

MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI, BARBARA GAJKOWSKA

OBRAZ MIKROSKOPOWO-ELEKTRONOWY  
USZKODZEŃ GLEJU WYWOŁANYCH CYJANKIEM SODU  
W HODOWLI POZAUSTROJOWEJ

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Zespołu: prof. dr M. J. Mossakowski

Pracownia Ultrastruktury Układu Nerwowego Centrum Medycyny Doświadczalnej  
i Klinicznej PAN

Kierownik Pracowni: doc. dr J. Borowicz

Rola gleju w kształtowaniu obrazu patomorfologicznego doświadczalnej encefalopatii cyjankowej nie jest jednoznacznie określona. Hirano i wsp. (1967) zwracają uwagę, że we wczesnej demielinizacji spoidła wielkiego, wywołanej przez cyjanki proces patologiczny dotyczy pierwotnie włókien osiowych, a zmiany glejowe, występujące w późniejszych fazach ewolucji ogniska patologicznego, mają charakter wtórny. Analogiczny typ zmian i sekwencje czasowe ewolucji procesu chorobowego opisują Lessel i Kawabara (1974) w demielinizacji pozagałkowej nerwu wzrokowego, wywołanej u szczurów przez cyjanki. Baldy-Moulinier i wsp. (1973) z kolei podkreślają brak nieprawidłowości strukturalnych w tkance glejowej w zatruciu cyjankami, w przeciwieństwie do innych typów hipoksyjnego i anoksyjnego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego. Uszkodzenia gleju, obok nieprawidłowości struktury komórek nerwowych stwierdzali Hirano i wsp. (1967) w korowych ogniskach martwicy, towarzyszących pierwotnej demielinizacji w spoidle wielkim.

Ibrahim i wsp. (1963) zwracają uwagę na rozplem i przerost oligodendrocytów oraz ich aktywację metaboliczną, wyrażającą się wzmożeniem odczynów histochemicznych w okresie poprzedzającym rozwój ognisk demielinizacyjnych po zatruciu cyjankami. W związku z tym przypisują oni zmianom glejowym istotną rolę patogenetyczną w uszkodzeniu osłonek mielinowych.

Aktywację histochemiczną gleju w encefalopatii cyjankowej, łącznie z utrzymaniem wysokiej aktywności enzymatycznej w obrębie ognisk demielinizacyjnych stwierdzili poprzednio van Hutten i Friede (1963).

W przeciwieństwie do wymienionych powyżej autorów, Wender i wsp. (1972) wykazali spadek aktywności enzymatycznej w gleju, dotyczący zarówno enzymów oksydacyjno-redukcyjnych, jak i hydrolitycznych w ogniskach uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, występujący nawet w fazie poprzedzającej ich morfologiczne ukształtowanie. Wysoka aktywność enzymatyczna w otoczeniu ognisk patologicznych jak i w nich samych występująca w późnych okresach ewolucji procesu, implikuje wtórny, odczynowy charakter zmian w gleju i to zarówno astrocytarnym jak i skąpowypustkowym.

W celu określenia wrażliwości komórek glejowych na działanie cyjanoków przeprowadzono cykl badań w warunkach hodowli pozaustrojowej. W poprzedniej pracy scharakteryzowano obraz uszkodzeń cytologicznych i cytochemicznych (Mossakowski 1976). Celem badań przedstawionych obecnie była mikroskopowo-elektronowa ocena uszkodzeń komórkowych, oraz ich konfrontacja z opisanymi poprzednio nieprawidłowościami, stwierdzonymi na poziomie mikroskopu świetlnego.

#### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w warunkach identycznych jak w poprzedniej pracy (Mossakowski 1976).

Wyselekcjonowane hodowle organotypowe mózdzku noworodków szczurzych w 1, 2 i 3 tygodniu wzrostu poddawano 1-godzinnemu działaniu cyjanku sodu, dodanego do medium odżywczego hodowli, w końcowym stężeniu  $10^{-3}$  M.

Do badań w mikroskopie elektronowym pobierano hodowle bezpośrednio po zatruciu, oraz po upływie 1, 3 i 7 dni. Materiał opracowywano technicznie wg metody opisanej przez Borowicza i Kraśnicką (1971). Ultracienkie skrawki skrawano na ultramikrotomie LKB III, 8800, kontrastowano przy pomocy octanu uranylu i cytrynianu ołowiu i oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 7A przy napięciu przyspieszającym 80 KV. Zdjęcia wykonano na płytach ORWO EU 2.

Materiał kontrolny stanowiły hodowle tych samych grup czasowych prowadzone w standardowym środowisku odżywczym równolegle do hodowli doświadczalnych.

#### WYNIKI

Większość komórek glejowych, obserwowanych bezpośrednio po zatruciu w hodowlach 1- i 2-tygodniowych wykazuje znaczne cechy uszkodzenia. W hodowlach 3-tygodniowych liczba komórek z zaawansowanymi cechami dezintegracji strukturalnej jest mniejsza.

W obu typach neurogleju zwraca uwagę obfitość wielokształtnych wtęretów śródplazmatycznych, o różnej gęstości elektronowej, oraz ciał

lizosomopodobnych (ryc. 1, 2), mniej licznych w populacji glejowej w hodowlach 3-tygodniowych.

Cytoplazma astrocytów jest przejaśniona, siatka śródplazmatyczna uboga, jej kanały znacznie poszerzone, pokryte skąpą ilością rybosomów (ryc. 1, 2, 3). Niekiedy towarzyszą temu stosunkowo liczne skupienia wolnych rybosomów (ryc. 2, 3). Maksymalnie poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej wypełnione są delikatnymi, kłaczkowatymi masami (ryc. 4). Znaczna ilość widocznych w cytoplazmie mitochondriów, wykazuje cechy obrzmienia, ich macierz jest jasna, a grzebień słabo widoczny (ryc. 3). Gliotubule są krótkie, pofragmentowane i nieregularnie rozrzucone w cytoplazmie. W licznych komórkach astrocytarnych zbiorniki i kanały zespołu Golgiego są poszerzone. Jądra komórkowe są mniej uszkodzone, zwraca jednak uwagę rozrzedzenie karioplazmy i brak ciągłości zewnętrznej błony jądrowej.

Zmiany w oligodendrocytach są niemal identyczne jak w astrogleju. Dominuje w nich uszkodzenie mitochondriów, przejawiające się przejaśnieniem macierzy i słabą widocznością grzebieni (ryc. 2), znaczne zużożenie bądź przegrupowanie rybosomów oraz niekiedy bardzo duże poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej, wypełnionych podobnie jak w astrocytach kłaczkowatym materiałem o niskiej gęstości elektronowej.

W obu rodzajach neurogleju występują cechy bardzo znacznie wzmożonej pinocytozy (ryc. 4). Zjawisko to spostrzega się zarówno w komórkach z ciężkimi uszkodzeniami jak i w komórkach o mniej zaawansowanych zmianach patologicznych, występujących pojedynczo w hodowli 1-tygodniowej, liczniej w hodowlach 2-tygodniowych i obficie w 3-tygodniowych. W komórkach tych spotyka się stosunkowo liczne mitochondria nie wykazujące cech masywnego uszkodzenia, ich macierz jest ciemna, a grzebień dobrze utrzymane. Ilość wtrętów śródplazmatycznych i ciał lizosomopodobnych jest mała. Zespół Golgiego jest prawidłowo utrzymany, lub wykazuje tylko nieznaczne poszerzenie zbiorników i kanałów. Natomiast liczne kanały szorstkiej siatki śródplazmatycznej są znacznie poszerzone.

Po upływie 24 godzin od zatrucia obraz mikroskopowo-elektronowy komórek glejowych w hodowli 1-tygodniowej jest zasadniczo zbliżony do opisanego poprzednio, jakkolwiek nasilenie zmian patologicznych jest mniejsze. Mniej liczne ciała wtrętowe występują zarówno w cytoplazmie astrocytów jak i oligodendrocytów, częściej spotyka się natomiast typowe ciała lizosomopodobne (ryc. 5). Poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej jest mniej nasilone, jakkolwiek spotyka się nadal kanały znacznie poszerzone lub odcinkowo wręcz rozdęte (ryc. 5). W miejscach odcinkowego rozdęcia kanałów siatki szorstkiej ilość rybosomów

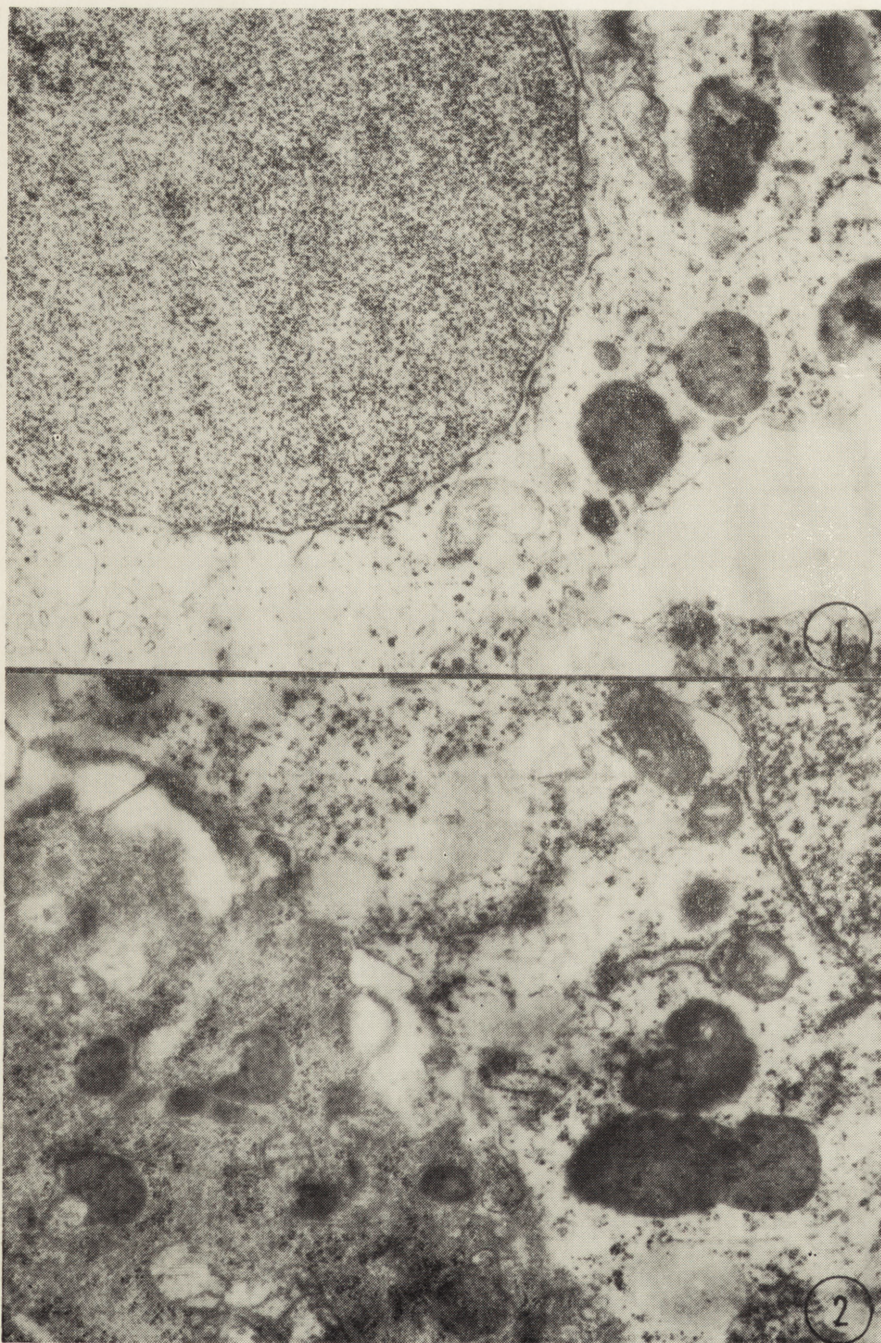
jest wyraźnie uboższa, obok nich spotyka się liczne ugrupowania wolnych rybosomów. Obserwuje się niekiedy znaczne poszerzenie zbiorników i kanałów rozbudowanego zespołu Golgiego (ryc. 6). Normalizacja obrazu mikroskopowo-elektronowego komórek glejowych w hodowli 2-, a zwłaszcza 3-tygodniowej jest wyraźniejsza niż w hodowli 1-tygodniowej. Nadal jednak spotyka się obrazy świadczące o wzmożonej aktywności pinocytarnej. We wszystkich typach komórek trzech grup czasowych hodowli zwraca uwagę znaczne uszkodzenie mitochondriów, wyrażające się bądź zubożeniem aparatu mitochondrialnego, bądź występowaniem mitochondriów o nieprawidłowych kształtach i rozmiarach i zartartym rysunku (ryc. 6), lub wreszcie obecnością rozdętych mitochondriów z niemal całkowitym zatarciem ich struktury wewnętrznej (ryc. 7). Uszkodzenia układu mitochondrialnego są znacznie bardziej nasilone w gleju skąpowypustkowym.

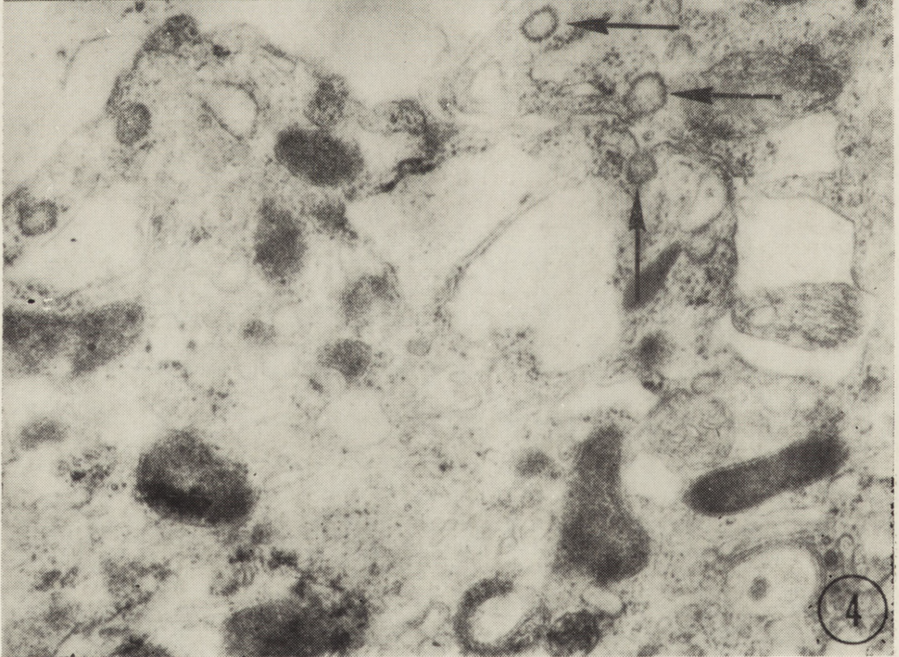
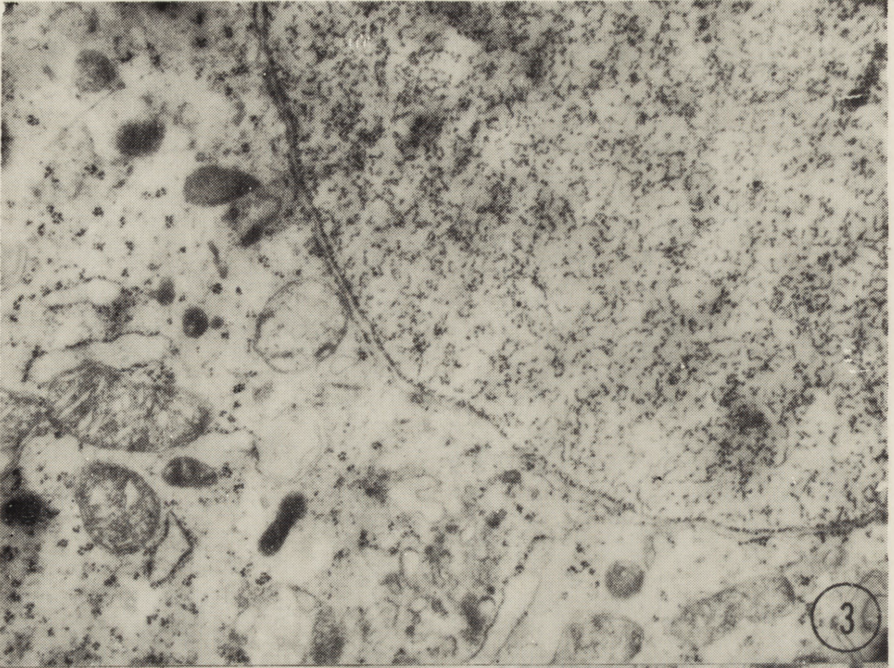
W trzecim dniu po zatruciu obserwuje się dalszą normalizację obrazu mikroskopowo-elektronowego obu typów komórek glejowych we wszystkich trzech grupach czasowych hodowli. Najbardziej nasilone zmiany patologiczne utrzymują się w hodowlach 1-tygodniowych. Wyrażają się one poszerzeniem kanałów siatki śródplazmatycznej, obecnością wtretów śródplazmatycznych i ciał lizosomopodobnych oraz nieprawidłową strukturą mitochondriów. Zmiany mitochondrialne utrzymują się również w stosunkowo licznych komórkach glejowych, zwłaszcza w oligodendrocytach w hodowlach 2-, a nawet 3-tygodniowych (ryc. 8). W licznych astrocytach spotyka się obfite gliotubule i gliofilamenty rozrzucone w cytoplazmie, lub ułożone w regularnych układach.

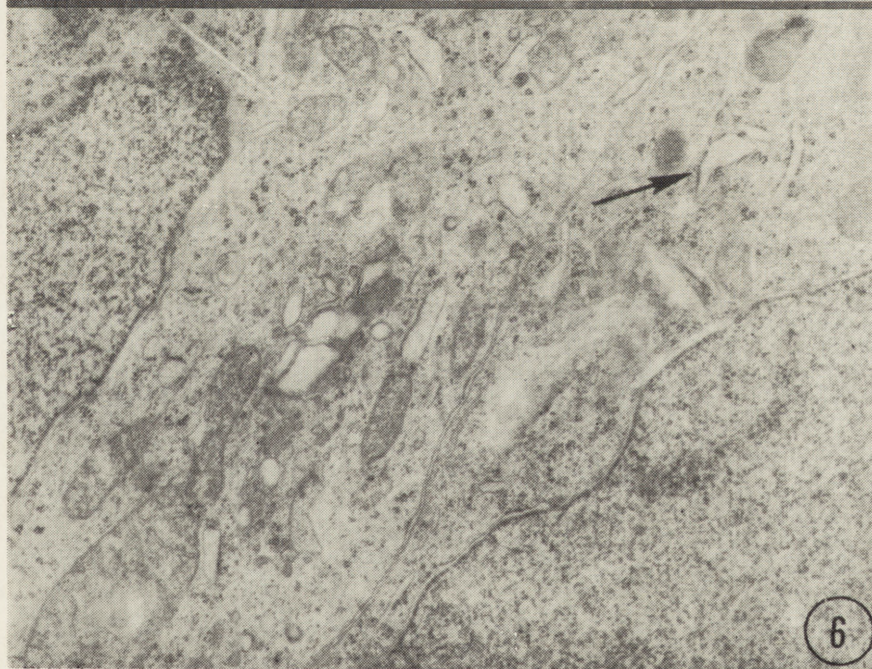
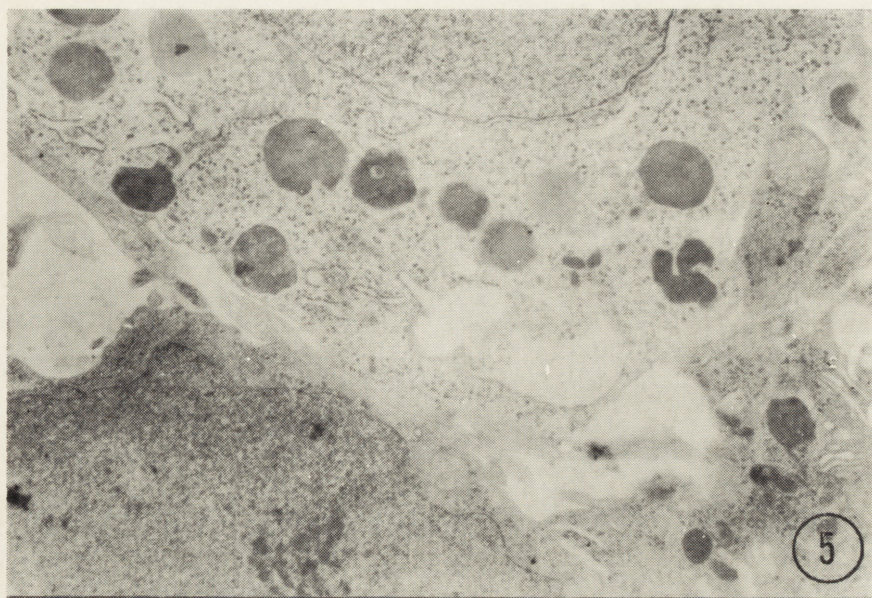
Po upływie 7 dni od zatrucia obraz mikroskopowo-elektronowy większości komórek glejowych w hodowlach z wszystkich trzech grup czasowych przypomina obrazy z materiału kontrolnego. Jednakże w hodowlach 1-tygodniowych nierzadko spotyka się nadal komórki z obfitymi ciałami wtretowymi w cytoplazmie i znacznie poszerzonymi kanałami szorstkiej siatki śródplazmatycznej odcinkowo pozbawionymi rybosomów (ryc. 9).

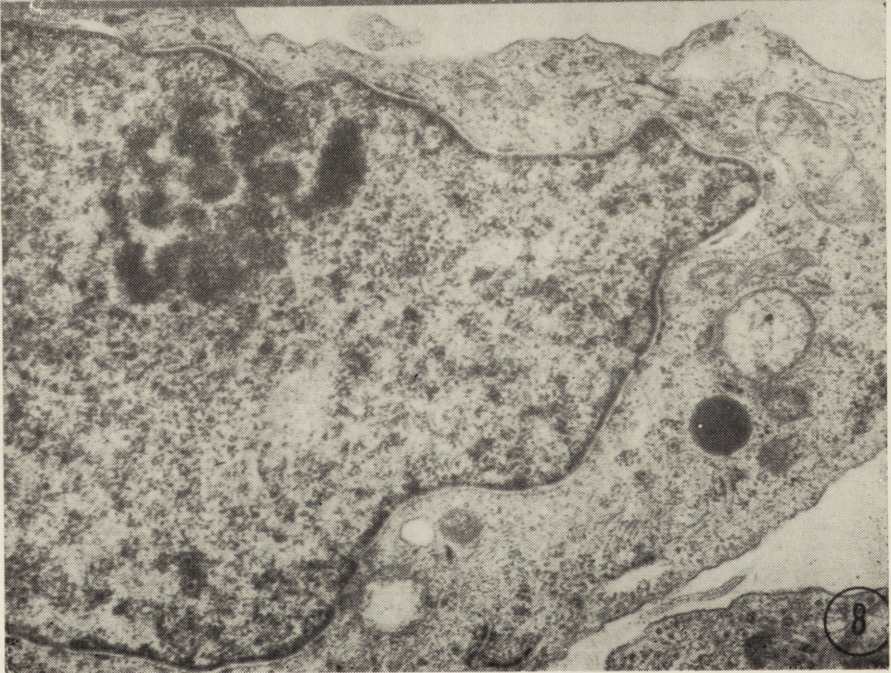
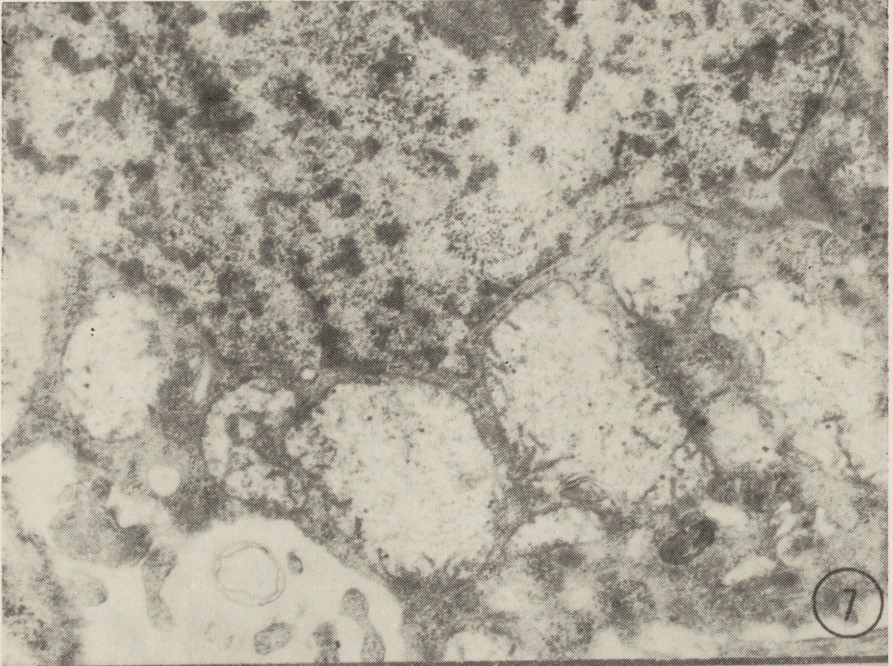
#### OMOWIENIE

Obserwacje dotyczące mikroskopo-elektronowego obrazu neurogleju poddanego krótkotrwałemu działaniu cyjanku sodu potwierdziły poprzednie spostrzeżenia cytologiczne i cytochemiczne (Mossakowski 1976). Wykazały one największą wrażliwość hodowli młodych z nisko zróżnicowaną populacją komórkową, wyrażającą się zarówno w nasileniu zmian patologicznych jak i w czasie ich utrzymywania się. Potwierdziły one również spostrzeżenia dotyczące indywidualnego zróżnicowania wrażli-

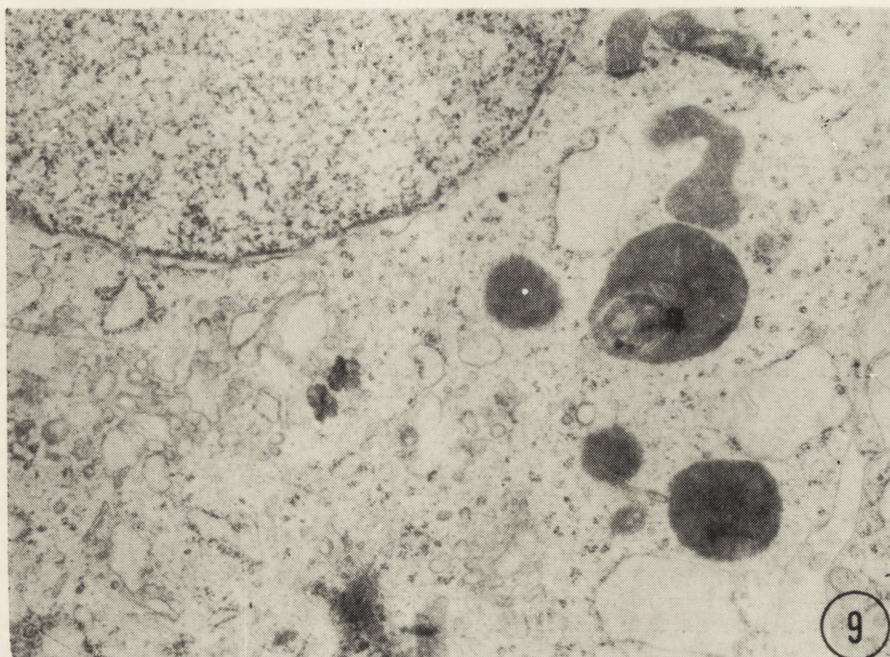












## PODPISY POD RYCINY

*Ryc. 1.* Hodowla 1-tygodniowa, bezpośrednio po zatruciu. Fragment astrocytu o jasnej cytoplazmie. Widoczne nieliczne fragmenty szorstkiej siatki śródplazmatycznej i liczne ciała wtrętowe. Pow. 20.000  $\times$ .

*Fig. 1.* 1-week culture, directly after exposure to cyanide action. Fragment of astrocyte with pale cytoplasm. Scanty fragments of rough endoplasmic reticulum and numerous intracytoplasmic inclusions are seen.  $\times 20\ 000$ .

*Ryc. 2.* Hodowla 3-tygodniowa, bezpośrednio po zatruciu. Fragment astro- i oligodendrocytu. W komórce astrocytarnej widoczne są nieliczne fragmenty szorstkiej siatki śródplazmatycznej, ugrupowania wolnych rybosomów, ciała lizosomopodobne, obkurczone mitochondria oraz nieliczne ciała tłuszczowe. W oligodendrocytyce widoczne są liczne ciała lizosomopodobne i obrzmiałe mitochondria. Pow. 20.000  $\times$ .

*Fig. 2.* 3-week culture, directly after exposure to cyanide action. Fragments of neighbouring astro- and oligodendrocyte. In astrocytic cytoplasm scanty fragments of rough endoplasmic reticulum, grouping of free ribosomes, lysosomes-like bodies, shrunken mitochondria and lipid droplets are present, while in oligodendrocyte swollen mitochondria and lysosome-like bodies prevail.  $\times 20\ 000$ .

*Ryc. 3.* Hodowla 2-tygodniowa, bezpośrednio po zatruciu. Fragment astrocytu, w którego cytoplazmie widoczne są poszerzone kanały szorstkiej siatki śródplazmatycznej, odcinkowo pozbawionej rybosomów, ugrupowania wolnych rybosomów i ciała lizosomo-podobne. Obok uszkodzonych mitochondriów widoczne są mitochondria niezmiennione. Pow. 24.000  $\times$ .

*Fig. 3.* 2-week culture directly after exposure to cyanide action. Fragment of astrocyte, in cytoplasm of which distended channels of rough endoplasmic reticulum, partially devoid of ribosomes, grouping of free ribosomes and lysosome-like bodies are seen. Besides damaged mitochondria, some unchanged mitochondria are present.  $\times 24\ 000$ .

*Ryc. 4.* Hodowla 1-tygodniowa, bezpośrednio po zatruciu. We fragmentach astrocytów widoczne są liczne ciała lizosomo-podobne, gliofilamenty, znacznie poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej, wypełnione kłaczkowatą zawartością, oraz liczne pęcherzyki mikropinocytarne (strzałki). Pow. 24.000 ×.

*Fig. 4.* 1-week culture, directly after exposure to cyanide action. In fragments of two astrocytes numerous lysosome-like bodies, gliofilaments, distended channels of endoplasmic reticulum, containing floccular masses and abundant pinocytotic vesicles (arrows) are present. × 24 000.

*Ryc. 5.* Hodowla 1-tygodniowa w 24 godz. po zatruciu. Widoczny fragment sąsiadującego astrocytu i oligodendrocytu. W komórce astrocytarnej obecne są liczne ciała wtrętowe oraz znacznie rozdęte kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Pow. 16.000 ×.

*Fig. 5.* 1-week culture in 24th hr after exposure to cyanide action. Fragments of neighbouring astrocyte and oligodendrocyte are present. In astrocytic cytoplasm numerous inclusion bodies and some distended channels of rough endoplasmic reticulum are seen. × 16 000.

*Ryc. 6.* Hodowla 1-tygodniowa w 24 godz. po zatruciu. Widoczne fragmenty dwóch astrocytów o stosunkowo nieznacznie zmienionej strukturze. Zwraca uwagę olbrzymie mitochondrium położone obok licznych niezmiennych mitochondriów oraz wyraźnie poszerzone kanały aparatu Golgiego. Pojedyncze kanały szorstkiej siatki śródplazmatycznej nieznacznie poszerzone (strzałki). Pow. 16 000 ×.

*Fig. 6.* 1-week culture in 24th hr after exposure to cyanide action. Fragments of two astrocytes with relatively undamaged structure are seen. Giant mitochondrium between numerous unaltered mitochondria and distended channels of Golgi complex are present. Some channels of rough endoplasmic reticulum are slightly enlarged (arrows). × 16 000.

*Ryc. 7.* Hodowla 1-tygodniowa w 24 godz. po zatruciu. We fragmencie oligodendrocytu widoczne znacznie obrzmiałe mitochondria. Pow. 24.000 ×

*Fig. 7.* 1-week culture in 24th hr after exposure to cyanide action. In the fragment of oligodendrocyte greatly swollen mitochondria are seen. × 24 000.

*Ryc. 8.* Hodowla 3-tygodniowa, 3 dni po zatruciu. We fragmencie oligodendrocytu widoczne jądro z wyraźnym jąderkiem. W cytoplazmie obecny pojedynczy lizosom i nieliczne obrzmiałe mitochondria. Pow. 24.000 ×.

*Fig. 8.* 3-week culture, 3 days after exposure to cyanide action. In the fragment of oligodendrocyte nucleus with a distinct nucleolus is seen. Cytoplasm contains a single lysosome and scanty swollen mitochondria. × 24 000.

*Ryc. 9.* Hodowla 1-tygodniowa, 7 dni po zatruciu. Fragment astrocytu z dobrze rozwiniętym aparatem Golgiego, dość licznymi ciałami lizosomopodobnymi i rozdętymi kanałami siatki śródplazmatycznej szorstkiej, odcinkowo pozbawionymi rybosomów. Pow. 20.000 ×.

*Fig. 9.* 1-week culture, 7 days after exposure to cyanide action. Fragment of astrocyte with a distinct Golgi complex, numerous lysosome-like bodies and distended channels of rough endoplasmic reticulum partially devoid of ribosomes. × 20 000.

wości poszczególnych komórek glejowych z tych samych grup czasowych i linii histogenetycznych.

Stwierdzone zmiany patologiczne w ultrastrukturze komórek glejowych dotyczyły przede wszystkim szorstkiej siatki śródplazmatycznej, wyrażając się znacznym poszerzeniem, a nawet odcinkowym rozcięciem jej kanałów z równoczesnym zmniejszeniem ilości rybosomów, oraz bardzo znacznym uszkodzeniem mitochondriów. W obu grupach nieprawidłowościom ultrastrukturalnym towarzyszyło nagromadzenie śródplazmatycznych ciał wtrętowych, o niewyjaśnionym charakterze chemicznym oraz występujące wyłącznie we wczesnym okresie po zatruciu objawy wzmożonej mikropinocytozy. Poszczególne typy zmian wykazywały nieco odmienne sekwencje czasowe oraz zróżnicowanie nasilenia w astrocytach i oligodendrogleju.

Najwcześniej obserwowane zmiany, utrzymujące się zresztą w pojedynczych komórkach hodowli 1-tygodniowej do końca obserwacji, dotyczyły siatki śródplazmatycznej. W tym samym czasie obficie występowały śródplazmatyczne ciała wtrętowe, których liczba zmniejszała się stopniowo wraz ze wzrostem zawartości typowych ciał lizosomopodobnych, oraz cechy wzmożonej aktywności mikropinocytarnej. Wydaje się prawdopodobne przyczynowe powiązanie tych zjawisk. Zmiany przepuszczalności błon komórkowych, sugerowane w oparciu o spostrzeżenia z mikroskopu świetlnego (Mossakowski 1976) i prawdopodobnie zależne od wykazanych przez Masurowsky'ego i Bunge (1971) oraz Ybatę i wsp. (1971) zaburzeń w aktywności ATP-azy błonowej, mogą leżeć u podłoża nieprawidłowości w strukturze siatki śródplazmatycznej, a być może również i nagromadzenia śródplazmatycznych ciał wtrętowych. Za taką zależnością może przemawiać ich pojawienie się bezpośrednio po 1-godzinnym zatruciu. Prawo do identyfikacji stwierdzanych w mikroskopie elektronowym śródplazmatycznych ciał wtrętowych ze skupieniami ziarnistości PAS-dodatnich, obserwowanymi w mikroskopie świetlnym (Mossakowski 1976) dać mogą dopiero odpowiednie badania histochemiczne. Niemniej równoczesność pojawiania się i znikania obu struktur sugeruje taką interpretację. Występowanie ziarnistości PAS-dodatnich w komórkach glejowych utrzymywanych w hodowli pozaustrojowej, Renkawek (1972) wiąże ze zmianami przepuszczalności błon komórkowych i uważa je za nagromadzone w cytoplazmie substancje białkowe bądź lipidowo-białkowe pochodzące ze środowiska odżywczego hodowli.

Uszkodzenia mitochondrialne, obecne bezpośrednio po zatruciu dominowały w 24 godzinie i w 3 dniu po zatruciu, wykazując pełną zgodność czasową z drastycznym spadkiem aktywności dehydrogenazy bursztynianowej i oksydazy cytochromowej, stwierdzonym w badaniach na poziomie mikroskopu świetlnego (Mossakowski 1976). Przypadały one również

na ten sam okres, w którym Wender i wsp. (1972) stwierdzili obniżenie aktywności enzymatycznej w gleju istoty białej w doświadczeniach przeprowadzonych *in vivo*.

W świetle mikroskopowo-elektronowej oceny stanu mitochondriów w okresie bezpośrednio po zatruciu, wysoką aktywność enzymów mitochondrialnych stwierdzaną w tym czasie w badaniach cytochemicznych (Mossakowski 1976) rozpatrywać należy prawdopodobnie jako zjawisko związane z ułatwioną dostępnością użytego do odczynu histochemicznego substratu, w związku ze zwiększoną przepuszczalnością błon komórkowych i uszkodzoną strukturą mitochondriów (Kozik 1972). Być może w ten sam sposób należy interpretować wykazaną przez Ibrahima i wsp. (1963) aktywację enzymatyczną oligodendrogleju w spidle wielkim u zatrutych cyjankiem szczurów, występującą przed pojawieniem się wykładników jego demielinizacji.

Odrębności uszkodzeń ultrastrukturalnych astro- i oligodendrogleju w następstwie zatrucia cyjankami wyrażały się w dominowaniu obrzęknięcia cytoplazmy, poszerzenia siatki śródplazmatycznej, nagromadzenia ciał wtrętowych w komórkach gwiazdzistych i uszkodzeń mitochondriów w gleju skąpowypustkowym. Zróznicowanie to wykazuje pełną analogię z odmiennością nieprawidłowości ultrastrukturalnych astro- i oligodendrocytów w przypadku zatrucia tlenkiem węgla w warunkach *in vivo* i *in vitro* (Korthals i wsp. 1973a, 1973b). Ciężkie uszkodzenie mitochondriów w oligodendrocytach przy słabiej wyrażonych zmianach w gleju gwiazdzistym stanowi przyczynek popierający koncepcję Ybata i wsp. (1971) o odmiennych właściwościach mitochondriów w obu typach neurogleju.

Na odrębną uwagę zasługuje fakt, że już w okresie najcięższego uszkodzenia komórek — obok poszerzonych, pozbawionych rybosomów kanałów siatki śródplazmatycznej występowały obfite ugrupowania polirybosomalne. Te przegrupowania rybosomalne występujące w obu typach komórek glejowych w najwcześniejszej fazie po zatruciu mogą sugerować wzmożenie procesów biosyntezy białek, być może warunkujących odwracalność spostrzeganych uszkodzeń komórkowych.

Spostrzegane przez nas nieprawidłowości ultrastruktury komórek glejowych w ogólnym wzorcu zbliżone były do uszkodzeń spowodowanych niedotlenieniem zarówno *in vivo* (Brown, Brierley 1972, Yu i wsp. 1972) jak i *in vitro* (Kraśnicka i wsp. 1973), jak również do zmian rozwijających się w następstwie zatrucia tlenkiem węgla (Korthals i wsp. 1973a, 1973b). Podobieństwa dotyczące charakteru nieprawidłowości ultrastrukturalnych i dynamiki ich rozwoju związane są zapewne z ich zbliżonym mechanizmem patogenetycznym, wynikającym z niedostatku tlenu lub zaburzeń tlenowego metabolizmu komórki.

Różnice obrazu mikroskopowo-elektronowego w stosunku do spostrzeżeń Hirano i wsp. (1967) i Baldy-Moulinier i wsp. (1973) odnieść należy do zasadniczych odrębności modelu doświadczalnego.

М. Я. Моссаковски, Б. Гайковска

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПОВРЕЖДЕНИЙ ГЛИИ,  
ВЫЗВАННЫХ ЦИАНИСТЫМ НАТРИЕМ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

Резюме

Исследования были проведены на органотипической культуре мозжечка новорожденных крыс, выдерживаемых в течение 1 часа в среде, содержащей цианистый натрий в концентрации 1 мМ. Культуры отравляли на 7, 14 и 21 день выдерживания их *in vitro*. Материал для исследований брали непосредственно после отравления, а также через 1, 3 и 7 дней после отравления.

Ультраструктурные изменения, касающиеся обоих типов глии были сильнее всего выражены в однонедельных культурах, исследуемых непосредственно после отравления и по истечении 24 часов. Они выражались в усиленной микропиноцитозной активности, набуханий цитоплазмы, расширения каналов эндоплазматической сети, повреждении митохондрий, а также в накоплении плотных тел.

В астроцитах преобладали признаки измененной проницаемости клеточных оболочек, в то время как в олигодендроглии — повреждение митохондрий. На 7 день после отравления ультраструктурная картина возвращалась к норме, однако по-прежнему сохранялось увеличенное количество плотных тел в астроцитах и значительный отек митохондрий в олигодендроглии.

Обнаруженные электронно-микроскопические изменения напоминали нарушения, являющиеся следствием гипоксии и отравления окисью углерода. Тяжелые, сохраняющиеся после отравления повреждения олигодендроглии указывают на их участие в демиелизационных процессах, наблюдаемых при цианистой энцефалопатии.

M. J. Mossakowski, B. Gajkowska

ELECTRON MICROSCOPIC PICTURE OF GLIA LESIONS INDUCED  
WITH CYANIDE IN TISSUE CULTURE

Summary

The study was carried out on the organotypic cultures derived from newborn rats cerebellum. Seven, 14 and 21 days old cultures were kept for 1 hour in a medium containing 1 mM of sodium cyanide. Investigation was performed immediately after intoxication and 1, 3, 7 days afterwards.

Ultrastructural changes were present in both types of glial cells being most pronounced in 1 week old cultures observed immediately and 24 hours after intoxication. The alterations were characterized by increased micropinocytotic activity, swelling of cytoplasm, distension of endoplasmic reticulum channels, lesion of mitochondria and accumulation of dense bodies.

In astrocytes predominated the exponents of disturbed permeability of cellular membranes whereas in oligodendroglia — the damage to mitochondria. Ultrastructural picture became normalized in 7th day after intoxication but in astrocytes still persisted increased number of dense bodies while in oligodendroglia the marked swelling of mitochondria.

The observed ultrastructural changes closely resemble those caused by hypoxia and carbon monoxide intoxication. Severe, long-lasting abnormalities of oligodendroglia suggest its important role in the mechanism of myelin damage in cyanide encephalopathy.

#### PISMIENNICTWO

1. Baldy-Moulinier M., Humeau Cl., Sentein P., Passouant P.: Modification ultra-structurales primitives du cortex cerebral au cours de differents types d'anoxie cerebrale experimentale. *C. Rend. Soc. Biol. (Paris)* 1973, 167, 1886—1892.
2. Borowicz J. W., Kraśnicka Z.: Własna metoda przygotowania hodowli komórkowych in vitro do badania w mikroskopie elektronowym. *Pat. Pol.* 1971, 22, 691—697.
3. 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.
4. Hirano A., Levine S., Zimmerman H. M.: Experimental cyanide encephalopathy. Electron microscopic observations of early lesions in white matter. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1967, 26, 200—213.
5. Hutten van W., Friede R.: Histochemical studies of experimental demyelination produced with cyanide. *Exp. Neurol.* 1963, 4, 402—412.
6. Ibrahim M., Philander E., Briscoe B. S. jr., Bayliss O., Adams C.: The relationship between enzyme activity and neuroglia in the prodromal and demyelinating stages of cyanide encephalopathy in the rat. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 1963, 26, 479—486.
7. Korthals J., Mossakowski M. J., Śmiałek M.: Obraz histochemiczny i ultrastrukturalny ostrej doświadczalnej encefalopatii tlenkowęgłowej. *Neuropat. Pol.* 1973a, 11, 279—300.
8. Korthals J., Hoppe B., Karwacka H.: Badania mikroskopowo-elektronowe nad toksycznym wpływem tlenku węgla na tkankę glejową hodowaną in vitro. *Neuropat. Pol.* 1973b, 11, 315—322.
9. Kozik M.: Doświadczalny obrzęk neuronu w świetle badań histoenzymatycznych. *Neuropat. Pol.* 1972, 10, 1—15.
10. Kraśnicka Z., Renkawek K., Gajkowska B.: Wpływ krótkotrwałej anoksji na obraz ultrastrukturalny komórek glejowych hodowanych in vitro. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 398—404.
11. Lessell S., Kawabara T.: Fine structure of experimental optic neuropathy. *Inv. Ophthalm.* 1974, 13, 748—756.
12. Masurowsky E. B., Bunge R. P.: Pattern of myelin degeneration following rapid death of cells in cultures of peripheral nervous tissue. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1971, 30, 311—324.
13. Mossakowski M. J.: Morfologia i histochemia uszkodzeń gleju wywołanych cyjankiem sodu w hodowli tkankowej. *Neuropat. Pol.* w druku.
14. Renkawek K.: The histochemical and enzyme-histochemical differences between various types of glial cells cultured in vitro. *Neuropat. Pol.* 1972, 10, 307—315.
15. Wender M., Kozik M., Wajgt A.: Histoenzymology of experimental cyanide encephalopathy. *Acta histochem.* 1972, 43, 361—371.

16. Ybata Y., Piccoli F., Pappas G. D., Lajtha A.: An electron microscopic and biochemical study on the effect of cyanide and low  $\text{Na}^+$  on rat brain slices. *Brain Res.* 1971, 30, 137—158.
17. Yu M. C., Bakay L., Lee J. C.: Ultrastructure of central nervous system after prolonged hypoxia. Neuroglia and blood vessels. II. *Acta neuropath. (Berl.)* 1972, 22, 235—244.

Adres autorów: Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dwor  
kowa 3, 00-784 Warszawa.