pełna interpretacja wzajemnych powiązań zmian patologicznych w komórkach astrogleju, oligodendrogleju, osłonkach mielinowych i w samych wypustkach osiowych wymaga przeprowadzenia dodatkowych badań na zwierzętach z przeżyciem dłuższym niż 5 dni i krótszym niż 24 godziny.

Wydaje się uzasadnione przyjęcie, że skojarzone działanie niedotlenienia i niedokrwienia jest główną przyczyną powstawania uszkodzeń mózgu w zatruciu tlenkiem węgla. Zróżnicowanie obrazu uszkodzeń uwarunkowane jest stopniem niedotlenienia i niedokrwienia. Wydaje się przy tym prawdopodobne, że samo niedotlenienie, względnie niedotlenienie skojarzone z nieznacznego stopnia niedokrwieniem prowadzi jedynie do odkładania się glikogenu w astrocytach. Przy bardziej nasilonych zaburzeniach ischemicznych powstają uszkodzenia komórkowe pod postacią przede wszystkim obrzmienia mitochondriów w neuronach i oligodendrocytach. Nałożenie się przetrwałego ciężkiego niedokrwienia prowadzi wreszcie do powstania nieodwracalnych zmian tkankowych składających się na obraz rozwiniętej encefalopatii tlenkowęglovej. Bezpośrednie cytotoksyczne działanie tlenu węgla na elementy parenchymalne ośrodkowego układu nerwowego pozostaje nadal zagadnieniem otwartym.

WNIOSKI

1. Uzyskanie doświadczalnej encefalopatii tlenkowęglovej u szczurów wymaga zachowania określonych warunków doświadczalnych, dotyczących stopnia zatrucia i czasu jego trwania. Dla otrzymania strukturalnych uszkodzeń tkanki nerwowej niezbędne jest uzyskanie ponad 65% zawartości HbCO we krwi i jej utrzymanie przez okres około 40 min.

2. Zmiany morfologiczne w ośrodkowym układzie nerwowym zlokalizowane są w sposób powtarzalny w części czołowej zawoju hipokampa, w ośrodkach półowalnych okolicy ciemieniowej półkul mózgu oraz

w płacie spoidła wielkiego, rzadziej obejmują *neocortex* i skorupę, do wyjątków należy zajęcie gałki bladej.

3. W formacjach szarych przeważa zwyrodnienie komórek nerwowych i ich ubytki w postaci ognisk martwicy selektywnej, w istocie białej dominuje obraz demielinizacji.

4. W obrazie mikroskopowo-elektronowym formacji szarych przeważa uszkodzenie mitochondriów neurocytów i oligodendrogleju oraz nieznaczne obrzmienie wypustek astrocytów i gromadzenie się w nich złogów glikogenowych. W istocie białej dominuje uszkodzenie osłonek mielinowych, aż do ich całkowitego rozpadu, współtowarzyszące lub nie uszkodzeniom włókien osiowych. Ponadto występuje niestałe poszerzenie przestrzeni międzykomórkowych, obrzmienie cytoplazmy astrocytów i znacznego stopnia uszkodzenie mitochondriów oligodendrogleju.

5. U podłoża zmian w ośrodkowym układzie nerwowym leży niedotlenienie typu hipoksyjnego, z nakładającym się zespołem niedokrwienia, stanowiącym następstwo ogólnoustrojowych zaburzeń hemodynamicznych.

Я. Кортхалс, М. Я. Моссаковски, М. Смялек

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПНАЯ КАРТИНА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОКСИУГЛЕРОДНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ У КРЫС

Резюме

Проведены гистологические, гистохимические (определения гликогена) и электронно-микроскопные исследования мозга крыс, подвергнутых действию окиси углерода.

Опыты поставлены на 94 взрослых крысах, разделенных на 5 экспериментальных групп, различающихся по продолжительности и степени отравления, что выражалось процентным содержанием карбоксигемоглобина в крови и клиническим состоянием животных.

У животных с продолжительностью отравления 30 мин. с уровнем карбоксигемоглобина до 65% (I группа), а также у животных, которые содержались в атмосфере окиси углерода в течение 24 часов и у которых уровень карбоксигемоглобина не превышал 25% (II группа) не установлено необратимых нарушений нервной ткани. Незначительные, непостоянные рассеянные повреждения нейроцитов и олигодендроглия обнаружены в мозге животных, подвергнутых действию CO в течение 24 часов и у которых уровень карбоксигемоглобина достигал 50% (III группа). У крыс, содержащихся в атмосфере с окисью углерода в течение 1,5 часов, у которых уровень карбоксигемоглобина достигал 70—80% и которые во время отравления доводились до состояния спячки, длящейся до 15 мин. (IV группа) констатировалось как постоянное явление образование накоплений гликогена в нервной ткани в период после отравления при отсутствии признаков гистологического и электронно-микроскопного повреждения ткани. Наибольшие накопления гликогена выступали между 4 и 12 часом после отрав-

ления. На 5-ые сутки эксперимента гликогенные накопления, обнаруженные в нервной ткани, не отличались ни количеством ни топографией от таковых, наблюдаемых у контрольных животных.

Необратимые нарушения ткани наблюдались у животных, у которых при отравлении в течение 1,5 часа уровень карбоксигемоглобина достигал 70—80%, а время спячки протягивалось до 40 мин. (V группа).

Гистологические изменения чаще всего выступали в передней части гипокампа (участок Н₂ и Н₄₋₅), а также в белом веществе полушарий головного мозга и в комиссуре. Исключительно редко повреждение наблюдалось в бледном шаре.

В ультраструктурной картине коры мозга в 24 часа после отравления можно различить 3 степени повреждения. Самые небольшие изменения характеризовались увеличенным количеством зёрн гликогена в цитоплазме астроцитов, прежде всего в их присосудистых отростках.

При более сильном повреждении ткани заметна была опухоль митохондрий в нейронах и олигодендронитах, а в отростках астроцитов, окружающих поврежденные нейроны, собирались накопления гликогена.

Наиболее сильное повреждение характеризовалось наличием дезинтеграционных изменений клеточных элементов. В этих случаях накопления гликогена не выступали.

В белом веществе наблюдалось расширение межклеточного пространства, опухоль астроглии, опухоль митохондрий, прежде всего олигодендронитов и дегенеративные изменения нервных отростков, охватывающие чаще всего как и аксон, так и его миелиновую оболочку. Часто замечали гипертрофию наружного цитоплазматического отростка миелиновой оболочки. Иногда можно было заметить мелкие аксоны полностью окруженные цитоплазматическими отростками олигодендронитов.

В обсуждении патогенеза описанных изменений авторы обращают внимание на основную роль гипоксемии и гемодинамических расстройств (увеличение венозного давления, застой) в определении тканевых повреждений. В то время как второстепенную роль могут играть такие факты как отёк, непосредственное действие окиси углерода на ткань, а также редко встречающиеся венозные тромбы. Накопление гликогена является ранним и чувствительным показателем повреждения серого вещества мозга.

J. Korthals, M. J. Mossakowski, M. Śmiałek

HISTOLOGICAL AND ELECTRON MICROSCOPIC PICTURE OF EXPERIMENTAL CARBON MONOXIDE ENCEPHALOPATHY

Summary

Histological, histochemical (glycogen determination) and electron microscopic studies were carried out on the brains of 94 adult rats exposed to carbon monoxide. The rats were divided into 5 groups of different time and degree of intoxication, the latter finding expression in the blood carboxyhemoglobin level and clinical conditions of the animals.

In the animals intoxicated for 30 minutes at the carboxyhemoglobin level of up to 65% (group I), as well as in those exposed to carbon monoxide for 24 hrs

where the carboxyhemoglobin level did not exceed 25% (group II), no irreversible impairment of the nervous tissue was found. Insignificant and irregular disseminated lesions of neurocytes and oligodendroglia were being observed in the brains of animals treated with CO for 24 hrs, where the carboxyhymoglobine level reached the value of 50% (group III). In the rats subjected to CO for 1.5 hr and brought during intoxication to 15 min. coma, with the carboxyhemoglobin level reaching values of 65—80% (group IV), accumulation of glycogen deposits in the nervous tissue in the period following intoxication was observed to be a permanent phenomenon, whereby neither histological nor electron microscopic features of the tissue damage were present at that time. The most abundant glycogen deposits have appeared between the 4th and 12th hour after intoxication. At the 5th day of experiment, both the quantity and topography of glycogen deposits were identical to those observed in the control animals.

Irreversible tissue lesions were stated in animals in which during 1.5 hr intoxication the carboxyhemoglobin level reached the values of 65—80% and duration of coma — 40 minutes (group V).

Histological changes most frequently were being observed in the frontal part of Ammon's horn (segments h_2 and h_{4-5}), in the white matter of cerebral hemispheres and in the splenium of corpus callosum. The pallidal lesions were very rare.

In the ultrastructural picture of brain cortex at 24 hrs after intoxication, 3 degrees of tissue lesions could have been distinguished. The mildest changes were characterized by the increased number of glycogen grains in the cytoplasm of astrocytes, in particular in their perivascular processes. More intensive tissue impairment was manifested by swelling of mitochondria in neurocytes and oligodendrocytes. In the astrocytes processes surrounding the impaired neurocytes, glycogen deposits accumulated. The most severe degree was characterized by the occurrence of desintegrative changes in the cellular elements. In the latter cases the glycogen deposits were absent.

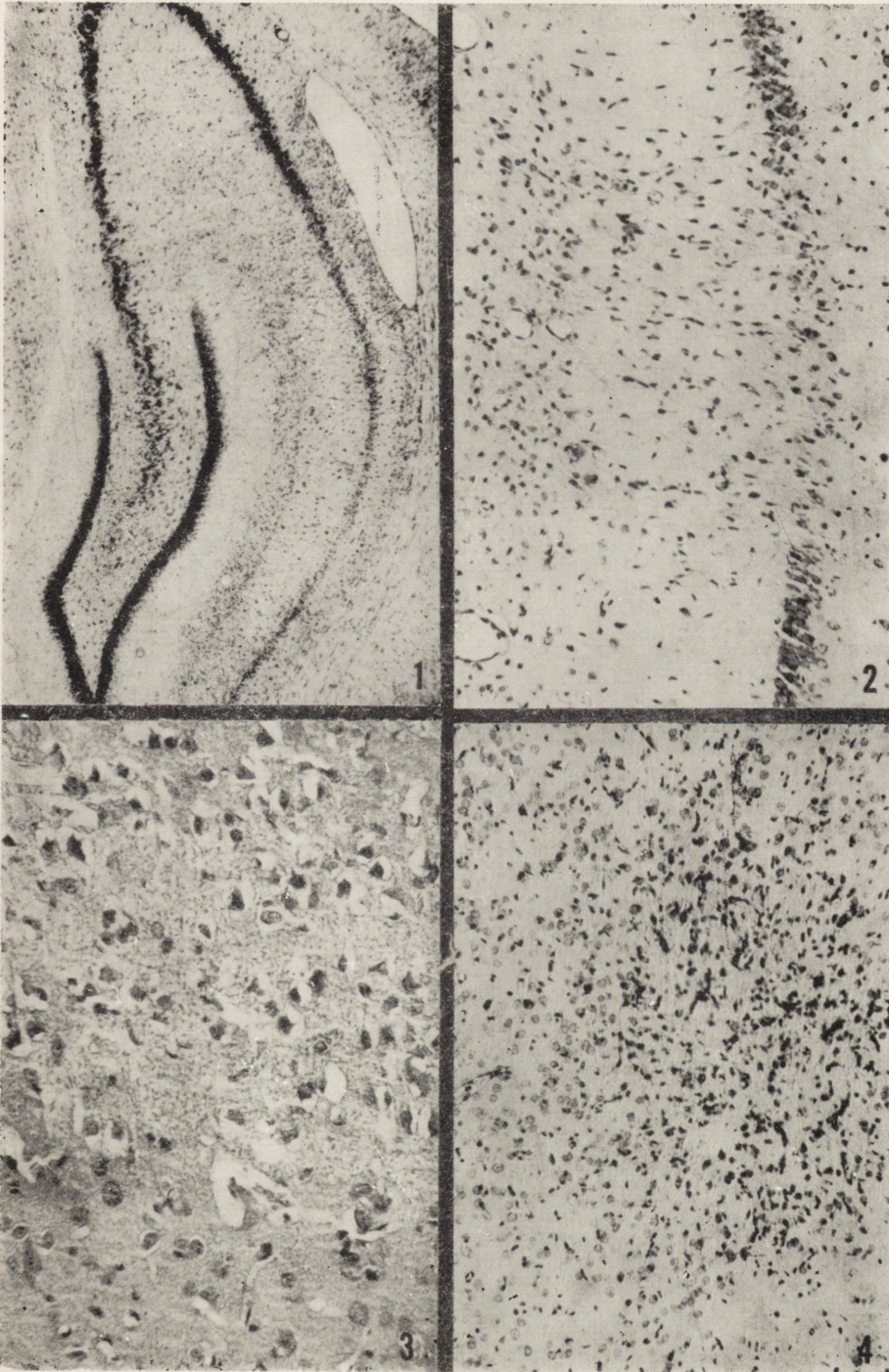
In the white matter, the following changes were being observed: extension of intracellular spaces, swelling of astroglia, swelling of mitochondria, mostly oligodendrocytic and degenerative changes in nerve processes, usually involving both the axon and its myelin sheath.

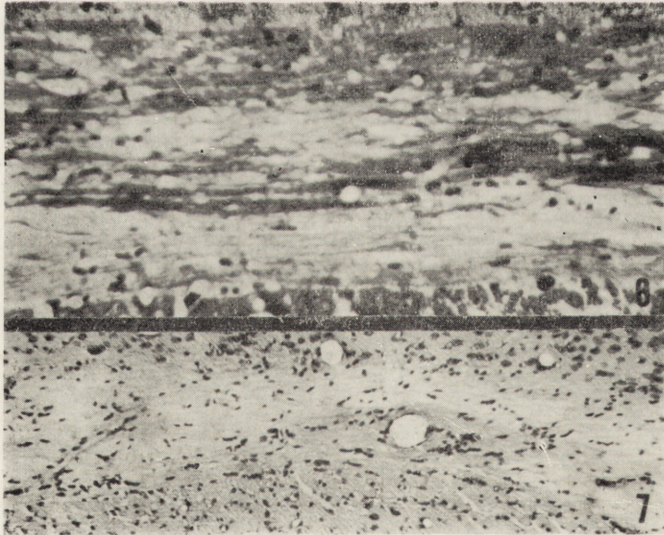
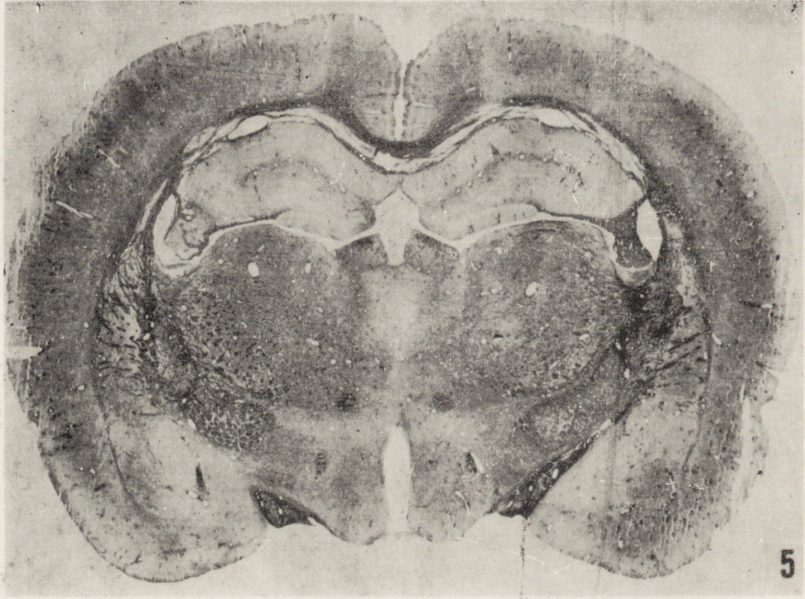
Discussing the pathogenesis of the described changes, the authors point at the crucial role of hypoxemia and hemodynamic disturbances (increase of venous blood pressure, stasis) in the formation of tissue lesions. Factors like edema, direct effect of CO on the tissue and rarely occurring venous thrombi play a secondary role. Accumulation of glycogen constitutes an early and sensitive indication of the impairment of grey matter.

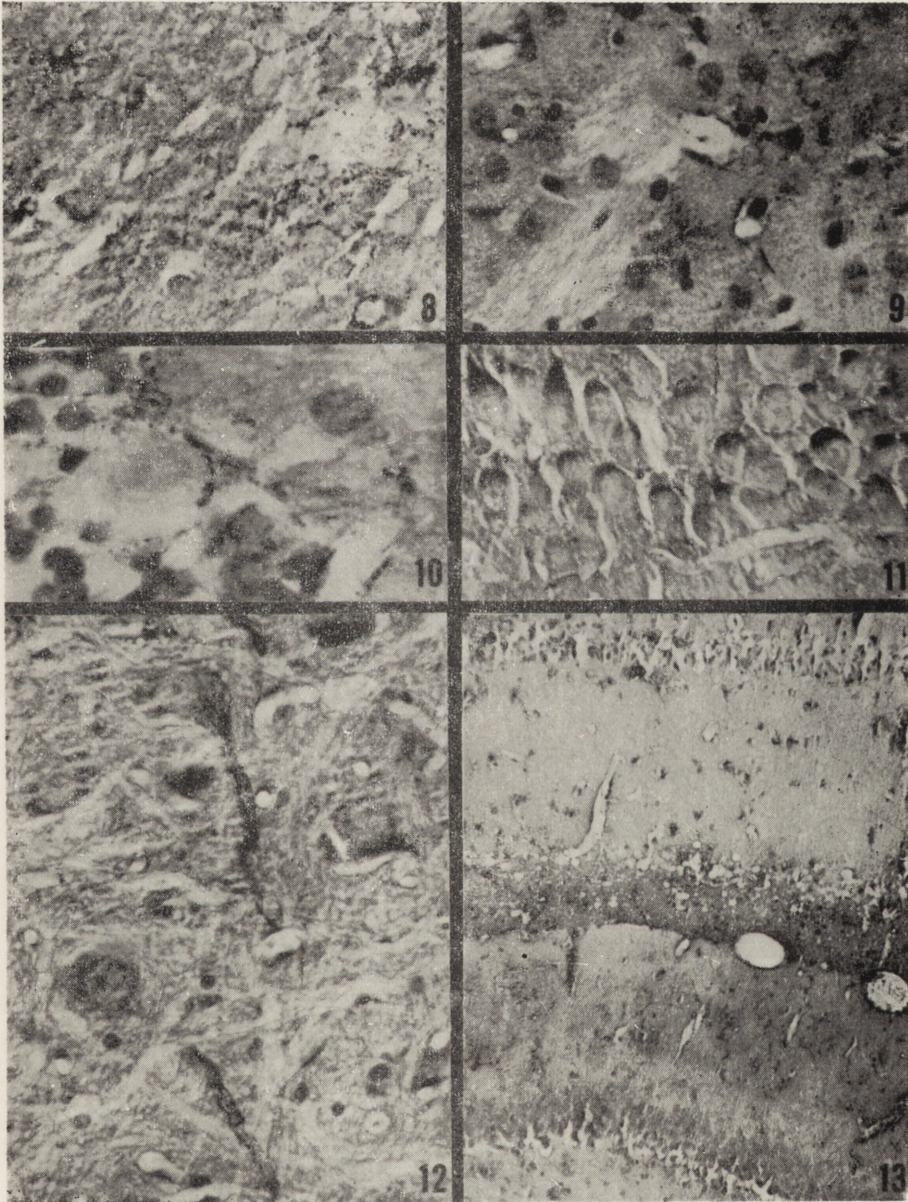
PIŚMIENICTWO

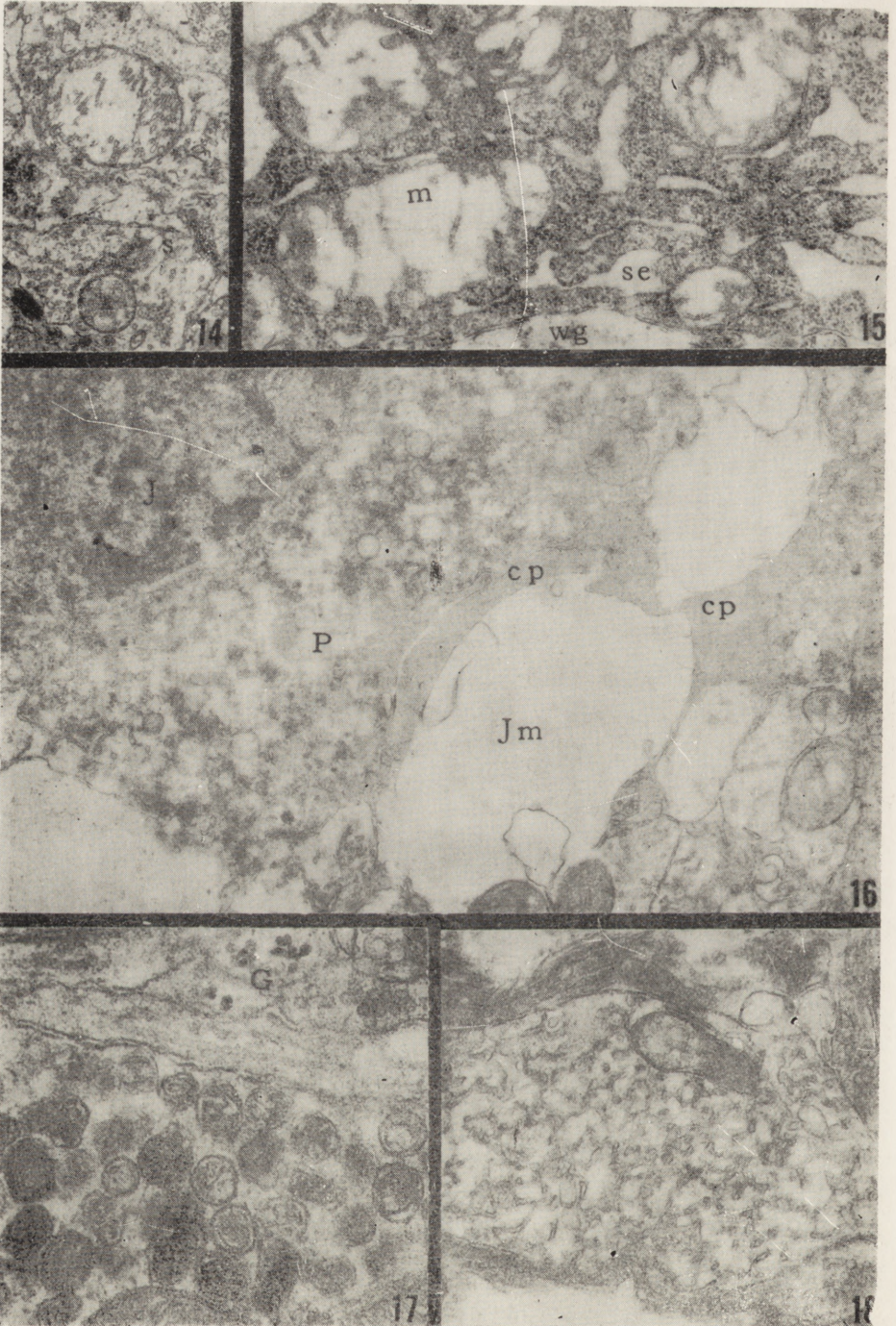
1. Adams C.W.M., Ibrahim M.Z.M., Leibowitz: „Demyelination”. W: Neurochemistry, Adams C. (ed.), Elsevier, Amsterdam 1965, 437—487.
2. Albrecht J.: Effect of carbon monoxide on individual steps of synthesis in rat brain. *J. Neurochem.*, 1973.
3. Bakay L., Lee J. C.: The effect of acute hypoxia and hypercapnia on the ultrastructure of the central nervous system. *Brain*, 1968, 91, 697—706.

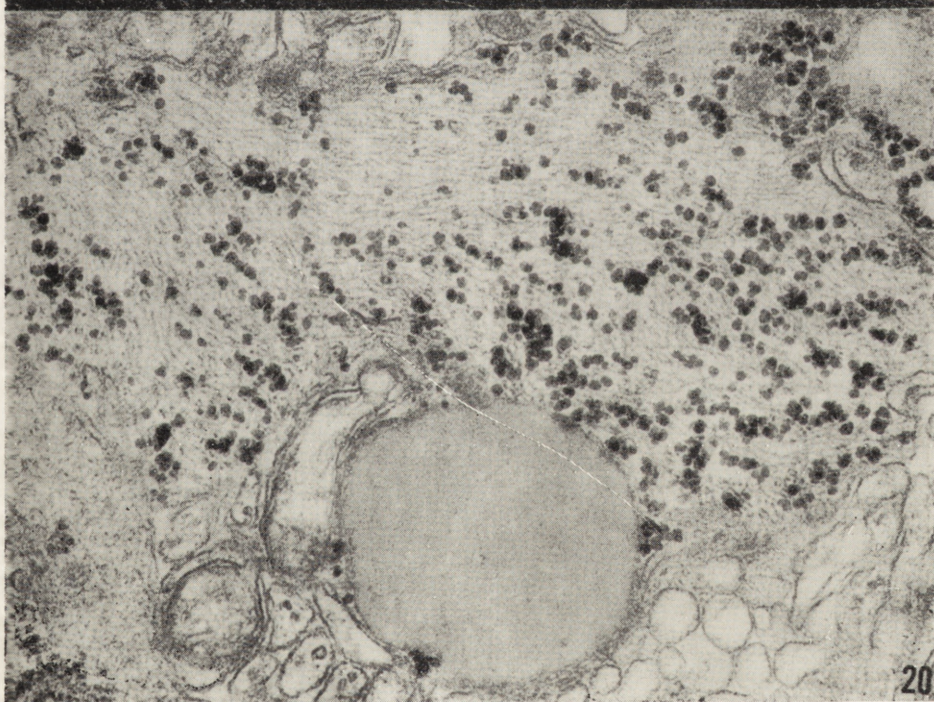
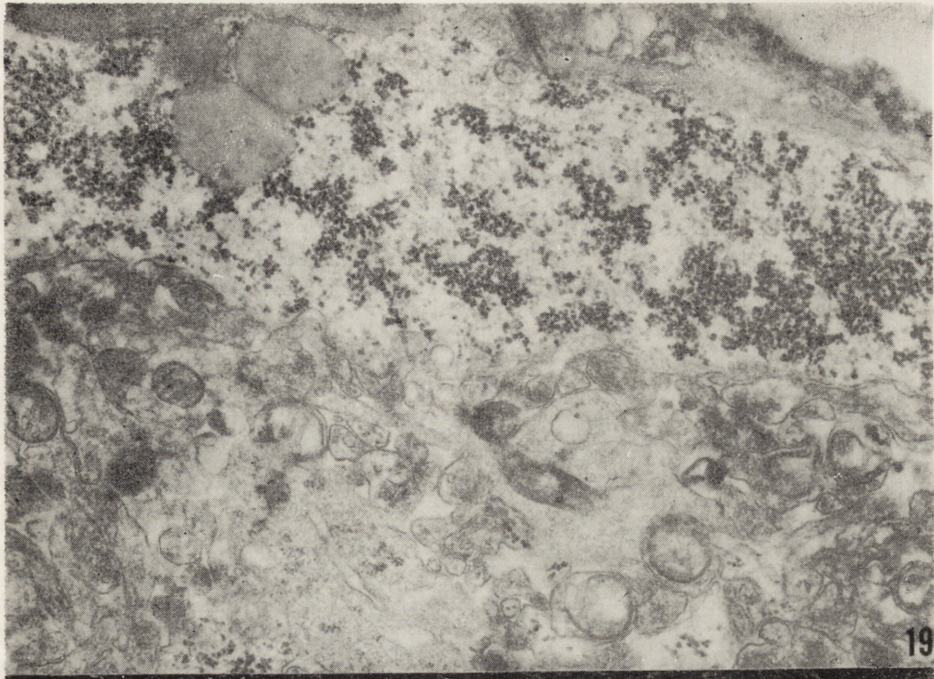
4. Bour H., Tutin M., Pasquier P.: The central nervous system and carbon monoxide poisoning. I. Clinical data with reference to 20 fatal cases. W: *Progress in Brain Research*, ed. H. Bour and Mc A. Ledingham, Amsterdam 1967, 24, 1—30.
5. Brown A. W., Brierley I. B.: Anoxic-ischemic cell changes in rat brain. Light microscopic and fine structural observations. *J. neurol Sci.*, 1972, 16, 59—84.
6. Brucher J. M.: Neuropathological problems posed by carbon monoxide poisoning and anoxia. W: *Carbon monoxide poisoning. Progress in Brain Research*. Ed. H. Bour, J. Mc A. Ledingham. Elsevier, Amsterdam 1967, 24, 96—100.
7. Bulmer D.: Dimedone as an aldehyde blocking reagent to facilitate the histochemical demonstration of glycogen. *Stain Technol.*, 1959, 34, 95—98.
8. Cammermeyer I.: The importance of avoiding „dark neurons” in experimental neuropathology. *Acta neuropth. (Berl.)*, 1961, 1, 245—270.
9. Courville C. B.: The process of demyelination in the central nervous system. IV. Demyelination as a delayed residual of carbon monoxide asphyxia. *J. Nervous and Mental Disease*, 1957, 125, 534—546.
10. Goldsmith J. R.: Contribution of motor vehicle exhaust, industry and cigarette smoking to community carbon monoxide exposures. *Am. New York Acad. Sci.*, 1970, 174, 122—134.
11. Hager H.: Electron microscopical observations on the early changes in neurons caused by hypoxidosis and on the ultrastructural aspects of neuronal necrosis in the cerebral cortex of mammals. W: *Selective vulnerability of the brain in hypoxaemia*. Ed. J. Schadé i W. H. McMenemey. Oxford. Blackwell Sci. Publ., 1963, 125—138.
12. Hirano J., Inoue Y., Tanami J.: Studies on the mode of action of carbon monoxide. II. Pattern of action of carbon monoxide. *Jap. J. Hyg.*, 1968, 23, 286—292.
13. Hoppe-Kurowska B.: *Obraz histologiczny i histochemiczny gliopatii tlenko-węglowej in vitro*. Praca doktorska. Warszawa 1973.
14. Ibrahim M.Z.M., Pascoe E., Alam S., Miquel I.: Glycogen and phosphorylase activity in rat brain during recovery from several forms of hypoxia. *Amer. J. Path.*, 1970, 60, 403—415.
15. Jacob H.: *Das Zentralnervensystem bei Infektionen, Intoxikationen und anderen Allgemein und Organerkrankungen*. W: *Hdb. der Spez. Path. Anatomie*. Ed. O. Lubarsch, F. Henke, R. Rössle, Springer, Berlin 1958, 13, 2A.
16. Jacob H., Mumme C., Solcher H.: Entmarkung bei zerebralen Oödemschaden. *Arch. Z. ges. Neurol.*, 1962, 203, 311—320.
17. Korthals J.: Doświadczalne niedokrwienie mózgu u królika. *Klinika i morfologia. Neuropat. Pol.*, 1969, 7, 113—160.
18. Korthals J., Hoppe B., Karwacka H.: Badania mikroskopowo-elektronowe nad toksycznym wpływem tlenku węgla na tkankę glejową hodowaną in vitro. *Neuropat. Pol.*, 1973, 11, 315—322.
19. Kowada M., Ames A., Majno G., Wright R. L.: Cerebral ischemia. I. An improved experimental method for study, cardiovascular effects and demonstration of an early vascular lesion in the rabbit. *J. Neurosurg.*, 1968, 28, 150—157.
20. Lampert P. W.: Fine structural changes of myelin sheaths in the central nervous system. W: *The Structure and Function of Nervous Tissue*. Ed. G. H. Bourne, Academic Press, New York, 1968, 1, 187—204.

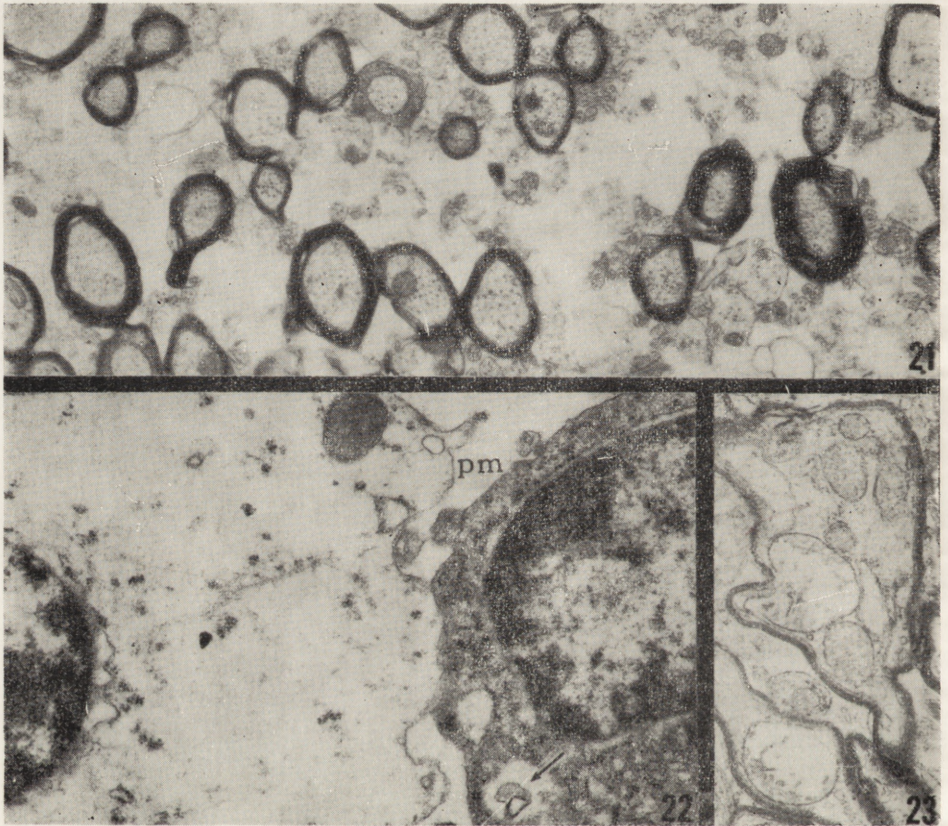


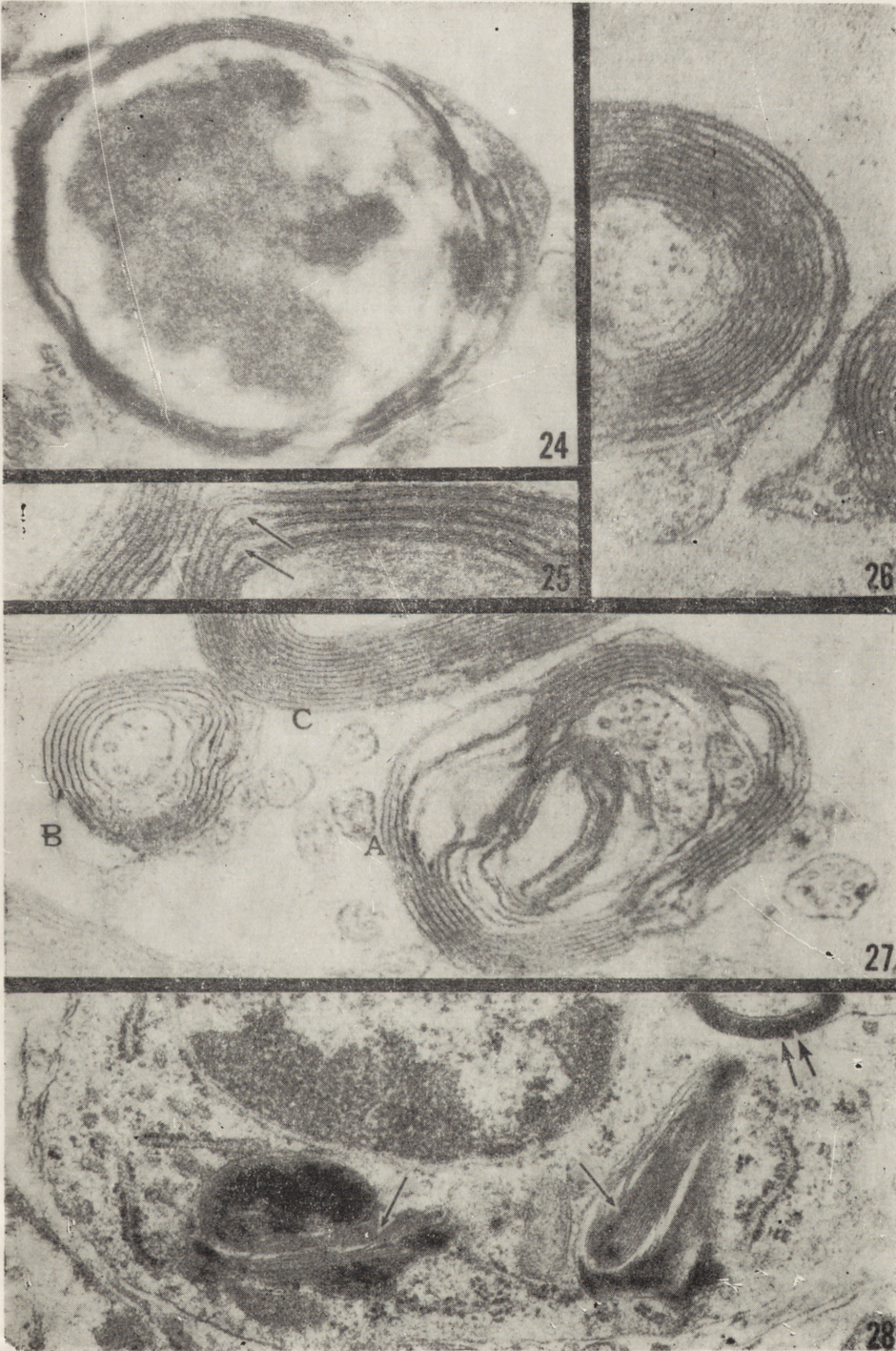


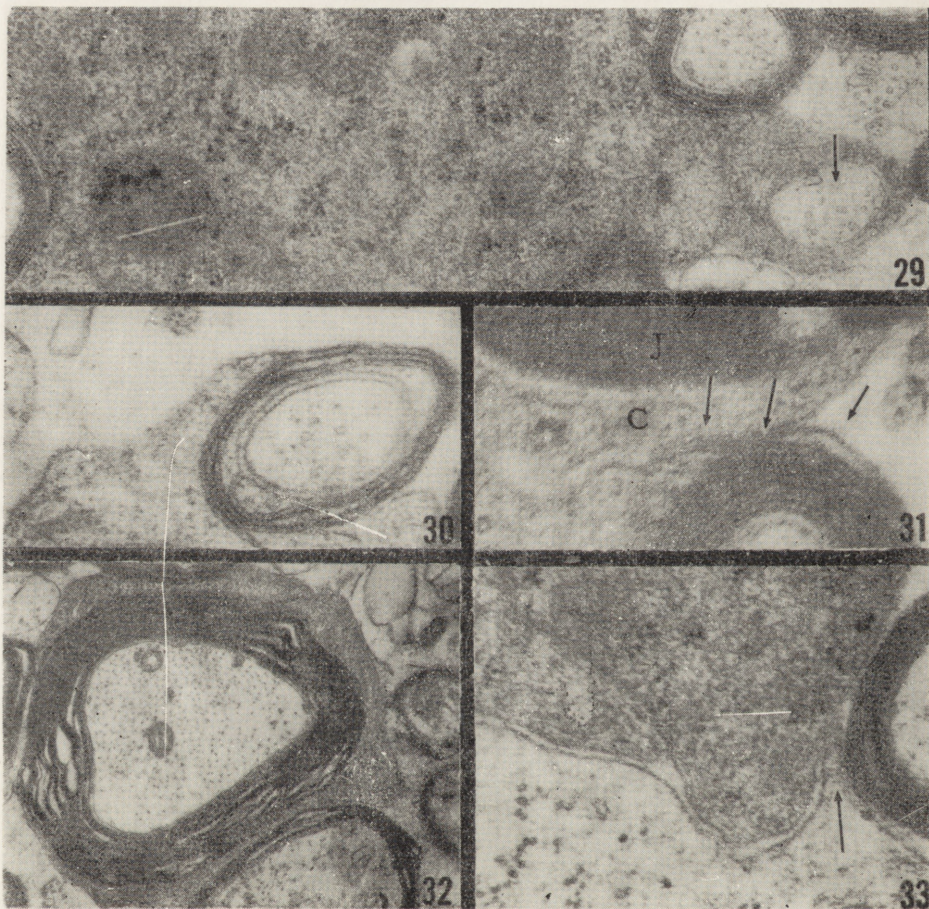












21. Lapresle J., Fardeau M.: The central nervous system and carbon monoxide poisoning. II. Anatomical study of brain lesions following intoxication with carbon monoxide (22 cases). W: Carbon monoxide poisoning. Progress in Brain Research. Ed. H. Bour, I. Mc A. Lendingham, Elsevier, Amsterdam 1967, 24, 96—100.
22. Levine E.: Experimental cyanide encephalopathy. Gradients of susceptibility in the corpus callosum. J. Neuropath. exp. Neurol., 1967, 26, 214—222.
23. Lindenberg R.: Patterns of CNS vulnerability in acute hypoxaemia, including anaesthesia accidents. W: Selective vulnerability of the brain in hypoxaemia. Ed. I. P. Schadé, W. N. McMenemey, Blackwell, Oxford 1963, 189—209.
24. Lumsden C. E.: Cyanide leucoencephalopathy in rats and observations on the vascular and ferment hypotheses of demyelinating diseases. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 1950, 13, 1—15.
25. Meyer A.: Experimentelle Erfahrungen über die Kohlenoxydvergiftung des Zentralnervensystem. Z. Neurol. 1928, 112, 187—212.
26. Meyer A.: Anoxias, intoxications and metabolic disorders. W: Neuropathology. Ed. J. G. Greenfield et al., E. Arnold, London 1963, 235—287.
27. Miyagishi T., Suwa N.: Electron microscopic studies on the cerebral lesions of rats in experimental carbon monoxide poisoning. Acta neuropath., 1969, 14, 118—125.
28. Mossakowski M. J., Long D. M., Meyers R. E., de Curret H. R., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. J. Neuropath. exp. Neurol., 1968, 27, 500—516.
29. Mossakowski M. J., Pronaszko A., Korthals J.: Wpływ umiarkowanego niedokrwienia na poziom glikogenu w mózgu w zależności od stopnia dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego. Neuropat. Pol., 1973, 11, 53—68.
30. Osetowska E.: Encefalopatia — CO. Neuropat. Pol., 1964, 2, 159—172.
31. Pentschew A.: Gasförmige Gifte. Ed. O. Lubarsch, F. Henke, R. Rössle, Springer, Berlin 1958, 13, 23.
32. Preziosi J. M., Lindenberg C., Levy D., Christensen M.: An experimental investigation in animals of the functional and morphologic effects of single and repeated exposures to high and low concentrations of carbon monoxide. Ann. New York Acad. Sci., 1970, 174, 369—384.
33. Romanowa H. P.: Patologonatomiczeskije izmenenija w golownom mozgu sobak posle terminalnych sostojanii wyzwannyh ostroj krowopotierej i otrawieniem okiśju ugleroda. Awtoreferat dissertacji na soiskanie uczenaj stepeni kandidata medicinskih nauk. Moskwa 1959.
34. Schwedenberg T. M.: Leucoencephalopathy following carbon monoxide asphyxia. J. Neuropath. exp. Neurol., 1959, 18, 597—608.
35. Strassmann G.: The effect of repeated inhalation of illuminating gas on the brain. Monatschrift für Psychiatrie und Neurologie, 1949, 117, 360—366.
36. Szumańska G.: Obraz histochemiczny mózgu szczura w ostrym zatruciu tlenkiem węgla. Neuropat. Pol., 1973, 11, 301 — 314.
37. Śmiałek M., Sikorska M., Korthals J., Bicz W., Mossakowski J.: The glycogen content and its topography and UDPGlucose: glycogen- α -4 glucosyltransferase (EC 2.4.1.11) activity in rat brain after experimental carbon monoxide intoxication. Acta neuropath., 1973, 24, 222—231.
38. Whitehead T. P., Worthington N.: The determination of carboxyhemoglobin. Clin. Chim. Acta, 1961, 6, 356—358.

39. Yu M. C., Bakay L., Lee J. C.: Ultrastructure of the central nervous system after prolonged hypoxia. I. Neuronal alterations. *Acta neuropath.* (Berl.), 1972, 22, 222—234.

Adres autorów. Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa, ul. Dworkowa 3.

PODPISY POD RYCINY

LEGENDS FOR FIGURES

- Ryc. 1.* Martwica komórek piramidowych w części odcinka h_2 i h_5 rogu Amona. Pow. 36 \times .
Fig. 1. Necrosis of pyramidal cells in a part of h_2 and h_5 segments of Amon horn. $\times 36$.
- Ryc. 2.* Martwica komórek piramidowych rogu Amona z wtórnym rozplemem glejowym w odpowiadającym odcinku warstwy piramidowej i *striatum radiationis*. Pow. 120 \times .
Fig. 2. Necrosis of pyramidal cells of Amon horn with secondary glial proliferation in the corresponding segment of pyramidal layer and *striatum radiationis*. $\times 120$.
- Ryc. 3.* Ognisko martwicy komórek nerwowych w *neocortex* ze zgębczeniem tkanki. Pow. 240 \times .
Fig. 3. Necrotic focus of nerve cells in *neocortex* with spongiosis of the tissue. $\times 240$.
- Ryc. 4.* Ognisko wybiórczej martwicy neuronów w prążkowie z odczynem glejowym. Pow. 120 \times .
Fig. 4. Focus of selective necrosis of neurons in striatum with glial reaction. $\times 120$.
- Ryc. 5.* Częściowa demielinizacja ciała modzelowatego, ośrodków półwalnych i lewego strzępka hipokampa. Drobne ogniska demielinizacji w drogach wzrokowych. Pow. 10 \times .
Fig. 5. Partial demyelination of corpus callosum, semioval centres and left hippocampal fimbria. Small demyelination foci in optic tracts. $\times 10$.
- Ryc. 6.* Odcinek istoty białej z plackowatą demielinizacją. Pow. 480 \times .
Fig. 6. Cerebral white matter with patchy demyelination. $\times 480$.
- Ryc. 7.* Zachowanie normalnej struktury tkanki wokół naczyń położonych w obrębie uszkodzonej istoty białej. Pow. 120 \times .
Fig. 7. Preservation of normal tissue structure around vessels situated within the damaged white matter. $\times 120$.
- Ryc. 8.* Złogi glikogenu w odcinku h_2 rogu Amona. Pow. 240 \times .
Fig. 8. Glycogen deposits in segment h_2 of Amon horn. $\times 240$.
- Ryc. 9.* Złogi glikogenu w istocie szarej prążkowie (jądro ogoniaste). Pow. 480 \times .
Fig. 9. Glycogen deposits in striatal grey matter (caudal nucleus). $\times 480$.
- Ryc. 10.* Złogi glikogenu w warstwie zwojowej kory mózdzku umiejscowione przy-naczyniowo i wokół komórek Purkinjego. Pow. 1000 \times .
Fig. 10. Glycogen deposits in the nerve cells layer of cerebellar cortex localized around the vessels and Purkinje cells. $\times 1000$.
- Ryc. 11.* Złogi glikogenu w perikariach komórek Purkinjego. Pow. 480 \times .
Fig. 11. Glycogen deposits in perikarya of Purkinje cells. $\times 480$.
- Ryc. 12.* Złogi glikogenu w perikariach i wypustkach komórek nerwowych jądra nerwu VII. Pow. 480 \times .
Fig. 12. Glycogen deposits in the perikarya and processes of nerve cells of facial nerve nucleus. $\times 480$.

Ryc. 13. Martwica odcinka h_2 rogu Amona połączona z całkowitym brakiem glikogenu. Złogi glikogenu są widoczne w warstwie drobinowej *fascia dentata*. Komórki piramidowe *fascia dentata* nie wykazują zmian. Pow. 120 \times .

Fig. 13. Necrosis of h_2 segment of Amon horn with complete absence of glycogen. Glycogen deposits visible in the molecular layer of *fascia dentata*. Pyramidal cells of *fascia dentata* show no changes. $\times 120$.

Ryc. 14. Obrzmienie mitochondriów w wypustce protoplazmatycznej neuronu. s — synapsa. Pow. 14 000 \times .

Fig. 14. Swelling of mitochondria in dendritic process of a neuron. s — synapse. $\times 14 000$.

Ryc. 15. Wycinek z perikarionu komórki nerwowej z zagęszczoną cytoplazmą. Obrzmienie mitochondriów (m) i siatki śródplazmatycznej (se). Wypustka glijowa — wg Pow. 18 000 \times .

Fig. 15. Fragment of nerve cell perikaryon with condensed cytoplasm. Swelling of mitochondria (m) and endoplasmic reticulum (se). Astrocytic process — wg $\times 18 000$.

Ryc. 16. Martwiczo zmieniona komórka nerwowa i otaczające ją zwyrodnienie gąbczaste tkanki. Jądro — J, perikarion — P, jamka — Jm, ciemny profil wypustki — cp. Pow. 21 000 \times .

Fig. 16. Necrotic nerve cell. Around spongy degeneration of the tissue. Nucleus — J, perikaryon — P, cavitation — Jm, dark profile of the process — cp. $\times 21 000$.

Ryc. 17. Nagromadzenie mitochondriów i ciałek gęstych w wypustce nerwowej. Glikogen — G. Pow. 37 000 \times .

Fig. 17. Accumulation of mitochondria and dense bodies in a nerve process. Glycogen — G. $\times 37 000$.

Ryc. 18. Wypustka nerwowa z licznymi rozgałęzionymi strukturami tubularnymi. Pow. 19 000 \times .

Fig. 18. Nerve process with numerous branched tubular structures. $\times 19 000$.

Ryc. 19. Ciała lipidowe i liczne ziarna glikogenu w przynaczyniowej wypustce astrocytu protoplazmatycznego. Pow. 15 000 \times .

Fig. 19. Lipid bodies and numerous glycogen grains in a perivascular process of protoplasmatic astrocyte. $\times 15 000$.

Ryc. 20. Ciało lipidowe i liczne ziarna glikogenu w wypustce astrocytu włóknikowego. Pow. 42 000 \times .

Fig. 20. Lipid body and numerous glycogen grains in a process of fibrillar astrocyte. $\times 42 000$.

Ryc. 21. Poszerzenie przestrzeni między włóknami nerwowymi. Pow. 14 000 \times .

Fig. 21. Extension of the extracellular space between nerve fibres. $\times 14 000$.

Ryc. 22. Poszerzenie przestrzeni (pm) między astrocytami i oligodendrocytem. W obrzmiałym mitochondrium oligodendrocytu widoczna struktura mielinopodobna (strzałka). W komórce astrocytarnej widoczne obrzmienie cytoplazmy i odcinkowe poszerzenie przestrzeni między błonami jądrowymi. Pow. 18 000 \times .

Fig. 22. Extension of the extracellular space (pm) between astrocyte and oligodendrocyte. Myelin-like structure visible in a swollen oligodendrocyte mitochondrium (arrow). Swelling of cytoplasm and segmental extension of the space between nuclear membranes visible in astrocyte. $\times 18 000$.

Ryc. 23. Obrzmienie pojedynczych mitochondriów w wypustkach nerwowych. Pow. 13 000 ×.

Fig. 23. Swelling of some mitochondria in nerve cell processes. × 13 000.

Ryc. 24. Zwyródnienie wypustki nerwowej pod postacią zagęszczenia cytoplazmy aksonu i zatarcia lub rozluźnienia struktury osłonki mielinowej. Pow. 30 000 ×.

Fig. 24. Axonal degeneration in the form of condensation of its cytoplasm with blurred and loosened structure of myelin sheath. × 30 000.

Ryc. 25. Oddzielenie się blaszek mielinowych powstałe na skutek rozszczepienia linii pośrednich osłonki mielinowej (strzałki). Pow. 90 000 ×.

Fig. 25. Separation of myelin lamellae due to splitting of intermediate lines of myelin sheath (arrows). × 90 000.

Ryc. 26. Oddzielenie się zewnętrznych blaszek mielinowych. Pow. 90 000 ×.

Fig. 26. Separation of two outer myelin lamellae. × 90 000.

Ryc. 27. Rozszczepienie blaszek osłonki mielinowej wypustki nerwowej widocznej po prawej stronie ryciny (A). Rozluźnienie struktury osłonki mielinowej wypustki nerwowej po lewej stronie ryciny (B). U góry ryciny widoczny wycinek prawidłowej osłonki mielinowej (C). Pow. 70 000 ×.

Fig. 27. Splitting of myelin sheath around nerve process on the right side of figure (A) and loosening of myelin sheath structure around axon visible on the left side (B). In the upper part of figure the fragment of normal myelin sheath (C) is seen. × 70 000.

Ryc. 28. Struktury mielinopodobne (pojedyncze strzałki) w cytoplazmie makrofaga wykazujące mniejszą gęstość elektronową niż normalna osłonka mielinowa (podwójne strzałki). Pow. 29 000 ×.

Fig. 28. Myelin-like structures (arrows) in macrophage cytoplasm showing a lower electron density than normal myelin sheath (double arrows). × 29 000.

Ryc. 29. Drobný akson (strzałka) otoczony przez cytoplazmę oligodendrocytu. Pow. 30 000 ×.

Fig. 29. Fine axon (arrow) surrounded by oligodendrocyte cytoplasm. × 30 000.

Ryc. 30. Osłonka mielinowa z poszerzoną zewnętrzną wypustką cytoplazmatyczną. Pow. 50 000 ×.

Fig. 30. Myelin sheath with extended external cytoplasmic process. × 50 000.

Ryc. 31. Osłonka mielinowa połączona z cytoplazmą oligodendrocytu poprzez ostatnią blaszkę mielinową (strzałki). Jądro — J, cytoplazma — C. Pow. 81 000 ×.

Fig. 31. Myelin sheath connected with oligodendrocyte cytoplasm by the last myelin lamella (arrows). Nucleus — J, cytoplasm — C. × 81 000.

Ryc. 32. Osłonka mielinowa dużego aksonu otoczona w całości przez rozbudowaną zewnętrzną wypustkę cytoplazmatyczną. W wypustce widoczne liczne poprzecznie przecięte tubule. Pow. 14 000 ×.

Fig. 32. Myelin sheath of large axon entirely surrounded by enlarged external cytoplasmic process. In the process numerous transversely sectioned tubuli are visible. × 14 000.

Ryc. 33. Wypustka o małej gęstości elektronowej połączona z ciałem komórkowym oligodendrocytu wykazującym normalną gęstość elektronową (strzałka wyznacza miejsce połączenia). Pow. 50 000 ×.

Fig. 33. Cell process of a low electron density connected with oligodendrocyte perikaryon showing normal electron density (arrow indicates point of junction). × 50 000.